

## · 综述 ·

## 肺炎支原体血清学标志物研究进展

程欣<sup>1</sup> 王碧航<sup>2</sup> 赵先进<sup>1</sup>

**【摘要】**肺炎支原体是常见呼吸道感染病原微生物之一，具有独特的流行病学特点。除引起呼吸道症状外，肺炎支原体感染还会引起其他如消化、神经和泌尿系统等损伤。患者感染肺炎支原体后症状体征的特异性较差造成临床诊断困难。肺炎支原体感染后首选药物为大环内酯类，但近年来耐大环内酯类肺炎支原体检出率升高给临床诊治带来新的挑战。肺炎支原体主要检出手段包括分离培养、聚合酶链式反应（PCR）检测和血清学诊断。较分离培养、PCR等检测手段，血清学检测具有耗时短、经济和可行性强等特点。不同血清学标志物敏感性及其特异性存在差异。本文就肺炎支原体血清学标志物的研究进展进行综述。

**【关键词】**肺炎支原体；血清学标志物

**Progress of serological detection markers of mycoplasma pneumonia** Cheng Xin<sup>1</sup>, Wang Bihang<sup>2</sup>, Zhao Xianjin<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratory Medicine, <sup>2</sup>Department of Maternity, Changzhi People Hospital, Changzhi 046000, China

Corresponding author: Zhao Xianjin, Email: 15735537628@168.com

**【Abstract】** Mycoplasma pneumonia, one kind of common pathogenic microorganisms which could lead to respiratory infection, has unique epidemiologic characteristics. Beside the respiratory symptoms, mycoplasma pneumonia infection could also cause other damages including digestive, nervous, urinary system and so on. It is difficult to make clinical diagnosis because the symptoms and signs of patients infected by mycoplasma pneumonia are not specific. Once infected by mycoplasma pneumonia, macrolides antibiotics are preferred drugs. In recent years, higher detection rate of macrolides-resistance mycoplasma pneumonia put forward new challenge for clinical diagnosis and treatment. The main detection methods include separation culture, Polymerase chain reaction (PCR) detection and serological diagnosis. Compared with separate culture, PCR detection and other detection methods, serological detection is time-saving, more economic, and has strong feasibility and so on. There are differences between different serological markers in sensitivity and specificity. In this paper, the research progress on the serologic markers of mycoplasma pneumonia was reviewed.

**【Key words】** Mycoplasma pneumonia; Serological detection; Serologic markers

肺炎支原体（Mycoplasma pneumonia, MP）属柔软体纲，支原体属，大小介于细菌和病毒之间，直径约125~150 nm，可通过细胞滤器，在有氧和无氧环境均能独立生长，是已知最小的微生物。肺炎支原体是非典型性肺炎的病原体之一，主要通过呼吸道传播，是儿童社区获得性肺炎的主要病因，占5岁以上儿童社区获得性肺炎病例的40%<sup>[1]</sup>。肺炎支原体肺炎（Mycoplasma pneumoniae pneumonia, MPP）发病症状不典型，因MP缺乏细胞壁，故对抑制细胞壁合成的药物不敏感，如β-内酰胺类和糖肽类，主要选用抑制蛋白合成的药物如大环内酯类、喹诺酮类和四环素类治疗<sup>[2]</sup>。喹诺酮类可致软骨发育障碍，18岁

以下禁用<sup>[3]</sup>；四环素类易沉积于骨质中引起“四环素牙”和龋齿。因此，大环内酯类一般作为治疗MPP的首选药物。但目前耐大环内酯类MP已经成为儿童MP感染的主要病原体，这给临床工作带来极大的困难。本文通过对MP血清学标志物进行综述，为MP感染的诊断提供新思路。

### 一、MP的流行病学特点

MPP主要通过密切接触和飞沫传播。因MP生长需要一定的温度和湿度，且随着温度和湿度升高而繁殖加速<sup>[4]</sup>。机体在感染MP后免疫力平均能持续约4年（2~10年），且MP感染需要定植于人体呼吸道黏膜上皮，约每4年暴发1次，每次持续约18个月<sup>[5]</sup>。研究报道1995年、1997年、1998年、2002年、2003年、2006年和2011年均有MPP在欧洲国家暴发的记录<sup>[5]</sup>。MPP主要易感人群为儿童和青少年，尤其是学龄前儿童<sup>[6]</sup>。田伟等<sup>[7]</sup>对2 951例呼吸道感染者进行分析发现MP阳性率为13.0%，16岁以下儿童易感，

这与国内外研究结果一致<sup>[6-8]</sup>；但研究显示夏季多发与其他研究不符<sup>[4]</sup>，该研究分析可能与北方夏季干燥有关。Qu等<sup>[9]</sup>对7 835例呼吸道感染者研究发现，MPP发病平均年龄为16岁，在MPP流行期间高发季节为夏末和秋季，非流行期间为冬季，并且在流行期（除2月、6月和8月份）成人和儿童发病率差异无统计学意义，非流行期（除5月）外儿童发病率显著高于成人。

## 二、MP感染后病原学检查

MPP患者临床症状不典型，除发热、刺激性干咳外，还会出现消化、神经和泌尿系统相关肺外症状，并且无特异性影像学表现，传统实验室检查如白细胞、C-反应蛋白特异性也不高；纤维支气管镜检查为侵入性检查，患者依从性差；以上均给临床诊治带来极大挑战。MP的特异检查包括分离培养与鉴定、PCR诊断和血清学诊断。MP分离培养所需标本为痰、咽拭子等，为防止杂菌污染，需添加抗菌药物的肉汤培养基，37℃、5% CO<sub>2</sub>条件下才能生长，且培养周期较长，较难存活<sup>[10]</sup>。施宇佳等<sup>[11]</sup>对976例下呼吸道感染者咽拭子行MP培养，MP阳性标本260例，阳性率仅为26.6%。虽然MP分离培养为MP感染诊断金标准，但受限于培养条件苛刻、培养周期长和阳性率低等，临床中疑似MP感染者不能及时得到诊治，故MP分离培养对于早期诊断价值不大。PCR所用标本与分离培养相同。PCR作为一项敏感、高通量、快速的检测手段也存在一定的不足之处<sup>[12]</sup>：在抗菌药物治疗后不能分辨病原体是否存活；不能判断病原体为致病病原体还是呼吸道正常携带；PCR阳性的患者常规使用大环内酯类药物治疗，导致大环内酯类抗菌药物的过度使用。另外，考虑到经济成本问题，PCR也不宜作为MP检查的首选。血清学检查具有标本易于获得、成本低、结果快速等优点，已广泛应用于临床实践中。

## 三、MP血清学标志物

MP黏附定植于呼吸道黏膜上皮，机体产生通过体液免疫和细胞免疫对MP产生作用，参与此过程中的蛋白质均可认定为MP感染的标志物。传统血清学检测主要通过补体结合试验、间接免疫荧光法、明胶颗粒凝集试验和酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay, ELISA）等检测抗体判断机体是否感染MP。目前研究发现，MP黏附、细胞免疫等过程中病原体或机体合成分泌的蛋白质均有助于MP感染的血清学诊断。

1. MP特异性IgM：MP特异性IgM于感染后7~10 d出现，3周后即达到峰值，可持续数月<sup>[13-14]</sup>。MP特异性IgM滴度增高到一定效价（如1：320）可作为MPP的诊断指标，对MPP的血清学诊断具有重要意义<sup>[14]</sup>。因不同患者对MP感染免疫反应不同，抗体种类、抗体峰值滴度和抗体检测持续时间亦可能不同。在MPP流行期间，许多无症状或患轻度肺炎的MP感染者的MP特异性IgM呈阳性，可持续很长

时间<sup>[15]</sup>。但对感染早期、免疫力低下老年患者往往滴度较低<sup>[14]</sup>。不同研究中该抗体敏感性存在差异：多数研究结果显示该抗体敏感性为1/3~2/3<sup>[14]</sup>，但Qu等<sup>[16]</sup>研究显示仅为7.4%，可能与受检者个体差异、MP感染不同阶段等有关。

2. MP特异性IgG：恢复期血清IgG滴度较急性期增加4倍为诊断急性支原体肺炎呼吸道感染的金标准<sup>[17]</sup>。但不同研究发现，恢复期较急性期血清中MP-IgG的4倍增加率不同。Medjo等<sup>[18]</sup>研究发现PCR阳性患者中90%出现MP-IgG的4倍增加。Ma等<sup>[19]</sup>在血清IgM阳性或咽拭子PCR阳性患者中仅2.4%出现MP-IgG的4倍增加。Lee等<sup>[17]</sup>发现38.8% MPP患者出现MP-IgG的4倍增加。因IgG滴度需检测急性期和恢复期双份血清，收集标本耗时相对长，另外，儿童采血相对困难，故不适合于MP感染的早期诊断。

3. MP特异性IgA：血清中MP特异性IgA为MP感染的重要标志物。尤其对于成人MP感染者，血清中MP特异性IgA在敏感性高于血清中MP特异性IgM<sup>[17]</sup>。而儿童感染者中两者关系相反，Lee等<sup>[17]</sup>发现MP感染儿童血清IgM阳性率高于IgA，阳性率分别为63.8%和33.8%，与既往结论相符。原因可能是血清中IgA和IgM浓度随年龄变化而变化，刚出生时均处于较低水平，儿童血清IgM于4~5岁达到成人水平，但血清IgA直至青春期才达到成人水平。

4. 冷凝集素：冷凝集素（cold agglutinins, CAs）可在MPP患者发病1周后出现，持续2~3个月<sup>[20]</sup>。MP感染后出现CAs的机制尚未明确。在某些疾病如EB病毒或腺病毒感染、自身免疫性疾病（如系统性红斑狼疮）和恶性肿瘤（如淋巴瘤）中也会出现CAs<sup>[21]</sup>。CAs能结合在相应配体上，尤其是红细胞表面I抗原，诱导红细胞在低温下出现可逆性聚集<sup>[21]</sup>。Lee等<sup>[17]</sup>研究MP感染者血清中IgM和CAs相关性发现，两者抗体滴度一定比例，即CAs抗体滴度约为IgM的1/10，且有些患者CAs出现早于IgM。单次CAs试验对MP感染的敏感性为50%~100%<sup>[20]</sup>。以上提示CAs可作为MP感染的辅助筛选试验。MP感染早期患者和免疫力低下的老年人血清IgM滴度较低，CAs检查对于此类患者诊断意义重大。

5. 黏附素P1：上述MP特异性抗体针对的抗原主要是MP细胞膜中的糖脂类物质，且易出现与其他型支原体或微生物的交叉免疫反应，导致MP检测出现假阳性。MP黏附到呼吸道上皮表面为MP感染的关键步骤，其中黏附素P1在MP黏附过程中起关键作用。Xue等<sup>[22]</sup>通过ELISA检测MP感染者血清中rP1-513、rP1-534相关IgM和IgG研究发现，单独检测rP1-513相关IgM和IgG阳性率分别为71.4%和82.1%，rP1-534则为58.9%和76.8%，提示rP1-513和rP1-534相关抗体可作为MP血清学诊断标志物，且rP1-513相关抗体敏感性高于rP1-534。

6. 黏附素P116：同黏附素P1，黏附素P116也参与MP的

黏附过程。Irum等<sup>[23]</sup>发现MPP患者血清中存在P116 N-端27 kD的肽段和P1 C-端40 kD的肽段,采用ELISA检测62例MP患者P116 (N-27)、P1 (C-40) 和 P116 (N-27) + 1 (C-40) 蛋白显示敏感性分别为90.3%、87.1%和96.8%,特异性分别为87.0%、87.1%和90.3%。为防止交叉免疫反应,上述研究采用黏附素P116和P1蛋白片段而非全蛋白。提示P116 (N-27) + P1 (C-40) 有可能成为检测MP感染新的血清学手段。其他MP黏附素如P30、HMW1和HMW3等研究较少,需要更深入研究其实际应用价值。MP黏附呼吸道上皮细胞后能有效避免纤毛细胞的清除和吞噬细胞吞噬,探讨其黏附定植过程可能对靶向药物的研究也有一定启发。

7. 细胞因子类:细胞介导的免疫反应在MP感染病理过程起重要作用,尤其是Th1/Th2细胞<sup>[24]</sup>。MPP的发生可能因Th1/Th2比例失衡所致,相关细胞因子活化后产生的过度免疫反应,可导致噬血细胞综合征<sup>[25-26]</sup>。有研究证实,MP感染者血清中大多数细胞因子如白细胞介素(interleukin, IL)-4、IL-5、IL-8、IL-9、IL-10、IL-17、IL-18、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ 和干扰素(interferon, IFN)- $\gamma$ 等均升高,少数细胞因子(如IL-2)降低<sup>[24-27]</sup>。有研究证实IL-8、IL-18与CRP水平呈正相关<sup>[24]</sup>;但也有研究持不同观点。Wang等<sup>[28]</sup>对近年来MPP患者血清中TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 变化回顾研究发现,TNF- $\alpha$ 在MP感染者血清中升高,但IFN- $\gamma$ 在MPP患者和健康对照差异无统计学意义,提示细胞因子作为MP感染后标志物尚存在争议。不同研究中患者个体存在异质性,疾病进展不同,血清中细胞因子浓度也会有差别。MP感染后,患者血清细胞因子表达水平异常,因此,可通过实时监测主要相关细胞因子水平从而判断病情及预后。

8. 其他:肺泡Ⅱ型上皮细胞合成和分泌的表面活性蛋白D(surfactant protein D, SP-D)、巨噬细胞和其他炎症细胞合成和分泌的高迁移率族蛋白-1(high-mobility group box protein 1, HMGB1)、MP核蛋白L7/L12和巨噬细胞分泌的富含亮氨酸重复蛋白3(leucine-rich repeat protein 3, NLRP3)均发现在MP感染者血清中升高<sup>[30-32]</sup>。Li等<sup>[33]</sup>采用液相色谱-质谱/质谱(liquid chromatograph-mass spectrometer/mass spectrometer, LC-MS/MS)联用技术对20例MPP患者血清分析后筛选出载脂蛋白C1(apolipoprotein C1, APOC1),且应用ELISA验证APOC1在MPP患者血清中升高。另一项研究同样采用LC-MS/MS对MP感染 A549肺泡上皮癌细胞后分泌的蛋白筛选出包括IL-33在内的多个蛋白质,发现IL-33水平在MPP患者血清和肺泡灌洗液中均显著升高<sup>[34]</sup>。故监测上述蛋白质均有望对MP的血清学诊断提供借鉴。

#### 四、结语

MP感染者临床症状不典型,影像学 and 实验室检查无特异性,造成诊断困难。MP特异性检查包括分离培养、PCR

和血清学检查。结合时间、经济和可行性等,各种方法均存在一定局限性。本文从血清标志物角度对MP血清学检查这一临床上可行性较强的手段进行综述,不同标志物均存在优缺点。传统的MP特异性抗体检查敏感性、特异性一般,CAs可作为补充。黏附素特别是黏附素P1、P116检查有效避免与其他病原体交叉免疫反应,敏感性、特异性均较传统的MP特异性抗体高,但黏附素在MP感染者血清中出现时间未知,需要更深入的研究去证实其作为MP感染后早期筛查手段的可行性。细胞因子特异性差,可辅助监测MP感染后疾病进展;新的血清学标志物尚在研究中。另外,PCR、MP分离培养与鉴定在MP感染者检测中各具优劣性。如果患者病情危重或经济条件尚可,可首选PCR检测。若患者住院时间较长,如长期卧床的老年患者,可考虑分离培养MP。

综上,各种MP血清学标志物均存在优势和不足,多项血清学标志物结合可能对MPP的诊断提供更多依据。

#### 参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] Waites KB, Xiao L, Liu Y, et al. Mycoplasma pneumoniae from the respiratory tract and beyond[J]. Clin Microbiol Rev, 2017, 30(3): 747-809.
- [3] 曲婉莹. 抗支糖浆对肺炎支原体感染大鼠TLR4及Th1/Th2影响的实验研究[D]. 黑龙江中医药大学, 2018.
- [4] Onozuka D, Hashizume M, Hagihara A. Impact of weather factors on Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Thorax, 2009, 64(6): 507-511.
- [5] Jacobs E. Mycoplasma pneumoniae: now in the focus of clinicians and epidemiologists[J]. Euro Surveill, 2012, 17(6): pii20084.
- [6] Izumikawa K, Izumikawa K, Takazono T, et al. Clinical features, risk factors and treatment of fulminant Mycoplasma pneumoniae pneumonia: a review of the Japanese literature[J]. J Infect Chemother, 2014, 20(3): 181-185.
- [7] 田伟, 尹蕾, 李守霞. 2 951例呼吸道感染人群共同感染肺炎支原体和B型流感病毒的流行病学特点[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(21): 4830-4832, 4836.
- [8] 黄海樱, 陈波, 周强. 广州地区不同人群肺炎支原体感染的流行病学调查研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(2): 300-302.
- [9] Qu JX, Yang CX, Bao F, et al. Epidemiological characterization of respiratory tract infections caused by Mycoplasma pneumoniae during epidemic and post-epidemic periods in North China, from 2011 to 2016[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1): 335-343.
- [10] 李双丽, 朱文勇, 冯磊等. 人肺炎支原体的分离培养及鉴定[J]. 中国生物制品学杂志, 2018, 31(4): 400-404, 408.
- [11] 施宇佳, 鲁科峰, 黄燕华, 等. 成人下呼吸道感染肺炎支原体快速培养及药敏分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(1): 20-22.
- [12] Jiang WJ, Yan YD, Ji W, et al. Clinical significance of different bacterial load of Mycoplasma pneumoniae in patients with Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Braz J infect Dis, 2014, 18(2): 124-128.
- [13] Bajantri B, Venkatram S, Diaz-Fuentes G. Mycoplasma pneumoniae:

- A potentially severe infection[J]. Clin Med Res,2018,10(7):535-544.
- [14] Lee SC, Youn YS, Rhim JW, et al. Early serologic diagnosis of Mycoplasma pneumoniae pneumonia: An observational study on changes in titers of specific-IgM antibodies and cold agglutinins[J]. Medicine(Baltimore),2016,95(19):e3605.
- [15] Cherry JD, Quanquin NM. Mycoplasma and ureplasma infections. In: Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, et al., eds. Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 7th edn[M]. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders,2014:2668-2687.
- [16] Qu J, Gu L, Wu J, et al. Accuracy of IgM antibody testing, FQ-PCR and culture in laboratory diagnosis of acute infection by Mycoplasma pneumoniae in adults and adolescents with community-acquired pneumonia[J]. BMC Infect Dis,2013,172(13):172-178.
- [17] Lee WJ, Huang EY, Tsai -M, 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.
- [18] Medjo B, Atanaskovic-Markovic M, Radic S, et al. Mycoplasma pneumoniae as a causative agent of communityacquired pneumonia in children: clinical features and laboratory diagnosis[J]. Ital J Pediatr,2014,40(1):104-110.
- [19] Ma YJ, Wang SM, Cho YH, et al. Taiwan Pediatric Infectious Disease Alliance. Clinical and epidemiological characteristics in children with community-acquired mycoplasma pneumonia in Taiwan: a nationwide surveillance[J]. Microbiol Immunol Infect,2015,48(6):632-638.
- [20] Lee SC, Youn YS, Rhim JW, et al. Early serologic diagnosis of Mycoplasma pneumoniae pneumonia: An observational study on changes in titers of specific-IgM antibodies and cold agglutinins[J]. Medicine(Baltimore),2016,95(19):e3605.
- [21] Cunha BA. The clinical diagnosis of Mycoplasma pneumoniae: the diagnostic importance of highly elevated serum cold agglutinins[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis,2008,27(10):1017-1019.
- [22] Xue G, Cao L, Wang L, et al. Evaluation of P1 adhesin epitopes for the serodiagnosis of Mycoplasma pneumoniae infections[J]. FEMS Microbiol Lett,2013,340(2):86-92.
- [23] Irum T, Rama C, Bishwanath K, et al. Identification of an N-terminal 27 kDa fragment of Mycoplasma pneumoniae P116 protein as specific immunogen in M. pneumoniae infections[J]. BMC Infect Dis,2010,350(10):1-9.
- [24] Ding S, Wang X, Chen W, et al. Decreased interleukin-10 responses in children with severe Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. PLoS One,2016,11(1):e0146397.
- [25] Zhang Y, Mei S, Zhou Y, et al. Cytokines as the good predictors of refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia in school-aged children[J]. Sci Rep,2016,2016(6):1-6.
- [26] Yasutomia M, Okazakia S, Hataa I, et al. T cytokine profiles in Mycoplasma pneumoniae infection-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. Microbiol Immunol,2016,49(5):813-816.
- [27] Li S, Cong Z, Li X, et al. Changes in levels of IL-9, IL-17, IFN- $\gamma$ , dendritic cell numbers and TLR expression in peripheral blood in asthmatic children with Mycoplasma pneumoniae infection[J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(5):5263-5272.
- [28] Wang Y, Zhang Y, Lu W et al. Serum tumor necrosis factor- $\alpha$  and interferon- $\gamma$  levels in pediatric Mycoplasma pneumoniae pneumonia: A systematic review and Meta-analysis[J]. Can Respir J,2018,2018(9):1-6.
- [29] Su LH, Lu Q, Han LY, et al. SP-D, KL-6, and HTI-56 levels in children with mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(9):11185-11191.
- [30] Ding Y, Chu C, Li Y, et al. High expression of HMGB1 in children with refractory Mycoplasma pneumoniae[J]. BMC Infect Dis,2018,18(1):439-447.
- [31] Miyashita N, Kawai Y, Tanaka T, et al. Detection sensitivity of a rapid antigen test for the detection of Mycoplasma pneumoniae: comparison with real-time PCR[J]. Infect Chemother,2015,21(6):473-475.
- [32] Segovia JA, Chang TH, Winter VT, et al. NLRP3 is a critical regulator of inflammation and innate immune cell response during Mycoplasma pneumoniae infection[J]. Infect Immun,2017,86(1):e00548-17.
- [33] Li J, Sun L, Xu F, et al. Screening and identification of APOC1 as a novel potential biomarker for differentiate of Mycoplasma pneumoniae in Children[J]. Front Microbiol,2016,7(12):1961-1969.
- [34] Li S, Li X, Wang Y, et al. Global secretome characterization of A549 human alveolar epithelial carcinoma cells during Mycoplasma pneumoniae infection[J]. BMC Microbiol,2014,27(14):1-15.
- (收稿日期: 2019-01-26)  
(本文编辑: 孙荣华)

程欣, 王碧航, 赵先进. 肺炎支原体血清学标志物研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2019,13(4):265-268.