

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2016.05.007

· 论 著 ·

儿童肺炎支原体肺炎耐药情况及阿奇霉素临床疗效观察

韩旭, 温慧敏, 苗耐英, 王彩虹 (中国石油天然气集团公司中心医院, 河北廊坊 065000)

[摘要] 目的: 了解儿童肺炎支原体肺炎(MPP)对大环内酯类抗生素的耐药情况, 观察阿奇霉素治疗耐药 MPP 的临床疗效。方法: 于 2012 年 10 月至 2014 年 3 月采集儿科病房疑似 MPP 患儿咽拭子标本共 100 例, 应用巢式 PCR 扩增及 DNA 测序检测红霉素作用靶位 23SrRNA 基因。在此基础上将患儿分为敏感组(MS-MPP 组)及耐药组(MR-MPP 组), 比较两组患儿对阿奇霉素治疗反应的差异。结果: 经 PCR 扩增, 100 例咽拭子标本中 91 例阳性, 26 例无点突变, 65 例存在点突变, 其中 58 例为 2063 位 A→G 点突变, 7 例为 2064 位 A→G 点突变, 耐药率 71.4%。32 例 MR-MPP 患儿与 17 例 MS-MPP 患儿比较, 阿奇霉素治疗后 MS-MPP 组发热时间、总热程、住院时间均短于 MR-MPP 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 儿童 MPP 耐药情况严重, 对阿奇霉素治疗反应性降低, 发热时间、总热程、住院时间延长。

[关键词] 肺炎支原体; 肺炎; 耐药; 阿奇霉素

[中图分类号] R725.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2016)05-0018-03

Drug Resistance Situation and Clinical Efficiency of Azithromycin in Children with *Mycoplasma Pneumoniae* Pneumonia

Han Xu, Wen Huimin, Miao Naiying, Wang Caihong (Central Hospital of China National Petroleum Corporation, Hebei Langfang 065000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the drug resistance situation to macrolide antibiotics and the clinical efficiency of azithromycin in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia (MPP). **Methods:** One hundred throat swab specimens were collected from 100 inpatient children suspected with MPP from October 2012 to March 2014, and erythromycin target site 23SrRNA gene were determined by nested PCR and DNA sequencing. Children were divided into two groups: sensitivity group (MS-MPP group) and drug-resistant group (MR-MPP group), azithromycin efficiency were compared between two groups. **Results:** Ninety one of 100 specimens were positive by nested PCR. DNA sequencing showed 26 cases had no mutation in 23SrRNA, 65 cases had point mutation, among them 58 cases had A→G mutation at 2063, 7 cases had A→G mutation at 2064. The drug resistance rate was 71.4%. Thirty-two cases in MR-MPP group and 17 cases in MS-MPP group showed significant differences in fever time, total febrile days, length of hospital stay after azithromycin therapy ($P < 0.05$). **Conclusion:** Drug resistance situation was severe in children with MPP, fever time, total febrile days and length of stay were longer after azithromycin therapy.

[Keywords] *Mycoplasma pneumoniae*; pneumonia; drug resistance; azithromycin

肺炎支原体肺炎(*Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, MPP)是儿童社区获得性肺炎的常见类型,大环内酯类药物是治疗儿童 MPP 的首选药物。近年来国内外学者相继报道分离出对大环内酯类耐药的肺炎支原体,且耐药率呈上升趋势,引起耐药的分子机制是红霉素作用靶位基因 23SrRNA V 区中心环碱基的点突变^[1]。本研究应用巢式 PCR 及 DNA 测序技术直接检测 MPP 患儿咽拭子标本的红霉素作用靶位 23SrRNA 基因以了解儿童 MPP 的耐药情况。根据是否存在 23SrRNA 基因的点突变将患儿分为敏感(macrolide-susceptible MPP, MS-MPP)组及耐药(macrolide-resistant MPP, MR-MPP)组,观察阿奇霉素治疗 MR-MPP 的临床疗效。

1 资料和方法

1.1 巢式 PCR 扩增及 DNA 测序检测耐药基因

2012 年 10 月至 2014 年 3 月采集儿科病房疑似 MPP 患儿咽拭子标本 100 例,生理盐水浸泡并反复涮洗挤压,将浸泡液 12 000 r/min 离心 10 min,弃上清液后加标本处理液 50 μ L 并混匀,100 $^{\circ}$ C 沸水中水浴 10 min,此溶液作为 DNA 模板备用。用巢式 PCR 扩增 23SrRNA V 区中心环红霉素作用靶位基因,对扩增产物进行电泳检测,每次实验设立阳性对照及阴性对照。将阳性产物提纯后测序,测得序列与美国国立生物技术信息中心(NCBI)已登陆的 MP 标准株(登录号 X68422)23SrRNA 基因进行比对,观察有无点突变^[2]。

基金项目:廊坊市科学技术研究与发展计划项目,项目编号 2012013026。

作者简介:韩旭(1972.08~),女,硕士,副主任医师,主要从事小儿呼吸系统疾病研究,E-mail: zongyiyuanzkb@126.com。

1.2 临床资料

病例入组标准:(1)临床诊断明确,患儿有发热、咳嗽症状、肺部体征、胸部 X 线片改变及 MP-IgM 阳性;(2)入院即给予阿奇霉素治疗。病例排除标准:(1)已给予中成药治疗的病例;(2)病程中给予激素治疗的病例。收集巢式 PCR 扩增阳性患儿的临床资料。根据入组患儿的巢式 PCR 扩增及 DNA 测序结果分为 MS-MPP 组及 MR-MPP 组,比较两组患儿在年龄、性别、最高体温、WBC 计数、胸部 X 线片表现、阿奇霉素治疗前发热时间、阿奇霉素治疗后发热时间、总热程、住院时间、并发症方面的差异。

1.3 统计学方法

应用 SPSS11.5 软件,计量资料进行正态性检验,符合正态分布且具有方差齐性的资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验,对符合正态分布不具有方差齐性的组间比较采用独立样本 t' 检验,计数资料采用 χ^2 检

验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺炎支原体耐药情况

经 23SrRNA 巢式 PCR 扩增及 DNA 测序,100 例咽拭子标本中 91 例阳性,对 91 例阳性产物测序显示 26 例无突变,65 例存在点突变,耐药率 71.4%,其中 58 例为 2063 位 A→G 点突变,7 例为 2064 位 A→G 点突变,以 2063 位点突变为主。

2.2 两组患儿一般资料比较

收集 91 例巢式 PCR 扩增阳性患儿的临床资料,筛选入组病例。49 例符合入组标准,32 例 23SrRNA 基因存在点突变的病例作为 MR-MPP 组,17 例 23SrRNA 基因无点突变的病例作为 MS-MPP 组,两组患儿的年龄、性别、最高体温、WBC 计数、胸部 X 线片表现比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患儿一般资料比较

组别	例数	年龄/岁	性别		最高体温 /℃	WBC 计数 /($\times 10^9/L$)	胸部 X 线表现/例		
			男	女			大片阴影	支气管肺炎	间质性肺炎
MR-MPP 组	32	6.10 $\pm$ 2.70	18	14	39.05 $\pm$ 1.29	8.02 $\pm$ 2.01	25	3	4
MS-MPP 组	17	5.29 $\pm$ 1.90	7	10	38.95 $\pm$ 1.04	8.18 $\pm$ 3.36	11	3	3
t 或 χ^2		1.085	1.255		0.254	0.205		1.026	
P		>0.05	>0.05		>0.05	>0.05		>0.05	

2.3 两组患儿临床体征改善情况比较

结果见表 2。阿奇霉素治疗前发热时间两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);阿奇霉素治疗后发热时间、总热程、住院时间耐药组均较敏感组延长,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。

表 2 两组患儿临床体征改善情况比较($\bar{x} \pm s$) d

组别	例数	治疗前发热时间	治疗后发热时间	总热程	住院时间
MR-MPP 组	32	3.61 $\pm$ 2.61	3.71 $\pm$ 2.01	7.34 $\pm$ 4.17	11.18 $\pm$ 3.53
MS-MPP 组	17	3.47 $\pm$ 2.12	1.82 $\pm$ 2.07	5.24 $\pm$ 3.13	8.53 $\pm$ 2.62
t		0.192	2.296	1.937	2.724
P		>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.4 并发症

耐药组发生 8 例并发症,其中胸腔积液 4 例、肺不张 1 例、肝损害 2 例、心肌损害 1 例;敏感组发生胸腔积液 1 例。

3 讨论

本研究结果显示,MPP 患儿中耐药肺炎支原体感染占 71.4% (65/91),提示儿童 MPP 耐药现象严重。耐药菌株感染在临床表现方面如年龄、性别、最高体温、WBC

计数、胸部 X 线片等与敏感菌株感染比较差异无统计学意义($P > 0.05$),提示治疗初期耐药菌株感染不易被识别。

Matsubara K 等^[3] 对大环内酯类抗生素治疗的 22 例 MR-MPP 患儿与 47 例 MS-MPP 患儿进行的研究显示,MR-MPP 患儿的发热、咳嗽缓解时间(4.0 d,11.4 d)较 MS-MPP 患儿(1.5 d,7.0 d)延长。Kawai Y 等^[4] 报道,21 例 MR-MPP 患儿与 9 例 MS-MPP 患儿经 48 h 的大环内酯类治疗,MS-MPP 患儿鼻咽部带菌量明显下降,临床症状好转,而 MR-MPP 患儿大环内酯类抗菌治疗及临床治疗的有效率较低,分别是 9.5% 和 28.5%,提示大环内酯类对于耐药菌感染的有效性降低。本研究 MR-MPP 组阿奇霉素治疗后发热时间、总热程、住院时间较 MS-MPP 组延长,提示阿奇霉素对于耐药菌株的临床疗效降低,与文献报道结果一致。

体外药敏试验表明,2063 位 A→G 点突变及 2064 位 A→G 点突变的菌株对 15 元环大环内酯高水平耐药^[5-6],因此根据突变位点推断 MR-MPP 患儿感染的肺炎支原体在体外对阿奇霉素均为高水平耐药。本研究 MR-MPP 患儿虽治疗后发热时间、总热程、住院时间均有延长,但最终仍获得痊愈,也提示阿奇霉素在体内有一定效果,考虑与阿奇霉素的药物代谢动力学特点、免

疫调节作用及患儿自身免疫功能有关。本研究的局限性在于对阿奇霉素的药物代谢动力学特点、免疫调节作用在治疗耐药肺炎支原体感染中的作用未进行评价。对于耐药病例,应设立阿奇霉素治疗组及未给予阿奇霉素治疗组,通过两组治疗前后鼻咽部带菌量变化评价阿奇霉素在耐药肺炎支原体感染患儿的体内效果。

鉴于目前肺炎支原体对大环内酯类耐药严重,在临床上早期不能获得是否耐药的实验室证据的情况下,可通过大环内酯类治疗反应进行初步推断,遇到大环内酯类抗生素效果不佳的病例应考虑耐药菌感染的可能,及时调整治疗方案,使患儿尽早得到有效的治疗。

参考文献:

- [1] PRINCIPI N, ESPOSITO S. Macrolide-resistant mycoplasma pneumoniae: its role in respiratory infection [J]. J Antimicrob Chemother, 2013, 68(3): 506-511.
- [2] 辛德莉, 糜祖煌, 韩旭, 等. 用巢式聚合酶链反应和测序检测肺炎支原体 23SrRNA 中的点突变[J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(7): 522-525.
- [3] MATSUBARA K, MOROZUMI M, OKADA T, et al. A comparative clinical study of macrolide-sensitive and macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae infections in pediatric patients [J]. J Infect Chemother, 2009, 15(6): 380-383.
- [4] KAWAI Y, MIYASHITA N, YAMAGUCHI T, et al. Clinical efficacy of macrolide antibiotics against genetically determined macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae pneumonia in paediatric patients [J]. Respirology, 2012, 17(2): 354-362.
- [5] 辛德莉, 韩旭, 糜祖煌, 等. 肺炎支原体对大环内酯类抗生素耐药性及耐药机制研究[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(5): 543-546.
- [6] AKAIDE H, MIYASHITA N, KUBO M, et al. In vitro activities of 11 antimicrobial agents against macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae isolates from pediatric patients: results from a multicenter surveillance study [J]. Jpn J Infect Dis, 2012, 65(6): 535-538.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2015-07-27 修回日期:2015-09-24)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2016.05.008

· 论 著 ·

孟鲁司特钠对小儿毛细支气管炎 TH17/Treg 的调节作用及疗效研究

应琴, 邱悦波 (浙江省衢州市人民医院, 浙江衢州 324000)

[摘要] 目的:观察孟鲁司特钠对小儿毛细支气管炎 Th17/Treg 的调节作用及疗效。方法:选取 2013 年 6 月至 2015 年 4 月我院儿科治疗的毛细支气管炎患儿 124 例,随机分为对照组和观察组各 62 例。对照组给予常规综合治疗,包括吸氧、利巴韦林抗病毒、沙丁胺醇气雾剂平喘、合并细菌感染时抗感染、氯丙嗪镇静等;观察组在对照组治疗基础上加用孟鲁司特钠片 4 mg/d,每天睡前顿服,连续治疗 7 d。流式细胞仪检测 Th17 和 Treg 细胞水平,ELISA 法测定 IL-17 和 IL-10 表达水平,评价疗效。结果:治疗前,两组 Th17、Treg、IL-17、IL-10 水平比较差异无统计学意义(P 均 >0.05);治疗后,两组 Th17、IL-17 水平均降低且观察组低于对照组,Treg、IL-10 水平均升高且观察组高于对照组(P 均 <0.05)。观察组总有效率为 90.32%,高于对照组的 72.58%,且症状消失时间和住院时间均短于对照组(P 均 <0.05)。结论:孟鲁司特钠可以调节毛细支气管炎患儿体内 Th17/Treg 平衡,对小儿毛细支气管炎具有一定的临床应用价值。

[关键词] 毛细支气管炎;孟鲁司特钠;辅助 T 细胞;调节 T 细胞

[中图分类号] R725.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2016)05-0020-03

The Effect and Regulation of Montelukast on Th17/Treg in Children with Bronchiolitis

Ying Qin, Qiu Yuebo (Quzhou People's Hospital of Zhejiang Province, Zhejiang Quzhou 324000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect and regulation of montelukast on Th17/Treg in children with bronchiolitis. **Methods:** A total of 124 children with bronchiolitis were enrolled in this study. Children were randomly divided into control group ($n=62$) and observation group ($n=62$). The control group was treated with only conventional therapy, while the observation group was treated with montelukast on the basis of control group. The Th17 and Treg were detected by flow cytometer. The expressions of IL-17 and IL-10 were detected by ELISA. The clinical effects of the two groups were compared. **Results:** Before treatment, Th17, Treg, IL-17, and IL-10 had no significant difference between the two groups ($P>0.05$). After treatment, the levels of Th17 cells and IL-17 were decreased and

作者简介:应琴(1980.09~),女,大学本科,主治医师,主要从事儿科临床工作,E-mail:cmqz2009@163.com。