

携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌的克隆相关性分析*

王晓辉^{1,2}, 宗志勇^{1,2△}, 吕晓菊¹

1. 四川大学华西医院 感染性疾病中心(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 生物治疗国家重点
实验室 感染性疾病研究室(成都 610041)

【摘要】 目的 了解三甲医院携带碳青霉烯酶基因 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌的检出率和菌株克隆相关性,为临床合理使用抗菌药物和制定恰当的感染控制措施提供理论依据。方法 收集四川大学华西医院非重复鲍曼不动杆菌临床分离株。菌种的鉴定通过 *recA* 基因测序鉴定。PCR 检测菌株的固有碳青霉烯酶基因 *bla*_{OXA-51/66} 和获得性碳青霉烯酶基因 *bla*_{OXA-58}。用肠杆菌科基因间重复序列-聚合酶链反应分型技术(ERIC-PCR)、多位点序列分型技术(MLST)和脉冲场凝胶电泳分型技术(PFGE)对 *bla*_{OXA-58} 阳性的菌株进行克隆相关性分析。结果 经 *recA* 和 *bla*_{OXA-51/66} 检测证实有 115 株鲍曼不动杆菌临床分离株。其中,9 株对亚胺培南敏感性下降〔最小抑菌浓度(MIC)≥2 mg/L〕的菌株携带有 *bla*_{OXA-58},占 7.8%。其 ERIC-PCR 指纹图谱相似。MLST 分型结果显示有 8 株菌属于 ST-95 型,1 株菌属于 ST-75 型。8 株 ST-95 型鲍曼不动杆菌的 PFGE 图谱显示为同一个克隆,分属于两个差异很小的亚型。结论 我院部分对碳青霉烯敏感性下降的鲍曼不动杆菌临床分离株携带有获得性碳青霉烯酶基因 *bla*_{OXA-58}。*bla*_{OXA-58} 阳性的鲍曼不动杆菌在我院主要以克隆性播散为主。

【关键词】 鲍曼不动杆菌 克隆相关性 *bla*_{OXA-58} 多位点序列分型技术 脉冲场凝胶电泳分型技术

Clonal Relatedness of *bla*_{OXA-58}-carrying *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates WANG Xiao-hui^{1,2}, ZONG Zhi-yong^{1,2△}, LU Xiao-ju¹. 1. Center of Infectious Diseases, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Division of Infectious Diseases, State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: zongzhiyong@gmail.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the clonal relatedness of local *bla*_{OXA-58}-carrying *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. **Methods** Non-duplicated isolates of *Acinetobacter baumannii* were collected in West China Hospital and verified by *recA* sequencing. Acquired *bla*_{OXA-58} gene and natural *bla*_{OXA-51/66} genes were detected by PCR. Strain typing for *bla*_{OXA-58}-carrying *Acinetobacter baumannii* isolates was performed by Enterobacterial repetitive intergenic consensus polymerase chain reaction (ERIC-PCR), multilocus sequence typing (MLST) and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). **Results** A total of 115 *Acinetobacter baumannii* isolates were verified by *recA* gene and *bla*_{OXA-51/66} detection. Among them, nine (7.8%) isolates carry *bla*_{OXA-58} with reduced susceptibility to imipenem (MIC ≥ 2 mg/L) were observed. ERIC-PCR fingerprints of nine *bla*_{OXA-58}-carrying isolates were highly similar. MLST revealed that eight isolates were ST95 and one isolate was ST75. PFGE showed that eight isolates with the same sequence type were of the same fingerprint types, which were of two closely-related subtypes. **Conclusion** In West China Hospital, some *Acinetobacter baumannii* isolates with reduced susceptibility to carbapenem carried *bla*_{OXA-58}. The major spread way of *bla*_{OXA-58}-carrying isolates was clonal dissemination.

【Key words】 *Acinetobacter baumannii* Clonal relatedness *bla*_{OXA-58} MLST PFGE

鲍曼不动杆菌是目前引起医院感染的重要致病菌。当机体抵抗力下降或免疫功能受损时,它能引起包括肺炎、尿路感染、导管相关性感染、败血症、皮肤软组织感染、脑膜炎、感染性心内膜炎、肠道感染甚至是角膜炎、眼内炎等在内的各种感染。碳青霉烯类抗生素具有广谱抗菌活性,是目前临床上治疗

重症感染的主要抗菌药物。但近年来,对碳青霉烯耐药的鲍曼不动杆菌也已经在全球流行,尤其是在大型教学医院,这使得临床医生治疗患者时选择抗菌药物非常困难。

鲍曼不动杆菌产碳青霉烯酶是对碳青霉烯耐药的重要原因。鲍曼不动杆菌中约有 50 多种具有水解碳青霉烯活性的 OXA 型酶。*bla*_{OXA-51/66} 是鲍曼不动杆菌天然固有的碳青霉烯酶基因,而 *bla*_{OXA-23}、*bla*_{OXA-24}、*bla*_{OXA-58} 是 3 种主要的获得性碳青霉烯酶

* 国家自然科学基金(No. 81101293)资助

△ 通讯作者, E-mail: zongzhiyong@gmail.com

基因^[1]。

目前我国对 *bla*_{OXA-58} 的研究还不够,其在医院内的流行情况和流行方式还不清晰。因此,本研究对分离自三级甲等大型教学医院——四川大学华西医院的鲍曼不动杆菌临床菌株进行了 *bla*_{OXA-58} 基因的检测,并用肠杆菌科基因间重复序列-聚合酶链反应分型技术(ERIC-PCR)、多位点序列分型技术(MLST)和酶切脉冲场凝胶电泳分型技术(PFGE)对携带有 *bla*_{OXA-58} 基因的阳性菌株进行了克隆相关性分析。

1 材料与方法

1.1 鲍曼不动杆菌菌株来源和鉴定

收集2006年2~6月四川大学华西医院住院患者送检的血液、脑脊液、胸腹水、伤口脓液、清洁中段尿、深部痰以及留置导管培养等分离到的非重复鲍曼/醋酸钙不动杆菌复合体临床菌株。所有菌株由 Microscan walkaway-40 全自动鉴定药敏仪(由美国 DADe 公司制造, Dade Microscan Inc. West Sacramento, CA, USA)初步鉴定。全部菌株分离纯化后,经 API 20E 系统(法国生物梅里埃公司)再次鉴定。对所有菌株进行 *recA* 基因检测证实其均为不动杆菌。提取所有临床菌株的细菌基因组 DNA, PCR 检测其固有耐药基因 *bla*_{OXA-51/66}^[2], 阳性检出 115 株鲍曼不动杆菌。PCR 引物序列见附表。生化鉴定质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922(购自中国工业微生物菌种保藏管理中心)。

1.2 鲍曼不动杆菌体外药物敏感性测定

根据临床实验室标准化协会(CLSI)推荐的琼脂对倍稀释法进行亚胺培南体外药物敏感性测定,根据 CLSI 抗菌药物敏感性最小抑菌浓度(MIC)测定标准方法 2011 年第 21 版进行结果判定^[3]。质控菌株为铜绿假单胞菌 ATCC 27853(购自中国工业微生物菌种保藏管理中心)。

1.3 获得性碳青霉烯酶基因 *bla*_{OXA-58} 检测

采用煮沸法提取鲍曼不动杆菌临床分离株的细菌总 DNA,即:挑取新鲜单个菌落过夜纯培养细菌一环,99.9 °C 水浴箱煮沸 10 min,13 000 r/min 离心 1 min,取上清。PCR 检测其获得性碳青霉烯耐药基因 *bla*_{OXA-58-like}^[4],各引物序列见附表。PCR 反应体系为:10×反应缓冲液,0.2~0.4 U *Taq* 多聚酶(TaKaRa,大连,中国),200 μmol/L dNTP,1.5 mmol/L MgCl₂,200 nmol/L 配对引物,总体积 50 μL。PCR 反应条件为:94 °C 5 min;94 °C 30 s,

52 °C 45 s,72 °C 1 min,30 个循环;72 °C 5 min。PCR 产物经过 TIANgel Midi Purification Kit (Tiangen,北京,中国)回收纯化后送北京华大基因用 ABI 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA)测序。测序结果经 BLAST 2.0 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)分析。

1.4 *bla*_{OXA-58} 阳性的鲍曼不动杆菌菌株分型及同源性分析

1.4.1 ERIC-PCR 分型 参照 Versalovic 等^[5]的方法,对 *bla*_{OXA-58} 阳性的鲍曼不动杆菌进行 ERIC-PCR 分型。以细菌基因组 DNA 作为模板,引物 ERIC-1R 和 ERIC-2 见附表。ERIC-PCR 反应条件:94 °C 5 min;94 °C 1 min,51 °C 1 min,72 °C 5 min,35 个循环;72 °C 最后延伸 10 min。用 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳 ERIC-PCR 产物。ERIC-PCR 指纹图谱比较,不计条带的亮度和稀疏程度,以条带数目和主副条带位置判定。

1.4.2 MLST 分型 参照 Bartual 等^[6]提出的 MLST 分型方法,根据指纹图谱结果对 *bla*_{OXA-58} 阳性的鲍曼不动杆菌进行 MLST 分型。以细菌基因组 DNA 作为模板,PCR 分别扩增 7 个看家基因: *gltA*, *gyrB*, *gdhB*, *recA*, *cpn60*, *gpi* 和 *rpoD*。引物序列见附表。反应条件:94 °C 2 min;94 °C 1 min,55 °C 1 min,72 °C 2 min,30 个循环;72 °C 最后延伸 2 min。PCR 产物经过 TIANgel Midi Purification Kit 回收纯化后送北京华大基因用 ABI 3730xl DNA Analyzer 测序。登录 PUBMLST 网站(<http://pubmlst.org/>),逐一比对每一个 MLST 看家基因测序结果,记录等位基因编号。再与鲍曼不动杆菌 MLST 数据库 *Acinetobacter baumannii* MLST database 中的记录进行比对,获得每一个菌株的分型编号。

1.4.3 PFGE 分型 参照 Seifert 等^[7]的鲍曼不动杆菌 PFGE 标准方法。胶块制备:挑取新鲜过夜纯培养的单个菌落,LB 肉汤过夜增菌,加入细胞悬浊液,调整终浓度至麦氏值 5.0。取 400 μL 含菌悬浊液,加入终浓度为 0.5 mg/mL 的蛋白酶 K,然后再加入 400 μL 的 10 g/L 琼脂糖:10 g/L SDS。将混合物加入胶块模具加样孔,在室温下凝固。细胞裂解:把胶块放入终浓度为 0.1 mg/mL 的细胞裂解液/蛋白酶 K 混合液,54 °C 水浴摇床 150 r/min 孵育 2 h。先后用 50 °C 预热的纯水和 TE 洗涤 3 次,每次 10 min。限制性内切酶消化:切下 2.5 mm 宽

附表 本研究所用 PCR 引物序列
Table Primers used for PCR in this study

Target	Primer	Sequence 5'-3'
<i>bla</i> _{OXA51} -like ^[2]	OXA51-like F	ATGAACATTAAAGCACTC
	OXA51-like R	CTATAAAAATACCTAATTGTTC
<i>bla</i> _{OXA58} -like ^[4]	OXA-58A	CGATCAGAATGTTCAAGCGC
	OXA-58B	ACGATTCTCCCCTCTGCGC
ERIC-PCR ^[5]	ERIC-1R	ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC
	ERIC-2	AAGTAAGTGACTGGGGTGAGAGCG
<i>gltA</i> ^[6]	Citrato F1	AATTTACAGTGGCACATTAGGTCCC
	Citrato R12	GCAGAGATAACCAGCAGAGATACACG
<i>gyrB</i> ^[6]	APRU F	TGTA AAAACGACGGCCAGTGCNNGRRTCYTTYTCYTGRCA
	UPIE R	CAGGAAACAGCTATGACCA YGSNNGNGGNAARTTYRA
	M13[-21]	TGTA AAAACGACGGCCAGT
	M13 F	CAGGAAACAGCTATGACC
<i>gdhB</i> ^[6]	GDHB 1F	GCTACTTTTATGCAACAGAGCC
	GDHB 775R	GTTGAGTTGGCGTATGTTGTGC
	GDH SEC F	ACCACATGCTTTGTTATG
	GDH SEC R	GTTGGCGTATGTTGTGC
<i>recA</i> ^[6]	RA1	CCTGAATCTTCYGGTAAAAC
	RA2	GTTTCTGGGCTGCCAAACATTAC
<i>cpn60</i> ^[6]	CPN 3F2	ACTGTACTTGCTCAAGC
	CPN R2	TTCAGCGATGATAAGAAGTGG
<i>gpi</i> ^[6]	GPI F1	AATACCGTGGTGCTACGGG
	GPI R1	AACTTGATTTTCAGGAGC
<i>rpoD</i> ^[6]	70F RPOD	ACGACTGACCCGGTACGCATGTAYATGMNGARATGGGNACNGT
	70R RPOD	ATAGAAAATAACCAGACGTAAGTTNGCYTCNACCATYTCYTTYTT
	70FS	ACGACTGACCCGGTACGCATGTA
	70RS	ATAGAAAATAACCAGACGTAAGTT

的胶块,加入200 μ L限制性内切酶缓冲液的10倍稀释液,37 $^{\circ}$ C孵育 10 min。弃缓冲液,加入含 *Apa* I 酶 30 U 的 200 μ L 酶切混合液,37 $^{\circ}$ C孵育过夜。弃酶切混合液,加入 200 μ L 0.5 \times TBE 后室温平衡 5 min。电泳:把胶块按照记录顺序加在梳子齿上,风干后把梳子放入胶槽,倒入 0.5 \times TBE 配制好的 10 g/L琼脂糖凝胶,室温下凝固 30 min。用水平仪调整好电泳槽,加入 2.2 L 新鲜配制的 0.5 \times TBE,设置泵速使缓冲液流速约 1 L/min,设置电泳仪使电压 6 V/cm,起始时间 5 s,终止时间 30 s,14 $^{\circ}$ C电泳 19 h。图像分析:采用 BioNumerics Version 6.6 进行图像分析。参照 Tenover 等^[8]设立的判定标准,由于细菌在进化过程中一次突变可能会产生 3 条酶切条带的差异,故 <3 个条带的差异视为同一个克隆。

2 结果

2.1 *bla*_{OXA-58} 阳性菌株检出

收集到的 115 株鲍曼不动杆菌临床菌株均携带有固有碳青霉烯酶基因 *bla*_{OXA-51/66},经测序证实为

*bla*_{OXA-66},也进一步证明全部目标菌株均为鲍曼不动杆菌。*bla*_{OXA-58} 扩增阳性的菌株共 9 株,占 7.8%。其中对亚胺培南中介(MIC=8)的 1 株,其余均对亚胺培南敏感(MIC=4 和 MIC=2 的各 4 株)。

2.2 携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌的克隆相关性分析

9 株 *bla*_{OXA-58} 阳性的鲍曼不动杆菌临床菌株,ERIC-PCR 分型显示菌株 1~8 同属于 A 克隆,菌株 9 为 B 克隆。见图 1。

9 株菌的 MLST 分型结果显示:1~8 菌株属于 ST-95 型(10-12-4-11-1-9-5),菌株 9 属于 ST-75 型(1-3-3-2-2-11-3)。

9 株菌的 PFGE 分型结果显示:这 9 株菌分属于 A 和 B 共两个克隆。其中菌株 1~8 同属于 A 克隆,菌株 9 为 B 克隆。A 克隆又可以分为 A1 和 A2 两个亚型,每个亚型各有 4 株菌,其条带完全相同。A1 亚型和 A2 亚型仅有不足 3 个条带的差异。A 克隆的 8 株菌均是 ST-95 型。见图 2。

3 讨论

碳青霉烯酶基因 *bla*_{OXA-58} 是全球鲍曼不动杆菌

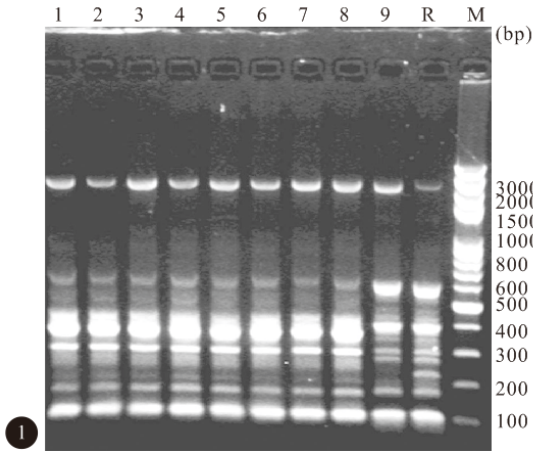


图 1 *bla*_{OXA-58} 阳性的鲍曼不动杆菌 ERIC-PCR 凝胶电泳图

Fig 1 ERIC-PCR results of *bla*_{OXA-58} positive *A. baumannii* isolates

M: Marker; R: Reference strain. Strain No. 1 to No. 8 belong to clone A, and strain No. 9 belong to clone B. Among them, strain 1, 2, 6 and 8 belong to subtype A1, while strain 3, 4, 5 and 7 belong to subtype A2

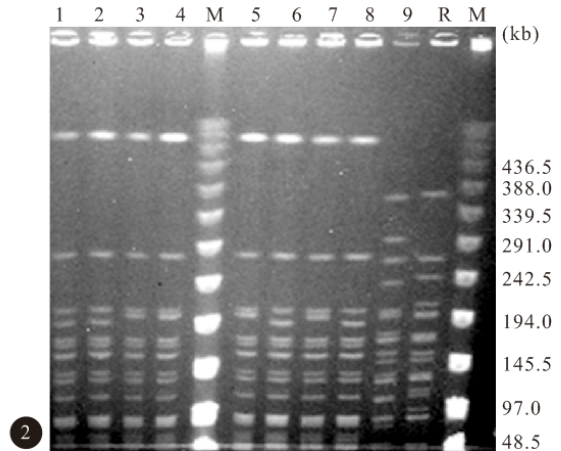


图 2 *bla*_{OXA-58} 阳性的鲍曼不动杆菌 PFGE 凝胶电泳图

Fig 2 PFGE results of *bla*_{OXA-58} positive *A. baumannii* isolates

常见的获得性碳青霉烯耐药基因,它广泛分布于法国、英国、阿根廷、西班牙、土耳其、罗马尼亚、澳大利亚、希腊、科威特和意大利,仅次于 *bla*_{OXA-23}^[1]。欧洲时有携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌在医院内短暂暴发流行。意大利已发生了多起携带 *bla*_{OXA-58} 的欧洲克隆 II 型耐药鲍曼不动杆菌在医院内暴发流行的事件^[9]。在我国,耐碳青霉烯的鲍曼不动杆菌携带的主要是 *bla*_{OXA-23}^[10]。我院 ICU 病房就曾暴发流行了携带有 *bla*_{OXA-23} 的多重耐药鲍曼不动杆菌^[11]。我国目前尚未报道过携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌在医院内暴发流行。但本研究结果表明,在将近半年样本采集期内我们共发现了 9 株携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌,这说明携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌也在本大型教学医院蔓延。这些临床上分离到的携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌 ERIC-PCR 分型相同,有 8 株菌因同属于一个 MLST 型和同一个 PFGE 型而被认定为同一个克隆,这说明该鲍曼不动杆菌能以克隆性播散的方式在不同的患者间传播,会造成医院感染持续不断。

MIC 的结果显示,这些携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌对碳青霉烯的敏感性均明显下降,这值得临床医生和医院感染控制人员高度警惕。MLST 的结果显示这些 *bla*_{OXA-58} 阳性的鲍曼不动杆菌 8 株为 ST-95 型,1 株为 ST-75 型。ST-75 型的鲍曼不动杆菌在中国大型三甲医院很常见。我们既往的研究也表明同属于 CC92 克隆复合体的 ST-92 型和 ST-75 型的鲍曼不动杆菌在我院很常见,而 CC92 克隆复合体是全球鲍曼不动杆菌流行株的基础^[12]。ST-95 型则较独特,目前仅见于意大利和中国,尚未在

亚洲其他国家发现。MLST 数据库中的数据显示,2005 年 1 株从重庆送出去的鲍曼不动杆菌在英国被鉴定为 ST-95 型。我院地处成都平原,与重庆在地理位置和人口流动方面有着千丝万缕的联系。ST-95 型鲍曼不动杆菌是否在四川盆地局部流行尚需要进一步的流行病学资料揭示。

耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌的出现,使临床治疗和预防感染面临很大挑战,监测其耐药率和流行型别显得十分重要。目前常用于医院感染细菌克隆相关性分析的分子生物学方法有多位点酶切电泳分型、核糖体分型、ERIC-PCR 分型、随机扩增片段长度多态性 (RAPD) 分型、扩增片段长度多态性分型 (AFLP)、PFGE 分型和 MLST 分型等。ERIC-PCR 分型使用长引物随机 PCR 技术,操作简便,图谱稳定、多态性丰富^[5]。MLST 分型通过直接测定多个管家基因的核苷酸序列来发现细菌的变异^[13];数据客观、分型能力强;国际上已有大型公共数据库网站可供结果比对^[14]。PFGE 分型通过脉冲场凝胶电泳分离大的酶切 DNA 片段,比较指纹图谱来确定细菌的分型^[8],被认为是分子流行病学分析的“金标准”。本研究同时应用了这 3 种技术对携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌进行了分型,结果表明分型效果类似,都鉴定出了 8 株同属于一个克隆的鲍曼不动杆菌。比较 3 种分型结果也证实,虽然操作繁琐、耗时耗力,但是 PFGE 分辨率最高、最可靠。因此,包括基层医院在内的各级医院在监测医院感染流行情况时,可以使用成本低、快速的 ERIC-PCR 分型方法先进行粗略监测;当发现鲍曼不动杆菌暴发流行时,需要收集全部可疑菌株使用 PFGE 分型

技术进一步确认,并可以使用 MLST 分型与国际感染流行情况进行比较;如果经费充足,可以监测医院内鲍曼不动杆菌的 MLST 分型情况,追踪其随患者在各医院流动、播散的情况,并能发现新的菌株类型。

这项研究由于样本收集时间的限制而有其不足之处,研究结果反映了当时鲍曼不动杆菌的流行情况,是后续研究的基石和参照。目前我们还在收集最近 1 年的菌株,只有后续研究与之比较的结果才能进一步揭示携带 *bla*_{OXA-58} 的鲍曼不动杆菌在我院的流行趋势变化。

综上所述,我院部分对碳青霉烯敏感性下降的鲍曼不动杆菌临床分离株携带有获得性耐药基因 *bla*_{OXA-58}。*bla*_{OXA-58} 阳性的鲍曼不动杆菌在我院主要以克隆性播散为主。

参 考 文 献

- Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*,2010;54(1):24-38.
- Turton JF, Ward ME, Woodford N, *et al.* The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett*,2006;258(1):72-77.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute,2011.
- Poirel L, Marque S, Heritier C, *et al.* OXA-58, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005;49(1):202-208.
- Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res*,1991;19(24):6823-6831.
- Bartual SG, Seifert H, Hippler C, *et al.* Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*, 2005;43(9):4382-4390.
- Seifert H, Dolzani L, Bressan R, *et al.* Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*,2005;43(9):4328-4335.
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, *et al.* Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis; criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*,1995;33(9):2233-2239.
- Zarrilli R, Casillo R, Di Popolo A, *et al.* Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy. *Clin Microbiol Infect*,2007;13(5):481-489.
- Wang H, Guo P, Sun H, *et al.* Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter spp.* from Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*,2007; 51(11):4022-4028.
- Zong Z, Lu X, Valenzuela JK, *et al.* An outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase in western China. *Int J Antimicrob Agents*, 2008;31(1):50-54.
- Wang X, Zong Z, Lu X. *Tn2008* is a major vehicle carrying *bla*_{OXA-23} in *Acinetobacter baumannii* from China. *Diagn Microbiol Infect Dis*,2011;69(2):218-222.
- Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, *et al.* Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*,1998;95(6):3140-3145.
- Shelburne SA 3rd, Singh KV, White AC Jr, *et al.* Sequential outbreaks of infections by distinct *Acinetobacter baumannii* strains in a public teaching hospital in Houston, Texas. *J Clin Microbiol*,2008;46(1):198-205.

(2012-10-25 收稿,2013-02-22 修回)

编辑 余琳