

浙江地区临床分离粪肠球菌的多位点序列分型及耐药性分析*

施 宏, 陈书韵, 杨 狄, 任绪义 (杭州迪安医学检验中心, 杭州 310000)

摘要:目的 对粪肠球菌进行多位点序列分析(MLST), 探讨浙江地区粪肠球菌的分子分型与耐药性的相关性。方法 收集2018年1~8月浙江地区多家医院临床分离的粪肠球菌, 总计74株; 根据粪肠球菌的7个管家基因序列对74株菌株进行多位点序列(MLST)分型; 同时对该74株菌株进行药敏实验, 分析MLST与药物耐药性的相关性。结果 74株菌分为20个ST型, 3个型别为新的型别。ST16和ST179是浙江地区的优势型别菌株, 同属于CC16克隆复合体, 两者占所有菌株的55%以上, 其中ST16包含21株菌(占28.38%), 其次为ST179, 包含20株菌(占27.03%), 再次是ST4和ST6, 各包含6株(占8.11%)。药敏结果显示, 粪肠球菌耐药程度高的抗生素主要是四环素及红霉素, 其耐药率分别为89.2%和73%, 不同ST的粪肠球菌均对这两种抗生素产生耐药。ST179与ST16两者耐药谱相似, 区别主要是ST179对利福平平均为敏感, 而ST16有部分(33.3%)会对利福平产生耐药; 另外, ST6对喹诺酮类药物及高浓度的庆大霉素耐药, ST4型的粪肠球菌会对青霉素产生耐药。结论 目前浙江省粪肠球菌分离菌株主要以CC16(包含ST16与ST179)克隆株为主, 不同MLST分型的菌株与耐药可能有一定的相关性, 仍需验证。

关键词:粪肠球菌; 多位点序列分型; 耐药分析

中图分类号: R378.1; Q786 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)01-029-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.01.008

MLST Typing and Drug Resistance Analysis of Clinical Isolates of *Enterococcus Faecalis* in Zhejiang Area

SHI Hong, CHEN Shu-yun, YANG Di, REN Xu-yi

(1. Hangzhou DIAN Medical Testing Center, Hangzhou 310000, China)

Abstract: Objective To determine the correlation between molecular typing and drug resistance of *Enterococcus faecalis* from hospitals in Zhejiang by performing multi-locus sequence typing (MLST) analysis on *Enterococcus faecalis*. **Methods** A total of 74 clinical *Enterococcus faecalis* were obtained from hospitals in Zhejiang Province from January to August 2018. Molecular genotyping was performed by Multi-locus sequence typing (MLST) based on comparison of internal fragment sequences of 7 *Enterococcus faecalis* housekeeping gene. Meanwhile, the drug susceptibility tests of the 74 strains were determined according to CLSI standards, and the correlation between STs and drug resistance was analyzed. **Results** 74 strains were divided into 20 sequence types (ST), including 3 new STs. The dominant STs in Zhejiang were ST16 and ST179, both belonging to the CC16 clonal complex. CC16 accounts for more than 55% of all strains, with ST16 covering 28.38% and ST179 covering 27.03%, respectively. The next dominant STs were ST4 and ST6, each containing 6 strains (8.11%). The drug susceptibility results showed that *Enterococcus faecalis* was most resistant to tetracycline and erythromycin, and the drug-resistant rates were 89.2% and 73%, respectively. Resistance to these two drugs were observed in different STs. The resistance spectrums of ST179 and ST16 were similar except that ST179 was all sensitive to rifampin, whilst ST16 was partly resistant to rifampicin (33.3%). ST6 was found 100% resistant to tetracycline, quinolones and Gentamycin of high concentration. Finally, the only ST that was resistant to penicillin was ST4 (50%). **Conclusion** At present, the isolates of *Enterococcus faecalis* in Zhejiang Province are mainly CC16 (including ST16 and ST179) clones. Different STs strains may have certain correlation with drug resistance, which still needs to be further verified.

Keywords: *Enterococcus faecalis*; multilocus sequence typing (MLST); drug resistance

肠球菌属(*Enterococcus*)细菌为兼性厌氧的革兰阳性球菌, 目前至少由32个菌种^[1]组成, 广泛分布于土壤、水和食物中, 也是人、犬、禽、猪、马等动物胃肠道正常菌群之一。粪肠球菌是肠球菌属中重要的院内感染致病菌。在需氧革兰阳性球菌中仅次于葡萄球菌^[2], 它不仅可引起尿路感染^[3]、皮肤软组织感染^[4], 还可引起危及生命的菌

血症^[5]、心内膜炎等^[6]。多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)是一种基于核酸序列测定的细菌分型方法, 通过PCR扩增多个管家基因内部片段并测定其序列, 可以用于分析菌株的变异, 适合全球不同实验室之间的流行菌株数据分析比较^[7]。MLST对菌株进行分型鉴定试验, 检测流行克隆株的传播途径, 大范围长时间内追踪病原

* 作者简介: 施 宏(1984—), 女, 医学硕士, 科研专员, 主要工作和研究方向: 微生物学检验和耐药机制研究, E-mail: shihong@dazd.cn.

菌的遗传谱的变化具有显著优势。对于细菌性疾病的监测,了解传染源、传播途径和预防暴发性传染病的发生有着非常重要的科学意义^[8]。本研究利用多位点序列分型(MLST)对浙江省临床分离的74株粪肠球菌菌株进行基因分型,了解浙江地区粪肠球菌的来源和相关的遗传背景。探讨粪肠球菌的流行变化趋势、进化特点及耐药性特征,为本地区粪肠球菌感染的预防治疗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 连续收集2018年1~8月浙江省10个城市28家医院临床分离的粪肠球菌,总计74株。菌株在10个城市的分布如下:杭州27株,湖州5株,宁波6株,绍兴2株,台州3株,衢州1株,丽水2株,舟山6株,桐乡8株,义乌5株,临安9株。菌株经VITEK 2 Compact全自动微生物鉴定药敏分析仪鉴定为粪肠球菌后即可采用。

1.2 试剂和仪器 PCR扩增仪(杭州郎基科学仪器有限公司),全自动凝胶成像系统(上海培清科技有限公司),Vitek-2 Compact全自动微生物分析系统(Biomérieux),恒温金属浴(杭州博日科技有限公司),PCR扩增试剂盒(Takara),细菌培养血平板(Biomérieux)。

1.3 方法

1.3.1 药敏试验:参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2018年标准,采用梅里埃 Vitek-2 Compact全自动微生物分析系统对研究菌株进行鉴定及药敏实验。

1.3.2 细菌核酸抽提:在1.5 ml的EP管中加入300 μ l的无菌水,挑取10个左右的单菌落于EP管内,105℃金属浴煮10 min,12 000 r/min离心3 min,取上清于新的离心管中作为细菌核酸模板,于-20℃冰箱保存备用。

1.3.3 MLST基因检测:粪肠球菌的7对管家基因(*aroE*, *gdh*, *gki*, *gyd*, *pstS*, *xpt*, *yqiL*)PCR扩增所用的引物参照MLST网站(<http://www.mlst.net>)提供的资料,设计引物后由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;PCR反应体系为50 μ l:上下游引物浓度均为0.5 pmol/ μ l, DNA模板为5 μ l,10 \times buffer(含 Mg^{2+})5 μ l, dNTP(2.5 mmol/L)4 μ l, hotTaq 酶0.3 μ l, ddH₂O 34.7 μ l。PCR反应条件:95℃变性5 min,然后94℃30 s,退火温度设为51℃40 s,72℃60 s,共扩增40个循环。最后72℃再延伸5 min。扩增产物经电泳检测后直接送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,测序采用双向测序方法。

1.4 统计学分析 将7个管家基因序列的测序结果在MLST网站数据库进行比对,获得每一管家基因的等位号码,综合所有的等位号码来确定序列型,同时将等位基因谱导入eBurst软件,构建亲缘关系图。另外,依据药敏结果,分析粪肠球菌的耐药与MLST的关联性。

2 结果

2.1 MLST分型结果 见表1。

表1

74株粪肠球菌的MLST分型

ST分型	<i>gdh</i>	<i>gyd</i>	<i>pstS</i>	<i>gki</i>	<i>aroE</i>	<i>xpt</i>	<i>yqiL</i>	计数	比例(%)
ST16	5	1	1	3	7	7	6	21	28.38
ST179	5	1	1	3	7	1	6	20	27.03
ST6	12	7	3	7	6	1	5	6	8.11
ST4	8	7	7	5	4	4	1	6	8.11
ST585	8	7	7	4	4	4	1	3	4.05
ST41	1	7	11	21	1	4	1	2	2.70
N2*	5	7	7	5	7	1	6	2	2.70
ST892	5	7	7	5	4	4	6	2	2.70
N1*	4	1	7	11	74	1	22	1	1.35
N3*	5	1	1	3	7	1	3	1	1.35
ST40	3	6	23	12	9	10	7	1	1.35
ST21	1	7	9	1	1	1	1	1	1.35
ST256	4	6	7	29	8	1	20	1	1.35
ST476	17	2	1	3	14	14	1	1	1.35
ST506	34	28	17	37	29	23	17	1	1.35
ST537	12	6	17	17	3	2	5	1	1.35
ST860	17	7	96	4	10	20	1	1	1.35
ST482	14	6	11	45	4	20	28	1	1.35
ST63	21	2	1	3	7	1	6	1	1.35
ST632	27	1	1	32	6	2	23	1	1.35

备注:*表示新的型别,数据库里不包含。

本次实验收集临床分离粪肠球菌菌株中,74株万古霉素敏感粪肠球菌菌株的 MLST 分型分为 20 个 ST 型,有 3 个型别是新的型别(数据库里不包含),另外 17 个型别均是数据库里已知的。在这 20 个 ST 型中,其中 ST16 总数最多,包含 21 株菌(占 28.38%);其次为 ST179,包含 20 株菌(27.03%);再次是 ST4 及 ST6,各包含 6 株菌(占 8.11%);其余 ST 型只各包含 1~3 株菌。

2.2 MLST 分型亲缘关系分析 见图 1。通过 MLST 分析鉴定,并利用 eBurst 软件构建菌株进化关系图,发现 74 株菌株有 3 个克隆复合体。最普遍流行的克隆复合体是 CC16,包含 2 种 ST 型(ST16,ST179,其中 ST16 为原始克隆株),其次为

CC4, 包含 2 种 ST 型(ST4, ST585, 其中 ST4 为原始克隆株), 再次为 CC6, 主要以 ST6 为主, 其它的都是相对零散的克隆复合体。

2.3 药敏试验结果 见表2。本次实验收集的74株临床分离粪肠球菌菌株中,暂未发现万古霉素耐药的菌株,除万古霉素外,最为敏感的抗生素还有替考拉宁、氨苄西林、利奈唑胺及呋喃妥因,敏感率均为100%;耐药程度高的抗生素主要是四环素及红霉素,其耐药率分别为89.2%和73.0%;其次是喹诺酮类药物环丙沙星和左氧氟沙星,其耐药率分别为39.2%和36.5%,再次是高浓度的庆大霉素,耐药率为32.4%;对利福平的耐药率为16.2%,耐药率较低的是青霉素,耐药率为5.4%。

表 2 粪肠球菌对抗生素药敏试验结果

抗生素	耐药		中介		敏感	
	株数	耐药率(%)	株数	耐药率(%)	株数	敏感率(%)
青霉素	4	5.4	0	0.0	70	94.6
氨苄西林	0	0.0	0	0.0	74	100.0
万古霉素	0	0.0	0	0.0	74	100.0
替考拉宁	0	0.0	0	0.0	74	100.0
红霉素	54	73.0	14	18.9	6	8.1
四环素	66	89.2	0	0.0	8	10.8
环丙沙星	29	39.2	4	5.4	41	55.4
左氧氟沙星	27	36.5	3	4.1	44	59.5
呋喃妥因	0	0.0	0	0.0	74	100.0
利福平	12	16.2	6	8.1	56	75.7
利奈唑胺	0	0.0	0	0.0	74	100.0
HL 庆大霉素	24	32.4	0	0.0	50	67.6

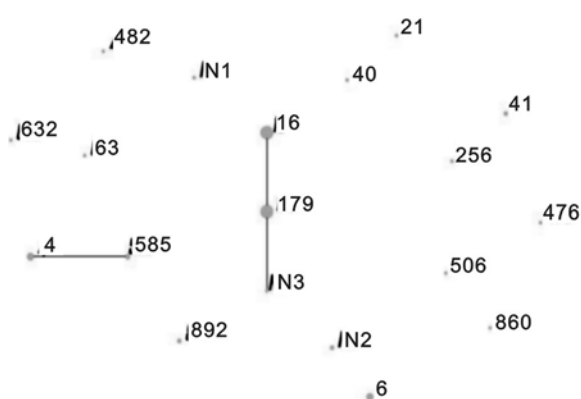


图 1 74 株粪肠球菌的亲缘关系图

2.4 药物敏感性与 MLST 分型的相关性 分析优势型别的 ST 型与药物敏感性的关系,ST16 主要是对四环素和红霉素产生耐药,分别是 100%和 90%,其次是利福平达 33%,对高浓度庆大霉素及喹诺酮类耐药,在 20%左右;ST179 的耐药谱与 ST16 类似,主要也是对四环素和红霉素产生耐药,分别为 100%和 95%,其次是高浓度庆大霉素及喹

诺酮类耐药,约占 35%,但 ST179 对利福平平均表现为敏感。ST6 与 ST4 虽收集的菌株数比较少,分别只有 6 株,但是 6 株 ST6 型菌株对四环素、喹诺酮类药物及高浓度庆大霉素均全部耐药,对红霉素有 1 株表现为敏感;6 株 ST4 型菌株对红霉素表现为耐药的有 5 株,对喹诺酮表现为耐药的有 4 株,对四环素、高浓度的庆大霉素及青霉素表现为耐药的各为 3 株,在本次实验中,仅发现 ST4 型的粪肠球菌会对青霉素产生耐药。

3 讨论

肠球菌为临床较常见的一种致病菌。近年来肠球菌引起的医院感染逐渐增多,造成其感染或暴发流行的原因复杂。利用病原细菌分离株的多位点序列分析(MLST),可以发现或证实感染的来源,能够针对一起暴发疫情追踪到病原菌的精细传播链,发现新的传播模式和途径等等,可以对疾病的预防及治疗提供参考依据,但是目前国内对粪肠球菌的基因分型研究相对较少。

本研究中收集了 74 株粪肠球菌进行 MLST

分析,均来源于浙江地区的不同家医院,有助于初步了解浙江地区粪肠球菌的遗传背景资料。研究分析的74株粪肠球菌可以分为20个STs,其中优势型别为ST179和ST16,同属于克隆复合体CC16。参考以往文献,从CC16序列型感染和分布情况分析,ST16很可能是一种在不同地区、不同来源间流行的感染菌株,吴敏等^[9]人在分析广州地区多重耐药粪肠球菌分离株的ST型,发现ST16最多;邹绍伟等^[10]人对包头地区的58株粪肠球菌进行了ST分析,发现ST179为该地区的优势菌株。赵娣等^[11]人则在研究动物来源粪肠球菌菌株之间的遗传关系中发现猪病变内脏、生鲜肉样、猪粪、蜂猴和鸡源中均有ST16的分布。另外,在欧洲多个国家及日本的医院和社区分离的粪肠球菌研究^[12-13]表明,亦是以CC16(ST16为主要代表)克隆群的多重耐药粪肠球菌为主要感染菌株,在很多医院和社区都有分布。

KUCH等^[12]通过MLST分析欧洲收集的386株粪肠球菌分离株,发现由MLST分析和随后的eBURST聚类确定的特定类型主要属于六种克隆复合物(CC2, CC16, CC21, CC30, CC40和CC87)在医院抗生素耐药性的传播中发挥着重要作用,并在一些国家促进了更高的耐药率,这说明粪肠球菌的耐药性与ST之间有一定的相关性。本研究中属于同一克隆复合体CC16的优势菌株ST179与ST16,其两者的耐药谱也很接近,区别仅在于对利福平的耐药程度不一致,ST6型虽只有6株,但均表现为对四环素、喹诺酮类药物及高浓度庆大霉素耐药,这与尼日利亚GHEBREMEDHIN等^[12,14]人在粪肠球菌人类分离株中发现高浓度的氨基糖苷类耐药主要集中在ST6分型上的结论相符。ST4属于CC4克隆株,该克隆株虽不属于临床大量出现的菌株,但是此克隆株曾在其他的亚太国家造成严重感染。在孙琅等^[14-15]人的研究中,仅有一株万古霉素耐药粪肠球菌为ST4型。本研究未曾检测出对万古霉素、替考拉宁、氨苄西林耐药的粪肠球菌菌株,但是发现对于青霉素耐药的粪肠球菌只存在于ST4型中。

近年来,由于临床抗生素的大量使用,肠球菌的耐药性也逐渐增强,因此充分了解和掌握肠球菌的耐药机制对防止和控制此类细菌感染的发生、传播具有重要意义。MLST选用7个管家基因,通过基因序列分析的方法,揭示细菌各菌株之间的进化关系,相比于其他分型方法如电泳带型分析,其结果客观、准确,且重复性好,分辨率高。因此本研究课题期望在掌握该方法的同时,继续收集样本建立自己的粪肠球菌库,同时对不同的ST型进行更

深一步的研究,比如通过基因组测序考察它们是否携带不同耐药基因,通过质谱仪分析相关代谢产物等,以便长期、大范围地观察和研究粪肠球菌在不同条件下耐药和致病方面发生的变化。

参考文献:

- [1] 李金钟. 肠球菌分类和鉴定新进展[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(3): 228-230.
LI Jinzhong. New progress in classification and identification of *Enterococci*[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory and Pharmacy, 2006, 24(3): 228-230.
- [2] 田彬, 徐海茹, 岳娜, 等. 275株革兰氏阳性菌菌型分布及耐药性分析[J]. 天津医科大学学报, 2005, 11(4): 563-565.
TIAN Bin, XU Hairu, YUE Na, et al. Distribution and drug resistance of 275 strains of Gram-positive-cocci bacterium[J]. Journal of Tianjin Medical University, 2005, 11(4): 563-565.
- [3] 丁厚文, 刘周, 吴园园, 等. 1 127株尿培养病原菌分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志 2018, 39(4): 477-480.
DING Houwen, LIU Zhou, WU Yuanyuan, et al. Analysis of distribution and drug resistance of 1 127 strains of urine culture pathogens[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2018, 39(4): 477-480.
- [4] 张凡, 邝捷. 皮肤粪肠球菌感染一例[J]. 实用皮肤病学杂志, 2015, 8(6): 465-466.
ZHANG Fan, KUANG Jie. A case of *Enterococcus faecalis* infection[J]. Journal of Practical Dermatology, 2015, 8(6): 465-466.
- [5] 徐慧, 周华, 杨青, 等. 肠球菌属血流感染的临床特征及预后分析[J]. 浙江医学, 2018, 40(11): 1209-1212.
XU Hui, ZHOU Hua, YANG Qing, et al. The clinical features and outcomes of 117 patients with enterococcal blood stream infection[J]. Zhejiang Medical, 2018, 40(11): 1209-1212.
- [6] 黄俊, 刘甜, 蒋祖勋, 等. 感染性心内膜炎730例病原菌构成及药敏分析[J]. 岭南心血管病杂志, 2013, 19(5): 568-571.
HUANG Jun, LIU Tian, JIANG Zuxun, et al. Analysis of pathogens and drug sensitivity in 730 cases with infective endocarditis[J]. South China Journal of Cardiovascular Disease, 2013, 19(5): 568-571.
- [7] ENRIGHT MC, DAY NP, DAVIES CE, et al. Multi-locus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*[J]. Clin Microbiol, 2000, 38(3): 1008-1015.
- [8] 姚芬, 钱元恕. 细菌的分子生物学分型及其临床意义[J]. 国外医药(抗生素分册), 2003, 24(1): 18-20.
YAO Fen, QIAN Yuanshu. Molecular biology classi-

- fication of bacteria and its clinical significance[J]. World Notes on Antibiotics, 2003, 24(1): 18-20.
- [9] 吴敏. 粪肠球菌和屎肠球菌毒力基因、PAI 相关基因及耐药性分析[D]. 广州: 南方医科大学, 2008.
- WU Min. Presence of virulence genes, PAI-associated genes and antibiotic resistance in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*[D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2008.
- [10] 邹绍伟, 王占黎, 王英, 等. 屎肠球菌和粪肠球菌多位点序列分析及耐药相关性研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(1): 22-26.
- ZOU Shaowei, WANG Zhanli, WANG Ying, et al. Multilocus sequence of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* and the relationship between sequence types and drug resistance[J]. Journal of Pathogenic Biology, 2018, 13(1): 22-26.
- [11] 赵娣, 段志刚, 崔新格, 等. 动物源粪肠球菌的遗传关系分析[J]. 农业科学, 2017, 7(2): 140-146.
- ZHAO Di, DUAN Zhigang, CUI Xinge, et al. MLST analysis of different sources of *Enterococcus faecalis*[J]. Agricultural Science, 2017, 7(2): 140-146.
- [12] KUCH A, WILLEMS R J L, WERNER G, et al. Insight into antimicrobial susceptibility and population structure of contemporary human *Enterococcus faecalis* isolates from Europe[J]. J Antimicrob Chemother, 2012, 67(3): 551-558.
- [13] KUDO M, NOMURA T, YOMODA S, et al. Nosocomial infection caused by vancomycin-susceptible multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* over a long period in a university hospital in Japan[J]. Microbiology & Immunology, 2015, 58(11): 607-614.
- [14] GHEBREMEDHIN B, IBUKUN A, ODUGBEMI T, et al. Clonal lineages of resistant (HLAR) & virulent *Enterococcus faecalis* isolates from diverse sources in Nigeria[J]. International Journal of Infectious Diseases, 2014, 21(S1): 413.
- [16] 孙琅, 刘建华, 聂彤颖, 等. 万古霉素非敏感肠球菌的筛选和基因型分析[J]. 中国医药生物技术, 2016, 11(3): 206-215.
- SUN Lang, LIU Jianhua, NIE Tongying, et al. Screening and genotypic analysis of vancomycin-non-susceptible enterococci[J]. China Medical Biotechnology, 2016, 11(3): 206-215.
- 收稿日期: 2018-12-17 修回日期: 2018-12-28
- (上接 28 页)
- GONG Yawen, HE Guangsheng. Clinical progres of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. Journal of Experimental Hematology, 2013, 21(6): 1627-1630.
- [2] 梁悦怡, 谢守军. FLAER 多参数检测 PNH 克隆的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(8): 1139-1141.
- LIANG Yueyi, XIE Shoujun. Significance of FLAER multi-parameter detection of PNH cloning[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2016, 37(8): 1139-1141.
- [3] 刘淑媛, 万腊根, 闻芳, 等. FLAER 检测及其在阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断中的意义[J]. 实验与检验医学, 2015(1): 4-6, 15.
- LIU Shuyuan, WAN Lagen, WEN Fang, et al. Significance of FLAER detection in the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. Experimental and Laboratory Medicine, 2015(1): 4-6, 15.
- [4] ALGHASHAM N, ABULKHAIR Y, KHALIL S. Flow cytometry screening for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: A single-center experience in Saudi Arabia[J]. Cytometry Part B Clinical Cytometry, 2015, 88(6): 389-394.
- [5] DAHMANI A, ROUDOT H, CYMBALISTA F, et al. Evaluation of fluorescently labeled aerolysin as a new kind of reagent for flow cytometry tests optimization of use of FLAER, hints, and limits[J]. American Journal of Clinical Pathology, 2016, 145(3): 407-417.
- [6] 韩秀蕊, 杨娣娣, 王九菊, 等. 136 例急性白血病免疫表型特点及临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(4): 91-93.
- HAN Xiurui, YANG Didi, WANG Jiu-ju, et al. Immunophenotypic characteristics and clinical significance of 136 patients with acute leukemia[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(4): 91-93.
- [7] 袁莉, 杨玉琮, 陈藏. 93 例急性白血病流式细胞术免疫分型的特点分析[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(2): 127-129.
- YUAN Li, YANG Yuzong, CHEN Wei. Analysis of immunophenotypic features by flow cytometer in 93 cases with acute leukemia[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(2): 127-129.
- [8] 杨柯, 郭晓宇, 欧剑锋, 等. 外周血粒细胞 CD55, CD59 和 FLAER 检测在贫血及 PNH 诊断中的意义[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(3): 6-10.
- YANG Ke, GUO Xiaoyu, OU Jianfeng, et al. Diagnostic significance of detecting peripheral blood granulocyte CD55, CD59 and FLAER in anemia and PNH[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(3): 6-10.
- [9] 谢亚荣, 任方刚, 张娜, 等. CD55 CD59 检测在阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断中的意义[J]. 中国药物与临床, 2016, 16(5): 756-758.
- XIE Yarong, REN Fanggang, ZHANG Na, et al. Significance of CD55 CD59 detection in the diagnosis of paroxysmal sleep hemoglobinuria[J]. Chinese Remedies and Clinical, 2016, 16(5): 756-758.
- [10] 赵阿兰, 陈智超, 张青艳, 等. 有核细胞嗜水气单胞菌溶素变异体流式法: 一种更敏感稳定的阵发性睡眠性血红蛋白尿症检测方法[J]. 临床内科杂志, 2013, 30(3): 199-202.
- ZHAO Alan, CHEN Zhichao, ZHANG Qing-yan, et al. Karyocyte base FLAER flow cytometry: a more stable and sensitive means to detect PNH[J]. Journal of Clinical Internal Medicine, 2013, 30(3): 199-202.
- 收稿日期: 2018-11-07 修回日期: 2018-12-19