

鲍曼不动杆菌的耐药基因分型与脉冲场凝胶电泳分型的比较

金辉¹, 徐小敏², 糜祖煌³, 刘沛¹

摘要: [目的] 了解耐药鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, Ab)中耐药基因的分布情况, 并比较基于耐药基因分型和脉冲场凝胶电泳分型的差异性。[方法] 对2005年宁波市第二医院收集的27株流行和散发的Ab进行耐药分析, 并对脉冲场凝胶电泳方法和基于耐药基因聚合酶链反应的聚类分析方法进行比较。[结果] 27株Ab耐多种抗生素和携带多种耐药基因。基于多个类别的耐药基因分型与脉冲场凝胶电泳方法分型相比有88.9%的一致性, 而且耐药基因分型能更好地反映不同耐药株的耐药过程。[结论] 与脉冲场凝胶电泳方法相比, 耐药基因分型方法可以用于院内感染的流行研究, 且有助于临床的诊断和治疗。

关键词: 鲍氏不动杆菌; 耐药基因分型; 脉冲场凝胶电泳

Comparison of Drug Resistant Genes Typing and Pulsed-field Gel Electrophoresis Typing for *Acinetobacter Baumannii* JIN Hui¹, XU Xiao-min², MI Zu-huang³, LIU Pei¹(1. Department of Epidemiology and Health Statistics, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China; 2. The Second Hospital of Ningbo, Ningbo, Zhejiang 315010, China; 3. Institute of Gene and Clone Technology, Wuxi, Jiangsu 214026, China)

Abstract: [Objective] To study the epidemiology of drug resistant genes of *Acinetobacter baumannii* and to compare the difference between the two genotyping methods, i.e. drug resistant gene typing (DRGT) and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). [Methods] Twenty-seven isolates of *Acinetobacter baumannii* were collected in the Second Hospital of Ningbo during 2005, including both epidemic and sporadic events. Susceptibility test, PFGE, DRGT and cluster analysis were carried out to confirm the drug resistance and to analyze the genotyping, respectively. [Results] Twenty-seven strains of *Acinetobacter* displayed multiple antibiotic resistance and drug resistant genes. The result of DRGT based on various drug resistant genes was comparable to PFGE in *Acinetobacter* strains with the concordance of 88.9%, and even suggested a molecular evolution course of different drug-resistant strains. [Conclusion] Compared to PFGE, DRGT is useful to analyze molecular epidemiology of nosocomial infections, which would benefit clinical diagnosis and therapy.

Key Words: *Acinetobacter baumannii*; drug-resistance gene typing (DRGT); pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

多重耐药鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, Ab)是医院感染的重要病原体^[1-2]。它耐干燥并借助携带多个耐药基因的移动元件(如转座子和整合子)可快速获得多重耐药, 从而能在医院环境中长期存在, 进而导致医院感染的流行或爆发, 甚至导致重症监护病房病人的间接死亡^[3]。脉冲场凝胶电泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)^[4]是目前流行病学调查中基因分型的标准方法, 但在医院感染中与耐药基因及耐药表型之间存在何种关联还少见报道。因此, 本研究拟基于多种耐药基因的检测, 建立耐药基因分型(drug-resistance gene typing, DRGT)方法, 并同PFGE方法进行比较, 来判断耐药基因在医院感染流行或爆发中的存在特征, 从而为医院感染的预防和控制提供理论和实践上的依据。

[作者简介] 金辉(1973-), 男, 博士生, 讲师; 研究方向: 环境流行病学; E-mail: jinhuid@gmail.com

[作者单位] 1. 东南大学公共卫生学院流行病与卫生统计系, 江苏 南京 210009; 2. 宁波市第二医院, 浙江 宁波 315010; 3. 无锡基因克隆技术研究所, 江苏 无锡 214026

1 材料与方法

1.1 菌株

2005年期间, 对宁波市第二医院ICU病房病人进行持续监测并检测Ab。收集27例病人的27份不重复标本, 具体包括导管痰10份、痰液9份、腹腔引流液2份、伤口或创面分泌物2份、尿液1份、血液1份、尿管口标本1份和冷凝水标本1份。记录收集时间和病房号。这些样品被随机编码以避免主观偏倚。流行病学相关菌株定义为分离株来自不同病人的连续收集标本, 这些病人是居住在同一楼层或同一房间且住院期有重叠, 否则这些分离株就与流行病学不相关或为散发菌株。

1.2 细菌鉴定和药敏实验

使用法国生物梅里埃公司ATB细菌鉴定仪鉴定菌种。药敏实验采用K-B法测定13种抗菌药物敏感性, 根据美国临床和实验标准委员会推荐标准判断药物敏感性。参考株为大肠埃希菌ATC 25922、绿脓假单胞菌ATCC 27853和金黄色葡萄球菌ATCC 29213。

1.3 聚合酶链反应(PCR)的DNA提取

分离株在 37 ℃ 琼脂糖平板中过夜,从 5 或 6 个分散的菌落中用消毒环取出放入含有 50 μL 的无菌蒸馏水的 0.2 mL Eppendorf 管(德国 Eppendorf 公司)中。裂解通过在 2400 PerkinElmer 热循环仪(美国 PE 公司)中加热 95 ℃ 10 min。

1.4 PFGE

PFGE 可见文献[5]的描述。扼要地说,基因组 DNA 使用 *Apal* 酶切后,置入在 0.5 mol/L 氨基丁三醇-乙二胺四乙酸(Tris-EDTA)中的 1% 琼脂糖凝胶中,使用 6 V/cm 脉冲场凝胶电泳仪检测。脉冲时间范围在 5.0~8.0 s,持续 24 h。然后凝胶用溴化乙锭染色,在紫外灯下观察和拍片留存。判断结果见文献[4]。

1.5 DRGT

根据最近流行病学调查^[1,3,6,9]和药敏实验来选择常见耐药基因。编码耐药性的等位基因序列进行比对,并使用生物编辑软件(<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>)识别群特异区域。下列引物见文献:*OXA-23*和*OXA-24*^[6],*SHV*,*VEB-1*,*CTX-M-1*,*GES*,*TEM*和*PER-1*^[7],*aac(3)-*,*aac(3)-*,*aac(6')-*,*ant(2")-*^[9];其他引物自行设计,见

表 1。每个耐药基因 PCR 反应体系是: *P₁* 和 *P₂*, 0.5 μmol, dNTPs 200 mmol, KCl 10 mmol, (NH₄)₂SO₄ 8 mmol, MgCl₂ 2 mmol, Tris-HCl (pH 9.0) 10 mmol, NP40 0.5%, BSA 0.02%, TaqDNA pol 1 U 和总体积 20 μL(模板液 5 μL)。当扩增产物 > 500 bp 时,扩增条件为:初始变性 93 ℃ 2 min, 35 个循环 93 ℃ 60 s、55 ℃ 60 s、72 ℃ 60 s,最后的延长 72 ℃ 5 min。产物小于 500 bp 的扩增条件为:初始变性 93 ℃ 2 min, 35 个循环 93 ℃ 30 s、55 ℃ 30 s、72 ℃ 60 s,最后的延长 72 ℃ 5 min。代表性的扩增片段最后经基因组测序和序列比对来确定。

每一 Ab 分离株用 PCR 扩增 24 个耐药基因、3 类整合子及 Tn21/Tn501 转座子,琼脂糖凝胶成像结果用二分类方式转换(阳性特异性条带为“1”,阴性条带为“0”),然后使用样本聚类和指标聚类分析。采用类似 PFGE 标准,如果 DRGT 中耐药基因完全相同为同一型别(如 A),如果有 1 个耐药基因不同则为同亚型(如 A1),如果 2 个耐药基因不同则为另一亚型(如 A2),如 3 个不同则为另一型别(如 B),4 个不同为 B1,5 个不同为 B2,并依此类推。

表 1 PCR 检测耐药基因的引物序列

Table 1 Sequence of primers for detection of drug resistance genes by PCR

基因名(Gene name)	引物序列 5' 3'(Primer sequence)	基因名(Gene name)	引物序列 5' 3'(Primer sequence)
<i>CARB</i>	F: AAAGCAGATCTTGTGACCTATTC	<i>aac(6')-</i>	F: TTCATGTCCGCGAGCACCC
588 bp*	V: TCAGCGCGACTGTGATGATAAAC	178 bp*	V: GACTCTTCCGCCATCGCTCT
<i>OXA-51</i>	F: ATGAACATTAAGCACTCTTACTT	<i>IMP</i>	F: CGGCC(G/T)CAG GAG(A/C)G(G/T)CTTT
825 bp*	V: CTATAAAATACCTAATTGTTCTAA	587 bp*	V: AACCAGTTTTGC(C/T)TTAC(C/T)AT
<i>OXA-58</i>	F: TCGATCAGAATGTTCAAGCGC	<i>VIM</i>	F: ATTCCGGTCGG(A/G)GAGGTCCG
530 bp*	V: ACGATTCTCCCTCTGCGC	633 bp*	V: GAGCAAGTCTAGACCCGCCG
<i>SPM</i>	F: CTGCTTGGATTGATGGGCGCG	<i>ant(3")-</i>	F: TGATTGCTGGTTACGGTGAC
784 bp*	V: CCTTTTCCGCGACCTTGATCG	284 bp*	V: CGCTATGTTCTTGTCTTTTG
<i>MerA</i>	F: GACCAGCCGAGTTCGTCTA	<i>qacE Δ 1-sul1</i>	F: TAGCGAGGGCTTTACTAAGC
462 bp*	V: GCAGCA(G/C)GAAAGCTGCTTCA	300 bp*	V: ATTCAGAATGCCGAACCCG
<i>GIM</i>	F: CTTGTAGCGTTGCCAGCTTTA	<i>int11</i>	F: CCGAGGATGCGAACCCTTC
562 bp*	V: CAGCCCAAGAGCTAATTGAGG	373 bp*	V: CCGCCACTGCGCCGTTACCA
<i>ADC</i>	F: GGTATGGC(T/C)GTGGG(T/C/G)GT(T/C)ATTC	<i>int12</i>	F: CACGGATATGCGACAAAAAGGT
445 bp*	V: CTAAGA(C/G)TTGGTC(G/A)AA(A/G)GGT	789 bp*	V: GTAGCAAACGAGTGACGAAATG
<i>DHA</i>	F: AACTTTACAGGTGTGCTGGGT	<i>int13</i>	F: GCCTCCGGCAGCGACTTTTCAG
405 bp*	V: CCGTACGCATACTGGCTTTGC	433 bp*	V: ACGGATCTGCCAAACCTGACT

[注]*: 序列长度。

2 结果

2.1 Ab 耐药基因检测情况

除了 Ab 菌株 p8 和 p15(未检出相关基因,但表型对庆大霉素和丁胺卡那霉素耐药)外,耐药基因检测结果基本同耐药表型结果相一致。耐药表型中,磺胺甲噁唑耐药率最高,其次是头孢噻肟和氨基糖苷类,三者的耐药率分别是 96.3%、92.6% 和 92.6%;而耐药率最低的 2 种抗生素(亚胺培南和美罗培南)也达到 55.6%。耐药基因主要包含 β 内酰胺酶类基因和氨基糖苷类基因。27 株 Ab 中 85.2% 检测到 β 内酰胺酶类基因,包括 *TEM* 22(81.5%), *OXA-23* 12(44.4%), *ADC* 23(85.2%);携带氨基糖苷类基因也达到 85.2%,其中 23(85.2%)株携带 *aac(3)-*、18(66.7%)株携带 *aac(6')-* 和 22(81.54%)株携带 *ant(3")-*。在移动元件中,只有整合子 I 型被检出(85.2%)。而耐药基因 *SHV*、*PER*、*VEB*、*GES*、*CARB*、*CTX-M-1*、*OXA-24*、

OXA-51、*OXA-58*、*IMP*、*VIM*、*SPM*、*GIM*、*DHA*、*aac(3)-*、*aac(6')-*、*ant(2")-*、*int12*、*int13*、*tnpA* 和 *merA* 检测都是阴性。

2.2 DRGT 分型结果

依据不同耐药基因组合对 27 株 Ab 分类结果见表 2。单一类别耐药基因分型结果不稳定,且区分能力不强,如氨基糖苷类中发现 p10 和 p1、p2 为同一类型;当选用多个类别耐药基因分型后,结果趋于稳定,可见 T2(两类耐药基因分型)和 T3(三类耐药基因分型);而整合子的去除和添加对整体分型 T 结果影响不大,均分为 3 型,只是在亚型上有所不同。

对检测耐药基因进行指标聚类分析结果可见图 1。同类耐药基因很明显地聚集成一类,而且携带整合子遗传标志的菌株能检测到 β 内酰胺类基因,耐消毒剂 and 磺胺基因(*qacEΔ1-sul1*)同氨基糖苷类基因有关联。

表 2 鲍曼不动杆菌不同分型结果表

Table 2 Different genotypes of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates

菌株编号 Isolate No.	I 型整合子 int1	氨基糖苷类 ^a Aminoglycosides	β 内酰胺酶类 ^b β-lactamase	T2*	T3**	T***	PFGE
p3, p4, p6, p14, p19, p20, p23, p24, p27	1	A	A	A	A	A	A
p7, p17	1	A	A	A	A	A	A1
p11, p18, p21, p22, p25, p26	1	A	A1	A1	A1	A1	A
p5	1	A	A2	A2	A2	A2	A2
p9, p12, p13	1	A1	A1	A2	A2	A2	A
p16	1	A1	A1	A2	A2	A2	A1
p10	1	B	A	B	B1	B1	A
p15	0	A2	B	B2	C	C1	B
p1, p2	0	B	B	C	C1	C2	C
p8	0	B	B	C	C1	C2	B1

[注] ^a: 以 *TEM*、*OXA-23* 和 *ADC* 基因聚类分型; ^b: 以 *aac(3)-*、*aac(6)-* 和 *ant(3)-* 基因聚类分型; *: 以氨基糖苷类和 β 内酰胺酶类基因聚类分型; **: 以氨基糖苷类、β 内酰胺酶类基因和 *qacE 1-sul1* 基因聚类分型; ***: 以氨基糖苷类、β 内酰胺酶类基因、*qacE 1-sul1* 基因和 *int1* 1 聚类分型。

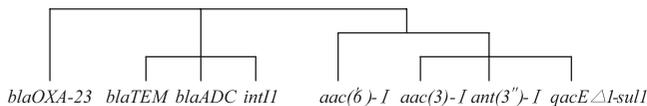


图 1 不同耐药菌株检测基因的聚类分析

Figure 1 Cluster analysis of different drug resistant genes

2.3 DRGT 与 PFGE 比较

鉴于整合子只是作为遗传元件检测,以及 *qacEΔ1-sul1* 在医院环境消毒中的作用,选择表 2 中 T3 建立的耐药基因分型结果为依据,与 PFGE 比较。在分型能力上,尽管亚型上存在差异,但是型别上均能分出 3 个型别且分型一致性为 88.9% (24/27)。在流行判断上,除 p10 外,有 22 株均为 PFGE 和 DRGE 的 A 型,占到 PFGE A 型中的 95.7% (22/23); 结合流行病学资料,两者基本上反映出医院感染流行的真实情况(表 2)。在耐药特征上,DRGT 比 PFGE 提供耐药信息多。PFGE 的 A 亚型中,亚群(p3, p4, p6, p14, p19, p20, p23, p24, p27)与另一亚群(p11, p18, p21, p22, p25, p26)属于同一流行事件;但在 DRGT 分型中,A 亚型、A1 亚型和 A2 亚型在 *OXA-23* 和 *aac(6)-* 基因上存在差异。另外,PFGE 和 DRGT 的分型差异主要是在 p8、p10 和 p15 中。

3 讨论

随着多重耐药 Ab 成为院内感染流行或爆发的重要病原体,研究不同 Ab 之间基因型和耐药关系显得非常重要^[1-3, 6-7],而利用耐药基因检测判断菌株间的流行关系也提供一种可能。NOPPE-LECLERCQ 等人^[9]基于氨基糖苷类耐药基因的 PCR 指纹图谱法快速筛检 Ab,发现 PFGE 分型和指纹图谱法在结论上存在差异。类似结论也出现在本研究中,但基于多个类别耐药基因分型趋向于稳定,如 T3。同时,多个耐药基因的指标聚类也发现同类耐药基因具有聚合性,暗示需要选择多个类别耐药基因来建立分型。

分子分型方法的基本特征是能区分流行病学相关和不相关菌株。研究表明,尽管存在小差异,但在区分流行耐药

株的能力上 DRGT 可以与 PFGE 相比拟。特别是,研究发现 PFGE 的 A 型被 DRGT 分为两个群,后群比前群多一个耐药基因 *OXA-23*。事实上,PFGE 分型方法经常是针对细菌或质粒的整个基因组,并不能提供耐药株的整个特征,而 DRGT 能把区分能力和院内感染耐药性结合起来。在分型能力上,DRGT 与 PFGE 一样分出 3 个型别和不同的亚型。在重复性上,对于 DRGT 来说,引物中恰好的匹配目标位点和严格退火温度可以保证重复实验中产生类似 DNA。

耐药基因借助移动元件水平转移到染色体上,这增加了基因分型的复杂性。多个大片段的耐药基因移动如 *OXA-23*,使 PFGE 分型出现错误分类的问题。本研究中 I 型整合子在流行事件中被检出,但是没有出现在散发菌株中,这也部分支持整合子作为爆发事件的潜在分子标志物^[8]。但整合子只分析携带基因盒而忽视其他耐药基因,DRGT 方法恰好弥补该方法不足并提供更多耐药信息。

然而,DRGT 也存在局限性。聚合酶链反应的自身特点会影响到 DRGT 结果,如 PCR 反应可能产生更大片段或阴性结果。PFGE 和 DRGT 都会受到时间因素影响,短期和长期的分型结果的解释应该有所不同。成本效益和临床实践的困难也可能限制到 DRGT 的使用。当然,本研究的小样本可能会影响到实验区分能力。更关键的是,如何恰当地选择不同类别耐药基因聚类还需要进一步探讨。

总之,对于院内感染的预防和控制来说,合理使用抗生素和减少耐药发生是非常关键的。而 DRGT 不仅对于控制院内感染和病人有效治疗提供帮助,也有助于预测和预防流行事件的发生。

参考文献:

- [1] WANG H, GUO P, SUN H, et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(11): 4022-4028.
- [2] MAK JK, KIM MJ, PHAM J, et al. Antibiotic resistance determinants in nosocomial strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 63(1): 47-54.
- [3] GKRIANIA-KLOTSAS E, HERSHOW RC. Colonization or infection with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* may be an independent risk factor for increased mortality [J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 43(9): 1224-1225.
- [4] TENOVER FC, ARBEIT RD, GOERING RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. The Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1997, 1(6): 426-439.
- [5] DAGATAE M, GERRITS MM, TANG YW, et al. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and amplified fragment-length polymorphism for epidemiological investigations of common nosocomial pathogens [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2001, 22(9):

(下转第 225 页)

细胞色素 C 释放入胞质是硫酸铜作用于 L-02 细胞, 损伤甚至致死 L-02 细胞的一个重要步骤。

MTT 实验中硫酸铜作用后细胞 D 值也随浓度增加和时间延长而降低, 表明硫酸铜抑制了 L-02 细胞线粒体酶活力并对线粒体整体功能产生了破坏。

硫酸铜作用于 L-02 细胞之后, 损伤累及线粒体, 作为线粒体内外信息交流中心枢纽的 MPTP 过度开放, 从而导致线粒体膜电位降低, 线粒体膜电位的耗散诱导凋亡执行因子细胞色素 C 等从线粒体释放入胞质, 可通过级联反应启动凋亡, MPTP 过度开放还可导致线粒体结构改变, 线粒体肿胀及外膜的破溃, 继而促进细胞色素 C 的释放, 加速细胞凋亡的发生。同时, 线粒体整体功能也受到破坏, 直接影响细胞活力和生存状态, 导致细胞损伤甚至凋亡。

参考文献:

- [1] 杨慧明, 万朝敏. 铜与儿童疾病的关系[J]. 国外医学: 妇幼保健分册, 2002, 13(1): 35-36.
- [2] MANZL C, KRUMSCHNABEL G, SCHWARZBAUM PJ, et al. Acute toxicity of cadmium and copper in hepatopancreas cells from the Roman snail(*Helix pomatia*)[J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2004, 138(1): 45-52.
- [3] LAVEN RA, LIVESSEY CT, OFFER NW, et al. Apparent subclinical hepatopathy due to excess copper intake in lactating Holstein cattle[J]. *Vet Rec*, 2004, 155(4): 120-121.
- [4] SIMPSON DM, BEYNON KJ, ROBERTSON DH, et al. Copper-associated liver disease: a proteomics study of copper challenge in a sheep model[J]. *Proteomics*, 2004, 4(2): 524-536.
- [5] BOSJE JT, Van Den INGH TS, FENNEMA A, et al. Copper-induced hepatitis in an Anatolian shephed dog[J]. *Vet Rec*, 2003, 152(3): 84-85.
- [6] 吴定, 路桂红. 铜与人体健康[J]. *中国食物与营养*, 2003(2): 56-57.
- [7] 刘志伟, 陈佳琳, 陈秉衡. 铜对人类肠道上皮细胞 Caco-2 细胞的毒性研究[J]. *卫生研究*. 2004, 33(3): 284-287.
- [8] DESAGHER S, MARTINOUC J. Mitochondria as the central control point of apoptosis[J]. *Trends Cell Biol*, 2000, 10(9): 369-371.
- [9] GOTTIEB R. A. Mitochondrial: execution central[J]. *FEBS Lett*, 2000, 482(1/2): 6-12.
- [10] MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays[J]. *J Immunol Methods*, 1983, 65(1/2): 55-63.
- [11] 徐静, 何作云. 细胞凋亡与线粒体[J]. *中国血液流变学杂志*, 2004, 14(2): 274-276.
- [12] ANURADHA CD, KANNO S, HIRANO S. Oxidative damage to mitochondria is a preliminary step to caspase-3 activation in fluoride-induced apoptosis in HL-60 cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 2001, 31(3): 367-373.
- [13] SMAILI SS, HSU YT, SANDERS KM, et al. Bax translocation to mitochondria subsequent to a rapid loss of mitochondria membrane potential[J]. *Cell Death Differ*, 2001, 8(9): 909-920.
- [14] HU Y, BENEDICT MA, DING L, et al. Role of cytochrome C and dATP/ATP hydrolysis in Apaf-1-mediated caspase-9 activation and apoptosis[J]. *EMBO J*, 1999, 18(13): 3586-3595.
- [15] SALEH A, SRINIRASULA SM, ACHARYA S, et al. Cytochrome C and dATP-mediated oligomerization of Apaf-1 is a prerequisite for procaspase-9 activation[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(25): 1794-1795.

(收稿日期: 2009-02-11)

(编辑: 王晓宇; 校对: 徐新春)

(上接第 221 页)

550-554.

- [6] AFZAL-SHAH M, WOODFORD N, LIVERMORE D M. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D β -lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*[J]. *Antimicro Agents Chemother*, 2001, 45(2): 583-588.
- [7] NAAS T, COIGNARD B, CARBONNE A, et al. VEB-1 extended-spectrum β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France[J]. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(8): 1214-1222.
- [8] ZARRILLI R, CASILLO R, DI POPOLOA, et al. Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2007, 13(5): 481-489.
- [9] NOPPE-LECLERCQ I, WALLET F, HAENTJENS S, et al. PCR detection of aminoglycoside resistance genes: a rapid molecular typing method for *Acinetobacter baumannii*[J]. *Res Microbiol*, 1999, 150(5): 317-322.

(收稿日期: 2009-03-26)

(编辑: 徐新春; 校对: 王晓宇)