

论著 · 临床研究

PRA 法检测 hsp65 和 groES 在非结核分枝杆菌肺病诊断中的价值

章 洁, 郭秋萍

(广元市第三人民医院检验科, 四川广元 628001)

摘要:目的 探讨 PCR-限制性片段长度多态性分析(PRA)法检测 hsp65 和 groES 在非结核分枝杆菌肺病诊断中的价值。方法 选取非结核分枝杆菌肺病患者 30 例为肺病组, 结核病患者 30 例为结核组, 非结核分枝杆菌病感染患者 30 例为感染组, 同时选取体检健康者 30 例为健康对照组。使用 PRA 法检测 4 组受试者痰液中 hsp65 和 groES 的相对分子质量。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)下面积分析 hsp65 和 groES 联合检测在非结核分枝杆菌肺病中的诊断意义。结果 肺病组患者痰液中 hsp65 相对分子质量和 groES 相对分子质量明显高于结核组、感染组及健康对照组($P < 0.05$)。肺病组与结核组的 hsp65 和 groES 敏感度分别为 93% 和 77%, 特异度分别为 80% 和 90%; 肺病组与感染组的 hsp65 和 groES 的敏感度分别为 77% 和 63%, 特异度分别为 63% 和 96%; 肺病组与健康对照组的 hsp65 和 groES 的敏感度分别为 93% 和 76%, 特异度分别为 83% 和 87%。hsp65 和 groES 的临界值分别为 2.27 和 1.96。结论 PRA 法检测 hsp65 和 groES 在非结核分枝杆菌肺病诊断中具有较好的效果。

关键词:PCR-限制性片段长度多态性分析; hsp65; groES; 非结核分枝杆菌病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.17.015 **中图法分类号:**R563, R446.5

文章编号:1673-4130(2019)17-2112-05

文献标识码:A

Value of detection of hsp65 and groES by PRA in the diagnosis of non-tuberculosis

Mycobacterium pulmonary disease

ZHANG Jie, GUO Qiuping

(Department of Clinical Laboratory, Guangyuan Third People's Hospital, Guangyuan, Sichuan 628001, China)

Abstract: Objective To explore the value of detection of hsp65 and groES by PCR-restriction fragment length polymorphism (PRA) in the diagnosis of non-tuberculosis Mycobacterium pulmonary disease. **Methods**

Thirty patients with non-tuberculosis Mycobacterium pulmonary disease were selected as the pulmonary disease group, 30 patients with tuberculosis as the tuberculosis group, and 30 patients with non-tuberculosis Mycobacterium infection as the infection group, at the same time, 30 healthy persons were selected as healthy control group. The relative molecular mass of hsp65 and groES in sputum of four groups were measured by PRA. The diagnostic significance of combined detection of hsp65 and groES in non-tuberculosis Mycobacterium pulmonary disease was analyzed under ROC curve. **Results** The relative molecular weight of hsp65 and groES in sputum of patients with pulmonary disease were significantly higher than those of tuberculosis, infection and health control groups ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of hsp65 and groES in pulmonary disease group and tuberculosis group were 93% and 77%, 80% and 90%, respectively. The sensitivity and specificity of hsp65 and groES in pulmonary disease group and infection group were 77% and 63%, 63% and 96%, respectively. The sensitivity and specificity of hsp65 and groES in pulmonary disease group and healthy control group were 93% and 76%, 83% and 87% respectively. The critical values of hsp65 and groES were 2.27 and 1.96, respectively. **Conclusion** Detection of hsp65 and groES by PRA has a good effect in the diagnosis of non-tuberculosis Mycobacterium pulmonary disease.

Key words:PCR-restriction fragment length polymorphism analysis; hsp65; groES; non-tuberculosis mycobacteriosis

作者简介:章洁,女,副主任技师,主要从事分枝杆菌的检测及诊断研究。

本文引用格式:章洁,郭秋萍. PRA 法检测 hsp65 和 groES 在非结核分枝杆菌肺病诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(17): 2112-2115.

我国非结核分枝杆菌肺病的发病率逐年上升,而结核病的比例却逐年下降^[1]。Meta 分析显示,我国以鸟-胞内分枝杆菌复合体肺病最为常见^[2]。如今,根据抗酸杆菌涂片的结核分枝杆菌实验室诊断可在 24 h 内产生结果^[3]。然而,涂片对结核分枝杆菌不是非常特异,并且每毫升痰需要 $10^3 \sim 10^4$ 个菌^[4]。SAIFI 等^[5]通过 PCR-限制性片段长度多态性分析(PRA)法对分枝杆菌扩增 hsp65 基因后使用 BstE II 消化发现,结核分枝杆菌只能产生 245 bp/120 bp/80 bp 的片段,而非结核分枝杆菌则产生多种片段。ARAVIN-DHAN 等^[6]研究发现,结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌的 groES 基因扩增后用 BstN I 消化产生片段不同。本研究采用 PRA 法对 hsp65 和 groES 进行检测,以评估其对非结核分枝杆菌肺病的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 2 月至 2018 年 2 月本院收治的非结核分枝杆菌肺病患者 30 例作为肺病组,男 18 例,女 12 例,平均年龄(41±16)岁。选择结核病患者 30 例作为结核组,男 14 例,女 16 例,平均年龄(39±18)岁;其中 HIV/AIDS 合并结核病患者 13 例,非 HIV/AIDS 合并结核病患者 17 例;肺结核病 11 例,肺外结核病 19 例。病理科按照中华医学会结核病分会的标准进行诊断,30 例非结核分枝杆菌肺病患者和结核病患者均确诊^[7-8]。选择非结核分枝杆菌病感染患者 30 例作为感染组,男 15 例,女 15 例,平均年龄(37±13)岁;经皮肤试验阳性但无非结核分枝杆菌入侵组织和器官的现象。另选择 2017 年 6 月至 2018 年 2 月本院体检健康者 30 例作为健康对照组,男 15 例,女 15 例,平均年龄(45±14)岁。4 组研究者年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有均衡可比性。本研究经本院伦理委员会批准,且受试者均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 痰液中 DNA 的提取 收集肺病组、结核组和健康体检组受试者清晨痰液样本各 5 mL,采用支气管镜采样。使用最终 1% 浓度的 NaOH 通过 NaCl-NaOH 方法隔天对样本净化 15 min。去污后,所有样本均为用磷酸盐缓冲液中和,并以 4 000×g 离心 15 min。将离心后得到的沉淀物重新悬浮于 2 mL LJ 培养基中,37 °C 培养过夜后(培养 2 次均为同一致病菌且抗酸杆菌涂片阳性度为十以上),使用厦门慧嘉生物科技有限公司的 Amresco 基因组 DNA 提取试剂盒(货号:K368-50RXN)进行 DNA 的抽取。

1.2.2 PCR 试验 PCR 的最终体积为 25 μL,由 5 μL DNA, 200 μmol/L 脱氧核苷三磷酸(dNTP), 每种引物 25 pmol, 1.5 mmol/L MgCl₂, 1.25 U Taq

DNA 聚合酶(众红生物,货号:ZHR1007M)组成,加入 10×PCR 缓冲液后将反应混合物在 94 °C 下初始变性 5 min,然后进行 35 个扩增循环(94 °C 60 s, 60 °C 60 s 和 72 °C 60 s)。最终延伸在 72 °C 下进行 10 min。PCR 引物由上海生工合成,引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

GENE	方向	引物序列(5'-3')
Hsp65	上游引物	CAA CGA TGG TGT GTC CCA T
Hsp65	下游引物	CTT GTC GAA CCG CAT ACC CT
GroES	上游引物	CCT TGA GTA CTA GCA CTC TCA TG
GroES	下游引物	ATC AGC TTG CTC ATC AGG CTC C

1.2.3 DNA 酶消化 采用 BstE II (NEB, 货号:R0162L)对 hsp65 基因的扩增产物进行消化,BstN I (NEB, 货号:R0168L)对 groES 基因的扩增产物进行消化。将消化的产物在 3% 琼脂糖凝胶电泳上,100 V 下进行 2 h。扩增 hsp65 基因后使用 BstE II 消化发现结核分枝杆菌只能产生 245 bp/120 bp/80 bp 的片段,而非结核分枝杆菌则产生多种片段(245 bp/220 bp, 245 bp/120 bp/100 bp, 325 bp/120 bp)^[5]。扩增 groES 基因后使用 BstN I 消化发现结核分枝杆菌能产生多种片段(550 bp/50 bp, 470 bp/80 bp/50 bp, 310 bp/140 bp/50 bp),而非结核分枝杆菌则只能产生 500 bp/100 bp 的片段^[6]。基于此,使用 Image J 软件对琼脂糖凝胶成像图中的条带进行灰度值分析。条带数据化后,将[(325 bp + 220 bp + 100 bp)/80 bp]定义为非结核分枝杆菌 hsp65 相对分子质量,将(50 bp/100 bp)定义为非结核分枝杆菌 groES 相对分子质量。

1.3 统计学处理 采用统计学软件 PRISM 7.0 进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-t 检验。应用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)下面积分析 hsp65 和 groES 检测的临床诊断价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 4 组受试者痰液中 hsp65 和 groES 的相对分子质量 肺病组患者痰液中 hsp65 和 groES 的相对分子质量明显高于结核组、感染组及健康对照组($P < 0.05$)。健康对照组中 hsp65 和 groES 的相对分子质量明显低于感染组、结核组($P < 0.05$)。感染组患者痰液中 hsp65 和 groES 的相对分子质量明显高于结核组($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 肺病组与结核组患者痰液中 hsp65 和 groES 的诊断效能 绘制 30 例非结核分枝杆菌肺病患者与 30 例结核病患者的 ROC 曲线,见图 1。hsp65 的 ROC

曲线下面积为 $0.92(95\%CI: 0.8514 \sim 0.9864)$, 以 $hsp65=2.83$ 为阳性临界值, 其诊断灵敏度为 93%, 特异度为 80%。groES 的 ROC 曲线下面积为 $0.91(95\%CI: 0.8304 \sim 0.9874)$, 以 $groES=2.67$ 为阳性临界值, 其诊断灵敏度为 77%, 特异度为 90%。见表 3。

表 2 4组受试者痰液中 $hsp65$ 和 $groES$ 的相对分子质量($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	$hsp65$	$groES$
肺病组	30	$4.19 \pm 1.37^\blacktriangle$	$3.57 \pm 0.98^\blacktriangle$
健康对照组	30	$0.23 \pm 0.19^*$	$0.36 \pm 0.11^*$
感染者	30	$2.05 \pm 0.84^\triangle$	$1.84 \pm 0.51^\triangle$
结核组	30	1.04 ± 0.05	1.17 ± 0.07

注: 与结核组、感染组及健康对照组比较, $^\blacktriangle P < 0.05$; 与感染组及结核组比较, $^* P < 0.05$; 与结核组比较, $^\triangle P < 0.05$

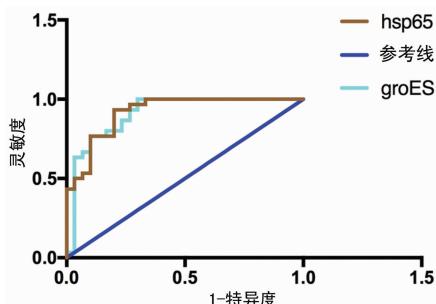


图 1 肺病组与结核组患者痰液中 $hsp65$ 和 $groES$ 的 ROC 曲线

表 3 肺病组与结核组患者痰液中 $hsp65$ 和 $groES$ 的诊断效能

检测变量	灵敏度 (%)	特异度 (%)	临界值	曲线下面积	<i>P</i>	95%CI
Hsp65	93	80	2.83	0.92	<0.0001	$0.8514 \sim 0.9864$
groES	77	90	2.67	0.91	<0.0001	$0.8304 \sim 0.9874$

2.3 肺病组与感染组患者痰液中 $hsp65$ 和 $groES$ 的诊断效能 绘制 30 例非结核分枝杆菌肺病患者与 30 例非结核分枝杆菌感染患者的 ROC 曲线, 见图 2。 $hsp65$ 的 ROC 曲线下面积为 $0.73(95\%CI: 0.6093 \sim 0.8595)$, 以 $hsp65=3.17$ 为阳性临界值, 其诊断灵敏度为 77%, 特异度为 63%; $groES$ 的 ROC 曲线下面积为 $0.72(95\%CI: 0.5801 \sim 0.8621)$, 以 $groES=2.96$ 为阳性临界值, 其诊断灵敏度为 77%, 特异度为 96%。见表 4。

2.4 肺病组与健康对照组痰液中 $hsp65$ 和 $groES$ 的诊断效能 绘制 30 例非结核分枝杆菌肺病患者与 30 例体检健康者的 ROC 曲线, 见图 3。 $hsp65$ 的 ROC 曲线下面积为 $0.90(95\%CI: 0.8313 \sim 0.9821)$, 以

$hsp65=2.27$ 为阳性临界值, 其诊断灵敏度为 93%, 特异度为 83%。 $groES$ 的 ROC 曲线下面积为 $0.89(95\%CI: 0.8157 \sim 0.9798)$, 以 $groES=1.96$ 为阳性临界值, 其诊断灵敏度为 76%, 特异度为 87%。见表 5。

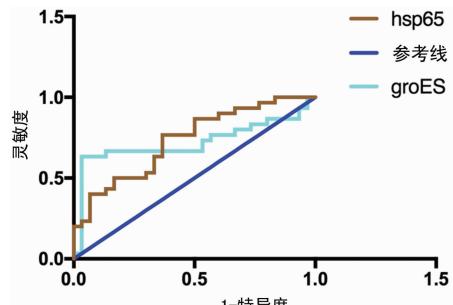


图 2 肺病组与感染组患者痰液中 $hsp65$ 和 $groES$ 的 ROC 曲线

表 4 肺病组与感染组患者痰液中 $hsp65$ 和 $groES$ 的诊断效能

检测变量	灵敏度 (%)	特异度 (%)	临界值	曲线下面积	<i>P</i>	95%CI
Hsp65	77	63	3.19	0.73	0.0018	$0.6093 \sim 0.8595$
groES	63	96	2.96	0.72	0.0033	$0.5801 \sim 0.8621$

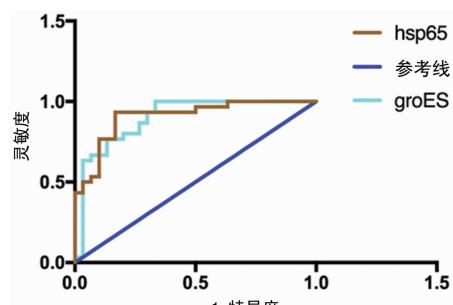


图 3 肺病组与健康对照组患者痰液中 $hsp65$ 和 $groES$ 的 ROC 曲线

表 5 肺病组与健康对照组患者痰液中 $hsp65$ 和 $groES$ 的诊断效能

检测变量	灵敏度 (%)	特异度 (%)	临界值	曲线下面积	<i>P</i>	95%CI
Hsp65	93	83	2.27	0.90	<0.0001	$0.8313 \sim 0.9821$
groES	76	87	1.96	0.89	<0.0001	$0.8157 \sim 0.9798$

3 讨 论

世界各地医院均报道过与被污染的器械有关的非结核分枝杆菌感染暴发^[9]。皮肤和免疫抑制患者的非结核分枝杆菌很容易向肺部或淋巴结系统扩散^[10]。自 20 世纪 80 年代以来, 非结核分枝杆菌疾病模式和流行病学已发生变化, 并逐渐出现在未被认识的人群中^[11]。非结核分枝杆菌越来越被认为是重要

的人类病原体,由于艾滋病和其他免疫缺陷疾病,非结核分枝杆菌引起的疾病流行正在上升,且物种逐渐多样化^[12]。非结核分枝杆菌与结核分枝杆菌复合体成员的区别在于它们不是专性病原体^[13]。虽然抗酸杆菌涂片能够在 24 h 内诊断出结核分枝杆菌,但是涂片对结核分枝杆菌不是非常特异,并且每毫升痰需要 $10^3 \sim 10^4$ 个菌^[3-4]。另一方面,随着全世界非结核分枝杆菌感染频率的增加,临床医生对非结核分枝杆菌疾病的认识提高,导致对非结核分枝杆菌感染的诊断有更多要求^[14]。已有研究报道使用 PRA 法可以区分 4 种 *M. chelonae*、*M. fortuitum*、*M. kansasii* 和 *M. scrofulaceum*,它们是临幊上最重要的非结核分枝杆菌^[15]。尽管目前发现有 154 种非结核分枝杆菌,但是除了这 4 种非结核分枝杆菌,其他非结核分枝杆菌在临幊上并不常见或致病性低。由于 PRA 法诊断的快速性、便捷性和普遍性,本研究忽略 PRA 法检测到其他非结核分枝杆菌的 DNA 片段。基于此,本研究发现, PRA 法检测 *hsp65* 和 *groES* 在非结核分枝杆菌病诊断中的临界值分别为 2.27 和 1.96,且具有较好的效果。

编码 10×10^3 (GroES) 和 60×10^3 (GroEL) 热休克蛋白的 *groESL* 操纵子在细菌中普遍存在并且在进化上保守^[16]。分枝杆菌的 *Hsp65*(GroEL2)基因因其在物种鉴定中的实用性而得到充分证明^[17]。*Hsp10*(*groES*)基因(*Rv3418c*)因具有高度保守的氨基酸序列,已鉴定出免疫显性物种特异性 T 细胞和 B 细胞表位并已用于免疫诊断^[18]。本研究中使用了 439 和 600 bp 的靶 DNA 序列,发现肺病组患者痰液中 *hsp65* 和 *groES* 相对分子质量明显高于结核组、感染组及健康对照组($P < 0.05$)。439 bp 的 *hsp65* 基因和 600 bp 的 *groES* 基因标记是特异性的^[19],具有更广谱的检测,可从所有分枝杆菌(包括非结核和非致病)物种中扩增,扩增 *hsp65* 基因后使用 *BstE* II 消化发现结核分枝杆菌只能产生 245 bp/120 bp/80 bp 的片段,而非结核分枝杆菌则产生多种片段(245 bp/220 bp, 245 bp/120 bp/100 bp, 325 bp/120 bp)^[5]。扩增 *groES* 基因后使用 *BstN* I 消化发现结核分枝杆菌能产生多种片段(550 bp/50 bp, 470 bp/80 bp/50 bp, 310 bp/140 bp/50 bp),而非结核分枝杆菌则只能产生(500 bp/100 bp)^[6]。肺病组与结核组的 *hsp65* 和 *groES* 的灵敏度分别为 93% 和 77%,特异度分别为 80% 和 90%;肺病组与感染组的 *hsp65* 和 *groES* 的灵敏度分别为 77% 和 63%,特异度分别为 63% 和 96%;肺病组与健康对照组的 *hsp65* 和 *groES* 的灵敏度分别为 93% 和 76%,特异度分别为 83% 和 87%。

4 结 论

PRA 法检测 *hsp65* 和 *groES* 在非结核分枝杆菌

肺病诊断中具有较好的效果。

参考文献

- [1] 田景辉,吴利先. HIV/AIDS 合并 NTM 肺病在临床诊疗方面的研究进展[J]. 河北医科大学学报, 2018, 39(4): 476-480.
- [2] PASIPANODYA J G, OGBONNA D, DESHPANDE D, et al. Meta-analyses and the evidence base for microbial outcomes in the treatment of pulmonary *Mycobacterium avium*-intracellulare complex disease[J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72(suppl_2): i3-i19.
- [3] 张辉,黄晓英,李素红. 3 种方法检测结核分枝杆菌检测的比较[J]. 河南预防医学杂志, 2018, 47(7): 498-499.
- [4] 王晶. 不同检验方法对肺结核患者痰中结核分枝杆菌的检验价值分析[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2018(1): 43-44.
- [5] SAIFI M, JABBARZADEH E, BAHRMAND A R, et al. HSP65-PRA identification of non-tuberculosis mycobacteria from 4892 samples suspicious for mycobacterial infections[J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(8): 723-728.
- [6] ARAVINDHAN V, SULOCHANA S, NARAYANAN S, et al. Identification & differentiation of *Mycobacterium avium* & *M. intracellulare* by PCR-RFLP assay using the *groES* gene[J]. Indian J Med Res, 2007, 126(6): 575-579.
- [7] 中华医学会结核病学分会,《中华结核和呼吸杂志》编辑委员会. 非结核分枝杆菌病诊断与治疗专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(8): 572-580.
- [8] 车南颖,张海青. 结核病病理学诊断及研究进展[C]//中华医学会结核病学分会. 中华医学会结核病学分会 2014 年学术大会论文集. 镇江:江苏出版社, 2014: 197-199.
- [9] 李锋,卢水华. 重视 HIV/NTM 共感染患者的诊疗[J/CD]. 新发传染病电子杂志, 2018, 3(1): 55-56.
- [10] 王维勇,陈品儒,何间红,等. 外周血 T 淋巴细胞与 NTM 肺病发病类型的相关性[J]. 广州医科大学学报, 2017, 45(2): 90-93.
- [11] 吴跃,邓西子,胡凤玉,等. 艾滋病合并非结核分枝杆菌肺病与合并肺结核的临床特征比较[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2017, 44(3): 156.
- [12] 银春莲,谢周华,裴洁,等. 人类免疫缺陷病毒感染(HIV)/艾滋病(AIDS)合并非结核分枝杆菌(NTM)肺病 138 例治疗不良反应分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(63): 122-123.
- [13] 谢梅英. 常见致病性非结核分枝杆菌表型与基因型相关性探讨[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(31): 116-120.
- [14] 张玺,杨国儒,于雯雯. 结核感染 T 细胞斑点试验在支气管扩张症合并非结核分枝杆菌肺病诊断中的预测价值[J]. 潍坊医学院学报, 2017, 39(2): 14-16.
- [15] GONZALEZ-DIAZ E, MORFIN-OTERO(下转第 2119 页)

价值,笔者将进一步做大样本研究,为后期临床疾病治疗提供依据。

4 结 论

小儿支气管肺炎患者与体检健康者在 SAA、WBC 及免疫因子方面存在较大差异,临床可通过相应指标诊断患儿病情。

参考文献

- [1] 田梅,陈启斌,李雪梅,等. C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白 A 和 YKL-40 在小儿复发性肺炎中的联合检测作用[J]. 标记免疫分析与临床,2018,25(1):69-72.
- [2] 寇东灿. 阿奇霉素联合甲泼尼龙对小儿支原体肺炎患者 T 淋巴细胞亚群细胞因子表达及免疫功能的影响[J]. 药品评价,2018,9(1):54-57.
- [3] 王丽萍,陈守平,黄玉瑛,等. 软式支气管镜在儿童呼吸系统疾病中的应用[J]. 中国当代儿科杂志,2017,19(11):1174-1179.
- [4] 梁新妹,关如东,甘璐,等. 雾化联合抗生素对小儿支气管肺炎 hs-CRP、PCT 及免疫因子的影响观察[J]. 中国生化药物杂志,2016,8(2):82-84.
- [5] 汤昔康,李庆彦,李汝霞,等. 肺炎支原体感染对手足口病患儿免疫及细胞因子水平的影响分析[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(21):4952-4954.
- [6] 周亚男,陈玲,蒋春妙. 盐酸氨溴索与布地奈德联合治疗小儿支气管肺炎对患者 C-反应蛋白, WBC 水平的影响[J]. 中国生化药物杂志,2017,9(7):186-188.
- [7] 诸福棠. 实用儿科学[M]. 南京:南京大学出版社,2008:1171-1172.
- [8] 范春松,赵兵. 血常规联合血清高敏 C 反应蛋白, 红细胞沉降率水平检测对小儿支气管肺炎的诊断价值[J]. 医疗装备,2018,11(7):250-252.
- [9] 晏文芬,汤敏娟,洗洁能. 探讨降钙素原、超敏 C-反应蛋白和血清淀粉样蛋白 A 在老年慢性阻塞性肺疾病急性加重期中的表达及其临床意义[J]. 中国医学工程,2016,10(7):34-36.
- [10] 郁文静. 中性粒细胞/淋巴细胞计数比值在小儿支原体肺炎和支气管肺炎中的诊断和鉴别诊断意义[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(10):1430-1431.
- [11] 白利娟. 盐酸氨溴索联合布地奈德辅助治疗小儿支气管肺炎的临床效果及对 C 反应蛋白和白细胞计数的影响[J]. 中外医学研究,2016,14(18):22-23.
- [12] 吴学朕. SAA CRP 及白细胞计数对小儿细菌感染性疾病早期诊断的价值[J]. 浙江临床医学,2015,17(12):2191-2192.
- [13] 李振奎,王爱静,耿慧,等. 干扰素联合布地奈德雾化吸入治疗对小儿 RSV 毛细支气管炎的免疫调节作用[J]. 标记免疫分析与临床,2018,25(1):87-90.
- [14] 杨德平. SAA、CRP、WBC 指标联合检测对儿童早期病毒感染性疾病的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(4):546-548.
- [15] 李攀,阳剑,曹辉彩. 血清淀粉样蛋白 A 和 C-反应蛋白对儿童支原体肺炎的诊断价值[J]. 中国医药导报,2017,14(25):134-137.
- [16] 车向郁. 异丙托溴铵联合布地奈德、特布他林雾化吸入对支气管肺炎患儿细胞因子的影响[J]. 海南医学院学报,2016,22(17):1989-1991.
- [17] 刘艳红,查燕霞. 127 例 CRP 和 SAA 检测结果不一致病例分析[J]. 检验医学与临床,2016,13(2):198-200.
- [18] 张向峰,常会娟,张小宁,等. 小儿支气管肺炎伴血小板增多的临床特征及炎症因子的变化情况分析[J]. 中国实用医刊,2017,44(7):90-92.
- [19] 徐丹. 免疫球蛋白 IgM、IgG、IgA 水平检测对肺炎支原体感染患儿的诊断价值[J]. 实用检验医师杂志,2017,9(4):244-245.
- [20] 陈华侨,王宝珍. 免疫功能变化在支原体肺炎感染患儿中的检测价值[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2017,14(4):41-43.
- [21] 边红恩,陈团营,单海军. 麻杏石甘汤联合阿奇霉素对小儿支原体肺炎患者抗炎、促炎因子及免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):177-181.
- [22] 贵仁伍,任静,赵润. 喜炎平注射液联合阿奇霉素对儿童肺炎患儿炎症细胞因子、淋巴细胞亚群、红细胞免疫指标及免疫球蛋白的影响[J]. 中国妇幼保健,2017,32(20):5010-5013.

(收稿日期:2018-12-28 修回日期:2019-03-08)

(上接第 2115 页)

- R, PEREZ-GOMEZ H R, et al. Rapidly growing Mycobacterial infections of the skin and soft tissues caused by M[J]. Front Chel, 2018,47(1):1-8.
- [16] MENG Q, LI B X, XIAO X. Toward developing chemical modulators of Hsp60 as potential therapeutics[J]. Front Mol Biosci, 2018,5:35.
- [17] VERMA A K, SARIN R, ARORA V K, et al. Amplification of Hsp65 gene and usage of restriction endonuclease for identification of non tuberculous rapid grower mycobacterium[J]. Indian J Tuber, 2018,65(1):57-62.

- [18] JAMES C A, YU K K, GILLERON M A, et al. CD1b tetramers identify T cells that recognize natural and synthetic diacylated sulfoglycolipids from mycobacterium tuberculosis[J]. Cell Chem Biol, 2018,25(4):392-402.
- [19] SINGH A, KASHYAP V K. Specific and rapid detection of mycobacterium tuberculosis complex in clinical samples by polymerase chain reaction[J]. Interdiscip Perspect Infect Dis, 2012,2012:654694.

(收稿日期:2019-01-02 修回日期:2019-03-12)