

## 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的流行病学研究

杨长顺, 刘文恩, 廖经忠, 梁湘辉, 邹明祥

(中南大学湘雅医院, 湖南长沙 410008)

**[摘要]** **目的** 了解某院患者耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的感染和医院环境中 MRSA 的污染情况, 研究临床和相应环境标本中 MRSA 的同源性, 寻找 MRSA 医院感染的传染源及传播途径。**方法** 采用 Vitek-2 细菌鉴定系统鉴定金黄色葡萄球菌; 以头孢西丁纸片琼脂扩散法和 *mecA* 基因聚合酶链反应(PCR)鉴定 MRSA; 随机扩增多态性 DNA(RAPD)技术进行同源性分析。**结果** 临床标本分离的金黄色葡萄球菌中, MRSA 占 58.54% (24/41); 环境标本分离的金黄色葡萄球菌中, MRSA 占 38.10% (16/42)。MRSA 菌株经 RAPD 扩增后均可见数量不等(4~6 条)的条带, 分型率达 100%。经聚类分析, 24 株临床 MRSA 菌株分为 4 型, 其中以 RAPD I 型为主(14 株); 16 株环境 MRSA 菌株分为 3 型, 亦以 RAPD I 型为主(13 株)。烧伤科与神经外科各有 4 例患者及其周围环境分离出同源菌。**结论** 该院临床标本及医院环境标本中 MRSA 分离率较高, RAPD I 型 MRSA 为其主要流行株且存在 RAPD I 型 MRSA 菌株克隆传播。外源性途径是 MRSA 医院感染的主要来源。

**[关键词]** 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 金黄色葡萄球菌; 抗药性; 微生物; 医院感染; 随机扩增多态性 DNA; *mecA* 基因; 流行病学

**[中图分类号]** R378.1<sup>+</sup>1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2009)02-0077-06

Epidemiological study on infection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

YANG Chang-shun, LIU Wen-en, LIAO Jing-zhong, LIANG Xiang-hui, ZOU Ming-xiang  
(Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the infection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in patients in a hospital and environmental contamination of MRSA, and study the possible sources and transmission routes with homology analysis of MRSA isolates collected from patients and environment. **Methods** *Staphylococcus aureus* were identified by Vitek-2 system, MRSA were identified by cefoxitin disk diffusion method and *mecA* PCR, homology of MRSA isolates was analysed with randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. **Results** Among all isolates of *Staphylococcus aureus*, the isolation rate of MRSA from clinical and environmental samples was 58.54% (24/41) and 38.10% (16/24) respectively. The numbers of amplified DNA fragments by RAPD were 4~6, typing rate was 100%. Based on clustering analysis, 24 clinical strains were divided into 4 types, and the main type was type I (14 strains); 16 environmental strains were divided into 3 types, and the main type was also type I (13 strains). 4 patients in burn unit and 4 patients in neurosurgical department and environment isolated homologous strains. **Conclusion** The isolated rate of MRSA in patients and environment in this hospital was high, the dominant epidemic strain of MRSA was type I and clone spread might exist. Extrinsic route was the main source for nosocomial infection caused by MRSA.

**[Key words]** methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus aureus*; drug-resistance, microbial; nosocomial infection; RAPD; *mecA* gene; epidemiology

[Chin Infect Control, 2009, 8(2): 77-81, 85]

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)是引起医院感染流行的一种重要病原菌, 自 1961 年由 Jevons

[收稿日期] 2008-03-14

[基金项目] 湖南省科技厅资助(05SK3118)

[作者简介] 杨长顺(1978-), 男(瑶族), 湖南省怀化市人, 技师, 主要从事临床微生物学研究。

[通讯作者] 刘文恩 E-mail: liuwenen@hotmail.com

在英国首次发现,世界各地 MRSA 的检出率有增长趋势,有些医院甚至发生暴发流行<sup>[1-2]</sup>。我们采用随机扩增多态性 DNA(RAPD)技术对临床及环境标本分离的 MRSA 进行同源性分析,以追踪传染源和传播途径,为预防、减少和控制其医院感染的发生提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 标本来源 临床标本:2006 年 3—10 月间某院住院 48 h 后患者送检的各类临床标本;环境标本:同期医院环境采样,患者送检标本若检出金黄色葡萄球菌,则立即去病房对其周围环境采样,包括空气、陪护者手、床扶手、床头柜、门把手、直接接触患者的医护人员手各 1 次,出院及死亡病例周围环境不再采样。采样方法按照《消毒技术规范》<sup>[3]</sup>执行。质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 和 MRSA ATCC 43300,均由中国菌种保藏中心提供。

1.1.2 仪器 Vitek-2 细菌鉴定仪(法国生物梅里埃公司)、Biometra 聚合酶链反应(PCR)扩增仪(德国 Biometra 公司)、DYY-6B 型稳压稳流电泳仪(北京市六一仪器厂)、GDS-800 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.1.3 引物 *mecA* 引物设计参照文献[4],序列: F 5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3' R 5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3',目的片段长度为 533 bp; RAPD 引物设计参照文献[5],序列: 5'-AAGTAAGTGACTGGGGGTGAGCG-3';均由上海生物工程有限公司合成。

1.1.4 试剂 溶葡萄球菌素(BBI 公司)、细菌基因组提取试剂盒(北京天为时代公司)、Marker 与 PCR master(上海生物工程有限公司)、头孢西丁纸片(英国 Oxoid 公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 金黄色葡萄球菌鉴定 按常规方法分离菌株,经 Vitek-2 细菌鉴定系统,以 GP 卡鉴定为金黄色葡萄球菌。

1.2.2 头孢西丁纸片琼脂扩散法筛选 MRSA 根据美国临床实验室标准化研究所(CLSI)推荐方法:血琼脂培养基复苏冰冻保存菌株,挑取单个菌落于无菌生理盐水中调至 0.5 麦氏单位,涂抹于含 4% NaCl 的 M-H 琼脂平板上,待干后贴头孢西丁纸片,

35℃ 孵育 24 h,测量抑菌圈直径;判断标准<sup>[6]</sup>:头孢西丁抑菌圈直径  $\geq 20$  mm 为敏感,  $\leq 19$  mm 为 MRSA,同时以 ATCC 25923 和 ATCC 43300 作对照。

### 1.2.3 *mecA* 基因 PCR 扩增

1.2.3.1 DNA 模板的提取 血琼脂培养基复苏经头孢西丁纸片琼脂扩散法筛选的 MRSA 菌株,挑取单个菌落于 LB 液体培养基增菌 18 h,取 1 mL 增菌培养液,10 000 转离心 1 min,尽量吸尽上清液,加入 100  $\mu$ L 溶葡萄球菌素(12 U/mL),30℃ 处理 20 min,然后按照基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA,最后用 100  $\mu$ L 预温处理的洗脱液 TE 洗脱,-20℃ 保存备用。

1.2.3.2 *mecA* 基因检测 PCR 扩增 *mecA* 基因,反应条件参照文献[4]进行,反应体系为:模板 DNA 2  $\mu$ L,2 $\times$ PCR Master 12.5  $\mu$ L,F 和 R 引物各 1  $\mu$ L(引物浓度 25  $\mu$ mol/L),灭菌去离子水补足,反应总体积 25  $\mu$ L。1.5%琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统成像。

1.2.4 MRSA 同源性分析 对临床标本分离的 24 株 MRSA 及环境标本分离的 16 株 MRSA,应用 RAPD 技术进行同源性分析。

1.2.4.1 反应体系 反应总体积 25  $\mu$ L:模板 DNA 6  $\mu$ L,2 $\times$ PCR Master 12.5  $\mu$ L,引物 1  $\mu$ L(引物浓度 25  $\mu$ mol/L),0.5  $\mu$ L MgCl<sub>2</sub>(25 mmol/L),灭菌去离子水补足。RAPD 扩增条件:95℃ 预变性 5 min,95℃ 1 min,25℃ 1 min,72℃ 2 min 共 35 个循环,72℃ 终延伸 5 min。1.5%琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统成像。

1.2.4.2 RAPD 聚类分析 将 RAPD-DNA 指纹图利用 NTSYS 软件构建聚类树状图。

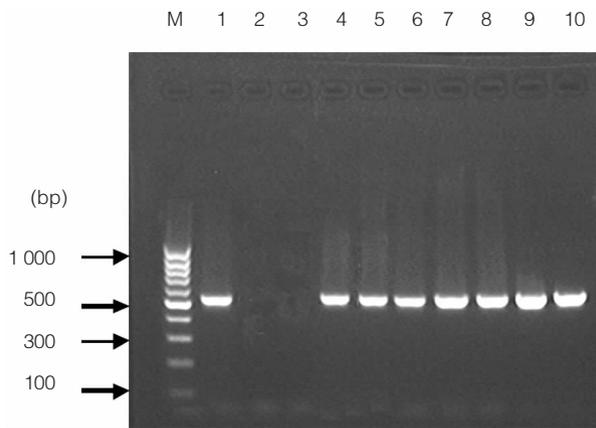
## 2 结果

2.1 临床与环境标本金黄色葡萄球菌及 MRSA 的分离 2006 年 3—10 月共接收各类送检合格临床标本 3 885 份,分离金黄色葡萄球菌 41 株(1.06%);医院环境共采样 216 份,分离金黄色葡萄球菌 42 株(19.44%)。41 株分离自临床标本的金黄色葡萄球菌经头孢西丁纸片琼脂扩散法筛选得到 MRSA 阳性菌株 24 株,24 株初筛阳性的 MRSA 菌株经 *mecA* 基因 PCR 鉴定均为 MRSA 菌株,MRSA 占金黄色葡萄球菌的 58.54%;42 株环境标本分离的金黄色葡萄球菌经头孢西丁纸片琼脂扩散法筛

选得到 MRSA 阳性菌株 16 株, 16 株初筛阳性的 MRSA 经 *mecA* 基因 PCR 鉴定均为 MRSA 菌株, MRSA 占金黄色葡萄球菌的 38.10%。去除因感染者死亡和出院而未对其周围环境采样的 5 株临床 MRSA, 余 19 株临床 MRSA 菌株中有 9 株在其周围环境中分离出 MRSA。临床标本分离的 MRSA 主要分布在烧伤科、神经外科和 ICU, 环境标本分离的 MRSA 主要分布在烧伤科。见表 1。*mecA* 基因 PCR 扩增结果见图 1, 扩增目的片段为 533 bp。

## 2.2 MRSA 同源性分析

2.2.1 RAPD 扩增 24 株临床标本分离的 MRSA 和 16 株环境标本分离的 MRSA 经 RAPD 扩增, 均可得到数量不等的条带, 条带数在 3~6 之间, 所有菌株均有 300 bp、400 bp、600 bp 三条带, 分型率达 100%。见图 2。



M: DNA Marker; 1: ATCC 43300; 2: ATCC 25923; 3: 对甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌(MSSA); 4~10: 不同临床科室分离的 MRSA

图 1 PCR 扩增 *mecA* 基因

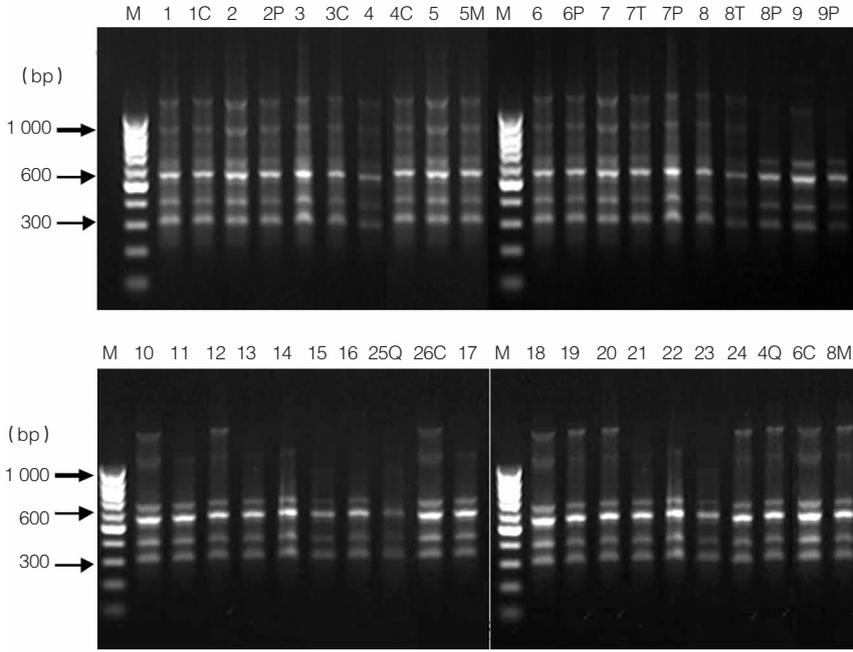
Figure 1 *mecA* gene amplified by PCR

表 1 40 株 MRSA 来源分布

Table 1 Sources of 40 strains of MRSA

病房	临床菌株编号	MRSA 鉴定结果	采样					
			空气	陪护者手	床头柜	床扶手	门把手	医护人员手
烧伤科	3	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	+	-	-
烧伤科	5	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	+	-
烧伤科	7	+( <i>mecA</i> 基因)	-	+	+	-	-	-
烧伤科	8	+( <i>mecA</i> 基因)	-	+	+	-	+	-
烧伤科	22	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
神经外科	1	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	+	-	-
神经外科	9	+( <i>mecA</i> 基因)	-	+	-	-	-	-
神经外科	12	+( <i>mecA</i> 基因)			患者出院			
神经外科	14	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
神经外科	19	+( <i>mecA</i> 基因)			患者出院			
神经外科	24	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
ICU	11	+( <i>mecA</i> 基因)			患者死亡			
ICU	13	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
ICU	16	+( <i>mecA</i> 基因)			患者出院			
ICU	20	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
皮肤科	17	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
内分泌	26	-	-	-	-	+	-	-
神经内科	2	+( <i>mecA</i> 基因)	-	+	-	-	-	-
口腔科	4	+( <i>mecA</i> 基因)	+	-	-	+	-	-
呼吸内科	6	+( <i>mecA</i> 基因)	-	+	-	+	-	-
血管外科	10	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
肾内科	15	+( <i>mecA</i> 基因)			患者出院			
老年病科	18	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
肿瘤化疗	21	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
普外科	23	+( <i>mecA</i> 基因)	-	-	-	-	-	-
肾内科	25	-	+	-	-	-	-	-

- : 检测阴性; + : 检测阳性; ( ) 内为基因型



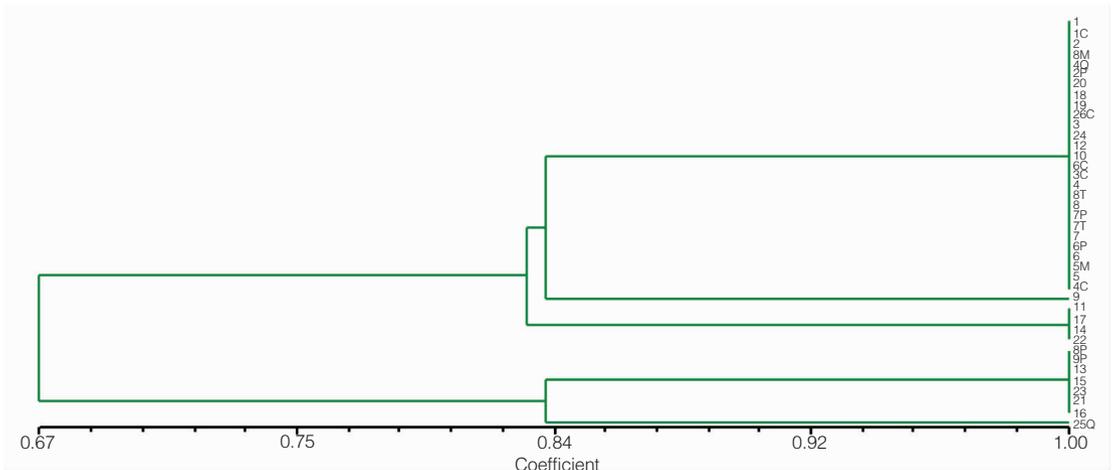
M: DNA Marker; 1~24: 不同临床 MRSA 菌株编号; C~T: 临床菌株相应环境 MRSA 菌株编号; Q: 空气标本; C: 床扶手标本; M: 门把手标本; T: 床头柜标本; P: 患者陪护人员手标本

图 2 24 株临床及 16 株环境标本分离 MRSA 的 RAPD-DNA 图

Figure 2 RAPD-DNA maps of 24 and 16 strains of MRSA isolated from clinical patients and environment respectively

2.2.2 MRSA 聚类分析 根据 RAPD 电泳图谱中条带的数目及位置,以 NTSYS 统计软件进行聚类分析,得到遗传树状图 3。24 株临床 MRSA 菌株经聚类分析分为 4 类,以 RAPD I 型为主(14 株),菌株编号分别为 1、2、3、4、5、6、7、8、10、12、18、19、20、24,其中神经外科 4 株,烧伤科 4 株,重症监护室(ICU)、神经内科、口腔科、呼吸内科、老年病科、血管外科各 1 株;II 型 MRSA 1 株,菌株编号为 9;III 型 MRSA 4 株,菌株编号为 11、14、17 和 22;IV 型 MRSA 5 株,菌株编

号为 13、15、16、21 和 23。16 株环境 MRSA 菌株经聚类分析分为 3 类,也以 RAPD I MRSA 菌株为主(13 株),菌株编号为 1C、2P、3C、4Q、4C、5M、6C、6P、7P、7T、8T、8M、26C,其中烧伤科 6 株,口腔科及呼吸内科各 2 株,神经内科、神经外科及内分泌科各 1 株;IV 型 MRSA 2 株,菌株编号为 8P 和 9P;V 型 MRSA 1 株,菌株编号为 25Q。烧伤科 4 例患者与其周围环境分离出同源菌达 10 株,神经外科 4 例患者与 1 株环境株同源,均属 RAPD I 型。



横坐标为相关系数,纵坐标为菌株编号,从上到下分别为 RAPD I ~ V 型菌株聚类情况

图 3 40 株 MRSA 聚类树状图

Figure 3 Clustering map of 40 strains of MRSA

### 3 讨论

本研究某院临床标本分离的金黄色葡萄球菌中 MRSA 占 58.54%，与国内外其他报道<sup>[7-8]</sup>基本一致；其环境标本分离的金黄色葡萄球菌中 MRSA 占 38.10%。医院环境中 MRSA 的分离率较高，可能是由于采样带有目的性即采样处均为分离出金黄色葡萄球菌患者的特殊周围环境。去除因感染者死亡和出院而未对其周围环境采样的 5 株临床 MRSA 菌株，余 19 株临床 MRSA 菌株中有 9 株在其相应环境分离出 MRSA 菌株，分别为烧伤科的 3、5、7、8 号菌株，神经外科的 1、9 号菌株，神经内科的 2 号菌株，口腔科的 4 号菌株和呼吸内科的 6 号菌株。分离出 MRSA 菌株患者的周围环境大多分离出了环境 MRSA，可能由于患者感染的 MRSA 菌株污染周围环境或者是患者的 MRSA 感染源自医院外环境。在医院外环境如病房空气、住院患者陪护人员手、病房门把手、床扶手及床头柜均分离出 MRSA 菌株，这些因素均可造成 MRSA 在患者与患者之间传播，导致医院感染的发生。

根据 RAPD 分型电泳图谱的聚类分析结果，该院临床 MRSA 菌株 RAPD 分型以 I 型为主，共 14 株；主要分布在烧伤科和神经外科病房，在神经内科、口腔科、血管外科、呼吸科、老年病科及 ICU 也有发现。在烧伤科与神经外科病房各有 4 例患者同源，证实有 MRSA 小流行存在；在其他病房也有流行株感染存在。环境 MRSA 菌株 RAPD 分型也以 I 型为主，共 13 株；主要分布在烧伤科病房，共 6 株。根据聚类分析结果，临床 MRSA 菌株与其相应环境 MRSA 菌株同源性很高。在 RAPD I 型 MRSA 菌株中，临床分离株与其相应的医院外环境分离株为同一类型，如在烧伤科患者 3、患者 5、患者 7、患者 8 外周环境分离到同型的 MRSA 菌株；另外，在神经外科患者 1、神经内科患者 2、口腔科患者 4、呼吸内科患者 6 的医院外环境中均分离出 RAPD I 型 MRSA 菌株。医院感染株和环境株在遗传因子上存在同源性有 8 起。可能是通过患者之间、患者与陪护人员之间的接触引起，也可能是通过医生在不同科室会诊或医护人员的手进行传播。外源性途径是 MRSA 医院感染的主要来源。

有效降低 MRSA 医院感染的发生，应尽早进行 MRSA 菌株的流行病学调查。流行病学调查常依据细菌分型。细菌分型方法有表型分型和基因分型

两大类，医院感染病原菌分型更倾向于基因分型方法<sup>[9]</sup>。脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 分型被认为是细菌分子生物学分型方法的“金标准”<sup>[10]</sup>，但其需要特殊而昂贵的仪器设备，技术条件高，难以推广应用。质粒分型则由于质粒丢失和发生基因重组以及不含质粒或含质粒很少的菌株，不能够准确分型。RAPD 分型是近年来继质粒谱分析、脉冲场电泳及探针杂交等分子生物学分型方法之后发展起来的又一基因分型技术，其已成为分子流行病学研究中有利的工具，美国医院流行病学协会已推荐其为医院感染常见病原菌的分型方法。RAPD 技术具有分型率高、分辨力强、重复性好、简便、快速、经济等优点，可广泛用于 MRSA 的同源性分析。本研究应用 RAPD 技术，通过对 MRSA 的同源性分析了解到：(1) 本研究的医院感染以外源为主；(2) 有小流行趋势，与消毒隔离不严有关；(3) 传染源为患者、医务人员带菌者及细菌储存所(环境)；(4) 传播途径为直接或间接接触传播。据文献报道<sup>[11]</sup>，大部分的医院感染都可以通过监测和采取一系列的感染控制措施得到预防。因此，在积极开展对感染患者的抗菌药物治疗同时，应加强实验室的细菌培养检测工作，及时掌握新的耐药动态，以保证临床治疗的正确性、有效性。严格执行病区的消毒隔离制度，进一步加强对工作人员以及各类探视人员的卫生监督，如工作人员以及探视人员穿戴隔离衣、帽、鞋、口罩及勤洗手等都是降低 MRSA 医院感染的有效措施<sup>[12-13]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 刘庆中,周铁丽,李超,等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌暴发流行菌株的基因分型研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(10):1086-1088.
- [2] Rashid A, Solomon L K, Lewis H G, et al. Outbreak of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a regional burns unit: Management and implications[J]. Burns, 2006, 32:452-457.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 北京, 2002:94.
- [4] Murakami K, Minamide W, Wada K, et al. Identification of methicillin-resistant strains of *Staphylococci* by polymerase chain reaction[J]. J Clin Microbiol, 1991, 29:2240-2244.
- [5] Belkum A V, Bax R, Perrbooms P, et al. Comparison of phage typing and DNA fingerprinting by polymerase chain reaction for discrimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains[J]. J Clin Microbiol, 1993, 31:798-803.

本次调查严格按国家方案要求,选择具有代表性的苗族聚集区吉首市苗族乡采集样本,保证了样本的真实性。上述结果显示,湖南苗族 10~59 岁人群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞计数平均值分别为 1 426.71 个/ $\mu$ L、787.54 个/ $\mu$ L、589.86 个/ $\mu$ L。其中反映机体细胞免疫状态的重要指标 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞计数与比值在男女间无差别 ( $P > 0.05$ ),但在不同年龄组有差别,年龄较小组的数量明显高于年龄较大组 ( $P < 0.05$ ),即随着年龄增大,CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞绝对数有所下降,比值也有增大的趋势。这一结论与段松等在云南省德宏州傣族人群检测的结果一致,CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞计数减少与年龄增大,免疫系统出现衰弱而成正相关减少有关<sup>[2]</sup>。

本研究中苗族健康人群 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞计数均值为 787.54 个/ $\mu$ L,与埃塞俄比亚(775 个/ $\mu$ L)<sup>[3]</sup>、上海(727 个/ $\mu$ L)<sup>[4]</sup>、广西壮族(718 个/ $\mu$ L)<sup>[5]</sup>接近,低于天津(860.27 个/ $\mu$ L)<sup>[6]</sup>、云南德宏(849 个/ $\mu$ L)<sup>[2]</sup>、印度(865 个/ $\mu$ L)<sup>[7]</sup>、荷兰(993 个/ $\mu$ L)<sup>[3]</sup>、意大利(940 个/ $\mu$ L)<sup>[8]</sup>,高于湖北(681 个/ $\mu$ L)<sup>[9]</sup>、瑞士(691 个/ $\mu$ L)<sup>[10]</sup>。造成此种差异的原因十分复杂,不同民族遗传、地域、生活环境、生活习惯及样本收集、检测时间、方法等因素对于 T 淋巴细胞计数均存在较大的影响。由此可见,建立不同民族的 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞正常参考值具有重大的临床意义。

(致谢:感谢湖南省吉首市疾病预防控制中心协助采样和中国疾病预防控制中心的技术指导)

## [参 考 文 献]

- [1] 本书编写组. 国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 15-16.
  - [2] 段松, 项丽芬, 马罗云, 等. 健康傣族人 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞绝对数正常值调查[J]. 中国艾滋病性病, 2007, 13(5): 424-426.
  - [3] Tsegaye A, Messele T, Tilahun T, *et al.* Immunohematological reference ranges for adult Ethiopians [J]. Clin Diag Lab Immunol, 1999, 6: 410-414.
  - [4] 蒋卫民, 潘孝彰, 康来仪, 等. 上海地区成年人不同年龄组间 CD4、CD8 淋巴细胞计数正常值调查[J]. 中华传染病杂志, 2002, 20(4): 203-205.
  - [5] 刘帅凤, 刘伟, 陈杰, 等. 广西壮族自治区健康成年人 T 淋巴细胞亚群分类绝对计数及 CD4/CD8 比值调查[J]. 中国艾滋病性病, 2004, 10(6): 413-415.
  - [6] 宁铁林, 朱效科, 郑敏娜. 天津地区健康人外周血 CD4、CD8 淋巴细胞正常参考值研究[J]. 中国慢性病预防与控制, 2007, 15(5): 432-434.
  - [7] Uppal S S, Verma S, Dhot P S. Normal values of CD4 and CD8 lymphocyte subsets in healthy Indian adults and the effects of sex, age, ethnicity and smoking [J]. Cytometry B Clin Cytom, 2003, 52: 32-36.
  - [8] Alberto S, Germano G, Angela P, *et al.* An Italian national multicenter study for the definition of a reference ranges for normal values of peripheral blood lymphocyte subsets in healthy adults [J]. Haematologica, 1999, 84: 499-504.
  - [9] 陈铁龙, 桂希恩, 邓莉萍, 等. 湖北成人 CD4、CD8 淋巴细胞计数正常值调查及 CD4 与总淋巴细胞数的相关性分析[J]. 中国艾滋病性病, 2005, 11(4): 252-255.
  - [10] Leslie R B, Thomas L L, Matthias K, *et al.* Reference values for peripheral blood lymphocyte phenotypes applicable to the healthy adult population in Switzerland [J]. Europ J Haematol, 2004, 72: 203-212.
- 
- (上接第 81 页)
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing fifteenth information supplements[S]. Wayne, PA 2005: M100-S15.
  - [7] 舒文, 谭为. 金黄色葡萄球菌临床分离株耐谱分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(10): 1162-1164.
  - [8] Das I, O'Connell N, Lambert P. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteremia in a university hospital in UK[J]. J Hosp Infect, 2007, 65(2): 117-123.
  - [9] 张勇扬, 梁德荣, 徐楠. 医院感染金黄色葡萄球菌的分型[J]. 疾病控制杂志, 2003, 7(3): 207-210.
  - [10] Fakhri M K, Nolan L K, Logue C M, *et al.* Multilocus sequence typing lacks the discriminatory ability of pulsed-field electrophoresis for typing *Salmonella enterica* serovar Typhimurium[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(5): 2215-2219.
  - [11] Noskin G A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococci*: emerging problems and new prospects for management [J]. Ann Acad Med Singapore, 2001, 30(3): 320.
  - [12] Geffers C, Ruden H. Let MRSA-positive patients live a normal life[J]. Nephrol Dial Transplant, 2006, 21: 835-836.
  - [13] McBryde E S, Pettitt A N, McElwain D L S. A stochastic mathematical model of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* transmission in an intensive care unit: Predicting the impact of interventions[J]. J Theor Biol, 2007, 245: 470-481.