

• 论 著 •

# 医院分离多重耐药鲍曼不动杆菌耐药基因的研究\*

李光荣, 卢灵峰, 向成玉, 杨 葵, 邓正华, 刘靳波<sup>△</sup>

(西南医科大学附属医院检验科, 四川泸州 646000)

**摘要:**目的 研究多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-Ab)的耐药性及相关耐药基因,为临床抗菌药物的合理选择提供依据。方法 采用 MicroScan WalkAway96 全自动微生物鉴定/药敏测试系统筛选鲍曼不动杆菌(Ab)98 株;采用聚合酶链式反应检测 MDR-Ab 携带相关耐药基因 OXA-23、OXA-24、IMP、VIM、TEM、SHV;并对耐药基因扩增阳性的产物进行 DNA 序列分析。结果 98 株 MDR-Ab 对青霉素类和头孢类抗菌药物的耐药率均为 100.0%;对氨苄西林/舒巴坦的耐药率为 73.5%,对亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为 55.1%和 54.1%,对庆大霉素、阿米卡星、妥布霉素的耐药率分别为 100.0%、100.0%和 87.8%,对环丙沙星、左氧氟沙星、加替沙星的耐药率分别为 89.8%、91.8%和 77.6%,对磺胺甲噁唑和利福平的耐药率分别为 91.8%和 100.0%,对多黏菌素和多黏菌素 B 的耐药率分别为 14.3%和 11.2%,对四环素、米诺环素、替加环素的耐药率分别为 100.0%、6.1%、4.1%;98 株 MDR-Ab 耐药基因检测,各有 70 株携带 OXA-23 和 TEM 基因,53 株携带 VIM 基因,41 株携带 IMP 基因,未检测到 OXA-24、SHV 基因;DNA 序列分析结果显示 OXA-23、TEM、IMP 和 VIM 4 种基因分别与 NCBI 序列的同源性为 98%、98%、99%和 99%。结论 该地区临床分离 MDR-Ab 耐药情况比较严重,耐药基因的携带以 OXA-23 和 TEM 为主,携带多种耐药基因是导致 MDR-Ab 耐药的重要原因,临床医务人员对 Ab 感染患者应尽量根据药敏试验结果合理使用抗菌药物。

**关键词:**鲍曼不动杆菌; 多重耐药; 耐药基因  
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.010 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2016)05-0602-04

## Study on multiple drug resistance gene of Acinetobacter baumannii isolated from hospital\*

Li Guangrong, Lu Lingfeng, Xiang Chengyu, Yang Kui, Deng Zhenghua, Liu Jinbo<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

**Abstract:** Objective To study the drug resistance of multiple-drug-resistant Acinetobacter baumannii(MDR-Ab) and its relative carbapenemases genes, in order to provide references for rational use of antibacterial agents. **Methods** A total of 98 strains of Acinetobacter baumannii(Ab) were identified by using the MicroScan WalkAway96 automated microbial identification susceptibility testing system, and the resistance genes, including OXA-23, OXA-24, IMP, VIM, TEM and SHV, were detected by using the polymerase chain reaction. DNA sequences of positive amplification products of the resistance gene were analysed. **Results** The drug resistance rates of 98 strains of MDR-Ab to penicillin class and cephalosporin class both were 100.0%, to imipenem and meropenem were 55.1% and 54.1% respectively, to gentamicin, amikacin and tobramycin were 100.0%, 100.0% and 87.8% respectively, to ciprofloxacin, levofloxacin and gatifloxacin were 89.8%, 91.8% and 77.6% respectively, to sulfamethoxazole and rifampicin were 91.8% and 100.0% respectively, to polymyxin B and polymyxin were 14.3% and 11.2% respectively, to tetracycline, minocycline and tigecycline were 100.0%, 6.1% and 4.1% respectively. The results of resistance genes detection in 98 strains of MDR-Ab showed that 70 strains carried TEM and OXA-23 gene, 53 strains carried VIM gene, 41 strains carried IMP gene, while OXA-24 and SHV genes were not detected. DNA sequence analysis showed that the homology of OXA-23, TEM, IMP and VIM genes were 98%, 98%, 99% and 99%. **Conclusion** The condition of antibacterial resistance of MDR-Ab in this area is very serious, and TEM and OXA-23 are the main drug resistance genes. Carrying multiple resistance genes is an important cause of MDR-Ab resistance. The treatment of patients with Ab infection should be based on the results of drug sensitivity test for rational use of antibacterial agents.

**Key words:** Acinetobacter baumannii; multiple-drug resistance; drug resistance genes

鲍曼不动杆菌(Ab)是一类非发酵的革兰阴性杆菌,广泛存在于医院环境和人体皮肤表面,主要引起获得性肺炎、菌血症、尿路感染、继发性脑膜炎等,是医院感染的重要致病菌之一。根据 2013 年 CHINET 数据显示,Ab 的临床分离率已高于铜绿假单胞菌,位居非发酵菌临床分离率第 1 位<sup>[1]</sup>。多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-Ab)指对 3 种以上不同类型抗菌药物耐药的菌株。随着广谱抗菌药物和免疫抑制剂的大量使用,

MDR-Ab 在临床中大量出现,给临床抗感染治疗带来极大的挑战。为了解本院 MDR-Ab 相关耐药基因的存在情况,笔者对本院临床分离的 98 株 MDR-Ab 菌株进行了耐药性分析,选取 6 种具有代表性的耐药基因(SHV、TEM、IMP、VIM、OXA-23、OXA-24)进行检测,现报道如下。

### 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 98 株 MDR-Ab 均来自 2012 年 1 月至 2014

\* 基金项目:泸州医学院附属医院基金资助项目(14035)。 作者简介:李光荣,男,主管检验师,主要从事微生物和生物化学检验研究。  
<sup>△</sup> 通讯作者 E-mail:liujb7203@163.com。

年 9 月本院收集的临床标本,标本来源:呼吸道标本中分离 73 株(74.5%)、分泌物标本中分离 12 株(12.2%),血液标本中分离 5 株(5.1%),其他标本中分离 8 株(8.2%);标本来源科室主要为重症监护室(ICU)、呼吸内科和神经外科。

1.2 仪器与试剂 MicroScan WalkAway96 全自动微生物鉴定/药敏测试系统及其配套试剂(德国西门子公司)、C1000TM

Thermal Cycle 聚合酶链式反应(PCR)扩增仪与 GelDoc XR 凝胶成像仪(美国 Bio-RAD 公司)、PCR 引物(上海生物工程有限公司合成)、Taq DNA 酶系等(上海生物工程有限公司)、Maker DL500(大连宝生物工程有限公司)。各靶基因引物序列和产物长度,见表 1。

表 1 靶基因引物序列和产物长度

| 酶名称        | 基因名称   | 引物序列(5'→3')                            | 产物长度(bp) |
|------------|--------|----------------------------------------|----------|
| 超广谱 β-内酰胺酶 | TEM    | P1:5'-CGG TAT TAT CCC GTG TTG-3'       | 280      |
|            |        | P2:5'-GTC GTT TGG TAT GGC TTC-3'       |          |
|            | SHV    | P1:5'-CCG CTG GGA AAC GGA ACT-3'       | 286      |
|            |        | P2:5'-CCC GCA GAT AAA TCA CCA CAA T-3' |          |
| 苯唑西林酶(OXA) | OXA-23 | P1:5'-CCC GAG TCA GAT TGT T-3'         | 275      |
|            |        | P2:5'-ATG GCT TCT CCT AGT GTC-3'       |          |
|            | OXA-24 | P1:5'-ACT TTA GGT GAG GCA ATG-3'       | 286      |
|            |        | P2:5'-AAG GTA ATC GGT TAT GTG-3'       |          |
| 金属 β-内酰胺酶  | IMP    | P1:5'- CAT GGA TAT TGC TGC TC-3'       | 292      |
|            |        | P2:5'- CTT TAG ACT CGC CTT CA-3'       |          |
|            | VIM    | P1:5'-AGT CTC CAC GCA CTT TCA T-3'     | 505      |
|            |        | P2:5'-CAC AAC CAC CAT AGA GCA CA-3'    |          |

P1:特异性引物 1;P2:特异性引物 2。

1.3 方法

1.3.1 细菌鉴定及药敏试验 98 株 MDR-Ab 均使用 MicroScan WalkAway96 全自动微生物鉴定/药敏测试系统鉴定并获得,同时采用该系统检测其对氨苄西林-舒巴坦、阿米卡星、头孢曲松钠、头孢他啶、头孢泊肟、头孢噻肟、环丙沙星、头孢吡肟、加替沙星、庆大霉素、亚胺培南、美罗培南、左氧氟沙星、哌拉西林、美洛西林、磺胺甲噁唑、妥布霉素、多黏菌素、多黏菌素 B、利福平、四环素、米诺环素、替加环素等 23 种抗菌药物的最小抑菌浓度(MIC)。所有 MDR-Ab 经检测鉴定后冻存于-80℃冰箱。实验操作及药敏结果判断标准参照 2011 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准执行。药敏试验所用质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、鲍曼不动杆菌 ATCC19606。

1.3.2 MDR-Ab DNA 模板制备 采用煮沸法提取细菌 DNA 模板<sup>[2]</sup>:挑选已分纯单克隆 MDR-Ab 菌落放入含 1 mL 生理盐水的 EP 管中,混匀后在离心半径为 10 cm 的离心机上 8 000 r/min 离心 2 min,弃上清后加 100 μL 蒸馏水在漩涡混合器上充分震荡混匀,在干浴锅中 95℃干浴 10 min,再在离心半径为 10 cm 的离心机上 12 000 r/min 离心 2 min,所得上清液即为检测细菌 DNA 的模板。

1.3.3 反应体系及条件 PCR 扩增反应体系:总反应体系为 25 μL,其中 10×缓冲液 2.5 μL,25 mmol/L 氯化镁(MgCl<sub>2</sub>) 1.5 μL,25 mmol/L 脱氧核糖核苷酸(dNTPs)0.2 μL,DNA 模板 2 μL,5 μmol/L P1 和 P2 引物各 1 μL,5 U/μL TaqDNA 酶 0.5 μL,用无菌水补足至总体积 25 μL,通过 C1000TM Thermal Cycle PCR 扩增仪扩增。反应条件:93℃预变性 3 min,93℃变性 30 s→53℃复性 30 s→72℃延伸 1 min,循环 35 个周期,72℃延长 5 min。

1.3.4 电泳与成像 PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶(1.5%)电

泳跑胶,以无菌生理盐水为阴性对照,琼脂糖凝胶上出现目的条带即为基因检测阳性,通过 GelDoc XR 凝胶成像仪观察并摄像保存。

1.3.5 PCR 产物的测序 PCR 扩增阳性的产物送上海铂尚生物技术有限公司纯化、测序,读序软件为 Chromas。测序结果与序列比对软件 BLASTN 与 GenBank 数据库中的序列进行对比分析。

1.4 统计学处理 采用 WHONET5.6 软件进行耐药性分析。

2 结果

2.1 药敏试验结果 98 株 MDR-Ab 对青霉素类和头孢类抗菌药物的耐药率均为 100.0%;对氨苄西林/舒巴坦的耐药率为 73.5%,对碳青霉烯类抗菌药物中亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为 55.1%和 54.1%,对氨基糖苷类抗菌药物中庆大霉素、阿米卡星、妥布霉素的耐药率分别为 100.0%、100.0%和 87.8%,对喹诺酮类抗菌药物中环丙沙星、左氧氟沙星、加替沙星的耐药率分别为 89.8%、91.8%和 77.6%,对磺胺甲噁唑和利福平的耐药率分为 91.8%和 100.0%,对多黏菌素和多黏菌素 B 的耐药率分为 14.3%和 11.2%,对四环素、米诺环素、替加环素的耐药率分别为 100.0%、6.1%、4.1%。见表 2。

表 2 98 株 MDR-Ab 对抗菌药物的敏感性[n(%)]

| 药物名称     | R         | I        | S        |
|----------|-----------|----------|----------|
| 氨苄西林/舒巴坦 | 72(73.5)  | 12(12.2) | 14(14.3) |
| 阿米卡星     | 98(100.0) | 0(0.0)   | 0(0.0)   |
| 头孢曲松钠    | 98(100.0) | 0(0.0)   | 0(0.0)   |
| 头孢他啶     | 98(100.0) | 0(0.0)   | 0(0.0)   |
| 头孢泊肟     | 98(100.0) | 0(0.0)   | 0(0.0)   |
| 头孢噻肟     | 98(100.0) | 0(0.0)   | 0(0.0)   |
| 环丙沙星     | 88(89.8)  | 0(0.0)   | 10(0.0)  |

| 续表 2 98 株 MDR-Ab 对抗菌药物的敏感性[n(%)] |           |        |          |
|----------------------------------|-----------|--------|----------|
| 药物名称                             | R         | I      | S        |
| 头孢吡肟                             | 98(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0)   |
| 加替沙星                             | 76(77.6)  | 6(6.1) | 16(16.3) |
| 庆大霉素                             | 98(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0)   |
| 亚胺培南                             | 54(55.1)  | 5(5.1) | 39(39.8) |
| 美罗培南                             | 53(54.1)  | 5(5.1) | 40(40.8) |
| 左氧氟沙星                            | 90(91.8)  | 2(2.0) | 6(6.1)   |
| 哌拉西林                             | 98(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0)   |
| 美洛西林                             | 98(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0)   |
| 磺胺甲噁唑                            | 90(91.8)  | 0(0.0) | 8(8.2)   |
| 妥布霉素                             | 86(87.8)  | 2(2.0) | 10(10.2) |
| 多黏菌素                             | 4(4.1)    | 0(0.0) | 84(85.7) |
| 多黏菌素 B                           | 11(11.2)  | 0(0.0) | 87(88.8) |
| 利福平                              | 98(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0)   |
| 四环素                              | 98(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0)   |
| 米诺环素                             | 6(6.1)    | 6(6.1) | 86(87.8) |
| 替加环素                             | 4(4.1)    | 4(4.1) | 90(91.8) |

R:耐药;I:中介;S:敏感。

2.2 基因检测结果 对 98 株 MDR-Ab 菌进行 OXA-23、OXA-24、IMP、VIM、TEM、SHV 基因检测, 分别有 70 株(71.4%)携带 OXA-23 基因和 TEM 基因, 53 株(54.1%)携带 VIM 基因, 41 株(41.8%)携带 IMP 基因, 28 株(28.5%)同时携带 TEM、VIM 和 IMP 基因, 26 株(26.5%)同时携带 OXA-23、IMP 和 VIM 基因, 26 株(26.5%)同时携带 OXA-23、TEM 和 IMP 基因, 47 株(48.0%)同时携带 OXA-23、TEM 和 VIM 基因, 26 株(26.5%)同时携带 OXA-23、TEM、IMP 和 VIM 基因, 未检测到携带 OXA-24、SHV 基因的 MDR-Ab。

2.3 PCR 阳性产物电泳结果 对 OXA-23、VIM、IMP、TEM 基因扩增阳性的产物进行琼脂糖电泳, 电泳结果见图 1~4。

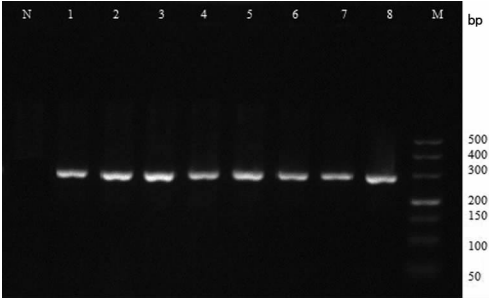


图 1 TEM 基因的扩增产物电泳

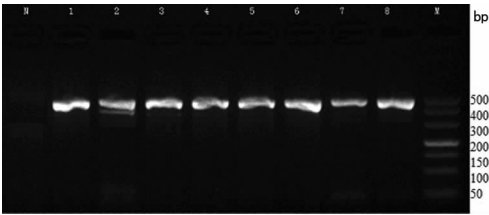


图 2 VIM 基因的扩增产物电泳

2.4 PCR 扩增阳性产物测序结果 OXA-23、VIM、IMP、TEM 4 种基因经 PCR 扩增后的阳性产物测序结果经 BLAST 程序对比分析, 与 NCBI 已登录目的基因的同源性分别为 98%、99%、99% 和 98%。

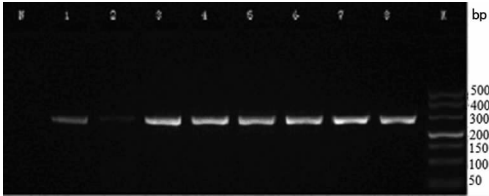


图 3 IMP 基因的扩增产物电泳

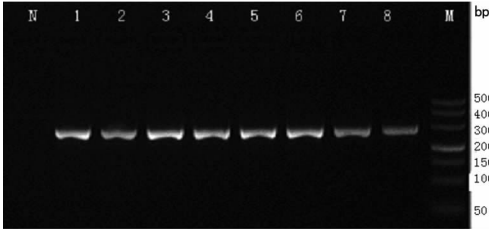


图 4 OXA-23 基因的扩增产物电泳

3 讨 论

Ab 是引起临床感染的主要病原菌之一, 尤其是 MDR-Ab 菌株的出现常常导致感染者不治身亡<sup>[3]</sup>。由于其存在广泛且耐药机制复杂, 临床分离率逐年升高, 尤其容易感染老年患者、重症患者和免疫力低下的患者, 给临床抗感染治疗带来很大的困难。

本研究结果显示, MDR-Ab 主要来自呼吸道标本(74.5%), 这与国内外大多数报道接近<sup>[4]</sup>, 提示呼吸道是 Ab 最容易侵袭的部位。标本来源科室主要为 ICU、呼吸内科和神经外科, 考虑这些科室主要是一些重症患者, 住院时间较长, 容易进行一些侵袭性操作和激素、免疫抑制剂等治疗, 一定程度上造成了 MDR-Ab 在医院环境的定植和播散。

随着抗菌药物在临床的广泛使用, Ab 的耐药情况越来越严重, 尤其是 MDR-Ab。本次研究的 MDR-Ab 对大部分常规抗菌药物耐药率均大于 73.5%, 由此可见本院分离的 MDR-Ab 耐药情况十分严峻, 常规抗菌药物对 MDR-Ab 已基本失去抗菌作用。亚胺培南和美罗培南是临床常用于治疗 Ab 感染的碳青霉烯类抗菌药物, 但其耐药率已分别达到 55.1% 和 54.1%, 这与临床医务人员在治疗 Ab 感染时经验性选用既往相对敏感的亚胺培南或美罗培南, 使耐药菌株不断得到选择性生存有关, 应引起临床高度重视。Dinc 等<sup>[5]</sup> 研究发现, 对于 MDR-Ab 引起的严重感染, 选用大剂量多黏菌素 B 联合利福平或头孢哌酮/舒巴坦联合米诺环素进行治疗, 其耐药性大幅降低, 提示联合用药也是治疗 MDR-Ab 感染的有效方式。本研究还发现, MDR-Ab 对部分药物有较低的耐药率, 如多黏菌素和多黏菌素 B 的耐药率分别为 14.3% 和 11.2%, 米诺环素和替加环素的耐药率分别为 6.1%、4.1%, 提示临床医务人员对 MDR-Ab 导致的感染可以考虑使用这些药物。

目前认为 MDR-Ab 对大部分抗菌药物的耐药机制是产  $\beta$ -内酰胺酶,  $\beta$ -内酰胺酶主要包括 Ambler 分类的 A、B、C、D 4 类酶<sup>[6]</sup>, 超广谱  $\beta$ -内酰胺酶为 A 类酶, 主要包括 SHV、TEM 和 CTX-M 等<sup>[7]</sup>。可水解单环  $\beta$ -内酰胺类和头孢菌素类抗菌药物, 但不能水解碳青霉烯类和头霉素, 可被  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂

抑制。B 类酶又被称为金属  $\beta$ -内酰胺酶(MBLs),包括 IMP、VIM、SPM、GIM、SIM、KHM 和 NDM 等<sup>[8-9]</sup>,由于其高效的碳青霉烯酶活性和对抑制剂较强的抵抗能力,它对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物具有广泛的水解作用。C 类酶为头孢菌素酶(AmpC 酶),可由染色体和质粒介导,且插入序列 ISAbal 的存在可增强 AmpC 酶的表达<sup>[10]</sup>。D 类酶又叫苯唑西林酶,包括 OXA-23、OXA-24、OXA-58 等<sup>[11]</sup>,是  $\beta$ -内酰胺酶中最复杂多样的一种酶,几乎对所有  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物高度耐药,能降低 Ab 菌株外膜蛋白的表达<sup>[12]</sup>。本研究对 98 株 MDR-Ab 菌进行 OXA-23、OXA-24、IMP、VIM、TEM、SHV 6 种基因检测,主要检测出 OXA-23、TEM、IMP 和 VIM 4 种基因阳性,其中 OXA-23 和 TEM 基因的检出率都达到了 71.4%(70 株),接近汤凤珍等<sup>[13]</sup>的报道。IMP 和 VIM 基因的检出率分别为 41.8%(41 株)和 54.1%(53 株),另外同时携带 3 种以上耐药基因的 MDR-Ab 也多达 26 株以上。说明本地区耐药基因的携带以 OXA-23 和 TEM 为主,另外多种耐药基因的携带是 Ab 多重耐药的重要原因,这导致了 Ab 对多种抗菌药物的耐药及各种细菌之间耐药能力的进一步传播。

综上所述,本地区临床分离 MDR-Ab 耐药情况比较严重,耐药基因的携带以 OXA-23 和 TEM 为主,多种耐药基因是 MDR-Ab 耐药的重要原因。及时了解医院 Ab 的耐药性及耐药基因携带情况,对于预防、监测并控制医院内 Ab 感染和传播具有重要意义。临床医务人员对 Ab 感染患者应避免经验性用药,尽量根据药敏试验结果合理使用抗菌药物。

## 参考文献

- [1] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2013 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2014,14(5):365-374.
- [2] 唐吉斌,周东升,沈志君,等. 耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌基因型检测及其耐药性[J]. 分子诊断与治疗杂志,2010,2(5):337-341.
- [3] 韩新鹏,谭湘淑,刘原. 产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶鲍曼不动杆菌耐药机制的研究进展[J]. 国际呼吸杂志,2007,27(22):1727-1730.
- [4] Smian OI,Horbas' VA,Bynda TP,et al. The role of disbalance of zinc and copper in school age children with community-aquired pneumonia[J]. Lik Sprava,2012(3/4):67-71.
- [5] Fretham SJ,Carlson ES,Georgieff MK. The role of iron in learning and memory[J]. Adv Nutr,2011,2(2):112-121.
- [6] 董国庆,汪皓,黄爱娣,等. 矮小身材儿童全血锌、铜、铁、钙、镁含量分析[J]. 中国妇幼保健,2007,22(23):3288-3289.
- [7] 肖蜜黎,黑明燕. 外周血铜锌钙镁铁与小儿疾病状态相关性的临床研究[J]. 实用预防医学,2007,14(1):171-172.
- [8] Timerbaev A,Sturup S. Analytical approaches for assaying metal-lodrugs in biological samples:recent methodological developments and future trends[J]. Curr Drug Metab,2012,13(3):272-283.
- [9] Becker JS,Matusch A,Wu B. Bioimaging mass spectrometry of trace elements-recent advance and applications of LA-ICP-MS; a

- [4] 裴莉佩,潘登,徐炜烽,等. 鲍曼不动杆菌碳青霉烯酶基因型及分子流行病学研究[J]. 中华流行病学杂志,2007,28(4):381-384.
- [5] Dinc G, Demiraslan H, Elmali F, et al. Antimicrobial efficacy of doripenem and its combinations with sulbactam, amikacin, colistin, tigecycline in experimental sepsis of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. New Microbiol,2015,38(1):67-73.
- [6] 周华. 碳青霉烯类抗生素耐药鲍曼不动杆菌耐药机制及同源性研究[D]. 浙江:浙江大学,2008.
- [7] Dhillon RH,Clark J. ESBLs; A clear and present danger[J]. Crit Care Res Prcat,2012(2012):625170.
- [8] Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- $\beta$ -lactamases: a last frontier for  $\beta$ -lactams[J]. Lancet Infect Dis,2011,11(5):381-393.
- [9] Khosravi Y, Tay ST, Vadivelu J. Analysis of integrons and associated gene cassettes of metallo-beta-lactamase-positive *Pseudomonas aeruginosa* in Malaysia[J]. J Med Microbiol,2011,60(7):988-994.
- [10] H  ritier C, Poir  l L, Nordmann P. Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*[J]. Clin Microbiol Infect,2006,12(2):123-130.
- [11] Walther-Rasmussen J, Hiby N. OXA-type carbapenemases[J]. J Antimicrob Chemother,2006,57(3):373-383.
- [12] Bou G, Cerver   G, Dominguez M, et al. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases[J]. J Clin Microbiol,2000,38(9):3299-3305.
- [13] 汤凤珍,张伟红,陈惠玲. 碳青霉烯类抗生素耐药鲍曼不动杆菌碳青霉烯酶基因型研究[J]. 中国感染与化疗杂志,2010,10(5):354-356.

(收稿日期:2015-11-13)

(上接第 601 页)

- [2] Ward E. Addressing nutritional gaps with multivitamin and mineral supplements[J]. Nutr J,2014,13(1):72.
- [3] Hambidge KM, Miller LV, Krebs NF. Physiological requirements for zinc[J]. Int J Vitam Nutr Res,2011,81(1):72-78.
- [4] Smian OI,Horbas' VA,Bynda TP,et al. The role of disbalance of zinc and copper in school age children with community-aquired pneumonia[J]. Lik Sprava,2012(3/4):67-71.
- [5] Fretham SJ,Carlson ES,Georgieff MK. The role of iron in learning and memory[J]. Adv Nutr,2011,2(2):112-121.
- [6] 董国庆,汪皓,黄爱娣,等. 矮小身材儿童全血锌、铜、铁、钙、镁含量分析[J]. 中国妇幼保健,2007,22(23):3288-3289.
- [7] 肖蜜黎,黑明燕. 外周血铜锌钙镁铁与小儿疾病状态相关性的临床研究[J]. 实用预防医学,2007,14(1):171-172.
- [8] Timerbaev A,Sturup S. Analytical approaches for assaying metal-lodrugs in biological samples:recent methodological developments and future trends[J]. Curr Drug Metab,2012,13(3):272-283.
- [9] Becker JS,Matusch A,Wu B. Bioimaging mass spectrometry of trace elements-recent advance and applications of LA-ICP-MS; a

review[J]. Anal Chim Acta,2014,835(1):1-18.

- [10] 潘在兴,李春芸,陈夏明. 海口地区成人全血微量元素的参考区间[J]. 广东医学,2015,53(1):88-90.
- [11] 杨维东,刘洁生,彭喜春. 微量元素与健康[M]. 武汉:华中科技大学出版社,2007:104-110.
- [12] 宋丽华,金一. 石墨炉原子吸收法和 ICP-MS 测定地质样品中微量金的比较[J]. 分析试验室,2009,28(B12):227-229.
- [13] 卢垣宇,寻思颖,冯永渝,等. 干法消解-石墨炉原子吸收及电感耦合等离子体质谱测定肉制品和香辛料中铅含量的比较[J]. 食品科技,2013,38(12):290-293.
- [14] 毛红,刘丽萍,张妮娜,等. 应用 ICP-MS 与 AAS 测定食品中铅、镉、铜方法研究及比较[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(11):1954-1955.
- [15] 王克,陈霞,崔永凯. 李沧区健康成人血中 7 种金属元素参考值调查[J]. 微量元素与健康研究,2008,25(6):5-8.
- [16] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2015:274-278.

(收稿日期:2015-12-19)