

基于管家基因和水平转移基因的菌株亲缘性分析:60 株耐药大肠埃希菌研究

赵旺胜¹,王芳¹,翁幸璧²,糜祖煌³,潘世扬^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院医学检验科,江苏 南京 210029;²宁波市第一医院检验科,浙江 宁波 315010;³无锡市克隆遗传技术研究所,江苏 无锡 214026)

[摘要] 目的:了解 1 组(60 株)耐药大肠埃希菌的菌株亲缘性。方法:对该组耐药大肠埃希菌 4 种与耐药相关的管家基因和 45 种水平转移获得与 β -内酰胺类、氨基糖苷类、喹诺酮类耐药相关基因以及 7 种整合子、转座子、插入序列、接合性质粒遗传标记进行检测。并对检测结果进行样本聚类分析。结果:60 株耐药大肠埃希菌多态性明显,多数菌株已发生演化。只有 6、53 号株;10、14 号株,7、8、26、40 号株 3 组携带相同基因(同一克隆)。结论:耐药基因的样本聚类分析可识别出具有相同耐药特征的菌株,具有一定的流行病学意义,为追溯耐药菌传播途径提供方便。

[关键词] 大肠埃希菌;菌株亲缘性

[中图分类号] R446.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)01-109-06

The relatedness in 60 drug-resistant *Escherichia coli* strains based on the analysis of the housekeeping genes and genes acquired by horizontal transfer

ZHAO Wang-sheng¹, WANG Fang¹, WENG Xing-bei², MI Zu-huang³, PAN Shi-yang^{1*}

(¹Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Laboratory Medicine, the First Hospital of Ningbo, Ningbo 315010; ³Clonal Genetic Technology Research Institute, Wuxi 214026, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relatedness in 60 drug-resistant *Escherichia coli* (*E.coli*) strains. **Methods:** Drug-resistance related genes were analyzed by PCR, including 4 kinds of housekeeping genes and 45 kinds of horizontal transferred genes related to 3 kinds of antimicrobial agents: beta-lactams, aminoglycosides, quinolones, as well as 7 kinds of genetic markers of integrons, transposons, insertion sequences and conjugal plasmids. They were used for the sample clustering analysis. **Results:** Polymorphism were distinct in 60 *E.coli* strains. Most strains showed evolution. Only 3 strain groups which consisted of strain 6 and 53, strain 10 and 14, strain 7, 8, 26 and 40, were the same clones carried the same genes. **Conclusion:** Sample clustering analysis of drug-resistance related genes could distinguish the strains with the same antimicrobial resistance characteristics, which was significant in epidemiologic research and provide convenience for tracing transmissible routes of drug-resistant strains.

[Key words] *Escherichia coli*; relatedness

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(1): 109-114]

对一组临床分离株(同一种细菌)中每一株进行全基因组测序,并对测得结果进行样本聚类分析无疑是该组菌株亲缘性分析的最可靠方法。最近, Harris 等^[1]和 Morelli 等^[2]分别对耐甲氧西林金

黄色葡萄球菌(methicillin resistant staphylococcus aureus, MRSA)和 *Yersinia pestis* 作全基因组测序,并对所发现的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)作聚类分析,用作分析院内感染和洲际传播分析。但对研究组中每一株菌进行全基因组测序,耗资巨大。那么,在所研究的菌株基因组中选择一些有代表性的管家基因和水平转移基因进行检测(即抽样检测),进而作样本聚类

[基金项目] 江苏省实验诊断学重点实验室重大项目(XK200731)

*通讯作者, E-mail: sypan@njmu.edu.cn

分析值得尝试。本研究对 1 组(60 株)耐药大肠埃希菌完成了 4 种与耐药相关的管家基因和 45 种水平转移获得与 β-内酰胺类、氨基糖苷类、喹诺酮类耐药相关基因以及 7 种整合子、转座子、插入序列、接合性质粒遗传标记检测,并对检测结果作了样本聚类分析,试图解析菌株亲缘性,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

60 株耐药大肠埃希菌均分离自南京医科大学第一附属医院 2006 年 3 月~2008 年 11 月患者尿液标本,菌株选取标准为头孢噻肟、妥布霉素、环丙沙星 3 种抗菌药物中有 2 种或 2 种以上耐药者。全部菌株均使用 API 细菌鉴定系统鉴定。

1.2 方 法

1.2.1 抗 菌 药 物 敏 感 性 试 验

采用纸片扩散法测定 16 种抗菌药物的敏感性,MH 琼脂和药敏纸片均为英国 OXOID 公司产品。并根据美国 CLSI2008 年版要求进行抗菌药物敏感性判断。药敏试验质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.2.2 细 菌 处 理

挑纯培养菌落置入 0.5 ml 离心管内(内置

200 ng/ml 蛋白酶 K 溶液 200 μl),56℃水浴 2 h,改 95℃水浴 10 min,离心(15 000 r/min)30 s。上清液即为基因检测的模板液,-20℃冰箱保存备用。

1.2.3 基 因 检 测

耐药相关的管家基因与水平转移获得的 β-内酰胺类、氨基糖苷类和喹诺酮类获得性耐药基因,以及整合子、转座子、插入序列、接合性质粒遗传标记基因检测均为 PCR 法。靶基因引物识别序列和目的产物长度见表 1、2。各种靶基因 PCR 扩增体系均为:每反应体系 P1 引物 1 μl(1.0 μmol/L)、P2 引物 1 μl(1.0 μmol/L)、dNTPs 2 μl(2 mmol/L)、10 倍缓冲液 2 μl [KCl 10 mmol/L、(NH₄)₂SO₄ 8 mmol/L、MgCl₂ 2 mmol/L、Tris-HCl (pH9.0)10 mmol/L、NP40 0.5%、BSA 0.02%(W/V)、Taq DNA pol 1 U(不计体积)、超纯水 9 μl,模板液 5 μl,总反应体积 20 μl。PCR 扩增产物> 500 bp 的热循环参数均为:93℃预变性 2 min;然后 93℃ 60 s,55℃ 60 s,72℃ 60 s,循环 35 周期;最后 72℃延伸 5 min。PCR 扩增产物 < 500 bp 的热循环参数均为:93℃预变性 2 min;然后 93℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 60 s,循环 35 周期;最后 72℃延伸 5 min。产物经 2%琼脂糖凝胶电泳,出现与阳性对照分子相当的条带为目的条带为阳性。检测试剂盒和阳性对照 DNA 由无锡市克隆遗传技术研究所提供。

表 1 管家基因引物识别序列和目的产物长度

Table 1 Primer sequences and product length of housekeeping genes

基因类型	基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
喹诺酮类靶基因	gyrA	P1: AAATCTGCCCGTGTCTGGT	344
		P2: GCCATACCTACGGCGATACC	
膜孔蛋白编码基因	ompC	P1: ATGAAAGTTAAAGTACTGTCCCTCCTG	1 104
		P2: TTAGGACTGTTAAACCAGACCCAGAGC	
小多药外排泵基因	mdfA	P1: CCTCTCTGTCTGGTGCTTTAC	328
		P2: TTCATTGGCGCTGTGGGATAC	
	tehA	P1: ATGCAGAGCGATAAAGTGCTC	436
		P2: TGGACTGTATCTGCCGACAG	

1.2.4 阳 性 基 因 测 序

PCR 阳性产物以 PCR 直接全自动荧光法测序,委托上海博尚生物技术有限公司完成(测序在美国 ABI 公司 3730 型毛细管全自动测序仪上进行)。

1.2.5 序 列 比 对

测序工具软件为 Chromas,测序结果用 Chromas 直接作 BLAST Search 比对。

1.2.6 聚 类 分 析

对管家基因和水平转移基因检测结果作样本聚类分析(邻结法)。

2 结 果

2.1 药 敏 试 验 结 果

实验菌株均对除亚胺培南外的多种抗生素耐药,尤其对环丙沙星、左氧氟沙星、头孢唑啉、头孢呋辛耐药率达到 70%左右(表 3)。

2.2 耐 药 大 肠 埃 希 菌 管 家 基 因、水 平 转 移 基 因 检 测 结 果 及 样 本 聚 类 分 析

60 株耐药大肠埃希菌管家基因中,有 55 株为喹诺酮类靶基因和膜孔蛋白编码基因突变,未检测到

表 2 水平转移获得的靶基因引物识别序列和目的产物长度

Table 2 Primer sequences and product length of genes acquired by horizontal transfer

基因类型	基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)	
β-内酰胺类获得性耐药基因	TEM	P1:AGGAAGAGTATGATTCAACA P2:CTCGTCGTTTGGTATGGC	535	
	SHV	P1:TGCGCAAGCTGCTGACCAGC P2:TTAGCGYTGCCAGTGCTCGA	305	
	CTX-M-1 群	P1:ATGGTTAAAAAATCACTGCCGYCAGTTC P2:TCACAAAACCGTYGGTGACGATTTTACCCGC	876	
	CTX-M-2 群	P1:ATGATGACGCAGAGCATTCCGCCGCTCA P2:TCAGAAAACCGTGGGTTACGATTTTCGC	876	
	CTX-M-8 群	P1:ATGATGAGACATCGCGTTAAGCGG P2:TTAATAACCGTCGGTGACGATTTTCGCG	876	
	CTX-M-9 群	P1:ATGGTGACAAAAGAGAGTGCAACGG P2:TTACAGCCCTTCGGCGATGATTTCTCGC	876	
	CTX-M-25 群	P1:ATGATGAGAAAAAGCGTAAGGCCGGGCG P2:TTAATAACCGTCGGTGACAATTCTGGC	876	
	OXA-1 群	P1:CTGTTGTTTGGGTTTCGCAAG P2:CTTGGCTTTTATGCTTGATG	440	
	OXA-2 群	P1:CAGGCGCYGTTCGYGATGAGTT P2:GCCYTCTATCCAGTAATCGCC	233	
	OXA-10 群	P1:GTCTTCRAGTACGGCATT P2:GATTTTCTTAGCCGCAACTTA	822	
	LAP	P1:ATGAAAAAGATCCGCCTTATTATAA P2:TTACCAGTTCTTAATTAATGAAATC	858	
	CARB	P1:AAAGCAGATCTTGTGACCTATTC P2:TCAGCGCGACTGTGATGTATAAAC	588	
	PER	P1:AGTCAGCGGCTTAGATA P2:CGTATGAAAAGGACAATC	978	
	GES	P1:ATGCGCTTCATTCACGCAC P2:CTATTTGTCCGTGCTCAGG	846	
	VEB	P1:GCGGTAATTTAACCAGA P2:GCCTATGAGCCAGTGTT	961	
	DHA 群	P1:AACTTTCACAGGTGTGCTGGGT P2:CCGTACGCATACTGGCTTTGC	405	
	ACT-1 群	P1:TCGGTAAAGCCGATGTTGCCG P2:CTTCCACTGCGGCTGCCAGTT	303	
	CMY/LAT 群	P1:TGGCCAGAACTGACAGGCAA P2:TTTCTCCTGAACGTGGCTGG	462	
	CMY/MOX 群	P1:GCTGCTCAAGGACACAGGAT P2:CACATTGACATAGGTGTGGTG	520	
	ACC 群	P1:ACAGCCTCAGCAGCCGGTTA P2:TTCCGCGCAATCATCCCTAG	345	
	FOX 群	P1:AACATGGGGTATCAGGGAGAT P2:CAAAGCGCGTAACCGGATTGG	190	
	氨基糖苷类获得性耐药基因	aac(3)- I	P1:ACCTACTCCAACATCAGCC P2:ATATAGATCTCACTACGCGC	169
		aac(3)- II	P1:ACTGTGATGGGATACGCGTC P2:CTCCGTCAGCGTTTCAGCTA	237
		aac(3)- III	P1:CACAAGAACGTGGTCCGCTA P2:AACAGGTAAGCATCCGCATC	185
		aac(3)- IV	P1:CTTCAGGATGGCAAGTTGCT P2:TCATCTCGTTCTCCGCTCAT	286
		aac(6')- I b	P1:ATGACTGAGCATGACCTTGC	519

(接上页) 续表 2 水平转移获得的靶基因引物识别序列和目的产物长度

基因类型	基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度
		P2:TTAGGCATCACTGCGTGTTT	
	aac(6')-II	P1:TTCATGTCCGCGAGCACCCC	178
		P2:GACTCTTCCGCCATCGCTCT	
	ant(3'')-I	P1:TGATTTGCTGGTTACGGTGAC	284
		P2:CGCTATGTCTCTTGCTTTTG	
	ant(2'')-I	P1:GAGCGAAATCTGCCGCTCTGG	320
		P2:CTGTTACAACGGACTGGCCGC	
	ant(4')-I	P1:CGTGGAGCGATATCGATTTTCG	266
		P2:TCTGGTTCGGCGGCCGGATGC	
	aadA5	P1:ATGGGTGAATTYTTYCCTGCACAA	789
		P2:TCAACGCAAGATTCTCTCATTCGT	
	aadA6	P1:ATGAGYAACGCAGTRCCCGCC	846
		P2:TTAAGCYGCGCCGCGAAGCGG	
	aph(3')-I	P1:ATGTGCCATATTCAACGGGAAACG	816
		P2:TCAGAAAAAECTCATCGAGCATCAA	
	aph(3')-IIb	P1:ATGCATGATGCAGCCACCTCC	804
		P2:CTAGAAGAACTCGTCCAATAGCCT	
	aph(3')-VIa	P1:ATACAGAGACCACCATACAGT	234
		P2:GGACAATCAATAATAGCAAT	
	rmtA	P1:CCTAGCGTCCATCCTTTCCCTC	315
		P2:AGCGATATCCAACACACGATGG	
	rmtB	P1:ATGAACATCAACGATGCCCTC	756
		P2:TTATCCATTCTTTTTTATCAAGTATAT	
	rmtC	P1:ATGAAAAACCAACGATAATTATC	846
		P2:TTACAATCTCGATACGATAAAATAC	
	rmtD	P1:ATGAGCGAACTGAAGGAAAACTGCT	744
		P2:TCATTTTCGTTTCAGCACGTAAAACAG	
	armA	P1:ATGGATAAGAATGATGTTGTTAAG	774
		P2:TTATTTCTGAAATCCACTAGTAATTA	
	npmA	P1:TTGGGTACTGGAGACGGTAG	421
		P2:CAGCTTTGTATTGTTCCGCTC	
喹诺酮类获得性耐药基因	qnrA	P1:CAAGAGGATTTCTCAGCCAG	240
		P2:GAACTCTATGCCAAAAGCAGTTGG	
	qnrB	P1:ATGRCTCTGGCMTMGTGGCGA	645
		P2:CTARCCAATMAMCGCGATGCCAAG	
	qnrS	P1:ATGGAACCTACMRTCAACATAT	657
		P2:TTAGTCAGGAWAAACAACAATACCC	
	qepA	P1:GCCGAACGCCGCTGCCGACAG	501
		P2:TGCTGCTGACGCTGGCGCTC	
整合子基因遗传标记基因	int I 1	P1:CCGAGGATGCCAACCCTTC	373
		P2:CGGCCACTGCCCGTTACCA	
转座子、插入序列基因遗传标记基因	Tn21	P1:GACCAGCCGAGTTCGTCTA	462
		P2:GCAGCASGAAAGCTGCTTCA	
	ISCR1	P1:ATGTCGCTGGCAAGGAACGC	240
		P2:GGGTTGCTGCGAGGATTGT	
	IS26	P1:CACACGAACCCATTCAAAGGCC	240
		P2:TCTTTGCCCGTGGCACATTCTCAA	
	ISEp1	P1:CTTCATTGGCATTGATAAGTTAG	299
		P2:TGTAGCATCGGTTTCCAGTTTC	
接合性质粒遗传标记基因	traA	P1:AAGTGTTCCAGGGTCTTCTGCCG	272
		P2:GTCATGTACATGATGACCATTT	
	trbC	P1:CGGYATWCCGSCSACRCTGGC	255
		P2:GCCACCTGYSBGCAGTCMCC	

小多药外排泵基因突变株(表 4);水平转移基因中,检出率高的有 TEM-1 (85.0%)、CTX-M-55 (63.3%)、aac(3)-II (58.3%)、intI1 (70%)、IS26 (83.3%)、traA (81.7%,表 5)。

表 3 60 株耐药大肠埃希菌 16 种抗菌药物的药敏试验结果
Table 3 Results of drug sensitivity test of 16 antibiotics for 60 drug-resistant *Escherichia coli* strains

抗菌药物	[n(%)]		
	敏感	中介	耐药
头孢唑啉	17(28.3)	2(3.3)	41(68.4)
头孢呋辛	18(30.0)	1(1.6)	41(68.4)
头孢噻肟	22(36.7)	3(5.0)	35(58.3)
氨基曲南	28(46.6)	12(20.0)	20(33.4)
头孢吡肟	33(55.0)	10(16.6)	17(28.4)
头孢他啶	43(71.6)	9(15.0)	8(13.4)
头孢西丁	47(78.3)	4(6.7)	9(15.0)
阿莫西林/克拉维酸	28(46.6)	26(43.4)	6(10.0)
哌拉西林/他唑巴坦	55(91.8)	4(6.6)	1(1.6)
亚胺培南	60(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
庆大霉素	29(48.3)	5(8.3)	26(43.3)
妥布霉素	20(33.4)	7(11.6)	33(55.0)
阿米卡星	48(80.0)	2(3.3)	10(16.7)
环丙沙星	13(21.6)	0(0.0)	47(78.4)
左氧氟沙星	13(21.6)	0(0.0)	47(78.4)
复方磺胺甲恶唑	18(30.0)	1(1.6)	41(68.4)

表 4 60 株耐药大肠埃希菌管家基因检测结果

Table 4 Analysis of housekeeping genes of 60 drug-resistant *Escherichia coli* strains

基因类型	基因名称	突变数
喹诺酮类靶基因	gyrA	55(91.7)
膜孔蛋白编码基因	ompC	54(90.0)
小多药外排泵基因	mdfA	0(0)
	tehA	0(0)

60 株耐药大肠埃希菌大多数携带不相同基因,只有 6、53 号株;10、14 号株;7、8、26、40 号株 3 组为同一克隆(图 1)。

3 讨论

细菌的脉冲场凝胶电泳(PFGE)分类技术是应用某种限制性内切酶酶切后观察特定分子量的条带是否存在,该限制性内切酶酶切位点即为分类判别标准。细菌的 rep-PCR、ERIC-PCR、BOX-PCR 分类技术以及串联重复序列(VNTR)分类技术均以特定 PCR 引物序列为分类判别标准。上述技术均采用单个分子标记技术,仅能作分类(分型)使用,不能用作菌株亲缘性分析。但目前国内同行将细菌的 PFGE 分类(分型)仍视为“金标准”,最近冯伟云等[3]

表 5 60 株耐药大肠埃希菌水平转移基因检测结果

Table 5 Analysis of horizontal transferred genes of 60 drug-resistant *Escherichia coli* strains

基因类型	基因名称	阳性数(%)
β-内酰胺类获得性耐药基因	TEM-1	51(85.0)
	CTX-M-55	38(63.3)
	OXA-30	6(10.0)
氨基糖苷类获得性耐药基因	aac(3)-II	35(58.3)
	aac(6')-I b	4(6.7)
	ant(3'')-I	8(13.3)
	aadA5	32(53.3)
	aph(3')-I	4(6.7)
	rmtB	6(10.0)
喹诺酮类获得性耐药基因	aac(6')-I b-cr	5(8.3)
整合子基因遗传标记基因	intI 1	42(70.0)
转座子、插入序列基因遗传标记基因	Tn21	10(16.6)
	ISCR1	23(38.3)
	IS26	50(83.3)
	ISEcp1	46(76.7)
接合性质粒遗传标记基因	traA	49(81.7)
	trbC	42(70.0)

注:检测为阴性基因的项目未列出。

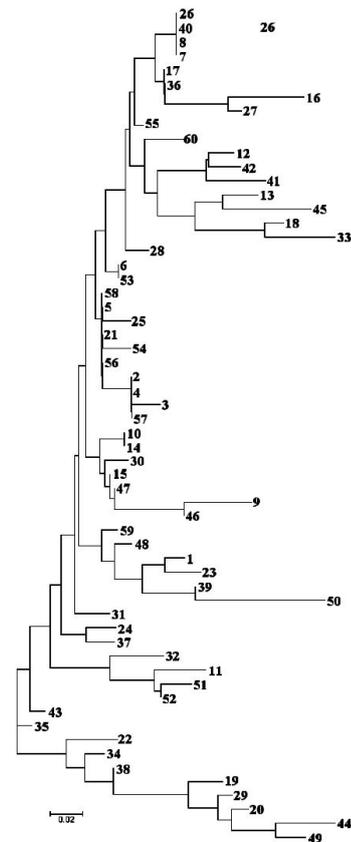


图 1 60 株耐药大肠埃希菌管家基因和水平转移基因检测结果样本聚类分析(邻结法)

Figure 1 Sample clustering analysis of housekeeping genes and horizontal transferred genes of 60 drug-resistant *Escherichia coli* strains

发现 PFGE 为同型的铜绿假单胞菌连质粒谱也是不同的。近年国内外有多篇论文中涉及鲍曼不动杆菌 PFGE 基因分型和耐药基因检测, 存在同一 PFGE 带谱的菌株所检出的耐药基因是不同的菌株^[4-9]。不难看出 PFGE 分型分辨率低。

聚类分析需要收集多种特征(指标、变量)。细菌的多位点酶电泳(MLEE)、多位点 VNTR(MLVA)、多位点序列分型(MLST)均收集多种变量, 其结果经样本聚类分析即可得到菌株亲缘关系图。近年来, 菌株亲缘性分析采用 MLST 技术颇多, 然而由于 MLST 技术只选用管家基因作为分析的靶基因, 而管家基因过于保守(进化慢)而分辨率低。国外学者采用多位点毒力序列分型(MVLST), 以提高分辨率^[10]。国内学者则采用管家基因和毒力基因联合的多位点序列分型来提高分辨率^[11]。

细菌耐药有突变耐药和获得性耐药。突变耐药是指细菌的抗菌药物作用靶位编码基因突变所致的耐药。获得性耐药是指细菌借助于可移动遗传元件(整合子、转座子、插入序列和质粒等)获得耐药基因, 这一过程称基因的水平转移(horizontal gene transfer, HGT)。这些耐药基因编码抗菌药物水解酶、修饰酶, 或编码抗菌药物作用靶位保护蛋白, 或编码抗菌药物外排泵等。水平转移获得的耐药基因重组速率极高。因此, 耐药细菌(尤其医院感染耐药细菌)的菌株亲缘性分析如仅考虑管家基因显然存在缺陷。本研究对 1 组(60 株)耐药大肠埃希菌 4 种与耐药相关的管家基因和 45 种水平转移获得与 β -内酰胺类、氨基糖苷类、喹诺酮类耐药相关基因以及 7 种整合子、转座子、插入序列、接合性质粒遗传标记进行了检测, 并对检测结果作了样本聚类分析。由图 1 可见, 60 株耐药大肠埃希菌多态性明显, 多数菌株已发生演化。揭示多个菌株携带多个相同的耐药基因, 只有 6、53 号株; 10、14 号株, 7、8、26、40 号株 3 组为携带相同基因(同一克隆), 结果表明耐药基因的样本聚类分析可识别出具有相同耐药特征的菌株, 当聚为同一类别时, 暗示具有相同特性, 具有一定的流行病学意义。

耐药表型和基因型的检测有利于医院感染的预防和控制, 本研究结果显示, 60 株大肠埃希菌对喹诺酮类、氨基糖苷类和头孢类耐药率较高, 同时检测的管家基因突变株数、 β -内酰胺类等获得性耐药基因、整合子基因株数也很多, 表明与耐药相关的管家基因和水平转移获得的耐药基因均为显性遗传, 与本研究耐药菌所观察的表型相对应, 如能

在收集菌株的同时, 能收集入院或转床位的时间以及介入性治疗和护理的时间等数据, 结合聚类分析图就能追溯耐药菌的传播途径。

致谢: PCR 引物由无锡市克隆遗传技术研究所糜祖煌、江苏大学临床医学院糜家睿(rmtB、IS26)根据 2010 年 8 月 11 日之前已在 www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide 登录的各种序列的保守区域完成设计, 生物信息学数据处理由虎马信息工作室完成, 并获授权使用。

[参考文献]

- [1] Harris SR, Feil EJ, Holden MT, et al. Evolution of MRSA during hospital transmission and intercontinental spread [J]. Science, 2010, 327(5964): 469-474
- [2] Morelli G, Song Y, Mazzone CJ, et al. Yersinia pestis genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity [J]. Nat Genet, 2010, 42(12): 1140-1143
- [3] 冯伟云, 胡锡浩, 许小敏, 等. 烧伤病房铜绿假单胞菌耐药谱检测及分子流行病学研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(14): 2009-2011
- [4] 王辉, 郭萍, 孙红莉, 等. 碳青霉烯类耐药不动杆菌分子流行病学及其泛耐药的分子机制 [J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(12): 1066-1073
- [5] 魏星, 沈定霞, 闫中强, 等. 碳青霉烯类鲍曼不动杆菌的传播和分子特征 [J]. 中华流行病学杂志, 2008, 29(3): 277-281
- [6] 许小敏, 陈琳, 糜祖煌, 等. 鲍氏不动杆菌医院感染株亲缘性分析 3 种方法学的比较 [J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(6): 713-716
- [7] 汪一萍, 陈国忠, 许小敏, 等. 多耐药鲍氏不动杆菌菌株亲缘性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(24): 3847-3850
- [8] Nemeč A, Krizova L, Maixnerova M, et al. Emergence of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* in the Czech Republic is associated with the spread of multidrug-resistant strains of European clone II [J]. J Antimicrob Chemother, 2008, 62(3): 484-489
- [9] Srinivasan VB, Rajamohan G, Pancholi P, et al. Genetic relatedness and molecular characterization of resistance determinants in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in central Ohio, USA [J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2009, 8(6): 21-30
- [10] Zhang W, Jayarao BM, Knable SJ. Multi-virulence-locus sequence typing of *Listeria monocytogenes* [J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(2): 913-920
- [11] 梁启平, 陈健舜, 陈巧妙, 等. 进口水产品中单增李斯特菌的分子流行病学特点 [J]. 微生物学报, 2009, 46(6): 766-772

[收稿日期] 2011-07-15