

论著 · 临床研究

基于组学数据表达谱的下呼吸道铜绿假单胞菌 毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 的共表达网络分析

焦二莉¹, 陈 博²

(1. 内蒙古包头医院检验科, 内蒙古包头 014010; 2. 内蒙古科技大学
包头医学院第一附属医院, 内蒙古包头 014010)

摘要:目的 以铜绿假单胞菌的基因芯片为研究样本, 并对其进行组学数据层面的挖掘, 旨在从分子生物学的层面阐明下呼吸道铜绿假单胞菌毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 的共表达网络特征, 并发现其关键的调控基因。方法 于 2016 年 3 月至 2018 年 5 月采用定群抽样的方法选取内蒙古包头医院呼吸内科接诊并在该院接受后续治疗的 312 例下呼吸道铜绿假单胞菌感染者为受试对象, 生物标本为患者的肺泡灌洗液及痰液。使用寡聚核苷酸探针对铜绿假单胞菌的基因进行检测, 对芯片数据进行预处理。选择头孢他啶、庆大霉素、哌拉西林、阿米卡星、环丙沙星、左旋氧氟沙星、多尼培南、替卡西林共 8 种呼吸内科针对革兰阴性菌常用的抗菌药物对生物标本进行耐药性测定, 利用 MCODE 算法构建以 *exoS/exoU* 为核心的耐药基因共表达网络模型。结果 耐药组 *exoS/exoU* 表达量均显著高于非耐药组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 耐药组肺泡灌洗液标本前 5 位差异表达基因差异表达量从高到低排序依次为 RAC1、ITGB1、ITGB5、CRK 及 IGF1R。痰标本顺序为 RAC1、CRK、IGF1R、ITGB1 及 ITGB5。肺泡灌洗液标本中仅 RAC1 与 *exoS/exoU* 表达呈正相关性 ($P < 0.05$); 痰标本中 RAC1、ITGB1、ITGB5、CRK 及 IGF1R 与 *exoS/exoU* 表达呈正相关性 ($P < 0.05$)。共表达网络中纳入的基因包括 *exoS/exoU*、RAC1、ITGB1、ITGB5、CRK、CAMK2D、RHOA、FLNA、IGF1R、TGFB2、FOS。其中 RAC1 基因调控能力评分最高 (72.00), 调控基因数最多 (6 个); 其后依次为 ITGB1、ITGB5 及 CRK 基因。结论 痰标本出现 *exoS* 和 *exoU* 高表达提示铜绿假单胞菌有更高概率产生耐药性; RAC1、ITGB1、ITGB5 及 CRK 基因可能是调控 *exoS* 和 *exoU* 表达的关键基因。

关键词:组学数据表达谱; 下呼吸道; 铜绿假单胞菌; *exoS*; *exoU*; 共表达网络

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.20.024 **中图法分类号:**R446.5

文章编号:1673-4130(2019)20-2529-05 **文献标识码:**A

Co-expression network analysis of virulence genes *exoS* and *exoU* of *pseudomonas aeruginosa* in lower respiratory tract based on histological data expression profiles

JIAO Erli¹, CHEN Bo^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Inner Mongolia Baotou Steel Hospital, Baotou, Inner Mongolia 014010, China; 2. Inner Mongolia University of Science and Technology Baotou Medical College First Affiliated Hospital, Baotou, Inner Mongolia 014010, China)

Abstract: Objective To use the gene chip of *pseudomonas aeruginosa* as a research sample and to mine the data of histology, aiming at elucidating the co-expression network of the virulence genes *exoS* and *exoU* of *pseudomonas aeruginosa* in the lower respiratory tract from the perspective of molecular biology and to identify its key regulatory genes. **Methods** From March 2016 to May 2018, 312 patients with lower respiratory tract *pseudomonas aeruginosa* who were admitted to the Department of Respiratory Medicine of Inner Mongolia Baotou Steel Hospital and received follow-up treatment in the hospital were selected as subjects. The biological specimen is the patient's alveolar lavage fluid and sputum. The gene of *pseudomonas aeruginosa* was detected by oligonucleotide probe, and the chip data was pretreated. Ceftazidime, gentamicin, piperacillin, amikacin, ciprofloxacin, levofloxacin, doripenem, ticarcillin, a total of 8 respiratory medicines were selected to determine the drug resistance of Gram-negative bacteria. The biological specimens were tested for drug resistance, and the MCODE algorithm was used to construct a co-expression network model of drug resistance genes with *exoS/exoU* as the core. **Results** The expression levels of *exoS/exoU* in the drug-resistant group were significantly higher than those in the non-resistance group ($P < 0.05$). The differential expression levels of the top 5 differ-

作者简介:焦二莉,女,主管技师,主要从事临床医学检验微生物方面的研究。△ **通信作者,** E-mail: cccb1015@163.com。

本文引用格式:焦二莉,陈博. 基于组学数据表达谱的下呼吸道铜绿假单胞菌毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 的共表达网络分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(20): 2529-2533.

entially expressed genes in the lung-bleaching lavage fluid samples from the drug-resistant group were high to low. The order is RAC1, ITGB1, ITGB5, CRK and IGF1R. The order of the specimens is RAC1, CRK, IGF1R, ITGB1 and ITGB5. There was a positive correlation between RAC1 and *exoS* and *exoU* expression in alveolar lavage fluid samples ($P<0.05$). RAC1, ITGB1, ITGB5, CRK and IGF1R were positively correlated with *exoS* and *exoU* in sputum samples ($P<0.05$). The genes included in the co-expression network include *exoS*, *exoU*, RAC1, ITGB1, ITGB5, CRK, CAMK2D, RHOA, FLNA, IGF1R, TGFB2, and FOS. Among them, RAC1 gene has the highest regulatory ability score (72.00) and the most regulated genes (6); followed by ITGB1, ITGB5 and CRK genes. **Conclusion** The high expression of *exoS* and *exoU* in sputum specimens suggests that *pseudomonas aeruginosa* has a higher probability of drug resistance; RAC1, ITGB1, ITGB5 and CRK genes may be the key genes regulating *exoS* and *exoU* expression.

Key words: histological data expression profile; lower respiratory tract; *pseudomonas aeruginosa*; *exoS*; *exoU*; Co-expression network

铜绿假单胞菌是下呼吸道感染最为常见的耐药菌之一,据报道^[1-4]其耐药基因主要包括 *mecA*/*aph*/*tetM*/*aac*/*ermA* 几个基因家族,且耐药基因的甲基化水平、拷贝变异数、携带组合方式及转录本等均存在差异,耐药基因本身的高变异性可能是铜绿假单胞菌耐药的一个决定性因素。从临床用药的角度来看,加强对抗菌药物的合理使用无疑是当前最重要的任务之一,这意味着无论从剂量还是种类上都要有前期的药敏试验作为用药基础,其意义不仅在于减少医院感染的发生,也可从客观上减少对菌株耐药基因的敏感度,同时也可结合药物间的相互作用效应(如协同效应、拮抗效应、联合效应、独立效应等)的特殊性为患者制定更加合理的用药模式。与此同时,随着全人类基因组计划的完成以及临床分子诊断技术的进展,有关组学数据挖掘的生物信息学应用逐渐成为目前的研究热点^[5-7]。其中共表达网络是一种专门用于描述基因间相互作用关系的方法,通过不同的点线组合模式,共表达网络图可以非常直观地呈现出基因间的相互作用关系及其权重大小^[5-7]。遗传学的原理已经充分论证耐药性发生的分子生物学机制是多基因协同(或拮抗)调控的结果,因此,本研究将以基因芯片为研究样本,并对其进行组学数据层面的挖掘,旨在从分子生物学的层面阐明下呼吸道铜绿假单胞菌毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 的耐药性形成机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 于 2016 年 3 月至 2018 年 5 月采用定群抽样的方法选取内蒙古包钢医院呼吸内科接诊并在该院接受后续治疗的 312 例下呼吸道铜绿假单胞菌感染者为受试对象,在对受试者进行研究目的说明后对其进行样本取材(包括痰、肺泡灌洗液标本,每种样本等量分装为 2 份,于 -20 ℃ 低温环境下保存以供不同检测所需)。痰标本容器应保证洁净、广口、无菌、加盖、密封、防渗漏,一次性使用,可向检验科索取。对于大多数受试者来说清晨痰量多,含菌量亦大,可先用洁口液,再用凉开水或生理盐水漱口,以除去口腔中的细菌,深吸气后用力咳出 1~2 口痰于广

口无菌瓶中,痰量极少可用 45 ℃ 10% 氯化钠溶液雾化吸入导痰。

1.2 研究方法

1.2.1 将送检样本接种于哥伦比亚琼脂平皿和麦康凯琼脂平皿,经 35 ℃ 恒温培养箱培养 24~48 h,分离铜绿假单胞菌。

1.2.2 下呼吸道铜绿假单胞菌的培养及产物扩增 根据 NCBI 中 Genbank 库的相关基因序列生物信息学数据设计引物,并由上海其明生物有限公司合成。上游引物序列为: 5'-GTT CAG GTA GCG ATG AGC TAG CAA C-3', 下游引物序列为: 5'-CTG CAT GCA GTG AGC AGA GAG CGT C-3', 引物长度 592 bp, 反应温度: 95 ℃, 60 s/55 ℃, 30 s/75 ℃, 60 s, 持续 40 个循环后于 75 ℃ 条件下延伸 10 min。

1.2.3 基因芯片制取流程 使用寡聚核苷酸探针(北京赛默飞世尔科技有限公司)对 312 株铜绿假单胞菌的基因进行检测,对芯片数据进行预处理(将获得的杂交信号转化为组学表达谱数据)。表达谱数据归一化方法为 global normalization^[8]; 差异基因筛选采用 SAM(significance analysis of microarrays)算法^[9],以 Fold Change 值对某个基因是否发生差异表达进行判定,其计算方法为:

$$Fold\ change = \begin{cases} \frac{2^{x_1}}{2^{x_2}}, & if\ x_1 \geq x_2 \\ -\frac{2^{x_2}}{2^{x_1}}, & if\ x_1 < x_2 \end{cases}$$

其中 x_1 代表耐药组(本研究共选择 8 种呼吸内科常用抗菌药物进行耐药性测定分析,耐药的抗生素种类不低于 3 种定义为耐药,并将样本归类至耐药组)样本的信号均值, x_2 代表非耐药组样本的信号均值。

1.2.4 共表达网络分析原理及过程 共表达网络构建的原始信息基于最原始的生物样本(即本研究中通过生物采样获得的痰、肺泡灌洗液标本),但在分析的过程中可以结合诸多数据库(KEGG/Reactome//BIND/Biogrid/HPRD)对样本中的差异基因及蛋白、

microRNA 靶基因及拷贝数变异等组学数据进行深入分析(包括与他人研究结果的对比)。共表达网络由多个信号通路构成,以基因为节点(节点大小决定基因的调控能力),节点面积与基因调控能力呈正相关性。基因在整个网络模型中的调控权重分析采用 MCODE 算法,其本质是一种基于聚类系数的加权方案^[10]。

1.3 统计学处理 耐药组与非耐药组 *exoS*、*exoU* 表达量对比根据数据正态性检验结果分别采用 $\bar{x} \pm s$ 和 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 进行描述,分别采用 *t* 检验和 *Z* 检验进行组间对比。差异表达基因与 *exoS* 和 *exoU* 表达的相关性分析同样依据正态性检验结果分别采用直

线相关和等级相关。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 的表达与下呼吸道铜绿假单胞菌耐药情况的关联性分析 本研究选择头孢他啶、庆大霉素、哌拉西林、阿米卡星、环丙沙星、左旋氧氟沙星、多尼培南、替卡西林共 8 种呼吸内科针对革兰阴性菌常用的抗菌药物,将痰、肺泡灌洗液基因芯片分析结果合并进行分析。结果显示,耐药组 *exoS*/*exoU* 表达量均显著高于非耐药组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 *exoS* 和 *exoU* 的表达与下呼吸道铜绿假单胞菌耐药情况的关联性分析

项目	头孢他啶	庆大霉素	哌拉西林	阿米卡星
耐药率(%)	19.32(85/440)	3.18(14/440)	11.36(49/440)	21.82(96/440)
耐药组 <i>exoS</i> 表达量	5.03±0.92	4.32±0.86	3.70±0.72	3.94(2.95,4.90)
非耐药组 <i>exoS</i> 表达量	1.21±0.57	1.02±0.34	1.66±0.39	1.80(1.54,2.21)
t_1/Z_1	13.362	14.455	7.150	3.696
P_1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
耐药组 <i>exoU</i> 表达量	4.94±1.03	4.77±1.22	4.91±1.79	4.82(4.15,5.35)
非耐药组 <i>exoU</i> 表达量	2.03±0.93	2.15±0.65	2.02±0.25	2.19(2.02,2.56)
t_2/Z_2	8.182	6.838	9.211	6.199
P_2	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

续表 1 *exoS* 和 *exoU* 的表达与下呼吸道铜绿假单胞菌耐药情况的关联性分析

项目	环丙沙星	左旋氧氟沙星	多尼培南	替卡西林
耐药率(%)	29.32(129/440)	8.18(36/440)	2.50(11/440)	7.27(32/440)
耐药组 <i>exoS</i> 表达量	3.82±0.75	3.90±0.71	3.85(3.44,4.20)	3.59±0.88
非耐药组 <i>exoS</i> 表达量	1.47±0.44	1.52±0.32	1.67(1.44,2.13)	1.83±0.63
t_1/Z_1	8.663	8.483	4.839	3.415
P_1	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
耐药组 <i>exoU</i> 表达量	4.67±1.32	4.92±1.16	4.98(4.56,5.33)	4.60±1.34
非耐药组 <i>exoU</i> 表达量	2.21±0.53	2.05±0.74	2.10(1.87,2.51)	2.29±0.56
t_2/Z_2	5.356	7.570	6.757	4.955
P_2	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 耐药组前 5 位差异表达基因与毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 表达的相关性 耐药组肺泡灌洗液标本前 5 位差异表达基因差异表达量从高到低排序依次为 RAC1、ITGB1、ITGB5、CRK 及 IGF1R。痰标本顺序为 RAC1、CRK、IGF1R、ITGB1 及 ITGB5。肺泡灌洗液标本中仅 RAC1 与 *exoS*、*exoU* 表达呈正相关性($P < 0.05$);痰标本中 RAC1、ITGB1、ITGB5、CRK 及 IGF1R 与 *exoS*、*exoU* 表达呈正相关性($P < 0.05$)。见表 2、3。

表 2 耐药组肺泡灌洗液标本前 5 位差异表达基因与毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 表达的相关性

项目	RAC1	CRK	IGF1R	ITGB1	ITGB5
<i>exoS</i>	0.335 *	0.026	0.039	0.074	0.077
<i>exoU</i>	0.285 *	0.113	0.082	0.102	0.040

注: * 表示 $P < 0.05$

表 3 耐药组痰标本前 5 位差异表达基因与毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 表达的相关性

项目	RAC1	ITGB1	ITGB5	CRK	IGF1R
<i>exoS</i>	0.328 *	0.372 *	0.270 *	0.336 *	0.392 *
<i>exoU</i>	0.447 *	0.321 *	0.306 *	0.317 *	0.420 *

注: * 表示 $P < 0.05$

RAC1 编码蛋白的主要功能是激活磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)-Akt 信号通路,控制局部组织的细胞数量的动态平衡,参与细胞骨架重组,变化特征为上调;ITGB1 编码蛋白的主要功能是参与细胞黏附,识别膜受体,提高蛋白激酶活性变化特征为上调;ITGB5 编码蛋白的主要功能是参与止血、血管重塑、免疫应答及 MHC I 类抗原处理和肽抗原的递呈变化特征为上调;CRK 编码蛋白的主要功能是与适应性免疫应答有关,响应 TGF-β 信号通路激活变化特征为上调;

IGF1R 编码蛋白的主要功能是参与转化生长因子 β 受体信号通路的负调节过程,在大多数恶性组织中作为抗凋亡剂,提高细胞存活率变化特征为上调。

2.3 以 *exoS/exoU* 为核心构建耐药性决定基因的共表达网络模型 本次共表达网络中纳入的基因包括 *exoS*、*exoU*、*RAC1*、*ITGB1*、*ITGB5*、*CRK*、*CAMK2D*、*RHOA*、*FLNA*、*IGF1R*、*TGFBR2*、*FOS*,以 *exoS/exoU* 为核心构建铜绿假单胞菌耐药性决定基因的共表达网络模型。其中 *RAC1* 基因调控能力评分最高(72.00 分),调控基因数最多(8 个);其后依次为 *ITGB1*、*ITGB5* 及 *CRK* 基因。以 *exoS/exoU* 为核心构建耐药性决定基因的共表达网络模型图见图 1,共表达网络模型中各基因调控能力评分及其调控基因数见表 4。

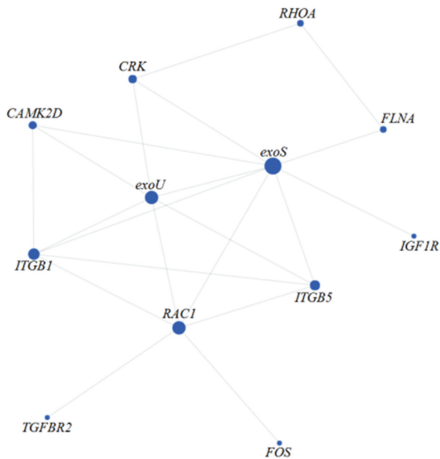


图 1 以 *exoS/exoU* 为核心构建耐药性决定基因的共表达网络模型图

表 4 共表达网络模型中各基因调控能力评分及其调控基因数

基因名称	调控能力评分	调控基因数
<i>exoS</i>	127.33	8
<i>exoU</i>	75.33	6
<i>RAC1</i>	72.00	6
<i>ITGB1</i>	64.00	5
<i>ITGB5</i>	51.00	4
<i>CRK</i>	36.67	3
<i>CAMK2D</i>	33.00	3
<i>RHOA</i>	22.67	2
<i>FLNA</i>	22.33	2
<i>IGF1R</i>	3.67	1
<i>TGFBR2</i>	3.67	1
<i>FOS</i>	3.00	1

3 讨 论

本研究发现,对于所选的任意一种抗菌药物而言,耐药组与非耐药组 *exoS/exoU* 表达量差异均存在统计学意义,说明 *exoS/exoU* 与铜绿假单胞菌耐药机制的形呈高度相关性,这与国内外诸多的同类型研究结果有一定的相似性。既往报道,*exoS/exoU* 毒力基因的耐药机制涉及多个方面:(1)产生灭活酶(如

β -内酰胺酶、氨基糖苷类修饰酶等,其中产生 β -内酰胺酶是耐药性的主要机制);(2)膜通透性下降,铜绿假单胞菌细胞膜上的许多糖蛋白可将抗菌药物主动外排,同时外排系统包括 *MexAB-oprM*、*MexCD-oprJ*、*MexEF-oprN*、*MexJk-oprM*、*MexGHI-opmD*、*MexVW-oprM*、*MexXY-oprM*,还可降低细胞外膜的通透性,形成耐药协同效应^[13-15]。

本次共表达网络中纳入的基因包括 *exoS*、*exoU*、*RAC1*、*ITGB1*、*ITGB5*、*CRK*、*CAMK2D*、*RHOA*、*FLNA*、*IGF1R*、*TGFBR2*、*FOS*。在以 *exoS/exoU* 为核心构建的耐药基因的共表达网络模型图中,*RAC1* 的基因调控评分最高,为 72.00 分,*ITGB1*、*ITGB5* 及 *CRK* 次之,可能与 *exoS* 和 *exoU* 产生的耐药性有密切关系,是调控 *exoS* 和 *exoU* 表达的关键基因。研究^[15]发现,*RAC1* 对铜绿假单胞菌耐药机制的形成主要与其编码产物可造成两类拓扑异构酶的基因突变有关,基因突变可导致抗菌药物不能与酶-DNA 复合物稳定结合,从而丧失抗菌效力。此外,*ITGB* 基因家族由于对铜绿假单胞菌生物被膜(细菌附着于惰性物体表面后繁殖并分泌的多糖基质、纤维蛋白等复合物)具有一定的保护作用,可防止铜绿假单胞菌 DNA 拓扑异构酶 II、IV 发生变构失活,同时可在一定程度上逃避机体免疫。*CRK* 则与整合子(integron)结构变异有关,该物质是存在于细菌质粒、染色体上的一种基因捕获的遗传单位,可以通过接合、转化、转导和转座等方法在细菌间转移,成为铜绿假单胞菌耐药性迅速发展的重要原因,这种情况在革兰阴性菌尤其是铜绿假单胞菌中更为显著。铜绿假单胞菌生物被膜可以产生大量的粒细胞集落刺激因子,而 *IGF1* 介导了该信号过程;同时 *IGF1* 可以介导 *exoS* 及 *exoU* 基因组织上皮和间充质间的相互作用有关。由此可以发现,铜绿假单胞菌作为革兰阴性菌当中的典型代表与革兰阳性菌的耐药基因存在着较大的差异。此外,膜微孔蛋白基因 *ITGB1*、*ITGB5* 缺失及碳青霉烯水解酶的产生可能也与这种通路存在一定的协同效应,由于膜孔蛋白在协同相应的信使发挥作用的过程中受到启动基因或者尚有基因的影响,而这种影响直接表现为基因编码蛋白活性的上升(多数细菌耐药发生的机制)或者下降,从细胞生物学的角度解释了耐药性发生的原因^[12]。

在此次研究中,本文发现基于组学数据表达谱的 *exoS* 和 *exoU* 的共表达网络分析在研究耐药基因形成机制的过程中具有如下几点优势:(1)充分利用了生物学样本中的组学信息,同时结合高密度的基因探针针对所有患者不同生物样本(痰、肺泡灌洗液)中铜绿假单胞菌基因及其蛋白产物的遗传学层面数据进行了挖掘,同时结合 KEGG、Bingo、Gene Ontology 等多个数据的组学信息对本研究结果进行比对,为铜绿假单胞菌耐药机制的形成提供了诸多分子生物学层面

的论证;(2)共表达网络模型对基因间的相互作用关系进行了量化分析,采用了 MCODE 算法将铜绿假单胞菌基因遗传信息样本最大化利用(利用芯片中的荧光染色信号值,并结合同一芯片中不同基因检测位点的变化规律将结果完全量化,最大程度上还原基因对耐药的贡献性权重系数),为后续开展基因及其蛋白质产物功能的体内及体外试验研究提供了理论依据;(3)共表达网络模型采用了权重评估模型,直观反映了基因作用的主次关系及其研究价值,进一步佐证之前获得的研究结论。

从近些年相关的文献报道^[1-4,11-15]可以发现,铜绿假单胞菌的耐药性更多的是菌种本身的基因突变所导致,而这种突变的本质大多可以反映为细菌的一种自我防御机制,即通过编码相应的蛋白对抗环境中的诸多不利因素。与此同时,也有充分的证据证明,铜绿假单胞菌的耐药性不仅是单个基因作用的结果,更多是通过多个基因及其相互作用,并通过其编码的蛋白质在功能上进行整合来产生耐药性的,这也从侧面提示临床工作者,对产生耐药性的关键基因进行功能、作用机制、信号通路等方面的探讨可能是下一步对细菌耐药研究的重点。

值得一提的是,药物的生物效应量可能也是决定其细菌耐药性的重要因素, MIC₀、MIC₅₀、MIC₉₀、MIC₁₀₀、ID₀、ID₅₀、ID₉₀、ID₁₀₀ 这些直接反映药物剂量及其毒理学关系的指标往往是同种药物在同一个体上发生不同程度耐药性的重要因素,但由于对药物进行相应毒理学分析的步骤往往较少直接应用于临床,因此忽略了其潜在的影响^[16-17]。

4 结 论

本研究以组学数据挖掘为研究基础,结合相应的生物信息学分析方法对呼吸道铜绿假单胞菌毒力基因 *exoS* 和 *exoU* 的共表达网络模型进行构建,并针对关键基因的作用模式进行了分析,为呼吸道铜绿假单胞菌耐药性机制研究提供了新思路。

参考文献

- [1] SAEED M, RASHEED F, AFZAL R K, et al. Pseudomonas aeruginosa: Evaluation of Pathogen Burden and Drug-Resistance Trends in a Tertiary Care Hospital[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2018, 28(4): 279.
- [2] ELSHOUNY W A, ALI S S, SUN J, et al. Drug resistance profile and molecular characterization of extended spectrum beta-lactamase (ES β L)-producing Pseudomonas aeruginosa isolated from burn wound infections. Essential oils and their potential for utilization[J]. Microb Pathog, 2018, 116(3): 301-312.
- [3] 司文秀, 张振杰, 孙静娜, 等. 2013—2017 年医院铜绿假单胞菌临床分布及耐药性变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(24): 3705-3708.
- [4] GUO N, ZHANG N, YAN L. Weighted gene co-expres-

- sion network analysis in identification of key genes and networks for ischemic-reperfusion remodeling myocardium[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(2): 1955-1962.
- [5] LIU B H. Differential Coexpression network analysis for gene expression data[J]. Methods Mol Biol, 2018, 1754: 155.
- [6] FERRARI C, PROOST S, RUPRECHT C, et al. PhytoNet: comparative co-expression network analyses across phytoplankton and land plants[J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(W 1): 76-83.
- [7] KRISTIAN N, MORTENSEN, ALBERT GJEDDE, et al. Impact of Global Mean Normalization on Regional Glucose Metabolism in the Human Brain[J]. Neural Plast, 2018, 12(10): 1-16.
- [8] SUN A, ZHAN B, LI M, et al. Screening Small Metabolites from Cells as Multifunctional Coatings Simultaneously Improves Nanomaterial Biocompatibility and Functionality[J]. Adv Sci (Weinh), 2018, 5(7): 1800341.
- [9] MASCHIETTO M, TAHIRA A C, PUGA R, et al. Co-expression network of neural-differentiation genes shows specific pattern in schizophrenia[J]. BMC Med Genomics, 2015, 8(1): 23.
- [10] KAINUMA A, MOMIYAMA K, KIMURA T, et al. An outbreak of fluoroquinolone-resistant Pseudomonas aeruginosa ST357 harboring the *exoU* gene[J]. J Infect Chemother, 2018, 24(8): 615.
- [11] 王娟, 梁媛紫, 戴佩坚, 等. 中山地区铜绿假单胞菌Ⅲ型分泌系统毒力基因表达差异的检测[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(6): 801-804.
- [12] 靳晓红, 李瑶, 王月华, 等. 下呼吸道感染来源铜绿假单胞菌毒力基因与氟喹诺酮类药物的耐药性研究[J]. 中国人兽共患学报, 2017, 33(1): 38-42.
- [13] 靳晓红, 李瑶, 王月华, 等. 铜绿假单胞菌毒力基因 *exoS*、*exoU* 临床分布及耐药性研究[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(1): 48-51.
- [14] BUSARDÒ F P, PICHINI S. GHB side effects: The need to clearly document drug dose and administration history[J]. J Forensic Leg Med, 2018, 56: 73-74.
- [15] MMAA E G, HAA A Z, ABOZINADAH N Y, et al. In vivo evaluation of the toxic effect of ethyl acetate extracts of marine antibiotic resistance pseudomonas species derived from the red sea[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2018, 184(2): 1-27.
- [16] CHEN L, MONTEIRO T, WANG T, et al. Design of shared unit-dose drug distribution network using multi-level particle swarm optimization[J]. Health Care Manag Sci, 2019, 22(2): 304-317.
- [17] KUMAR K S, SRINIVASAN V, TOLES R E, et al. High-dose antibiotic therapy is superior to a 3-drug combination of prostanoids and lipid A derivative in protecting irradiated canines[J]. J Radiat Res, 2018, 43(4): 361-370.