

文章编号: 1672-3384 (2006) -04-0039-06

## 细菌鉴定和耐药性检测方法的发展

【作者】 杨华为 蒋迪 王璨 赵传赞 高华方

生物芯片北京国家工程研究中心 (北京 102206)

【中图分类号】 R915

【文献标识码】 B

细菌鉴定和耐药性检测对于指导临床精确用药和及时治疗患者具有重要意义。目前临床上进行细菌鉴定和耐药检测仍以表型检测方法为主, 主要包括: 传统手工鉴定与药敏实验方法、自动化药敏鉴定系统。传统方法虽然能够满足临床的部分需要, 但这些方法仍然存在一些缺点, 例如检测时间较长和检测结果不够准确等。因此, 随着分子生物学技术在临床检验领域的应用, 近年来发展了一系列快速细菌鉴定和(或)耐药检测技术, 例如基于 PCR 技术和 DNA 探针杂交以及生物芯片技术等, 这类方法的特点是快速而准确, 一般在几个小时之内就可以得到检测结果。

### 1 传统方法在细菌鉴定和耐药性检测中的应用

临床手工细菌鉴定和细菌药敏实验, 是临床上尤其在中小医院应用最广泛的方法。细菌鉴定主要是根据细菌对生化物质的代谢特点进行, 药敏方法包括纸片扩散法(常规实验室使用较普遍)和抗生素稀释法(MIC法)等。这些方法的特点是方便、易操作, 成本低, 而且灵活性强, 测定的细菌和药物可灵活选择。其缺点是操作烦琐、经验依赖性强、报告结果慢, 不能完全适应临床治疗的需要。

使用自动化药敏和鉴定系统, 是临床微生物学实验包括体外药物敏感实验的发展方向。最有代表性的是 VITEK-AMS 微生物自动分析系统, 可同时完成细菌鉴定和药敏实验。该套系统的检测卡片分为 14 种, 每一种鉴定卡片含有 25 种以上的生化反应指标, 基本与常规检测鉴定相同。此方法的优点是简便、快速、鉴定范围广, 受人为主的影响小, 可靠性高。但它仍需要细菌培养的步骤, 准确性也受

到一定限制, 同时其耗材价格较为昂贵。使用这类仪器的主要是三级甲等以上的大型医院。在细菌快速鉴定方面最有代表性的是 mini-Vidas 全自动免疫分析仪, 其原理是应用细菌的特异性抗体对细菌进行鉴定, 以荧光为标记, 进行自动化检测。其最大优点是速度快, 可以在 40min 内快速鉴定沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7、单核李斯特菌, 空肠弯曲杆菌和葡萄球菌肠毒素等。但检测指标过少, 主要限于这几种菌, 而且也不能进行药敏实验。

目前, 微生物鉴定技术中除了少数医院使用半自动、全自动的细菌鉴定仪外, 大多数医院主要还是使用常规鉴定技术进行细菌菌种的鉴定。

### 2 分子生物学技术在细菌种属鉴定中的应用

采用与系统发育学相关的基因实现对细菌血清型的分型, 越来越成为一种趋势。目前, 利用基因检测方法对细菌进行种属鉴定所涉及的基因包括细菌 16S rRNA 基因或 5S rRNA 序列、HSP 基因家族、gyrB 基因以及细菌特异基因等。

#### 2.1 利用 16S rRNA 基因序列作为分类依据的原因

利用 16S rRNA 基因序列对细菌进行菌种鉴定在目前应用较多, 也越来越被临床所接受。在细菌分类学著作中, 如《伯杰氏系统细菌学手册》, 越来越倾向于选择 16S rRNA 基因序列作为分类的依据。主要原因有下面几点:

2.1.1 rRNA 存在于所有生物中, 在生物进化过程中其功能保持不变。16S rRNA 基因普遍存在于原核生物中, 在真核生物中其同源分子是 18S rRNA。

2.1.2 16S rRNA 最能反映细菌间的亲缘关系。在 16S rRNA 分子中, 既含有高度保守的序列, 又含

有中度保守和高度变化的序列,能够衡量进化距离不同的各类原核生物。

2.1.3 16S rRNA 分子量大小适中,便于序列分析。5S rRNA 约 120bp,信息量太小;23S rRNA 约 2900bp,信息量大,但分析工作量太大,不利于实际操作;16S rRNA,约 1540bp,信息量足够,分析工作量适中。

## 2.2 16S rRNA 用于临床细菌鉴定的意义

2.2.1 菌种鉴定结果更加准确。利用基因序列进行菌种的分析是一种直接的分析方法,该方法比利用理化性状分析菌种更准确。在实际应用中,常规的细菌鉴定由于菌株的极易变异性,或某个具有鉴别意义的生化性状丢失,常会出现争议性的结果。

2.2.2 利用基因鉴定比常规方法更灵敏,特别是当标本中细菌数目少或难以培养时,只能通过用 16S rRNA 基因扩增后进行序列分析。

随着测序技术的发展,细菌基因组序列逐渐清楚,对细菌体内所含基因也逐渐了解,因此利用细菌的特异基因进行菌种鉴定就成为可能。目前在临床微生物研究中常常会用到特异基因对菌种鉴定,特别是当细菌菌种间通过 16S rRNA 基因不易区分时。

## 2.3 16S rRNA 基因在菌种鉴定中的应用。

DNA 芯片具有灵敏度高和检测通量高的特点,已经广泛用于微生物的检测。Wang 等<sup>[1]</sup>建立了一个寡核苷酸芯片来检测人类粪便中的肠道细菌,该芯片采用了 20 个主要的人类肠道细菌菌种的 16S rRNA 序列设计的寡核苷酸探针,检测的 20 个肠道菌包括:多形拟杆菌、普通拟杆菌、脆弱拟杆菌、梭状梭菌、普氏梭杆菌、白色瘤胃球菌、长双歧杆菌、青春期双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、产气真杆菌、嗜酸乳杆菌、大肠埃希氏菌和屎肠球菌等。

除了使用 16S rRNA 基因作为检测靶基因外,也有报道使用另外具有细菌种属特征的基因,如 23S rRNA 基因。Anthony 等<sup>[2]</sup>利用通用引物扩增细菌 23S rRNA 的可变区,产物与寡核苷酸芯片杂交,进行细菌菌种鉴定。可以检测血培养中常见的 30

多种细菌。

另外,由于一些不常见肠球菌菌种的生化反应特征很少,通过常规生化实验难以鉴定,因此可以利用 PCR 等分子方法实现对肠球菌进行准确地鉴定到菌种。Gregory 等<sup>[3]</sup>利用 16S rRNA 和 23S rRNA 基因之间的间区序列 (intergenic spacer, ITS) 作为 PCR 的靶基因,建立了一套 PCR 辅酶切图谱的方法,对肠球菌属的多个种做了准确的鉴定。

除了使用 16S rRNA 和 23S rRNA 基因作为菌种鉴定的依据外,gyrB 基因也是选择较多的基因之一。Stina 等<sup>[4]</sup>构建了寡核苷酸玻璃芯片,用于急性上呼吸道感染细菌的诊断。探针序列来自呼吸道感染原菌的编码拓扑酶 GyrB 和 ParE 基因的变异区域。检测的细菌种类有:白喉棒状杆菌、坏疽梭杆菌、嗜血流感杆菌、嗜肺军团菌、卡他摩拉菌、肺炎支原体、金葡菌、肺炎链球菌和化脓链球菌等。检测的临床标本包括中耳流出物和咽拭子标本。具有较高的敏感性和特异性。对中耳流出物标本,检测嗜血流感杆菌、卡他摩拉菌和肺炎链球菌的敏感性分别为 96% (培养法 93%), 73% (培养法为 93%) 和 100% (培养法为 78%);咽拭子标本与口腔其他常见菌没有交叉反应;化脓链球的敏感性为 93% (培养法 80%)。

特异基因也常用于细菌的鉴定。粪肠球菌和屎肠球菌是临床最常见的肠球菌,传统的生化方法能够鉴定出粪肠球菌,但却不能区分屎肠球菌和某些新发现的肠球菌菌种,这时通过 PCR 方法扩增屎肠球菌特异靶基因片段,就可以快速而准确地鉴别屎肠球菌<sup>[5]</sup>。

## 3 分子生物学技术在细菌耐药性检测中的应用

越来越多的研究利用分子生物学技术进行耐药性检测,其中一些方法利用编码耐药性的基因进行细菌耐药性检测,已经被美国临床实验室标准化委员会 (NCCLS) 认可。与传统的药敏实验方法比较,基因方法有可能提供更加快速和更加可靠的检测结果<sup>[6]</sup>,原因如下:①首先基因方法能够直接用于检测临床标本而无需对细菌进行分离培养。②由

于前者检测基因型,而传统方法检测的是人为的体外条件下基因型的表达型,显而易见,基因型方法用于检测药敏更加合理。这样风险更低,尤其当遇到临床危重感染如脑膜炎、菌血症或者需要长期抗生素治疗的心内膜炎和骨髓炎等感染时更是这样。③对某些生长缓慢的细菌,基因型方法远快于传统法得到结果。④某些细菌体外无法培养,只能用基因法检测。⑤由于基因法不需要对细菌进行繁殖,因而也降低了致病菌的生物危害风险。但是目前基因方法仍未能大量应用于临床细菌耐药性的检测,原因主要有2点:①某些抗生素的耐药机制仍未完全阐明。②仅仅少部分基因方法经过了全面的临床实验验证。未来随着更多耐药机制的阐明和更多临床资料的积累,基因方法有望得到越来越多的应用。

随着分子生物学的发展和临床对细菌耐药机制研究的深入,目前已经发现许多细菌耐药性状与细菌体内的基因有直接的联系。如革兰氏阴性菌中产ESBLs(超广谱 $\beta$ -内酰胺酶)菌株多与细菌体内的一些耐药基因的出现或基因突变有关。在中国由于头孢噻肟的频繁使用,使得肠杆菌科细菌临床株中检出最多的ESBL酶便是头孢噻肟水解酶CTX-M,它由 $ctx-m$ 基因编码,直接导致细菌对三代头孢菌素中头孢噻肟的耐药性。目前在国际上研究较多的还有 $shv$ 、 $tem$ 等基因突变形成的其他超广谱酶,导致细菌对其他三代头孢如头孢他啶等抗生素的耐药性。

在革兰氏阳性菌中,对于耐甲氧西林的MRSA或者MRCNS菌株,研究已经表明耐药性状与细菌体内的 $mecA$ 基因有直接的关系。主要耐药机制是由染色体上的 $mecA$ 基因介导,该基因编码一种与 $\beta$ -内酰胺类抗生素亲和力降低的膜蛋白PBP2a,从而产生耐药性。 $mecA$ 位于染色体上,可在转座子作用下插入其他染色体或质粒中,使耐药性得以传播。在临床药敏实验中通过检测 $mecA$ 基因的有无来确定葡萄球菌是否为MRSA或者MRCNS菌株已经成为临床检验中的“金标准”方法。

研究发现用于治疗葡萄球菌感染的大环内酯类、林可霉素类抗生素耐药主要与细菌体内的 $ermA$ 、 $ermB$ 、 $ermC$ 、 $msrA$ 基因有关(NCCLS, 2004)。

下面主要以临床革兰阳性球菌为例,具体介绍各类常用分子技术在细菌耐药基因检测中的应用。

### 3.1 单重PCR方法在耐药基因检测中的应用

PCR技术是一项比较成熟的分子技术,具有高敏感性和特异性,目前这一技术已经被广泛用于临床致病菌、动物感染和食品微生物的检测上。目前在细菌耐药检测方面的应用很多,例如用于葡萄球菌甲氧西林耐药基因( $mecA$ )的检测。

由于 $mecA$ 基因在菌株中总是异质性表达,不是所有耐甲氧西林的葡萄球菌菌株都能够通过标准的表型方法检测出来。尤其在CNS中,这种异质性表达更加显著。因此临床检测中直接检测葡萄球菌中介导甲氧西林耐药的 $mecA$ 基因对监测耐药结果更准确。

与药敏实验的表型方法如肉汤微量稀释MIC、琼脂稀释法、纸片扩散法和琼脂筛选法比较,PCR(扩增 $mecA$ )阳性率更高(Jeong J等<sup>[7]</sup>)。检测金黄色葡萄球菌对甲氧西林耐药时,以PCR为对照,表型方法中与PCR的符合率可以达到100%;检测CNS的甲氧西林耐药时,表皮葡萄球菌等其他CNS菌株表型方法与基因型的符合率只有92.1%。因此现有方法中,PCR检测甲氧西林耐药性的灵敏性和特异性明显高于传统药敏实验。

单重PCR方法的最大不足之处在于检测的指标过于单一。

### 3.2 直接用DNA探针检测耐药基因

检测临床菌株标本除了使用单重PCR方法外,还可以使用DNA探针技术,如化学发光标记探针、bDNA探针技术等。目前运用较多的方法是利用化学发光标记探针的液相杂交技术,液相磁珠捕捉杂交联用化学发光分析技术就是其中的一种。

液相磁珠捕捉杂交联用化学发光分析技术<sup>[8]</sup>方法无需扩增就可以快速检测临床葡萄球菌中的 $mecA$ 基因。通过对多株培养后的葡萄球菌(包括

金葡菌和 CNS) 进行检测, 验证了基因探针方法的高度特异性; 与 PCR 方法 (扩增 *mecA* 基因) 符合很好; 金葡菌符合率为 100%; CNS 阳性和阴性符合率分别为 99.2% 和 100%。显著高于表型方法检测的符合率。

但该技术也有其应用上的缺点。DNA 探针技术并不适合临床实验室对甲氧西林耐药葡萄球菌的诊断。虽然基因鉴定的特异性不错, 但是灵敏度并不高, 而且操作比较繁琐。

3.3 多重 PCR 在耐药基因检测中的应用

单重 PCR 方法虽然在细菌的诊断和耐药基因的检测方面灵敏度高、特异性好, 尤其是在检测临床耐甲氧西林金葡菌 (MRSA) 时结果较好, 但是临床上往往面对的是多种致病菌种及菌株对多个抗生素的耐药性, 因此只有最大限度地鉴定出这些致病菌种和检测出菌株的多种耐药性才能更好地指导临床医生用药。从理论上来说, 多重 PCR 可以实现多目标的检测, 因此在临床致病菌的诊断研究中, 多重 PCR 的应用研究是一个重要的方向。

3.3.1 葡萄球菌中多种耐药基因的检测 韩国的研究者发展的 4 重 PCR 能够同时检测葡萄球菌中介导 2 种耐药性的 4 个耐药基因: 甲氧西林耐药基因 *mecA*、氨基糖苷类耐药基因 *aac* (6') -*aph* (2''), *aph* (3') -IIIa、*ant* (4') -Ia。结果表明在金黄色葡萄球菌和 CNS 中基因扩增与表型耐药结果的符合率分别是: *mecA* 的基因为 98% 和 81%, *aac* (6') -*aph* (2'') 基因为 100% 和 85%。

也有报道用 9 重 PCR 进行耐药基因检测<sup>[10]</sup>, 检测的金葡菌中 8 个耐药基因介导的对 5 类抗生素的耐药性: *mecA* (甲氧西林耐药), *aacA*-*aphD*

(氨基糖苷类耐药), *tetK* 和 *tetM* (四环素耐药), *erm* (A) 和 *erm* (C) (大环内酯类耐药), *vat* (A)、*vat* (B) 和 *vat* (C) (链阳霉素 A 耐药)。整个多重扩增和分析只需约 6h, 结果也比较特异。

3.3.2 肠球菌中多种耐药基因的检测 作为临床最为常见的革兰阳性球菌之一, 肠球菌同样携带多种耐药基因。仅仅是介导耐药性的基因就有多个, 详见表 1。因此使用多重 PCR (Sergei 等<sup>[11]</sup>) 能够精确检测肠球菌中这些基因的存在。在用 6 重 PCR 检测对庆大霉素耐药水平从低 (MICs,  $\geq 16\mu\text{g/mL}$ ) 到中介到高水平 (MIC range, 128 to  $\geq 500\mu\text{g/mL}$ ) 的肠球菌株时, 基因型与表型方法的结果一致。

3.3.3 多种细菌中的多种耐药基因的检测 有些耐药基因存在于几个细菌种属中, 如编码高水平庆大霉素耐药双功能氨基糖苷类修饰酶 *AAC* (6') -*APH* (2'') 的 *aac* (6') -*Ie-aph* (2'') -Ia 基因, 出现于葡萄球菌和肠球菌等其他菌属中。而介导红霉素耐药的基因 *ermA*、B、C 等也已在葡萄球菌、肺炎链球菌以及肠球菌等菌属中检测到。

Jung-A 等<sup>[12]</sup>用 4 多重 PCR 检测了红霉素耐药菌株中相关的耐药基因 *ermA*、*erm*、*ermC* 和 *mef* 等, 结果发现金葡菌中主要由 *ermA* 介导耐药; 肠球菌中主要由 *ermB* 介导耐药; CNS 中主要由 *ermC* 介导耐药; *mef* 只出现于 CNS 和肠球菌, 而不出现于金黄色葡萄球菌中。

多重 PCR 技术具有能够对多个基因同时检测的特点, 特别适合于临床多指标的检验。但发展多重 PCR 诊断技术也受到一些因素限制: 由于 PCR 产物的检测往往依靠电泳进行, 因此实验设计时需要将扩增的各靶基因片断设计成不同的长度, 以便

表 1 肠球菌重要的耐药基因

耐药基因	介导的耐药性	备注
<i>aac</i> (6') - <i>Ie-aph</i> (2'') - <i>Ia</i>	对高水平庆大霉素耐药	高水平耐药 (MIC $\geq 500\mu\text{g/mL}$ )
<i>aph</i> (2'') - <i>Ib</i>	对庆大霉素耐药	低水平耐药
<i>aph</i> (2'') - <i>Ic</i>	对庆大霉素耐药	中水平耐药 (MIC=256 $\mu\text{g/mL}$ )
<i>aph</i> (2'') - <i>Id</i>	对高水平庆大霉素耐药	高水平耐药 (MIC $\geq 500\mu\text{g/mL}$ )
<i>aph</i> (3') - IIIa	多种氨基糖苷类耐药但不对庆大霉素耐药	低水平耐药
<i>ant</i> (4') - Ia	多种氨基糖苷类耐药但不对庆大霉素耐药	低水平耐药

区分各电泳条带,这对于扩增多个靶基因来说,难度较大。

### 3.4 实时荧光 PCR 在耐药基因检测中的应用

实时荧光 PCR 是根据荧光共振能量转移 (fluorescence resonance energy transfer, FRET) 原理,设计相应的荧光标记核酸探针,通过 PCR 反应对相应靶 DNA 进行均相定性定量测定的技术。与传统的普通 PCR 相比,荧光 PCR 具有灵敏度高、对环境的污染小、可定量等优点。目前该技术也已应用于临床菌株的检测中。Huletsky 等<sup>[13]</sup>设计了非常巧妙的实时荧光多重 PCR 方法,对含有各种混合葡萄球菌的临床标本进行了检测,检测结果能够确定其中的 MRSA。Patrice 等<sup>[14]</sup>利用实时荧光多重 PCR 直接快速检测无菌或有菌区标本的 MRSA,来区分 *mecA* 的信号是来源于金葡菌还是 CNS。

实时荧光多重 PCR 技术具有检测快速、灵敏度高、特异性好以及自动化程度高等优点,因此比较适合临床使用。但该技术检测的临床指标过于单一,远不能满足临床的需要。

### 3.5 基因芯片在耐药基因检测中的应用

DNA 芯片作为高通量检测技术,已经成为分析全转录子组 (cDNA 表达谱芯片) 和 DNA 序列变异 (寡核苷酸芯片) 的工具,尤其适合于检测细菌中多种耐药基因的存在。

**3.5.1 革兰阴性菌中多种耐药基因的检测** DNA 芯片与多重 PCR 结合,可用于多种耐药基因的检测。临床革兰氏阴性细菌,尤其肠杆菌科细菌中,由于超广谱  $\beta$ -内酰胺酶以及头孢菌素酶的流行,导致致病菌对主要的一线常用药  $\beta$ -内酰胺类抗生素高度耐药。因此对介导这些耐药的耐药基因进行检测,有很大的临床意义。Yeonhee 等<sup>[15]</sup>针对常见的超广谱  $\beta$ -内酰胺酶编码耐药基因建立的 DNA 芯片,检测的对象包括 *pse*、*ox*、*fox*、*men*、*cmy*、*tem*、*shv*、*oxy*、*ampC* 等多个耐药基因。

**3.5.2 革兰阳性菌多种耐药基因的检测** 可以用 DNA 芯片检测临床金葡菌中存在的多种 MLSB 耐药相关基因<sup>[16]</sup>: *ermA*、*ermB*、*ermC*、*ereA*、*ereB* 和

*msrA/B* 等 6 个靶基因,覆盖了 98% 的临床 MLSB 耐药性金葡菌耐药基因。

为了建立一种快速和高通量的实用 DNA 芯片技术,以用于临床细菌鉴定和耐药基因检测,还需进行大量的研究来克服目前分子生物学方法应用于临床的不足,如:建立一种简便有效提取临床细菌核酸的方法,建立有效的荧光标记模板方法比如不对称 PCR 标记,以提高杂交效率等。另外,芯片操作自动化和数据处理等问题的解决更是芯片走向临床实用化的关键。

目前,传统的表型检测方法仍然是临床微生物诊断领域的基本手段,分子生物学方法仅仅起到一定程度的补充作用。可以预料,未来随着细菌耐药机制研究的深入和临床资料的积累,细菌基因型与耐药性之间的关系会更加明确,分子生物学方法将会为临床细菌鉴定和耐药性检测尤其是快速检测提供强大支持。

### 【参考文献】

- [1] Wang RF, Beggs ML, Robertson LH, et al. Design and evaluation of oligonucleotide microarray method for the detection of human intestinal bacteria in fecal samples. *FEMS Microbiol Lett*, 2002, 213 (2): 175-182
- [2] Anthony RM, Brown TJ, French GL. Rapid diagnosis of bacteremia by universal amplification of 23S ribosomal DNA followed by hybridization to an oligonucleotide array. *J. Clin. Microbiol*, 2000, 781-788
- [3] Gregory J. Tyrrell, Robert N. Bethune, I Barbara Willey, et al. Species Identification of Enterococci via Intergenic Ribosomal PCR. *journal of clinical microbiology*, 1997, 1054-1060
- [4] Stina B. Roth, Jari Jalava, Olli Ruuskanen, et al. Use of an Oligonucleotide Array for Laboratory Diagnosis of Bacteria Responsible for Acute Upper Respiratory Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 4268-4274
- [5] Shuqiu Cheng, Ferne K. McCleskey, Michael J. Gress, et al. A PCR Assay for Identification of *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1997, 1248-1250
- [6] Franklin R. Cockerill, III. Genetic Methods for Assessing Antimicrobial Resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43

- (2): 199-212
- [7] Jeong J, Chang CL, Park TS, et al. Early Screening of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* from Blood Culture. *J Korean Med Sci*, 2002, 17: 168-172
- [8] Kolbert CP, Connolly JE, Lee MJ, et al. Detection of the *Staphylococcal mecA* Gene by Chemiluminescent DNA Hybridization. *Journal of Clinical Microbiology*, 1995, 2179-2182
- [9] Choi SM, Kim SH, Kim HJ, et al. Multiplex PCR for the detection of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes and methicillin resistance among *Staphylococcus* species. *J Korean Med Sci*, 2003, 18 (5): 631-636
- [10] Birgit Strommenger, Christiane Kettlitz, Guido Werner, et al. Multiplex PCR Assay for Simultaneous Detection of Nine Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 4089-4094
- [11] Sergei B. Vakulenko, Susan M. Donabedian, Anatoliy M. Voskresenskiy. Multiplex PCR for Detection of Aminoglycoside Resistance Genes in Enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, 1423-1426
- [12] Jung-A. Lim, Ae-Ran Kwon, Sook-Kyung Kim, et al. Prevalence of resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in Gram-positive cocci isolated in a Korean hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2002, 49: 489-495
- [13] Huletsky AR, Giroux, V. Rossbach, et al. Vaillancourt, I M. Bernier, New real-time PCR assay for rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from specimens containing a mixture of staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 42 (5): 1875-1884
- [14] Patrice Francois, Didier Pittet, Manuela Bento, et al. Rapid Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Directly from Sterile or Nonsterile Clinical Samples by a New Molecular Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 254-260
- [15] Yeonhee Lee I, Choong-Sik Lee, Yeo-Jung Kim. Development of DNA Chip for the Simultaneous Detection of Various  $\beta$ -Lactam Antibiotic-resistant Genes. *Mol. Cells*, 2002, 14 (2): 192-197
- [16] Volokhov V. Chizhikov K. Chumakov A. Rasooly. Microarray analysis of erythromycin resistance determinants. *J Appl Microbiol*, 2003, 95 (4): 787-798

## 欢迎订阅《中国现代医药杂志》

《中国现代医药杂志》创刊五年来得到医学界有关专家及广大作者、读者的支持和好评，国内刊号 CN 11—5248/R，国际刊号 ISSN 1672—9463。双月刊，大 16 开，80 页，逢双月 25 日出版，国内外公开发行。是中国科技核心期刊（遴选）期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊、中国期刊全文数据库全文收录期刊。

本刊注重论文的实用性和创新性，主要栏目有论著、临床经验、病例报告、综述、急诊经验、误诊误治、讲座、专家论坛、会议（座谈）纪要、临床病理（病例）讨论、教学查房、国内外学术动态及基础医学、预防医学、药学、护理、医技、医院管理等。

除特邀专家撰稿外，真诚欢迎医学院校附属医院、省市级医院、地县级医院、国家部委医院、厂矿企业医院、军队武警公安医院及其他基层医务人员踊跃投稿。本刊刊登周期短、时效快。稿件请寄至北京市 9200 信箱 25 分箱《中国现代医药杂志》编辑部，邮编 100076。

欢迎各图书馆、医疗单位及医护人员积极订阅，国内邮发代号 82—958，全国各地邮局均可订阅，每期 8 元，全年订阅费（含邮资）48 元。编辑部电话：(010) 68383759, 68769107。传真：(010) 88535548。E-mail: Bixiangz2002@263.net。