

# 儿童支原体大叶性肺炎三种病原体检测方法的对比分析

王 琳<sup>1</sup>,王笔金<sup>2</sup>

(南京医科大学第二附属医院检验医学中心<sup>1</sup>,输血科<sup>2</sup>,江苏 南京 210011)

**摘要:**目的 研究肺炎支原体感染所致大叶性肺炎的早期实验室检查结果,探讨相关指标的疾病预测价值。方法 回顾性分析南京医科大学第二附属医院 2023 年 1 月-8 月收治的疑似肺炎支原体感染致大叶性肺炎患儿的实验室检测结果,分析三种支原体病原体学和血清学检测方法对儿童支原体大叶性肺炎的早期诊断意义。结果 核酸检测法的 MP 阳性检出率最高,化学发光法、间接免疫荧光法和核酸检测法的 MP 检测阳性率分别为 37.78%、28.89%和 82.22%;三种检测方法的一致性较差,两两比较的 Kappa 值分别为 0.089、-0.444 和 -0.533。不同性别患儿化学发光法 MP 检测结果比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );不同年龄、不同拷贝数三种检测方法 MP 阳性检出率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 同步进行核酸和抗体检测有助于及早、准确诊断儿童支原体肺炎,为该疾病的早期诊断和治疗提供依据。

**关键词:**肺炎支原体;大叶性肺炎;肺炎支原体 DNA;肺炎支原体抗体

中图分类号:R725.6

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.18.015

文章编号:1006-1959(2024)18-0083-05

## Comparative Analysis of Three Pathogen Detection Methods for Mycoplasma Lobar Pneumonia in Children

WANG Lin<sup>1</sup>,WANG Bi-jin<sup>2</sup>

(Laboratory Medicine Center<sup>1</sup>,Blood Transfusion Department<sup>2</sup>,the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University,  
Nanjing 210011,Jiangsu,China)

**Abstract:**Objective To study the early laboratory examination results of lobar pneumonia caused by Mycoplasma pneumoniae infection, and to explore the predictive value of related indicators.Methods The laboratory test results of children with lobar pneumonia caused by suspected mycoplasma pneumoniae infection admitted to the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University from January to August 2023 were retrospectively analyzed. The significance of three mycoplasma pathogens and serological detection methods in the early diagnosis of mycoplasma lobar pneumonia in children was analyzed.Results The positive detection rate of MP by nucleic acid detection method was the highest, the positive detection rates of MP by chemiluminescence method, indirect immunofluorescence method and nucleic acid detection method were 37.78%, 28.89% and 82.22%, respectively, the consistency of the three detection methods was poor, and the Kappa values of pairwise comparison were 0.089, -0.444 and -0.533, respectively. There was a statistically significant difference in the results of MP detection by chemiluminescence in children of different genders ( $P<0.05$ ).Conclusion Simultaneous nucleic acid and antibody detection is helpful for early and accurate diagnosis of mycoplasma pneumonia in children, and provides a basis for early diagnosis and treatment of the disease.

**Key words:** Mycoplasma pneumoniae; Lobar pneumonia; Mycoplasma pneumoniae DNA; Mycoplasma pneumoniae antibody

肺炎支原体肺炎 (mycoplasma pneumoniae pneumonia, MPP) 是儿童时期常见的肺部严重感染性疾病,病变可累及肺段甚至全叶,一般具有起病急、病情进展快、症状较严重、累及范围较广、病程较长等临床特点<sup>[1-4]</sup>,可出现肺不张及大量胸腔积液、肺脓肿,以及肺外多器官系统功能损害等并发症,甚

至可导致呼吸衰竭,严重威胁儿童的健康<sup>[5-7]</sup>。如何早期发现重症和危重症病例、合理救治、避免死亡和后遗症的发生是 MPP 诊治的核心和关键问题。本研究比较了同一住院 MPP 患儿三种支原体病原学和血清学的首次检查结果,分析相关指标对儿童支原体大叶性肺炎的预测价值,以期为该疾病的早期诊断提供依据,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2023 年 1 月-8 月在南京医科大学第二附属医院确诊为大叶性肺炎,且送检深部呼吸道分泌物 MP-DNA 的住院患儿 45 例为研究对象。纳入标准:所有患儿经过确诊,符合儿童支原体

作者简介:王琳(1974.4-),女,江苏滨海县人,本科,副主任技师,主要从事医学检验工作

通讯作者:王笔金(1969.9-),男,江苏南京人,本科,主任技师,主要从事医学检验工作

大叶性肺炎诊断标准;患儿有发热和(或)咳嗽等呼吸道感染症状,肺部X线或CT呈肺叶或节段性片状致密影或肺实质浸润性病变等症状。排除标准:细菌性肺炎、病毒性肺炎、衣原体肺炎、军团菌肺炎、肺结核、支气管哮喘、先天免疫系统缺陷等<sup>[8]</sup>;临床资料不全患儿。本研究经医院伦理委员会批准,患儿家属知情同意,并签署同意书。

**1.2 方法** 所有患儿入院当日采集静脉血进行化学发光法和间接免疫荧光检测(MP-IgM),入院24 h内采用咽拭子取痰法取深部呼吸道分泌物,进行肺炎支原体DNA检测,操作方法均按试剂说明书操作。化学发光法采用亚辉龙 iFlash 3000-H 化学发光免疫分析仪及配套试剂,试剂批号 20230401,检测结果判定标准:COI $\geq$ 1.1 为阳性,<0.9 为阴性,0.9 $\leq$ COI<1.1 为可疑。若检测显示可疑则重复检测,并取两次测量平均值判定。间接免疫荧光法使用德国欧蒙 Sprinter XL 全自动间接免疫荧光/酶联免疫一体机和试剂,批号 F221207CC 和批号 F230616CG,检测结果使用 OLYMPUS BX43 荧光显微镜严格规范判读。核酸检测使用美国 ABI7300 Real Time PCR System 和试剂,批号 202306296,PCR 拷贝数 $\geq$ 1.0 $\times$ 10<sup>3</sup> copies/ml 为阳性。收集研究对象的性别、年龄、入院后同时接受三种检测方法检测的首次检测结果等资料。

**1.3 统计学方法** 采用 SPSS 20.0 软件进行统计描述,计量资料采用( $\bar{x}\pm s$ )表示,计数资料采用[n(%)]来表示,使用 $\chi^2$ 检验和 Fisher's 确切概率法检验来比较组间差异, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。使用 Kappa 系数分析比较两种检测方法的一致性。

## 2 结果

**2.1 大叶性肺炎患儿的检测结果** 45 例大叶性肺炎患儿中,男 19 例,女 26 例,男女比 0.73:1;患儿年龄 4 个月~11 岁,平均年龄(6.78 $\pm$ 2.79)岁,0~3 岁 8 例(17.78%),3~6 岁 9 例(20.00%),7~11 岁 28 例(62.22%)。其中有 19 例(42.22%),三种检测方法的检测结果完全相符。在所有 8 例(17.78%)核酸检测结果为阴性的标本中,化学发光法和间接免疫荧光法的检测结果均为阴性;26 例(57.78%)三种检测方法的检测结果不相符的结果中,核酸检测结果均为阳性,化学发光法和间接免疫荧光法为阳性或为阴性,其中核酸检测结果阳性,化学发光法阴性和间接

免疫荧光法阴性的标本 18 例(40.00%),核酸检测结果阳性,化学发光法阳性和间接免疫荧光法阴性的标本 6 例(13.33%),酸检测结果阳性,化学发光法阴性和间接免疫荧光法阳性的标本 2 例(4.44%)见表 1。

**2.2 三种方法 MP 检测阳性率比较** 三种方法 MP 检测阳性率比较见表 2。45 例大叶性肺炎患儿中,化学发光法的 MP 检测阳性例数为 17 例(37.78%),间接免疫荧光法为 13 例(28.89%),核酸检测法为 37 例(82.22%)。三种检测方法的两两比较中,化学发光法与间接免疫荧光法比较,差异无统计学意义,一致性较差( $\chi^2=0.800$ ,  $P=0.371$ ,  $Kappa=0.089$ );化学发光法与核酸检测法比较,差异有统计学意义,不一致性中等( $\chi^2=18.519$ ,  $P=0.000$ ,  $Kappa=-0.444$ );间接免疫荧光法与核酸检测法比较,差异有统计学意义,不一致性中等( $\chi^2=25.920$ ,  $P=0.000$ ,  $Kappa=-0.533$ ),见表 2。

**2.3 不同性别三种方法检测 MP 阳性率比较** 不同性别化学发光法 MP 检测结果比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );间接免疫荧光法和核酸检测法不同性别 MP 检测结果比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。

**2.4 不同年龄三种方法检测 MP 阳性率比较** 三种方法在年龄<3 岁、3~6 岁、>6 岁组 MP 检测阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );不同年龄核酸检测法 MP 检测结果比较,差异有统计学意义( $\chi^2=15.423$ ,  $P=0.000$ ),化学发光法和间接免疫荧光法 MP 检测组内和组间阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 4。

**2.5 不同拷贝数三种方法检测阳性率比较** 45 例样本中<10<sup>3</sup> 拷贝数样本 8 例(17.78%),10<sup>3</sup>~10<sup>6</sup> 拷贝数样本 21 例(46.67%),>10<sup>6</sup> 拷贝数样本 16 例(35.55%)。不同拷贝数三种检测方法 MP 检测阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );不同拷贝数化学发光法和核酸检测法 MP 检测比较,差异有统计学意义( $P=0.041$ 、0.000),不同拷贝数间接免疫荧光法检测 MP 检测结果比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。三种方法的组间两两比较,化学发光法<10<sup>3</sup> 组与 10<sup>3</sup>~10<sup>6</sup> 组、核酸检测法<10<sup>3</sup> 组与 10<sup>3</sup>~10<sup>6</sup> 组,以及<10<sup>3</sup> 组、>10<sup>6</sup> 拷贝数的 MP 检测结果比较,差异有统计学意义( $P=0.000$ ),见表 5。

表 1 大叶性肺炎患儿的检测结果

编号	性别	年龄	化学发光法(IgM)	间接免疫荧光法(IgM)	核酸检测(DNA)	数量级(Lg 拷贝数)
1	男	10 岁	+	+	+	7
2	男	6 岁	-	-	+	7
3	男	1 岁	-	-	-	1
4	男	6 岁	+	-	+	5
5	男	4 岁	-	-	-	1
6	男	9 岁	+	+	+	7
7	男	2 岁	+	-	+	5
8	男	8 岁	+	-	+	6
9	男	4 个月	-	-	+	7
10	男	3 岁	+	+	+	7
11	男	8 岁	+	+	+	6
12	男	10 岁	+	+	+	6
13	男	5 岁	-	-	-	1
14	男	3 岁	-	-	-	2
15	男	8 岁	-	-	+	7
16	男	5 岁	-	-	+	6
17	男	7 岁	-	-	+	7
18	男	10 岁	+	-	+	6
19	男	9 岁	+	-	+	8
20	女	9 岁	-	-	-	1
21	女	1 岁	-	-	-	2
22	女	7 岁	-	-	+	7
23	女	2 岁	+	+	+	6
24	女	8 岁	-	-	+	6
25	女	10 岁	-	-	+	5
26	女	7 岁	+	-	+	6
27	女	9 岁	+	+	+	6
28	女	11 岁	-	-	+	6
29	女	8 岁	-	+	+	6
30	女	8 岁	-	-	+	7
31	女	8 岁	-	-	-	1
32	女	9 岁	-	-	+	6
33	女	7 岁	-	-	+	8
34	女	7 岁	+	+	+	7
35	女	10 岁	-	-	+	6
36	女	7 岁	+	+	+	7
37	女	9 岁	-	-	+	6
38	女	6 岁	-	-	+	6
39	女	6 岁	+	+	+	6
40	女	11 岁	-	-	+	6
41	女	3 岁	+	+	+	7
42	女	9 岁	-	-	+	7
43	女	6 岁	-	-	-	1
44	女	7 岁	-	+	+	6
45	女	6 岁	-	-	+	8

表 2 三种方法检测大叶性肺炎患儿 MP 结果比较[n(%)]

结果	化学发光法	间接免疫荧光法	核酸检测
阳性	17(37.78)	13(28.89)	37(82.22)
阴性	28(62.22)	32(71.11)	8(17.78)

表 3 不同性别三种 MP 检测结果比较(n)

性别	n	化学发光法		间接免疫荧光法		核酸检测	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
男	19	11	8	6	13	16	3
女	26	7	19	8	18	22	4

表 4 不同年龄三种检测方法 MP 检测结果(n)

年龄(岁)	n	化学发光法		间接免疫荧光法		核酸检测	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
<3	8	4	4	3	5	5	2
3~6	9	2	7	1	8	2	8
>6	28	11	17	9	19	26	2

表 5 不同拷贝数三种方法检测 MP 检测的结果比较(n)

拷贝数	n	化学发光法		间接免疫荧光法		核酸检测	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
<10 <sup>3</sup>	8	0	8	0	8	0	8
10 <sup>3</sup> ~10 <sup>6</sup>	21	10	11	7	14	21	0
>10 <sup>6</sup>	16	7	9	6	10	16	0

### 3 讨论

肺炎支原体可引起儿童上或下呼吸道感染,是社区获得性肺炎的重要病原。10%~40%的儿童社区获得性肺炎(CAP)由肺炎支原体所引起,早期如何准确诊断并合理选择抗菌药物一直是临床中诊治儿童 MPP 亟需解决的难题。

支原体培养是鉴定 MP 感染的金标准<sup>[9]</sup>,但因为生长营养要求高,生长时间缓慢,阳性率低,所以在临床上不具备早期诊断价值。MP 感染的潜伏期为 2~3 周,人体一般在感染 MP 后 4~5 d 才出现 IgM 类抗体,3~4 周达高峰,以后逐渐降低,因此 IgM 抗体阳性可作为急性期感染的诊断指标<sup>[10-12]</sup>。而 IgG 较 IgM 出现晚,无早期诊断价值,如显著升高提示近期感染,显著降低说明处于感染后期。婴幼儿由于免疫功能不完善、产生抗体的能力较低,可能出现假阴性或低滴度的抗体,即使 IgM 抗体检测阴性,也不能否定 MP 感染,需进行 MP 核酸检测或检测 IgG 抗体,可结合患儿的病程及年龄综合考虑;当恢复期和急性期 MP 抗体滴度呈 4 倍或 4 倍以上增高或减

低时,可确诊支原体感染<sup>[9]</sup>。

血清学和核酸检测是目前诊断 MP 感染的常规实验室手段<sup>[13-15]</sup>。化学发光法具有高灵敏度、高特异性、自动化快速检测和性价比高等特点,较间接免疫荧光法的灵敏度更高,费用低,且操作简便、耗时短等多种优势<sup>[16-18]</sup>。核酸扩增诊断技术(RNA、DNA、高通量测序)灵敏度高、特异性强、快速,不受年龄、产生抗体的能力、病程早晚及用药等因素的影响<sup>[19,20]</sup>,在 MP 感染早期的检出率最高,可用于早期诊断;而血清学检测具备简便快速、重复性好的特点,因此核酸检测与 IgM 同时测定,并将二者的结果联合解读,可提高儿童支原体肺炎的早期诊断率,达到指导用药和提高疗效的目的。本研究使用的三种检测方法中,核酸检测法的 MP 检测阳性率最高,化学发光法次之,间接免疫荧光法最低,且核酸检测法的 MP 检测阳性率是后 2 种方法的 2 倍以上,能够检出化学发光法和间接免疫荧光法检测为阴性的假阴性标本,故核酸检测法是 MP 早期实验室诊断首选的检测方法。尽管 MP 的病原体核酸检测对于 MPP 的早

期诊断和早期治疗干预非常重要,但 MP 的抗体检测也是 MPP 早期诊治非常必要的补充手段。通过对三种方法对 MP 检测的一致性分析显示,尽管三种检测方法的一致性较差,从检出率及不同性别组、不同年龄组和不同拷贝数组 MP 检测结果的统计学分析结果看,化学发光法比间接免疫荧光法对患儿 IgM 类抗体的检测更具优势。因此,化学发光法是本院特异性 MP-IgM 血清学检测的推荐方法,对儿童支原体大叶性肺炎的早期诊治具有重要作用。

综上所述,以上三种方法对儿童支原体大叶性肺炎实验室早期诊断的一致性较差,其中核酸检测法的阳性检出率最高,间接免疫荧光法最低,化学发光法检测 MP-IgM 优于间接免疫荧光法。联合以上三种方法对于儿童支原体大叶性肺炎的早期诊断不是必须的,核酸检测法最具诊治价值,同步进行 MP 核酸和抗体检测有助于及早、准确诊断儿童支原体肺炎。如果没有条件开展核酸检测,利用化学发光法检测特异性 MP-IgM,对于降低儿童支原体大叶性肺炎的漏检率,提高该疾病的诊断率具有一定的临床应用价值,是临床优先考虑使用的 MP 检测方法。

#### 参考文献:

[1] 中华人民共和国国家健康委员会,国家中医药局.儿童社区获得性肺炎诊疗规范(2019 年版)[J].中华临床感染病杂志,2019,12(1):6-13.

[2] Liu WK,Liu Q,Chen DH,et al.Epidemiology of acute respiratory infections in children in Guangzhou: a three-year study[J].PLoS One,2014,9(5):e96674.

[3] 李素荣,牟京辉,常丽,等.肺炎支原体感染所致儿童坏死性肺炎 30 例胸部 CT 表现及转归[J].中华儿科杂志,2013,51(3):211-215.

[4] Yun KW,Wallihan R,Juergensen A,et al.Community - Acquired Pneumonia in Children: Myths and Facts[J].Am J Perinatol,2019,36(S02):S54-S57.

[5] Zhang C,Zhang Q,Du JL,et al.Correlation Between the Clinical Severity, Bacterial Load, and Inflammatory Reaction in Children with Mycoplasma Pneumoniae Pneumonia [J].Curr Med Sci,2020,40(5):822-828.

[6] Su M,Wang Q,Li D,et al.Prevalence and clinical characteristics of hospitalized children with community - acquired Mycoplasma pneumoniae pneumonia during 2017/2018, Chengde, China[J].Medicine (Baltimore),2021,100(5):e23786.

[7] Ning G,Wang X,Wu D,et al.The etiology of community - acquired pneumonia among children under 5 years of age in mainland China, 2001-2015: A systematic review [J].Hum Vaccin Immunother,2017,13(11):2742-2750.

[8] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华实用儿科临床杂志》编辑委员会.儿童肺炎支原体肺炎诊治专家共识(2015 年版)[J].中华实用儿科临床杂志,2015,30(17):1304-1308

[9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会.儿童肺炎支原体肺炎诊疗指南(2023 年版)[J].中国合理用药探索,2023,20(3):16-24.

[10] 富琤,沙俊.肺炎支原体 IgM、IgG 和血清 CRP、PCT 水平在小儿支原体肺炎诊疗中的检测价值[J].川北医学院学报,2020,35(2):321-323,346.

[11] Choo S,Kim SH,Lee E.Clinical significance of Mycoplasma pneumoniae specific IgM titer in children hospitalized with Mycoplasma pneumoniae pneumonia [J].BMC Infect Dis,2022,22(1):470.

[12] Tang M,Wang D,Tong X,et al.Comparison of different detection methods for Mycoplasma pneumoniae infection in children with community - acquired pneumonia [J].BMC Pediatr,2021,21(1):90.

[13] 张若洋,范恩勇,王明元,等.基于 PCR-化学发光的 HBV/HCV/HIV 并行核酸检测试剂盒的评价[J].南京医科大学学报(自然科学版),2017,37(3):335-339.

[14] 郭淑红.化学发光免疫法与酶联免疫吸附试验检测肺炎支原体肺炎患儿血清 MP 抗体结果比较[J].河南医学研究,2020,29(19):3594-3595.

[15] Chen D,Wu P,Liu D,et al.Clinical role of M. pneumoniae typing antibody detected by chemiluminescent immunoassay in the diagnosis of Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J].Int Immunopharmacol,2022,112:109196.

[16] 谢文俊.肺炎支原体抗体三种血清学检测方法的对比分析[J].中国医药科学,2019,9(11):90-92.

[17] Yoon SH,Min IK,Ahn JG.Immunochromatography for the diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection: a systematic review and meta-analysis[J].PLoS One,2020,15(3):e0230338.

[18] Tuo W,Guo X,Wu M,et al.Application value of antibody titres and RNA detection in the early prediction of Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children: a retrospective study [J].BMC Infect Dis,2023,23(1):220.

[19] Ge M,Song Q,Guo Q,et al.Diagnostic Value of Serum ELISA of Mycoplasma Pneumoniae IgM and IgG and Passive Particle Agglutination for Mycoplasma Pneumoniae Pneumonia in Children[J].Clin Lab,2021,67(1).

[20] Lee WJ,Huang EY,Tsai CM,et al.Role of Serum Mycoplasma pneumoniae IgA, IgM, and IgG in the Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae - Related Pneumonia in School - Age Children and Adolescents [J].Clin Vaccine Immunol,2017,24(1):e00471-16.

收稿日期:2023-09-20;修回日期:2023-10-10

编辑/肖婷婷