论著

文章编号:1000-5404(2010)18-1986-05

汉、藏族肺结核患者血清差异蛋白质的质谱分析

刘 琦[1],刘新宇[2],张仁卿[3],吴桂辉[3],岳 冀[4],李晓萍[5],文富强[6] (550004 贵阳,贵阳医学院附属医院消化内科[1];610041 成都,四川大学华西医院:生物治疗国家重点实验室[2],呼吸科[6];610061 成都,成都市传染病医院内科[3];610016 成都,成都市结核病防治研究院内科[4];610041 成都,西藏自治区驻成都办事处医院内科[5])

【摘要】 **目的** 用表面增强激光解析电离-飞行时间质谱(SELDI-TOF MS)技术比较汉、藏族肺结核患者之间及其与相应的非结核对照者之间的血清差异蛋白,以寻找各自的质谱诊断模型并比较两个民族肺结核的蛋白质差异。**方法** 收集2008年6月至2009年3月四川大学华西医院呼吸科结核病区、西藏自治区驻成都办事处医院内科、成都市传染病医院和成都市结核病防治研究院内科住院患者及门诊健康体检者共154份血清样本,其中87例活动性肺结核患者(汉族38例,藏族49例),67例非结核对照(汉族36例,藏族31例)。SELDI-TOF MS质谱分析分为训练组和测试组:训练组包含53例肺结核(汉族23例,藏族30例)和42例非结核对照(汉族20例,藏族22例),所获得的血清质谱用决策树的学习算法来进行分析,得到的诊断模型再用另一个独立的测试组来进行准确性验证,测试组包含59份血清样本:34例肺结核(汉族15例,藏族19例),25例非结核对照(汉族16例,藏族9例)。**结果** 训练组中得到的诊断模型质荷比(m/z)为3 193.61、4 592.11可以诊断出20/23例汉族肺结核和17/20例汉族对照,准确度86.04%(敏感性为86.95%,特异性为85.00%),模型m/z为4 821.45能够诊断出28/30例藏族肺结核和19/22例藏族对照,准确度90.38%(敏感性93.33%,特异性86.36%),而模型m/z为4 091.98、3 398.27、7 970.44、4 965.51、7 970.44则能够将藏族肺结核从汉族患者中区分出来(准确度92.45%)。在相应的验证组中,3个诊断模型的准确度分别为70.96%、71.42%和67.92%。同时发现藏、汉族肺结核之间有16个差异蛋白峰。**结论** SELDI-TOF MS对汉、藏族肺结核的诊断均具有较高价值,两个民族的肺结核患者存在一定的蛋白质表达差异。

【关键词】 光谱法,质量,基质辅助激光解吸电离;肺结核;蛋白质组学;蛋白质阵列分析;民族差异性
【中图法分类号】 R521;R446.112;R394.5 【文献标志码】 A

Mass spectrometry for serum differential proteins from Han and Tibetan patients with pulmonary tuberculosis

Liu Qi[1], Liu Xinyu[2], Zhang Renqing[3], Wu Guihui[3], Yue Ji[4], LI Xiaoping[5], Wen Fuqiang[6] ([1]Department of Digestive Diseases, First Affiliated Hospital, Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou Province, 550004; [2]State Key Laboratory of Biotherapy, [6]Department of Respiratory Diseases, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610041; [3]Department of Internal Medicine, Chengdu Infectious Disease Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610061; [4]Department of Internal Medicine, Chengdu Tuberculosis Hospital, Chengdu, Sichuan Province, 610016; [5]Department of Internal Medicine, Chengdu Hospital Affiliated to Tibet Autonomous Region Government, Chengdu, Sichuan Province, 610041, China)

【**Abstract**】 **Objective** To compare the serum differential proteins of Han and Tibetan patients with pulmonary tuberculosis, and those of their corresponding gender- and age-matched non-tuberculosis controls with surface enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF MS) in order to establish a diagnositic model for tuberculosis differential proteins in these 2 nationalities. **Methods** A total of 87 sera samples from patients with pulmonary tuberculosis, 67 matched non-tuberculosis controls from Han and Tibetan people, 54 health individuals, 10 acquaired pneumonia and 3 chronic obstructive pulmonary disease were analyzed with SELDI-TOF MS. A training set of spectra derived from analysis of sera from 53 patients with pulmonary tuberculosis (Han 23, Tibetan 30) and 42 non-tuberculosis controls (Han 20, Tibetan 22) were analyzed with a machine learning algorithm called as decision tree boosting. The discovered decision trees were then used to identify an independent testing set of 59 masked samples: 34 pulmonary tuberculosis (Han people

【基金项目】 国家自然科学基金(30425007)
【通信作者】 文富强,电话:(028)85422380,E-mail:fuqiang.wen@163.com

15, Tibetan 19), and 25 controls (Han people 16, Tibetan 9). **Results** The decision tree model of m/z 3193.61 and 4592.11 detected 20 of 23 Han people pulmonary tuberculosis (sensitivity 86.59%) and 17 of 20 Han people controls (specificity 85.00%), and the model of m/z 4821.45 detected 28 of 30 Tibetan pulmonary tuberculosis (sensitivity 93.33%) and 19 of 22 Tibetan controls (specificity 86.36%) in the training set. However, the decision tree model of m/z 4091.98, 3398.27, 7970.44, 4965.51 and 7970.44 gave an accuracy of 92.45% for identifying Tibetan patients from Han people patients. Validation of independent blinded testing set detected 70.96%, 71.42%, and 67.92% accuracy, respectively. There were 16 differential protein/peptide peaks between Han and Tibetan patients with pulmonary tuberculosis. **Conclusion** The above decision model suggests a potential application of SELDI proteomic pattern analysis as a rapid and accurate method to diagnose individuals with pulmonary tuberculosis in both Han people and Tibetan, and there are proteomic differential between pulmonary tuberculosis patients from the 2 nationalities.

[Key words] spectrometry, mass, matrix-assisted laser desorption-ionization; tuberculosis, pulmonary; proteomics; protein array analysis; protein profiling; ethnic differential

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30425007). Correponding author: Wen Fuqiang, Tel: 86-28-85422380, E-mail: fuqiang.wen@163.com

世界卫生组织在 2009 年出版的《全球结核病控制》[1] 中指出：2007 年，估计新增 927 万结核病例，死于结核约有 175 万，结核仍然是当今世界由单一致病菌引起的死亡率最高的疾病，严重威胁着人类健康，对其进行深入研究仍是该领域的着力点。最近的研究[2-4] 提示宿主的基因型影响着他们对肺结核的易感性。因此，我们拟利用表面增强激光解析电离-飞行时间质谱（surface enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, SELDI-TOF MS）技术来初步研究汉、藏族肺结核患者的血清蛋白质质谱改变并比较两者的差异。

1 资料与方法

1.1 病例资料

收集 2008 年 6 月至 2009 年 3 月四川大学华西医院呼吸科结核病区、西藏自治区驻成都办事处医院内科、成都市传染病医院和成都市结核病防治研究院内科住院患者及门诊健康体检者共 154 份血清样本，其中 87 例活动性肺结核（汉族 38 例，藏族 49 例），男性 55 例，女性 32 例，平均年龄 33 岁。纳入标准：所选病例须满足世界卫生组织的肺结核诊断标准[5]，且为痰结核分枝杆菌培养阳性或荧光定量聚合酶链反应（fluorescence quantitative polymerase chain reaction, FQ-PCR）阳性。排除合并其他慢性疾病或某些慢性病毒携带状态的肺结核患者。67 例非结核对照（汉族 36 例，藏族 31 例），男性 42 例，女性 25 例，平均年龄 35 岁，来自 54 例健康受试者、10 例社区获得性肺炎和 3 例慢性阻塞性肺疾病患者。非结核对照者经过充分的临床评估排除了活动性结核，包括参考结核病症状，胸部影像，痰找抗酸杆菌或痰培养等。SELDI-TOF MS 质谱分析分为训练组和测试组：训练组包含 53 例肺结核（汉族 23 例，藏族 30 例）和 42 例非结核对照（汉族 20 例，藏族 22 例），所获得的血清质谱用决策树的学习算法来建立相应的汉、藏族肺结核血清蛋白质质谱诊断模型，然后在另外 34 例肺结核（汉族 15 例，藏族 19 例），25 例非结核对照（汉族 16 例，藏族 9 例）的测试组中应用所得的最佳模型来进行盲法预测，以验证模型的诊断率。

详细临床信息见表 1，各组间年龄、性别分布没有统计学差异（$P>0.05$）。该研究得到了四川大学华西医院伦理委员会的批准，并且受试者签署了知情同意书。

1.2 标本采集

受试者在清晨空腹状态下采血，5 ml 全血收集在真空无菌采血管中。样本先在室温下凝固 30 min，然后放入 4 ℃冰箱，离体后 2 h 内 3 000 r/min 离心 10 min，500 μl/管血清收集在无菌 EP 管中置 -80 ℃冻存直至分析前一次性融解。

表 1 肺结核组与非结核对照组的临床信息

临床信息	训练组	测试组	合计
活动性肺结核组			
例数	53	34	87
年龄（岁）	33（16～69）	32（17～70）	33（16～70）
性别（男/女）	34/19	21/13	55/32
汉族	23	15	38
藏族	30	19	49
症状	53（100）	34（100）	87（100）
持续咳嗽[例（%）]	47（89）	29（85）	76（87）
咯血[例（%）]	8（15）	6（18）	14（16）
盗汗、发热[例（%）]	14（26）	11（32）	25（29）
体质量下降[例（%）]	52（98）	34（100）	86（99）
平均症状持续时间（d）	593（15～4 380）	517（5～2 737）	556（5～4 380）
异常的胸部影像学改变[例（%）]	53（100）	34（100）	87（100）
HIV 阴性[例（%）]	53（100）	34（100）	87（100）
非结核对照组			
例数	42	25	67
健康志愿者[例（%）]	34（81）	20（80）	54（81）
社区获得性肺炎[例（%）]	6（14）	4（16）	10（15）
慢性阻塞性肺疾病[例（%）]	2（5）	1（4）	3（4）
年龄（岁）	36（17～69）	34（16～72）	35（16～72）
性别（男/女）	26/16	16/9	42/25
汉族	20	16	36
藏族	22	9	31

1.3 试剂和仪器

尿素、乙腈、三氟乙酸、乙酸钠(NaAc)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、芥子酸(SPA)、N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙烷磺酸(HEPES)、3-[(3-胆酰胺丙基)-二乙胺]-丙磺酸(CHAPS)、二硫苏糖醇(DTT)及α-氰-4羟基肉桂酸(CHCA)等购自美国Sigma公司。蛋白质芯片阅读机(Ciphergen PBS Ⅱ® SELDI-TOF MS,序列号:2A285TC)及弱阳离子交换芯片(CM10)购自美国Ciphergen公司。

1.4 方法

1.4.1 检测方法 血清在冰盒上溶解后4 ℃ 10 000 r/min离心5 min,吸取10 μl血清用20 μl U9(9 mol/L Urea,20 g/L CHAPS,50 mmol/L Tris-HCl,pH=9.0)缓冲液稀释,然后涡旋振荡混匀,在500 r/min的摇床上冰浴振荡30 min以彻底变性。用360 μl的结合缓冲液(50 mmol/L NaAc,pH=4.0)稀释变性的30 μl血清样本。把CM10蛋白质芯片置入生物芯片处理器中,在芯片的每一孔上加入200 μl结合缓冲液。每条芯片在室温下250 r/min振荡5 min,过多的结合缓冲液通过倒置生物芯片处理器在1张干净的纸巾上而被吸出。此过程重复1次。加100 μl的变性血清样本到生物芯片处理器里已经提前平衡好的蛋白质芯片中,500 r/min室温下振荡30 min。振荡后用同样的结合缓冲液洗3次,然后用去离子水冲洗2次,置室温下风干后,每孔中加入0.5 μl的芥子酸,风干后再次加入等量芥子酸。已加入血清样本的蛋白质芯片待风干后准备上机读取数据。肺结核和非结核对照样本同时掺杂在蛋白质芯片上检测,检测人员不清楚这些血清样本的具体性质。

1.4.2 数据收集 用ProteinChip Software 3.2.0软件收集质谱信号。设定仪器参数:收集数据范围为1 000~50 000,优化范围1 000~20 000,激光强度为189~209,检测敏感度为8。所有原始数据用总离子流进行校正,选质荷比(mass-to-charge ratio, m/z)位于2 000~30 000的峰值来进行分析。

1.5 统计学分析

实验室数据和单个峰值的统计学差异使用Mann-Whitney *U*检验进行分析,组间的临床资料使用方差分析。统计先用Ciphergen ProteinChip Software 3.2.0、SPSS 13.0统计软件来进行分析,然后使用Biomarker Wizard Software 3.2.0和Biomarker Patterns™ Software 5.0(Ciphergen Biosystem)软件来鉴定肺结核的最佳生物标志物并构建决策树诊断模型。

2 结果

2.1 评价实验的可重复性

在不同批次芯片和同一芯片不同点随机选取8个点上样同一份健康受试者的质控血清,并以表达较一致的9个蛋白峰来进行重复性检测,获得蛋白峰峰值变异系数为19.84%,蛋白峰质荷比变异系数为0.04%,均达到SELDI技术商推荐的可重复性标准。

2.2 构建汉族肺结核的诊断模型

汉族肺结核组与汉族非结核对照组比较时,发现42个差异蛋白质/肽峰,通过使用这些差异峰,利用软件建立了1个诊断模型(m/z为3 193.61、4 592.11),其质谱图见图1。结果提示该模型诊断出23例汉族肺结核中的20例和20例汉族非结核对照中的17例,准确度86.04%(敏感性86.95%,特异性85.00%),在独立的验证组中其诊断汉族肺结核的准确度是70.96%(敏感性73.33%,特异性68.75%)。

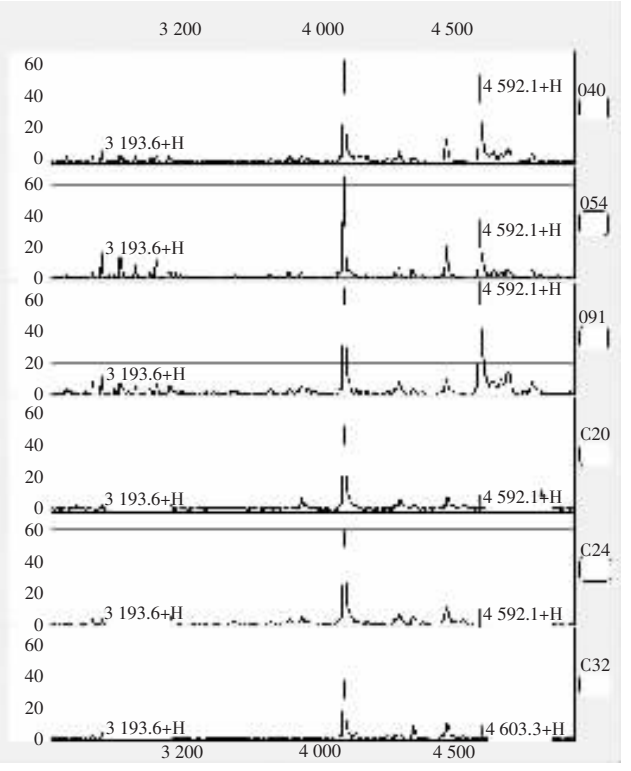


图1 鉴别汉族肺结核(040,054,091)及其非结核对照者(C20,C24,C32)的诊断模型(m/z为3 193.6、4 592.1)质谱分析

2.3 构建藏族肺结核的诊断模型

藏族肺结核组与藏族非结核对照组比较时,发现36个差异蛋白质/肽峰,软件也能够建立1个诊断模型(m/z 4 821.45,图2),其可以诊断出30例藏族肺结核中的28例和22例藏族非结核对照中的19例,准确度90.38%(敏感性93.33%,特异性86.36%),在独立的验证组中其诊断藏族肺结核的准确度是71.42%(敏感性68.42%,特异性77.77%)。

2.4 藏、汉族肺结核的比较

将2组肺结核进行比较,发现藏、汉族肺结核患者82个血清蛋白质质谱峰中存在16个差异峰(m/z为3 193.61,3 263.40,3 398.27,4 091.98,4 702.84,4 965.51,5 633.94,6 629.12,6 836.24,7 970.44,8 074.25,8 907.49,9 611.13,15 890.1,16 086.3,16 718.7),而模型(m/z 4 091.98,3 398.27,7 970.44,4 965.51,7 970.44)则能够将藏族肺结核从汉族患者中区分出来,准确度为92.45%(敏感性93.33%,特异性91.30%),决策树模型见图3。在验证组中该模型判别藏族肺结核的准确度为67.92%(敏感性65.21%,特异性70.00%)。

2.5 质谱峰m/z 4 821的鉴定

我们采用双向凝胶电泳分离得到兴趣峰之一的蛋白质/肽(m/z为4 821),通过胰蛋白酶胶上原位消化得到它的多肽混合物,再使用基质辅助激光解析电离(matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI)飞行时间质谱技术得到肽质量指

纹图谱(peptide mass fingerprint,PMF),在 NCBInr 数据库中比对,发现它是一种由 43 个氨基酸组成的蛋白质,其性质尚不清楚,参见“ B0V386_HUMAN ”(http ://www. expasy. ch),经差异蛋白质/肽峰 4 821 的 PMF 鉴定,结果为总得分 68 分,提示它属于一种有统计学意义的新蛋白质。

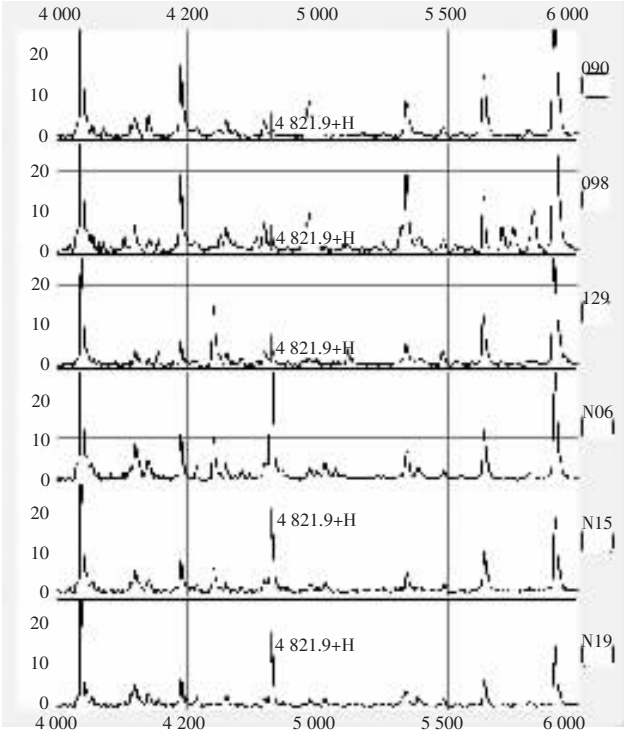
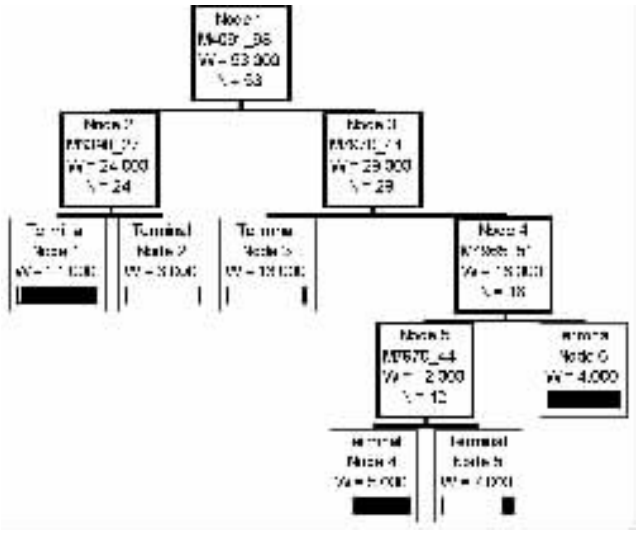


图 2　鉴别藏族肺结核(090、098、129)及其非结核对照者(N06、N15、N19)的诊断模型(m/z 为 4 821)质谱分析



Node 为结点,小于和等于拐点值的受试者归入左下侧,反之,归入右下侧 ;Node2 代表峰强度≤61. 202 的被测样品, Node3 代表峰强度 >61. 202 的样品 ;m/z 为 4 091. 98、3 398. 27、7 970. 44、4 965. 51、7 970. 44 的拐点值分别为 61. 202、9. 418、7. 321、5. 973、9. 980 ; Terminal Node 为终结点 ;Mxxxx_xx :被选作结点蛋白质/肽的分子质量 ;W、N :决策树模型在该结点上诊断出的样本例数 ;白色 :汉族肺结核患者血清样本 ;黑色 :藏族肺结核血清样本

图 3　鉴别藏、汉族肺结核患者的决策树模型分析

3　讨论

自从 Koch 时代以来人类虽然进行过大量的研究,但迄今为止仍然没有简单、快速和准确诊断肺结核的技术,也没能对肺结核的发病机制进行全面系统阐述。近年出现的蛋白质组学新技术为该领域的深入研究提供了有力的工具。譬如夏季等[6] 就曾利用蛋白质芯片联合检测 5 项已知的结核抗体来提高快速诊断结核病的敏感性和特异性,另外在许多研究[7-12] 发现 SELDI 技术能对某些恶性肿瘤、感染性疾病等进行快速准确诊断后,Agranoff 等[13] 和吴雪琼等[14] 就先后报道了利用它来诊断活动性肺结核,得出的结论是肺结核的潜在生物标志物与这种疾病有着可信的生物学联系。

本研究则首先进一步证实 SELDI 技术能够用于诊断汉、藏族肺结核。质谱模型 m/z 为 3 193. 61、4 592. 11 诊断汉族肺结核的准确度 86. 04%,验证组中诊断准确度为 70. 96% ;模型 m/z 为 4 821. 45 诊断藏族肺结核的准确度 90. 38%,验证组中诊断准确度是 71. 42%。其次,本研究还挖掘出藏、汉族肺结核患者 82 个血清蛋白质质谱峰中存在 16 个差异峰,虽然它们的出现有一些基因组学的证据,即宿主的基因型影响着他们对肺结核的易感性[2-4],人类某一特定结核分枝杆菌抗原决定簇产生的抗体滴度与具体的 HLA 等位基因相关联[15],但是现有知识体系确实还不能较好解释这些差异蛋白存在的原因。在此我们只是首次从血清全蛋白质组学的层面印证了肺结核的民族复杂性。最后,该研究还发现单个蛋白峰 m/z 为 4 821. 45 可以较好地将藏族肺结核从藏族对照者中鉴别出来,准确度 71. 42%,随后我们用双向凝胶电泳技术分离出了目标蛋白质 4 821,并且发现在 SELDI 和双向凝胶电泳两种技术层面 4 821 在肺结核中的表达方向是一致的,即在肺结核中其表达明显下调,之后又通过 MALDI 研究证实它确实是一种由 43 个氨基酸组成的新蛋白质[16],但遗憾的是由于不清楚它的具体构型和属性,我们课题小组不能再采用 Western blot 和 ELISA 等方法对其进行更深入的效价检验。

总之,本研究展示出 SELDI 技术对汉、藏族肺结核的诊断均具有较高价值,两个民族的肺结核患者存在一定的蛋白质表达差异。在 SELDI 技术发展成熟后,开展不同地区,多中心,大样本的随机对照研究,反复验证和完善肺结核血清质谱诊断模型,该项技术有可能用于快速、准确地诊断肺结核,而对构成诊断模型的蛋白质/肽的鉴定也可进一步帮助认清肺结核的分子免疫病理学机制并帮助寻找肺结核的特异血清标志物。

参考文献:

[1] WHO. Global tuberculosis control 2009-epidemiology, strategy, finan-

cing[R]. Geneva: World Health Organization, 2009.
[2] Hirsh A E, Tsolaki A G, DeRiemer K, *et al*. Stable association between strains of Mycobacterium tuberculosis and their human host populations[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(14): 4871-4876.
[3] Gutacker M M, Mathema B, Soini H, *et al*. Single-nucleotide polymorphism-based population genetic analysis of Mycobacterium tuberculosis strains from 4 geographic sites [J]. J Infect Dis, 2006, 193(1): 121-128.
[4] Gagneux S, DeRiemer K, Van T, *et al*. Variable host-pathogen compatibility in Mycobacterium tuberculosis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(8): 2869-2873.
[5] World Health Organization, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, Royal Netherlands Tuberculosis Association. Revised international definitions in tuberculosis control[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2001, 5(3): 213-215.
[6] 夏季, 蔡晋, 邓少丽, 等. 蛋白芯片联合检测5项结核抗体在结核病诊断中的价值[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(3): 220-222.
[7] Lu H B, Zhou J H, Ma Y Y, *et al*. Five serum proteins identified using SELDI-TOF-MS as potential biomarkers of gastric cancer [J]. Jpn J Clin Oncol, 2010, 40(4): 336-342.
[8] Wadsworth J T, Somers K D, Cazares L H, *et al*. Serum protein profiles to identify head and neck cancer[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(5): 1625-1632.
[9] Kang X, Xu Y, Wu X, *et al*. Proteomic fingerprints for potential application to early diagnosis of severe acute respiratory syndrome [J]. Clin Chem, 2005, 51(1): 56-64.
[10] Papadopoulos M C, Abel P M, Agranoff D, *et al*. A novel and accurate diagnostic test for human African trypanosomiasis [J]. Lancet, 2004, 363(9418): 1358-1363.
[11] Kanmura S, Uto H, Kusumoto K, *et al*. Early diagnostic potential for hepatocellular carcinoma using the SELDI ProteinChip system [J]. Hepatology, 2007, 45(4): 948-956.
[12] de-Seny D, Fillet M, Meuwis M A, *et al*. Discovery of new rheumatoid arthritis biomarkers using the surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry ProteinChip approach [J]. Arthritis Rheum, 2005, 52(12): 3801-3812.
[13] Agranoff D, Fernandez-Reyes D, Papadopoulos M C, *et al*. Identification of diagnostic markers for tuberculosis by proteomic fingerprinting of serum [J]. Lancet, 2006, 368(9540): 1012-1021.
[14] 吴雪琼, 张俊仙, 梁艳, 等. 应用蛋白质谱建立活动性肺结核病的血清诊断模型 [J]. 中华微生物和免疫学杂志, 2008, 28(11): 1040-1043.
[15] Bothamley G H, Beck J S, Schreuder G M, *et al*. Association of tuberculosis and M. tuberculosis-specific antibody levels with HLA [J]. J Infect Dis, 1989, 159(3): 549-555.
[16] Liu Q, Chen X, Hu C, *et al*. Serum protein profiling of smear-positive and smear-negative pulmonary tuberculosis using SELDI-TOF mass spectrometry [J]. Lung, 2010, 188(1): 15-23.

(收稿: 2010-04-06 修回: 2010-05-12)
(编辑 王 红)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2010)18-1990-01

24例难治性支原体肺炎临床分析

周智婴, 张 峰 (712100 陕西 杨凌, 杨凌示范区医院儿科)

【关键词】 肺炎, 支原体
【中图法分类号】 R56.1 【文献标志码】 B

儿童支原体肺炎(mycoplasma pneumoniae, MP)与成人差异很大,表现为重症多,肺外脏器受累者多,转为慢性或难治性肺炎或闭塞性毛细支气管炎者多[1]。且难治性MP由于病情重或病程迁延,肺内外并发症和合并症多,易发生混合感染,或对红霉素类抗生素耐药,给诊断和治疗带来困难,现将本院2008年1月至2009年1月收治的24例难治性MP病例的临床资料回顾分析如下。

1 临床资料

所有病例符合以下诊断标准:①经大环内酯类抗生素治疗效果不佳(单用大环内酯类抗生素治疗1周左右患儿病情仍未见好转);②病情重(除严重肺部病变外还伴肺外多系统并发症);③病程超过1个月仍迁延不愈[2,3]。其中相当部分是重症肺炎支原体肺炎。其中男性14例,女性10例,年龄1~12岁。

1.1 临床表现

所有患儿有咳嗽,发热19例,伴气促8例,伴喘息7例,伴胸痛5例。肺部有阳性体征18例,其中呼吸音减低6例,呼吸音粗及干啰音(哮鸣音)10例,湿啰音8例。血常规:WBC $(5\sim10)\times10^9$/L 15例, $>10\times10^9$/L 9例,其中5例出现类白血病反应;C反应蛋白:<8 mg/d 16例,~150 mg/d 118例,血沉:≤20 mm/h 4例,~110 mm/h 20例。所有患儿用颗粒凝集法检测血清MP-IgM,滴度<1:40为正常,>1:160为阳性或双份血清(间隔2周)抗体滴度上升4倍或下降至原来的1/4。

1.2 并发症及合并症

4例心肌受损,3例嗜睡、烦躁、精神萎靡、抽搐等神经系统症状,4例肝脏损害,5例合并营养不良。

1.3 胸部X线检查

弥散性肺间质改变7例;轻度肺气肿5例;肺门淋巴结肿大5;大叶性或节段性肺炎7例;2例右下肺可见椭圆形实质性阴影,经肺部CT检查示局限性节段性炎症。

【通信作者】 周智婴, E-mail: zhfeng1974@126.com

(下转2001页)