

# 肺炎支原体 IgM 和 IgG 抗体的时间分辨荧光免疫层析法的建立及初步应用

张艺<sup>1</sup> 周彬<sup>1</sup> 张珏<sup>1</sup> 杨雪<sup>2</sup> 刘洁<sup>3</sup> 胡志刚<sup>2</sup>

<sup>1</sup>国家卫生健康委员会核医学重点实验室、江苏省分子核医学重点实验室、江苏省原子医学研究所,无锡 214063;<sup>2</sup>南京医科大学附属无锡儿童医院检验科,无锡 214023;<sup>3</sup>南京医科大学附属无锡人民医院呼吸内科,无锡 214023

通信作者:胡志刚, Email: jswxhgz@163.com

**【摘要】** 目的 构建可快速、灵敏、定量检测肺炎支原体(MP)免疫球蛋白(Ig)M 和 IgG 抗体的时间分辨荧光免疫层析法(TFICA)。方法 基于毛细管作用,应用钕微球示踪,通过对抗原/抗体微球偶联比、微球稀释度、划膜浓度和血清稀释度进行优化,建立检测 MP-IgM 和 IgG 抗体的 TFICA,并考核其方法学性能(如灵敏度、特异性、稳定性)。通过对 55 名健康体格检查者进行检测获得 TFICA 的正常参考值;采用 TFICA 与市售化学发光法试剂盒分别检测 88 名受试者(33 例患者,55 名健康体格检查者)的血清样本,计算结果一致性(Kappa 检验)。结果 反应条件为:鼠抗人 IgG 抗体和 MP 抗原与微球分别按质量比 1:20 和 1:100 反应,微球工作稀释度分别为 1:200 和 1:100;MP 抗原和羊抗人 IgM 的划膜浓度分别为 0.5 和 1.0 g/L;血清稀释度均为 1:300。建立的 MP-IgM 和 IgG TFICA 测量范围分别为  $(0.78 \sim 70.00) \times 10^3$  相对单位(RU)/L 和  $(0.17 \sim 200.00) \times 10^3$  RU/L,检测灵敏度分别为  $0.78 \times 10^3$  和  $0.17 \times 10^3$  RU/L,与甲状腺过氧化物酶抗体、心磷脂酶抗体、甲状腺球蛋白抗体均无交叉反应;相对标准偏差分别为 3.7%~14.8% 和 2.9%~14.0%。经 37 °C 5 d 快速老化,MP-IgM 和 IgG TFICA 试剂的平均信号降低率分别为 13.7% 和 14.2%,提示热稳定性好。该法正常参考值分别为  $3.33 \times 10^3$  和  $2.61 \times 10^3$  RU/L;与市售化学发光试剂盒检测结果的 Kappa 值分别为 0.79 和 0.76。结论 TFICA 检测 MP-IgM 和 IgG 抗体具有操作简捷、灵敏度高、特异性好、可定量的优点,具备一定的临床应用价值。

**【关键词】** 免疫球蛋白 M;免疫球蛋白 G;肺炎支原体;荧光免疫测定;微球体

**基金项目:**江苏省妇幼健康重点人才项目(FRC201741);江苏省卫健委面上项目(H2019069);无锡市科技局指令性科研项目(WX18HIAN027);无锡市医学重点人才项目(ZDRC006);无锡市科技发展资金项目(WX18HIAN047)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20200818-00315

## Time-resolved fluorescence immunochromatographic assay for the detection of mycoplasma pneumoniae IgM and IgG

Zhang Yi<sup>1</sup>, Zhou Bin<sup>1</sup>, Zhang Jue<sup>1</sup>, Yang Xue<sup>2</sup>, Liu Jie<sup>3</sup>, Hu Zhigang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>NHC Key Laboratory of Nuclear Medicine, Jiangsu Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214063, China; <sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory, Wuxi Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China; <sup>3</sup>Respiratory Department, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China

Corresponding author: Hu Zhigang, Email: jswxhgz@163.com

**【Abstract】 Objective** To establish time-resolved fluorescence immunochromatographic assay (TFICA) for rapid and quantitative detection of mycoplasma pneumoniae (MP) immunoglobulin (Ig) M and IgG. **Methods** Based on capillary effect and europium nanospheres, rapid TFICA for MP-IgM and IgG detections were developed with the optimized parameters (coupling rates of antigens or antibodies to microspheres, dilution of labeled nanospheres, fixture concentrations on test line and serum dilutions). The methodological performances were estimated such as sensitivity, specificity, stability. By testing 55 healthy control samples, the reference values of TFICA were obtained. The reliability was evaluated by Kappa test from detecting sera of 88 cases (33 patients and 55 healthy controls) using TFICA and commercial kits by chemiluminescence immunoassays (CLA). **Results** After screening the assay conditions, the mass ratios of mouse anti-human IgG and MP antigen with nanospheres were 1:20 and 1:100 respectively; the work dilutions of nanobeads conjugated with anti-human IgG and MP antigen were 1:200 and 1:100 respectively; the

spraying concentrations of MP antigen and goat anti-human IgM were 0.5 and 1.0 g/L on the test line respectively, and the working dilutions of serum sample were both 1:300. In the MP-IgM and IgG detections, the linear working ranges were  $(0.78-70.00) \times 10^3$  relative unit (RU)/L and  $(0.17-200.00) \times 10^3$  RU/L, while the sensitivities of the assays were  $0.78 \times 10^3$  and  $0.17 \times 10^3$  RU/L, respectively. No cross reactions were found with antithyroid peroxidase antibody, anticardiolipin antibody or thyroglobulin antibody. In these MP-IgM and IgG assays, the relative standard deviations were 3.7%–14.8% and 2.9%–14.0%, the average reduction rates of fluorescence were 13.7% and 14.2% respectively after incubation at 37 °C for 5 d. The reference values of MP-IgM and IgG were  $3.33 \times 10^3$  and  $2.61 \times 10^3$  RU/L, while the *Kappa* values between TFICA and CLA were 0.79 and 0.76, respectively. **Conclusion** TFICA is a simple, sensitive, specific and quantitative method for detecting MP-IgM and IgG antibodies, and may show great promise for future clinical use.

**【Key words】** Immunoglobulin M; Immunoglobulin G; Mycoplasma pneumoniae; Fluoroimmunoassay; Microspheres

**Fund program:** Jiangsu Provincial Key Talent Program for Maternal and Child Health (FRC201741); Project of Jiangsu Health and Family Planning Commission (H2019069); Medical and Public Health Project of Wuxi Sci-Tech Development Fund (WX18HAN027); Wuxi Key Medical Talents (ZDRC006); Project of Wuxi Sci-Tech Development Fund (WX18HAN047)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20200818-00315

肺炎支原体(mycoplasma pneumoniae, MP)是引发呼吸道感染的常见病病原体之一,MP肺炎常在冬季高发,且患者多为幼儿<sup>[1]</sup>。当前,重症及难治性MP肺炎患者逐渐增加,严重者可累及多个系统,危及生命<sup>[2]</sup>。临床常采用血清学MP-免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)M和IgG检测来判断感染病程。MP-IgM阳性可作为早期或急性感染的诊断指标;MP-IgG常在发病2周后出现,是MP感染的最可靠指标,其3倍以上滴度提示近期感染,否则为既往感染<sup>[3]</sup>。本研究基于毛细管作用,采用包裹铈的纳米微球示踪,拟建立检测MP-IgM和IgG的时间分辨荧光免疫层析法(time-resolved fluorescence immunochromatographic assay, TFICA),以提供一种简便、灵敏、定量测量MP抗体含量的方法。

## 材料与方 法

1.主要试剂与材料。MP-IgM和MP-IgG抗体标准品购自IBL国际公司(德国);MP-IgM和IgG化学发光法检测试剂盒购自深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司;MP抗原、羊抗鼠、羊抗兔和兔IgG购自深圳市菲鹏生物股份有限公司,羊抗人IgM和鼠抗人IgG购自Sigma公司(美国)。含铈的羧基荧光微球(简称微球),粒径300 nm,购自上海捷宁生物科技有限公司。样品垫、硝酸纤维素膜、吸水纸和塑料卡壳购自上海杰一生物技术有限公司。HG-98免疫荧光检测仪购自上海互幅科学仪器有限公司, LXJ-IIIB医用离心机为上海安亭科学仪器厂产品。

2.血清样本。试验样本收集经南京医科大学附属无锡儿童医院医学伦理委员会批准(WXCH2017-10-004)。样本来自2018年10月至2018年11月间南京医科大学附属无锡儿童医院肺炎住院患者

( $n=33$ )和健康体格检查者( $n=55$ )血清,纳入者年龄1~32岁。血清样本均使用分离胶采血管收集,室温离心分离后(离心半径12 cm,3 000 r/min,离心5 min),分装保存于-40 °C冰箱,检测前复溶。

3.示踪微球与试纸条的制备与优化。将MP抗原、羊抗兔、鼠抗人IgG抗体分别与微球偶联制备示踪微球,方法参考文献[4]进行。TFICA试纸条由样品垫、硝酸纤维素膜、吸水纸和底板构成,制备步骤同本实验室前期文献[5]。

为提高方法性能,对抗原/抗体微球偶联比、微球稀释度、检测(test, T)线划膜浓度和血清稀释度进行优化。(1)微球偶联比:在MP-IgM反应体系中,将MP抗原与微球按质量比1:10、1:25、1:50、1:100和1:200分别进行反应,制备的微球1:100稀释后,与 $7.0 \times 10^4$ 相对单位(relative unit, RU)/L的高浓度MP-IgM标准品一起加至MP-IgM试纸条上进行反应,选出最佳发光效率的对应比例。同理,将鼠抗人IgG抗体与微球按质量比1:5、1:10、1:20、1:50和1:100分别进行反应,随后1:100稀释以测定 $2.1 \times 10^5$  RU/L的高浓度MP-IgG标准品,选出最佳偶联比。(2)微球稀释度:分别在MP-IgM和IgG反应体系中,对按最佳偶联比标记的微球进行稀释,检测高浓度(同上)和零浓度标准品,探讨其最佳工作浓度。(3)划膜浓度:将羊抗人IgM以 $(0.25、0.50、1.00、2.00、5.00) \times 10^3$  mg/L分别划于MP-IgM试纸条T线,检测高浓度标准品(同上),选出获得较高荧光值的羊抗人IgM浓度;将MP抗原按0.2、0.3、0.4、0.5、1.0 g/L喷涂于MP-IgG试纸条T线,用高浓度标准品(同上)测试,选出最佳划膜浓度。(4)血清稀释度:为降低非特异干扰,对3例血清样本进行1:30、1:100、1:300、1:1 000和1:3 000

稀释后测定,选出最佳血清稀释度。血样的 MP-IgM 含量分别为  $20.8 \times 10^3$ 、 $12.3 \times 10^3$  和  $7.4 \times 10^3$  RU/L, 其 MP-IgG 浓度分别为  $296.4 \times 10^3$ 、 $61.9 \times 10^3$  和  $18.7 \times 10^3$  RU/L。

4. 样本分析。测试前将试纸条与试剂从冰箱内取出,恢复至室温。将 50  $\mu$ l 标准品或样品及 50  $\mu$ l 含微球的上样缓冲液加于样品垫上,37  $^{\circ}$ C 温育 15 min,再将试纸条放入 HG-98 检测仪内,读取 T 线和质量控制 (control, C) 线上的荧光计数,根据 T 线与 C 线荧光值之比(T/C)计算获得样品浓度。检测原理图见图 1。

5. 方法学评价。(1) 测量范围:对试剂盒进行剂量-反应曲线线性评价。(2) 灵敏度:测定 20 个零浓度标准品, $\bar{x} \pm 2s$  为其灵敏度。(3) 特异性:2 次平行测定高浓度交叉反应物, $3.5 \times 10^5$  U/L 的甲状腺过氧化物酶抗体,500 kU/L 的心磷脂酶抗体和  $3.25 \times 10^6$  U/L 的甲状腺球蛋白抗体,测定值小于 200 RU/L 认为与 MP-IgM 或 IgG 无交叉反应。(4) 准确性:向 2 份血清样本添加系列标准品,样本 1 MP-IgM 和 IgG 浓度分别为  $1.28 \times 10^3$  和  $1.07 \times 10^3$  RU/L,样本 2 MP-IgM 和 IgG 浓度分别为  $0.89 \times 10^3$  和  $0.96 \times 10^3$  RU/L,以实测浓度与预计浓度的比值作为回收率。(5) 精密度:即相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD;  $RSD = s/\bar{x} \times 100\%$ )。 (6) 稳定性:37  $^{\circ}$ C 放置 5 d,与 2~8  $^{\circ}$ C 保存的试剂分别测定 2 次标准品,进行比对。

用建立的 TFICA 检测血清样本 MP-IgM 和 IgG 水平,以 55 名健康体检检查者的  $\bar{x} \pm 2s$  估算该法正常参考值;同时用市售试剂盒检测 88 例样本,分析 2 种方法结果的一致性。

6. 统计学处理。采用 IBM SPSS 19.0 软件分析数据,符合正态分布的定量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,不符合正态分布的定量资料用  $M(Q_1, Q_3)$  表示。采用 Origin 8.0 软件绘制标准曲线。每个标准品和样品均分别检测 3 次。采用 Kappa 检验分析 TFICA 与市售试剂盒对应结果的一致性。临床样本检测结果间的比较

采用 Mann-Whitney U 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 反应条件的优化。(1) 微球偶联比:在 MP-IgM 反应体系中,MP 抗原与微球反应质量比为 1:100 时,T 线荧光值  $> 10^7$  计数。在 MP-IgG 反应体系中,鼠抗人 IgG 抗体与微球按质量比 1:20 反应时,T 线荧光值  $> 10^7$  计数,荧光信号最强。(2) 微球稀释度:在 MP-IgM 反应体系中,1:100 为最佳工作稀释度,此时反应本底低(荧光值小于  $2 \times 10^4$  计数)、高点高(荧光值大于  $9 \times 10^5$  计数);同理,在 MP-IgG 反应体系中,1:200 为最佳工作稀释度,反应效率最佳。(3) 划膜浓度:当羊抗人 IgM  $> 1.0$  g/L 时可获得较高的荧光信号,因此选择 1.0 g/L 为羊抗人 IgM 的划膜浓度;用大于 0.5 g/L 的 MP 抗原喷涂后的 T 线荧光值最高,选择 0.5 g/L 为最佳划膜浓度。(4) 血清稀释度:当血清稀释至 1:300 甚至更低浓度时,基质效应不明显。为方便临床操作,选择 1:300 为最佳血清稀释度。

2. 方法学指标。以 MP-IgM 或 IgG 浓度值为  $x$ ,以 T/C 为  $y$ ,绘制两者的 TFICA 标准曲线。由曲线可知,MP-IgM 和 IgG 检测方法的工作范围分别为  $(0.78 \sim 70.00) \times 10^3$  RU/L 和  $(0.17 \sim 200.00) \times 10^3$  RU/L,检测灵敏度分别为  $0.78 \times 10^3$  和  $0.17 \times 10^3$  RU/L。用两者分别测定甲状腺过氧化物酶抗体、心磷脂酶抗体、甲状腺球蛋白抗体,测得值均小于 200 RU/L,可认为方法特异性高。

向血清样本添加不同浓度的 MP-IgM 或 IgG 标准品进行测量,结果见表 1。MP-IgM 和 IgG 方法对应的回收率分别为 88.4%~111.9% 和 88.1%~103.6%,RSD 分别为 3.7%~14.8% 和 2.9%~14.0%,可认为新方法结果准确。将 MP-IgM 和 IgG 试剂经 37  $^{\circ}$ C 5 d 快速老化,平均信号降低率分别为 13.7% 和 14.2%,表明试剂热稳定性好。

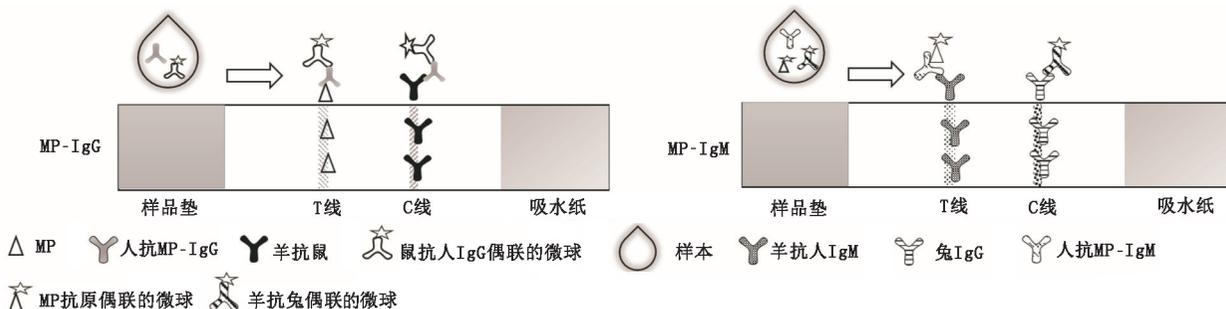


图 1 肺炎支原体(MP)-免疫球蛋白(Ig)M 和 IgG 时间分辨荧光免疫层析反应原理示意图

表 1 向样本添加不同浓度 MP-IgM 或 MP-IgG 标准品后的测量结果

样本序号	MP-IgM				MP-IgG			
	浓度 ( $\times 10^3$ RU/L)	测定值 ( $\times 10^3$ RU/L; $\bar{x} \pm s$ )	回收率 (%)	RSD (%)	浓度 ( $\times 10^3$ RU/L)	测定值 ( $\times 10^3$ RU/L; $\bar{x} \pm s$ )	回收率 (%)	RSD (%)
1	0	1.28 $\pm$ 0.19	NA	14.8%	0	1.07 $\pm$ 0.15	NA	14.0%
	1	2.11 $\pm$ 0.20	92.5%	9.5%	2	3.18 $\pm$ 0.24	103.6%	7.5%
	5	7.03 $\pm$ 0.26	111.9%	3.7%	20	19.33 $\pm$ 0.56	91.7%	2.9%
	20	19.29 $\pm$ 1.75	90.6%	9.1%	100	89.02 $\pm$ 9.25	88.1%	10.4%
2	0	0.89 $\pm$ 0.05	NA	5.6%	0	0.96 $\pm$ 0.11	NA	11.5%
	1	1.93 $\pm$ 0.26	102.1%	13.5%	2	2.67 $\pm$ 0.12	90.2%	4.5%
	5	5.22 $\pm$ 0.47	88.6%	9.0%	20	21.57 $\pm$ 2.60	102.9%	12.1%
	20	18.46 $\pm$ 1.23	88.4%	6.7%	100	93.18 $\pm$ 9.84	92.3%	10.6%

注: Ig 为免疫球蛋白, MP 为肺炎支原体, NA 为不适用, RSD 为相对标准偏差, RU 为相对单位

3. 样本检测。用 MP-IgM 和 IgG 方法对 88 例患者的血清样本进行检测, 结果见表 2。肺炎组较健康对照组 MP-IgM 和 IgG 水平均有一定的升高趋势, 但差异并无统计学意义。通过测定 55 名健康对照者估算 MP-IgM 和 IgG 方法的参考值分别为  $3.33 \times 10^3$  和  $2.61 \times 10^3$  RU/L。

采用市售 MP-IgM 和 IgG 化学发光法试剂盒检测上述 88 例样本, 2 种方法结果的一致性见表 3,  $Kappa$  值分别为 0.79 和 0.76, 可认为一致性较好。

表 2 2 组受试者血清样本 MP-IgM 与 IgG 结果 [ $M(Q_1, Q_3)$ ]

组别	例数	男/女 (例)	MP-IgM ( $\times 10^3$ RU/L)	MP-IgG ( $\times 10^3$ RU/L)
健康对照组	55	33/22	1.06(0.70, 1.92)	1.49(1.24, 1.75)
肺炎组	33	17/16	1.34(0.79, 2.50)	1.62(1.39, 8.33)
合计	88	50/38	1.10(0.69, 1.69)	1.54(1.30, 1.86)
$z$ 值			-0.38	-1.66
$P$ 值			0.702	0.098

表 3 TFICA 与 CLA 对 88 例受试者 MP-IgG 和 IgM 的检测结果 例

检测方法	CLA			
	MP-IgM 阳性	MP-IgM 阴性	MP-IgG 阳性	MP-IgG 阴性
TFICA 阳性	16	2	17	3
TFICA 阴性	4	66	4	64

注: CLA 为化学发光法, TFICA 为时间分辨荧光免疫层析法

## 讨 论

采用镧系元素为示踪物的时间分辨荧光免疫法 (time-resolved fluorescent immunoassay, TRFIA) 是一种超灵敏的检测技术, 荧光背景低, 检测限可达  $10^{-18}$  mol/L, 测量范围跨 2~5 个数量级, 可避免钩状效应, 降低假阴性<sup>[6-7]</sup>。虽然 TRFIA 优点突出, 但其反应时间较长, 使用的仪器设备较大, 不适合快速、

单人份检测。免疫层析分析 (immunochromatographic assay, ICA) 是一种即时检测技术, 检测时间一般在 15 min 内, 操作简易, 可随时随地开展。ICA 常用胶体金示踪, 由肉眼观察获得定性或半定量结果, 存在检测灵敏度较差、精密度低、难以定量等不足<sup>[8-9]</sup>。

本研究将 TRFIA 与 ICA 相融合, 建立了检测 MP-IgM 和 IgG 的 TFICA。该免疫层析方法基于毛细管作用, 采用包裹金的纳米微球示踪, 来实现定量分析。MP-IgM 的反应过程为: 样品、MP 抗原偶联的微球和羊抗兔偶联的微球经毛细作用, 向硝酸纤维膜方向移动, 在含有羊抗人 IgM 的 T 线上形成 MP 微球-MP-IgM-羊抗人 IgM 复合物, 荧光计数与 MP-IgM 浓度呈正相关; 在含有兔 IgG 的 C 线上形成羊抗兔微球-兔 IgG 复合物, 荧光计数相对恒定。MP-IgG 的反应过程为: 样品内的 MP-IgG 抗体和鼠抗人 IgG 微球混合物随着溶液沿膜条移动, 随后在 T 线形成鼠抗人 IgG 抗体微球-MP-IgG-MP 抗原复合物, 未反应的微球则被 C 线上的羊抗鼠二抗捕获。T 线的信号强度与 MP-IgG 浓度呈正相关; C 线上的微球荧光计数强度与 MP-IgG 含量呈负相关。最后, 未反应的混合物会移动至试纸条末端的吸水纸上。

通过对反应条件进行优化, 本研究构建了即时、定量的血清 MP-IgG 和 IgM TFICA 检测技术, 其检测 MP-IgM 和 IgG 的线性工作范围分别为  $(0.78 \sim 70.00) \times 10^3$  RU/L 和  $(0.17 \sim 200.00) \times 10^3$  RU/L, 且特异性高。该法对 MP-IgM 或 IgG 标准品的回收率分别为 88.4%~111.9% 和 88.1%~103.6%, RSD 分别为 3.7%~14.8% 和 2.9%~14.0%, 表明方法准确; 经 37 °C 5 d 快速老化, MP-IgM 和 IgG 试剂的平均信号降低率分别为 13.7% 和 14.2%, 提示热稳定性好。采用其对肺炎患者和健康对照者进行初步评

价,测得的 MP-IgM、MP-IgG 结果与市售试剂盒结果的一致性高(分别为 0.79 和 0.76)。基于 55 名健康对照者估算的 MP-IgM 和 IgG 方法的参考值分别为  $3.33 \times 10^3$  和  $2.61 \times 10^3$  RU/L。

本研究的 TFICA 检测技术吸收了 ICA 的快速便捷、价格合理、可单人份、即时即地开展等优点,1 次测试仅需 15 min;还引入了 TRFIA 高灵敏、全定量、热稳定性好的特性,使用包裹铕离子的聚苯乙烯微球为探针,避免了荧光淬灭,提高了准确性。但本研究样本数量有限,也没有对患者 MP 感染情况进行确诊;另外,肺炎患者感染 MP 的概率为 20.7%~38.9%,且存在多病源合并感染情况<sup>[10-11]</sup>,均可能导致本研究肺炎组与对照组的 MP-IgM 和 IgG 抗体水平差异无统计学意义。尚待扩大样本量后进一步研究。

综上,本研究建立的 MP-IgM 和 IgG TFICA 具有快捷、灵敏、可靠的优点,初步获得了参考值,方便门诊急诊随到随检,有一定的临床应用前景。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 张艺:研究实施、论文撰写;周彬:分析数据、经费支持;张珏:论文修改;杨雪、刘洁:样本采集、分析数据;胡志刚:研究指导、经费支持

## 参 考 文 献

- [1] 范娟,王加强,李兰. 3 717 名呼吸道感染患儿肺炎支原体抗体检测结果分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(6): 1105-1108.  
Fan J, Wang JQ, Li L. Detection and analysis of mycoplasma pneumoniae IgM antibody in 3 717 children with respiratory tract infection[J]. Mod Prev Med, 2019, 46(6): 1105-1108.
- [2] Liu J, He R, Wu R, et al. Mycoplasma pneumoniae pneumonia associated thrombosis at Beijing Children's hospital[J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1): 51. DOI:10.1186/s12879-020-4774-9.
- [3] 张宁,陆东明,顾猛.肺炎支原体抗体 IgG、IgM 和 DNA 检测在儿童呼吸道感染中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(10): 1398-1400. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.10.024.  
Zhang N, Lu DM, Gu M. Diagnostic values of MP-IgG, IgM antibodies and MP-DNA detection in respiratory tract infection among children[J]. Lab Med Clin, 2020, 17(10): 1398-1400. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.10.024.
- [4] 郭明明,肖华龙,周剑波,等.时间分辨荧光免疫层析法联合检测血清肿瘤标志物[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2018, 38

(4): 266-270. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.04.009.  
Guo MM, Xiao HL, Zhou JB, et al. Simultaneous detection of tumor markers in human serum using time-resolved fluorescence microspheres immunochromatographic assay[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2018, 38(4): 266-270. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.04.009.

- [5] Zhang Y, Ding XL, Guo MM, et al. Quantitative and rapid detection of microcystin-LR using time-resolved fluorescence immunochromatographic assay based on europium nanospheres [J]. Anal Methods, 2017, 9(45): 6430-6434. DOI:10.1039/C7AY02036H.
- [6] 范俊,张艺,王珂,等.人表皮生长因子受体 2 时间分辨荧光免疫分析法的建立[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2018, 38(5): 336-339. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.05.007.  
Fan J, Zhang Y, Wang K, et al. Establishment of a time-resolved fluoroimmunoassay in detection of human epidermal growth factor receptor 2 [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2018, 38(5): 336-339. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.05.007.
- [7] Wang X, Gao Y, Yang Y, et al. Validation and evaluation of a newly developed time-resolved fluoroimmunoassay for cyclosporine quantitative analysis in human whole blood[J]. J Pharm Biomed Anal, 2020, 177: 112890. DOI:10.1016/j.jpba.2019.112890.
- [8] Li Z, Yi Y, Luo X, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis[J]. J Med Virol, 2020, 92(9): 1518-1524. DOI:10.1002/jmv.25727.
- [9] 姜宏兵,蒋菲,董清清,等.胶体金免疫层析法急诊检测 HBsAg 漏检风险评价[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(13): 1750-1751, 1754. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.13.003.  
Jiang HB, Jiang F, Dong QQ, et al. Risk assessment of false-negative results for HBsAg in emergency patients by colloid gold-immunochromatography assay [J]. Lab Med Clin, 2016, 13(13): 1750-1751, 1754. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.13.003.
- [10] 王蕾,冯笑山,毛毅敏,等.慢性阻塞性肺疾病合并感染肺炎支原体的免疫状态变化研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(16): 3680-3681, 3687. DOI:10.11816/cn.ni.2016-154210.  
Wang L, Feng XS, Mao YM, et al. Immune status change research of chronic obstructive pulmonary disease with mycoplasma pneumoniae pneumonia in patients [J]. Chin J Nosocomiol, 2016, 26(16): 3680-3681, 3687. DOI:10.11816/cn.ni.2016-154210.
- [11] 姜照,郭培军,牟晓东,等.烟台市 272 例老年社区获得性肺炎住院患者的病原学特点分析[J]. 现代预防医学, 2020, 47(5): 852-855.  
Jiang Z, Guo PJ, Mou XD, et al. Etiological characteristics of community-acquired pneumonia in 272 elderly inpatients, Yantai [J]. Mod Prev Med, 2020, 47(5): 852-855.

(收稿日期:2020-08-18)