

67 例住院腹泻患者艰难梭菌感染情况分析

王 杰, 卢莹莹, 钱景荣, 吕博文, 李文辉[△]

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院检验科, 黑龙江哈尔滨 150081)

摘要:目的 掌握哈尔滨医科大学附属肿瘤医院住院腹泻患者艰难梭菌感染(CDI)情况,探究该菌株分子特征和 CDI 危险因素。方法 收集住院腹泻患者的 67 份粪便标本,并实施厌氧分离培养。应用聚合酶链反应(PCR)检测艰难梭菌毒素基因 *tcdA*、*tcdB*,二元毒素基因 *cdtA*、*cdtB*,菌株进行多位点序列分型(MLST),并研究患者临床数据。结果 检出产毒艰难梭菌 10 株(14.9%),毒素 A 基因和毒素 B 基因均为阳性有 8 株(80.0%),2 株毒素 B 基因阳性(20.0%)。检出 5 种 ST 型。对 CDI 危险因素进行分析,应用氟喹诺酮类抗菌药物是艰难梭菌独立危险因素($OR=3.12, P=0.036$)。结论 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院住院患者中存在部分 CDI 情况,使用氟喹诺酮类抗菌药物与 CDI 有关。

关键词:艰难梭菌感染; 住院腹泻; 危险因素

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.24.021

中图法分类号:R574.62

文章编号:1673-4130(2019)24-3028-05

文献标识码:A

Analysis of Clostridium difficile infection in 67 hospitalized patients with diarrhea

WANG Jie, LU Yingying, QIAN Jingrong, LYU Bowen, LI Wenhui[△]

(Department of Clinical Laboratory, Cancer Hospital Affiliated to Harbin

Medical University, Harbin, Heilongjiang 150081, China)

Abstract: **Objective** To investigate the infection of Clostridium difficile in patients with diarrhea in the Cancer Hospital Affiliated to Harbin Medical University. **Methods** A total of 67 fecal samples were collected from diarrhea patients in hospital. Anaerobic isolation culture by selective medium. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect clostridium difficile toxin genes *tcdA*, *tcdB*, *cdtA* and *cdtB*, and MLST typing was performed for the strains, and clinical data were analyzed. **Results** Among the 67 samples, 10 strains of clostridium difficile (14.9%) were detected, among which 8 strains were positive for both toxin A gene and toxin B gene (80.0%) and 2 strains were positive for toxin B gene (20.0%). A total of 5 ST types were detected. According to the risk factors analysis of clostridium difficile patients, the use of fluoroquinolones was an independent risk factor of CDI ($OR \text{ value}=3.125, P<0.05$). **Conclusion** Some of the patients in the Cancer Hospital Affiliated to Harbin Medical University were infected with Clostridium difficile. The use of fluoroquinolones were related to Clostridium difficile infection.

Key words: Clostridium difficile infection; nosocomial diarrhea; risk factors

艰难梭菌是一种革兰阳性、厌氧、产毒的芽孢杆菌,它反映了该物种在分类学上与梭状芽孢杆菌属其他成员之间的差异^[1-2]。艰难梭菌的孢子通过粪-口途径传播,病原体广泛存在于环境中。大约 5% 的成年人和 15%~70% 的婴儿存在艰难梭菌定植,在住院患者或疗养院居民的定植患病率高出数倍^[3]。1935 年研究者首次从健康新生儿的粪便中将艰难梭菌分离出来,直到 20 世纪 70 年代,它仍被认为是一种罕见的微生物,但存在于正常的肠道微生物群中。抗菌药物使用后,艰难梭菌在肠道疾病中有更高的发病率^[4-5]。1974 年有研究发现,接受克林霉素治疗的患者中有 21% 出现腹泻,经进一步内窥镜检查,50% 的

病例可见假膜^[4]。在 20 世纪末,艰难梭菌感染(CDI)的发生率明显增加^[6]。目前,CDI 已成为严重的医院内病原菌感染之一。

CDI 的危险因素主要包括近一段时间使用抗菌药物、高龄、应用质子泵抑制剂、长时间住院、基础疾病及免疫功能受损^[7]。CDI 是大型医院爆发疫情的一个常见原因,治疗费用昂贵,造成医疗系统财政负担沉重^[8-9]。国内对艰难梭菌引起相关疾病的报道不多,检出的阳性率存在差异。尽早识别与检测艰难梭菌,了解其危险因素,有针对性地防治,对减轻临床诊疗和疾病负担具有重要意义。因此,为了解哈尔滨地区 CDI 情况,对临床资料进行回顾性分析,对预防和

作者简介:王杰,女,在读研究生,主要从事临床检验诊断研究。 [△] 通信作者, E-mail: iamliwh@sina.com。

本文引用格式:王杰,卢莹莹,钱景荣,等. 67 例住院腹泻患者艰难梭菌感染情况分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(24): 3028-3032.

控制 CDI 提供可靠依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2018 年 1—12 月哈尔滨医科大学附属肿瘤医院住院腹泻患者的粪便标本共 67 份,入组患者住院期间均应用抗菌药物治疗,抗菌药物使用时间最短 1 d,最长 25 d,且住院期间发生腹泻,即 24 h 内有 3 次或 3 次以上未成形大便。将粪便标本放置在无菌容器内,−80 ℃ 条件下储存待检。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 细菌培养及鉴定试剂 环丝氨酸、头孢西丁、果糖琼脂选择培养基、肉汤、厌氧袋;甘油、无水乙醇、蒸馏水;0.5 mL、1.5 mL eppendorf(EP)管。

1.2.2 仪器设备 系统显微镜;梅里埃质谱仪、离心机、纯水器、−80 ℃、−20 ℃ 冰箱、CO₂ 恒温培养箱、生物安全柜;振荡器、高温灭菌锅;超净工作台;凝胶成像系统分析仪;微量移液器,核酸电泳仪。

1.3 方法

1.3.1 细菌培养 挑取约 0.5 g 粪便标本,将其置于 EP 管,等量添加无水乙醇,混合均匀,基于 3 000 r/min 展开离心处理,10 min 后,弃去上清,取粪便标本沉淀物接种到环丝氨酸、头孢西丁、果糖琼脂培养基,在 37 ℃ 条件下进行厌氧培养 48 h 后挑选出表面粗糙、凸起、灰白色、边缘不齐、有马粪味的可疑菌落,革兰染色,筛选后接种到血平板培养基,在 37 ℃ 条件下厌氧培养、48 h 进行分离纯化。使用飞行时间质谱仪对分离纯化后的细菌鉴定。

1.3.2 菌株保存 分离纯化得到的菌株洗脱到含 20% 甘油肉汤培养基中,−80 ℃ 冰箱储存备用。

1.3.3 煮沸法提取 DNA 艰难梭菌在血平板中进行接种,在 37 ℃ 条件下进行厌氧培养 48 h 后,使用无菌棉签洗脱到含有 1 mL 的蒸馏水 EP 管中。在沸水中处理 10 min,基于 12 000 r/min 展开离心处理,10

min 后在上清液中提取细菌 DNA,并储存于 −20 ℃ 冰箱中。

1.3.4 PCR 检测艰难梭菌毒素基因 检测艰难梭菌毒素基因 tcdA、tcdB,扩增目的基因为 1 265 bp 及 203 bp。检测艰难梭菌二元毒素 cdtA、cdtB,扩增目的基因为 375 bp 及 510 bp。PCR 反应体系 25 μL,依次加入 0.2 μL 上下游引物;缓冲液 10×2.5 μL;dNTPs 2 μL;DNA 模板 2 μL;Tap 酶 1.5 μL;无菌 ddH₂O 18.45 μL。所有扩增产物展开 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,电泳条件为 200 V、90 mA,10 min 后将胶块放置在凝胶成像系统观察结果。

1.3.5 多位点序列分型(MLST) 选取 adk、atpA、dxr、glyA、recA、sodA、tpi7 个管家基因进行 PCR 扩增,PCR 反应体系 50 μL,依次加入上下游引物各 0.5 μL;缓冲液 10×5 μL;dNTPs 4 μL;DNA 模板 3 μL;Tap 酶 0.25 μL;无菌 ddH₂O 36.75 μL。将 PCR 扩增产物送北京康普森生物技术有限公司进行双向测序。扩增位点序列与数据库(<http://pubmlst.org/cdifficile>)比对,在每个位点获得特异的等位基因数,形成对应的等位基因谱,确定相应的序列类型。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计学软件进行分析。计数资料组间比较采用 χ^2 检验;计量资料中正态分布采用 *t* 检验,非正态分布采用秩和检验;CDI 危险因素分析采用 Logistic 回归;*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 艰难梭菌菌株分离、毒素检测结果 67 例粪便标本通过厌氧培养共获得 10 株艰难梭菌,艰难梭菌阳性率 14.9%。产毒菌株共有 10 株,毒素 A 基因和毒素 B 基因全部为阳性的共 8 株,检出率为 80.0%,1 株为二元毒素基因阳性;10 株中,2 株仅有毒素 B 基因阳性,检出率为 20.0%。

表 1 患者基本资料分析

项目	CDN 组(<i>n</i> = 55)	CDI 组(<i>n</i> = 12)	统计值	<i>P</i>
年龄(岁)	59.1 ± 15.05	64.67 ± 13.8	<i>t</i> = −1.036	0.304
性别(男/女, <i>n</i> / <i>n</i>)	36/16	5/4	χ^2 = 0.651	0.420
住院时间(d)	6.0(4.5~11.5)	11.0(7.0~17.0)	<i>Z</i> = −1.951	0.051
红细胞(×10 ¹² /L)	4.20 ± 0.77	4.19 ± 0.93	<i>t</i> = 0.043	0.966
血红蛋白(g/L)	126.89 ± 26.60	125.10 ± 27.38	<i>t</i> = 0.186	0.853
白细胞(×10 ⁹ /L)	7.20(5.87~8.58)	7.9(6.95~10.15)	<i>Z</i> = −1.505	0.132
中性粒细胞(×10 ⁹ /L)	4.72(4.16~6.55)	5.17(4.54~8.46)	<i>Z</i> = −1.027	0.304
淋巴细胞(×10 ⁹ /L)	1.74 ± 0.89	1.70 ± 1.06	<i>t</i> = 0.114	0.910
血小板(×10 ⁹ /L)	256.37 ± 126.65	226.33 ± 51.27	<i>t</i> = 0.698	0.488
清蛋白(g/L)	39.00(34.25~43.00)	38.10(27.20~45.80)	<i>Z</i> = −0.366	0.714
血钾(mmol/L)	4.20(3.80~4.40)	4.20(3.65~4.30)	<i>Z</i> = −0.469	0.639
血清肌酐(μmol/L)	81(71~93)	86.5(59~103)	<i>Z</i> = −0.188	0.851
尿素氮(mmol/L)	5.00(3.90~6.20)	6.35(4.29~12.71)	<i>Z</i> = −1.539	0.124

表 2 CDI 危险因素分析

项目	CDI 组(<i>n</i>)	CDN 组(<i>n</i>)	OR	95%CI(上限,下限)	<i>P</i>
质子泵抑制剂					
是	9	21	1.70	0.318~9.075	0.967
否	3	34			
胃肠道手术					
是	11	18	0.46	0.053~4.133	0.713
否	1	37			
大环内酯类					
是	7	9	0.32	0.893~1.417	1.158
否	5	46			
氟喹诺酮类					
是	9	5	3.12	0.418~15.197	0.036
否	3	50			
碳青霉烯类					
是	4	1	1.50	0.235~38.599	3.945
否	8	49			
氨基糖苷类					
是	0	1	0.34	0.944~1.109	0.296
否	12	54			
一二代头孢					
是	1	2	1.17	0.087~5.508	0.180
否	11	53			
三四代头孢					
是	1	2	0.34	0.035~3.431	0.835
否	11	53			
非甾体类抗炎药					
是	6	4	0.96	0.685~0.908	0.474
否	6	51			
侵入性检查					
是	10	13	1.53	0.849~1.729	0.301
否	2	42			
化疗					
是	4	1	0.52	0.114~6.570	0.162
否	8	54			
激素					
是	1	1	0.74	0.023~1.228	0.442
否	10	54			
基础疾病					
是	5	21	2.75	0.774~1.279	1.589
否	7	34			

2.2 艰难梭菌 MLST 分型结果 MLST 分型:共有 5 个 ST 型,5 株 ST2 型,2 株 ST3 型,1 株 ST102 型,1 株 54 型,1 株 201 型。基因分型结果显示,本地区艰难梭菌基因型别较为分散,但是 ST2 型为主要的基

因型别(50%)。
2.3 CDI 危险因素 67 例患者中,CDI 组 12 例,非艰难梭菌院内腹泻组(CDN 组)55 例。两组患者平均年龄分别为(59.1±15.05)岁和(64.67±13.8)岁,差

异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。分析两组患者的危险因素表明,使用氟喹诺酮类抗菌药物是 CDI 的独立危险因素(OR 值=3.12, $P=0.036$),患者性别、基础疾病、胃肠道手术、侵入性检查、化疗药物、质子泵抑制剂的使用等均与 CDI 发生无关($P>0.05$)。CDN、CDI 两组患者血红细胞、血红蛋白、白细胞、清蛋白、血清肌酐、尿素氮等实验室检查结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

3 讨 论

近年来,艰难梭菌已成为引起院内感染性腹泻和肠炎的主要病原体。由于抗菌药物滥用,造成肠道菌群紊乱,艰难梭菌大量增殖,同时释放毒素,导致感染性疾病的出现,其主要的表现就是肠道病理性损伤^[10-11]。我国 CDI 患病率不断上升,2009 年我国上海市一家医院研究发现中国住院患者 CDI 患病率仅为 1.7/10 000 住院患者。在一篇荟萃分析中显示,我国 2009—2015 年 CDI 引起的住院患者腹泻率是 19%,高于欧美国家报道。本研究中 CDI 患病率是 14.9%,与国外研究报道接近^[12]。

CDI 危险因素较多,可分为宿主因素如年龄、基础性疾病、长期住院、免疫抑制使用等和医源性因素如使用抗菌药物、胃肠道手术、使用质子泵抑制剂、肿瘤化疗等^[13]。高龄、长时间住院和应用抗菌药物是 CDI 主要危险因素^[13]。尽管本研究未发现高龄与 CDI 有关,但研究表明,艰难梭菌在老年人群中易受感染。相比于年龄 <65 岁的患者,患者年龄大于或等于 65 岁发生 CDI 的风险增加 5~10 倍,年龄大于或等于 65 岁不仅是 CDI 本身的重要危险因素,也是包括 CDI 严重程度和病死率在内不良临床结局的重要危险因素^[8]。

住院患者艰难梭菌定植的比例因国家、患者年龄和住院时间的不同而不同^[14-15]。本研究中未发现住院时间与 CDI 有关。研究发现在住院的第 1 天,艰难梭菌的患病率在 2.1%~20.0%,并且随着住院时间的延长而增加,例如 HUANG 等^[16]的一项研究表明,CDI 患病率上升到 20.0%~45.4%。PONNADA 等^[17]的一项研究表明,住院 1 个月后 CDI 患病率从 2.1%增加到 50.0%。在 KHANNA 等^[18]的一项研究中,住院时间超过 1 个月 CDI 患病率在 1%~50%。

几乎每一种抗菌药物都与 CDI 有关,包括用于治疗 CDI 的药物甲硝唑和万古霉素。与其他抗菌药物对比,碳青霉烯类、头孢菌素类、克林霉素及氟喹诺酮类抗菌药物诱发 CDI 的可能性要更高一些^[19-20]。该研究发现氟喹诺酮类药物通常被认为是 CDI 的危险因素,优势比(OR 值)为 5.651 4^[20]。降低住院患者氟喹诺酮类药物用量,4 年内 CDI 患病率下降了 17.45%^[20]。在抗菌治疗期间和治疗 4 周后,发生

CDI 的风险是治疗前的 8~10 倍,在接下来的 2 个月会增加 3 倍^[4]。正如 BROWNE 等^[21]的一项研究,在过去 30 d 中,近期使用抗菌药物的患者 CDI 患病率高出 2.41 倍,抗菌药物使用的增加与抗菌药物相关性腹泻的流行具有一致性^[12,21]。在本研究中仅发现氟喹诺酮类药物与 CDI 有关,因此抗菌药物使用在本次研究中未能全面体现出来。

4 结 论

现阶段,艰难梭菌医院感染患病率不断增加,CDI 问题获得社会广泛关注。本研究中发现氟喹诺酮类药物的使用是 CDI 独立危险因素,住院患者中存在部分 CDI 情况。研究当地流行病学情况和危险因素,对后续针对性治疗提供依据。在实际工作当中,应合理使用抗菌药物,控制医疗机构内艰难梭菌传播。

参考文献

- [1] VONAESCH P, ANDERSON M, SANSONETTI P J, et al. Pathogens, microbiome and the host: emergence of the ecological Koch's postulates[J]. FEMS Microbiol Rev, 2018, 42(3): 273-292.
- [2] LAWSON P A, CITRON D M, TYRRELL K L, et al. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) PrAvot 1938[J]. Anaerobe, 2016, 40(1): 95-99.
- [3] LI Y T, CAI H F, WANG Z H, et al. Systematic review with meta-analysis: long-term outcomes of faecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection[J]. Alimen Pharmacol, 2016, 43(4): 445-457.
- [4] SIMOR A E. Diagnosis, management, and prevention of *Clostridium difficile* infection in long-term care facilities: a review[J]. J American Geria, 2010, 58(8): 1556-1564.
- [5] CAROFF D A, YOKOE D S, KLOMPAS M. Evolving Insights Into the Epidemiology and Control of *Clostridium difficile* in Hospitals[J]. Clin Infect Dis, 2017, 65(7): 1232-1238.
- [6] LOO V G, BOURGAULT A M, POIRIER L, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization[J]. New Engl J, 2011, 365(18): 1693-1703.
- [7] ARCHBALD-PANNONE L. Survey of specific infection control policies in local long-term care facilities[J]. Inter J Clin Med, 2014, 5(7): 414-419.
- [8] DESAI K, GUPTA S B, DUBBERKE E R, et al. Epidemiological and economic burden of *Clostridium difficile* in the United States: estimates from a modeling approach [J]. BMC Infect Dis, 2016, 16(8): 303.
- [9] HUNTER J C, MU Y, DUMYATI G K, et al. Burden of nursing home-onset *clostridium difficile* infection in the united states: estimates of incidence and patient outcomes [J]. Open Forum Infect Dis, 2016, 3(1): 196-198.
- [10] BENOIT S R, NSA W, RICHARDS C L, et al. Factors associated with antimicrobial use in nursing homes: a

- multilevel model[J]. J American Geri, 2008, 56(11): 2039-2044.
- [11] DETHLEFEN L, RELMAN D A. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 113(32): 4554-4561.
- [12] 谢和宾, 曾鸿, 尹柯, 等. 我国住院腹泻患者艰难梭菌感染率的荟萃分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(5): 961-964.
- [13] BROWN K, VALENTA K, FISHMAN D, et al. Hospital ward antibiotic prescribing and the risks of Clostridium difficile infection[J]. JAMA Inter Med, 2015, 175(4): 626-633.
- [14] CZEPIEL J, PITUCH H, KUIJPER E J, et al. Clostridium difficile infection: review[J]. Europ J Clin Microbiol, 2019, 46(4): 532-535.
- [15] GUH A Y, MU Y, BAGGS J, et al. Trends in incidence of long-term-care facility onset Clostridium difficile infections in 10 US geographic locations during 2011-2015[J]. American J infect, 2018, 46(7): 840-842.
- [16] HUANG Y P, LEE J C, LIN H J, et al. Clinical impact of Clostridium difficile colonization[J]. J Microbiol, 2015, 48(3): 241-248.
- [17] PONNADA S, GURRERO D M, JURY L A, et al. Acquisition of Clostridium difficile colonization and infection after transfer from a veterans affairs hospital to an affiliated long-term care facility[J]. Infect Control Epidemiol, 2017, 38(9): 1070-1076.
- [18] KHANNA S, BADDOUR L M, HUSKINS W C, et al. The epidemiology of Clostridium difficile infection in children: a population-based study[J]. Clin Infect Dis, 2013, 56(10): 1401-1406.
- [19] REA M C, DOBSON A, O'SULLIVAN O, et al. Effect of broad-and narrow-spectrum antimicrobials on Clostridium difficile and microbial diversity in a model of the distal colon[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(1): 4639-4644.
- [20] VINENT C, MILLER M A, EDENS T J, et al. Bloom and bust: intestinal microbiota dynamics in response to hospital exposures and Clostridium difficile colonization or infection[J]. Microb, 2016, 4(1): 12.
- [21] BROWNE H P, NEVILLE B A, FOESTER S C, et al. Transmission of the gut microbiota: spreading of health[J]. Nature Rev, 2017, 15(9): 531-543.

(收稿日期: 2019-05-02 修回日期: 2019-09-12)

(上接第 3027 页)

- [2] 梁芳, 葛亮, 张宪波, 等. NCCLS EP9-A2 文件在不同血细胞分析仪结果比对中的应用[J]. 航空航天医学杂志, 2011, 22(2): 216-218.
- [3] 唐仕华, 杨柠, 陈丹, 等. XN-9000 全自动血液分析仪性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(17): 2471-2473.
- [4] 中华人民共和国卫生行业标准. 血细胞分析的校准指南: WS/T347-2011[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.
- [5] 中华人民共和国卫生行业标准. 临床血液学检验常规项目分析质量要求: WS/T406-2012[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.
- [6] National Committee for Clinical Laboratory. Evaluation of precision Performance of quantitative measurement methods: EP5-A2[S]. Wayne, PA, USA NCCLS, 2004.
- [7] National Committee for Clinical Laboratory. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedure: EP6-A[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [8] 苏日塔拉, 苏雅勒. XE-5000 线性范围验证实验与结果分析[J]. 内蒙古医学杂志, 2012, 44(15): 36-38.
- [9] 中华人民共和国卫生行业标准. 临床化学设备线性评价指南: WS/T408-2012[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.
- [10] 中华人民共和国卫生行业标准. 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证: WS/T420-2013[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2013.
- [11] 中华人民共和国卫生行业标准. 临床检验方法检出能力的确立和验证: WS/T514-2017[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2017.
- [12] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室——测量不确定度的评定与表达: CNAS-TRL-001[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2012.
- [13] 卢妙莲, 胡珺, 高云龙, 等. 血液常规检验项目测量不确定度评定[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(11): 1817-1819.
- [14] 中华人民共和国卫生行业标准. 医疗机构内定量检验结果的可比性验证指南: WS/T407-2012[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.
- [15] 张磊, 任晓艳, 何超, 等. 应用 CLSI EP9-A2 文件对不同血细胞分析仪进行比[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(14): 1988-1989.
- [16] 张恩, 王峰, 王刚, 等. 同一生化分析仪不同模块间检测结果的一致性探讨[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(3): 481-483.
- [17] 万腊根, 江梅, 张世银, 等. KX-21N 线性范围的评价方法与结果分析[J]. 实验与检验医学杂志, 2009, 12(6): 611-614.
- [18] 尚红, 王毓三, 申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 1025-1026.

(收稿日期: 2019-04-18 修回日期: 2019-08-13)