

## 支原体肺炎儿童与健康儿童血清 拉曼光谱检测的差异性研究\*

林小平, 刘晓良, 余瑶, 赵芳, 苏艳丽 (商洛市中心医院检验科, 陕西商洛 726000)

**摘要:**目的 探讨血清拉曼光谱检测技术在支原体肺炎儿童与健康儿童的差异性。方法 收集商洛市中心医院2017年4~12月收治的支原体肺炎患儿血清100例作为实验组, 选取同期健康儿童的血清100例作为对照组, 使用全自动显微拉曼系统检测两组血清的拉曼光谱信号, 对差异性进行分析。结果 与对照组相比, 实验组血清在位移 $1\,653.34\text{ cm}^{-1}$ 处拉曼光谱峰发生了减弱, 差异有统计学意义( $t=2.137, P<0.05$ ), 在位移 $1\,152.93$ 和 $1\,515.33\text{ cm}^{-1}$ 处拉曼光谱峰得到了增强, 差异有统计学意义( $t=2.027$ 和 $2.028$ , 均 $P<0.05$ )。结论 初步研究表明支原体肺炎儿童与健康儿童血清拉曼光谱信号存在差异。

**关键词:**光谱分析; 拉曼; 支原体肺炎; 早期诊断

中图分类号: R563.15; Q503 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)03-115-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.03.028

## Study on the Difference of Serum Detection Technology of *Mycoplasma Pneumoniae* Pneumonia(MPP) Based on Raman Spectroscopy in Children

LIN Xiao-ping, LIU Xiao-liang, YU Yao, ZHAO Fang, SU Yan-li

(Department of Clinical Laboratory,

Shangluo Central Hospital, Shaanxi Shangluo 726000, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the difference of serum Raman spectroscopy in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia(MPP) and healthy children. **Methods** The serum in 100 cases of children with MPP from April to December 2017 in the Shangluo Central Hospital were selected as experimental group, and 100 cases of healthy children's serum were selected as the control group. The Raman spectral signals from two groups of serum were detected using a fully automated micro Raman system, and the data was analyzed. **Results** Compared with control group, the experimental group children showed lower levels of the intensities at  $1\,653.34\text{ cm}^{-1}$  ( $t=2.137, P<0.05$ ), respectively, but higher levels of the intensities at  $1\,152.93$  and  $1\,515.33\text{ cm}^{-1}$  ( $t=2.027, 2.028$ , all  $P<0.05$ ). **Conclusion** This preliminary studies demonstrated that there was a difference in serum Raman spectral signals between children with MPP and healthy children.

**Keywords:** spectrumanalysis; raman; *Mycoplasma pneumoniae*; early diagnosis

近年来,肺炎支原体肺炎(*mycoplasma pneumoniae* pneumonia, MPP)在儿童中的发病率呈现出逐渐上升的趋势,尤其是3~7岁的儿童,发病率约为44%,并且患儿的年龄趋于低龄化<sup>[1-2]</sup>,而肺炎支原体(*mycoplasma pneumoniae*, MP)是儿童发生MPP的主要原因<sup>[3]</sup>。目前对MP的实验室诊断方法主要有病原体分离培养技术和核酸检测技术、血清学诊断技术等方法,但是这些检测方法目前都存在一定的局限性<sup>[4]</sup>。基于现有的MP诊断状况,发展一种高灵敏度和便捷的检测手段,对于该病的早期诊断具有非常实用的医学价值。

拉曼光谱技术分析速度快、所需样品浓度低、无需预处理样品、不破坏样品、灵敏度较高,现已成为生物医学诸多研究领域中的有力武器<sup>[5]</sup>。本研究检测MPP患儿和健康儿童的血清拉曼光谱信

号,研究其差异性,初步探索将拉曼光谱检测技术应用到儿童MPP诊断的可行性。

### 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取商洛市中心医院2017年4~12月收治的MPP患儿血清100例作为实验组,年龄在8个月~14周岁。另选取同期正常儿童血清100例作为对照组,所有样本均在早晨空腹抽血分离血清待测。

1.2 仪器 采用HORIBA公司的XploRA PLUS全自动显微拉曼系统。

1.3 方法 根据本课题组优化好的血清样本测试方法,选取血清 $2.5\text{ }\mu\text{l}$ ,点至载玻片上,静置孵育30 min;使用全自动显微拉曼系统检测。测试条件如下:激光波长532 nm,光栅 $1\,800\text{ g/mm}$ ,激光功率100%,采集时间25 s,采集次数1次,光谱范围

\* 作者简介:林小平(1987—),男,硕士,初级检验师,主要从事生化、微生物学检验, E-mail: lxp07@outlook.com。

通讯作者:刘晓良(1971—),男,主任检验师, E-mail: shangluolxl@163.com。

400 cm<sup>-1</sup>~1 800 cm<sup>-1</sup>。为了减少电噪音、宇宙射线以及光功率波动等不利因素的影响,每个样本测量3次,取平均值,所得光谱进行归一化处理后用于分析。

1.4 统计学分析 实验数据采用 SPSS22.0 统计软件进行分析。计量资料用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )

表示,组间量的比较采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清的拉曼图谱 见图1。在位移 490.47,1 152.93,1 515.33,1 653.34cm<sup>-1</sup>处两组血清的拉曼光谱峰强弱存在差异性。

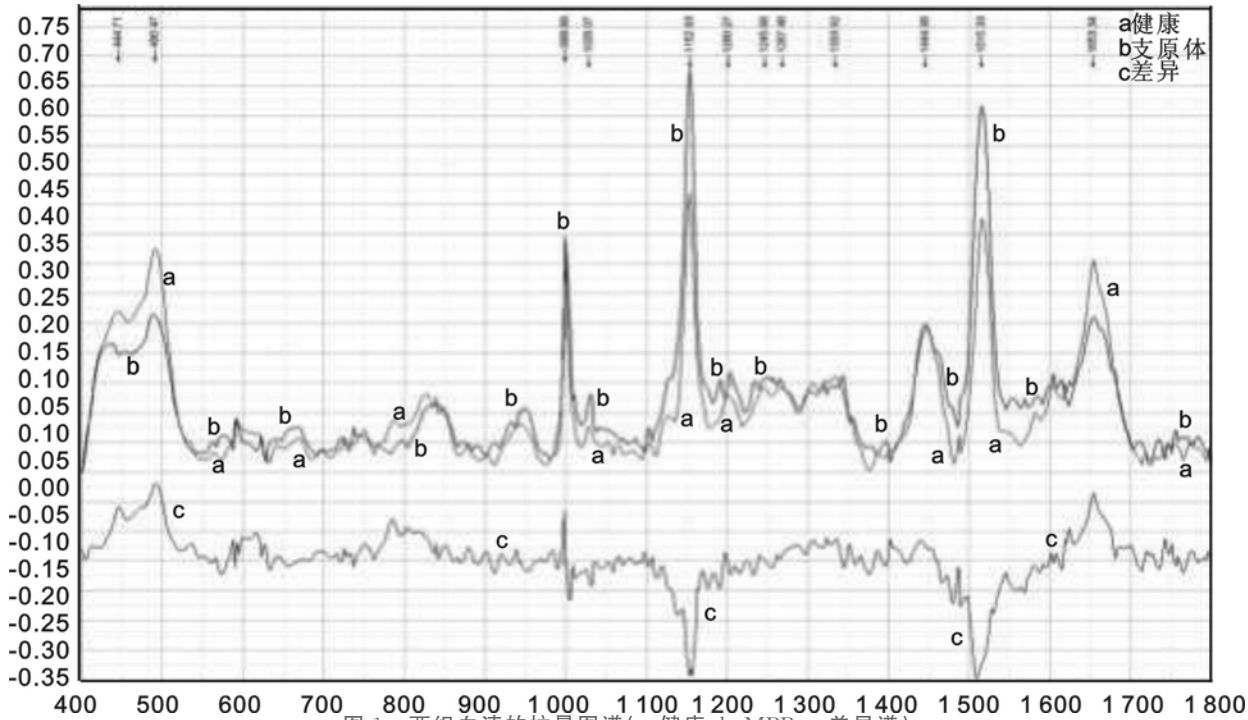


图1 两组血清的拉曼图谱(a:健康;b:MPP;c:差异谱)

2.2 拉曼光谱峰强度比较 见图2。与对照组相比,在位移 1 152.93 与 1 515.33cm<sup>-1</sup>处实验组血清拉曼光谱峰得到了增强,两组之间的差异有统计学意义(*t*=2.027,2.028,均 *P*<0.05),在位移 490.47 与 1 653.34 cm<sup>-1</sup>处实验组血清拉曼光谱峰发生了减弱,其中在位移 490.47 cm<sup>-1</sup>处两组之间差异无统计学意义(*t*=1.260,*P*>0.05),在位移 1 653.34 cm<sup>-1</sup>处两组之间差异有统计学意义(*t*=

2.137,*P*<0.05)。

2.3 拉曼谱峰归属 查阅资料,分析后发现血清各拉曼光谱峰大部分归属于酪氨酸、苯丙氨酸、β-胡萝卜素、酰胺Ⅰ、α螺旋、磷脂、N-乙酰基葡萄糖、D-葡萄糖和葡萄糖醛酸等物质。其中在位移 1 152.93,1 515.33 cm<sup>-1</sup>处拉曼峰主要归属于β-胡萝卜素;在位移 1 653.34 cm<sup>-1</sup>处拉曼峰归属于酰胺Ⅰ、α螺旋和磷脂,见表1。

表1 拉曼光谱峰归属(单位:cm<sup>-1</sup>)<sup>[6-8]</sup>

拉曼峰位移(cm <sup>-1</sup> )	主要归属
488.71~490.47	
998.89	苯丙氨酸
1 031.33	苯
1 152.93	β-胡萝卜素
1 200.27~1 203.41	酪氨酸,苯丙氨酸,N-乙酰基葡萄糖,D-葡萄糖,葡萄糖醛酸
1 267~1 267.48	磷脂,酰胺Ⅲ
1 333.92~1 343.13	C-H 伸缩,色氨酸,腺嘌呤,α螺旋,磷脂
1 444.98~1 446.48	磷脂,C-H scissor in CH <sub>2</sub>
1 515.33	β-胡萝卜素
1 653.34~1 654.79	酰胺Ⅰ,α螺旋,磷脂

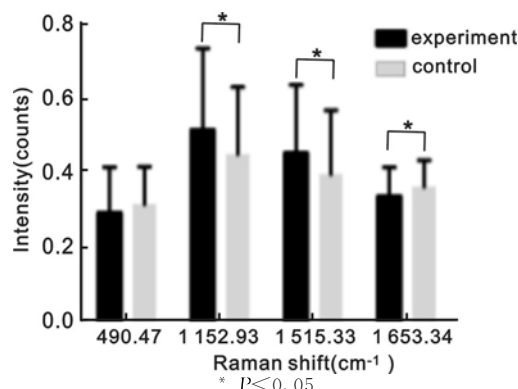


图2 两组血清特征峰的拉曼光谱强度

3 讨论 肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, MP)是一种原核病原微生物,其大小介于病毒和细菌之间。它是儿童呼吸道感染的重要病原体之一,临床表现复杂多样,发病率逐年上升<sup>[9-10]</sup>。目前对于MP的检测,无论是病原体分离培养技术、核酸检测技术,还是血清学诊断技术,都存在着一些缺陷<sup>[4]</sup>;如病原体分离培养技术是诊断MP感染的有效方法,能够直接检测到MP,但是此法检出率低、培养条件严苛、耗时较长、操作复杂,且在MP感染早期不敏感,因而临床使用上常受到限制;核酸检测技术虽然敏感性高,但是容易受到污染,假阳性率较高,操作方法复杂,使得目前临床使用受限,大多医院并未广泛应用;血清学诊断技术主要是检测患儿血清中的MP抗体,但阳性结果也不能确诊感染了MP,需要与临床症状结合起来进行分析,而部分患者感染MP后不产生抗体或者产生的抗体量特别少,不能被检测出来<sup>[11-12]</sup>。现有的检测方法的不完善使得MPP的诊断时间延后,影响患者的治疗,因此发展一种灵敏度高、检测时间短、操作简便的MP检测方法具有重要意义。

拉曼效应普遍存在于一切分子中,无论是气态、液态和固态,而且每一种物质的拉曼光谱都只与其自身的分子结构有关,与入射光频率无关。近年来,拉曼光谱技术在物质结构分析和物质定性、定量分析等方面的应用得到了快速发展。血清拉曼图谱已经可以作为一种指纹图谱,来反映不同机体内蛋白质、核酸、脂质等生物分子的差异性,用来推断机体生理变化,进而进行相关疾病的诊断<sup>[5]</sup>。本课题对MPP患儿和健康儿童的血清研究表明,小儿感染MP后,血清拉曼光谱峰的强弱发生了改变。查阅资料,分析相关拉曼光谱峰的归属,发现造成这种改变的原因可能是MPP患儿血清中 $\beta$ -胡萝卜素水平的升高和酰胺I与磷脂水平的降低。据此,可以说明MPP患儿与健康儿童血清拉曼光谱信号存在差异性,这就为血清拉曼光谱检测技术应用于儿童MP检测奠定了相关理论基础。但本

实验检测的标本量有待扩大,条件需要进一步优化,而且需要研究血清中 $\beta$ -胡萝卜素、酰胺I和磷脂水平与MP的相关性,从而为儿童MP的快速检测提供便利。

#### 参考文献:

- [1] 王芳,王森.阿奇霉素在小儿支原体肺炎治疗中的应用方法研究进展[J].中国药业,2017,26(13):94-96. WANG Fang, WANG Sen. Application progress of azithromycin in treating pediatric *Mycoplasma pneumoniae* [J]. China Pharmaceuticals, 2017, 26(13): 94-96.
- [2] 周克亮.阿奇霉素序贯疗法治疗小儿支原体肺炎疗效分析[J].中国实用医药,2015,10(36):132-133. ZHOU Keliang. Clinical analysis of azithromycin sequential therapy in the treatment of children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia [J]. China Practical Medical, 2015, 10(36): 132-133.
- [3] 江锡娟.小儿肺炎支原体肺炎并发症防治进展[J].临床医药文献杂志,2018,5(12):191-193. JIANG Xijuan. Progress in prevention and treatment of complications of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children [J]. Journal of Clinical Medical Literature, 2018, 5(12): 191-193.
- [4] 王良玉,辛德莉.肺炎支原体感染实验室诊断的研究进展[J].传染病信息,2017,30(1):51-55. WANG Liangyu, XIN Deli. Research progress on laboratory diagnostic techniques for *Mycoplasma pneumoniae* infection [J]. Infectious Disease Information, 2017, 30(1): 51-55.
- [5] 田国辉,陈亚杰,冯青茂.拉曼光谱的发展及应用[J].化学工程师,2008,22(1):34-36. TIAN Guohui, CHEN Yajie, FENG Qingmao. Development and application of Raman technology [J]. Chemical Engineer, 2008, 22(1): 34-36.
- [6] XIAO Rui, ZHANG Xuhui, RONG Zhen, et al. Non-invasive detection of hepatocellular carcinoma serum metabolic profile through surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Nanomedicine, 2016, 12(8): 2475-2484.
- [7] LI Xiaozhou, YANG Tianyue, LI Siqi, et al. Noninvasive liver diseases detection based on serum surface enhanced Raman spectroscopy and statistical analysis [J]. Opt Express, 2015, 23(14): 19361-18372.
- [8] WANG Jing, FENG Shangyuan, LIN Juqiang, et al. Serum albumin and globulin analysis for hepatocellular carcinoma detection avoiding false-negative results from alpha-fetoprotein test negative subjects [J]. Appl Phys Lett, 2013, 103(20): 204106.
- [9] 殷勇,陆权,闫晓莉,等.肺炎支原体感染的流行病学[J].中华儿科杂志,2016,54(2):91-93. YIN Yong, LU Quan, YAN Xiaoli, et al. The epidemiology of *Mycoplasma pneumoniae* infection [J]. Chin J Pediatr, 2016, 54(2): 91-93.

(下转 120 页)

(上接 117 页)

- [10] 于国慧,吕志勇,宋文琪. 儿童疑似肺炎支原体感染者血清、支气管灌洗液、胸腔积液、脑脊液 MP-Ab-IgM 检测的结果分析[J]. 现代检验医学杂志,2018,33(2),93-96.
- YÜ Guohui,LÜ Zhiyong,SONG Wenqi. Analysis of the results of MP-Ab-IgM detection of serum,bronchial lavage fluid,pleural effusion and cerebrospinal fluid in children suspected of *Mycoplasma pneumoniae* infection[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine,2018,33(2),93-96.
- [11] 李正秋,刘兰香,刘云花. 两种不同方法检测儿童肺炎支原体感染的对比分析[J]. 中国中西医结合儿科学,2016,8(4):423-426.

- LI Zhengqiu,LIU Lanxiang,LIU Yunhua. A comparative analysis of two different methods for detection of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children [J]. Chinese Pediatrics of Integrated Traditional and Western Medicine,2016,8(4):423-426.
- [12] 宋小芳. 儿童肺炎支原体感染的三种检测方法的临床应用分析[J]. 临床医药实践,2018,27(10):767-770.
- SONG Xiaofang. Clinical application analysis of three methods to diagnose MP infection in children[J]. Proceeding of Clinical Medicine,2018,27(10):767-770.

收稿日期:2018-12-04

修回日期:2019-03-24