

· 临床研究 ·

肺炎支原体感染4种特异性抗体检测的临床研究

曹兰芳,徐凌云,卢燕鸣,马敏,毛海英,陆伟蓉

(上海第二医科大学附属仁济医院儿科 上海 200001)

[摘要] 目的 探讨肺炎支原体(MP)特异性IgM、IgA、IgG对肺炎支原体感染诊断价值,及MP-IgE与支气管哮喘发病的关系。方法 采用酶联免疫吸附试验对临床高度怀疑肺炎支原体感染患儿测定特异性MP-IgA、IgG、IgE,采用颗粒凝集法测定MP-IgM,并对57例肺炎支原体感染患儿随访2~5.5月。结果 在372例肺部感染患儿中,MP-IgA阳性184人,占49.5%;MP-IgM阳性241人,占64.8%;2种抗体同时阳性140人,占37.6%,2种MP特异抗体测定结果的一致性非常显著。其中149例测定了MP-IgG,105例阳性,占70.5%;而30例正常对照组中仅2例MP-IgG阳性,占6.7%,正常对照组MP-IgA、MP-IgM皆为阴性。MP-IgA、MP-IgM、MP-IgG的阳性率,在发病第2周均达到80%以上,明显高于第1周,在随访的57例MP感染患儿中,25例有反复呼吸道感染,MP-IgA在随访时阳性率明显增高,MP-IgM滴度居高不下;而在32例无呼吸道感染患儿中,MP-IgA的阳性率变化不明显,MP-IgM滴度则明显下降。MP感染组的MP-IgE的阳性率达73.3%,与哮喘合并MP感染组接近,但与哮喘合并非MP感染组及正常对照组比较差异有显著性。结论 4种特异性肺炎支原体抗体测定对于提高MP感染诊断的特异性、敏感性具有十分重要的临床价值,尤其对于MP再感染的发现及MP感染诱发支气管哮喘的发作机制研究及进一步治疗提供了理论依据。

[中国当代儿科杂志,2005,7(2):143-146]

[关键词] 肺炎支原体;肺炎支原体抗体IgM、IgG、IgA、IgE;儿童

[中图分类号] R563.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2005)02-0143-04

Determination of four isotype-specific antibodies against *Mycoplasma pneumoniae*

Lan-Fang CAO, Ling-Yun XU, Yan-Ming LU, Min MA, Hai-Ying MAO, Wei-Rong LU. Department of Pediatrics, Renji Hospital Affiliated to Shanghai Second Medical University, Shanghai 200001, China (Email:clf530417@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To study the value of isotype-specific IgM, IgA, IgG and IgE antibodies against *Mycoplasma pneumoniae* (MP) in the diagnosis of childhood MP infection and the relationship between MP-IgE and asthma attack. **Methods** Specific MP-IgA, MP-IgE and MP-IgG antibodies were measured by ELISA; and specific MP-IgM, with pellet agglutination assay in children with suspected MP infection. Fifty-seven cases with definitive diagnosis of MP infection were followed up for 2-5.5 months. Thirty healthy age-matched children were used as the controls. **Results** Of the 372 patients with suspected MP infection, 184 were MP-IgA positive (49.5%), 241 MP-IgM positive (64.8%) and 140 were both MP-IgA and MP-IgM positive. The Chi-squared test showed a significant coincidence between the positive rates of MP-IgA and MP-IgM. MP-IgG positive was found in 105 patients (70.5%) out of 149 cases tested. In the 30 normal controls, only 2 were MP-IgG positive and none, MP-IgA and IgM positive. It was in the second week of the disease course that the positive rates of MP-IgA, MP-IgM and MP-IgG were the highest in 57 patients with definitive diagnosis of MP infection. Recurrent respiratory infection occurs in 25 out of 57 followed-up MP patients. The positive rate of MP-IgA increased significantly in the 25 cases compared the initial positive rate and the titer of MP-IgM also remained high. In the 32 cases without recurrent respiratory infection, the titer of MP-IgM was significantly reduced and the positive rate of MP-IgA did not show differences compared with the initial findings. The positive rate of MP-IgE in patients with MP infection was significantly higher than that in the normal controls and the asthmatic patients without MP infection, but was the same as the asthmatic patients accompanied by MP infection. **Conclusions** The determination of MP-IgA, IgM, IgG and IgE is of importance in increasing the specificity and sensitivity of the diagnosis of MP infection, and especially in the diagnosis of the repeated MP infection. MP-IgE may be associated with the development of asthma attack.

[Chin J Contemp Pediatr, 2005, 7(2): 143-146]

Key words: *Mycoplasma pneumoniae* (MP); MP-IgA; MP-IgM; MP-IgG; MP-IgE; Child

肺炎支原体(*Mycoplasma Pneumoniae*, MP)是引起儿童呼吸道感染的常见病原体,也是引起许多肺外疾患如:脑炎、肾炎、心肌炎的病因之一。以前,MP感染的诊断靠培养、补体结合试验、冷凝集试验,由于费时、特异性差等问题,逐渐被多聚酶链法检测MP DNA和特异性IgM抗体测定取代,但前者易出现较高假阳性,后者的敏感性欠佳,并受时间、年龄因素的影响,更多见的是抗体滴度在1:40左右时难以判断,为进一步提高诊断的敏感性和正确性,并观察MP感染与支气管哮喘发病之间的关系,本研究采用酶联吸附试验(ELISA)检测特异性MP-IgA, IgG, IgE,同时采用日本富士明胶颗粒凝集法测定MP-IgM,旨在探讨4种MP特异性抗体在MP感染中的临床价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

根据诸福棠《实用儿科学》诊断标准^[1],于1999年5月至2002年7月在仁济医院儿科病房临床高度怀疑肺炎支原体感染的患儿372例,其中90例为支气管哮喘发作合并肺部感染。研究对象中男205例,女167例,年龄3月至14岁,平均年龄 6.5 ± 3.1 岁。全部患儿均检测MP-IgA, MP-IgM,其中150例同时测定了MP-IgE。149例测定了MP-IgG,上述住院患儿出院后随访57例,男32例,女25例,均复查了MP-IgA, MP-IgM。30例正常对照组为幼儿园、中小学健康体检儿童,男12例,女18例,年龄3月至15岁,平均年龄 6.4 ± 3.2 岁。均检测MP-IgA, MP-IgG, MP-IgM, MP-IgE。

1.2 方法

于入院后次日或体检时,采集研究对象非抗凝血2 mL, 1 500 r/min,取血清,保存于-20℃冰箱中,每1~3个月集中进行检测。

1.2.1 MP-IgA测定 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)方法,试剂盒由陕西华煜生物制品公司提供,具体操作参照试剂盒说明书进行。酶标仪判断结果,待测标本OD值与阴性对照OD值比较, ≥ 2.1 为阳性。

1.2.2 MP-IgG的测定 采用ELISA方法,由晶美生物工程公司提供的MP-IgG抗体试剂盒,操作参照试剂盒内说明书,标本OD值与阴性对照OD值比较, ≥ 2.0 为阳性。

1.2.3 MP-IgM的测定 采用颗粒凝集法,Sero-dia-Myco II试剂盒由日本Fujirebio inc提供,血清抗

体56℃灭活,操作方法按说明书进行,同时设立阳性与阴性对照孔,滴度 $\geq 1:80$ 为阳性。

1.2.4 MP-IgE的测定 采用间接ELISA方法,MP抗原由同济医科大学附属同济医院中心实验室赠送;酶标羊抗人IgE购自晶美公司,底物A,B及终止液购自科华生物技术公司,操作步骤按博彩生物科技有限公司试剂盒说明书进行,酶标仪终值取A450 $\geq$ 对照组人血清等稀释度A450均值 $\pm 2s$ 最大稀释度,滴度以稀释度的自然对数为底的对数值计算。

1.2.5 随访问隔时间 自住院第1次检测MP特异抗体算起,至少间隔2个月,随访出院后呼吸道感染情况,并抽血待查。57例确诊为MP感染患儿,随访问隔时间2~5.5月,平均间隔 3.9 ± 1.8 月。

1.2.6 统计学处理 采用率的比较、卡方、*t*检验。

2 结果

2.1 MP-IgA, MP-IgM一致性分析

在372例反复呼吸道感染患儿中,MP-IgA阳性184人,阳性率占49.5%,MP-IgM阳性241人,阳性率占64.8%,MP-IgA, MP-IgM同时阳性140人,占37.63%,二种MP特异抗体测定结果经卡方检测, $\chi^2 = 20.39, P < 0.05$,提示MP-IgA测定结果与MP-IgM一致性非常显著。见表1。

表1 MP-IgA, MP-IgM一致性分析

MP-IgM	MP-IgA		合计
	+	-	
+	140	101	241
-	44	87	131
合计	184	188	372

2.2 MP-IgA, MP-IgM, MP-IgG, MP-IgE测定结果

除MP-IgA阳性率接近50%以外,MP-IgM, MP-IgG, MP-IgE阳性率均达60%以上。见表2。30例正常对照组中2例MP-IgG阳性,占6.7%,4例MP-IgE阳性,占13.3%,MP-IgA, MP-IgM皆为阴性。

表2 MP-IgA, MP-IgM, MP-IgG, MP-IgE测定结果

	例数	阳性人数	阳性率(%)
MP-IgA	372	184	(49.5)
MP-IgM	372	241	(64.8)
MP-IgG	149	105	(70.5)
MP-IgE	150	96	(64.0)

2.3 MP-IgA, MP-IgM和MP-IgG与病程的关系

MP-IgA, MP-IgM, MP-IgG在57例MP感染发病

第2周的患儿中,阳性率均达80%以上,48例病程处于第1周的患儿除MP-IgM阳性达70.8%外,MP-IgA,MP-IgG阳性率明显低于第2周($P < 0.01$),而44例病程处于第3~4周的患儿MP-IgM、MP-IgG阳性率仍居高不下,而MP-IgA的阳性率则明显下降($P < 0.01$)。见表3。

表3 MP-IgA,MP-IgM和MP-IgG与病程的关系
例(%)

病程(d)	例数	MP-IgA	MP-IgM	MP-IgG
3~7	48	9(18.8)	44(70.8)	13(27.1)
7~14	57	53(87.8)	50(87.7)	52(91.2)
14~30	44	12(27.3)	37(84.1)	40(90.9)

表4 呼吸道感染与MP-IgA,MP-IgM阳性率的关系

组别	例数	初 次		复 查	
		MP-IgA 阳性 例(%)	MP-IgM($\bar{x} \pm s$)	MP-IgA 阳性 例(%)	MP-IgM($\bar{x} \pm s$)
无呼吸道感染组	32	17(55.1)	535.02 ± 267.09	23(77.9)	217.51 ± 231.35
有呼吸道感染组	25	8(32.0)	499.20 ± 55.82	21(84.0)	408.01 ± 240.65

a 与初次测定值比较 $P < 0.01$

3 讨论

由于肺炎支原体感染可发生于任何年龄,而且发生率呈逐年增高的趋势,因此MP感染的早期正确诊断日益受到普遍关注,MP-IgM的阳性率受到年龄、时间、敏感性等因素的影响,因此如何提高MP感染诊断的水平显得十分重要。本研究在采用颗粒凝集法测定MP-IgM的同时,用ELISA方法测定了MP-IgA,MP-IgG,MP-IgE,其阳性率分别是64.8%,49.5%,70.5%,64.0%,MP-IgM与MP-IgA检测结果作一致性分析,显示具有非常显著的统计学意义,一致性很强。从而证实MP-IgA检测结果可靠,可作为MP感染的实验室诊断指标,与国内外报道一致^[2~4]。从本研究结果中可以发现有44例临床诊断MP呼吸道感染患儿,MP-IgM滴度未达到阳性诊断标准,而MP-IgA呈阳性,占总人数11.9%,如单独以MP-IgM为诊断标准,这部分患儿则可能被漏诊,因此MP-IgA的测定,对提高MP感染诊断的敏感性及其特异性可起到不容忽视的弥补作用,两者同时测定,具有提高MP感染的早期诊断价值。

MP-IgG抗体的检测从病程第2周起阳性率也明显增高,并保持时间较长,这与国内报道^[5]的结果相一致。从而证实该抗体不但可作为流行病学调查的检测指标,也可作为亚急性期感染状态的补充

2.4 呼吸道感染与MP-IgA、IgM关系分析

MP-IgA阳性率的变化与呼吸道感染的发生关系十分密切($P < 0.01$),而MP-IgM在呼吸道感染组随访前后变化不明显($P > 0.05$),在无呼吸道感染组中,随访复查时其平均滴度下降十分显著($P < 0.01$);而IgA变化则不明显($P > 0.05$)。见表4。

2.5 MP-IgE与支气管哮喘发作的关系分析

MP-IgE的阳性率在MP感染组,其阳性率为73.3%,明显高于正常对照组(13.3%)和哮喘合并非MP感染组(23.3%),差异有显著性意义($P < 0.05$)。

诊断指标。

国外学者^[6]认为测定MP-IgA抗体比MP-IgM更有价值,其原因是MP-IgM抗体的产生可因浆细胞受非相关抗原(如呼吸道合胞病毒等)刺激后产生非特异反应,而MP-IgA的产生并不受非特异因素的影响。

本文结果又显示,MP-IgA阳性率的变化与呼吸道感染的发生有明显关系,57例随访中,25例有1~2次呼吸道感染者,其MP-IgA阳性率从32%上升到84%,其随访前后阳性率比较差异有显著性意义。而32例无呼吸道感染组中,MP-IgA阳性率经统计学处理差异无显著意义。MP-IgM的变化在有呼吸道感染者随访前后无明显变化,而无呼吸道感染组中其MP-IgM滴度下降显著,可见MP-IgA或MP-IgM的变化与呼吸道感染的发生关系均十分密切。国外发现^[2]在MP-IgA阳性的基础上,MP-IgM滴度进一步的上升或下降可以提示有无肺炎支原体再感染的存在。

本研究测定了90例支气管哮喘发作期临床疑诊合并MP肺部感染患儿的MP-IgE,发现其阳性率与MP感染组相近,显著高于支气管哮喘非MP肺部感染和正常对照组,差异有显著性意义,可见MP-IgE的产生与支气管哮喘的发作存在相当重要的关系,MP感染后CD₄⁺T细胞和TH2样细胞活性增强,IL-4,IL-4/IFN- γ 比值增高,从而促使MP-IgE及

总的IgE水平增高,诱发和加重支气管哮喘的发作^[7]。本研究发现MP感染后,T淋巴细胞趋化性增强^[8],细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule -1, ICAM-1)表达增强^[9],嗜酸性细胞阳离子蛋白(eosinophil cationic protein, ECP)增高^[10],这些因素均可促使支气管哮喘反复发作,加重病情。

综上所述,4种肺炎支原体特异性抗体的检测对于提高MP感染诊断的特异性、敏感性具有重要的临床价值,尤其对于MP再感染的发现及MP感染促使支气管哮喘发作机制的研究及进一步的防治均有相当重要的临床意义。

[参 考 文 献]

- [1] 胡亚美,江载芳. 诸福棠《实用儿科学》[M],第7版,北京:人民卫生出版社,2002,1204-1205.
- [2] Sillis M. The limitations of IgM assays in the serological diagnosis of Mycoplasma pneumonia infections [J]. J Med Microbiol. 1990,33(4): 253 - 258.
- [3] Seggev JS, Sedmak GV, Kurup VP. Isotype-specific antibody responses to acute Mycoplasma pneumoniae infection [J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 1996,77(1): 67-73.

- [4] Rastawicki W. Evaluation of conventional and new generation tests for testing the humeral response to Mycoplasma pneumonia antigens in natural infections in humans. II. Occurrence and level of mycoplasma antibodies in patients with respiratory tract infections [J]. Med Dosw Mikrobiol, 1995,47(1-2): 55-76.
- [5] 郝陆飞,赵海艳,车凌云,张妮,谢晓秦,高蒲慧. 302例肺炎支原体抗体IgM、IgG检测的临床意义[J]. 交通医学,2003,17(3):328.
- [6] Granstrom M, Holme T, Sjogren AM, Orqvist A, Kalin M. The role of IgA determination by ELISA in the early serodiagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection, in relation to IgG and mu-capture IgM methods [J]. Med Microbiol. 1994,40(4):288-292.
- [7] Koh YY, Park Y, Lee HJ, Kim CK. Levels of interleukin-2, interferon- γ , and interleukin-4 in bronchoalveolar lavage fluid from patients with Mycoplasma pneumonia: implication of tendency toward increased immunoglobulin E production [J]. Pediatrics, 2001, 107(3):E39.
- [8] 曹兰芳,毛海英,金燕梁,于清,顾梯成. 肺炎患儿T淋巴细胞趋化功能的观察[J]. 上海免疫学杂志,1996,16(6):355-356.
- [9] 曹兰芳,金燕梁,李琳,毛海英,陆伟蓉,顾梯成. 肺炎支原体肺炎患儿sICAM-1的测定及其意义[J]. 临床儿科杂志,1999,17(4):229-231.
- [10] 金燕梁,虞涛,阮奕,刘寒梢,曹兰芳. 肺炎支原体肺炎患儿嗜酸性细胞阳离子的测定[J]. 中国当代儿科杂志,2001,3(3):309-310.

(本文编辑:吉耕中)

(上接第142页)

[参 考 文 献]

- [1] 徐青,田秀巧,张会丰. 成骨细胞分化产物及其生化标志研究进展[J]. 临床荟萃,2003,18(1):55-57.
- [2] Risteli L, Risteli J. Biochemical markers of bone metabolism [J]. Ann Med, 1993, 25(4): 385-393.
- [3] Siggelkow H, Rebenstorff K, Kurre W, Niedhart C, Engel I, Schulz H, et al. Development of the osteoblast phenotype in primary human osteoblasts in culture: comparison with rat calvarial cells in osteoblast differentiation[J]. J Cell Biochem, 1999, 75(1): 22-35.

- [4] 李梅,孟迅吾,周学瀛. I型胶原蛋白与骨质疏松症研究进展[J]. 国外医学内分泌学分册,2000,20(1):14-17.
- [5] Calvo MS, Eyre DR, Gundberg CM. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover[J]. Endoc Rev, 1996, 17(4): 332-368.
- [6] 蒋小云,莫樱,陈述枚,朱志红,赖峰,朱春浓. 难治性肾病综合征患儿生长激素-胰岛素样生长因子轴的变化及意义[J]. 中国当代儿科杂志,2001,3(2):136-138.
- [7] 刘素彩,李恩. 糖皮质激素对骨作用的量变与质变[J]. 医学与哲学,2001,22(3):23-24.
- [8] 刘素彩,李恩. 糖皮质激素诱导骨质疏松的细胞及分子学机制[J]. 国外医学内分泌学分册,2000,20(1):11-13.

(本文编辑:钟乐)