

荧光熔解曲线法和 GeneXpert MTB/RIF 技术对结核分枝杆菌复合群和利福平耐药检测结果的比较

刘婷¹ 梁颖² 伍仕敏² 章敏¹

【摘要】 目的:比较荧光熔解曲线法和 GeneXpert MTB/RIF 技术对不同样本结核分枝杆菌复合群和利福平耐药性的检测结果,旨在为临床不同类型样本如何选择试验方法提供参考,以提高检出率。方法:收集 2019 年 8 月—2020 年 7 月收治的疑似和确诊结核患者的临床资料和实验室数据,回顾性分析荧光熔解曲线法和 GeneXpert MTB/RIF 技术检测结核分枝杆菌复合群和利福平耐药情况。结果:荧光熔解曲线法共检测样本 937 例,检出结核分枝杆菌复合群 282 例,阳性率 30.10% (282/937);其中呼吸道样本、术后标本阳性率分别为 29.07% (252/867)、57.69% (30/52),其他类型样本未检测出阳性。GeneXpert MTB/RIF 共检测样本 3807 例,检出结核分枝杆菌复合群 1315 例,阳性率 34.54% (1315/3807);其中呼吸道样本、术后标本、胸水、腹水、脑脊液、其他体液、24 h 尿沉渣以及粪阳性率分别为 36.05% (1099/2799)、75.09% (202/269)、14.34% (71/495)、9.62% (5/52)、10.87% (15/138)、22.22% (4/18)、29.63% (8/27) 和 11.11% (1/9)。GeneXpert MTB/RIF 技术检测结核分枝杆菌复合群的阳性率明显高于荧光熔解曲线法 ($\chi^2=6.655, P=0.010$),其中,呼吸道样本、术后标本的检出率明显高于其他样本类型 ($\chi^2=29.584, P<0.01; \chi^2=6.584, P=0.017$)。133 例患者同时进行了荧光熔解曲线法、GeneXpert MTB/RIF 技术和结核菌培养及表型药敏试验,结果表明表型药敏检测利福平敏感率为 68.42% (91/133)、利福平耐药率为 31.58% (42/133);荧光熔解曲线法检测结果为利福平敏感率为 63.91% (85/133)、利福平耐药率为 30.83% (41/133);GeneXpert MTB/RIF 技术检测结果为利福平敏感率为 66.92% (89/133)、利福平耐药率为 31.58% (42/133);2 种分子药敏检测结果与表型药敏检测结果比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结论:GeneXpert MTB/RIF 技术对于临床不同类型的样本结核分枝杆菌复合群的检出率明显优于荧光熔解曲线法,但 2 种方法检测利福平耐药得到的结果与表型药敏无差异。特别是 GeneXpert MTB/RIF 技术,因其操作高度自动化,对结核分枝杆菌复合群的检出率较高,更加适合结核患者病原学快速诊断的需求。

【关键词】 荧光熔解曲线法; GeneXpert MTB/RIF 技术; 结核分枝杆菌复合群; 利福平; 耐药

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2022.02.007

[中图分类号] R457.1 [文献标志码] A

Results comparison of fluorescence PCR melting curve method and GeneXpert MTB/RIF technology on detecting Mycobacterium tuberculosis complex and rifampicin resistance

LIU Ting¹ LIANG Ying² WU Shimin² ZHANG Min¹

¹Department of Laboratory Medicine, Wuhan Jinyintan Hospital, Wuhan, 430032, China;

²Department of Laboratory Medicine, Yangtze River Shipping General Hospital)

Corresponding author: WU Shimin, E-mail: mintyrain@126.com

Abstract Objective: To provide references for options of clinical detection methods in different samples by comparing the results of fluorescence PCR melting curve and GeneXpert MTB/RIF on detecting Mycobacterium tuberculosis complex (MTC) and rifampicin resistance, so as to improve the detection rate of tuberculosis. **Methods:** Clinical and laboratory data of suspected and confirmed tuberculosis patients admitted to our hospital from August 2019 to July 2020 were collected, and the detection results of MTC and rifampicin resistance which detected by fluorescence melting curve and GeneXpert MTB/RIF were retrospectively analyzed. **Results:** A total of 937 samples were detected by the fluorescence melting curve, and 282 cases of MTC were detected with a positive rate of 30.10% (282/937), of which the positive rates of samples in the respiratory tract and postoperative samples were 29.07% (252/867) and 57.69% (30/52), respectively. There was no positive result in other samples. A total of 3807 samples were detected by GeneXpert MTB/RIF, and 1315 cases of MTC were detected with a positive rate of 34.54% (1315/3807). The positive rates of samples in the respiratory tract, postoperative specimens, pleural fluid, ascites, cerebrospinal fluid, other body fluids, 24-hour urine sediment, and feces were 36.05% (1099/2799), 75.09% (202/269), 14.34% (71/495), 9.62% (5/52), 10.87% (15/138), 22.22% (4/18), 29.63% (8/27) and 11.11% (1/9), respectively. The positive rate of GeneXpert MTB/RIF in detecting MTC was

¹武汉市金银潭医院检验科(武汉,430032)

²长江航运总医院检验科

通信作者:伍仕敏, E-mail: mintyrain@126.com

significantly higher than that of fluorescent PCR melting curve($\chi^2=6.655, P=0.010$). Among them, the detection rate of samples in the respiratory tract and postoperative specimens was significantly higher than that of other samples($\chi^2=29.584, P<0.01; \chi^2=6.584, P=0.017$). A total of 133 patients were simultaneously detected by fluorescence melting curve, GeneXpert MTB/RIF and tuberculosis culture and phenotypic drug sensitivity test. The results showed that the rate of rifampin sensitivity was 68.42%(91/133) and the rate of rifampicin resistance was 31.58%(42/133) in the phenotypic drug sensitivity test, and the rate of rifampicin sensitivity was 63.91%(85/133) and the rate of rifampicin resistance was 30.83%(41/133) in fluorescence melting curve. And the results showed that the rate of rifampicin sensitivity was 66.92%(89/133) and the rate of rifampicin resistance 31.58%(42/133) in GeneXpert MTB/RIF. The results between the two molecular drug sensitivity tests and the phenotypic drug sensitivity test had no statistical difference($P>0.05$). **Conclusion:** The detection rate of GeneXpert MTB/RIF for different types of clinical samples of MTC is significantly higher than the fluorescence melting curve, and there is no difference between the results obtained by the two molecular methods for detecting rifampicin resistance and the phenotypic drug sensitivity. Particularly, because of the highly automated operation of the GeneXpert MTB/RIF and its higher detection rate of MTC, it may be more suitable for the need of rapid pathogenic diagnosis in tuberculosis patients.

Key words fluorescence melting curve; GeneXpert MTB/RIF; mycobacterium tuberculosis complex; rifampicin; drug resistance

结核病属于临床较为常见的传染病之一,是由结核分枝杆菌(mycobacterium tuberculosis, MTB)复合群感染引起的以肺部为主的多器官慢性感染性疾病。我国结核病发病率位于世界第二,感染率约为 44.5%,目前已成为十大致死原因之一^[1]。因此,尽早诊断、治疗对于控制结核病十分关键。目前,细菌学检查仍然是结核病诊断的“金标准”。

近年来,随着检验医学的发展,分子诊断在结核病诊断中的灵敏度、特异性表现出较高的优势^[2]。荧光聚合酶链反应(PCR)探针熔解法作为高效基因扩增方式,通过熔解分析,对特定耐药基因熔点变化进行监测,已在临床上广泛应用^[3]。巢式实时荧光 PCR 法(GeneXpert MTB/RIF 技术)是一种基于实时聚合酶链反应,操作简单,既能检测出结核分枝杆菌,还能对利福平耐药性进行分析^[4],且与体外药敏试验检测利福平耐药具有较高的一致性^[5]。本研究旨在探讨采用荧光熔解曲线法和 GeneXpert MTB/RIF 技术 2 种分子检测方法对结核分枝杆菌 DNA 和利福平耐药性检测结果的比较,为其他临床实验室结核病诊断的方法选择上提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 样本来源

2019 年 8 月—2020 年 7 月在我院结核病区住院患者(包括肺结核、结核性胸膜炎、肺外结核)3807 例,其中男 2532 例,女 1275 例;平均年龄(45.63±18.43)岁。所有入选病例均符合中华人民共和国卫生行业标准《肺结核诊断》^[6]中疑似病例、确诊病例、肺外结核诊断标准。

1.2 试剂和材料

厦门致善生物科技股份有限公司的结核分枝杆菌利福平耐药突变检测试剂盒(荧光熔解曲线

法);美国赛沛公司 GeneXpert MTB/RIF 试剂盒(巢式实时荧光 PCR 法);BD 公司 BACTEC MGIT960 全自动结核培养系统;安图生物结核分枝杆菌药敏试剂盒;珠海贝索分枝杆菌罗氏培养液。

1.3 检测方法

1.3.1 荧光熔解曲线法 将样本加入适量 4% NaOH 进行处理,震荡后静置 15~30 min 进行充分液化。取 250 μ L 试剂盒提供的 TB DNA 提取液,封口后 99 $^{\circ}$ C 加热 20 min,降温后 14 000 $\times g$ 离心 10 min,取上清液为 PCR 扩增模板。反应体系为 20 μ L PCR 反应液 A/B 加 5 μ L 提取样品。扩增程序按照试剂盒说明书设置。通过比较待测样品与阳性对照之间熔解曲线的熔点(T_m 值)的差异来判断待测样品中是否发生突变。当 4 个通道中样品的熔点与阳性对照的熔点均一致时,即为野生株,说明样品中检出了结核分枝杆菌,且对利福平敏感。当 4 个通道中出现某一个通道的熔点低于阳性对照时,说明这个区域内发生了突变,即为利福平耐药株。当试验扩增产物浓度太低时,会出现提示耐药不明确的结果。

1.3.2 GeneXpert MTB/RIF 采取膜过滤法提取核酸,通过超声破碎细胞,然后通过滤膜来分离蛋白和核酸。视不同样本情况先进行前处理,如痰样本过于黏稠,可先加入适量 4% NaOH,震荡混匀后静置 15~20 min,待样本充分液化后进行操作。组织样本需先加入少量生理盐水后研磨,至样本为均匀悬液样,再取待测样本约 0.5 mL 加入试剂盒提供样本处理液 1.5 mL 中,来回振摇 10~20 次,使其充分混匀后,静置 15 min,取液化后样品(尽量不含颗粒和块状物)加入反应盒指定孔,避免气泡,尽快上机进行试验。试验结束后可软件自动判读结果,判断待测样本中是否检出结核分枝杆菌

复合群,如果检出,同时判断是否检出 Rif Resistance。当样本中含有结核分枝杆菌复合群时,5个目的片段分别扩增,当5根探针均为阳性时,即为检出结核分枝杆菌复合群且对利福平敏感。如果这5个目的片段有突变,就会有相应探针的扩增失败,单根探针的结果为阴性,则提示检出结核分枝杆菌复合群且对利福平耐药。系统软件同时设定探针中较低的 Ct 值为模板起始浓度,如果某根探针扩增阳性,但 Ct 值跟起始浓度差大于系统设定范围,也会被判定为利福平耐药。当扩增产物浓度过低,系统计算值会处于灰区,出现耐药不明确的结果。

1.3.3 结核菌培养 待检样本按比例使用 4% NaOH 进行液化处理,充分震荡后静置 15~20 min,加入磷酸盐缓冲液 PBS 至 50 mL,颠倒混匀后 4℃ 3000 × g 离心 20 min,弃去上清液,加入 2~3 mL PBS 重悬,加 500 mL 至 MGIT960 结核菌培养系统液体培养管,培养管中预先加入配套添加剂和杂菌抑制剂,放入自动培养仪培养。待机器阳性报警后取出阳性培养管,吸取底部培养液 0.5~1.0 mL,加到罗氏培养管,转到 35℃ 培养箱继续生长。

1.3.4 表型药敏试验 将罗氏培养基上新鲜的阳性菌落,磨菌稀释至 0.5 麦氏浓度,取 100 μL 加入到试剂盒配套液体培养液中,颠倒混匀 20 次左右,加样到药敏板,放入封口袋,35℃ 培养箱培养,1 周后观察对照孔生长情况,超过培养孔 1/2,即可作为对照观察含药孔的生长情况,记录结果,同时记录 PNB、TCH 孔结果,以确定菌株是否为结核分

枝杆菌复合群。

1.4 统计学方法

采用统计学软件 SPSS 20.0 进行数据处理,计量资料先进行 Shapiro-Wilk 正态性检验,均确认近似服从正态分布,以 $\bar{X} \pm S$ 表示,组间比较行独立样本 *t* 检验,计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验,无特殊说明均以 $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义;相关性分析采用 Spearman 相关性模型。

2 结果

2.1 荧光熔解曲线法/GeneXpert MTB/RIF 技术检测结核分枝杆菌复合群结果

荧光熔解曲线法共检测样本 937 例,检出结核分枝杆菌复合群 282 例,阳性率 30.10%。GeneXpert MTB/RIF 技术共检测样本 3807 例,检出结核分枝杆菌复合群 1315 例,阳性率 34.54%,见表 1。

2 种检测方法对所有类型样本的阳性检出率有显著差异, GeneXpert MTB/RIF 技术检测阳性率明显高于荧光熔解曲线法 ($\chi^2 = 6.655, P = 0.010$)。2 种检测方法对呼吸道样本的阳性检出率有显著差异, GeneXpert MTB/RIF 技术检测阳性率明显高于荧光熔解曲线法 ($\chi^2 = 29.584, P < 0.01$); 2 种检测方法对术后标本的阳性检出率有显著差异, GeneXpert MTB/RIF 技术检测阳性率明显高于荧光熔解曲线法 ($\chi^2 = 6.584, P = 0.017$)。除呼吸道样本、术后标本外, GeneXpert MTB/RIF 在其他样本如胸腹水、脑脊液、尿、粪及其他体液样本中的阳性检出率亦明显高于荧光熔解曲线法。

表 1 2 种检测方法检出结核分枝杆菌复合群的阳性率

样本类型	荧光熔解曲线法			GeneXpert MTB/RIF 技术		
	检测数	阳性数	阳性率/%	检测数	阳性数	阳性率/%
呼吸道样本	867	252	29.07	2799	1099	36.05
术后标本	52	30	57.69	269	202	75.09
胸水	10	0	/	495	71	14.34
腹水	4	0	/	52	5	9.62
脑脊液	3	0	/	138	15	10.87
其他体液	/	/	/	18	4	22.22
尿	1	0	/	27	8	29.63
粪	/	/	/	9	1	11.11
合计	937	282	30.1	3807	1315	34.54

呼吸道样本包括痰及肺泡灌洗液;术后标本(包括肺组织、淋巴结、脓液、分泌物等);其他体液包括关节腔液、胸腔积液、腹腔积液、心包积液、引流液。

2.2 荧光熔解曲线法、GeneXpert MTB/RIF 技术检测利福平耐药结果

133 例患者同时进行了荧光熔解曲线法、GeneXpert MTB/RIF 以及结核菌培养及表型药敏试验,结果表明表型药敏检测利福平敏感率为

68.42%(91/133)、利福平耐药率为 31.58%(42/133);荧光熔解曲线法检测利福平敏感率为 63.91%(85/133)、利福平耐药率为 30.83%(41/133)、耐药性不确定株占 5.26%(7/133);GeneXpert MTB/RIF 技术检测利福平敏感率为 66.92%

(89/133)、利福平耐药率为 31.58% (42/133)、耐药性不确定株占 1.50% (2/133)。统计学分析表明,荧光熔解曲线法、GeneXpert MTB/RIF 技术检测利福平耐药与金标准(表型药敏)相比,检出率差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 2 种检测方法对利福平耐药的检测与表型药敏比较

以表型药敏检测为标准,荧光熔解曲线法与表型药敏结果均为利福平敏感者 84 例,结果均为耐药者 38 例,荧光熔解曲线法结果为敏感而表型药敏为耐药者 1 例,荧光熔解曲线法结果为耐药而表型药敏为敏感者 3 例,荧光熔解曲线法与表型药敏的符合率为 91.73% (122/133)。GeneXpert MTB/RIF 技术与表型药敏结果均为利福平敏感者 89 例,结果均为耐药者 35 例, GeneXpert MTB/RIF 技术检测结果为耐药而表型药敏为敏感者 7 例, GeneXpert MTB/RIF 技术与表型药敏的符合率为 93.23% (124/133)。统计学分析表明,荧光熔解曲线法、GeneXpert MTB/RIF 技术检测利福平耐药结果与金标准(表型药敏)比较,差异无统计学意义。

与表型药敏检测结果比较,荧光熔解曲线法和 GeneXpert MTB/RIF 技术与表型药敏检测结果相符者分别有 122 例和 124 例,不相符者分别有 11 例和 9 例。不相符的结果中,以表型药敏结果为参考标准,敏感株 13 株,其中荧光熔解曲线法结果为敏感者 5 株,结果提示耐药性不明确者 5 株,提示利福平耐药 3 株; GeneXpert MTB/RIF 技术结果为敏感 4 株,提示检出值低,考虑耐药 2 株,提示利福平耐药 7 株;且 2 种方法均提示耐药有 3 株。表型药敏结果为耐药 3 株,其中荧光熔解曲线法结果为敏感者 1 株,结果提示耐药性不明确者 2 株; GeneXpert MTB/RIF 技术全部提示为耐药。

3 讨论

结核病以呼吸道传播为主,在过去的 10 年间通过全球结核病控制工作的有效实施,但是随着结核杆菌多重耐药株的增多、结核合并 HIV 感染以及人口流动增大等问题的出现,使得结核病防控形势又变得异常严峻,更凸显出了对结核病进行快速、有效诊断的重要性^[7]。目前的结核病诊断方法中,细菌学检查和表型药敏试验仍然是结核病诊断的金标准,但是敏感性较低且耗时长。目前,已报道国内外多种分子诊断检测方法在检测时间和灵敏度上具有一定的优势,逐步在临床上广泛应用。

PCR 探针熔解法通过熔解分析,对特定耐药基因熔点变化进行监测。因此在荧光熔解曲线法中,首先需满足 4 个通道都有扩增产物的检出,说明样本中检出结核分枝杆菌复合群,才能通过 4 个通道的熔点对比,来判断这株菌株是否对利福平产

生耐药。GeneXpert MTB/RIF 技术是一种基于实时聚合酶链反应,可同步检测出结核分枝杆菌并对利福平耐药性进行分析^[8]。GeneXpert MTB/RIF 技术中,当样本中含有结核分枝杆菌复合群时,5 个目的片段分别扩增,需要产物中同时有 5 根探针的目标模板为阳性,及 5 个序列同时存在,才可确定为结核分枝杆菌复合群敏感株^[9]。当其中有一个及以上的序列片段为阴性时,以及有某个片段 CT 值较高,与该样本起始浓度相差大于系统设定值,即被判定为结核分枝杆菌复合群耐利福平株。

本研究结果显示, GeneXpert MTB/RIF 技术各种样本类型中结核分枝杆菌复合群的检出率明显高于荧光熔解曲线法。其中,2 种方法在不同类型的样本中检出率最高的是术后标本,其次为呼吸道样本,显著高于目前广泛使用的痰涂片检查^[10]。在其他类型的样本中, GeneXpert MTB/RIF 技术均有检出,有明显优势。因 2020 年 1 月至 4 月作为武汉市新冠定点收治医院其他患者收治受到大幅度影响,荧光熔解曲线法检测的样本数据较少,后期笔者将持续进行大数据观察。

目前,结核病的治疗中,耐药结核的治疗非常棘手。利福平是结核治疗最常用的一种广谱抗菌药,其主要药理作用为与结核分枝杆菌核糖核酸聚合酶结合,在细菌染色复制过程中起抑制作用从而杀灭细菌^[11]。目前,临床上主要结核病耐药检测方法大致可分为表型耐药检测和基因型耐药检测 2 类,表型耐药检测方法作为金标准,存在耗时长的问题,临床上容易导致病情延误,危及患者生命安全。荧光熔解曲线法和 GeneXpert MTB/RIF 技术也是目前临床检验科普及范围较大的 2 种分子检测方法。本研究结果显示,133 例患者中荧光熔解曲线法、GeneXpert MTB/RIF 技术 2 种方法与表型药敏试验相比,检测出的利福平敏感率、耐药率无显著差异,进一步分析也发现,2 种方法检测与表型药敏的符合率也无显著差异,但在检测时间上明显快于表型药敏。同时发现,2 种检测方法虽与表型药敏结果相比较,也存在耐药结果不相符的情况,提示临床检验人员要结合患者情况仔细分析。2 种分子检测方法都基于样本中目标模板的提取,受样本特性的影响较大,在目标模板浓度较低时,会导致出现“耐药性不确定”的结果。GeneXpert MTB/RIF 技术在目标模板浓度极低时还会出现将利福平敏感株误判定为耐药株的可能性,这也是方法学上遇到检测下限时不可避免的,所以当遇到结核分枝杆菌复合群检出阳性但含量低或者含量极低时,需要做第二次检测。

综上所述,本研究发现 GeneXpert MTB/RIF 技术在呼吸道样本、术后标本以及其他样本如胸腹水、脑脊液、尿、粪等中结核分枝杆菌复合群的阳性

检出率亦明显高于荧光熔解曲线法,2 种方法检测利福平耐药得到的结果与表型药敏一致性较好,但在操作的自动化程度、结果报告时间以及实验室生物安全方面, GeneXpert MTB/RIF 技术更具优势,更适用于结核患者病原学早期诊断以及利福平耐药快速检测的需求。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 余传星,张焕,黄明翔,等. 快速鉴定结核杆菌的双重分子信标检测体系的优化[J]. 国际检验医学杂志, 2018,39(9):1029-1033.
- [2] Morel F, Jaffré J, Sougakoff W, et al. [Molecular diagnosis of tuberculosis][J]. Rev Mal Respir, 2020, 37(5):412-416.
- [3] 李爱芳,崔晓利,康磊,等. 荧光 PCR 探针熔解曲线法检测结核分枝杆菌耐药性的价值[J]. 中国防痨杂志, 2020,42(9):998-1002.
- [4] 冯秀莉,任欣欣,刘朋冲,等. X-pert、SAT 和 LAMP 诊断肺结核的价值对比[J]. 现代科学仪器, 2020, 12(3):96-100.
- [5] 陈军,陈丽峰,饶有益,等. GeneXpert MTB/RIF 试验与 4 种结核分枝杆菌检测方法的比较[J]. 临床血液学杂志, 2018,31(12):956-959.
- [6] 国家卫生和计划生育委员会中华人民共和国农业部国家食品药品监督管理总局公告 2016 年第 16 号[J]. 农产品质量与安全, 2017,(2):92-94.
- [7] Acharya B, Acharya A, Gautam S, et al. Advances in diagnosis of Tuberculosis; an update into molecular diagnosis of Mycobacterium tuberculosis[J]. Mol Biol Rep, 2020,47(5):4065-4075.
- [8] Sasikumar C, Utpat K, Desai U, et al. Role of GeneXpert in the diagnosis of mycobacterium tuberculosis[J]. Adv Respir Med, 2020,88(3):183-188.
- [9] Terzi HA, Aydemir O, Karakece E, et al. Comparison of the GeneXpert® MTB/RIF Test and Conventional Methods in the Diagnosis of Mycobacterium tuberculosis[J]. Clin Lab, 2019, 65(1).
- [10] 张鸿娟,宋宇,郭翀,等. 实时荧光 PCR 检测结核杆菌 DNA 的分析灵敏度验证及临床应用[J]. 检验医学与临床, 2017,14(11):1528-1530.
- [11] 唐桂华,孙倩,王潇凡,等. GeneXpert MTB/RIF 技术对结核病及对利福平耐药性检测的价值[J]. 结核病与肺部健康杂志, 2020,1(3):121-125.
- (收稿日期:2021-06-22 修回日期:2021-07-26)
-
- (上接第 111 页)
- [5] Nielsen KK, Kapur A, Damm P, et al. From screening to postpartum follow-up—the determinants and barriers for gestational diabetes mellitus (GDM) services, a systematic review [J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2014, 14:41.
- [6] Hao NB, He YF, Li XQ, et al. The role of miRNA and lncRNA in gastric cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8(46):81572-81582.
- [7] Loewen G, Jayawickramarajah J, Zhuo Y, et al. Functions of lncRNA HOTAIR in lung cancer [J]. J Hematol Oncol, 2014, 7:90.
- [8] Zhang Y, Wu H, Wang F, et al. Long non-coding RNA MALAT1 expression in patients with gestational diabetes mellitus [J]. Int J Gynaecol Obstet, 2018, 140(2):164-169.
- [9] 李丽,刘素新,霍琰,等. lncRNA MALAT1 在妊娠期糖尿病孕妇血清中的表达水平及临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2019,34(6):1264-1267.
- [10] 张婧怡,冯玲,贾静,等. miRNA-101 通过调控胎盘滋养细胞功能参与妊娠期糖尿病的发病[J]. 现代妇产科进展, 2019,28(7):518-522.
- [11] Ming Y, Zhang Z, Li HU, et al. Research of relationship between gestational diabetes mellitus and levels of serum miRNA-132 and mi-301a [J]. China Medicine and Pharmacy, 2019, 9(4):77-80, 132.
- [12] 李艳,李新宇. 妊娠糖尿病患者外周血 miRNA-21 检测的临床应用价值[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(2):35-38.
- [13] 刘然. 体质指数与血清 C 反应蛋白和糖化血红蛋白在妊娠期糖尿病诊断中的意义[J]. 现代检验医学杂志, 2018,33(5):49-52.
- [14] Gorkem U, Togrul C, Arslan E. Relationship between elevated serum level of placental growth factor and status of gestational diabetes mellitus [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2020,33(24):4159-4163.
- [15] Alsultani H, Majeed M. Serum irisin levels as a potential marker for diagnosis of gestational diabetes mellitus [J]. Acta bio-medica: Atenei Parmensis, 2020, 91(1):56-63.
- (收稿日期:2021-04-25 修回日期:2021-06-25)