

实验环境中野生型鼠疫噬菌体的生长表型特征

李存香*, 祁芝珍, 张青雯, 冯建萍, 金泳, 赵海红, 应凯业, 张晓璐, 李广辉, 金星

青海省地方病预防控制所, 鼠疫菌专业实验室, 青海 西宁 811602

摘要: **目的** 观察野生型鼠疫噬菌体在不同实验培养环境中的生长表型特征, 为后续噬菌体的生物学特性鉴定及其与宿主菌相互作用研究提供科学依据。**方法** 利用液体培养法、固体培养法和基于OmniLog™微生物鉴定系统的微量液体培养法检测3株野生型鼠疫噬菌体的生长情况。**结果** 基于LB液体培养基的生长结果显示, 鼠疫噬菌体476号经28℃和37℃作用20~24 h后生长状况优于37℃培养的鼠疫噬菌体087号和072204号, 37℃培养的鼠疫噬菌体087号优于072204号。以鼠疫疫苗株EV₇₆为宿主菌, 鼠疫噬菌体476号在双层琼脂培养基上经28℃和37℃培养20~24 h后产生较为清晰的噬菌斑; 鼠疫噬菌体087号和072204号经37℃培养20~24 h后在双层琼脂培养基上产生不透明的噬菌斑。基于OmniLog™系统微量液体培养法的生长结果显示, 3株鼠疫噬菌体经33℃裂解鼠疫疫苗株EV₇₆时, 通过96孔微量板曲线图显示第1列出现横线, 且峰值不超过100, 随着噬菌体数量的降低, 稀释试验孔依次均出现与鼠疫疫苗株EV₇₆相似的生长曲线, 实验孔中四唑类染料颜色随着噬菌体数量的减少和宿主菌数量的增多而逐渐加深。由此说明鼠疫噬菌体476号在28℃和37℃均裂解鼠疫疫苗株EV₇₆; 鼠疫噬菌体087号和072204号在37℃均裂解鼠疫疫苗株EV₇₆。**结论** 3株野生型鼠疫噬菌体的裂解能力具有温度依赖性, 3种实验条件下的生长结果一致。

关键词: 鼠疫噬菌体; 野生型; 实验环境; 表型特征

中图分类号: R378 文献标识码: A 文章编号: 1009-9727(2023)07-720-05

DOI: 10.13604/j.cnki.46-1064/r.2023.07.08

Phenotypic characteristics of wild-type plague phage growth in different experimental environments

LI Cunxiang, QI Zhizhen, ZHANG Qingwen, FENG Jianping, JIN Yong, ZHAO Haihong, YING Kaiye, ZHANG Xiaolu, LI Guanghui, JIN Xing

Qinghai Institute for Endemic Disease Control and Prevention, Xi'ning, Qinghai 810021, China

Corresponding author: LI Cunxiang, E-mail: qhxnlcx2009@163.com

Abstract: **Objective** To observe the phenotypic characteristics of 3 wild-type plague phages under different experimental environments, providing scientific evidence for the identification of phage biological characteristics and the study of their interaction with host bacteria in the future. **Methods** The sensitivity of 3 wild-type plague phages were detected by using liquid culture method, emisolid medium method and micro-liquid culture method based on OmniLog™ microbial identification system. **Results** The growth result based on LB liquid medium showed that the growth of plague phage 476 for 20–24 hours at both 28 °C and 37 °C was better than that of plague phages 087 and 072204 at 37 °C, and the growth of plague phages 087 was better than that of plague phages 072204 at 37 °C. With the attenuated plague bacterium EV₇₆ as the host bacterium, phage 476 was able to form visible plaque on double-layer agar medium for 20–20 hours at both 28 °C and 37 °C, phages 087 and 072204 were only able to form opaque plaque on double-layer agar medium for 20–24 hours at 37 °C. The growth results based on OmniLog™ system showed that when plague phage was lysed in EV₇₆ strain at 33 °C, the first row appeared as a straight line with a peak of no more than 100 in the 96-well microplate curve chart. As the phage quantity decreased, the dilution plate appeared with growth curve similar to EV₇₆ strain in turn, and the color of tetrazolium dyes in the experimental wells gradually deepened as the phage number decreased and the host bacteria number increased. Therefore, it indicates that phage 476 was sensitively at both 28 °C and 37 °C, while phage 087 and 072204 were temperature-dependent only at 37 °C to attenuated plague bacterium EV₇₆. **Conclusions** The lysing ability of 3 wild-type plague phages are temperature-dependent, and the growth results are consistent under the three experimental conditions.

Keywords: Plague phage; wild-type; experimental environments; phenotypic characteristic

基金项目: 青海省医药卫生科技项目重点课题(No. 2022-wjzd-06)

作者简介: 李存香(1976—), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 鼠疫病原学和鼠疫噬菌体宿主谱研究。

*通信作者: 李存香, E-mail: qhxnlcx2009@163.com

自20世纪开始以来,噬菌体感染的生物学特征得到广泛的研究^[1-3]。噬菌体的感染一般包括6个阶段,即噬菌体吸附、DNA注入、DNA复制、转录和翻译、噬菌体组装、释放^[4]。自然界种类和数量极其丰富的各类噬菌体都需要依赖宿主完成自己的生活史,与宿主菌共同存在和进化^[5-6]。噬菌体作为细菌的病毒,其增殖潜力是环境中各种生命体(如噬菌体敏感细菌的密度)、非生命因素(如温度或空间结构)与噬菌体适应性之间互相作用的结果^[7]。噬菌体在实验室不同生长环境中感染宿主菌,随后噬菌体在该环境中的生长过程各有特点。本研究利用实验室不同培养方法和培养条件观察3株野生型鼠疫噬菌体在不同生长环境中的特异性变化,为后续噬菌体生物学特性鉴定、噬菌体与宿主菌相互作用研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 鼠疫疫苗株EV₇₆由青海省地方病预防控制所鼠疫菌专业实验室提供。

1.1.2 鼠疫噬菌体 3株野生型鼠疫噬菌体分离自2019—2020年青海省天峻县鼠疫疫源地(476号和087号)和同德县鼠疫疫源地(072204号)。诊断用鼠疫噬菌体作为对照株由青海省地方病预防控制所鼠疫菌专业实验室提供。

1.1.3 仪器 OmniLog™ 微生物鉴定系统、空气浴振荡培养箱和恒温培养箱由青海省地方病预防控制所鼠疫菌专业实验室提供。

1.1.4 培养基和试剂 LB固体培养基、LB半固体培养基和LB液体培养基由青海省地方病预防控制所鼠疫菌专业实验室培养基室制备。四唑类染液购自于美国OmniLog公司。

1.2 方法

1.2.1 菌液的制备 鼠疫疫苗株EV₇₆ 100 μL接种于5 mL LB液体培养基中,置于28℃空气浴振荡培养箱培养18~20 h至对数生长期,将其作为宿主菌。

1.2.2 液体培养法 野生型鼠疫噬菌体1 000 μL和上述对数生长期的鼠疫疫苗株EV₇₆菌悬液100 μL,分别加入5 mL LB液体培养基,各培养2份,分别置于28℃和37℃培养18~20 h。次日观察培养液光密度情况。分别经0.22 μm滤器过滤,收集滤液。

1.2.3 固体培养法 取900 μL LB液体培养基加入2 mL EP管,共15管。3株鼠疫噬菌体分别按照10倍梯度稀释,直至第5管。分别取每管噬菌体稀释液100 μL和上述对数生长期的鼠疫疫苗菌悬液100 μL,加入至保温于45℃的6 mL LB半固体培养基混合后,倒入底层LB固体培养基,各培养2份,分别置于28℃

和37℃恒温培养箱,20~24 h后观察噬菌斑。

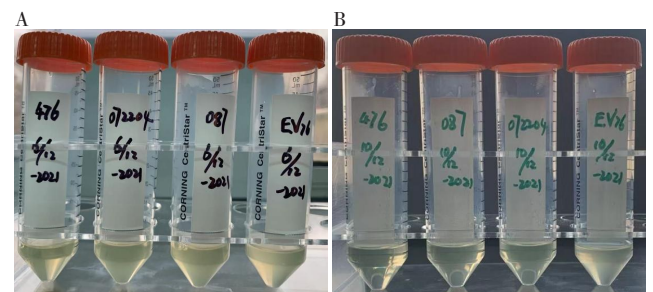
1.2.4 基于OmniLog™ 系统的微量板液体培养法 取上述对数生长期的鼠疫疫苗菌悬液600 μL中加入150 μL四唑类染液,最终使菌悬液中含染液浓度为20%。

无菌96孔板中每排除第1孔外,第2~12列分别加入LB液体培养基90 μL。取3株野生型鼠疫噬菌体100 μL分别加入96孔板A~C排的第1孔,即为噬菌体原液。从第1孔取10 μL野生型鼠疫噬菌体加入第2孔混匀,依次10倍稀释,直至11孔,第11孔弃去10 μL。同时设立实验室诊断用鼠疫噬菌体作为阳性对照。

第A~D排第12孔分别加入含四唑类染液浓度为20%的鼠疫疫苗株EV₇₆菌悬液10 μL,即作为阴性对照。无菌96孔板第E~H排第1孔分别取98 μL鼠疫噬菌体加入2 μL染液,第E~H排第12孔分别取98 μL B液体培养基加入2 μL染液作为空白对照。

2 结果

2.1 基于液体培养基的3株鼠疫噬菌体生长情况 液体培养法培养20~24 h后发现,476号噬菌体培养液经28℃和37℃作用后浊度明显降低;087号和072204号培养液经37℃作用后浊度也降低,但较476号培养液浊度稍有升高,而二者经28℃培养物浊度与阴性对照EV₇₆菌悬液几乎接近。见图1。



注 Note: A. 28℃; B. 37℃.

图1 3株鼠疫噬菌体经与鼠疫疫苗株EV₇₆于28℃和37℃作用20~24 h后在液体培养基上的生长情况

Fig. 1 The results of liquid culture on interactions of attenuated plague strains EV₇₆ and 3 plague phages respectively at both 28℃ and 37℃ for 20~24 h

2.2 基于固体培养基的3株鼠疫噬菌体生长情况 经双层琼脂培养基培养20~24 h后发现,476号噬菌体出现中心透明、直径约为1 mm噬菌斑,而087号和072204号噬菌体在28℃未出现噬菌斑,37℃出现中心模糊不透亮、直径约为1 mm噬菌斑。见图2。

2.3 基于OmniLog™ 系统的3株鼠疫噬菌体生长情况 4株鼠疫噬菌体和鼠疫弱毒株EV₇₆混合物经OmniLog™ 系统33℃作用48 h后,发现第1列曲线几乎均为1条横线,且峰值不超过100,其余每孔随着鼠

噬菌体效价的降低,宿主菌依次呈现不同的S型生长曲线(图3);实验孔中四唑类染料颜色随着噬菌体

数量的减少和宿主菌数量的增多而逐渐加深,说明该鼠疫噬菌体能够感染鼠疫疫苗株EV₇₆(图3)。

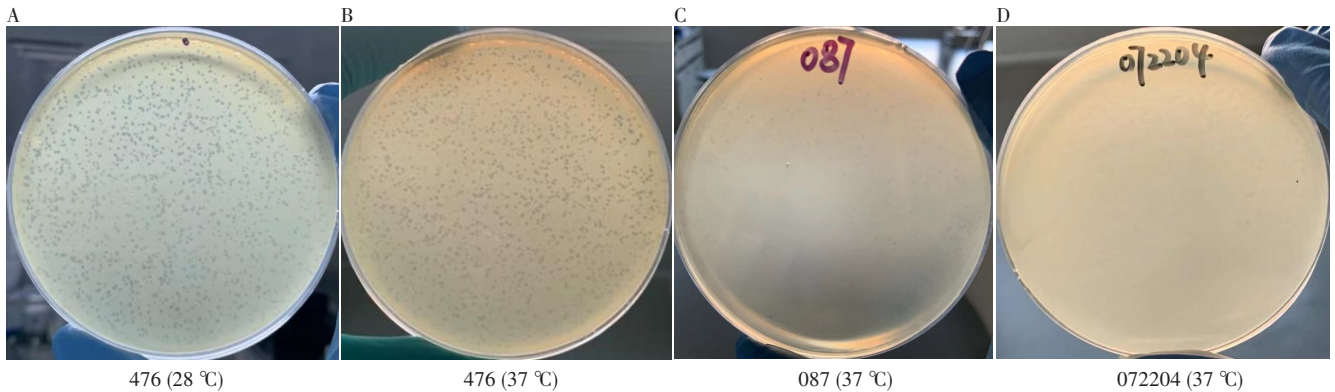
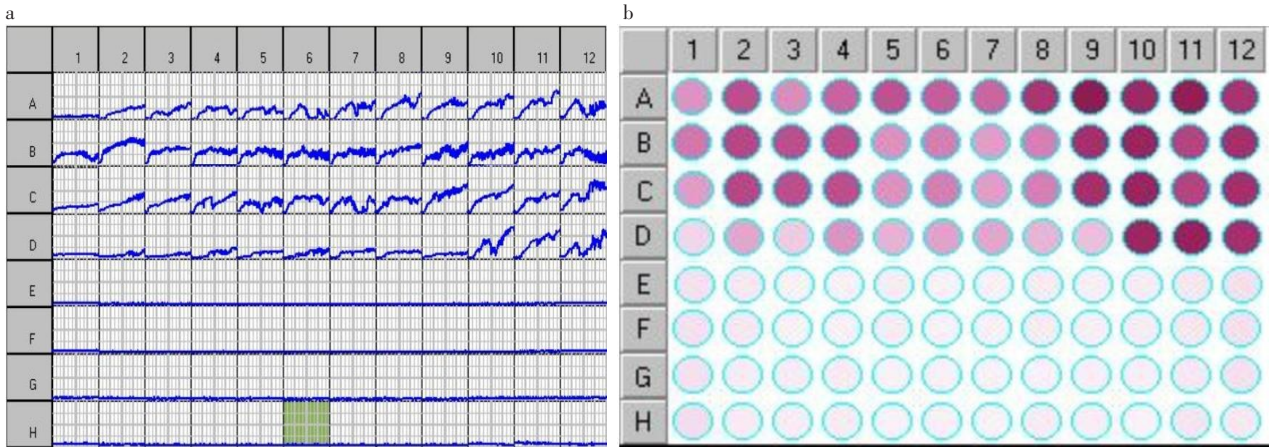


图2 3株鼠疫噬菌体经与鼠疫疫苗株EV₇₆于28℃和37℃作用24h后在固体培养基上的生长情况

Fig. 2 The plaque formation on 3 plague phages respectively with attenuated plague strains EV₇₆ as host bacteria on semisolid medium at both 28 °C and 37 °C for 24 h



注:a. 曲线图;b. 染色图;A、B、C、D排1~11列分别代表不同稀释度的476号鼠疫噬菌体、087号鼠疫噬菌体、072204号鼠疫噬菌体、诊断用鼠疫噬菌体实验组,12列代表鼠疫疫苗株EV₇₆对照组;E、F、G、H排第1孔分别代表含1%四唑类染液的野生型鼠疫噬菌体476号、087号、072204号、诊断用鼠疫噬菌体,E、F、G、H排第12孔分别代表含1%四唑类染液的LB液体培养基。Note: a. Curve chart; b. Stain chart; Rows A, B, C, D, columns 1-11, represented respectively 4 plague phages in different dilutions, including in turn plague phages 476, 087, 072204, and plague phage for diagnosis, while columns 12 represented the control group of attenuated plague strains EV₇₆. Rows E, F, G, H, columns 1, represented respectively 4 plague phages containing 1% tetrazole dye solution. Rows E, F, G, H, columns 12, represented respectively LB liquid medium containing 1% tetrazole dye solution.

图3 4株鼠疫噬菌体分别与鼠疫疫苗株EV₇₆于33℃作用48h后的生长情况

Fig. 3 The growth curves on interactions of 4 plague phages respectively with attenuated plague strains EV₇₆ as host bacteria with OmniLog™ microbial identification system at 33 °C for 48 h

3 讨论

自然界新的噬菌体被分离纯化后,通常其裂解能力作为生物学特性测定项目之一,用来进一步分析其潜在的应用价值^[8-10]。分离于不同环境的噬菌体有相对于其分离地环境的生理特征,这也是其适应环境的直接证据^[11-12]。噬菌体对宿主的选择具有高度特异性,其增殖过程除受环境因素(pH、离子强度、温度)影响外,往往还受宿主代谢水平的影响^[5]。噬菌体在最适生长温度时对宿主菌的吸附作用强,吸附率最高,当高于或低于最适生长温度时,噬菌体的吸附率则会降低,从而影响噬菌体的侵染过程^[13]。噬菌体生

长的传统检测方法通常是跟踪液体培养基中培养物光密度的升高和降低来监测细菌的生长,从而提供噬菌体裂解能力的信息。噬斑测定法是基于噬菌体感染细菌后裂解细菌形成的噬斑数量,从而对活的噬菌体进行计数的一种技术方法^[14-15]。基于OmniLog™微生物鉴定系统能够通过实时、连续监测和自动化监测整个试验过程中噬菌体感染和细菌生长,因此在噬菌体宿主范围、裂解能力、菌株耐药研究等方面具有潜在发展^[16-18]。

本研究中3株野生型鼠疫噬菌体分离自2019—2020年青海省2个鼠疫疫源县,在鼠疫监测期间未发

现有鼠疫病原体的存在,在实验过程中发现其裂解能力较差。本试验通过LB液体培养基观察发现,鼠疫噬菌体476号经28℃和37℃作用后浊度明显降低。鼠疫噬菌体087号和072204号培养液经28℃和37℃作用后,二者37℃培养物浊度降低,但较476号培养液浊度稍有升高,而28℃培养物浊度与阴性对照鼠疫疫苗株EV₇₆菌悬液几乎接近,说明鼠疫噬菌体476号在28℃和37℃均裂解鼠疫疫苗株EV₇₆,鼠疫噬菌体087号和072204号裂解能力不同,具有温度依赖性,即在37℃均裂解鼠疫疫苗株EV₇₆,而在28℃均不裂解鼠疫疫苗株EV₇₆。由此可见,液体培养法仅在单一试验中直观反映了噬菌体在试验菌株内的复制能力。这种方法比较适用于裂解性较好、且短期内使培养液清亮的噬菌体鉴定和筛选工作。

菌斑的形成是噬菌体感染的一个较好指标,因为它是多轮感染、裂解和释放后代的结果^[19-20]。本研究中以鼠疫疫苗株EV₇₆为宿主菌,鼠疫噬菌体476号经28℃和37℃培养后在双层琼脂培养基上产生较为清晰的噬菌斑;鼠疫噬菌体087号和072204号经37℃培养后在双层琼脂培养基上产生不透明的噬菌斑,28℃时在双层琼脂培养基上不能形成可见的斑块,然而这并不一定意味着这两株鼠疫噬菌体缺乏生产性感染^[16]。半固体培养法更适用于噬菌体不同噬菌斑的形态观察和效价测定工作。

基于OmniLog™系统的微量液体培养法监测3株鼠疫噬菌体的生长,发现其与液体培养法、固体培养基的实验结果一致,由此可见该方法可以作为生物学特性之效价监测的依据之一。3种方法灵敏度相同,即3株鼠疫噬菌体33℃作用48h裂解鼠疫疫苗株EV₇₆时,通过96孔微量板曲线图显示第1列出现横线,且峰值不超过100,随着噬菌体数量的降低,后续稀释试验孔均出现与鼠疫疫苗株EV₇₆相似的生长曲线。诊断用鼠疫噬菌体作为对照株,因其裂解能力强,曲线图显示前9个试验孔出现相似的裂解生长曲线,10~11孔出现与鼠疫疫苗株EV₇₆相似的生长曲线。实验孔中四唑类染料颜色随着噬菌体数量的减少和宿主菌数量的增多而逐渐加深。由此可见,通过OmniLog™微生物鉴定系统可以测量体系中活细胞的呼吸,同时可以排除死细胞和细胞碎片导致的培养板孔中光密度的增加。另外,通过实验可以观察到噬菌体与宿主组合的剂量效应,进而说明了分析参数对所观察表型的重要性。

伦理审查与知情同意 本研究不涉及伦理批准和患者知情同意

利益冲突声明 所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 梁冰纯, 赵文鹏, 石玉祥, 等. 牛源性肺炎克雷伯菌噬菌体的分离鉴定及生物学特性分析[J]. 中国兽医杂志, 2022, 58(9): 8-11.
LIANG B C, ZHAO W P, SHI Y X, et al. Isolation, identification and biological characteristics analysis of phage of *Klebsiella pneumoniae* from cattle[J]. Chin J Vet Med, 2022, 58(9): 8-11. (in Chinese)
- [2] 董珊珊, 王鹏, 钟佑宏, 等. 云南省普洱市家鼠鼠疫源地鼠疫噬菌体的分离及鉴定[J]. 中国热带医学, 2020, 20(8): 693-696.
DONG S S, WANG P, ZHONG Y H, et al. Isolation and identification of *Yersinia pestis* bacteriophage from plague foci of domestic rats in Pu'er City, Yunnan[J]. China Trop Med, 2020, 20(8): 693-696. (in Chinese)
- [3] 文物, 刘晨, 卢诗韵, 等. 一株新的多重耐药福氏志贺菌噬菌体生物学特性及基因组分析[J]. 生物技术通报, 2022, 38(9): 127-135.
WEN C, LIU C, LU S Y, et al. Biological characteristics and genome analysis of a new multidrug-resistant *Shigella flexneri* phage[J]. Biotechnol Bull, 2022, 38(9): 127-135. (in Chinese)
- [4] 伍亚云, 黄勋. 噬菌体治疗细菌感染的研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(2): 186-190.
WU Y Y, HUANG X. Advances in the treatment of bacterial infections by phages[J]. Chin J Infect Control, 2021, 20(2): 186-190. (in Chinese)
- [5] 商俊杰, 张春婷, 谢立国, 等. 裂解或溶源-细菌遭遇噬菌体后的命运抉择[J]. 微生物学通报, 2021, 48(9): 3380-3387.
SHANG J J, ZHANG C T, XIE L G, et al. Lysis or lysogen: the fate decision when bacteria encounter phages[J]. Microbiol China, 2021, 48(9): 3380-3387. (in Chinese)
- [6] 崔自红, 季秀玲. 细菌-噬菌体对抗性共进化研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2020, 40(1-2): 140-145.
CUI Z H, JI X L. Research progress in bacteria-phage antagonistic co-evolution[J]. China Biotechnol, 2020, 40(1-2): 140-145. (in Chinese)
- [7] 李金花, 白雨凡, 马春兰, 等. 噬菌体温度适应性的研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2022, 42(S1): 139-145.
LI J H, BAI Y F, MA C L, et al. Research progress on temperature adaptation of bacteriophage[J]. China Biotechnol, 2022, 42(S1): 139-145. (in Chinese)
- [8] 黄振华, 张昭寰, 童金蓉, 等. 噬菌体裂解酶结构特征、重组策略及其在控制食源性致病菌中的应用[J]. 食品科学, 2021, 42(23): 315-324.
HUANG Z H, ZHANG Z H, TONG J R, et al. Structural characteristics and recombination strategies of phage lysins and their application in controlling foodborne pathogens[J]. Food Sci, 2021, 42(23): 315-324. (in Chinese)
- [9] 王兆飞, 单文雅, 孙建和. 治疗耐药金黄色葡萄球菌感染的新策略: 噬菌体裂解酶[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(8): 958-965.
WANG Z F, SHAN W Y, SUN J H. Phage lysin: a new line of defense against drug-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Chin J Antibiot, 2018, 43(8): 958-965. (in Chinese)
- [10] 周彪, 甄向凯, 欧阳松应. 噬菌体裂解酶应用研究进展. 微生物学通报[J]. 2021, 48(9): 3330-3340.
ZHOU B, ZHEN X K, OUYANG S Y. Research progress in the ap-

- plication of bacteriophage lysin[J]. Microbiology China, 2021, 48(9): 3330-3340. (in Chinese)
- [11] 赵丹妮, 吴鹤松, 苏超, 等. 云南鼠疫近史疫区弥渡县鼠疫噬菌体的分离及其流行病学意义[J]. 医学动物防制, 2021, 37(12): 1181-1184, 1238.
- ZHAO D N, WU H S, SU C, et al. Study on isolation of *Yersinia pestis* phages in epidemic area in Midu County, Yunnan at modern times, and its epidemiological significance[J]. J Med Pest Control, 2021, 37(12): 1181-1184, 1238.(in Chinese)
- [12] 张海鹏, 钟佑宏, 段存娟, 等. 梁河家鼠鼠疫源地鼠疫噬菌体的分离及其流行病学意义[J]. 中国人兽共患病学报, 2020, 36(7): 589-592.
- ZHANG H P, ZHONG Y H, DUAN C J, et al. Isolation of *Yersinia pestis* phage from the Lianghe plague foci of domestic rats and its epidemiological significance[J]. Chin J Zoonoses, 2020, 36(7): 589-592.(in Chinese)
- [13] BORN F, BRAUN P, SCHOLZ H C, et al. Specific detection of *Yersinia pestis* based on receptor binding proteins of phages[J]. Pathogens, 2020, 9(8): 611.
- [14] 刘力萍, 王宏华, 王峰, 等. 副溶血弧菌CHY5-M1M噬菌体的分离鉴定及生物学特性分析[J]. 生物技术进展, 2022, 12(6): 900-905.
- LIU L P, WANG H H, WANG F, et al. Isolation, identification and biological characteristics analysis of CHY5-M1M phage of *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Curr Biotechnol, 2022, 12(6): 900-905.(in Chinese)
- [15] 郭文琼, 卢家辉, 潘伍亮, 等. 噬菌体培养与鉴定方法研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(9): 872-878.
- GUO W Q, LU J H, PAN W L, et al. Research progress of phage culture and identification methods[J]. Chin J Antibiot, 2022, 47(9): 872-878.(in Chinese)
- [16] HENRY M, BISWAS B, VINCENT L, et al. Development of a high throughput assay for indirectly measuring phage growth using the OmniLog (TM) system[J]. Bacteriophage, 2012, 2(3): 159-167.
- [17] 赵海红, 李存香, 李翔, 等. Biolog微生物鉴定系统对鼠疫菌弱毒株及其噬菌体耐受株的鉴定比较研究[J]. 医学动物防制, 2019, 35(12): 1158-1162, 1237.
- ZHAO H H, LI C X, LI X, et al. A comparative study on the identification of attenuated strains of *Yersinia pestis* and their bacteriophage resistant strains by Biolog Microbial Identification System[J]. J Med Pest Control, 2019, 35(12): 1158-1162, 1237.(in Chinese)
- [18] 柳婷婷, 夏苏苏, 宋合兴, 等. 3种MALDI-TOF MS微生物鉴定系统的比较研究[J]. 军事医学. 2022, 46(03): 173-178.
- LIU T T, XIA S S, SONG H X, et al. Comparative research of three MALDI-TOF MS microbial identification systems[J]. Military medicine. 2022, 46(03): 173-178. (in Chinese)
- [19] LAVELLE K, VAN SINDEREN D, MAHONY J. Cell wall polysaccharides of Gram positive ovococoid bacteria and their role as bacteriophage receptors[J]. Comput Struct Biotechnol J, 2021, 19: 4018-4031.
- [20] 许方方, 焦莉, 李风华, 等. 大肠杆菌噬菌体分离及宿主谱研究[J]. 现代农业科技. 2021(8): 183-186.
- XU F F, JIAO L, LI F H, et al. Study on isolation of *Escherichia coli* bacteriophage and its host spectrum[J]. Modern agricultural technology, 2021(8): 183-186. (in Chinese)

收稿日期:2023-01-12 编辑:王佳燕

(上接第719页)

- patients[J]. J Prev Med, 2018, 30(11): 1142-1144.(in Chinese)
- [17] 孙振涛, 梁吉平. 老年肺结核与中青年肺结核患者临床分析[J]. 中国现代药物应用, 2012, 6(17): 68.
- SUN Z T, LIANG J P. Clinical analysis of senile pulmonary tuberculosis and young and middle-aged pulmonary tuberculosis patients [J]. Chin J Mod Drug Appl, 2012, 6(17): 68.(in Chinese)
- [18] 蒋泽顺, 杨正贵, 李江平, 等. 宁夏结核病治疗转归影响因素分析及预测模型的建立[J]. 现代预防医学, 2021, 48(16): 2905-2910.
- JIANG Z S, YANG Z G, LI J P, et al. Analysis of influencing factors of tuberculosis treatment and establishment of prediction model in Ningxia[J]. Mod Prev Med, 2021, 48(16): 2905-2910.(in Chinese)
- [19] 皇甫蓓蓓, 豆梅琴, 陈秀英, 等. 老年肺结核患者治疗的研究进展[J]. 中国当代医药, 2022, 29(36)27-30, 35.
- HUANGFU B B, DOU M Q, CHEN X Y, et al. Research progress in treatment of elderly patients with pulmonary tuber-culosis[J]. China Mod Med, 2022, 29(36)27-30, 35(in Chinese)
- [20] 黄智月. 121例重症涂阳肺结核临床分析[J]. 医学理论与实践, 2015, 28(9): 1253-1254.
- HUANG Z Y. Clinical analysis of 121 cases of severe smear-positivepathogenic-positive pulmonary tuberculosis[J]. J Med Theory Pract, 2015, 28(9): 1253-1254.(in Chinese)
- [21] 雷蓉蓉, 张婷, 汪清雅, 等. 2011—2020年重庆市老年复发肺结核流行病学特征及治疗转归分析[J]. 现代预防医学, 2022, 49(11): 1945-1948, 1954.
- LEI R R, ZHANG T, WANG Q Y, et al. Analysis on the treatment outcomes and epidemiological feature of elderly recurrent tuberculosis in Chongqing, 2011-2020[J]. Mod Prev Med, 2022, 49(11): 1945-1948, 1954.(in Chinese)

收稿日期:2023-02-13 编辑:符式刚