

ICU 病房血流感染白色念珠菌的多位点序列分型研究

肖玉玲, 谢 轶, 康 梅, 邓 瑶, 何 超, 郭 靛, 陈知行, 陈慧莉, 范 红[△]

四川大学华西医院实验医学科 临床微生物实验室(成都 610041)

【摘要】 目的 调查四川大学华西医院 ICU 病房白色念珠菌血流感染现状,探讨其分子流行病学特征。方法 收集 2009~2011 年四川大学华西医院全院送检的血培养分离所得白色念珠菌。对 ICU 病房血流感染白色念珠菌采用多位点序列分型(multilocus sequencing typing, MLST)分析菌株间的亲缘关系。**结果** 2009~2011 年华西医院送检的血培养标本共分离念珠菌 135 株,以白色念珠菌为主(51 株,37.8%)。进行 MLST 分型的 17 株白色念珠菌来自 ICU 病房的 15 名患者,标本来源包括外周血 15 份,中央静脉导管 2 份(有两名患者分别取外周血和中央静脉导管各 1 份且均培养出白色念珠菌)。17 株菌经 MLST 分型得到 15 个序列型(sequence type, ST),其中 3 株菌具有相同的 ST 型,另外 14 株菌分别具有 14 个不同 ST 型。经聚类分析,5 株菌(29.4%)归为 Group 46 克隆组,2 株菌(11.8%)归为 Group 47 克隆组,其余 10 株菌为单体型。分离自同一患者外周血和中央静脉导管的 2 株菌(Calb-36 和 Calb-40)经 MLST 分型证实是同一克隆株。**结论** 白色念珠菌为华西医院念珠菌血症的首要致病菌。ICU 病房血流感染白色念珠菌的主要流行株属于 Group46 和 Group47 克隆组。我院 ICU 病房目前尚不存在白色念珠菌血流感染的暴发流行,但有导管相关性白色念珠菌血症的感染发生。

【关键词】 侵袭性真菌感染 白色念珠菌 血流感染 多位点序列分析

Multilocus Sequence Typing of *Candida albicans* Bloodstream Isolates in an Intensive Care Unit XIAO Yu-ling, XIE Yi, KANG Mei, DENG Yao, HE Chao, GUO Liang, CHEN Zhi-xing, CHEN Hui-li, FAN Hong[△].

Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: fan85422618@163.com

【Abstract】 Objective Investigate the molecular epidemiological characteristics of bloodstream infections (BSI) due to *Candida albicans* (*C. albicans*) in the intensive care unit (ICU) of West China Hospital, Sichuan University. **Methods** *C. albicans* isolates recovered from blood cultures in West China Hospital, Sichuan University between 2009 and 2011 were collected. Multilocus sequence typing (MLST) was performed to assess the genetic relationships among BSI isolates of *C. albicans* collected from the ICU. **Results** 135 BSI isolates of *Candida* species were obtained from 2009 to 2011. *C. albicans* was the leading pathogen (51 isolates, 37.8%). 17 *C. albicans* BSI isolates from 15 patients of ICU were analyzed by MLST. Among the 17 isolates, 15 were recovered from peripheral blood and 2 from central venous catheters (CVC) (Peripheral blood and CVC were sent for culture and both had positive results for 2 patients). The 17 isolates yielded 15 unique sequence types (STs) by MLST. While 14 STs were each derived from a single isolate, 1 STs were shared by 3 isolates. 5 (29.4%) isolates were clustered within Group 46, 2 (11.8%) isolates were clustered within Group 47, and 10 isolates (58.8%) typed as singletons. The strains (Calb-36 and Calb-40) recovered from one blood sample and one CVC from one patient were indistinguishable by MLST, while two distinct strains were found in one blood sample and one CVC from another patient. **Conclusion** *C. albicans* was the most frequently isolated species of candidemia in West China Hospital. Predominant strains of *C. albicans* caused BSI in the ICU belonged to Group 46 and Group 47. There was not yet an outbreak of BSI caused by *C. albicans*, but catheter-related candidemia was confirmed by our research.

【Key words】 Invasive fungal infection *Candida albicans* Bloodstream infection Multilocus sequence typing

念珠菌血症是侵袭性真菌感染中最常见最严重的感染类别之一,占医院血流感染的第 4 位(8%~10%),病死率高达 40%,其中以白色念珠菌感染率最高(45.6%)^[1-3]。白色念珠菌血症既可由入院前

患者体内定植株引起,也可由医院获得性菌株导致^[4-7]。研究发现导致血流感染的白色念珠菌具有明显的地区差异和地域集中性^[4]。ICU 病房患者因具有发生侵袭性真菌感染的多种危险因素如免疫低下、大量使用广谱抗生素、侵入性治疗措施、住院时间长等而成为白色念珠菌血症的高发人群。分子

[△] 通讯作者, E-mail: fan85422618@163.com

生物学分型方法追踪 ICU 病房血流感染的白色念珠菌对于流行病学调查和院内感染监控具有重要意义。然而,就目前的研究资料来看,对白色念珠菌分子流行病学调查的数据还很少,特别是对特定医疗单元(如 ICU 等)分离菌株的集中分子分型更为缺乏。本研究调查了四川大学华西医院 2009~2011 年血液标本中分离的真菌情况,并对 ICU 医疗单元分离的白色念珠菌进行了进一步分子同源性研究,拟从基因背景角度为临床提供更多的分子生物学信息。

1 材料和方法

1.1 菌株来源

临床分离菌株:本研究收集了 2009~2011 年四川大学华西医院全院送检的血培养分离所得白色念珠菌。

质控菌株:白色念珠菌 ATCC90028,为本实验室保藏的标准菌株。

1.2 菌株鉴定

采用 VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统(VITEK2 酵母菌鉴定卡 YST 21343)或 API 20C AUX 酵母菌鉴定试剂盒,按照厂家操作说明对全院血培养分离白色念珠菌进行鉴定。

1.3 ITS1-5.8S-ITS2 序列分析

用 ITS1-5.8S-ITS2 序列分析方法对上述仪器鉴定结果进行确认。DNA 提取参照 Biospin 真菌 DNA 提取试剂盒说明书进行操作。提取所得 DNA 测定浓度后进行 PCR 或于 -20 °C 保存备用。PCR 扩增 ITS1-5.8S-ITS2 区域所用引物为 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')。PCR 反应

体系(50 μ L)为 2 \times PCR mix 25 μ L, ddH₂O 19 μ L, ITS1 2 μ L, ITS4 2 μ L, DNA 模板 2 μ L。PCR 扩增条件为 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 45 s, 55 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 60 s, 循环 35 次, 72 °C 延伸 7 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳验证后送 Invitrogen(上海)贸易有限公司进行测序,获得的 DNA 序列与 BLAST 数据库(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)中的 DNA 序列进行比对,根据相似性完成鉴定。

1.4 药敏试验

采用 ATB FUNGUS3 酵母样真菌药敏试剂盒(微量稀释法)和 ATB expression 微生物药敏分析仪,按照厂家操作说明完成全院血培养分离白色念珠菌的药敏试验(伊曲康唑、两性霉素 B、氟康唑、伏立康唑、5-氟胞嘧啶)。采用琼脂稀释法测定卡泊芬净对白色念珠菌的最低抑菌浓度(MIC 值)。参照 CLSI M27-A3 标准判断药敏结果^[8]。质控菌株:白色念珠菌 ATCC90028。

1.5 多位点序列分析(multilocus sequence typing, MLST)

对 ICU 病房血培养分离的白色念珠菌进行 MLST 分析。所使用的白色念珠菌 7 个看家基因及引物见表 1。

PCR 反应体系(50 μ L)为 2 \times PCR mix 25 μ L, ddH₂O 19 μ L, 正向引物 2 μ L, 反向引物 2 μ L, DNA 模板 2 μ L。PCR 扩增条件为 93 °C 预变性 5 min, 93 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 60 s, 72 °C 延伸 60 s, 循环 30 次,最后 72 °C 延伸 4 min。PCR 产物经电泳验证后,送至 Invitrogen(上海)贸易有限公司进行测序。将所得到的白色念珠菌 7 个看家基因核酸扩增片段 DNA 序列在白色念珠菌 MLST 数据库

表 1 白色念珠菌 MLST 7 个看家基因位点及引物

Table 1 The seven loci and the primers used for the consensus *C. albicans* MLST

Locus	Amplicon size (bp)	Sequenced fragment size (bp)	Primer
AAT1a	478	349	Fwd 5'-ACTCAAGCTAGATTTTTGGC-3' Rev 5'-CAGCAACATGATTAGCCC-3'
ACC1	519	407	Fwd 5'-GCAAGAGAAAATTTAATTCAATG-3' Rev 5'-TTCATCAACATCATCCAAGTG-3'
ADP1	537	443	Fwd 5'-GAGCCAAGTATGAATGATTTG-3' Rev 5'-TTGATCAACAAACCCGATAAT-3'
MPIb	486	375	Fwd 5'-ACCAGAAATGGCCATTGC-3' Rev 5'-GCAGCCATGCATTCAATTAT-3'
SYA1	543	391	Fwd 5'-AGAAGAATTGTTGCTGTTACTG-3' Rev 5'-GTTACCTTTACCACCAGCTTT-3'
VPS13	741	403	Fwd 5'-TCGTTGAGAGATATTCGACTT-3' Rev 5'-ACGGATGGATCTCCAGTCC-3'
ZWF1b	702	491	Fwd 5'-GTTTCATTTGATCCTGAAGC-3' Rev 5'-GCCATTGATAAGTACCTGGAT-3'

(<http://test1.mlst.net>) 中进行分析, 获得菌株每个看家基因位点的等位基因数值, 按照前人研究所述将 7 个数值组合后进而确定白色念珠菌临床分离株的序列分型(sequence type, ST)^[9-10]。在确定 ST 的基础上应用网站所提供的 eBURST 软件将菌株进行同源性分析。同时, 应用 NTSYS-PC 软件采用非加权组平均法(unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA)对所检测白色念珠菌的 ST 结果进行遗传聚类分析, 绘制树状聚类图。

2 结果

2.1 血流感染念珠菌的菌种分布

2009~2011 年四川大学华西医院送检的血培养标本共分离真菌 156 株(含中央静脉导管 11 株), 其中念珠菌 135 株(86.5%), 以白色念珠菌为主(51 株, 37.8%, 图 1)。将 2010~2011 年数据与 2009~2010 年进行比较, 血培养标本分离所得白色念珠菌由 13 株增加至 38 株, 其分离率呈现明显上升趋势。

2.2 ICU 病房血流感染白色念珠菌的临床情况分析

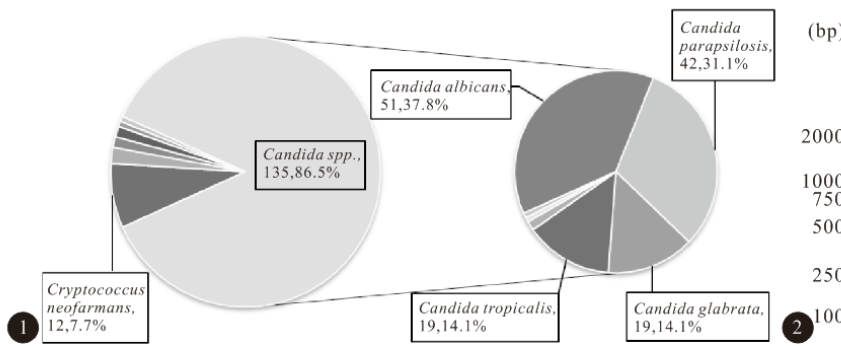


图 1 2009~2011 年华西医院血标本分离真菌的菌种分布

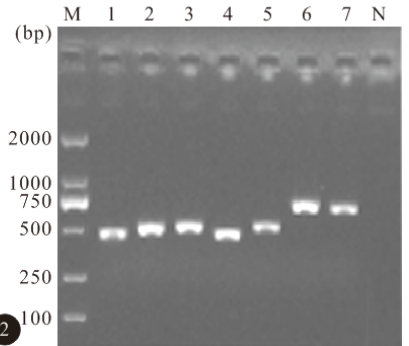


图 2 白色念珠菌 MLST 7 个看家基因扩增结果

Fig 1 Fungi isolated from blood cultures in West China Hospital (2009-2011)

Fig 2 Amplified bands of the seven loci used for the consensus *C. albicans* MLST (1-7: AAT1a, ACC1, ADP1, MPIb, SYA1, VPS13 and ZWF1b; M: DL 2000 DNA marker; N: Negative control)

收集 2009~2011 年华西医院 ICU 病房血培养(包括外周血 15 份, 中央静脉导管 2 份)分离的来自 15 例患者的白色念珠菌 17 株(有 2 例患者分别取外周血和中央静脉导管各 1 份且均培养出白色念珠菌)。经过生化鉴定、ITS 序列分析确认为白色念珠菌, 药敏试验结果显示其中 2 株对氟康唑表现为中介或耐药(I/R), 5 株对伊曲康唑表现 I/R, 2 株对伏立康唑表现 I/R, 1 株对 5-氟胞嘧啶表现耐药(R), 所有菌株对两性霉素 B 和卡泊芬净敏感(S)(卡泊芬净 MIC 值范围: 0.25~1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。

2.3 ICU 病房血流感染白色念珠菌的 MLST

白色念珠菌 AAT1a、ACC1、ADP1、MPIb、SYA1、VPS13 和 ZWF1b 7 个看家基因片段的琼脂糖凝胶电泳所示结果与预期结果一致且条带清晰, 无非特异性条带(图 2)。

纳入的 17 株血流感染白色念珠菌中, Calb-31 和 Calb-29 两株菌存在新等位基因序列。其中 Calb-31 在 ADP1 位点存在新的等位基因序列, Calb-29 在 VPS13 位点存在新的等位基因序列, 提交至 MLST 数据库后获得的数值分别为 ADP1-121、VPS13-121。ST 结果显示, ICU 分离 17 株血

流感染白色念珠菌分属 15 个 ST 型, 均为新发现的 ST 型, 提交 MLST 数据库后命名为 ST2048~ST2062, 其中 Calb-21、Calb-36、Calb-40 三株菌具有相同的 ST 型即 ST-2053, 其余 14 株菌分别具有 14 个不同的 ST 型。见表 2。

应用 eBURST 程序进行同源性分析结果显示, ST-2051、ST-2053、ST-2056 这 3 种 ST 型归为 Group46 克隆组, 以 ST-2053 为中心, 包含 Calb-16、Calb-21、Calb-29、Calb-36 和 Calb-40 五株菌; ST-2048 和 ST-2049 归为 Group47 克隆组, 以 ST-2049 为中心, 包含 Calb-1 和 Calb-2 两株菌; 其余 ST 型为 Singletons, 即单体型。此外, 数据库中先前为单型型的 ST-1514 也归为 Group47(图 3)。

使用 NTSYS-PC 软件进行遗传聚类分析显示, 所检测念珠菌分为 10 个克隆组, 以 M1~M10 命名, 其中 M1 组 8 株菌可分为 3 个亚组, 分别对应 eBURST 分析的 Group46 (Calb-16、Calb-21、Calb-36、Calb-40 和 Calb-29)、Group47 (Calb-1、Calb-2) 和一个单体型 ST-2054 (Calb-22), 其余 9 株菌分属 M2~M10 组(图 4)。

表 2 ICU 17 株白色念珠菌 MLST 的 ST 型结果和 7 个看家基因等位基因数值

Table 2 STs and allele numbers of 17 *C. albicans* BSI isolates from ICU

No.	Isolate No.	Source	Date	ST	AAT1a	ACC1	ADP1	MPIb	SYA1	VPS13	ZWF1b
1	Calb-1	PB	2009-11-28	2048	77	7	6	9	34	45	161
2	Calb-2	PB	2010-04-29	2049	77	7	6	9	34	45	12
3	Calb-6	PB	2010-07-06	2050	14	13	26	9	116	55	35
4	Calb-16	PB	2011-02-06	2051	24	7	6	9	34	45	35
5	Calb-18	PB	2011-02-21	2052	13	7	6	4	147	55	60
6	Calb-21	PB	2011-04-12	2053	24	7	6	9	34	45	60
7	Calb-22	PB	2011-04-18	2054	33	7	6	14	34	45	60
8	Calb-23	PB	2011-04-18	2055	3	3	2	4	2	58	20
9	Calb-29	PB	2011-05-22	2056	24	7	6	9	34	<u>121</u>	60
10	Calb-30	PB	2011-07-03	2057	4	7	6	14	76	<u>42</u>	12
11	Calb-31	PB	2011-07-09	2058	13	43	<u>121</u>	4	34	55	161
12	Calb-41	CVC	2011-07-09	2061	13	13	6	4	34	55	12
13	Calb-33	PB	2011-07-29	2059	13	3	6	9	147	58	60
14	Calb-35	PB	2011-08-16	2060	4	8	26	19	53	13	22
15	Calb-36	PB	2011-08-22	2053	24	7	6	9	34	45	60
16	Calb-40	CVC	2011-08-22	2053	24	7	6	9	34	45	60
17	Calb-44	PB	2011-10-24	2062	13	9	6	114	147	55	68

PB: Peripheral blood; CVC: Central venous catheter; { : Strains from the same patient; Underlined figures indicate new alleles

Group 46: No. Isolates = 3 | No. STs = 3 | Predicted Founder = 2053

ST	FREQ	SLV	DLV	TLV	SAT	Average Distance	ST Bootstrap Group	Subgroup
2053	1	2	0	0	0	1.0	31%	0%
2056	1	1	1	0	0	1.5	0%	0%
2051	1	1	1	0	0	1.5	0%	0%

Group 47: No. Isolates = 3 | No. STs = 3 | Predicted Founder = 2048

ST	FREQ	SLV	DLV	TLV	SAT	Average Distance	ST Bootstrap Group	Subgroup
2049	1	2	0	0	0	1.0	31%	0%
2048	1	1	1	0	0	1.5	0%	0%
1514	1	1	1	0	0	1.5	0%	0%

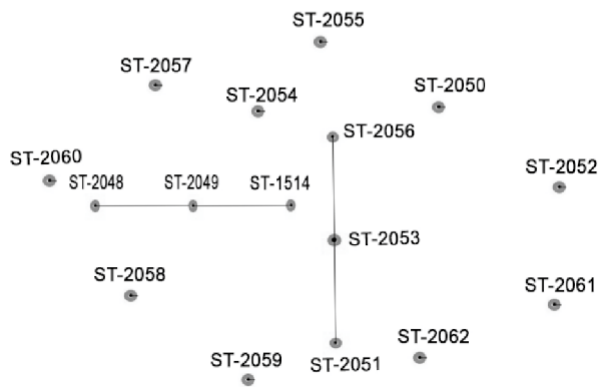


图 3 eBURST 分析 17 株白色念珠菌的 MLST 分型结果

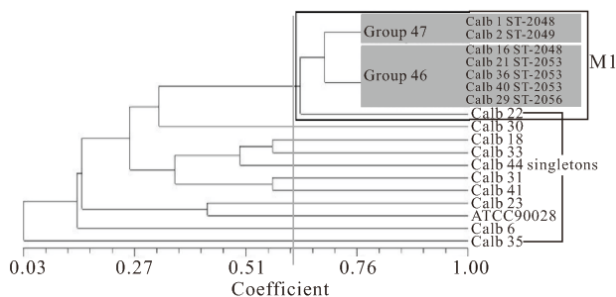
Fig 3 eBURST analysis of MLST data for the 17 *C. albicans* isolates

图 4 17 株白色念珠菌 MLST 分型结果的遗传聚类分析树状图

Fig 4 UPGMA dendrogram based on MLST data for the 17 *C. albicans* isolates and their group assignments

3 讨论

白色念珠菌侵袭性和毒力强,在免疫缺陷患者和重症患者中极易导致机会性血流感染,其病死率高,是目前临床面临的重大难题和挑战^[2, 3]。本研究对华西医院 2009~2011 年的真菌血症进行分析,结果显示白色念珠菌为真菌血症的首要致病菌。

本研究对来源于 ICU 病房的 17 株白色念珠菌进行 MLST 分型,分析 7 个看家基因的检测结果显示 AAT1a 和 ZWF1b 位点最具多态性,分别检测出 8 种不同的等位基因,ADP1 位点最缺乏多态性,仅检测出 4 种不同的等位基因。MLST 结果经 eBURST 进行分析可分为 Group46(5 株)、Group47(2 株)和 Singletons(10 株)。遗传聚类分析树状图显示 Group46、Group47 及 Calb-22 属于 M1 组,其余 9 株菌属于独立组别。分子分型和同源性分析结果表明我院 ICU 病房血流感染白色念珠菌的主要流行株属于 Group 46 和 Group 47 克隆组。医院感染暴发是指在医疗机构或其他科室的患者中,短时间内发生 3 例以上同种同源感染病例的现象^[11]。在本研究中,由相同基因型菌株导致的 ICU 病房白色念珠菌血症的病例在时间分布上不集中,属于散发,依据上述定义,不属于医院感染暴发流行的范畴,故 ICU 病房尚不存在白色念珠菌血流感染暴发流行。此外,分析来自同一患者外周血和中央静脉导管的 2 株菌(Calb-36 和 Calb-40),MLST 分型证实是同一克隆株,该患者可诊断为导管相关性白色念珠菌血流感染。而来源于另一患者外周血和中央

静脉导管的2株菌(Calb-31和Calb-41),MLST分型不一致,分别为ST-2058和ST-2061,为不同克隆株,说明该患者在感染过程中菌株出现了变异或者存在种内菌群转化。Da Matta等^[12]用MLST对来自8个患者的21株血流感染白色念珠菌进行分析也发现类似结果,除了1例患者,其余由同一患者分离的菌株均表现为相同的ST型,而这例患者相继10 d 7份样本所分离的菌株被分为3种ST型。

目前,关于白色念珠菌MLST分型的研究表明,白色念珠菌作为一种二倍体酵母,由于缺乏完整的有性生殖周期,其维持遗传多样性的机制有所不同。这些机制以克隆性生殖方式为基础,包括染色体多态性、有丝分裂重组、杂合性的获得和丢失。白色念珠菌的MLST分子分型结果显示出不清晰的地理进化联系,可能与广泛的人群迁移有关。同时,从每个独立患者分离的白色念珠菌通常表现为一种单独的ST型,菌株之间存在微小变异,众多微小变异的相似菌株又构成同源复合群^[9,13-15]。全球白色念珠菌MLST数据库(<http://test1.mlst.net>)分型资料显示,2146株白色念珠菌检测出2057个ST型,而我们的研究来自15个患者的17株白色念珠菌中检测出15个ST型,且为此前未发现的新ST型,也印证了这一结论。根据定义,包含10个以上相似ST型的克隆组可称为同源复合群^[13,14],目前MLST数据库中菌株构成20个同源复合群,86个克隆组,其余为704个单体型。我们所获得的15个ST型可构成两个新的克隆组Group46和Group47,其中Group47以ST-2049为中心,此前为单型型的ST-1514也归于此克隆组,可见本研究对白色念珠菌MLST数据库进行了一定的补充和完善。欧洲和韩国的相关研究显示,分别有79%和34%的血流感染白色念珠菌属于5个主要的同源复合群^[13,16],与之相比,我们的菌株均不属于此列,显示出地区差异。

总之,白色念珠菌为真菌血症的首要致病菌,而ICU病房患者因具有多种危险因素而成为白色念珠菌血症的高发人群,是院内感染监控的重点对象。通过对ICU病房血流感染白色念珠菌进行分型研究获取分子流行病学资料,判断在此高危人群中是否存在感染的暴发流行,分析传播方式,对于院内感染控制具有重要意义。我们应在此研究基础上继续扩大样本数量,并对定植株和引起浅部感染的菌株进行分析,进一步探讨不同地区不同来源菌株的亲缘关系和进化特点,以实现白色念珠菌更加广泛和

深入的临床流行病学研究。

参 考 文 献

- 1 Miceli MH, Diaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis*, 2011;11(2):142-151.
- 2 Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis*, 2009;48(12):1695-1073.
- 3 Schmid J, Tortorano AM, Jones G, et al. Increased mortality in young candidemia patients associated with presence of a *Candida albicans* general-purpose genotype. *J Clin Microbiol*, 2011;49(9):3250-3256.
- 4 Pfaller MA, Lockhart SR, Pujol C, et al. Hospital specificity, region specificity, and fluconazole resistance of *Candida albicans* bloodstream isolates. *J Clin Microbiol*, 1998;36(6):1518-1529.
- 5 Shin JH, Og YG, Cho D, et al. Molecular epidemiological analysis of bloodstream isolates of *Candida albicans* from a university hospital over a five-year period. *J Microbiol*, 2005;43(16):546-554.
- 6 Viviani MA, Cogliati M, Esposto MC, et al. Four-year persistence of a single *Candida albicans* genotype causing bloodstream infections in a surgical ward proven by multilocus sequence typing. *J Clin Microbiol*, 2006;44(1):218-221.
- 7 Waggoner-Fountain LA, Walker MW, Hollis RJ, et al. Vertical and horizontal transmission of unique *Candida* species to premature newborns. *Clin Infect Dis*, 1996;22(5):803-808.
- 8 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. 3rd edition. Approved standard CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
- 9 Bounoux ME, Morand S, d'Enfert C. Usefulness of multilocus sequence typing for characterization of clinical isolates of *Candida albicans*. *J Clin Microbiol*, 2002;40(4):1290-1297.
- 10 Tavanti A, Gow NA, Senesi S, et al. Optimization and validation of multilocus sequence typing for *Candida albicans*. *J Clin Microbiol*, 2003;41(8):3765-3776.
- 11 李六亿. 医院感染暴发的调查与控制. 见:李六亿,刘玉树主编. 医院感染管理学. 第1版. 北京:北京大学医学出版社, 2010:40-41.
- 12 Da Matta DA, Melo AS, Guimarfies T, et al. Multilocus sequence typing of sequential *Candida albicans* isolates from patients with persistent or recurrent fungemia. *Medi Mycol*, 2010;48(5):757-762.
- 13 Odds FC, Bounoux ME, Shaw DJ, et al. Molecular phylogenetics of *Candida albicans*. *Eukaryot Cell*, 2007;6(6):1041-1052.
- 14 Odds FC, Jacobsen MD. Multilocus sequence typing of pathogenic *Candida* species. *Eukaryot Cell*, 2008;7(7):1075-1084.
- 15 Odds FC. Molecular phylogenetics and epidemiology of *Candida albicans*. *Future Microbiol*, 2010;5(1):67-79.
- 16 Shin JH, Bounoux ME, d'Enfert C, et al. Genetic diversity among Korean *Candida albicans* bloodstream isolates: assessment by multilocus sequence typing and restriction endonuclease analysis of genomic DNA by use of *BssH II*. *J Clin Microbiol*, 2011;49(7):2572-2577.

(2012-02-22收稿,2012-06-04修回)

编辑 余琳