

GeXP 多重 RT-PCR 技术在呼吸道病毒检测中的应用*

张允奇^{1,2}, 王 琮², 张银辉², 何涛君², 陆学东²

(1. 广东医学院, 广东东莞 523808; 2. 广东医学院附属福田医院检验医学部, 广东深圳 518033)

摘要:目的 应用 GeXP 多重基因表达遗传分析系统多重 RT-PCR 技术检测急性呼吸道感染儿童呼吸道样本中的呼吸道病毒并探讨其在儿童呼吸道感染病毒检测中的价值。方法 回顾性检测 2010 年 7 月~2012 年 6 月期间因疑似急性呼吸道感染就诊的 1 800 名儿科患者的呼吸道样本, 应用 GeXP 多重基因表达遗传分析系统多重 RT-PCR 技术对呼吸道合胞病毒、鼻病毒等多种呼吸道病毒进行检测。采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析。结果 GeXP 多重 RT-PCR 方法检测到样本中的 10 种呼吸道病毒。样本中共有 67.33% (1 212/1 800) 的样本至少有一种病毒检测结果为阳性。这 1 212 份病毒阳性标本中, 人类鼻病毒(HRV)阳性最多, 为 375 份, 阳性率 20.83%; 其次为呼吸道合胞病毒(RSV) 249 份, 阳性率 13.83%; 其他依次为人类腺病毒(HADV)、人类副流感病毒 3(HPIV-3)、人类博卡病毒(HBoV)、甲型流感(InfA)、人类副流感病毒 4(HPIV-4)、流感 C(InfC)、人类偏肺病毒(hMPV) 和乙型流感病毒(Inf B); 阳性率分别为 8.89%, 6.5%, 5.3%, 5.3%, 3.3%, 1.5%, 1.11% 和 0.67%。不同性别间患儿呼吸道病毒阳性率差异无统计学意义 ($P>0.05$)。研究中观察到 13.5% (243/1 800) 的病例同时感染两种或两种以上的病毒, 其中两种病毒的混合感染为 210 例 (11.67%), 3 种病毒混合感染为 33 例 (1.83%)。呼吸道病毒的感染率存在季节差异, RSV 大多在春季和冬季流行, HBoV, hMPV, InfA, Inf B 和 HPIV-3 大多是在春季流行, 而 HADV 和 HPIV-4 主要在夏季流行, Inf C 大多是在秋季流行。结论 GeXP 分析系统多重 RT-PCR 方法是一个快速、高通量、高灵敏度且特异度强的检测分析方法, 可用于急性呼吸道感染临床分子诊断和流行病学研究。

关键词: GeXP 系统; 多重 RT-PCR; 呼吸道病毒; 流行病学

中图分类号: R373.1; Q503 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2016)02-094-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.02.028

Detection of Respiratory Viruses by Multiplex RT-PCR with a GeXP Analyzer

ZHANG Yun-qi^{1,2}, WANG Qiong², ZHANG Yin-hui², HE Tao-jun², LU Xue-dong²

(1. Guangdong Medical College, Guangdong Dongguan 523808, China;

2. Department of Laboratory Medicine,

Futian Hospital of Guangdong Medical College, Guangdong Shenzhen 518033, China)

Abstract: **objective** To detect respiratory viruses in Nasopharyngeal aspirates (NPA) samples from pediatric patients who suspected acute respiratory infection by multiplex reverse transcription-PCR (RT-PCR) with a GenomeLab Gene Expression Profiler (GeXP) analyzer. **Methods** Selected NPA specimens of 1 800 pediatric patients who suspected acute respiratory infection from July 2010 to June 2012, and tested for including respiratory syncytial virus (RSV), human rhinovirus (HRV) and other respiratory viruses by multiplex reverse transcription-PCR (RT-PCR) with a GenomeLab Gene Expression Profiler (GeXP) analyzer. Data were analyzed using statistical software (SPSS, version 13.0). **Results** Totally, ten kinds of respiratory viruses were detected by GeXP genetic analysis system. A total of 67.33% (1 212/1 800) of samples were positive for at least one virus. The 1 212 positive specimens included 375 human rhinovirus (HRV), the positive rate of 20.83%, 249 respiratory syncytial virus (RSV), the positive rate of 13.83%, other in turn human adenovirus (HADV), human parainfluenza 3 (HPIV-3), human bocavirus (HBoV), Influenza A, human parainfluenza 4 (HPIV-4), Influenza C, human metapneumovirus (hMPV) and Inf B. The positive rate was 8.89%, 6.5%, 5.3%, 5.3%, 3.3%, 1.5%, 1.11% and 0.67% respectively. There was no significant difference in the positive rate of respiratory virus among children with different sex ($P>0.05$). Co-infection by at least 2 of the viral pathogens under study was observed in 13.5% cases (243/1 800). Two pathogens were detected in 210 samples (11.67%) and three pathogens in 33 samples (1.83%). The rates of detection of the viruses were not equally distributed during different seasons. RSV were most detected during the spring and winter, and HBoV, hMPV, InfA, InfB, and HPIV-3 were mostly detected during the Spring, while HADV and HPIV-4 mostly detected during Summer

* 作者简介: 张允奇 (1978-), 女, 大学本科, 主管检验师, 主要从事临床免疫及临床检验学工作, Tel: 13688808835, E-mail: YQZ_9263@163.com。
通讯作者: 陆学东, 研究员, E-mail: luxuedong2004@163.com。

while Inf C were mostly detected in autumn. **Conclusion** The proposed GeXP-based mRT-PCR assay possessed the advantage of rapidity, high throughput, sensitivity and specificity, and could be used for acute respiratory tract infection in clinical molecular diagnosis and epidemiology research.

Keywords: GeXP system; multiplex reverse transcription-PCR; respiratory virus; epidemiology

急性呼吸道感染(ARTIs)是全球婴幼儿感染性疾病发病和死亡的一个重要原因。通常感染细菌和真菌均有可能引起 ARTIs,但病毒感染是大多数 ARTIs 感染发病的原因。流感 A、B 和 C 病毒(Inf A、B、C)、人类呼吸道合胞体病毒(HRSV)、人类副流感病毒 1、2、3 和 4(HPIV 1、2、3、4)、人类鼻病毒(HRV)和人类腺病毒(HADV)是目前公认的呼吸道病原体,占儿童 ARTIs 感染原因的 35%~87%;由于这些病毒感染的临床表现和流行特点相似,因此难以通过临床症状和常规检测方法进行病毒病原鉴定区分^[1]。

病毒分离培养是检测呼吸道病毒的“黄金标准”,但受到培养需要长时间才能出结果,难以应用于临床早期诊断及指导治疗的限制。快速诊断呼吸道感染的原因对于治疗指导、避免抗生素滥用和采取必要的隔离措施有重要意义。在过去二十年里,以 PCR 和核酸序列为基础进行扩增的核酸扩增方法,能提高呼吸道病毒检测的灵敏度,比分离培养方法敏感度更高。核酸扩增检测试验已经应用于越来越多的呼吸道病毒的检测。自 2000 年以来,新出现的呼吸道病毒包括人类偏肺病毒(hMPV)、人类博卡病毒(HBoV)、KI 和 WU 多瘤病毒(KIPyV、WUPyV)、SARS 冠状病毒(SARS-CoV)、人类冠状病毒(HCoV)NL63 和 HKU1 以及流感病毒 H1N1、H3N2 和 H5N1,向临床实验室提出了新的挑战。本项研究应用 GeXP 多重基因表达遗传分析系统多重 RT-PCR 方法快速识别来自中国南方 ARTIs 患儿临床样本中分离获得的 10 种呼吸道病毒,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 回顾性检测 2010 年 7 月~2012 年 6 月期间因疑似 ARTIs 感染就诊的 1 800 例儿科患者的呼吸道感染样本(NPA),其中 985 例男孩,815 例女孩,年龄 30 天~12 岁。收集的 NPA 样本加入 2.0 ml 病毒运送液(含 100 U/ml 青霉素,100 U/ml 链霉素,2 000 U/ml 两性霉素 B),做好标记并存储在-80℃等待进一步处理。

1.2 仪器与试剂 EasyPure Viral DNA/RNA Kit 试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司;呼吸道病毒多重检测试剂盒购自宁波海尔施基因科技有限公司,检测 10 种呼吸道病毒;各病毒扩增核酸片段大小信息见表 1。其中 huRNA 和 huDNA

为质控核酸提取过程中 RNA 和 DNA 完整性的内参照,InControl 为质控 RT 和 PCR 反应过程的内参照。DNA Size Standard-400 with Minetal Oil, GenomeLab Sample Loading Solution, GenomeLab Separation Buffer, GenomeLab Separation Gel 均购自美国贝克曼库尔特有限公司。PCR 扩增仪购自美国 ABI 公司;GenomeLab™ GeXP 遗传分析系统购于美国贝克曼库尔特有限公司;病毒运输液为 Hyclone DMEM 高糖培养基与 2 ml/dl 灭活胎牛血清、青链霉素混合液。

表 1 各病毒扩增核酸片段大小信息

目的基因/内参	片段长度(nt)
人偏肺病毒(hMPV)	111
人 DNA 内参(hu DNA)	125
甲型流感病毒(InfA)H2N2	139
腺病毒(ADV)	143
人鼻病毒(HRV)	160
乙型流感病毒(InfB)	207
副流感病毒 3 型(PIV3)	213
呼吸道合胞病毒(RSV)	246
Influenza A H1N1	260
Influenza A H3N2	274
副流感病毒 4 型(PIV4)	281
人博卡病毒(HBoV)	299
人 RNA 内参(huRNA)	307
反应内参(InControl)	325

1.3 方法 病毒核酸提取:严格按照病毒核酸提取试剂盒说明书提取样本总核酸,200 μl NAP 样本与相同体积的病毒裂解缓冲液混匀,在室温下孵育 5 min。加入 75 μl 蛋白质沉淀缓冲液后,混合物在 12 000 r/min 离心 5 min。收集的上清液加入 300 μl(异丙醇+1 ml/dl 乙酸)混匀。混合物 6 000 r/min 离心 1 min,然后依次用 500 μl 洗涤缓冲液和 800 μl 脱盐缓冲液洗涤。核酸与 60 μl 的 TE 缓冲液洗提、筛选、量化和存储在-80℃以备进行多重 PCR 分析。

RT-PCR 反应:病毒核酸的扩增程序包括逆转录 RT 反应和 PCR 反应。反应总体积为 10 μl。取 2.5 μl 提取物加入 7.5 μl 逆转录反应体系(DNase/RNase Free H₂O 4 μl, 5×RT Buffer 2

μl ; ResV RT primer mix $1\ \mu\text{l}$, Reverse transcriptase $0.5\ \mu\text{l}$, 反应条件为: 48°C 退火 $1\ \text{min}$, 42°C 逆转录 $60\ \text{min}$, 95°C 灭活逆转录酶 $5\ \text{min}$ 。PCR 反应体系: 取反应产物 $4.65\ \mu\text{l}$ 加入 $5.35\ \mu\text{l}$ PCR 反应液, 反应液配置如下: $10\times$ PCR Buffer $1\ \mu\text{l}$, $2\ \mu\text{l}$ MgCl_2 , ResV PCR primer mix $1\ \mu\text{l}$, Solution X $1\ \mu\text{l}$, Taq DNA Polymerase $0.35\ \mu\text{l}$, 共 $10\ \mu\text{l}$ 。反应条件为: 94°C $1\ \text{min}$, 94°C $30\ \text{s}$, 60°C $30\ \text{s}$, 70°C $30\ \text{s}$, 35 个循环; 70°C $1\ \text{min}$; 反应产物 4°C 保存。

GeXP 平台检测: 上样板的检测孔中分别加入 $38.5\ \mu\text{l}$ GenomeLab Sample Loading Solution, $0.5\ \mu\text{l}$ DNA Size Standard-400 和 $1\ \mu\text{l}$ PCR 产物, 每孔加一滴 Mineral Oil; 同时分离板中与样品板相对应位置每孔加入 $220\ \mu\text{l}$ 的 GenomeLab Separation Buffer, 利用 RNA-free water 和携带相应病毒 RNA 的质粒分别作阴性对照和阳性对照, 按上述方法预处理后采用 GeXP 分析平台扫描检测, 使用默认的分析参数(Default GeXP Analysis Param-

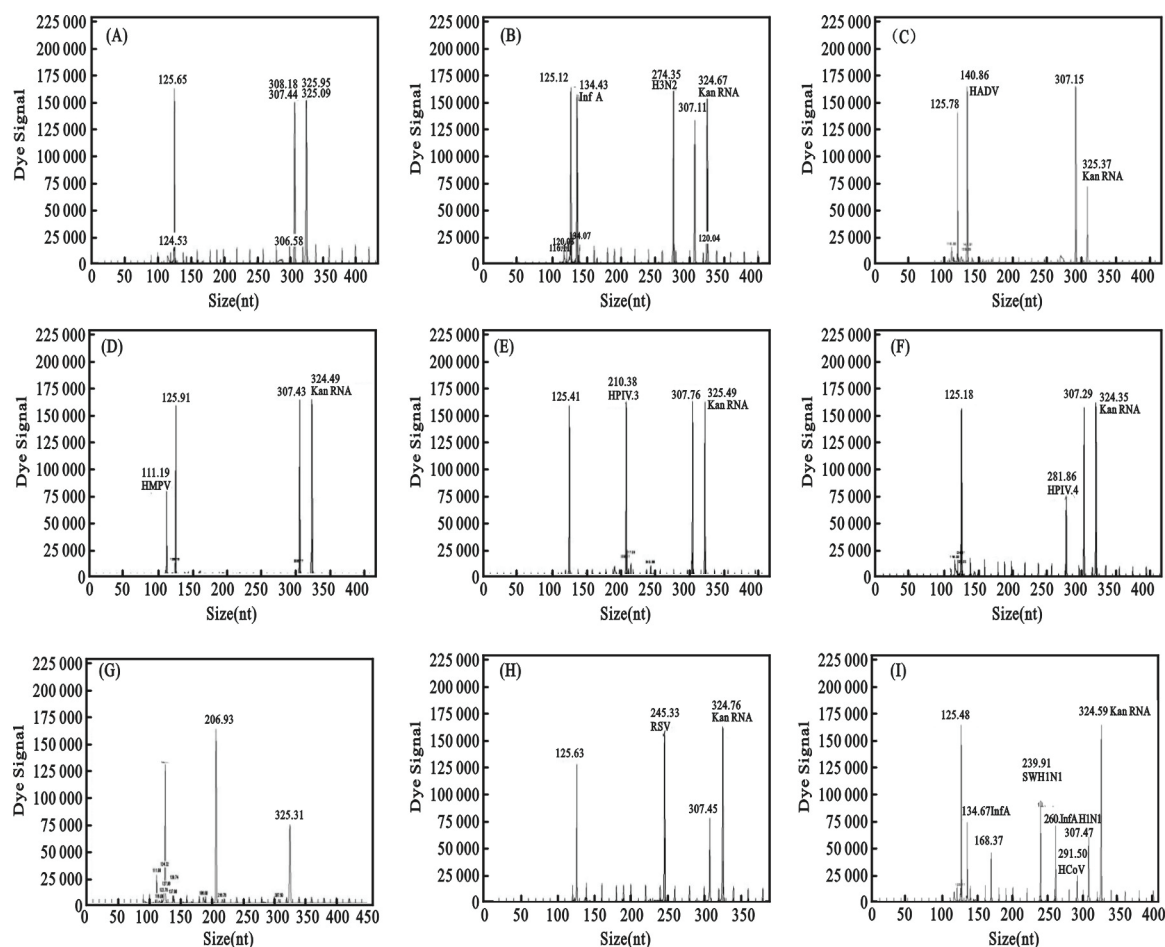
ter) 对毛细管电泳结果进行片段分析。

特异性验证: 对经 GeXP 检测的呼吸道病毒阳性样本进行常规 PCR/RT-PCR 扩增, 扩增产物交 Inventrogen(上海)生物公司进行核酸序列测定, 所得序列输入 NCBI 的 Genbank 数据库进行同源性比对。

1.4 统计学分析 所有数据分析采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学处理。感染率的比较采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GeXP 检测结果的确认 利用 RNA-free water 和携带相应病毒 RNA 的质粒分别作阴性对照和阳性对照, 按上述方法预处理后采用 GeXP 分析平台扫描检测, 空白样本中除内参外未出现相应谱峰, 阳性对照样本出现 10 种病毒谱峰, 各个峰之间分离良好, 未见交叉现象, 检测结果见图 1 所示。图中横坐标的数值表示检测产物片段的大小, 纵坐标数值则代表产物的荧光信号的强弱, 荧光信号值的大小与产物的量成正比。



A: 阴性对照峰图; B: InfA H3N2 阳性峰图; C: HADV 阳性峰图; D: hMPV 阳性峰图; E: HPIV-3 阳性峰图; F: HPIV-4 阳性峰图; G: InfB 阳性峰图; H: RSV 阳性峰图; I: Influenza A swine H1N1 阳性峰图。

图1 GeXP 多重呼吸道病毒检测结果

2.2 急性呼吸道疾病呼吸道感染样品的病毒病原体检出情况及病毒病原体混合感染情况 见表2。本研究观察到1 800份呼吸道感染检测样本中总共有67.33%(1 212/1 800)的样本至少有一种病毒检测结果为阳性。这1 212份病毒阳性标本中,人类鼻病毒(HRV)阳性最多为375份,阳性率20.83%;其次为呼吸道合胞病毒(RSV)249份,阳性率13.83%;其他依次为HADV, HPIV-3, HBoV, InfA, HPIV-4, InfC, hMPV, InfB。1 800例患者中有243例至少同时感染两种或两种以上的病毒病原体(占病例总数的13.5%);其中210个样本检测到两种病原体(11.67%),33个样品检测到三种病原体(1.83%)。在混合感染中最常见的病毒为HBoV(78.13%),InfC(74.07%),InfB(66.67%)和HPIV-4(56.67%)。

表2 多重PCR检测到的病毒及合并感染样本病原体的百分率

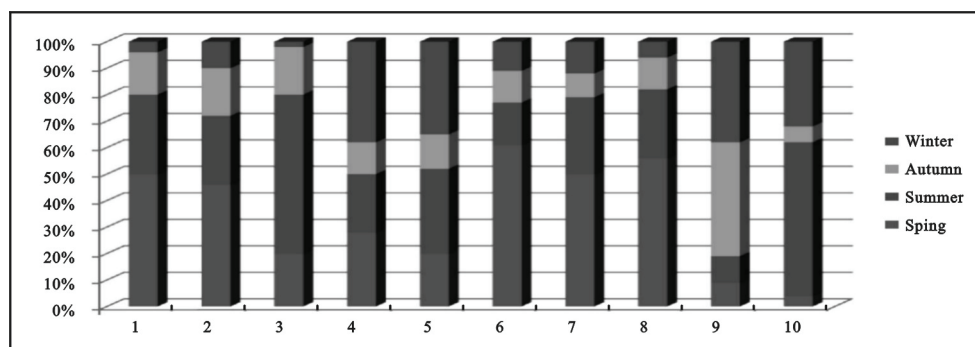
病毒	阳性(n=1 212)	阳性率(%)	混合感染样本数	混合感染率(%)
HRV	375	20.83	140	37.3
RSV	249	13.83	128	51.4
HADV	160	8.89	32	20
HPIV-3	117	6.5	20	17.09
HBoV	96	5.3	75	78.13
InfA	96	5.3	24	25
HPIV-4	60	3.33	34	56.67
InfC	27	1.5	20	74.07
hMPV	20	1.11	10	50
InfB	12	0.67	8	66.67

2.3 不同性别儿童呼吸道病毒的检出情况 见表3。男性患儿呼吸道病毒阳性检出率为68.0%(670/985),女性患儿为66.5%(542/815),不同性别间患儿呼吸道病毒检出率差异无统计学意义($\chi^2=8.34, P>0.05$)。

表3 不同性别儿童呼吸道病毒的检出情况[n(%)]

病毒	男性患儿(n=985)	女性患儿(n=815)
HRV	202(20.5)	173(21.2)
RSV	134(13.6)	115(14.1)
HADV	89(9.0)	71(8.7)
HPIV-3	68(6.9)	49(6.0)
HBoV	52(5.3)	44(5.4)
InfA	50(5.1)	46(5.6)
HPIV-4	34(3.5)	26(3.2)
InfC	18(1.8)	9(1.1)
hMPV	13(1.3)	7(0.9)
InfB	10(1.0)	2(0.2)

2.4 阳性病例的季节性分布 病毒的检出率在不同季节分布不均匀,见图2。HBoV, hMPV, InfA, InfB, HCoV, HPIV-1和HPIV-3大多是发生在春季,而HADV和HPIV-4主要发生在夏季。InfC和HPIV-2大多是在秋季,然而RSV大多数在春季和冬季检测发现。分析阳性病例的分布显示,甲型流感猪H1N1感染的发病率是冬季;甲型流感病毒H3N2主要出现在春夏季。



1. HBoV; 2. HPIV-3; 3. HADV; 4. RSV; 5. HRV; 6. hMPV; 7. InfA; 8. InfB; 9. InfC; 10. HPIV-4。

图2 呼吸道感染病毒的季节性分布

3 讨论 急性呼吸系统感染一直以来都是危害婴幼儿身体健康的重大问题,在世界范围内引发沉重的经济负担,由它引起的患病率和死亡率远较其他感染性疾病更高,并且急性呼吸系统感染的死亡率在过去的50年间并未下降,并且是发展中国家的首要死亡原因^[2]。

PCR是目前实验室常用的诊断技术。GeXP

多重基因表达遗传分析系统是一种新的基因表达谱定量分析平台,已成功应用于肿瘤基因分型、药物毒性分析以及呼吸道病毒和脑炎相关虫媒病毒等的检测^[3,4]。它将多重PCR与毛细管电泳技术相结合,通过荧光标记通用引物和特异性嵌合引物相结合,由通用引物引导整个体系的扩增,使反应体系中各模板的扩增效率趋于一致,从而实现多重

产物定量检测的目的,并且有效减少多重 PCR 出现假阴性结果的概率;同时通过毛细管电泳可以直接显示出产物片段长度及相应荧光信号值大小,直观判断检测结果。GeXP 多重基因表达遗传分析系统多重 RT-PCR 技术是在同一个 PCR 反应体系多通路检测呼吸道病毒,能同时放大检测同一样本里的几个病原体。与普通 PCR 检测相比,多重 PCR 试验的发展大大节省了时间和劳动力。多重 PCR 分析已广泛应用于分子诊断识别环境中的病原体 and 细菌,相比以前的方法它具有灵敏度高和重复性好以及检测时间短的优点。

本研究应用 GeXP 多重 RT-PCR 技术对 1 800 份临床样本的检测发现,1 212 份样本至少有一个病毒阳性,检出率为 67.33%,检出率接近相似的研究^[5]。HRV(26.39%)和 RSV(19.78%)是检出病毒中最常见的,这一结果也与其他研究分析一致^[6]。有研究发现呼吸道病毒混合感染率大约为 4%~42.5%^[7]。本研究中,临床样本混合感染的检出率为 13.5%。Kouni 等^[7]报道称,病毒合并感染在急性呼吸道感染儿童中占重要的比例,并且可能增加病情的严重程度及增加住院的风险,而 Canducci 等发现病毒的存在并不与疾病严重度有相关性。因此,目前关于是否混合感染会比单一病毒感染引起更严重的临床症状仍存在争议。病毒性病原体虽然在整个研究期间都有发现,但大多数有明显的季节性分布。

人类呼吸道合胞病毒(hRSV)是引起婴幼儿严重呼吸道感染的主要病毒病原体之一,是婴幼儿因呼吸道疾病引起住院的最大原因。几乎所有的两岁以内的婴幼儿都至少经历过一次 RSV 感染,其中大约 20%在初次感染后发展为下呼吸道感染,而一岁以内感染了 RSV 的婴儿中,约 1%发展为严重疾病而住院。RSV 能在母亲抗体存在情况下感染婴幼儿,自然抗体只起到局部作用,患者可以终生反复感染。目前,反复感染的根本原因尚未明了。但大量的证据表明,病毒基因和抗原变异可能导致了病毒的免疫逃逸,避开了宿主的免疫监视系统而复发感染。基于附件蛋白(G 蛋白)基因分析以及单克隆抗体与 G 蛋白反应的不同,RSV 被分为两个主要的基因型 A(RSV-A)和 B(RSV-B)。大多数的研究显示 RSV-A 和 RSV-B 以各种混合形式传播。Martinelloet 等对 RSV 的 G 基因的遗传学分析发现 RSV-A 基因型中 GA3 与很严重的疾病相关,例如细支气管炎,肺炎。也有报道认为 RSV-A NA1 与严重的住院症状更紧密相关^[8]。而 Panayiotou 等^[9]研究认为 RSV-BA(属于 RSV-

B)导致疾病的严重性大于 RSV-A。多数报道认为,相对基因型来说,呼吸道所感染的病毒量跟疾病轻重相关性更加密切。总体上,RSV 具体基因型跟疾病严重性的关系尚未被系统而精确地记载,有待于在世界各地进行 RSV 基因检测及分型,统计好各地 RSV 亚型流行资料,建立全世界范围的 RSV 基因型流行病学资料库,系统地研究 RSV 各基因型与所致疾病的关系,统计其与疾病轻重及临床症状的相关性,建立针对特定基因型的预防诊疗方案。

博卡病毒(HBoV)是瑞典人 Allander 和他的同事在 2005 年通过一种 Dnase 序列单一底物放大的大型病毒分子筛查技术发现。早期的研究报道世界各地 HBoV 感染的流行几率从 2%~21.5%;本实验检测 HBoV 感染率为 5.3%,其混合感染率是 78.13%。由于 HBoV 总伴随其他病毒混合感染,因此有争论认为 HBoV 并非致病病原体。大多数研究者报道,HBoV 在温带气候地区的冬季和春季的检出率更高。与 Choi 等的数据一致,本试验发现 HBoV 在春末夏初感染率相对较高。

副黏病毒科的 hMPV 作为下呼吸道感染特别是儿童下呼吸道感染的病因在 2001 年已被确认。先前的研究表明,hMPV 引起下呼吸道感染的发病率是在 2%~25%,其中 10%的婴幼儿需住院治疗,住院患者的隔离率大约是 6%^[10]。本试验 hMPV 的检出率为 1.11%,混合感染率为 50%。在许多地区,hMPV 全年都可检测到,但在春末,夏季和秋季的检出率偏低。本试验发现,hMPV 的感染主要发生在春季。

病毒性呼吸道感染作为儿童常见病和多发病,给家庭和社会造成巨大负担。因此快速准确的诊断病毒感染对病毒预防和治疗以及对呼吸道病毒的流行病学研究十分重要。本研究应用 GeXP 多重基因表达遗传分析系统的多重 RT-PCR 检测方法检测 10 种呼吸道病毒。这是一个快速和简单的高通量分析技术,其结果重复性好、标准化准确、分析成本低,可用于临床分子诊断和流行病学的研究。

参考文献:

- [1] Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, et al. Viral pneumonia[J]. Lancet, 2011, 377(9773): 1264-1275.
- [2] Hasan R, Rhodes J, Thamthitiwat S, et al. Incidence and etiology of acute lower respiratory tract infections in hospitalized children younger than 5 years in rural Thailand[J]. Pediatr Infect Dis J, 2014, 33(2): e45-e52.

(下转 102 页)

参考文献:

- [1] Sthaneshwar P, Shanmugam H, Swan VG, et al. Effect of HbE heterozygosity on the measurement of HbA1c[J]. Pathology, 2013, 45(4): 417-419.
- [2] 徐安平, 夏勇, 纪玲. 血红蛋白变异体对不同糖化血红蛋白检测系统的干扰[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(12): 890-892.
Xu AP, Xia Y, Ji L. Interference of hemoglobin variants on HbA1c measuring systems[J]. Chin J Lab Med, 2014, 37(12): 890-892.
- [3] Rhea JM, Koch D, Ritchie J, et al. Unintended reporting of misleading HbA1C values when using assays incapable of detecting hemoglobin variants[J]. Arch Pathol Lab Med, 2013, 137(12): 1788-1791.
- [4] Little RR, Vesper H, Rohlfing CL, et al. Validation by a mass spectrometric reference method of use of boronate affinity chromatography to measure glycohemoglobin in the presence of hemoglobin S and C traits[J]. Clin Chem, 2005, 51(1): 264-265.
- [5] 温冬梅, 张秀明, 张德才, 等. HbE 变异体对 5 种糖化血红蛋白检测系统测定结果的干扰评价[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(12): 921-927.
Wen DM, Zhang XM, Zhang DC. Interference of hemoglobin E on measurements of glycosylated hemoglobin (HbA1c) [J]. Chin J Lab Med, 2014, 37(12): 921-927.
- [6] 乔杰, 钟方毅. 变异血红蛋白对两种糖化血红蛋白检测方法的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2015, 36(25): 3790-3791.
Qiao J, Zhong FY. Influence of variation of hemoglobin on the two methods of glycosylated hemoglobin test[J]. Journal of Qiqihar University of Medicine, 2015, 36(25): 3790-3791.
- [7] 康建华, 杨立顺, 袁海生. 变异血红蛋白和氨基甲酸血红蛋白对糖化血红蛋白测定干扰的评价[J]. 检验医学, 2012, 27(6): 482-485.
Kang JH, Yang LS, Yuan HS. The evaluation of the interference of variant hemoglobin and carbamino hemoglobin to the detection of glycosylated hemoglobin [J]. Laboratory Medicine, 2012, 27(6): 482-485.
- 收稿日期: 2015-12-16
修回日期: 2016-02-04
-
- (上接 98 页)
- [3] 李瑾, 毛乃颖, 秦萌, 等. GeXP 多重 PCR 技术同时检测 12 种常见呼吸道病毒[J]. 病毒学报, 2011, 27(6): 526-532.
Li J, Mao NY, Qin M, et al. A GeXP based multiplex RT-PCR assay for simultaneous detection of twelve human respiratory viruses[J]. Chinese Journal of Virology, 2011, 27(6): 526-532.
- [4] 何玢, 王环宇, 张晨, 等. 8 种脑炎相关虫媒病毒 GeXP 检测方法的初步建立[J]. 病毒学报, 2012, 28(1): 57-62.
He B, Wang HY, Zhang C, et al. Development of a GeXP based multiplex RT-PCR assay for simultaneous detection of eight arboviruses related to encephalitis[J]. Chinese Journal of Virology, 2012, 28(1): 57-62.
- [5] Pretorius MA, Madhi SA, Cohen C, et al. Respiratory viral coinfections identified by a 10-plex real time reverse-transcription polymerase chain reaction assay in patients hospitalized with severe acute respiratory illness-South Africa, 2009-2010[J]. J Infect Dis, 2012, 206(suppl 1): 159-165.
- [6] Marccone DN, Ellis A, Videla C, et al. Viral etiology of acute respiratory infections in hospitalized and outpatient children in Buenos Aires, Argentina[J]. Pediatr Infect Dis J, 2013, 32(3): e105-e110.
- [7] Kouni S, Karakitsos P, Chranioti A, et al. Evaluation of viral co-infections in hospitalized and non-hospitalized children with respiratory infections using microrays[J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(8): 772-777.
- [8] Luchsinger V, Ampuero S, Palomino MA, et al. Comparison of virological profiles of respiratory syncytial virus and rhinovirus in acute lower tract respiratory infections in very young Chilean infants, according to their clinical outcome[J]. J Clin Virol, 2014, 61(1): 138-144.
- [9] Panayiotou C, Richter J, Koliou M, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus in children in Cyprus during three consecutive winter seasons (2010-2013): age distribution, seasonality and association between prevalent genotypes and disease severity[J]. Epidemiol Infect, 2014, 142(11): 2406-2411.
- [10] Aksoy Gokmen A, Cicek C, Saz EU, et al. Detection of human metapneumovirus prevalence in pediatric patients with lower respiratory tract infections[J]. Mikrobiyol Bul, 2012, 46(4): 614-623.
- 收稿日期: 2016-01-05
修回日期: 2016-02-05