

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2015.09.010

论著·临床研究

呼吸道吸出物 MP-DNA 检测对儿童肺炎 支原体肺炎诊断的临床意义

顾文婧¹ 张新星¹ 陈正荣¹ 严永东¹ 朱灿红¹ 黄莉¹ 王美娟¹ 邵雪君² 季伟¹

(苏州大学附属儿童医院 1. 呼吸科; 2. 检验科, 江苏 苏州 215003)

[摘要] **目的** 探讨鼻咽抽吸物(NPA)和肺泡灌洗液(BALF)中肺炎支原体(MP)-DNA检测对儿童MP肺炎(MPP)诊断的意义。**方法** 收集164例MPP患儿入院24h内的NPA及BALF, 荧光定量PCR法检测MP-DNA; 同时在入院24h内及治疗7~10d病情好转时采集所有患儿静脉血, ELISA法检测血清特异性MP-IgM。**结果** 164例患儿NPA的MP-DNA阳性检出率为51.8%, 低于双份血清MP-IgM阳性检出率(63.4%) ($P=0.044$), 两者检出一致性中等 ($Kappa=0.618$, $P<0.01$); BALF的MP-DNA阳性检出率为71.3%, 与双份血清MP-IgM阳性检出率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 两者检出一致性好 ($Kappa=0.793$, $P<0.01$); NPA的MP-DNA阳性检出率低于BALF ($P<0.01$), 两者检出一致性中等 ($Kappa=0.529$, $P<0.01$)。BALF中MP的中位拷贝数高于NPA ($P<0.01$)。NPA和BALF MP-DNA的检出率均随病程延长有下降趋势 ($P<0.05$), 病程~2周及~4周患儿BALF MP-DNA检出率高于NPA ($P<0.05$)。**结论** BALF中MP-DNA检出敏感性高, 对临床早期诊断MPP具有重要意义; 而NPA MP-DNA检测可能会引起漏诊。 [中国当代儿科杂志, 2015, 17(9): 937-941]

[关键词] 肺炎支原体肺炎; 支气管肺泡灌洗液; 鼻咽抽吸物; 儿童

Clinical significance of MP-DNA from endotracheal aspirates in diagnosis of Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children

GU Wen-Jing, ZHANG Xin-Xing, CHEN Zheng-Rong, YAN Yong-Dong, ZHU Can-Hong, HUANG Li, WANG Mei-Juan, SHAO Xue-Jun, JI Wei. Department of Respiratory Disease, Children's Hospital Affiliated to Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215003, China (JI W, Email: szdxjiwei@163.com)

Abstract: Objective To compare the detection rates of Mycoplasma pneumoniae (MP) from nasopharyngeal aspirates (NPA) and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in children with pneumonia. **Methods** A total of 164 hospitalized children with pneumonia were enrolled. NPA and BALF of these children were collected within 24 hours of admission, and MP-DNA was detected by fluorescence quantitative PCR. Venous blood samples of all these children were collected within 24 hours of admission and on days 7-10 of treatment, and serum MP-IgM was detected using ELISA. **Results** The positive rate of MP-DNA in NAP of the 164 cases was 51.8%, which was lower than 63.4% as the detection rate of MP-IgM in serum ($P=0.044$), and the two detection rates were moderately consistent with each other ($Kappa=0.618$, $P<0.01$). The positive rate of MP in BALF was 71.3%, which was not significantly different with that of MP-IgM in serum ($P>0.05$), and the detection rates were well consistent ($Kappa=0.793$, $P<0.01$). The detection rate of MP in NPA was lower than that in BALF ($P<0.01$), with moderate consistency between two of them ($Kappa=0.529$, $P<0.01$). The median MP copy number in BALF was significantly higher than that in NPA ($P<0.01$). The MP detection rates in NPA and BALF were significantly different among different courses of disease ($P<0.05$). As the course of disease extended, the MP detection rates in both NPA and BALF showed a declining trend; children with MP pneumonia of 1-2 weeks' duration and 2-4 weeks' duration had a higher MP-DNA detection rate in BALF than in NPA ($P<0.05$). **Conclusions** MP-DNA in BALF has a high sensitivity, with a great significance for early diagnosis of MP pneumonia, while NPA MP-DNA tests may lead to a missed diagnosis. [Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(9): 937-941]

Key words: Mycoplasma pneumoniae pneumonia; Bronchoalveolar lavage fluid; Nasopharyngeal aspirates; Child

[收稿日期] 2015-01-21; [接受日期] 2015-03-13

[基金项目] 江苏省社会发展项目 (BE2012652)。

[作者简介] 顾文婧, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 季伟, 女, 主任医师, 教授。

肺炎支原体肺炎 (Mycoplasma pneumoniae pneumonia, MPP) 是最为常见的儿童社区获得性肺炎。肺炎支原体 (Mycoplasma pneumoniae, MP) 是儿童呼吸道感染最常见的病原之一^[1]。近年来, MP 在儿童呼吸道感染中有逐年上升趋势, 每 3~5 年可发生一次大流行^[2]。MP 培养是诊断 MP 感染的金标准, 但由于 MP 培养要求高且耗时, 因此临床上多采用血清特异性抗体检测或 PCR 检测 MP 感染^[3]。MP-IgM 阳性是诊断 MP 感染的主要实验室指标, 但 MP-IgM 一般在发病 1 周后才能检出, 且在免疫系统缺陷或发育不完善的患儿中假阴性率高; 荧光定量 PCR 检测方法具有灵敏度高, 特异性强和检测时间短等优点, 对 MPP 的早期诊断起到了很大的作用, 与普通 PCR 相比, 减少了扩增产物污染的机会, 提高了检测特异性^[4]。目前临床普遍采用鼻咽抽吸物 (nasopharyngeal aspirates, NPA) 行 MP-DNA 检测, 其结果目前尚存在争议。近年来随着支气管镜术在儿科的逐渐开展, 经支气管镜行支气管肺泡灌洗, 从支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中获得病原微生物检测结果, 被认为具有直接、可靠、敏感的优点, 对指导 MPP 患儿的诊疗价值备受关注^[5]。

目前对 NPA 与 BALF 的 MP-DNA PCR 检测在 MPP 中的诊断价值的研究资料尚少。本研究对 2013 年 4 月至 2014 年 3 月间在我院呼吸科住院治疗的 164 例肺炎患儿, 在采集 NPA 的同时因诊治需要采集 BALF, 并将 NPA 和 BALF 行 MP-DNA PCR 检测, 并将检测结果与血清学比较, 求证 NPA 和 BALF 的 MP-DNA 检测对 MPP 诊疗的临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2013 年 4 月至 2014 年 3 月期间于我院呼吸科就诊的 164 例 MPP 患儿为研究对象, 其中男 98 例 (59.8%), 女 66 例 (40.2%); 年龄 2 个月至 14 岁, 平均年龄 4.6 ± 2.0 岁, 其中 <1 岁 24 例 (14.6%), 1 岁 ~ 34 例 (20.7%), 3 岁 ~ 63 例 (38.4%), ≥ 7 岁 43 例 (26.2%); 支气管肺炎 60 例 (36.6%), 大叶性肺炎 104 例 (63.4%)。164 例患儿中, 发病至入院采集标本病程 ≤ 1 周有

55 例, ~2 周有 51 例, ~4 周有 26 例, 病程 >4 周有 32 例。

研究对象纳入标准: (1) 年龄在 1 个月至 14 岁; (2) 因呼吸道感染入院, 临床疾病诊断标准依据《诸福棠实用儿科学》第 7 版^[6]; (3) 入院 24 h 内及出院前因诊治需要行血清 MP-IgM 检测; (4) 经门诊治疗或住院治疗 5~7 d, 临床症状、体征或 / 和影像学检查无明显改善或反复咳喘时间较长而行电子支气管镜检查及肺泡灌洗术治疗的患儿; (5) 住院期间同一天采集 NPA 和 BALF。

本研究获得医院医学伦理委员会批准; 每位患儿采集 NPA 及 BALF 标本时均告知家属, 并签署知情同意书。

1.2 标本采集

入院 24 h 内用一次性吸痰管送入患儿鼻腔 7~8 cm, 利用负压吸取 NPA 1~2 mL; BALF 收集方法为在电子支气管镜到达病变局部时进行灌洗, 灌洗部位都选择病变重的肺段, 0.9% 氯化钠溶液 (体重 ≤ 20 kg 者每次灌洗量 1 mL/kg, 体重 >20 kg 者每次灌洗量 2 mL/kg) 进行支气管肺泡灌洗, 以负压 10~15 mm Hg 进行抽吸以获取 BALF。入院 24 h 内及治疗 7~10 d 病情好转时采集所有患儿静脉血。

1.3 实时荧光定量 PCR 法检测 NPA 及 BALF 中 MP-DNA

取 NPA 及 BALF 标本, 经震荡、离心、去上清, 再加入裂解液提取 DNA, 进行 PCR 扩增, 引物及探针来自广州中山大学达安基因股份有限公司。探针结合序列位于上游引物与下游引物之间。在特异性杂交荧光探针的 5' 端结合荧光发光基团, 在 3' 端结合荧光吸收基团。将样品 (标本和质控品) 上清液 2 μ L 或阳性定量参考品直接加入反应管中, 12000 r/min 离心 5 min, 放入仪器样品槽。PCR 反应条件: 93 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 93 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 60 s, 10 个循环; 93 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 30 个循环。荧光采集点设置为 55 $^{\circ}$ C 退火 45 s 阶段。荧光定量 PCR 的结果以 Ct 值显示, 反应结束电脑自动分析结果。结果判定: (1) Ct 值 ≥ 39 , 实验结果为阴性; (2) Ct 值 <38, 实验结果为阳性; (3) Ct 值在 38~<39 时, 进行重复测定。仪器为美国 BIO-RAD 公司的 Icyleriq 荧光定量 PCR 仪。

1.4 ELISA 法检测血清 MP-IgM

试剂盒购自德国欧蒙医学实验诊断股份有限公司。取患儿外周血 1~2 mL, 常规离心, 取血清 10 μ L, 用样本缓冲液 1:101 稀释, 充分混匀后加入抗原包被的微孔板上的微量孔中, 同样把标准血清和对照血清各 100 μ L 加入微量孔中, 室温 (18~25 $^{\circ}$ C) 下温育 30 min; 清洗缓冲液洗涤 3 遍后加入 100 μ L 过氧化物酶标记的羊抗人 IgM 抗体, 室温温育 30 min; 倒掉微孔板内液体, 洗涤 3 遍后, 滴加 100 μ L 色原 / 底物液至每一微孔, 避光温育 15 min。以与加色原 / 底物液相同的速度和顺序滴加 100 μ L 终止液至每一微孔。终止后酶标仪 450 nm 波长处测吸光度 D 值。计算样本和标准品 D 值的比值, 通过比值半定量判断 MP-IgM 结果。比值 >1.1 为阳性, 0.8~1.1 为可疑, <0.8 为阴性。对出院时复查的血清 MP-IgM 较入院时第一次检测的血清 MP-IgM 值增高 1.5 倍或以上诊断为 MP 急性感染^[7]。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计软件包对数据进行统计分析, 计量资料以中位数 (范围) 表示, 两组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验。计数资料采用百分率 (%) 表示, 各组阳性率比较采用卡方检验或 Fisher 确切概率法。一致性比较采用四格表 χ^2 检验, 以血清 MP 抗体检测结果为标准计算 Kappa 值。Kappa 值越大说明一致性越好, Kappa 值 >0.75 表示两者一致性好; Kappa 值在 0.40~0.75 间表示一致性中等; Kappa 值 <0.40 表示一致性较差。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MP 检出情况

164 例患儿中, 双份血清 MP-IgM 检出阳性 104 例 (63.4%), NPA 的 MP-DNA 检出阳性 85 例 (51.8%), BALF 的 MP-DNA 检出阳性 117 例 (71.3%)。其中, 三者均为阳性的 78 例 (47.6%), 三者均为阴性的 34 例 (20.7%)。

双份血清 MP-IgM 和 NPA MP-DNA 同时阳性 79 例 (48.2%), 两者检出一致性中等 (Kappa=0.618, P<0.001), 两者阳性检出率差异有统计学意义 ($\chi^2=4.507$, P=0.044)。见表 1。

表 1 双份血清 MP-IgM 及 NPA MP-DNA 检出结果比较
[n=164, n (%)]

NPA MP-DNA	双份血清 MP-IgM		合计
	阳性	阴性	
阳性	79(48.2)	6(3.7)	85(51.8)
阴性	25(15.2)	54(32.9)	79(48.2)
合计	104(63.4)	60(36.6)	164(100)

注: NPA: 鼻咽抽吸物; MP: 肺炎支原体。

双份血清 MP-IgM 和 BALF MP-DNA 同时阳性 103 例 (62.8%), 两者检出一致性好 (Kappa=0.793, P<0.001), 两者阳性检出率差异无统计学意义 ($\chi^2=2.344$, P>0.05)。见表 2。

表 2 双份血清 MP-IgM 及 BALF MP-DNA 检出结果比较
[n=164, n (%)]

BALF MP-DNA	双份血清 MP-IgM		合计
	阳性	阴性	
阳性	103(62.8)	14(8.5)	117(71.3)
阴性	1(0.6)	46(28.1)	47(28.7)
合计	104(63.4)	60(36.6)	164(100)

注: BALF: 支气管肺泡灌洗液; MP: 肺炎支原体。

NPA 和 BALF MP-DNA 同时阳性 82 例 (50.0%), 两者检出一致性中等 (Kappa=0.529, P<0.001), 两者检出阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2=54.500$, P<0.001)。见表 3。

表 3 NPA MP-DNA 及 BALF MP-DNA 检出结果比较
[n=164, n (%)]

BALF MP-DNA	NPA MP-DNA		合计
	阳性	阴性	
阳性	82(50.0)	35(21.4)	117(71.3)
阴性	3(1.8)	44(26.8)	47(28.7)
合计	85(51.8)	79(48.2)	164(100)

注: NPA: 鼻咽抽吸物; BALF: 支气管肺泡灌洗液; MP: 肺炎支原体。

2.2 NPA MP-DNA 与 BALF MP-DNA 拷贝数比较

164 例肺炎患儿中, NPA 的 MP-DNA 中位拷贝数为 1.27×10^5 ($0 \sim 2.50 \times 10^7$), BALF 的 MP-DNA 中位拷贝数为 3.29×10^6 ($3.29 \times 10^3 \sim 2.50 \times 10^7$), 两者比较差异有统计学意义 (Z=3.155, P=0.002)。

2.3 不同病程患儿 NPA 和 BALF 中 MP 检出率比较

NPA 和 BALF MP-DNA 的检出率在不同病程患儿中差异有统计学意义 ($P<0.05$), 且均随着病程延长有下降趋势; 其中 NPA MP-DNA 检出率在病程 2 周以上的患儿中较病程在 2 周及以下的患儿明显下降 ($\chi^2=31.100$, $P<0.001$)。

病程 ≤ 1 周和 >4 周患儿中, BALF 中 MP-DNA 的检出率和 NPA 中 MP-DNA 的检出率比较差异均无统计学意义 (均 $P>0.05$); 病程在 ~ 2 周和 ~ 4 周患儿中, BALF 中 MP-DNA 的检出率均高于 NPA 中 MP-DNA 的检出率 (均 $P<0.05$)。见表 4。

表 4 不同病程患儿 NPA 和 BALF MP-DNA 阳性检出比较
[n (%)]

标本	≤ 1 周 (n=55)	~ 2 周 (n=51)	~ 4 周 (n=26)	>4 周 (n=32)	χ^2 值	P 值
NPA	38(69)	34(67)	9(35)	4(12)	33.972	<0.001
BALF	45(82)	44(86)	18(69)	10(31)	33.729	<0.001
χ^2 值	2.405	5.449	6.240	3.291	—	—
P 值	>0.05	0.034	0.025	>0.05	—	—

注: NPA: 鼻咽抽吸物; BALF: 支气管肺泡灌洗液。

3 讨论

MP 是一种介于病毒与细菌之间, 可以独立存活的微生物, 其通过飞沫进行传播, 是引起儿童呼吸道感染的重要的病原体之一^[3]。MPP 可占儿童肺炎的 1.3%~50% 不等^[8], 尤其以婴幼儿以及学龄期儿童多见^[3]。MPP 临床表现多样, 且病情轻重不同, 具有病程长、易反复等特点, 且容易发生肺外并发症, 对其进行早期诊断有着重要的临床意义^[9-10]。传统的分离培养以及抗体检测是实验室诊断 MPP 的金标准^[11], 但 MP 培养条件要求严格, 且阳性率低; 而特异性抗体受患儿免疫功能影响, 且高峰出现较晚, 如果第一份血清采集过早, 可能导致假阴性, 不利于早期诊断^[12]。PCR 诊断技术自 1985 年问世以来, 已广泛应用于医学及生物学的各个领域。非 MP 感染患者咽部极少带有该病原体, 为该检测的准确性提供了保证。荧光定量 PCR 具有检测快、灵敏度高优点, 更能够对病原体进行准确定量, 有助于临床早期诊断, 弥补了 MP-IgM 高峰出现时间晚等不足, 且不受患儿

免疫功能影响^[1]。

研究结果显示, BALF 中 MP 检出阳性率为 71.3%, 双份血清 MP 特异性抗体阳性率为 63.4%, 均高于 NPA 中 MP 阳性率 51.8%。以双份血清 MP 特异性抗体滴度 4 倍升高作为金标准, 双份血清 MP 检出阳性率明显高于 NPA 中 MP 的检出率, 两者的一致性中等。既往有研究报道双份血清 MP 特异性抗体阳性率均高于 NPA MP-DNA PCR, 与此研究结果相一致^[2-3]。因而, 若临床上单纯以 NPA-MP 检测结果作为参考, 可能会引起 MPP 的漏诊, 从而不利于 MPP 的及时治疗。而与双份血清抗体检出率相比, BALF 中 MP 检出率与之相比并无明显差异, 且两者的一致性较好。但 BALF MP-DNA PCR 可早期诊断 MP 感染, 便于 MPP 患儿早期治疗, 因而优于双份血清 MP 特异性抗体的检测, 临床上检测 BALF 中 MP 非常有必要^[13]。而对于 MP-DNA PCR, 以 BALF 为标本与 NPA 相比, 两者检出一致性中等, 但 BALF 中检出率明显高于 NPA, 这与 Xu 等^[14]研究结果有所不同, 但与研究组既往研究结果相一致, 可能原因是存在于上呼吸道中的 MP 较下呼吸道中 MP 更容易清除, 但具体原因有待于研究进一步证实。

本研究中 BALF 中的 MP 拷贝数较 NPA 中更高, 可能原因为下呼吸道的局部微环境更适合 MP 的生存, 也支持自身防御系统或抗 MP 药物更容易将上呼吸道中 MP 清除。既往已有研究证实高拷贝数的 MP 是支持 MP 感染临床诊断的依据^[4,15], 因而 BALF 中高拷贝数的 MP 更支持 MP 感染。

研究显示 NPA 中病程在 ≤ 1 周、 ~ 2 周、 ~ 4 周、超过 4 周 MP 的检出率分别为 69%、67%、35%、12%, 随着病程的推移, MP 检出率逐渐下降。黄淑媛等^[12]研究认为 MP-DNA 在发病初期的阳性率较高, 随着治疗和病情的转归, 阳性率迅速下降转阴, 表明 MP-DNA 可以直观地反映 MP 在体内感染和复制的情况, 与此研究结果一致。Kashyap 等^[16]研究也认为 MP-DNA 动态变化, 可以为临床动态观察治疗效果提供依据。在病程 ≤ 1 周患儿的 BALF 中 MP 检出率与 NPA 检出率比较差异无统计学意义, 而病程 ~ 2 周与 ~ 4 周的患儿 BALF 中 MP 检出率仍高达 86%、69%, BALF 中 MP 检出率均明显高于 NPA, 但当病程超过 4 周时, 两者检出率差异也并不明显。提示在起病初期 (≤ 1 周),

患儿机体自身防御系统或抗MP药物尚未完全对MP清除,因而BALF与NPA中MP检出的敏感性相同,而随着时间的推移,患儿上呼吸道中MP逐渐被清除,而下呼吸道中MP依然存在,因而BALF中MP的检出率要明显高于NPA,范丽萍等^[17]一项研究结果也证实在病程8~60 d时BALF中仍可检出MP的存在,也进一步支持此次实验研究结果。当病程超过4周时,患儿上下呼吸道中MP均逐渐被清除,因而BALF与NPA中MP检出率比较并无明显差异。

研究结果显示BALF MP-DNA PCR检出率与双份血清MP特异性抗体滴度4倍升高相比,一致性好,检出率无明显差异,但较双份血清相比,BALF MP-DNA PCR可早期诊断MP感染,较双份血清特异性抗体检测具有优势。而NPA MP-DNA PCR检出率与双份血清特异性抗体相比,一致性中等,且低于双份血清特异性抗体的检出率,易引起漏诊。对于病程较长的患儿,以BALF为标本行MP-DNA PCR检测更具有优势。

虽然BALF较NPA的MP-DNA PCR检出率高,但临床上BALF获取较NPA困难,故NPA-MP检测仍然是诊断MPP的重要循证医学依据;BALF MP-DNA PCR检出率及拷贝数均明显高于NPA,故对于临床上行支气管镜检查的患儿,收集BALF检测MP非常有必要,尤其是NPA-MP及第一份血清MP特异性抗体检出阴性者,BALF MP-DNA检测可帮助临床诊治。

[参 考 文 献]

- [1] 朱中梁,马娟,汪洪良.两种方法检测肺炎支原体的对比研究[J].临床肺科杂志,2013,18(5): 886-888.
- [2] 赵茹,黄莉,季伟.双份血清MP抗体及痰MP-PCR检测在儿童肺炎支原体感染诊断中的价值[J].江苏医药,2008,34(12): 1282-1283.
- [3] 季伟,陈正荣,张爱丽,等.荧光PCR和定量ELISA在呼吸道肺炎支原体感染诊断中的应用[J].临床儿科杂志,2009,27(7): 625-628.
- [4] 张晓波,陆爱珍,王立波,等.肺炎支原体荧光定量聚合酶链反应在肺炎支原体感染中的诊断评价[J].中华儿科杂志,2008,46(6): 442-445.
- [5] 刘玺诚.努力发展和推广儿科支气管镜术[J].临床儿科杂志,2009,27(1): 7-11.
- [6] 胡亚美,江载芳,主编.诸福棠实用儿科学[M].第7版,北京:人民卫生出版社,2002: 1167-1175.
- [7] Guo Q, Li HY, Zhou YP, et al. Associations of radiological features in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia[J]. Arch Med Sci, 2014, 10(4): 725-732.
- [8] Liu FC, Chen PY, Huang F, et al. Rapid diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children by polymerase chain reaction[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2007, 40(6): 507-512.
- [9] 高炳杰,孙志荣,张玉芹,等.小儿喘息性疾病与肺炎支原体感染关系的研究[J].中国当代儿科杂志,2001,3(3): 325-326.
- [10] Akihiro T, Kousaku M, Takayuki T, et al. Methylprednisolone pulse therapy for refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children[J]. J Infect, 2008, 57(3): 223-228.
- [11] Waites KB, Balish MF, Atkinson TP. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumoniae* infection[J]. Future Microbiol, 2008, 3(6): 635-648.
- [12] 黄淑媛,覃川平,黎伟霞,等.MP-DNA、MP-IgM及MP-IgG在儿童肺炎支原体感染中的动态变化[J].中国当代医药,2014,21(4): 95-97.
- [13] 成云改,李淑娴,李雪静,等.肺炎支原体肺炎患儿肺泡灌洗液细菌量与临床特征相关性研究[J].中华儿科杂志,2013,51(10): 736-740.
- [14] Xu D, Li SX, Chen ZM, et al. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in different respiratory specimens[J]. Eur J Pediatr, 2011, 170(7): 851-858.
- [15] 张永峰,王永芹.荧光定量PCR对儿童肺炎支原体感染早期诊断和临床意义[J].山东医药,2011,51(35): 78-79.
- [16] Kashyap B, Kumar S, Sethi GR, et al. Comparison of PCR, culture & serological tests for the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* in community acquired lower respiratory tract infections in children[J]. Indian J Med Res, 2008, 128(2): 134-139.
- [17] 范丽萍,孙惠泉,黄莉,等.儿童支原体肺炎肺泡灌洗液检测与临床关系探讨[J].临床肺科杂志,2013,18(10): 1755-1757.

(本文编辑:万静)