doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.16.048

肺炎支原体实验室检测方法研究进展*

陈倩 王会中 郭燕菊 王茹

(解放军 305 医院 检验科 北京 100017)

摘要:肺炎支原体(Mycoplasma pneumoniae,MP)为人类非典型肺炎的病原体,是引起呼吸道感染的重要病原体。但是支原体肺炎与其他病原体感染的肺炎,在临床症状、影像学上并无特异性差别,且其对一般治疗肺炎、上呼吸道感染的药物有耐药性,因此肺炎支原体及时、准确的实验室检测对于支原体肺炎的诊断治疗显得尤为重要。目前MP的实验室检测方法不断推陈出新,但各种方法均有其优势与不足,临床可选择两种不同的方法同时检测。比如:血清学抗体的检测结合MP快速培养药敏的方法;血清学抗体的检测结合PCR的方法,不同方法相互补充为临床的早期诊断、治疗提供依据。而MP药敏试验的检测和耐药机制的研究对于临床用药方案的选择,减少耐药株的产生和流行具有重要意义。

关键词:肺炎支原体;检测方法;研究进展

中图分类号:R563.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)16-3181-03

Advances in Laboratory Detection of Mycoplasma Pneumoniae*

CHEN Qian, WANG Hui-zhong, GUO Yan-ju, WANG Ru

(Clinical Laboratory, 305 Hospital of PLA, Beijing, 100017, China)

ABSTRACT: Mycoplasma pneumoniae (MP) is a human pathogen of atypical pneumonia, is important pathogens that cause respiratory infections. Mycoplasma pneumoniae pneumonia infection with other pathogens, no specific difference in clinical symptoms and imaging, the general treatment of pneumonia and upper respiratory tract infection drug resistance. Timely, accurate laboratory detection of Mycoplasma pneumoniae is particularly important for the diagnosis and treatment of mycoplasma pneumonia. Currently the MP laboratory tests constantly, various methods have their advantages and disadvantages, clinical simultaneous detection of two different methods can be selected. For example: serological antibody detection combined the MP fast culture susceptibility method; serological antibody detection combined PCR method, different methods complement each other early clinical diagnosis, treatment, provide the basis. The MP detection and drug susceptibility testing mechanism for clinical selection regimen and reduce the generation of drug-resistant strains and popular has important significance.

Keywords: Mycoplasma pneumoniae; Detection method; Advance

Chinese Library Classification (CLC): R563.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)16-3181-03

肺炎支原体(Mycoplasma pneumoniae,MP)为人类非典型肺炎的病原体,是引起呼吸道感染的重要病原体。MP感染可发生在任何年龄,以5-20岁更为多见,是儿童、青少年急性呼吸道感染的主要病原体之一。近年来,成人MP感染报道增加,有资料显示在成人社区获得性肺炎(CAP)中,MP已经成为感染率居首位的病原菌^[1,2]。但是支原体肺炎与其他病原体感染的肺炎,在临床症状、影像学上并无特异性差别,且其对一般治疗肺炎、上呼吸道感染的药物有耐药性,因此,肺炎支原体及时、准确的实验室检测对于支原体肺炎的诊断治疗显得尤为重要。

1 肺炎支原体概述

支原体(Mycoplasma)是一类缺乏细胞壁、形态上呈高度多形性、能通过除菌滤器,在无生命培养基中能生长繁殖的最小原核细胞型微生物,1967年才正式命名,MP长约2-5 μm,无细胞壁仅有细胞膜,革兰染色阴性,形态呈细丝状。MP具有DNA和RNA两种核酸,核糖体由30S和50S亚基组成,其基因组为环状双股DNA,分子量约 5×10^8 。MP感染发病机制与MP的

粘附作用和机体的免疫应答有关。MP借滑行运动穿过粘膜上皮细胞纤毛屏障,隐藏在细胞间隙窝内,以其尖端特殊结构粘附于细胞上皮细胞的表面受体上,其主要粘附因子为一类对胰蛋白酶敏感的表面蛋白,称P1蛋白。P1蛋白与呼吸道上皮细胞的神经氨酸受体结合^[3],从而(1)消耗宿主细胞内的营养物质得以生长繁殖;(2)破坏呼吸道粘膜的完整性使纤毛运动受阻;(3)释放有毒代谢产物如:过氧化氢、核酸酶等使细胞受损。P1蛋白是重要的免疫原,能刺激机体产生较强烈的免疫应答。也是目前MP诊断的主要抗原。

MP主要侵犯呼吸系统,经呼吸道飞沫传播,除可引起双侧肺炎及慢性支气管炎等呼吸道疾病外,还可引起其他系统的严重的肺外并发症,如脑膜炎、脑干炎、脊髓炎、心肌炎、心包炎、免疫溶血性贫血、肾炎等。MP感染呈全球性分布,以温带为主。平时散在发病,3-5年出现一次地区性流行,主要在学校、家庭和军队中流行,流行特点为间歇性、长期缓慢播散,可持续数月至一年,有时可造成暴发流行。全年均可发病但以秋冬较多。

MP因其结构缺乏细胞壁而对青霉素、β-内酰胺类、万古

* 基金项目:解放军 305 医院科研基金(2012YB06)

作者简介:陈倩(1973-),女,副主任技师,主要研究方向:临床免疫和临床微生物检验,电话:18101118678

(收稿日期:2013-10-28 接受日期:2013-11-30)

霉素等作用于细胞壁生物合成的药物具有本质耐药性, 临床治疗可选择(1)干扰和抑制微生物蛋白质合成的大环内酯类抗生素;(2)作用于核糖体 30S, 阻止肽链延伸和蛋白质合成, 抑制 DNA 复制的四环素类抗生素;(3)作用于核酸 DNA, 抑制其复制的喹诺酮类抗生素^[9]。

2 肺炎支原体的实验室检测

2.1 肺炎支原体的分离培养

2.1.1 传统肺炎支原体的分离培养 MP 的分离培养方法是 WHO 推荐的 MP 感染诊断的金标准方法。支原体主要以二分裂繁殖, 由于基因组小, 代谢能力有限, 故繁殖缓慢, 1-6 小时分裂一代, 反复传代后生长快, 对数生长期细胞可达 10^7 CFU/ml; 生长需要胆固醇和葡萄糖; 在平皿上菌落呈草莓状, 反复传代后呈“荷包蛋”状菌落为阳性。传统肺炎支原体的分离培养方法是采用咽拭子、痰、胸腔积液、肺泡冲洗液在专用培养基上进行体外 MP 的分离培养, 由于 MP 不具甾醇合成能力, 培养系统应添加甾醇等长链不饱和脂肪醇丰富的物质, 一般采用 SP-4 培养基加马血清。此方法灵敏度低, 培养耗时长(大约需要 2-3 周), 技术要求高, 不能满足快速诊断, 很难在临床推广应用。

2.1.2 新型支原体快速培养 MP 快速培养为液体培养基, 其组成材料是根据 MP 结构繁殖增生所需要的营养成分而合理配置的一套含蛋白质、磷脂、碳水化合物、胆固醇、微量元素并加入青霉素和醋酸铊等物质抑制杂菌的生长。而 MP 生长的代谢产物使培养液中指示剂颜色发生改变来判断生长, 通常液体由红色变为黄色为阳性, 菌量大约 10^4 有诊断意义。该方法方便、快速、准确、无需特殊设备, 可作为一般实验室常规 MP 感染的诊断方法。由于该法存在一定的假阳性和假阴性, 其灵敏度和特异性还需要进一步验证。

2.2 肺炎支原体的直接检测

采用免疫荧光的方法, 取患者呼吸道分泌物, 采用鼠抗人单克隆抗体(MP 单克隆抗体), 和异硫氰酸荧光素标记的羊抗鼠抗体 IgG 来检测细胞内的 MP 抗原, 在荧光显微镜下观察细胞内被特异性荧光标记的 MP 的活跃性来判断是否感染, 此方法方便快捷, 但临床上由于没有选中合适的视野或未取到感染细胞都会造成漏检, 细胞内其他病原体干扰也会造成误判, 因此此法易受人因素干扰, 影响结果的判读。

2.3 肺炎支原体血清学检查

常规实验室诊断 MP 感染, 通常基于血清学的检测方法, 检测 MP 抗体, 该方法对于诊断感染具有重要意义, 但是检测必须在机体 MP 抗体产生之后, MP 感染后 IgM 抗体出现最早, 一般在感染后 1 周出现, 3-4 周达到高峰, 以后逐渐降低, 12-16 周转阴, MP2IgM 是 MP 特异性抗体^[9], 检测灵敏度较高, 但特异性较低, 有些轻度感染及再感染病例不能刺激 IgM 抗体的产生。MPIgG 抗体出现较 IgM 抗体迟, 其浓度峰值在 MP 感染后的第 5 周, 并且 IgG 抗体会在体内留存很长一段时间, 因此单独检测 MPIgG 意义不大, 而血清学抗体的检测要注意检测时间点, 检测时机不当会造成漏检。

2.3.1 冷凝集试验 人感染 MP 后, 血清中除出现特异性抗体外, 还存在由 I 抗原刺激机体产生的非特异性冷凝集素。即在 4℃ 条件下可凝集的“O”形红细胞或自身洗涤红细胞, 在 37℃ 温浴后凝集现象消失, 其滴度 ≥ 64 时 MP 感染有参考意义。此方法操作简便, 长期作为 MP 感染的参考方法, 但该方法并不特异, 其他疾病如: 大叶性肺炎、流行性感冒、传染性单核细

胞增多症、锥虫病、肝硬化、重症贫血、骨髓瘤、热带性嗜酸粒细胞增高症、腮腺炎并发睾丸炎、疟疾、螺旋体病^[9]等也可阳性。且 50% 左右健康人血清中有低滴度的冷凝集素。因此本法在临床已很少应用。

2.3.2 补体结合试验(Complement fixation test, CFT) 采用补体结合试验的方法检测血清中 MPIgM 和 MPIgG 抗体效价, 如果单次检测效价在 1:64 以上或两次检测恢复期比急性期有 4 倍或以上增高则有诊断意义。但是补体结合试验需要一定的设备和技术, 操作较复杂, 现在临床应用较少。

2.3.3 被动颗粒凝集法 该方法通过测定血清抗体检测是否感染, 是运用表面吸附 MP 抗原的明胶颗粒代替动物红细胞进行凝集反应。日本富士株式会社 MP 抗体检测试剂盒, 应用此法, 采用 MP 细胞膜成分致敏人工明胶粒子, 致敏粒子与患者血清中存在的 MP 抗体发生凝集反应, 结果 $\geq 1:40$ 判断为阳性, 3 小时能出报告^[9]。该方法消除了非特异性反应, 特异性高但灵敏度低, 无须特使设备即可操作, 对 MP 感染具有诊断价值, 且抗体效价与 MP 感染严重程度成正相关, 是目前各医院实验室检测 MP 感染的常规方法^[6]。但是其进口价格较贵, 窗口期不能被检测, 尤其是急性期患者, 易造成漏检; 此外治愈后还会有抗体存在, 会被误诊为假阳性, 检测时应注意。

2.3.4 酶联免疫吸附试验(Enzyme Linked Immunosorbent Assays, ELISA) 采用 ELISA 法通过检测血清中 MPIgM 和 MPIgG 抗体来检查是否感染。MPIgM 和 MPIgG 的联合检测可有效提高诊断率。采用提纯的 MP 膜蛋白 P1、P116 或 P30 抗原^[7]预包被反应板, 检测血清中存在的 MP 抗体, 以酶标记的抗人 IgM 和 IgG 单克隆抗体作为标志物, 加入底物 TMB 显色后终止反应, 在 450 nm 波长测各孔 OD 值, OD 值大小与待检抗体含量成正比^[9], 对 MP 感染具有诊断价值。MP 采用 ELISA 法检测时需动态观察, 如果显著升高提示近期感染, 显著降低处于感染后期, 一次检测临床结果实用性不强。该法快速、简便、连续检测时结果比较可靠, 适合于临床实验室作为 MP 感染的常规检测方法。

2.3.5 金标免疫斑点法(Dot Immungo Gold Method, DM) 采用金标记免疫渗滤技术, 检测患者血清中的 MPIgM 抗体。该方法操作简便、但特异性灵敏度不高, 在 MP 感染急性期和窗口期即 IgM 未产生或含量较低时, 检测结果会出现阴性, 造成漏诊。目前临床较少使用。

2.4 肺炎支原体基因检测法

采用聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)技术检测患者痰、咽拭子、支气管灌洗液中的 MP DNA, 目标基因引物根据 P1 蛋白或 16SrRNA 基因设计, 使得 MP 的检测更加特异、灵敏, 为 MP 的检测和实验研究开辟了一个广阔的前景。

2.4.1 实时荧光定量 PCR 法(Fluorescent Quantitation PCR, FQ-PCR) 取咽拭子浸液, 以 $13000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 弃上清, 加裂解液, 于 90℃ 加热 10 min 后, 以 $13000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清液做 PCR 检查。反应体系为 2 μL 上清液、2 μL 反应液、1 μL Tag 多聚酶, 至于自动化荧光检测仪进行 PCR 扩增。取扩增产物在紫外投影仪上, 荧光定量仪自动分析结果。 $< 1.0 \times 10^6 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ 为正常^[9]。此法可用于 MP 感染的早期诊断。PCR 可以检测到 102 菌量, 且荧光定量 PCR 的拷贝数越大对 MP 感染诊断越有意义^[9]。胡大康等^[10]应用 FQ-PCR 进行 MP 载量的半定量分析, 对 MP-DNA 质粒标准品不同浓度的样本进行 PCR 测定, 绘制线性曲线, 利用受试者工作特征曲线

(ROC 曲线)确定 MPLi 临界值。患者测定值与 MPLi 临界值比对,两次检测有一次或以上阳性判为 MP 感染。

2.4.2 培养增强套式 PCR 法 (Nest PCR, N-PCR) 这是 MP 培养结合 PCR 检测的一种方法,先取咽拭子、痰液在 MP 专用选择性液体培养基中进行 MP 培养,24 小时后取培养液再进行 N-PCR。PCR 目标基因引物根据 P1 蛋白设计,经过两次扩增,两次反应条件一致,取第 2 次扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶(含 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 溴化乙锭)上电泳,紫外检测仪上观察记录结果,与阳性对照有相同条带判为阳性。此方法比 FQ-PCR 法更为复杂费时(一般约 30-40 小时)。应用 PCR 法比血清学检测及培养方法都敏感特异。王佳贺等^[8]对 97 例患者咽拭子进行检测, FQ-PCR 法阳性 25 份, N-PCR 法阳性 22 份, 培养法 6 份。朱传新^[9]等对 94 例呼吸道感染入院儿童进行 PCR、ELISA、金标渗透法、冷凝集试验检测,四种方法阳性率分别为 27.5%、26.4%、26.3%、11.9%。PCR 方法灵敏准确,且阳性率高,有条件的实验室可用于 MP 感染的诊断检测。

由于 PCR 方法过于敏感可出现一些假阳性或假阴性,原因可能是:(1)标本被污染;(2)自然界中多种细菌存在交叉或相似基因片段,有时基因片段形似也会被扩增为阳性结果;(3)标本中含有多种蛋白,有的蛋白对 PCR 扩增有抑制作用,从而可造成临床上的漏检现象。

2.5 肺炎支原体药敏及耐药机制的检测

2.5.1 抗菌药物敏感性试验 (Antimicrobial Susceptibility Test, AST)

以往由于 MP 传统培养方法培养困难,耗时长,要求高,所以关于 MP 的药敏分析报道较少。而近年来随着市场上 MP 快速培养方法在实验室开展^[11,12],国内有厂家开发了 MP 的快速培养与药敏相结合的试剂盒,24-48 小时可出结果。药敏试剂盒一般提供 MP 常用推荐用药的四大类抗生素:大环内酯类、四环素类、喹诺酮类、林克酰胺类的 9-14 种抗生素,该实验条件要求不高,无需特殊仪器设备。李健茹^[11]等对 55 例患儿 MP 阳性标本进行了药敏试验,结果患儿常用的大环内酯类抗生素敏感率:红霉素 32.7%、阿奇霉素 43.6%,显示中介、耐药率较高。北京朝阳医院^[13]报道 67 例成人流动人口 MP 肺炎,大环内酯类耐药率高达 69%,提示实验室应增加 MP 药敏的检测。MP 药敏的检测可指导临床合理使用抗生素;减少或减轻肺外并发症的发生;同时减少耐药株的产生。

2.5.2 肺炎支原体对抗生素耐药机制的检测 MP 对抗生素耐药机制的检测是基于 PCR 技术发展起来的。虽然 MP 可有四大类药物可供选择,但是大环内酯类作为一线用药,临床经验用药较多,目前 MP 耐药机制研究多集中于 MP 对大环内酯类耐药机制的研究^[14,15]。研究对象分别为体外诱导耐药的 MP 耐药株和临床筛选分离的耐药株。基因点突变是体外诱导耐药株和临床筛选分离的耐药株的主要耐药机制。对 PCR 或套式 PCR 的扩增产物测序,是目前国内外检测耐药株点突变的主要方法^[16,17]。其方法为应用 PCR 或套式 PCR 技术扩增 MP(红霉素作用靶核糖体 23SrRNA)V 区易发生突变的基因片段,对扩增产物进行 DNA 测序,测得序列与 GenBank 已登录的 MP 标准株 M129(23SrRNA)进行比对,发现耐药株在 23SrRNA 发生的突变点^[18,19]。徐晓刚^[20]等采用 CycleavePCR 技术可检出 MP 并鉴别其大环内酯类耐药突变株,此技术是由 RNA 和 DNA 构成的嵌合 Cycling 探针与 RNaseH 组合使用的高灵敏度检测方法,可检出靶序列中碱基差异,与实时荧光 PCR 整合,省去了测序这一费时、费用高的测定。此外还有限制性内切酶片段

长度多态性 (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)方法^[20]检测突变基因,如果基因突变涉及到某特异性限制性内切酶的识别位点(21),用此酶酶解的 DNA 时便会产生不同长度和数量的 DNA 片段,进行电泳可判断是否有突变位点及碱基突变类型。

3 小结

目前临床诊断 MP 感染的标准:(1)临床症状和体征表现,如持续高热、频繁咳嗽、胸部闻及湿罗音、哮鸣音、气喘气促等。(2)胸壁 X 线检测,见云雾状、扇状、游走性阴影等。(3)MP 的耐药性,曾使用青霉素类抗生素 3 天以上均无效,改用大环内酯类、四环素类等抗生素有效。(4)实验室检测,血常规检测白细胞正常或减少,血沉指数升高^[10]。随着对 MP 的认识和实验研究的深入,MP 的实验室检测方法不断推陈出新。虽然 MP 的实验室检测方法多样,但是各种方法均有其优势与不足,目前国内外 MP 实验室检测也没有统一的诊断标准,因此临床可选择两种不同的方法同时检测。比如:血清学抗体的检测结合 MP 快速培养药敏的方法;血清学抗体的检测结合 PCR 的方法,不同方法相互补充,为临床的早期诊断、治疗提供依据。而 MP 药敏试验的检测和耐药机制的研究对于临床用药方案的选择,减少耐药株的产生和流行具有重要意义。对于 MP 大样本的耐药性研究资料目前仍然较少^[2],特别是在成年人及老年人群中,有待今后进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Gutierrez F, Masia M, Rodriguez JC, et al. Community-acquired pneumonia of mixed etiology prevalence clinical characteristics and outcome [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005, 24(6):377-383
- [2] 张雪冬,刘双.肺炎支原体感染的实验室研究进展[J].*临床肺科杂志*, 2011, 2(16):241-243
Zhang Xue-dong, Liu Shuang. Laboratory research progress in Mycoplasma pneumoniae infection [J]. *The Clinical Pulmonary magazine*, 2011, 2(16):241-243
- [3] 易海峰. 成人肺炎支原体感染研究进展 [J]. *医学综述*, 2011, 4(17): 1029-1032
Yi Hai-feng. Study Development of Adult Mycoplasma Pneumoniae Infect [J]. *Medical Recapitulate*, 2011, 4(17):1029-1032
- [4] Lee S W, Yang S S, Chang C S, et al. Mycoplasma pneumoniae associated acute hepatitis in an adult patient without lung infection [J]. *J Chin Assoc*, 2009, 72(4):204-206
- [5] 崔奕文,刘毅,林梅.肺炎支原体 IgM 抗体检测的常用方法比较[J].*国际检验医学杂志*, 2011, 7(32):1107-1108
Cui Yi-wen, Liu Yi, Lin Mei. Comparison of commonly used method for detection of Mycoplasma pneumoniae IgM antibodies [J]. *Int J Lab Med*, 2011, 7(32):1107-1108
- [6] 焦力群,崔霞,张虎.5577 例血清肺炎支原体分析[J].*标记免疫分析与临床*, 2011, 2(18):43-44
Jiao Li-qun, Cui Xia, Zhang Hu. Analysis of 5577 cases of serum Mycoplasma pneumoniae [J]. *Labeled Immunoassays & Clin Med*, 2011, 2(18):43-44
- [7] Varshney AK, Chaudhury R, Kabra SK, et al. Cloning, Expression, and Immunological Characterization of the P30 Protein of Mycoplasma pneumoniae [J]. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2008, 15(2):215-220
- [8] 王佳贺,牛慧彦,白雪,等.3 种肺炎支原体感染检测方法的临床效果

- Sciences of the United States of America, 2000, 97(14): 8010-8014
- [21] Asaba K, Tojo A, Onozato ML, et al. Effects of NADPH oxidase inhibitor in diabetic nephropathy [J]. *Kidney international*, 2005, 67(5): 1890-1898
- [22] Mason RM, Wahab NA. Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy [J]. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2003, 14(5): 1358-1373
- [23] Saito Y, Okamura M, Nakajima S, et al. Suppression of nephrin expression by TNF-alpha via interfering with the cAMP-retinoic acid receptor pathway [J]. *American journal of physiology Renal physiology*, 2010, 298(6): F1436-1444
- [24] Niewczas MA, Gohda T, Skupien J, et al. Circulating TNF receptors 1 and 2 predict ESRD in type 2 diabetes [J]. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2012, 23(3): 507-515
- [25] Bolignano D. TNF-alpha receptors (TNFRs): the biomarkers of progressive diabetic nephropathy we were waiting for? [J]. *Giornale italiano di nefrologia: organo ufficiale della Societa italiana di nefrologia*, 2012, 29(3): 262
- [26] Fraser D, Brunskill N, Ito T, et al. Long-term exposure of proximal tubular epithelial cells to glucose induces transforming growth factor-beta 1 synthesis via an autocrine PDGF loop [J]. *The American journal of pathology*, 2003, 163(6): 2565-2574
- [27] Lam S, van der Geest RN, Verhagen NA, et al. Secretion of collagen type IV by human renal fibroblasts is increased by high glucose via a TGF-beta-independent pathway [J]. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 2004, 19(7): 1694-1701
- [28] Lan HY, Chung AC. Transforming growth factor-beta and Smads [J]. *Contributions to nephrology*, 2011, 170: 75-82
- [29] Awad AS, Huang L, Ye H, et al. Adenosine A2A receptor activation attenuates inflammation and injury in diabetic nephropathy [J]. *American journal of physiology Renal physiology*, 2006, 290(4): F828-837
- [30] Mukhopadhyay P, Pan H, Rajesh M, et al. CB1 cannabinoid receptors promote oxidative/nitrosative stress, inflammation and cell death in a murine nephropathy model [J]. *British journal of pharmacology*, 2010, 160(3): 657-668
- [31] Sayed AA. Ferulic Acid Modulates SOD, GSH, and Antioxidant Enzymes in Diabetic Kidney [J]. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2012, 2012: 580104

(上接第 3183 页)

- 比较[J]. *新乡医学院学报*, 2011, 1(28): 51-53
- Wang Jia-he, Niu Hui-yan, Bai Xue, et al. Comparison of three methods for detection of *Mycoplasma pneumoniae* [J]. *Journal of Xinxiang Medical College*, 2011, 1(28): 51-53
- [9] Kathleen A T, Kelley CC, Jonas M W, et al. Comparison of nucleic acid extraction method for the detection of *Mycoplasma pneumoniae* [J]. *Diagn Microbial Infect Dis*, 2009, 65(4): 435-438
- [10] 朱传新, 周玉平. 肺炎支原体四种检测方法的比较[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 5(32): 798-799
- Zhu Chuan-xin, Zhou Yu-ping. *Mycoplasma pneumoniae* comparison of four methods [J]. *Int J Lab Med*, 2011, 5(32): 798-799
- [11] 李健茹, 陈世豪, 邱仲柳. 小儿肺炎支原体培养及药敏试验分析[J]. *中国医药指南*, 2011, 1(9): 32-33
- Li Jian-ru, Chen Shi-hao, Qiu Zhong-liu. *Pneumonia Mycoplasma Culture of Child and the Analysis of Drug Susceptibility* [J]. *Guide of China Medicine*, 2011, 1(9): 32-33
- [12] 雷玉林, 陈黎, 雷治宇. 肺炎支原体咽拭子快速培养在儿童支原体感染诊断的应用[J]. *重庆医学*, 2011, 6(18): 1797-1801
- Lei Yu-lin, Chen Li, Lei Zhi-yu. Application of *mycoplasma pneumoniae* rapid diagnosis of *mycoplasma pneumoniae* infection in children [J]. *Chong Qing Medicine*, 2011, 6(18): 1797-1801
- [13] Gao B, Zhao CJ, Yin YD, et al. High prevalence of macrolide resistance in *Mycoplasma pneumoniae* isolates from adult and adolescent patients with respiratory tract infection in China [J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 51(2): 189-194
- [14] 潘明安, 张天托. 肺炎支原体对大环内酯类抗生素耐药机制的研究进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2008, 4(28): 214-218
- Pan Ming-an, Zhang Tian-tuo. Progress on resistance mechanisms of *Mycoplasma Pneumoniae* to macrolide antibiotics [J]. *Int J Respir*, 2008, 4(28): 214-218
- [15] 郑华德, 庞晶琳, 魏晓阳. 重症成人肺炎支原体肺炎 1 例[J]. *中国实用内科杂志*, 2011, 4(31): 319-920
- Zheng Hua-de, Pang Jing-lin, Wei Xiao-yang. Severe *mycoplasma pneumoniae* pneumonia in an adult [J]. *Chinese Journal of Practical Internal Medicine*, 2011, 4(31): 319-920
- [16] Morozumi M, Iwata S, Hasegawa K, et al. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in pediatric patients with community-acquired pneumonia [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(1): 348-350
- [17] Xin D, Mi Z, Han X, et al. Molecular mechanisms of macrolide resistance in clinical isolate of *Mycoplasma pneumoniae* from China [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(5): 2158-2159
- [18] 李少丽, 孙红妹. 肺炎支原体耐药机制和耐药基因检测现状[J]. *国际呼吸杂志*, 2010, 8(30): 989-993
- Li Shao-li, Sun Hong-mei. Mechanisms of drug resistance and detection of drug resistance gene of *Mycoplasma pneumoniae* [J]. *Int J Respir*, 2010, 8(30): 989-993
- [19] 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和耐药机制研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2008, 5(31): 543-546
- Xin De-li, Han Xu, Mi Zu-huang, et al. Macrolide resistance and mechanisms in *Mycoplasma pneumoniae* [J]. *Chin J Lab Med*, 2008, 5(31): 543-546
- [20] 徐晓刚, 刘杨, 张泓, 等. 一种快速同步检测肺炎支原体及大环内酯类耐药突变的新方法[J]. *中华检验医学杂志*, 2010, 9(33): 840-844
- Xu Xiao-gang, Liu Yang, Zhang Hong, et al. A method for rapid detection of *Mycoplasma pneumoniae* and its macrolide resistance mutation [J]. *Chin J Lab Med*, 2008, 5(31): 543-546
- [21] Matsuoka M, Narita M, Okazaki N, et al. Characterization and molecular analysis of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* clinical isolates obtained in Japan [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(12): 4624-4630
- [22] Miyashita N, Obase Y, Burghuber C, et al. Clinical features of severe *Mycoplasma pneumoniae pneumoniae* in adults admitted to an intensive care unit [J]. *J Med Microbiol*, 2007, 56(Pt12): 1625-1629