

动态监测 MP-SAT 对成人肺炎支原体肺炎患者临床疗效的预测价值

牛春密¹, 尹小波¹, 林桦², 徐淑凤¹, 赵靖¹, 刘菲菲¹, 罗坤¹, 王晓杰¹

(1. 秦皇岛市第一医院呼吸与危重症医学科, 河北 秦皇岛 066000; 2. 河北省人民医院老年病三科, 河北 石家庄 050000)

【摘要】目的: 探讨动态监测肺炎支原体 RNA 实时荧光恒温扩增技术 (MP-SAT) 对成人肺炎支原体肺炎 (MPP) 患者临床疗效的预测价值。**方法:** 选取 78 例成人 MPP 患者为研究对象, 入院 24 h 内咽拭子 MP-SAT 检测均阳性, 采用喹诺酮类抗生素常规方案治疗。患者入院 24 h 内与治疗每 7 d (连续 4 周) 检测血清 MP-Ab、咽拭子 MP-SAT 及血常规 [白细胞 (WBC)、中性粒细胞百分率 (N)、淋巴细胞百分率 (L)]、超敏 C 反应蛋白 (CRP)、血清乳酸脱氢酶 (LDH)。统计患者 MP-SAT 转阴时间、临床痊愈时间、发热、咳嗽、喘息、肺部啰音等临床症状持续时间; 分析 MP-SAT 转阴时间与临床痊愈时间的相关性。**结果:** 患者 MP-Ab 阳性率随治疗时间延长而逐渐增高, MP-SAT 阳性率随治疗时间延长而逐渐降低。除 WBC 外, 与转阴前比较, MP-SAT 转阴后患者发热、咳嗽、喘息、肺部啰音例数减少 ($P < 0.05$), N、CRP、LDH 水平降低 ($P < 0.05$), L 水平升高 ($P < 0.05$)。MP-SAT 转阴时间越长, 发热、咳嗽、喘息、肺部啰音等临床症状持续时间越长, 入院 24 h 内 N、CRP、LDH 水平越高, L 水平越低, 各时间点比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。相关性分析显示, MP-SAT 转阴时间与临床痊愈时间正相关 ($r = 0.214, P = 0.031$)。**结论:** MP-SAT 与 MPP 患者临床症状及炎症反应的相关性较好, 动态监测 MP-SAT 可预测喹诺酮类抗生素治疗 MPP 患者的临床疗效。

【关键词】 肺炎; 肺炎支原体; RNA 实时荧光恒温扩增技术; 临床疗效; 预测价值

【中图分类号】 R563.1 **【文献标志码】** A

Predictive value of dynamic monitoring MP-SAT in clinical curative effect of adult patients with mycoplasma pneumoniae pneumonia

NIU Chun-mi¹, YIN Xiao-bo¹, LIN Hua², XU Shu-feng¹, ZHAO Jing¹, LIU Fei-fei¹, LUO Kun¹, WANG Xiao-jie¹

(1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000; 2. Third Department of Geriatrics, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050000, Hebei, China)

【Abstract】Objective: To analyze predictive value of dynamic monitoring mycoplasma pneumoniae (MP) RNA simultaneous amplification and testing for MP (MP-SAT) in clinical curative effect of adult patients with mycoplasma pneumoniae pneumonia (MPP). **Methods:** 78 adult patients with MPP were selected as the research object. The MP-SAT test of pharyngeal swabs was positive within 24 h after admission. They were treated with quinolone antibiotics. Serum MP-Ab, pharyngeal swab MP-SAT and blood routine [white blood cells (WBC), neutrophil percentage (N), lymphocyte percentage (L)], high-sensitivity C-reactive protein (CRP), and serum lactate dehydrogenase (LDH) were measured within 24 hours after admission and every 7 days (4 weeks). The time of MP-SAT turning negative, the time of clinical recovery, the duration of clinical symptoms such as fever, cough, wheezing and pulmonary rales were counted. The correlation between MP-SAT negative conversion time and clinical recovery time was analyzed. **Results:** The positive rate of MP-Ab was gradually increased with prolongation of treatment time, while positive rate of MP-SAT was gradually decreased. Except WBC, compared with those before negative conversion, clinical symptoms and laboratory indexes were significantly improved in patients after negative conversion of MP-SAT, number of cases with fever, cough, wheezing and lung rale was significantly reduced, levels of N, CRP and LDH were significantly decreased, and L level was significantly increased ($P < 0.05$). The longer the negative conversion time of MP-SAT, the longer the duration of clinical symptoms such as fever, cough, wheezing, and lung rale, the higher the levels of N, CRP and LDH within 24 h after admission, the lower the L level, the differences were statistically significant at each time point ($P < 0.05$). The results of Pearson correlation analysis showed that negative conversion time of MP-SAT was positively correlated with clinical cure time ($r = 0.214, P = 0.031$). **Conclusion:** MP-SAT is well correlated with clinical symptoms and inflammatory response in MPP patients.

基金项目: 河北省秦皇岛市科学技术研究与发展计划项目 (201703A066)

作者简介: 牛春密 (1984 -), 女, 硕士, 主治医师。E-mail: niuchunmi@126.com

通讯作者: 徐淑凤, 博士。E-mail: doctorxsf@163.com

Dynamic monitoring MP-SAT can be applied as a reliable index for predicting clinical curative effect of quinolone antibiotics therapy.

【Key words】 Pneumonia; Mycoplasma pneumoniae; RNA MP-SAT; Clinical curative effect; Predictive value

肺炎支原体肺炎 (mycoplasma pneumoniae, MPP) 是由肺炎支原体引发的社区获得性呼吸道感染,多发于儿童及青壮年,既往多采用大环内脂类抗生素治疗,一般预后良好^[1]。但近年随着病原体变迁,耐药性变化,部分患者感染后进展为呼吸衰竭、肺间质纤维化或闭塞性细支气管炎等远期并发症^[2]。临床表现、影像学检查及炎性指标检测是评估 MPP 患者临床疗效的主要方法。但有学者^[3]指出,患者的临床表现可受年龄、合并其他病原体感染、机体免疫状态等因素影响,影像学检查及炎性指标检测缺乏客观的疗效评估指标,特异性不高,预测价值并不理想。RNA 实时荧光恒温扩增技术 (SAT) 是我国自主创新的新型分子诊断技术,其直接以病原体特异性 RNA 为扩增靶标,进行特异性扩增和检测,可有效区分“活菌”和“死菌”,具有无创性、操作简单和检测快速等特点,现已被成功应用于结核分支杆菌、沙门氏菌等常见病原体的检测^[4-5]。最近,也开始有学者将其聚焦于 MPP 的临床诊断,但主要集中在儿童患者和早期诊断价值的评估^[6],而对成人临床疗效的预测报道较少。本研究旨在探讨动态监测肺炎支原体 RNA 实时荧光恒温扩增技术 (MP-SAT) 对成人 MPP 患者临床疗效的预测价值,为临床提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2016 年 1 月至 2019 年 10 月秦皇岛市第一医院住院治疗的 78 例成人 MPP 患者为研究对象。其中男性 45 例,女性 33 例;年龄 20~62 岁,平均 (38.50 ± 8.12) 岁;入院病程 3~10 d,平均 (4.64 ± 2.50) d;合并细菌感染 14 例,合并病毒感染 24 例。本研究已获相关医学伦理审核。纳入标准:(1) 年龄 > 18 岁,符合《成人肺炎支原体肺炎诊治专家共识》^[7];(2) 患者知情,自愿参与研究。排除标准:(1) 肺结核、免疫功能低下者;(2) 院外已应用大环内酯类抗生素或喹诺酮类抗生素治疗者;(3) 首次 MP-SAT 阳性但未复测者。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 入院患者均采用常规方案治疗:左氧氟沙星 (扬州制药有限公司) 0.6 g 静脉滴注 1 次/d 或莫西沙星 (南京优科制药有限公司) 0.4 g 静脉滴注 1 次/d, 5~7 d 为 1 个疗程,维持 4 个疗程。

1.2.2 观察指标 (1) MP-SAT 阳性患者不同治疗

时间 MP-Ab 和 MP-SAT 阳性率:患者入院 24 h 内、治疗后每 7 d (连续 4 周) 检测血清 MP-Ab、咽拭子 MP-SAT。MP-Ab 滴度测定:静脉血经 3 000 rpm 离心 5 min,采用颗粒凝集法检测 MP 抗体,操作步骤按照 SERODIA-Myco II 试剂盒 (日本富士瑞必欧株式会社) 的说明书进行;MP-Ab 滴度 ≥ 1:160 为阳性。MP-SAT 检测:将采集到的咽拭子置于 1 mL 生理盐水浸泡贴管壁挤干,取 0.5 mL 于 1.5 mL 离心管,加入 0.5 mL 裂解液震荡均匀,4~8 °C 保存备用。采用 MP-SAT 检测试剂盒 (上海仁度生物科技有限公司) 提取样本 RNA,然后转至实时荧光定量 PCR 仪扩增,每个循环为 42 °C 1 min,共 40 个循环,荧光通道设定为 FAM (样本通道) 和 HEX (内标通道)。以样本曲线与阈值曲线交点的横坐标读数为 dt 值,dt 值 ≤ 35 min 为阳性,dt 值 > 40 min 为阴性。若 dt 值为 35~40 min 则再次检测,此时 dt 值 ≤ 35 min 为阳性,dt 值 > 35 min 为阴性;(2) MP-SAT 转阴前后及不同转阴时间临床症状及实验室指标:临床症状发热、咳嗽、喘息及肺部啰音;实验室指标包括 [白细胞 (WBC)、中性粒细胞百分率 (N)、淋巴细胞百分率 (L)]、超敏 C 反应蛋白 (CRP)、血清乳酸脱氢酶 (LDH);(3) MP-SAT 转阴时间与临床痊愈时间的相关性:以患者发热、咳嗽等临床症状消失,胸部 X 线好转或渗出基本吸收,血常规检查正常为临床痊愈。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 19.0 软件对数据进行分析与处理。计数资料行 χ^2 检验;计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,行 t 检验或方差分析;计数资料以 [$n(\%)$] 表示,行 χ^2 检验;相关性分析采用 Pearson 相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MP-SAT 阳性不同治疗时间 MP-Ab 和 MP-SAT 检测阳性率比较

78 例 MPP 患者 MP-Ab 检测阳性率随治疗时间延长而逐渐增高,MP-SAT 检测阳性率随治疗时间延长而逐渐降低;MP-Ab 和 MP-SAT 检测阳性率除在第 2 周时比较差异无统计学意义外 ($P > 0.05$),其余时间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1 及图 1。

2.2 MP-SAT 转阴前后临床症状及实验室指标比较

78 例患者中,除 WBC 外,与转阴前比较,发热、咳嗽、喘息、肺部啰音例数减少 ($P < 0.05$),N、

CRP、LDH 水平降低 ($P < 0.05$), L 水平升高 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 MP-SAT 阳性患者不同治疗时间 MP-Ab 和 MP-SAT 检测阳性率比较 [n(%)]

治疗时间	MP-Ab 检测阳性率	MP-SAT 检测阳性率	χ^2 值	P 值
<24 h	44(56.41)	78(100.00)	43.475	<0.001
1 周	51(65.38)	75(96.15)	23.771	<0.001
2 周	73(93.59)	67(85.90)	2.507	0.113
3 周	78(100.00)	31(39.74)	67.266	<0.001
4 周	78(100.00)	6(7.69)	133.714	<0.001

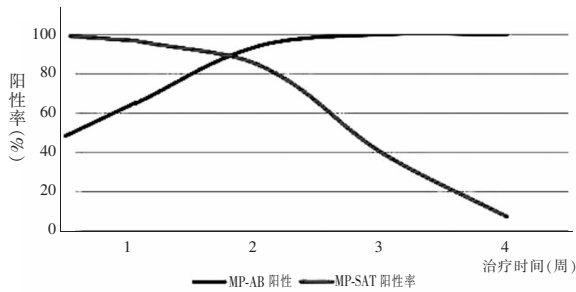


图 1 MP-Ab 和 MP-SAT 检测阳性率与治疗时间的关系

表 2 MP-SAT 转阴前后临床症状及实验室指标比较 [x̄ ± s, n(%)]

项目	MP-SAT 转阴前	MP-SAT 转阴后	χ^2/t 值	P 值
发热	55(71.57)	6(7.69)	64.634	<0.001
咳嗽	76(97.44)	27(34.62)	68.613	<0.001
喘息	13(16.67)	2(2.56)	8.925	0.003
肺部啰音	12(15.38)	2(2.56)	7.847	0.005
WBC($\times 10^9/L$)	10.15 ± 3.60	9.46 ± 3.08	1.286	0.200
N(%)	0.82 ± 0.40	0.59 ± 0.26	4.258	<0.001
L(%)	0.15 ± 0.08	0.33 ± 0.20	7.380	<0.001
CRP(mg/L)	16.18 ± 3.67	9.33 ± 3.65	11.688	<0.001
LDH(U/L)	248.98 ± 92.30	220.55 ± 85.48	1.996	0.048

2.3 MP-SAT 不同转阴时间患者临床症状及实验室指标比较

MP-SAT 转阴时间越长,发热、咳嗽、喘息、肺部啰音等临床症状持续时间越长,入院 24 h 内 N、CRP、LDH 水平越高,L 水平越低,各时间点比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 MP-SAT 转阴时间与临床痊愈时间的相关性

78 例 MP-SAT 阳性患者 MP-SAT 转阴时间平均 (14.21 ± 6.20) d, 临床痊愈时间平均 (15.22 ± 6.88) d, 相关性分析显示二者显著正相关 ($r = 0.214, P = 0.031$)。

表 3 MP-SAT 不同转阴时间患者临床症状及实验室指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	转阴时间				F 值	P 值
	1 周(n=3)	2 周(n=8)	3 周(n=36)	4 周(n=25)		
发热持续时间(d)	2.00 ± 0.76	3.52 ± 1.34	5.27 ± 2.35	6.23 ± 3.04	5.696	0.002
咳嗽持续时间(d)	5.27 ± 3.02	7.84 ± 3.55	9.72 ± 5.12	12.50 ± 6.78	3.474	0.020
喘息持续时间(d)	2.30 ± 1.02	3.58 ± 1.75	4.36 ± 2.05	4.86 ± 1.88	2.832	0.044
肺部啰音持续时间(d)	2.33 ± 1.05	5.36 ± 2.74	6.48 ± 3.02	6.72 ± 3.44	2.744	0.049
WBC($\times 10^9/L$)	8.26 ± 4.05	10.33 ± 4.68	11.22 ± 5.62	11.68 ± 5.27	0.584	0.628
N(%)	0.55 ± 0.25	0.59 ± 0.30	0.66 ± 0.25	0.82 ± 0.30	3.014	0.035
L(%)	0.36 ± 0.20	0.30 ± 0.17	0.28 ± 0.13	0.16 ± 0.08	7.032	<0.001
CRP(mg/L)	9.35 ± 3.52	12.64 ± 5.30	15.78 ± 6.84	18.44 ± 8.70	3.011	0.035
LDH(U/L)	194.32 ± 58.56	233.20 ± 68.53	255.84 ± 72.27	288.35 ± 84.54	2.823	0.045

3 讨论

喹诺酮类抗生素是目前临床治疗 MPP 的首选药物,一般需维持治疗 2~3 周,但考虑到停药过早可能导致复发,临床治疗现多达 3~4 周^[8]。且 MPP 临床表现多样、病程较长、易复发,其治疗过程中的停药依据多根据患者临床症状消失、胸片情况及炎症指标基本恢复症状,仍缺乏准确判断 MP 是否被清除的客观停药指征,可能影响治疗方案的选择及患者恢复,部分患者会因停药过早而复发或停药过晚而出现抗生素的不合理应用^[9-10]。因此,寻找一种直接、有效、操作简便的方法实时监测 MPP 患者的临床疗效意义重大。

MP-SAT 是目前国家食品药品监督管理局(SFDA)批准的唯一核酸恒温放大实时荧光检测技术产品,结合了 PCR 和荧光监测技术,由于 RNA 仅在活菌中存在,菌体死亡后 RNA 会很快降解,可准确区分“活菌”和“死菌”,实时反映 MP 感染情况,辅助临床诊断^[11]。已有研究^[12]将其用于 MPP 的早期诊断,结果提示其具有较高的特异度、灵敏度和准确度,MP-SAT 阳性提示 MP 近期感染,而非既往感染。本研究中 78 例 MPP 患者,MP-Ab 阳性率在入院 24 h 内和 1 周检测时均低于 MP-SAT 检测的阳性率 ($P < 0.05$),提示 MP-SAT 检测用于成人 MPP 早期诊断更准确。MP-Ab 阳性率在 2 周后才显著升高,这可能是因为在血清 MP-Ab 检测在 MP 感染早期存在窗口期。还有研究^[13]指出,血清 MP-Ab 检测可受患者年龄、病程、机体免疫状态及抗生素的应用等多种因素影响而出现误漏诊。另外,血清学检测需采集静脉血送检,为有创操作;而 MP-SAT 检测仅需采集无创性的咽拭子标本,通过核酸 RNA 为扩增靶标,进行特异性扩增和检测,可弥补血清学检测的窗

口期问题。本研究中,MP-SAT 阳性率随治疗时间延长而逐渐降低,多数患者可在第 3~4 周转阴,提示动态监测 MP-SAT 或可为 MPP 患者治疗的临床疗效评估提供依据。

有研究^[14]认为,MP-SAT 转阴时间长的患者可能与体内 MP 不易清除及免疫炎症反应过强有关。为此,本研究探究了 MPP 患者转阴前后临床症状及实验室指标的变化,结果发现,WBC 外,MP-SAT 转阴后患者的临床症状及实验室指标均得到改善,发热、咳嗽、喘息、肺部啰音例数减少($P < 0.05$),N、CRP、LDH 水平降低($P < 0.05$),L 水平升高($P < 0.05$)。谢辉等^[15]报道显示,MP 感染患者咽喉部 MP-DNA 载量越高,其呼吸道疾病越严重,病情恢复时间也就越长。进一步分析不同转阴时间与患者临床症状及炎症指标的关系发现,MP-SAT 转阴时间越长,发热、咳嗽、喘息、肺部啰音等临床症状持续时间越长($P < 0.05$),入院 24 h 内 N、CRP、LDH 水平越高($P < 0.05$),L 水平越低($P < 0.05$),提示转阴时间越长,患者入院时炎症反应越严重。而 MP-SAT 转阴时间越长,L 水平越低的患者可能是受 MP 感染后的免疫抑制影响,患者发病后易进展为肺炎,需引起临床重点关注。N、CRP 作为炎症反应的常用指标,在 MP 感染后均有不同程度升高。LDH 是一种存在与细胞内的细胞质酶,参与机体能量代谢,发生炎症反应使细胞溶解或细胞膜通透性增加后,可释放至细胞外,出现血清水平异常升高,被认为是重症肺炎急性期的独立危险因素^[16]。此外,关性分析也提示 MP-SAT 转阴时间与临床痊愈时间正相关($P < 0.05$),提示对部分病情严重的患者延长抗生素治疗时间并应用免疫调节治疗或可起到缓解其临床症状、减少并发症发生风险的作用。

综上所述,动态监测 MP-SAT 能反映 MPP 患者临床症状及炎症反应的恢复情况,可作为预测喹诺酮类抗生素治疗临床疗效的指标指导临床医师准确判断患者病情变化,减少抗生素的不合理应用现象。

参考文献

[1] 王菲,尚云晓.肺炎支原体肺炎发病机制及相关临床问题[J].中国实用儿科杂志,2015,30(3):184-189.

- [2] 尹玉东,曲久鑫,杨春霞,等.国内外社区获得性肺炎中肺炎支原体检出率及耐药性不同原因分析[J].中国实用内科杂志,2016,36(8):721-723.
- [3] 小芳,孔占一,王健.儿童难治性支原体肺炎发病机制及诊治进展[J].广东医学,2018,39(S1):295-298.
- [4] 林书祥,马百成,王维,等.儿童肺泡灌洗液中肺炎支原体 RNA 恒温扩增技术检测及临床应用[J].中华检验医学杂志,2018,41(10):770-774.
- [5] Miyashita N, Kawai Y, Tanaka T, et al. Diagnostic sensitivity of a rapid antigen test for detection of *Mycoplasma pneumoniae*: comparison with real-time PCR[J]. J Infect Chemother, 2015, 21(6): 473-475.
- [6] 罗贤,张腊红,洪理泉,等.恒温扩增实时荧光检测技术在肺结核患者诊断中的应用[J].中华实验和临床病毒学杂志,2015,29(2):183-185.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会感染学组.成人肺炎支原体肺炎诊治专家共识[J].中华结核和呼吸杂志,2010,33(9):643-645.
- [8] 李少丽,孙红妹.肺炎支原体大环内酯类抗生素全球耐药现状和耐药机制研究进展[J].中华微生物学和免疫学杂志,2018,38(5):395-400.
- [9] Diaz MH, Benitez AJ, Winchell JM. Investigations of *Mycoplasma pneumoniae* infections in the United States: trends in molecular typing and macrolide resistance from 2006 to 2013[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2015, 53(1):124-130.
- [10] 陈煜,田维敏,陈琪,等.耐大环内酯类药物的肺炎支原体肺炎患儿临床特征及治疗[J].中国当代儿科杂志,2018,20(8):629-634.
- [11] 徐雨霁,朱炳伟,刘永林.MP-SAT 技术在小儿肺炎支原体肺炎中的早期诊断价值[J].浙江临床医学,2020,22(2):257-258.
- [12] 张书婉,徐菀,吴爽,等.RNA-SAT 在儿童肺炎支原体肺炎诊断中的价值[J].山西医科大学学报,2018,49(7):92-94.
- [13] 冯志山,李贵霞,郭映辉,等.儿童肺炎支原体感染血清学与分子生物学检测方法的对比研究[J].河北医科大学学报,2019,40(7):829-833.
- [14] 周俊,吴亦栋,刘狄,等.肺炎支原体 RNA 和 DNA 检测在儿童支原体感染诊断中的动态评价[J].中国卫生检验杂志,2017,27(11):75-77.
- [15] 谢辉,李基明,张慧芬,等.肺炎支原体抗体和载量指数在儿童肺炎支原体肺炎诊断中的应用[J].中国当代儿科杂志,2016,18(10):984-987.
- [16] Ying J, Zhou DF, Gu TJ, et al. Endocan, a Risk Factor for Developing Acute Respiratory Distress Syndrome among Severe Pneumonia Patients [J]. Can Respir J, 2019, Doi: 10.1155/2019/2476845.

(收稿日期:2021-07-15

修回日期:2021-09-09)