

电感耦合等离子体质谱仪在血流感染早期诊断中的初步应用

赵苏瑛¹, 蒋 维^{1△}, 吴 倩²

(1. 南京中医药大学附属医院, 江苏南京 210029; 2. 南京医科大学公共卫生学院, 江苏南京 210029)

摘 要:目的 使用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)研究血流感染患者血清中的金属元素水平,探讨金属元素在血流感染患者血清中的浓度变化以及和感染病原菌之间的相关性,获得差异表达的金属元素图谱,评价将此类质谱仪应用于血流感染早期诊断的可行性。**方法** 收集血流感染患者的血清作为血流感染组,同时分离出血液中的病原菌,按病原菌种类将标本分类,选用健康者血清作为阴性对照组。运用 ICP-MS 测定患者血清中各类金属元素含量的变化,使用主成分分析(PCA)和偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)绘制金属元素图谱,寻找出浓度明显改变的金属元素,组间各金属元素的相关性研究使用 Pearson 相关性分析。**结果** 一共建立了 4 个病原菌血流感染的金属元素图谱(包含金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、粪肠球菌和肺炎克雷伯菌),血流感染组与对照组间有浓度明显改变的金属元素,包括钯、金、钍、锡等;Pearson 相关性分析显示这些金属元素与血流感染和感染菌种类之间均有相关性,如钙与金黄色葡萄球菌血流感染呈负相关性($r=-0.788$),钯和金均与大肠埃希菌的血流感染呈正相关性($r=0.906, 0.748$)。**结论** 从上述研究结果看,具有差异性的金属元素图谱可以作为血流感染早期诊断、预防和预后的潜在标志物,其应用性值得进一步的深入研究。

关键词:金属组学; 金属元素; 血流感染; 电感耦合等离子体质谱仪

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.09.015 **中图法分类号:**R446.1

文章编号:1673-4130(2019)09-1081-06 **文献标识码:**A

Preliminary application of inductively coupled plasma mass spectrometer in early diagnosis of bloodstream infection

ZHAO Suying¹, JIANG Wei^{1△}, WU Qian²

(1. the Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210029, China; 2. School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210029, China)

Abstract: **Objective** To study the levels of metal elements in blood stream infection patients by Inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS), to explore the changes of concentration of metal elements in blood stream infection patients' serum and the correlation between metal elements and infectious pathogens, to obtain differential expression of metal elements maps, and to evaluate the feasibility of applying this kind of mass spectrometer to early diagnosis of blood stream infection. **Methods** Serum samples from patients with bloodstream infection were collected as bloodstream infection group, and pathogens in blood stream were isolated. Samples were classified according to the types of pathogens. Serum from healthy persons was selected as negative control. ICP-MS was used to determine the changes of concentration of various metal elements in serum of patients, principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were used to draw the metal element atlas, and the metal elements with obvious changes in concentration were found. Pearson correlation analysis was used to study the correlation of various metal elements between groups. **Results** The metal element profiles of four pathogenic bacteria in bloodstream infection (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, and *Klebsiella pneumonia*) were established. Metal elements, including palladium, gold, thorium and tin, changed significantly between the bloodstream infection group and the control group. Pearson correlation analysis showed that these metal elements were correlated with bloodstream infections and types of infectious bacteria. For instance, calcium was negatively correlated with blood stream infection of *Staphylococcus aureus* ($r=-0.788$), and palladium and gold were positively correlated with blood stream infection of *Escherichia coli* ($r=0.906, 0.748$). **Conclusion** The research results

作者简介:赵苏瑛,女,副主任技师,主要从事临床微生物学研究。△ **通信作者,** E-mail: 43315349@qq.com

本文引用格式:赵苏瑛,蒋维,吴倩.电感耦合等离子体质谱仪在血流感染早期诊断中的初步应用[J].国际检验医学杂志,2019,40(9):1081-

showed that differential maps of metal elements can be used as potential markers for early diagnosis, prevention and prognosis of bloodstream infections, and their applicability deserves further study.

Key words: metallomics; metal element; bloodstream infection; Inductively coupled plasma mass spectrometer

目前将败血症和菌血症统称为血流感染,血流感染是一种严重的全身性感染综合征。近年来,随着创伤性诊疗技术的广泛开展以及广谱抗菌药物、激素和免疫抑制剂的广泛使用,血流感染的发病率有逐年增高的趋势。据报道,全球每年大约发生 200 000 例血流感染,病死率在 25%~60%^[1-2]。血流感染的常见菌有金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌,肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌及凝固酶阴性的葡萄球菌等。由于传统的培养耗时长,细菌的耐药性变化大且与细菌本身的毒力和侵入的途径和数量均相关,发生血流感染的患者很难在早期获得有效地治疗,而早期诊断早期用药对降低血流感染病死率,改善预后至关重要。当前,传统的血培养仍然是诊断血流感染的金标准,但是它耗时长,敏感度低并且对于采集时间有严格的要求,更重要的一点是血培养对于某些细菌是无效的。因此,亟需一种高效快速且能早期诊断血流感染的方法。

在医学微生物的鉴定领域,质谱法近年来得到飞速发展,基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)现在已经广泛应用于临床微生物的鉴定,但是对于血流感染,必须先获得纯培养才能进一步鉴定,相对于传统方法来说,节省的时间很有限,而电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)可以直接测定血液样本中的金属离子含量不需经过传统的培养步骤,因此在血流感染的早期诊断方面拥有广阔的应用前景。

1 材料与方法

1.1 研究对象 本实验一共收集了 58 例血流感染患者的血液标本,将血液经增菌培养后获得纯培养菌落。其中 14 例患者为葡萄球菌感染,包括金黄色葡萄球菌、人葡萄球菌等,患者平均(65.57±15.82)岁,男 11 例,女 3 例;39 例为肠杆菌科细菌感染,包括大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌等;平均(68.64±10.33)岁,男 20 例,女 19 例;5 例感染肠球菌,主要为屎肠球菌和粪肠球菌,平均(71.00±14.16)岁,男 2 例,女 3 例;阴性对照组 58 例,平均(63.30±8.88)岁,男 38 例,女 15 例。

1.2 试验材料 5 种 HPLC 级混标液购自上海凯莱生物,定标液购自中国国家有色金属及电子材料分析测试中心,实验用超纯水由美国 Milli-Q 超纯水仪制造,所有的试剂和化学用品均采用分析级。

1.3 样品制备 经知情同意后,抽取血流感染患者组和健康对照组 5 mL 外周血,3 500 r/min 离心 10 min 分离血清,置于-20℃保存。使用前在室温下融解并振荡混匀 5 min,然后在 200 μL 血清内加入 600 μL 浓硝酸和 50 μL 内标液。混合溶液在 85℃孵育 2.5 h 后加入去离子水至 5 mL,置于 4℃待检。

使用注射器吸取 0.5 μL 血流感染患者的全血注入 10 mL 增菌液中 37℃孵育过夜,然后取 1 mL 菌液转至新鲜培养基中,调整 OD 值使之介于 0.3~0.6 之间,取 2 mL 培养基 12 000×g 离心 5 min,收集上清液,重复上述操作^[3]。

1.4 金属元素分析 本试验均采用 PICAP Q ICP 质谱仪(美国,Thermo 公司),一共测定 68 种金属元素。

1.5 数据分析

1.5.1 试验数据处理 ICP-MS 工作站导出的半定量结果用二维数据矩阵表示,金属元素分布图用 GraphPad prism 6 软件绘制。

1.5.2 金属元素的挑选 为了寻找两组之间的差异,本文使用 SIMCA 软件包(SIMCAP 13.0)对数据进行多维和一维统计分析。所有的数据在经过简单归一化后输入到软件中,然后进行主成分分析(PCA),找出观察组之间金属元素最主要的趋势。之后再偏最小二乘判别分析(PLS-DA)分析组间变异性以期更好地揭示群体结构,在 PLS-DA 中 VIP>1 被认为组间差异具有统计学意义,本文将 VIP>1 的数据进一步行 *t* 检验^[4-5]。此外 *q* 检验被用来降低假阳性率和过拟合。那些同时符合 VIP>1 且 *P*<0.05 的金属元素被认为具有统计学意义,可作为潜在的标志物^[6]。

1.5.3 统计学处理 使用 OriginPro 9 进行相关性分析,分析方法选用 Pearson 检验,并绘制拟合曲线。

2 结果

2.1 血流感染时金属元素分布情况 发生血流感染时金属元素的分布如图 1 所示。PLS-DA 的模型图如图 2 所示,PLS-DA 的基本参数如表 1 所示,*R*²Y(累积的因变量指数)和 *Q*²Y(交叉验证的有效性指数)均大于 0.7,表明该模型稳定、可靠,见表 1。

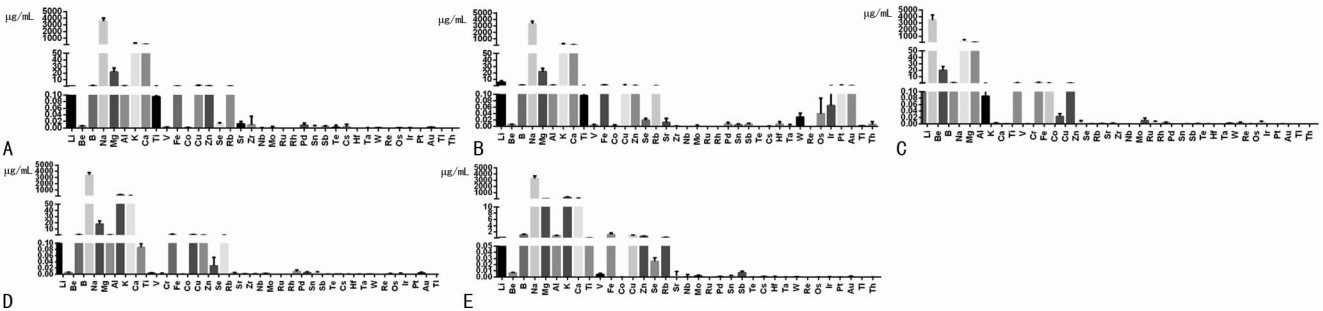
2.2 潜在标志物的选择 根据 VIP 值和 *P* 值确定潜在金属标记物,先用 VIP>1 初步筛选,再用方差分析进一步验证,*P*<0.05 被认为差异具有统计学意

义。挑选出的潜在金属标记物如表 2 所示。为了在其中挑选出有意义的金属元素,本文进一步使用 Pearson 相关分析来评估那些浓度水平明显不同的元素,如表 3 所示,钡、金、钪和锡在四种类型的血流感染中均出现了浓度的变化,在 3 种类型的血流感染中出现浓度变化的有锂、铈和锌,而另外的一些元素,如锶、钙、铟和硒等则在其中两个类型的血流感染中出现明显的浓度变化,还有一些则在某一特定类型血流感染中出现浓度变化。如表 4 所示,钙与金黄色葡萄

球菌血流感染呈负相关性,钡和金与大肠埃希菌的血流感染呈正相关性。

表 1 PLS-DA 参数

项目	A	$R^2 X(\text{cum})^a$	$R^2 Y(\text{cum})^a$	$Q^2 Y(\text{cum})^b$
血流感染 vs. 阴性对照组	2	0.275	0.808	0.773
金黄色葡萄球菌 vs. 阴性对照组	2	0.444	0.922	0.831
大肠埃希菌 vs. 阴性对照组	2	0.415	0.936	0.905
尿肠球菌 vs. 阴性对照组	2	0.667	0.965	0.875
肺炎克雷伯菌 vs. 阴性对照组	2	0.517	0.845	0.686



注:A 为血流感染患者血清金属元素分布;B 为金黄色葡萄球菌血流感染患者血清金属元素分布;C 为大肠埃希菌血流感染患者血清金属元素分布;D 为肠球菌血流感染患者血清金属元素分布;E 为肺炎克雷伯菌血流感染病人血清金属元素分布

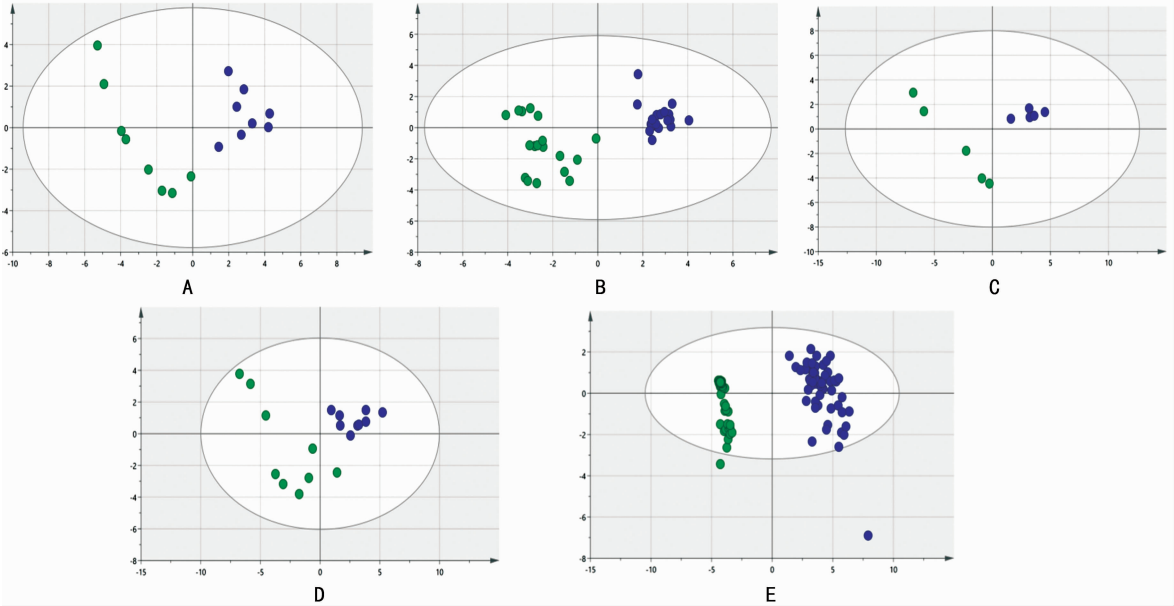
图 1 血流感染患者血清中金属元素分布图

表 2 血流感染患者血清中的 DME

项目	元素	VIP 值	P 值
金黄色葡萄球菌	^{78}Se	1.710 36	4.73E-06
	^{121}Sb	1.627 41	0.000 104
	^7Li	1.601 15	6.07E-05
	^{56}Fe	1.476 41	0.000 442
	^{197}Au	1.361 06	0.002 151
	^{88}Sr	1.326 43	0.003 034
	^{44}Ca	1.297 1	0.004 123
	^{118}Sn	1.232 15	0.007 112
	^{232}Th	1.225 06	0.007 567
	^{93}Nb	1.173 8	0.012 755
	^{105}Pd	1.112 31	0.023 899
大肠埃希菌	^7Li	1.851 12	2.06E-11
	^{66}Zn	1.409 14	5.09E-06
	^{197}Au	1.329 35	5.95E-05
	^{105}Pd	1.328 86	6E-05
	^{205}Tl	1.295 96	4.3E-05
	^{118}Sn	1.249 31	0.000 106
	^{27}Al	1.223 23	0.000 154
	^{63}Cu	1.203 55	0.000 31
	^{78}Se	1.077 67	0.001 646
	^{232}Th	1.076 88	0.004 881
	^{88}Sr	1.075 02	0.001 282
尿肠球菌	^{133}Cs	1.620 08	4.73E-06

续表 2 血流感染患者血清中的 DME

项目	元素	VIP 值	P 值
肺炎克雷伯菌	^{121}Sb	1.517 95	0.000 16
	^7Li	1.467 07	0.000 209
	^{63}Cu	1.384 87	0.006 330
	^{118}Sn	1.289 61	0.003 882
	^{103}Rh	1.197 34	0.009 082
	^{66}Zn	1.167 70	0.013 448
	^{105}Pd	1.097 33	0.027 194
	^{197}Au	1.041 93	0.048 953
	^{232}Th	1.040 62	0.048 461
	^{66}Zn	1.630 59	0.000 179
	^{232}Th	1.544 73	0.001 816
肺炎克雷伯菌	^{118}Sn	1.410 67	0.000 828
	^{44}Ca	1.395 99	0.000 361
	^{105}Pd	1.295 42	0.001 648
	^{103}Rh	1.215 17	0.004 37
	^{197}Au	1.145 89	0.010 84
	^9Be	1.100 68	0.010 271
	^{24}Mg	1.094 12	0.031 422
	^{93}Nb	1.065 65	0.026 750
	^{121}Sb	1.045 46	0.015 739
	^{27}Al	1.043 31	0.044 149
	^{195}Pt	1.037 76	0.018 276



注:A 为血流感染组;B 为金黄色葡萄球菌血流感染组;C 为大肠埃希菌血流感染组;D 为屎肠球菌血流感染组;E 为肺炎克雷伯菌血流感染组

图 2 血流感染时金属元素的 PLS-DA 模型

表 3 不同感染类型浓度明显改变的元素一览表

感染菌种类	元素
大肠埃希菌/屎肠球菌/肺炎克雷伯菌/金黄色葡萄球菌	Pd、Au、Th、Sn
大肠埃希菌/屎肠球菌/金黄色葡萄球菌	Li
屎肠球菌/肺炎克雷伯菌/金黄色葡萄球菌	Sb
大肠埃希菌/屎肠球菌/肺炎克雷伯菌	Zn
大肠埃希菌/金黄色葡萄球菌	Sr、Se
肺炎克雷伯菌/金黄色葡萄球菌	Nb、Ca
大肠埃希菌/肺炎克雷伯菌	Al
大肠埃希菌/屎肠球菌	Cu
金黄色葡萄球菌	Fe
大肠埃希菌	Tl
肺炎克雷伯菌	Mg、Pt、Be
屎肠球菌	Cs

表 4 金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌血流感染中 DME 的相关性分析

项目	金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌	
	Ca	Pd	Au
P 值	0.02	0.000	0.000
Pearson 相关系数	-0.788	0.906	0.748
相关方程式	$Y = -6.94X + 2.5E2$	$Y = 12.93X - 0.69$	$Y = 11.7X - 0.08$

3 讨 论

本研究中笔者共测量了 58 份标本,68 种金属元素,获得了血流感染患者体内的金属元素分布图谱,这不仅有助于区分健康个体与血流感染患者,而且对研究该疾病的发病途径也具有重要意义。依托 ICP-MS 的先进技术,使得在数小时内获得可靠结果成为可能,毫无疑问,这将给临床提供一个微生物感染诊

断的新平台^[7]。

很多细菌感染都伴随着体内微量金属离子浓度的异常改变。随着现代医学的发展,越来越多的学者开始关注金属元素与疾病之间的关系。

生物体内元素的变化与体内环境和代谢有关。在体内环境保持不变的情况下,一些疾病引发的金属代谢障碍会导致体内元素紊乱,但是具体机制很复杂,目前仍在研究中。与对照组相比,发生血流感染的患者血清中金属元素有一些发生了明显的变化,本文认为这些变化与感染及发生感染的种类有关。一方面,由于体内金属元素水平的不稳定,一些炎症因子的活性和含量受到影响,从而影响细胞免疫水平,进一步影响血流感染的发生和进展。

在发生感染时本文检测到铂、金、钽和锡的浓度均有改变,除个别患者因为机体的排泄功能异常导致的元素浓度异常外,本文认为这与这些金属的功能有关。如本试验中钯和金在大肠埃希菌血流感染者血清中的浓度与细菌中浓度呈正相关性。已有研究发现大肠埃希菌的产物可以在溶液中结合钯离子^[8]。大肠埃希菌至少能产生 Hyd-1、Hyd-2 和 Hyd-3 3 种水解酶^[9];Hyd-1 和 Hyd-2 是膜结合的呼吸同工酶,它们的催化亚单位暴露于膜的胞质侧,Hyd-3 是甲酸脱氢酶复合体的一部分,这 3 种氢化酶都有助于钯离子还原^[10]。因此血液中钯离子的浓度升高也会使大肠埃希菌的体内钯离子浓度升高,两者表现一致。另外有研究表明金在特定载体上分散成超微粒子后,对很多物质的氧化具有优异的催化性能^[11],细菌能够迅速还原金离子并将其还原成元素金^[12],生物体内的氧化反应众多,因此血清内金离子浓度升高会导致细菌吸附的金离子越多,细菌体内金元素的含量也就越高。

在血流感染中浓度明显改变的金属元素还有锂、铁、锌、钙等。有报道称锂在一些炎性反应中能促进抑炎因子的分泌同时抑制促炎因子的分泌^[13],因此血流感染时会出现血清锂浓度的变化。

金属离子(Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Sn^{2+})具有广谱而强大的抑菌作用,根据实验研究,金属离子系列抑菌性物质对大肠埃希菌,金黄色葡萄球菌等均有杀灭抑制能力。体内铁元素缺乏会导致 IL-4 和 IL-6 活性降低,此外,铁依赖性酶和含铁的酶类合成也会受阻,同时 CD4 和 CD8 活性的改变,导致 CD4/CD8 比值下降,机体免疫功能下降^[14-15]。锌在体内也参与多种酶的合成^[16],锌元素缺乏会降低这些酶的活性,导致巨噬细胞和体细胞功能紊乱,皮质区 T 淋巴细胞减少,胸腺萎缩,最终出现体液免疫和细胞免疫功能紊乱,造成免疫缺陷。研究证实,铍对机体的细胞免疫、体液免疫及器官的非特异性免疫有显著影响,铍浓度的降低会抑制免疫球蛋白和抗体的产生,降低抗体滴度,削弱免疫功能,还会造成中性粒细胞趋化作用损伤和吞噬细胞功能低下^[17]。本文推测金属代谢的异常诱发了代谢性疾病和免疫力低下,从而导致了血流感染的发生。

血流感染总是伴随着炎症,炎症细胞浸润和组织坏死。某些金属元素的浓度变化可能与炎症有关^[18]。在本次试验中,本文发现的大量与血流感染相关的金属元素并不属于体内常见的微量元素,这表明与细菌导致的血流感染相关的元素可能并不仅仅局限于常见的微量元素。

发生感染时,游离在血液中的金属元素与细菌本身的金属元素之间的模式比较目前并无报道,本文在试验中对两者进行比较后发现,钙在金黄色葡萄球菌血流感染者的血清中与在细菌中的浓度呈负相关。金黄色葡萄球菌的毒性与生物膜相关蛋白的结构和模式有关^[19],而钙离子以一种浓度依赖性的方式调节金黄色葡萄球菌生物膜的结构^[20],归根到底,金黄色葡萄球菌的毒性与这些蛋白中的钙离子浓度相关。钙离子作为一种生物多样性必需的碱性金属离子,高浓度时可以破坏金黄色葡萄球菌的生物膜结构,杀伤静止期金黄色葡萄球菌,同时可消除病原菌的耐药性^[21]。

钡除了与大肠埃希菌血流感染呈正相关性外,在肠球菌血流感染中浓度也与细菌体内浓度呈正相关性,而铍在血清中的浓度与细菌体内呈负相关性。有数据表明铍会破坏细胞膜成分和结构,影响细菌合成细胞外多糖,导致细菌间聚集力增加,对细菌存在抑制作用^[22]。因此发生细菌感染时,铍的浓度降低是可以解释的。

4 结 论

本研究提出了一种基于 ICP-MS 技术的金属组学方法以期应用于血流感染的早期诊断,本研究建立了细菌血流感染时的金属元素分布图 and 不同类型细

菌感染时的特异性金属分布图,并初步筛选出了潜在的 DME。此外还测定了金属元素与感染的相关性,发现了一些特异性的可以进一步深入研究和验证的金属元素。金属组学有望成为一种简单快速的用于临床筛检早期血流感染的有效手段。

参考文献

- [1] 杨玲,胡志东,田彬,等. 2011—2016 年临床常见血培养分离病原菌的菌群分布及耐药性变迁[J]. 天津医科大学学报, 2018(3): 245-249.
- [2] KIMURA S I, GOMYO A, HAYAKAWA J, et al. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients[J]. J Infect Chemother, 2017, 23(3): 148-153.
- [3] 徐凤仙,于嘉屏,吴娟娟. ICP-MS 测定全血中 5 种微量元素及其参考区间的建立[J]. 检验医学, 2018, 33(2): 127-131.
- [4] 邹纯才,宗倩妮,鄢海燕. 基于主成分分析及偏最小二乘判别算法分析瓜蒌蒸制前后化学成分的变化, 2017(10): 984-987.
- [5] 曾龙飞,田刚,姚健. Logistic 回归和 PLS-DA 模型评价肿瘤标志物对结肠癌的诊断价值[J]. 重庆医学, 2017, 46(8): 1038-1041.
- [6] 陈鹏,陈富超,吴玥,等. 槲花酸对 D-型半乳糖致衰老大鼠干预的尿液代谢组学生物标志物的筛选及代谢通路分析[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(9): 923-929.
- [7] GARCIA-SEVILLANO M A, GARCIA-BARRERA T, GOMEZ-ARIZA J L. Application of metallomic and metabolomic approaches in exposure experiments on laboratory mice for environmental metal toxicity assessment[J]. Metallomics, 2014, 6(2): 237-248.
- [8] KIM S, SONG M H, WEI W, et al. Selective biosorption behavior of Escherichia coli biomass toward Pd(II) in Pt(IV)-Pd(II) binary solution[J]. J Hazard Mater, 2015, 283: 657-662.
- [9] ZHOU Y F, ZHAO D H, YU Y, et al. Pharmacokinetics, bioavailability and PK/PD relationship of cefquinome for Escherichia coli in Beagle dogs[J]. J Vet Pharmacol Ther, 2015, 38(6): 543-548.
- [10] DREES J J, AUGUSTIN L B, MERTENSOTTO M J, et al. Soluble production of a biologically active single-chain antibody against murine PD-L1 in Escherichia coli[J]. Protein Expr Purif, 2014, 94: 60-66.
- [11] MAKUMIRE S, REVAPRASADU N, SHONHAI A. DnaK protein alleviates toxicity induced by citrate-coated gold nanoparticles in Escherichia coli[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0121243.
- [12] 陈中平,李俊龙,余文,等. 基于 DNA-AuNPs 信号放大的肠出血性大肠埃希菌快速检测电化学生物传感器[J]. 分析仪器, 2017(1): 48-54.
- [13] 傅强,陈康,黄福达,等. 氟化锂抑制铜绿假单胞菌感染引起的炎症反应调节机制研究[J]. 2017, 38(1): 13-15.
- [14] COBBINA S J, CHEN Y, ZHOU Z, (下转第 1089 页)

见;所形成的 5 种缺失模式中,又以 AZFb 单独缺失模式最为少见,常联合 a 位点或者 c 位点出现共同缺失。FSH 水平在 Y 染色体微缺失患者中显著升高,其中 AZF(a+b+c)缺失模式的 FSH 水平升高最为显著,通过检测 Y 染色体有无缺失可为辅助生殖及治疗提供强有力的帮助。

参考文献

- [1] 陈前. 不育男性染色体异常和 Y 染色体微缺失的相关性研究[J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(32): 136-137.
- [2] 徐清华, 吴小华, 王琳琳, 等. 少、弱精子症及无精子症患者染色体多态性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(8): 71-73.
- [3] 肖宗辉, 汪惠琴, 张文金, 等. 少精子症患者 Y 染色体微缺失与否与单精子卵细胞胞浆内注射的相关性[J]. 中国性科学, 2017, 26(8): 105-107.
- [4] 陈竞茜, 马燕琳, 黎明红, 等. 4043 例男性不育患者 Y 染色体多态性观察[J]. 山东医药, 2017, 57(19): 74-76.
- [5] 杨帆, 林琳, 赵克温. 运用 MLPA 技术检测男性不孕患者 Y 染色体微缺失的临床应用[J]. 实用检验医师杂志, 2017, 9(1): 13-15.
- [6] DAUMLER D, CHAN P, LO K C, et al. Men's knowledge of their own fertility; a population-based survey examining the awareness of factors that are associated with male infertility [J]. Hum Reprod, 2016, 31(12): 2781-2790.
- [7] YUMURA Y, TSUJIMURA A, IMAMOTO T, et al. Nationwide survey of urological specialists regarding male infertility; results from a 2015 questionnaire in Japan[J]. Reprod Med Biol, 2018, 17(1): 44-51.
- [8] 郑毅春, 徐丽清, 梁嘉颖, 等. 优化处理技术对男性不育症患者精子形态和 DNA 碎片指数的影响[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(2): 231-234.
- [9] 赵亚梅, 刘建刚. 少精、无精症患者的染色体与性激素水平分析[J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(16): 74-75.
- [10] 杨洋, 王树玉, 周丽颖, 等. PCR-荧光探针法检测严重少精子症或无精子症患者 Y 染色体微缺失的研究[J]. 中国性科学, 2016, 25(6): 123-126.
- [11] 段晋燕, 侯逸, 薛丹丹, 等. 实时荧光定量 PCR 技术在男性不育患者 Y 染色体微缺失检查中的应用[J]. 解放军医学院学报, 2016, 37(4): 312-316.
- [12] MISHIMA T, WATARI M, IWAKIY, et al. Miller - Dieker Syndrome with unbalanced translocation 45, X, psudic(17;Y)(p13;p11. 32) detected by fluorescence in situ hybridization and G - banding analysis using high resolution banding technique[J]. Congenit Anom, 2017, 57(2): 61-63.
- [13] KRAUSZ C, HOEFSLOOT L, SIMONI M, et al. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions; state-of-the-art 2013[J]. Andrology, 2014, 2(1): 5-19.
- [14] 何海洪, 周后钢, 陈艳清, 等. 626 例严重生精障碍男性染色体和无精子因子的研究分析[J]. 重庆医科大学学报, 2014, 39(11): 1564-1568.
- [15] MASCARENHA M, THOMAS S, KAMATH MS, et al. Prevalence of chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletion among men with severe semen abnormalities and its correlation with successful sperm retrieval [J]. J Hum Reprod Sci, 2016, 9(3): 187-193.
- (收稿日期: 2018-09-28 修回日期: 2018-11-16)
- (上接第 1085 页)
- et al. Low concentration toxic metal mixture interactions; Effects on essential and non-essential metals in brain, liver, and kidneys of mice on sub-chronic exposure [J]. Chemosphere, 2015, 132: 79-86.
- [15] ANOSHKINA Y, COSTAS-RODRIGUEZ M, SPEECK-AERT M, et al. Iron isotopic composition of blood serum in anemia of chronic kidney disease [J]. Metallomics, 2017, 9(5): 517-524.
- [16] SHUSTERMAN E, BEHARIER O, LEVY S, et al. Zinc transport and the inhibition of the L-type calcium channel are two separable functions of ZnT-1 [J]. Metallomics, 2017, 9(3): 228-238.
- [17] SCHLUETER N, LUSSI A, GANSS C, et al. L929 fibroblast bioassay on the in vitro toxicity of SnCl₂, H₃PO₄, Clearfil SE primer and combinations thereof [J]. Swiss Dent J, 2016, 126(6): 566-572.
- [18] JAILLON S, MOALLI F, RAGNARSDOTTIR B, et al. The humoral pattern recognition molecule PTX3 is a key component of innate immunity against urinary tract infection [J]. Immunity, 2014, 40(4): 621-632.
- [19] SHUKLA S K, RAO T S. Effect of calcium on Staphylococcus aureus biofilm architecture; a confocal laser scanning microscopic study [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2013, 103(4): 448-454.
- [20] ROMAN A Y, DEVRED F, LOBATCHOV V M, et al. Sequential binding of calcium ions to the B-repeat domain of SdrD from Staphylococcus aureus [J]. Can J Microbiol, 2016, 62(2): 123-129.
- [21] USKOKOVIC V, DESAI T A. Simultaneous bactericidal and osteogenic effect of nanoparticulate calcium phosphate powders loaded with clindamycin on osteoblasts infected with Staphylococcus aureus [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2014, 37: 210-222.
- [22] 刘劲松, 范震, 麻健丰, 等. 铍对口腔链球菌生长及黏附性能的影响 [J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(12): 1091-1093.
- (收稿日期: 2018-09-30 修回日期: 2018-11-18)