

• 临床检验研究论著 •

联合检测肺炎支原体和肺炎衣原体在社区获得性肺炎患者中的临床意义

刘怡雯¹, 黄 晶², 何贵元¹, 詹 燊¹, 卢忠心^{1△}

(湖北省武汉市中心医院: 1. 检验科; 2. 呼吸内科, 湖北武汉 430014)

摘要:目的 探讨社区获得性肺炎患者检测肺炎支原体(Mp)和肺炎衣原体(Cp)的临床意义。方法 对 1 443 例确诊为社区获得性肺炎患者进行 Mp、Cp 的痰培养和聚合酶链反应(PCR)检测,同时对患者的抗菌药物治疗的临床效果进行评估。结果 引起社区获得性肺炎的主要致病菌分别为: Mp 215 例(14.90%);肺炎链球菌 111 例(7.69%);流感嗜血杆菌 96 例(6.65%); Cp 74 例(5.13%);肺炎克雷伯菌 59 例(4.09%);金黄色葡萄球菌 52 例(3.60%);铜绿假单胞菌 44 例(3.05%);大肠埃希菌 44 例(3.05%)。其中,两种病原混合感染者 133 例(9.22%);三种病原混合感染者 7 例(0.49%)。此外,对一种细菌合并一种 Mp 或 Cp 感染的社区获得性肺炎患者使用 β -内酰胺类抗菌药物的治愈率为 42.3%(22/52),而对患者使用 β -内酰胺类联合大环内酯类或氟喹诺酮类抗菌药物的治愈率为 74.6%(44/59)。结论 在社区获得性肺炎患者中,常规培养不能检测的 Mp、Cp 感染率高。且应用 β -内酰胺类联合大环内酯类或氟喹诺酮类抗菌药物可以获得更好的治疗效果。

关键词:社区获得性肺炎; 肺炎支原体; 肺炎衣原体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.020

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)17-2254-02

The clinical role of *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* detection in patients with Community-acquired pneumonia

Liu Yiwen¹, Huang Jing², He Guiyuan¹, Zhan Yu¹, Lu Zhongxin^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Respiratory Medicine, Wuhan Municipal Central Hospital of Hubei Province, Wuhan, Hubei 430014, China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical significance of detecting the mycoplasma pneumoniae and chlamydia pneumoniae in community acquired pneumonia(CAP). **Methods** The study was performed on the confirmed patients with CAP. Pathogens of respiratory tract sputum were detected by bacterial culture and polymerase chain reaction(PCR). And to estimate the clinical effects about the antibiotics therapy. **Results** The main pathogenic bacteria causing the CAP respectively were mycoplasma pneumoniae 215(14.90%), streptococcus pneumoniae 111(7.69%), hemophilus influenza 96(6.65%), chlamydia pneumoniae 74(5.13%), klebsiella pneumoniae 59(4.09%), staphylococcus aureus 52(3.60%), pseudomonas aeruginosa 44(3.05%), escherichia coli 44(3.05%). Mixed infection of two pathogens was found in 133 cases(9.22%), and mixed infection of three pathogens was found 7 cases(0.49%). In addition, on the CAP patients infected of bacteria mixed with mycoplasma pneumoniae or chlamydia pneumoniae, the cure rate is 42.3%(22/52) by using beta-lactams antibiotics; in contrast, the cure rate is 74.6%(44/59) by jointly using beta-lactams antibiotics and macrolide antibiotics or fluoroquinolones antibiotics. **Conclusion** Mycoplasma pneumoniae and chlamydia pneumoniae are the common pathogens of CAP. The results show that jointly using beta-lactams antibiotics and macrolide antibiotics or fluoroquinolones antibiotics can get better therapeutic effect in CAP.

Key words: community acquired pneumonia; mycoplasma pneumoniae; chlamydia pneumoniae

社区获得性肺炎(CAP)是一种发病率和致死率极高,严重威胁人类健康的疾病^[1-2]。引起 CAP 的病原谱分布广泛,由于区域性不同,人种不同,而检出率也不相同^[3]。但随着新的检测方法的不断出现,肺炎支原体(Mp)和肺炎衣原体(Cp)在 CAP 患者中检出率不断增加^[4]。为了调查本地区 CAP 患者 Mp、Cp 感染流行的情况,研究者对 2011 年 1 月至 2013 年 1 月本院诊断为 CAP 患者 1 443 例进行痰培养及 DNA 检测。同时对 CAP 患者的抗菌药物治疗和临床效果进行评估,以其对本地区 Mp、Cp 在 CAP 患者中的流行情况和临床治疗效果做一整体评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1 月至 2013 年 1 月在本院呼吸内科住院诊断的 CAP 患者 1 443 例。诊断标准参照中华医学会呼吸病学分会 2006 年制定的 CAP 诊断和治疗指南^[5],其中男

814 例,女 629 例,年龄 17~80 岁,平均年龄(39.05±18.65)岁。上述患者均在出现症状 1 周内就诊。根据患者感染病原体种类将患者划分为 Mp 和 Cp 单独或者混合感染、细菌和 Mp 或者 Cp 混合感染和细菌单独或者混合感染。临床治愈标准为与肺炎相关的所有临床症状消失,胸部影像学检测显示无异常进展。两种病原体感染为一种细菌合并 Mp 或 Cp 感染或单独两种细菌感染,三种病原体感染为一种细菌合并 Mp 和 Cp 感染。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 在用抗菌药物治疗前采集标本,嘱患者先行漱口,无菌操作采集咽拭标本,再指导患者深咳将痰液咳入无菌痰培养杯中送检。

1.2.2 检测方法 留取呼吸道分泌物标本(咽拭子)。采用 PCR 体外扩增法检测 Mp 和 CpDNA,严格按照操作说明进

行,并由专人执行操作。核酸扩增(PCR)荧光检测试剂盒购自中山大学达安基因股份有限公司。核酸扩增仪使用瑞士罗氏公司生产 ROCHE LightCycler。

1.2.3 细菌鉴定及药敏试验 痰培养中分离出的阳性致病菌用法国生物梅里埃公司 API 鉴定板条鉴定完成。药物敏感试验参照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)推荐的琼脂稀释法鉴定完成。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计学软件,两样本率的比较使用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 病原体分布 见表 1。

表 1 1 443 例社区获得性肺炎患者病原谱分析	
项目	构成比[n(%)]
病原体谱	
Mp	215(14.90)
肺炎链球菌	111(7.69)
流感嗜血杆菌	96(6.65)
Cp	74(5.13)
肺炎克雷伯菌	59(4.09)
金黄色葡萄球菌	52(3.60)
铜绿假单胞菌	44(3.05)
大肠埃希菌	44(3.05)
感染类型	
两种病原体感染	133(9.20)
三种病原体感染	7(0.49)

2.2 抗菌药物治疗和临床效果评估 在本研究中,使用频率最高的抗菌药物为 β -内酰胺类抗菌药物占 64.6%(932/1 443),其次为氟喹诺酮类抗菌药物 43.6%(629/1 443)和大环内酯类抗菌药物 23.1%(333/1 443)。在全部给药治疗的 1 073 例患者中,单独使用 β -内酰胺类抗菌药物治疗的患者占 57.0%(274/481),而使用 β -内酰胺类联合大环内酯类或氟喹诺酮类抗菌药物治疗的 CAP 患者治愈率为 66.2%(392/592),通过 χ^2 检验两两比较,差异有统计学意义($\chi^2=9.65$, $P<0.05$)。而通过对 CAP 患者感染病原体的种类进行分组重新统计后发现,对 Mp 或 Cp 单独感染的 CAP 患者使用 β -内酰胺类抗菌药物的治愈率为 63.4%(52/82),而对 Mp 或 Cp 单独感染的 CAP 患者使用 β -内酰胺类联合大环内酯类或氟喹诺酮类抗菌药物的治愈率为 71.2%(74/104),通过 χ^2 检验两两比较,差异无统计学意义($\chi^2=1.26$, $P>0.05$)。此外,对细菌合并 Mp 或 Cp 感染的 CAP 患者使用 β -内酰胺类抗菌药物的治愈率为 42.3%(22/52),而对细菌合并 Mp 或 Cp 感染的 CAP 患者使用 β -内酰胺类联合大环内酯类或氟喹诺酮类抗菌药物的治愈率为 74.6%(44/59),通过 χ^2 检验两两比较,差异有统计学意义($\chi^2=11.94$, $P<0.05$)。以上数据显示,在细菌合并 Mp 或 Cp 混合感染时,如果能联合使用多种抗菌药物治疗,能显著提高患者治愈率。

3 讨 论

CAP 是一种患病率高,病死率高,严重威胁人类健康的疾病。而能引起 CAP 的病原体非常之多,给临床医生经验用药

带来困难^[6]。如果不能及时给予有效的抗菌药物治疗,患者在短时间内容易伴发脓毒血症,最后导致多器官功能衰竭而死亡^[7]。本研究旨在对本地区 CAP 患者的主要病原谱进行探讨。之前的研究表明,Mp、Cp 在 CAP 患者中感染率高^[8],且存在普通培养不能检出的问题,极易在临床上形成漏诊和误诊^[9]。所以本研究力图重点对 CAP 患者中的是否存在 Mp、Cp 感染进行检测,同时对 Mp、Cp 的临床用药和疗效进行评估。研究证实在本地区引起 CAP 感染的病原体中,Mp 的检出率最高,占 14.90%。而 Cp 在 CAP 患者中的检测率也很高,达到 5.13%。分别列于 CAP 感染病原谱的第 1 位和第 4 位。在细菌引起的 CAP 患者感染中,肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌以及大肠埃希菌依然是最主要的病原菌。此外,多重感染在本地区 CAP 患者中常见,进一步给临床治疗带来困难。常见的多重感染可见于细菌和 Mp 或者 Cp 双重感染,也可见于两种细菌同时感染。在本地区中还发现 7 例 CAP 患者存在细菌连同 Mp 和 Cp 三重感染。由于目前的检测技术有限,本地区 CAP 患者病原体检测阳性率仍然很低,本研究在 1 443 例诊断的 CAP 患者中仅检出 548 例患者存在明显的致病病原体。其原因可能是引起 CAP 患者感染的病原体是由一些病毒或不能培养的细菌引起的,所以这也进一步加大了临床医生的治疗困难^[10]。

因为引起 CAP 的可培养的细菌大多数是革兰阴性杆菌,所以临床医生在 CAP 诊断后经验治疗时多选择 β -内酰胺类抗菌药物。此外,研究表明在引起 CAP 的病原体中 Mp、Cp 也占重要地位,那么这种对革兰阴性杆菌的经验治疗方案是否对 Mp 和 Cp 也有效果呢? 本研究决定对各感染组抗菌药物选择及治疗效果进行评估。研究表明不管是对 Mp、Cp 单独感染组,还是 Mp、Cp 合并其他细菌感染,使用 β -内酰胺类联合大环内酯类或氟喹诺酮类抗菌药物治疗时,效果明显优于单独使用 β -内酰胺类抗菌药物。该结果提示如果对于 CAP 患者常规使用 β -内酰胺类抗菌药物无效时,应该早考虑联合使用大环内酯类或氟喹诺酮类抗菌药物治疗。以免延误病情,对患者生命造成威胁。

总之,本研究结果表明,Mp、Cp 单独或者合并其他细菌感染在社区获得性肺炎患者病原谱中占重要地位。及早选择 β -内酰胺类联合大环内酯类或氟喹诺酮类抗菌药物治疗,能有效提高社区获得性肺炎患者治愈率^[11-12]。

参考文献

[1] Ribeiro CF, Ferrari GF, Fioretto JR. Antibiotic treatment schemes for very severe community-acquired pneumonia in children: a randomized clinical study[J]. Rev Panam Salud Publica, 2011, 29(6): 444-450.

[2] 吴艺, 王贤波. 老年人社区获得性肺炎 94 例[J]. 中华现代临床医学杂志, 2007, 5(5): 427-428.

[3] 黎静华. 社区获得性肺炎的诊疗进展[J]. 内科, 2008, 3(4): 568-571.

[4] 魏丽, 胡必杰, 何礼贤, 等. 社区获得性肺炎病原体分离相关因素探讨[J]. 中国实用内科杂志, 2009, 29(12): 1096-1099.

[5] 中华医学会呼吸病学分会. 社区获得性肺炎诊断和治疗指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29(10): 651-655.

[6] 王艳梅, 胡永芳. 1 例老年社区获得性肺炎的药学服务实践[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(13): 1124-1125. (下转第 2258 页)

性恶性肿瘤中居第二位^[1]。HPV 是宫颈癌的主要致病因子,研究发现 99.7% 以上的宫颈癌有 HPV 感染^[2-3]。依据与宫颈癌的关系,将 HPV 分为高危型和低危型,其中 HPV16、52、58 三种高危型是中国特有的优势感染型别^[4]。在以前的大样本调查研究中显示,HPV16、52、58 型占据宫颈感染病毒株的前三位,而在尖锐湿疣标本中,HPV16、18、66 型占据感染病毒株的前三位^[5]。

及早发现和监测 HPV 感染是预防宫颈癌发生的重要手段。目前,临床 HPV 检测应用广泛的技术主要有 PCR-反向点杂交法、杂交捕获法和实时荧光 PCR 技术^[6-7]。PCR-反向点杂交法具有通量高的优点,但也存在易污染、操作较繁琐的缺点^[8]。杂交捕获二代(HC-II)检测被公认为是最好的宫颈癌筛查方法,但其价格昂贵,操作也相对繁琐^[9]。实时荧光 PCR 技术具有特异性强、自动化程度高和用时短等优点,能为临床提供有效的诊断依据。

实验结果及统计分析表明,试验试剂与对照试剂相比结果符合率为 82.50%,一致性指数 Kappa 值为 0.651 2,表明一致性一般。对两种试剂检测结果不相符的标本进一步验证及分析显示,对照试剂检测为阴性,而试验试剂检测结果为阳性的 35 例标本,经测序比对显示均为 HPV66 型,在剔除 HPV66 型样本后,试验试剂与对照试剂结果完全一致,符合率为 100.00%。通过对试验试剂检测为 HPV16 或 HPV18 亚型标本的验证,显示其检测结果与 DNA 测序结果完全一致。结果表明试验试剂具有较高的临床检测准确性和可靠性。

此外,试验试剂能同时检测三个通道的荧光,通过 Cy5 荧光通道检测人 β -Globin 基因作为内参,实验结果显示检验样本在采集、PCR 实验操作以及试剂的有效性。而其 VIC 荧光通道能报告检测到的 HPV 是否为具有更高致癌性的 HPV16 或 18 型。研究表明 HPV 不同亚型致癌能力不同,HPV16、18 致病力最强,易导致宫颈的高级别病变,宫颈癌患者 HPV 感染也以 HPV16、18 最多^[10-11]。因此 HPV16 和 18 型的检出有助于对患者进行个体化评估、预测宫颈病变发生的风险。另外试验试剂还能检测 HPV66 亚型,Schiffman 通过 Meta 分析显示 HPV66 型在宫颈癌感染中占到 0.3%^[12],虽然致癌的概率不高,但由于 HPV66 型占据所有 HPV 感染病毒株的 4.25%^[5],所以 HPV66 型的有效检出也有助于 HPV 感染的防治。

综上所述,多重实时荧光 PCR 试剂检测高危型 HPV 具有较高可靠性和准确性,是检测高危型 HPV 感染的又一有效手段。

参考文献

[1] Senapathy JG, Umadevi P, Kannika PS. The present scenario of cervical cancer control and HPV epidemiology in India; an outline [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(5): 1107-1115.

[2] Ibeanu OA. Molecular pathogenesis of cervical cancer [J]. Cancer Biol Ther, 2011, 11(3): 295-306.

[3] Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group [J]. J Natl Cancer Inst, 1995, 87(11): 796-802.

[4] 李霓, 代敏. 中国妇女人乳头状瘤病毒感染的多中心横断面研究 [J]. 中华疾病控制杂志, 2008, 12(5): 411-415.

[5] 穆会君, 张滨, 谢平. 无锡地区人乳头瘤病毒感染状况及基因型分析 [J]. 山东医药, 2011, 51(47): 64-65.

[6] 崔金环, 杨光, 苏锡康, 等. 实时荧光 PCR 检测检测高危型 HPV 的临床应用评价 [J]. 现代预防医学杂志, 2011, 38(23): 4948-4949.

[7] 许晓红, 解正新, 马嵘, 等. HPV 高危型别检测联合细胞学检查对宫颈病变筛查的研究 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2011, 25(4): 298-300.

[8] 王攀, 李招云, 万卫昌, 等. 两种方法 HPV 基因检测的比较 [J]. 浙江实用医学, 2011, 16(4): 306-307.

[9] 钟磊, 祝建军, 许晓燕, 等. 杂交捕获法与荧光定量 PCR 法在高危型 HPV 检测的比较 [J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(8): 948-949.

[10] de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis [J]. Lancet Infect Dis, 2007, 7(7): 453-459.

[11] Bulk S, Berkhof J, Bulkman NW, et al. Preferential risk of HPV16 for squamous cell carcinoma and of HPV18 for adenocarcinoma of the cervix compared to women with normal cytology in the Netherlands [J]. Br J Cancer, 2006, 94(1): 171-175.

[12] Schiffman M, Clifford G, Buonaguro FM. Classification of weakly carcinogenic human papillomavirus types: addressing the limits of epidemiology at the borderline [J]. Infect Agent Cancer, 2009, 4(1): 8.

(收稿日期: 2013-04-08)

(上接第 2255 页)

[7] Viasus D, Garcia-Vidal C, Gudiol F, et al. Statins for community-acquired pneumonia: current state of the science [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2010, 29(2): 143-152.

[8] Cho MC, Kim H, An D, et al. Comparison of sputum and nasopharyngeal swab specimens for molecular diagnosis of Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, and Legionella pneumophila [J]. Ann Lab Med, 2012, 32(2): 133-138.

[9] 鲁继荣, 刘丽. 儿童非典型病原体的实验室诊断 [J]. 临床儿科杂

志, 2009, 27(7): 612-615.

[10] 沈叙庄, 杨永弘. 儿童社区获得性肺炎病原学研究现状 [J]. 中国实用儿科杂志, 2003, 18(9): 513-516.

[11] 贾建江. 探讨社区获得性肺炎的临床特点及治疗措施 [J]. 中外医学研究, 2013, 11(5): 127.

[12] 李建, 戈艳蕾, 李繁丽, 等. 社区获得性肺炎住院患者病原体构成分析 [J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(2): 338.

(收稿日期: 2013-05-08)