

· 临床医学 ·

质谱直接鉴定血培养阳性菌的前处理方法评估

许雨乔,文 怡,张晓慧,夏文颖,倪 芳,陆燕飞*

南京医科大学第一附属医院检验学部,国家医学检验临床医学研究中心分中心,江苏 南京 210029

[摘要] 目的:评估基于分离胶的两种前处理方法联合基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)直接鉴定血培养阳性病原菌的临床应用价值。方法:收集2020年5—11月南京医科大学第一附属医院血培养阳性标本302例,分离胶-皂甙法和分离胶沉淀法分别处理后对阳性血培养标本进行快速鉴定,结果分别与培养鉴定结果比较。结果:分离胶-皂甙法可在45 min内完成鉴定,分离胶沉淀法需20 min;单数菌感染标本288例,使用两方法直接鉴定的准确率均为86.81%(250/288),其中两方法分别鉴定革兰阴性杆菌、革兰阳性球菌、革兰阳性杆菌、真菌的准确率差异无统计学意义($P > 0.05$);复数菌感染标本14例,仅分离胶-皂甙法1例与培养鉴定结果一致,其余标本两种方法均仅可准确鉴定其中的一种细菌。结论:两种基于分离胶的前处理方法联合质谱均可直接、快速、准确地鉴定血培养病原菌,分离胶沉淀法可作为本实验室血培养快速鉴定常规的前处理方法。

[关键词] 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱;分离胶-皂甙法;分离胶沉淀法;血培养;快速鉴定

[中图分类号] R446.11

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2022)02-233-06

doi:10.7655/NYDXBNS20220215

血流感染是一类严重的感染性疾病,其病情发展迅速、病死率高^[1]。及时有效的抗生素使用是治疗血流感染的关键,研究表明血流感染患者抗生素治疗每延迟1 h,其平均存活率降低7.6%^[2]。血培养是诊断血流感染的金标准^[3],血培养病原菌若能快速鉴定,则对于指导临床用药、降低患者死亡率有重要意义。传统血培养病原菌鉴定在血培养仪阳性报警后一般需要18~24 h,甚至更长时间,基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)作为一种新型的微生物鉴定技术,对纯菌落鉴定可在6 min内完成^[4],具有快速、准确的特点,有学者将此技术应用于阳性血培养直接鉴定,极大地缩短了鉴定时间^[2,4-6]。本研究利用基于分离胶的两种前处理方法联合MALDI-TOF MS直接鉴定血培养阳性病原菌,比较其与培养鉴定结果的一致性,旨在为临床早期目标性治疗提供快速可靠的病原学依据,并为本实验室血培养病原菌快速鉴定寻找合适的前处理方法。现

报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料

收集2020年5—11月南京医科大学第一附属医院血培养阳性标本302例。纳入标准:①直接镜检发现病原菌;②同一患者同时送检的多个血培养瓶选择最早报阳的阳性瓶。

BACTEC TM FX 血培养系统、血培养瓶和5 mL注射器(BD公司,美国);VITEK MS质谱仪及其配套试剂、大肠埃希菌ATCC 8739和VITEK 2-Compact全自动微生物鉴定系统及配套试剂(梅里埃公司,法国);血平板、巧克力平板(郑州安图公司);真空采血管(血清分离管)(Greiner公司,德国);甲酸、乙腈和皂甙(Sigma-Aldrich公司,美国);75%乙醇(兴化市医疗卫生用品有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 分离胶-皂甙法

当血培养仪提示阳性报警时,取出阳性瓶进行革兰染色,确保镜下有菌,颠倒混匀血培养瓶,用无菌注射器抽取4 mL阳性血培养液至含分离胶的真空采血管内,室温3 500 r/min离心10 min,弃上清后加入1 mL无菌去离子水,混匀并转移至1.5 mL EP

[基金项目] 国家临床检验重点专科建设项目;江苏省实验诊断学重点实验室(ZDXKB2016005)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:549793546@qq.com

管内, 16 000 *g* 离心 1 min, 弃上清后加入 980 μL 无菌去离子水和 20 μL 0.5% 的皂甙混匀后静置 5 min, 16 000 *g* 离心 1 min, 再次弃上清后加入 75% 乙醇混匀, 16 000 *g* 离心 2 min, 弃上清, 待乙醇挥发后加入 50 μL 70% 的甲酸, 震荡 10 min 后加入 50 μL 乙腈, 继续震荡 10 min, 最后 16 000 *g* 离心 1 min, 取 1 μL 上清液点样至金属靶板, 干燥后加入基质液, 干燥的靶板使用 VITEK MS 进行快速鉴定。

1.2.2 分离胶沉淀法

当血培养仪提示阳性报警时, 取出阳性瓶进行革兰染色, 确保镜下有菌, 颠倒混匀血培养瓶, 用无菌注射器抽取 4 mL 阳性血培养液至含分离胶的真空采血管内, 室温 3 500 r/min 离心 10 min, 弃上清后加入 1 mL 无菌去离子水, 小心混匀白色菌膜并转移至 1.5 mL EP 管内, 16 000 *g* 离心 1 min, 弃上清及肉眼可见的血细胞杂质, 加入 75% 乙醇混匀, 16 000 *g* 离心 2 min, 弃上清, 待乙醇挥发后加入 20 μL 无菌去离子水混匀沉淀, 取 0.5 μL 沉淀至金属靶板, 革兰阴性菌直接加基质液, 革兰阳性菌及真菌加入仪器配套的 40% 甲酸待干燥后加入基质液, 干燥的靶板使用 VITEK MS 进行快速鉴定。

1.2.3 血培养阳性标本常规鉴定

当血培养仪提示阳性报警时, 取出阳性瓶进行革兰染色并转种至相应平板孵育 18~24 h, 分离出单个菌落, 挑取单个菌落, 点样至金属靶板, 革兰阴性菌直接加基质液, 革兰阳性菌及真菌加入仪器配套

的 40% 甲酸待干燥后加入基质液, 干燥的靶板使用 VITEK MS 进行常规鉴定。

1.2.4 结果判读

通过 VITEK MS 的 MYLA 服务器进行结果判读, 绿色表示鉴定可信度为 60.0%~99.9%, 只有 1 个鉴定结果, 记录鉴定结果; 黄色表示表示鉴定可信度为 >60%, 有 2 种或 2 种以上鉴定结果, 分别记录鉴定结果; 红色表示鉴定可信度为 <60%, 无鉴定结果, 鉴定失败, 以分离出的单个菌落常规质谱鉴定结果为金标准。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 计数资料以例数(百分比)[$n(\%)$]表示。率的比较采用 χ^2 检验进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种前处理方法鉴定单数菌感染标本结果比较

302 例阳性血培养标本经培养确认后, 共有单数菌感染标本 288 例, 使用分离胶-皂甙法联合 MALDI-TOF MS 直接鉴定血培养病原菌一般需要 45 min, 分离胶沉淀法一般需要 20 min。两种方法联合 MALDI-TOF MS 直接鉴定需/厌氧瓶内病原菌结果见表 1, 分别及同时使用两种方法鉴定需氧瓶内病原菌的准确率均高于厌氧瓶, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 不同类型培养瓶中两种方法鉴定的准确率差异也无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 分离胶-皂甙法与分离胶沉淀法直接鉴定需/厌氧瓶阳性病原菌结果准确率比较 [$n(\%)$]

方法	需氧瓶($n=236$)	厌氧瓶($n=52$)	合计($n=288$)	P 值
分离胶-皂甙法	208(88.14)	42(80.77)	250(86.81)	0.155
分离胶沉淀法	206(87.29)	44(84.62)	250(86.81)	0.606
同时使用两种方法	216(91.53)	45(86.54)	261(90.63)	0.292
P 值	0.298	0.716	0.263	

2.1.1 两种前处理方法直接鉴定革兰阳性球菌结果比较

革兰阳性球菌中不同细菌直接鉴定结果见表 2。直接鉴定革兰阳性球菌的准确率为同时使用两种方法 > 分离胶-皂甙法 > 分离胶沉淀法, 三者准确率无统计学差异 ($P > 0.05$)。两种方法对葡萄球菌及肠球菌鉴定的准确率均显著高于链球菌及其他少见革兰阳性球菌, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。分离胶-皂甙法在种水平未有鉴定错误的情况发生, 分离胶沉淀法有 1 例麻疹孪生球菌鉴定错误为溶血孪生球菌。

2.1.2 两种前处理方法直接鉴定革兰阴性杆菌结果比较

革兰阴性杆菌中不同细菌的鉴定结果见表 3。直接鉴定革兰阴性杆菌的准确率为联合两种方法 = 分离胶沉淀法 > 分离胶-皂甙法, 三者准确率无统计学差异 ($P > 0.05$)。两种前处理方法对革兰阴性杆菌鉴定的准确率均高于革兰阳性球菌, 其中分离胶沉淀法两者之间有显著差异 ($P=0.005$)。分离胶-皂甙法中有 2 例阴沟/阿氏肠杆菌被鉴定错误为阴沟/阿氏肠杆菌、霍氏肠杆菌混合感染。分离胶沉淀法中有 1 例阴沟/阿氏肠杆菌鉴定错误为霍氏肠杆菌,

表2 分离胶-皂甙法与分离胶沉淀法直接鉴定革兰阳性球菌结果比较

革兰阳性球菌	株数	分离胶-皂甙法鉴定准确数	分离胶沉淀法鉴定准确数	两种方法同时使用时鉴定准确数
葡萄球菌属	78	74(94.87%)	70(89.74%)	75(96.15%)
表皮葡萄球菌	27	26	24	26
金黄色葡萄球菌	17	16	15	17
人葡萄球菌	14	13	13	13
头状葡萄球菌	7	7	6	7
溶血葡萄球菌	7	7	7	7
沃氏葡萄球菌	2	1	1	1
路邓葡萄球菌	2	2	2	2
科氏葡萄球菌	1	1	1	1
山羊葡萄球菌	1	1	1	1
肠球菌属	21	21(100.00%)	20(95.24%)	21(100.00%)
屎肠球菌	14	14	13	14
粪肠球菌	7	7	7	7
链球菌	12	8(66.67%)	8(66.67%)	9(75.00%)
肺炎链球菌	1	1	1	1
戈登链球菌	1	0	1	1
口腔/缓症链球菌	4	3	3	3
毗邻颗粒链球菌	1	1	1	1
停乳链球菌	1	1	0	1
无乳链球菌	1	1	1	1
咽峡炎链球菌	3	1	1	1
其他少见革兰阳性球菌	7	1(14.29%)	3(42.86%)	3(42.86%)
大芬戈尔德菌	2	0	0	0
缺陷乏氧菌	1	0	1	1
溶血孪生球菌	1	1	1	1
麻疹孪生球菌	1	0	0	0
藤黄微球菌	1	0	0	0
微小微单胞菌	1	0	1	1
合计	118	104(88.14%)	101(85.59%)	108(91.53%)

有1例沙门菌可直接准确鉴定为肠炎沙门菌。

由于方法学限制,VITEK MS无法区分阴沟肠杆菌及阿氏肠杆菌,故仪器鉴定出此两种菌认为鉴定正确。

2.1.3 两种前处理方法直接鉴定革兰阳性杆菌及真菌结果比较

联合两种方法直接鉴定革兰阳性杆菌及真菌的准确率与分离胶-皂甙法和分离胶沉淀法相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。两种前处理方法鉴定革兰阳性杆菌及真菌的准确率普遍较低,与革兰阳性球菌、革兰阴性杆菌相比,其鉴定准确率差异有统计学意义($P < 0.05$,表4)。

2.2 两种前处理方法直接鉴定复数菌感染标本结果比较

302例阳性血培养标本中共有复数菌感染标本

14例,包括2种革兰阴性杆菌混合感染9例、2种革兰阳性球菌混合感染3例、革兰阳性球菌和阴性杆菌混合感染1例和革兰阳性球菌和真菌混合感染1例。分离胶-皂甙法中仅有1例肺炎克雷伯菌与鲍曼不动杆菌混合感染完全鉴定正确,其余13例均只能正确鉴定出其中一种细菌;分离胶沉淀法中14例均只能正确鉴定出其中的1种细菌,同时使用两种方法后共有3例混合感染标本完全鉴定正确。

3 讨论

利用MALDI-TOF MS技术直接鉴定血培养阳性病原菌近来已成为国内外研究的热点^[2,5],由于阳性血培养瓶中血红蛋白及其他成分可影响MALDI-TOF MS指纹图谱,干扰病原菌鉴定,阳性血培养瓶必须经前处理使病原菌富集纯化后才能进行质谱

表3 分离胶-皂甙法与分离胶沉淀法直接鉴定革兰阴性杆菌结果比较

革兰阴性杆菌	株数	分离胶-皂甙法鉴定准确数	分离胶沉淀法鉴定准确数	两种方法同时使用时鉴定准确数
肠杆菌目细菌	123	115(93.50%)	118(95.93%)	118(95.93%)
大肠埃希菌	54	54	54	54
肺炎克雷伯菌	48	46	45	46
阴沟/阿氏肠杆菌	10	8	9	8
沙门群	5	3	5	5
粘质沙雷	4	2	3	3
克氏柠檬酸杆菌	1	1	1	1
摩氏摩根	1	1	1	1
非发酵菌	28	27(96.43%)	27(96.43%)	28(100.00%)
鲍曼不动杆菌	10	9	10	10
铜绿假单胞菌	6	6	6	6
嗜麦芽窄食单胞菌	6	6	6	6
脑膜脓毒伊丽莎白金菌	3	3	3	3
嗜水/豚鼠气单胞菌	1	1	1	1
多噬伯克霍尔德菌	1	1	1	1
人苍白杆菌	1	1	0	1
其他	1	1(100.00%)	0(0)	1(100.00%)
脆弱拟杆菌	1	1	0	1
合计	152	143(94.08%)	145(95.39%)	147(96.71%)

表4 分离胶-皂甙法与分离胶沉淀法直接鉴定革兰阳性杆菌及真菌结果比较

病原菌	株数	分离胶-皂甙法鉴定准确数	分离胶沉淀法鉴定准确数	两种方法同时使用时鉴定准确数
革兰阳性杆菌	10	3(30.00%)	2(20.00%)	4(40.00%)
金黄微杆菌	1	0	0	0
蜡样芽孢杆菌	1	1	0	1
假白喉棒状杆菌	1	0	0	0
无害梭菌	1	1	1	1
杰氏棒状杆菌	2	0	0	0
纹带棒状杆菌	1	0	1	1
极小棒状杆菌	1	0	0	0
干酪乳杆菌	2	1	0	1
真菌	8	0(0)	2(25.00%)	2(25.00%)
光滑假丝酵母菌	2	0	1	1
近平滑假丝酵母菌	2	0	0	0
热带假丝酵母菌	4	0	1	1

直接鉴定^[4,7]。阳性血培养瓶前处理方法众多,主要基于去污剂选择裂解法、渗透压选择裂解法、分离胶分离法、差速离心法和滤膜过滤法等原理富集病原体,各方法均有优势和不足,尚无标准的前处理方法^[4,8]。德国布鲁克的Sepsitype试剂盒法是一种利用去污剂选择性裂解血细胞集菌的商品化方法,操作简单,但成本较高^[5];上海地区推荐使用分离胶促凝管处理血培养阳性标本^[9];也有基于上述原理的实验室自建方法报道^[2],临床实验室可根据自身情况选择合适的前处理方法。另外,由于血培养瓶

前处理后仍存在少量杂质干扰微生物的质谱峰,利用质谱仪直接鉴定血培养阳性病原菌时应降低质谱评分标准,以提高鉴定准确率^[10]。

本实验室利用现有资源采用基于分离胶的两种前处理方法,并将鉴定结果可信度>60%的结果认为鉴定到种水平。分离胶沉淀法与其他报道的分离胶方法相比,无需蛋白提取步骤^[10-11],可在20 min内完成鉴定,但在操作过程中需去除肉眼可见的血细胞杂质,对人员操作要求较高;分离胶-皂甙法与分离胶沉淀法相比,增加了皂甙洗涤和蛋白提取步

骤,对人员没有特殊要求,一般需要45 min完成鉴定。两种前处理方法在288例单数菌感染标本中直接鉴定的准确率均为86.81%,略高于其他分离胶法(84.09%)^[10],且在属水平未有鉴定错误的情况发生,鉴定结果可靠。对于血流感染常见菌如大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌及肠球菌属两前处理方法准确率极高(>90%)。另外,对于需/厌氧瓶中的病原菌两前处理方法鉴定的准确率差异无统计学意义,均可进行不同血培养瓶病原菌的直接鉴定,且在1 h内完成,满足临床需求。相对而言,分离胶-皂苷法对革兰阳性菌的准确率高,对革兰阴性菌及真菌的准确率低于分离胶沉淀法,但并无统计学差异,故推荐分离胶沉淀法作为本实验室血培养快速鉴定常规的前处理方法。同时使用两种前处理方法时,病原菌鉴定的准确率提高,尽管和单一前处理方法相比差异没有统计学意义,但对于单个感染标本而言,可增加病原菌的检出率和准确率,减少实验误差。

两种方法联合质谱直接鉴定血培养革兰阴性杆菌的准确率高,与文献报道类似^[5-8,10,12]。其中分离胶沉淀法直接鉴定革兰阴性杆菌的准确率明显高于革兰阳性球菌,提示该法更适用于革兰阴性杆菌血流感染的直接鉴定;分离胶-皂苷法两者之间差异并无统计学意义,可能是由于增加了破壁及蛋白提取步骤。革兰阳性菌中链球菌、少见革兰阳性球菌及革兰阳性杆菌鉴定率显著低于肠球菌、葡萄球菌,可能与质谱仪相应菌株库差异有关,另外病原菌生长缓慢,达不到质谱检测限可能也是原因之一,有学者建议通过短时液相或固相培养可提高此类细菌鉴定的准确率^[13]。质谱直接鉴定血培养真菌的检出率普遍较低^[5],王岩等^[6]分析可能是由于真菌本身细胞壁结构特殊,核蛋白未能释放;另外有些菌株缺乏特异性峰值或峰值数量不足从而无鉴定结果。本研究真菌的检出率低于文献报道^[5-6],可能与前处理时吸取液体的量及离心机转速有关,导致富集的真菌量少,无法达到质谱的最低检测限^[14],另外真菌细胞壁利用本文前处理方法破壁效果不佳,文献报道增加前处理培养液的量,并在离心、洗涤过程中加入吐温-20、玻璃珠等操作可将真菌检出率提高至90%^[2]。后期本实验室将针对革兰阳性杆菌、真菌等直接鉴定准确率低的血培养阳性病原菌摸索合适的血培养前处理方法。

14例复数菌感染标本中,仅分离胶-皂苷法有1例完全鉴定正确,但两种方法均能正确鉴定出其中1种菌,可能与MALDI-TOF MS本身就不适宜作复数菌感染的鉴定有关^[13],并且复数菌感染中菌量不同,质谱只能鉴定出其中含量较高的一种^[5]。本研究复数菌感染标本中,两种前处理方法出现鉴定结果不一致的情况,后证实均为复数菌感染菌中的一种。表明联合此两种前处理方法可提高复数菌感染的检出率,当然,此结论还有待进一步研究证实。

综上所述,基于分离胶的两种阳性血培养瓶前处理方法联合MALDI-TOF MS均可直接、快速、准确地鉴定血培养病原菌,可行性强,在不增加成本的情况下,利用实验室现有资源,缩短血培养阳性病原菌鉴定时间,为血流感染目标性治疗节省宝贵时间。分离胶沉淀法步骤简单,可作为本实验室血培养快速鉴定常规的前处理方法,真菌及革兰阳性杆菌的血培养前处理方法还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] SEIFERT H. The clinical importance of microbiological findings in the diagnosis and management of bloodstream infections[J]. *Clin Infect Dis*, 2009, 48(s4): S238-S245
- [2] ZHOU M, YANG Q, KUDINHA T, et al. An improved in-house MALDI-TOF MS protocol for direct cost-effective identification of pathogens from blood cultures[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1824
- [3] LAMY B, SUNDQVIST M, IDELEVICH E A. Bloodstream infections - standard and progress in pathogen diagnostics [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26(2): 142-150
- [4] 潘宏伟,孙恩华. MALDI-TOF MS直接鉴定阳性血培养病原菌的前处理方法选择[J]. *中华检验医学杂志*, 2018, 41(8): 563-566
- [5] 张菲菲,王启,李荷楠,等. Sepsityper Kit试剂盒法或血清分离胶法联合MALDI-TOF MS快速鉴定血培养阳性病原菌[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2018, 38(2): 111-115
- [6] 王岩,曹敬荣,常玥,等. 分离胶法与十二烷基硫酸钠法在血培养阳性瓶基质辅助激光解析电离飞行时间质谱病原菌直接鉴定中的应用[J]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2018, 12(4): 324-329
- [7] 许春燕,郭锋,上官佳敏,等. 一种联合MALDI-TOF MS直接鉴定阳性血培养瓶方法改进及与Sepsityper Kit试剂盒法、SELTERS法和血清分离胶法的比较[J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32(3): 334-339
- [8] 尚军,李修远,王丽赞,等. 优化差速离心法在血培养报警瓶MALDI-TOF MS细菌鉴定中的应用[J]. *临床检*

验杂志,2016,34(12):913-918

[9] 上海医学会检验医学专科委员会临床微生物学组,上海市微生物学会临床微生物专业委员会. 上海地区阳性血培养直接质谱快速检测规范[J]. 中华检验医学杂志,2017,40(3):165-168

[10] 秦娟秀,黄 芊,高倩倩,等. MALDI Sepsityper™ Kit和血清分离胶促凝管法两种前处理方法在基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术直接鉴定阳性血培养病原菌的应用评估[J]. 中国感染与化疗杂志,2017,17(5):546-551

[11] 吴彩霞,高玉芳,郭 梦,等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在血流感染快速鉴定中的应用[J]. 甘肃科
学学报,2019,31(4):66-69

[12] 钱扬会,李艳君,丁毅伟,等. 应用MALDI-TOF-MS联合分离胶法快速鉴定阳性血培养标本的初步研究[J]. 检验医学与临床,2019,16(9):1196-1199

[13] 王 沛. 血培养阳性标本病原菌直接快速检测方法进展[J]. 中华检验医学杂志,2018,41(10):790-793

[14] 朱明辉,王卫华,郑 琳,等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱对血流感染病原菌的快速鉴定及直接药敏结果的对比研究[J]. 中国卫生检验杂志,2020,30(10):1172-1175

[收稿日期] 2021-10-30
(本文编辑:唐 震)

(上接第226页)

argentinian children[J]. J Neuromuscul Dis,2020,7(4):453-458

[12] 张 琴,缪红军. 儿童脊髓性肌萎缩症的呼吸道管理[J]. 中华儿科杂志,2019,57(10):810-812

[13] SCHROTH M K. Special considerations in the respiratory management of spinal muscular atrophy [J]. Pediatrics, 2009, 123(Suppl 4):S245-249

[14] CHEN T H, LIANG W C, CHEN I C, et al. Combined non-invasive ventilation and mechanical insufflator-exsufflator for acute respiratory failure in patients with neuromuscular disease: effectiveness and outcome predictors [J]. Ther Adv Respir Dis, 2019, 13: 1753466619875928

[15] 郭文卉,曹 玲,常 丽. 无创通气治疗脊髓性肌萎缩患儿睡眠呼吸紊乱的临床特点分析[J]. 中华儿科杂
志,2019,57(10):792-796

[16] 中国医师协会急诊医师分会,中国医疗保健国际交流促进会急诊急救分会,国家卫生健康委能力建设与继续教育中心急诊学专家委员会,等. 无创正压通气急诊临床实践专家共识(2018)[J]. 中华急诊医学杂志,2019,28(1):14-24

[17] 郭文卉,曹 玲. 脊髓性肌萎缩并肺炎患儿13例临床特征分析[J]. 中华实用儿科临床杂志,2020,35(21):1629-1632

[18] 北京医学会罕见病分会,北京医学会医学遗传学分会,北京医学会神经病学分会神经肌肉病学组,等. 脊髓性肌萎缩症多学科管理专家共识[J]. 中华医学杂志,2019,99(19):1460-1467

[收稿日期] 2021-10-19
(本文编辑:唐 震)