

- 15 Teramoto A, Shoji H, Sakakibara Y, et al. Suture-button fixation and mini-open anterior inferior tibiofibular ligament augmentation using suture tape for tibiofibular syndesmosis injuries [J]. *J Foot Ankle Surg*, 2018,57(1):159-161.
- 16 Thompson MC, Gesink DS. Biomechanical comparison of syndesmosis fixation with 3.5- and 4.5-millimeter stainless steel screws [J]. *Foot Ankle Int*, 2000,21(9):736-741.
- 17 McBryde A, Chiasson B, Wilhelm A, et al. Syndesmotic screw placement: a biomechanical analysis [J]. *Foot Ankle Int*, 1997,18(5):262-266.
- 18 van den Bekerom MP, Hogervorst M, Bolhuis HW, et al. Operative aspects of the syndesmotic screw: review of current concepts [J]. *Injury*, 2008,39(4):491-498.
- 19 李 硕,张 宇,孙正涛,等. Maisonneuve 骨折诊断与治疗的研究进展 [J]. *中国临床新医学*, 2019,12(4):459-462.
- 20 Michelson JD. Fractures about the ankle [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1995,77(1):142-152.
- 21 Mak MF, Gartner L, Pearce CJ. Management of syndesmosis injuries in the elite athlete [J]. *Foot Ankle Clin*, 2013,18(2):195-214.
- [收稿日期 2020-09-03][本文编辑 余 军 吕文娟]

本文引用格式

任晋可,肖庭辉,贾兆锋,等. 下胫腓螺钉固定技术治疗 Maisonneuve 骨折的疗效分析 [J]. *中国临床新医学*, 2020,13(12):1213-1217.

课题研究 · 论著

间接免疫荧光法与颗粒凝集法诊断儿童肺炎支原体感染的临床价值比较

卢隽滢, 卢红艳, 常 明, 万 瑛

基金项目: 江苏省妇幼重点人才项目(编号:FRC201735)

作者单位: 212001 镇江, 江苏大学附属医院儿科(卢隽滢, 卢红艳, 常 明), 检验科(万 瑛)

作者简介: 卢隽滢(1988-), 女, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 儿科呼吸系统疾病的诊治。E-mail: lujing5252@126.com

通讯作者: 常 明(1970-), 男, 医学硕士, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 儿科呼吸及新生儿疾病的诊治。E-mail: changming8@163.com

[摘要] **目的** 比较间接免疫荧光法与颗粒凝集法诊断儿童肺炎支原体(MP)感染的临床价值。**方法** 选择2019-01~2019-12江苏大学附属医院儿科收治的MP感染患儿539例,均同时采用间接免疫荧光法与颗粒凝集法检测其血清标本,比较两种方法的检测结果。**结果** 间接免疫荧光法检测MP-IgM的阳性率为70.69%(381/539),颗粒凝集法的检测阳性率为73.10%(394/539),两种方法检测结果差异无统计学意义($P=0.409$)。间接免疫荧光法检得0~2岁、3~5岁、 ≥ 6 岁患儿的MP-IgM阳性率分别为70.00%、78.51%、60.25%,颗粒凝集法检得阳性率分别为70.67%、76.32%、70.81%。两种方法检测结果在0~2岁和3~5岁组比较差异无统计学意义($P>0.05$),在 ≥ 6 岁组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。对于病程 ≤ 3 d、4~7d、8~14d和 ≥ 15 d的患儿,间接免疫荧光法检得MP-IgM阳性率分别为61.90%、68.10%、82.35%、84.09%,颗粒凝集法检得阳性率分别为65.48%、70.86%、83.53%、84.09%,两种方法检测结果差异无统计学意义($P>0.05$),检得阳性率随病程延长均呈增高趋势。**结论** 间接免疫荧光法和颗粒凝集法均可作为检测儿童MP感染的有效方式;病程8~14d是较好的检测时间窗,可以较大程度避免漏诊,及早治疗。

[关键词] 儿童; 肺炎支原体; 间接免疫荧光法; 颗粒凝集法

[中图分类号] R 725.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2020)12-1217-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.12.08

Comparison of the clinical value between indirect immunofluorescence method and particle agglutination in diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection in children LU Jun-ying, LU Hong-yan, CHANG Ming, et al. Department of Pediatrics, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China

[Abstract] **Objective** To compare the clinical value between indirect immunofluorescence method and particle agglutination in diagnosis of Mycoplasma pneumoniae (MP) infection in children. **Methods** Five hundred and thirty-

nine children with MP infection who were admitted to Department of Pediatrics, the Affiliated Hospital of Jiangsu University from January 2019 to December 2019 were selected, and their serum samples were detected by indirect immunofluorescence method and particle agglutination at the same time, and the results were compared between the two methods. **Results** The positive rate of MP-IgM detected by indirect immunofluorescence method was 70.69% (381/539), and the positive rate of MP-IgM detected by particle agglutination was 73.10% (394/539), and there was no statistically significant difference in the detection result between the two methods ($P=0.409$). The positive rates of MP-IgM detected by indirect immunofluorescence method in children aged 0 to 2 years, 3 to 5 years, and ≥ 6 years were 70.00%, 78.51% and 60.25%, respectively. The positive rates of MP-IgM detected by particle agglutination were 70.67%, 76.32% and 70.81%, respectively. There were no significant differences in the detection results between the two methods in 0-2 years old group and 3-5 years old group ($P>0.05$). There were significant differences in the detection results between the two methods in the ≥ 6 years old group ($P<0.05$). For the children with disease courses of ≤ 3 days, 4-7 days, 8-14 days and ≥ 15 days, the positive rates of MP-IgM detected by indirect immunofluorescence method were 61.90%, 68.10%, 82.35% and 84.09%, respectively, and the positive rates of MP-IgM detected by particle agglutination were 65.48%, 70.86%, 83.53% and 84.09%, respectively; there were no significant differences in the detection results between the two methods ($P>0.05$), and the positive rates of the detections showed an increasing trend as the course of the disease prolonged. **Conclusion** Both indirect immunofluorescence method and particle agglutination can be used to detect MP infection in children. The course of disease from 8 to 14 days is a better detection time window, which can avoid missed diagnosis to a greater extent and start treatment as soon as possible.

[**Key words**] Children; *Mycoplasma pneumoniae*(MP); Indirect immunofluorescence method; Particle agglutination

肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, MP)是目前已知的一种最小的可自我复制的原核细胞微生物,主要通过飞沫经呼吸道传播,人群普遍易感,尤其多见于学龄前儿童^[1,2]。由于MP无细胞壁,常规抗感染药物因作用于细胞壁而对其无效,需应用大环内酯类、氟喹诺酮类药物^[2]。因此,早期快速准确的MP检测对避免抗生素滥用意义重大。目前,MP检测主要有培养法、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)法及血清学检测法。培养法是诊断MP感染的金标准,但其检测耗时长且阳性率低,对早期诊断价值不大^[3]。PCR法灵敏度高,但存在易污染、操作繁琐等缺陷^[4],临床检测MP主要依靠血清学检测法。颗粒凝集法灵敏度高、操作简便,为临床上应用较广的MP血清学检测方法。基于间接免疫荧光法的呼吸道病原体谱MP-IgM联检试剂盒可同时检测多种病原体,在病程长、病情复杂的患儿中应用较多。本研究旨在比较间接免疫荧光法和颗粒凝集法诊断MP感染的效能,探讨两者对不同年龄及病程MP感染患者的诊断价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择2019-01~2019-12我院儿科收治的MP感染患儿539例,年龄4月~12岁,其中男259例,女280例。纳入标准:(1)符合MP感染临床诊断标准^[5];(2)均同时采用间接免疫荧光法

与颗粒凝集法检测疾病。排除标准:(1)合并其他病原体感染;(2)存在免疫缺陷、心血管疾病、先天畸形等。本研究经医院医学伦理委员会批准,获得患者家属知情同意。

1.2 MP感染的临床诊断标准 根据《褚福棠实用儿科学》^[5],MP感染临床诊断需符合以下条件:(1)有发热、咳嗽、咽痛等症状,持续剧烈咳嗽,X线表现较体征显著;(2)白细胞计数正常或稍增高,红细胞沉降率增快;(3)青霉素、头孢类抗生素无效,大环内酯类抗生素有效。

1.3 检测方法 采集患儿空腹静脉血2 ml,进行血清分离,2 h内送检,当天不能检测的标本于2~8℃保存。(1)颗粒凝集法:采用MP抗体检测试剂盒(日本富士瑞必欧株式会社),滴度 $\geq 1:80$ 为阳性,将显示出阳性反应图像时的最终稀释倍数作为抗体滴度,具体操作如下:①用血清稀释液复溶致敏粒子和未致敏粒子,吸取100 μ l血清稀释液滴入第1孔,25 μ l至第2~8孔;②吸取25 μ l样品加入第1孔,第1~8孔进行倍比稀释;③吸取25 μ l未致敏粒子至第2孔,吸取25 μ l致敏粒子至第3~8孔;④使用平板混合器彻底混合各孔的内容物,室温下静置3 h,于平板观测器读取图像。(2)间接免疫荧光法:采用呼吸道病原体谱抗体IgM试剂盒(欧蒙公司),按照说明书进行检测,具体措施如下:①吸取30 μ l

稀释后血清至加样板反应区,将覆有生物薄片的载片盖于加样板,室温温育 30 min;②磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)冲洗载片,并浸入 PBS 缓冲液中浸泡 5 min;③滴加 25 μ l 荧光二抗至洁净加样板反应区,将反应后载片擦干盖至加样板,室温下温育 30 min 后重复上述冲洗步骤;④滴加缓冲甘油,覆盖载玻片,置于荧光显微镜下观察。

1.4 统计学方法 应用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析,计数资料以例数(百分率)[$n(\%)$]表示,两组比较采用配对 χ^2 检验(Mc-Nemar 检验)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测 MP-IgM 阳性率比较 间接免疫荧光法检测 MP-IgM 的阳性率为 70.69% (381/539),颗粒凝集法的检测阳性率为 73.10% (394/539),两种方法检测结果差异无统计学意义($P = 0.409$)。两者联合检测阳性率为 91.47% (493/539)。

2.2 不同年龄组两种方法检测 MP-IgM 阳性率比较 间接免疫荧光法检得 0~2 岁、3~5 岁、 ≥ 6 岁患儿的 MP-IgM 阳性率分别为 70.00%、78.51%、60.25%,颗粒凝集法检得阳性率分别为 70.67%、76.32%、70.81%。两种方法检测结果在 0~2 岁和 3~5 岁组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),在 ≥ 6 岁组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同年龄组两种方法检测 MP-IgM 阳性率比较 [$n(\%)$]

组别	例数	间接免疫荧光法	颗粒凝集法	P
0~2 岁组	150	105(70.00)	106(70.67)	1.000
3~5 岁组	228	179(78.51)	174(76.32)	0.668
≥ 6 岁组	161	97(60.25)	114(70.81)	0.046

2.3 不同病程两种方法检测 MP-IgM 阳性率比较 对于病程 ≤ 3 d、4~7 d、8~14 d 和 ≥ 15 d 的患儿,间接免疫荧光法检得 MP-IgM 阳性率分别为 61.90%、68.10%、82.35%、84.09%,颗粒凝集法检得阳性率分别为 65.48%、70.86%、83.53%、84.09%,两种方法检测结果差异无统计学意义($P > 0.05$),检得阳性率随病程延长均呈增高趋势。见表 2。

表 2 不同病程两种方法检测 MP-IgM 阳性率比较 [$n(\%)$]

病程	例数	间接免疫荧光法	颗粒凝集法	P
≤ 3 d	84	52(61.90)	55(65.48)	0.728
4~7 d	326	222(68.10)	231(70.86)	0.228
8~14 d	85	70(82.35)	71(83.53)	1.000
≥ 15 d	44	37(84.09)	37(84.09)	1.000

3 讨论

3.1 MP 是引起呼吸道感染的常见病原体,秋冬季多发,可引起周期性流行^[6]。由于免疫功能尚未发育完善,儿童是呼吸道感染的高发人群,MP 是住院儿童社区获得性肺炎的主要病原体之一^[7,8]。MP 感染可表现为发热、刺激性咳嗽,还可诱发机体自身免疫反应,引起皮肤黏膜损害、心肌炎、脑脊髓膜炎、肾炎等多种肺外损伤^[9~11]。由于起病缓慢且存在多种肺外表现^[12],临床上 MP 与其他病原体感染较难区分,容易漏诊、误诊。因此,早期、准确的实验室检查方法对临床治疗意义重大。

3.2 MP 分离培养、PCR 法和血清学检测是实验室检测 MP 感染的主要方法。培养法特异性强,是诊断的金标准,但耗时长(新型快速培养法仍需 5~7 d)、阳性率低,对早期诊断价值不大^[3]。PCR 法灵敏度高,但对操作技术及实验室条件要求高,不能判断病原体是否为呼吸道正常携带,一般不作为临床首选^[4]。血清学检测操作简单快捷、成本低,广泛应用于临床,其中最常见的方法包括颗粒凝集法和间接免疫荧光法。颗粒凝集法是以明胶颗粒为载体,基于特异性免疫凝集反应检测血清中的 MP 总抗体,包含 IgA、IgM、IgG。既往检测儿童 MP 感染的比较研究中^[13,14],颗粒凝集法阳性率差异较大,考虑与各研究中 MP 感染患儿纳入标准不同有关,但与胶体金法、酶联免疫吸附法等对比,颗粒凝集法表现出更高的敏感性,且由于耗时短、操作简便等优点,使其在临床上应用广泛。基于间接免疫荧光法的呼吸道病原体谱 MP-IgM 联检试剂盒可同时检测多种病原体^[15],尤其适用于病程长、病情相对复杂患儿的病因排查,在住院儿童中应用更多。MP 特异性 IgM 于感染后 1 周左右产生^[16],抗体产生具有个体、年龄差异性,在儿童 MP 感染中,依据不同年龄、病程对两种方法进行比较的文献少见。因此,本研究同时采用颗粒凝集法和间接免疫荧光法检测 MP 肺炎患儿血清,分析两者在早期辅助诊断儿童 MP 感染的临床价值。

3.3 本研究中,间接免疫荧光法与颗粒凝集法检测 MP 感染的阳性率分别为 70.69% 和 73.10%,两种方法检得结果差异无统计学意义($P > 0.05$),这与奚卫等^[17]的报道相似,说明间接免疫荧光法与颗粒凝集法均为灵敏度较高的方法。颗粒凝集法阳性率略高,可能与其检测抗体为血清中 MP 总抗体有关。联合两种方法检得阳性率升高至 91.47%。另外,本研究分析了两种方法对不同年龄组患儿的检测结果差异,发现间接免疫荧光法在 ≥ 6 岁组检得阳性

率较 0~2 岁、3~5 岁组低,这与既往认为年龄越大抗体产生能力越强的观点不符,考虑可能与本研究对象中 ≥ 6 岁组患儿肺部病变较重有关,而肺部病变范围大可能抑制机体产生抗体的能力。颗粒凝集法检测结果以抗体滴度表示,检测范围更宽,对更低浓度的 MP 抗体检测灵敏度更高,而这可能是其对 ≥ 6 岁组患儿检得阳性率更高的原因。

3.4 黄象维等^[18]采用酶联免疫吸附法和冷凝集试验同时检测 MP 感染患儿血清,分析了不同病程两种方法检测阳性率,结果显示随着病程延长,两种检测方法所得阳性率均逐渐增高,8~14 d 组与 ≥ 15 d 组阳性率比较无显著差异。虽然检测方法不同,但本研究结果与之相似:随着病程延长两种方法检得阳性率呈逐渐上升趋势,各病程组 MP-IgM 阳性率无显著差异。提示 8~14 d 是较好的检测时间窗,但由于产生抗体能力的个体差异,对于高度怀疑 MP 感染而实验室检查阴性的患儿,可重复检测,避免漏诊。

综上所述,在诊断儿童 MP 感染时,颗粒凝集法和间接免疫荧光法均有较高的灵敏度,如条件允许,两者联合检测能进一步提高诊断效能。颗粒凝集法在抗体浓度较低的患者可能更具有优势,但在近期既往感染患者也可出现阳性结果,单独应用时需要注意结合临床表现进行判断。8~14 d 是 MP 感染较好的检测时间窗,能使患儿得到及时治疗且最大程度避免漏诊。进一步扩大样本,细化年龄、病程分层,根据病情分组,也许能进一步揭示两种方法的差异。

参考文献

- Merida-Vieyra J, Aquino-Andrade A, Palacios-Reyes D, et al. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in Mexican children with community-acquired pneumonia: experience in a tertiary care hospital[J]. *Infect Drug Resist*, 2019,12:925-935.
- Kumar S. *Mycoplasma pneumoniae*: a significant but underrated pathogen in paediatric community-acquired lower respiratory tract infections [J]. *Indian J Med Res*, 2018,147(1):23-31.
- Dash S, Chaudhry R, Dhawan B, et al. Clinical spectrum and diagnostic yields of *Mycoplasma pneumoniae* as a causative agent of community-acquired pneumonia[J]. *J Lab Physicians*, 2018,10(1):44-49.
- Honda J, Yano T, Kusaba M, et al. Clinical use of capillary PCR to diagnose *Mycoplasma pneumoniae* [J]. *J Clin Microbiol*, 2000,38(4):1382-1384.

- 江载芳,申昆玲,沈颖. 褚福棠实用儿科学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2015:1281-1282.
- Yang EA, Lee KY. Are alternative antibiotics needed for antibiotic-nonresponsive *Mycoplasma pneumoniae pneumoniae*? [J]. *Clin Exp Pediatr*, 2020,63(2):44-45.
- Kutty PK, Jain S, Taylor TH, et al. *Mycoplasma pneumoniae* among children hospitalized with community-acquired pneumonia [J]. *Clin Infect Dis*, 2019,68(1):5-12.
- 徐晖,尚芸婕,成学蓉,等. 兰州地区急性呼吸道感染住院患儿病原学分析[J]. *中国临床新医学*, 2018,11(9):889-891.
- Molero-Senosiani M, Domingo-Gordo B, Fernández Cabrera C, et al. Neuro-ophthalmological manifestations as complication of an infection with *Mycoplasma pneumoniae* and subsequent development of disseminated acute encephalitis [J]. *Arch Soc Esp Oftalmol*, 2020,95(5):254-258.
- 孙东明,许渝,罗万军,等. 肺炎支原体肺炎患儿心肌损害的影响因素分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2020,30(7):1053-1056.
- Bhoopalan SV, Chawla V, Hogan MB, et al. Bullous skin manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection: a case series [J]. *J Investig Med High Impact Case Rep*, 2017,5(3):2324709617727759.
- 韦秋玲. 小儿肺炎支原体感染并发消化系统损害临床分析 [J]. *中国临床新医学*, 2016,9(5):436-438.
- 黎翠翠,李蔼文,苗霞,等. 胶体金法和被动凝集法在肺炎支原体检测中的比较 [J]. *实用医学杂志*, 2017,33(12):2036-2038.
- 张沛,温宝雄. 3 种血清法检测小儿肺炎支原体的结果比较 [J]. *检验医学与临床*, 2019,16(4):543-544.
- 张智路,路华敏. 间接免疫荧光法检测 IgM 抗体在儿童呼吸道感染中的应用 [J]. *检验医学与临床*, 2019,16(2):249-252.
- Lee SC, Youn YS, Rhim JW, et al. Early serologic diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae pneumoniae*: an observational study on changes in titers of specific-IgM antibodies and cold agglutinins [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016,95(19):e3605.
- 奚卫,张颐豪,赵荣平,等. 3 种检测方法在儿童肺炎支原体感染诊断中的应用 [J]. *检验医学*, 2019,34(10):941-943.
- 黄象维,徐霞,郭晶晶,等. 酶联免疫吸附试验与冷凝集试验对诊断早期肺炎支原体感染的临床价值比较 [J]. *实用医学杂志*, 2017,33(23):3987-3989.

[收稿日期 2020-07-17][本文编辑 余军 吕文娟]

本文引用格式

卢隽滢,卢红艳,常明,等. 间接免疫荧光法与颗粒凝集法诊断儿童肺炎支原体感染的临床价值比较 [J]. *中国临床新医学*, 2020,13(12):1217-1220.