· 调查报告与分析 ·

海南省脑膜炎奈瑟菌多位点序列分型研究*

王少玲，李丹丹，黄雅靖，吴捷，叶浩然，莫少雄，曾祥洁，马焱

摘　要：目的　了解海南省脑膜炎奈瑟菌（*Nm*）的分子分型特征。**方法**　采用多位点序列分析（MLST）技术，对 2005—2015 年海南省流行性脑脊髓膜炎（ECM）病人、密切接触者和健康带菌者样本中分离到的 16 株 *Nm* 和 1 份脑脊液样本进行核酸序列分析。**结果**　17 份样本共分为 11 种不同的 *Nm* ST 型别，分属于 ST-4821、ST-11、ST-5、ST-175、ST-364 克隆群和 5 个无序列群分类（UA），其中前 3 个克隆群为高致病性克隆群，分别占 29.41%（5 株）、17.65%（3 株）、5.88%（1 株）。ST-4821 克隆群有 ST-4821 型和 ST-3200 型。ST-4821 型来自 3 例 C 群 ECM 病例和 1 株不可分群密切接触者。ST-3200 型来自 2005 年的 C 群健康带菌者。ST-11、ST-5 克隆群分别只有 W135 群的 ST-11 型和不可分群的 ST-7 型，均来自健康带菌者。B 群 5 株有 5 种 ST，其中 ST-11127 型和 ST-11134 型为新发现的 ST，2015 年海口市首例 B 群病人是 ST-7962 型，与 2010 年分离自儋州市 ECM 密切接触者的 B 群 ST-11127 型同源，均为 UA，其他不同基因群序列型相互间进化关系较远。**结论**　海南省 *Nm* 分子型别具有基因多样性，*Nm* C 群 ST-4821 型是优势序列群。健康人群中携带有高致病性克隆群菌株。

关键词：脑膜炎奈瑟菌；多位点序列分型；流行性脑脊髓膜炎

中图分类号：R 515.2　**文献标志码：**A　**文章编号：**1001-0580(2017)02-0306-05　DOI：10.11847/zgggws2017-33-02-36

Multilocus sequence typing of *Neisseria meningitidis* strains isolated in Hainan province

WANG Shao-ling, LI Dan-dan, HUANG Ya-jing, et al. (*Department of Microorganism Detection, Central Laboratory, Hainan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Haikou, Hainan Province* 570203, China)

Abstract: Objective　To assess molecular characteristics of *Neisseria meningitidis* (*Nm*) strains isolated in Hainan province. **Methods**　Multilocus sequence typing (MLST) technique was used to analyze 17 *Nm* strains isolated from epidemic cerebrospinal meningitis (ECM) patients, contactors and healthy carriers in Hainan province between 2005 and 2015. **Results**　The 17 isolates were categorized into 11 different sequence types (STs) belonging to ST-4821, ST-11, ST-5, ST-175, ST-364 clonal complex, and 5 unassigned clonal complexes. Among the 11 clonal complexes, ST-4821, ST-11, and ST-5 belongs to highly pathogenic clonal cluster, accounting for 29.41% (5/17), 17.65% (3/17), and 5.88% (1/17) of all isolated strains. The ST-4821 clonal complex was identified with ST-4821 and ST-3200 STs, the former was isolated from three ECM cases of group C and a close contact of an unserotyped case and the latter was isolated from healthy carriers of *Nm* serogroup C in 2005. The ST-11 and ST-5 clonal complex were isolated from healthy carriers of *Nm* serogroup W135 of STs 11 and unserotyped *Nm* of ST-7. The 5 isolated strains of serogroup B presented 5 different STs (ST-7962, ST-8209, ST-5615, ST-11127, and ST-11134), of which, ST-11127 and ST-11134 were newly identified STs; the strain with STs of ST-7962 isolated from one patient in 2015 and the strain of ST-11127 isolated from a close contact of ECM in 2010 were homological and belonging to unassigned complex sequence types. The strains with other sequence types showed no close evolutionary relationship with each other. **Conclusion**　The molecular sequence types of *Nm* isolated in Hainan province are diverse. ST-4821 clonal complex is a predominant sequence type in Hainan province. Highly pathogenic *Nm* strains are prevalent in healthy population of Hainan province.

Key words: *Neisseria meningitidis*; multilocus sequence typing; epidemic cerebrospinal meningitis

流行性脑脊髓膜炎（epidemic cerebrospinal meningitis, ECM），是由脑膜炎奈瑟菌（*Neisseria meningitidis*, *Nm*）引起的急性呼吸道传染病，具有起病急、病情发展快和病死率高的特点[1]。*Nm* 的主要毒力因子是荚膜多糖，根据其特征，*Nm* 可分为 12 个血清群（A、B、C、E、H、I、K、L、X、Y、Z 和 W135）[2]，大多数感染菌株为 A、B、C、Y、W135 血清群，并以 C 群毒力最强[3]。中国大陆目前主要流行的 *Nm* 群是 C 群 ST-4821[4-8]，是国际上引起 ECM 流行的第 7 个具有高致病性的 C 群菌株亚群[3]，此序列群造成安徽省 2003—2005 年 ECM 爆发、流行[6,9]。海南省自 2010 年开始有确诊 C 群 ECM 病例，2012 年和 2013 年的 ECM 病例均由 C 群 *Nm* 引

* **基金项目：**海南省自然科学基金（814339）；海南省卫计委资助项目（琼卫 2013 资助 -057 号）；国家科技重大专项课题（2013ZX10004 -203 -002 -006）

作者单位：海南省疾病预防控制中心检验检测所微生物检验科，海口 570203

作者简介：王少玲（1966 -），女，海南文昌人，副主任技师，本科，主要从事微生物细菌检验工作。

通讯作者：马焱，E-mail：dumayan@163.com

数字出版日期：2016 -7 -19 9:14

数字出版网址：http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20160719.0914.002.html

起;2015 年首次确诊由 B 群 *Nm* 引起的 ECM 病例。为了解海南省 *Nm* 的分子分型特征,本研究收集 2005—2015 年海南省健康人群 *Nm* 监测分离株、ECM 病例及其密切接触者分离株进行多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST),现将结果报告如下。

1　材料与方法

1.1　菌株来源　收集海南省 2005—2015 年 *Nm* 样本共 17 份,其中 ECM 病例分离株 3 株,脑脊液标本 1 份,密切接触者分离株 2 株,健康人群 *Nm* 监测阳性分离株 11 株。

1.2　主要试剂及仪器　普通巧克力平板、血平板(广东环凯微生物有限公司);*Nm* 鉴定卡(法国生物梅里埃公司);*Nm* 诊断血清(美国 REMEL 公司);细菌基因组 DNA 试剂盒(QIAamp DNA Mini Kit 和 QIAamp DNA Blood Mini Kit,德国 QIAGEN 公司);Taq 及 Ex Taq DNA 聚合酶(5 U/μL)、DL 2 000 Marker(大连 TaKaRa 宝生物公司);琼脂糖(西班牙 Biowest 公司);核酸染料(北京赛百盛公司);Tpersonal PCR 仪(德国 Biometra 公司),EPS-300 电泳仪(上海天能科技有限公司);Gel Doc XR + 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。*Nm* 普通聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)引物参照标准[10]合成,MLST 分型引物参照 PubMLST 数据库 http://pubmlst.org/neisseria/imformation 合成 7 个管家基因 abcZ、adk、aroE、fumC、gdh、pdhC、pdm 的 PCR 扩增引物和测序引物,引物合成和测序均由上海生工生物工程公司完成。

1.3　方法

1.3.1　菌株的复苏鉴定　将保存于 −80 ℃冰箱的脱脂牛奶管菌株接种巧克力平板,37 ℃ 5% CO_2 培养 24 ~ 48 h,挑取单个疑似菌落分离纯培养物供生化鉴定和血清学分群,按 WS 295-2008 流行性脑膜炎奈瑟菌诊断标准[10]判定结果。

1.3.2　细菌 DNA 的提取　生化反应符合者按细菌 DNA 提取试剂盒说明书严格操作,脑脊液样本按 QIAamp DNA Blood Mini Kit 试剂盒说明书提取 DNA。提取 DNA, −20 ℃保存用于 PCR 检测和 MLST 分型。

1.3.3　细菌菌株 PCR 复核鉴定　PCR 扩增 *Nm* 属特异性基因 crgA 和 A、B、C、Y、W135 不同群的特异性基因片段,确定不同菌株的基因型。反应总体积 25 μL,包括 10X Buffer2.5 μL,2.5 mmol/L dNTP 2 μL,10 μmol/L 上下游引物各 1 μL,TaqDNA 聚合酶 0.5 μL,灭菌超纯水 16 μL,模板DNA 2 μL。反应条件:95 ℃预变性 3 min,92 ℃变性 30 s,55 ℃退火 40 s,72 ℃延伸 30 s,共 37 个循环,72 ℃延伸 40 s。扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳,方法同文献[11]。

1.3.4　MLST　将提取的 DNA 进行 7 个管家基因的 PCR 扩增,反应总体积 50 μL,包括 10X Ex Taq Buffer 5 μL,2.5 mmol/L each dNTP Mixture 1μL,10 μmol/L 上下游引物各 1μL,Ex Taq DNA 聚合酶 0.25 μL,灭菌超纯水 40.75 μL,混匀后分装每管各 24 μL,模板 DNA 1μL。反应条件:94 ℃预变性 2 min,94 ℃变性 1 min,58 ℃退火 1 min,72 ℃延伸 1 min,共 35 个循环,72 ℃延伸 2 min。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶,方法同文献[11],有单一阳性条带的产物,由上海生工纯化后用相应的测序引物进行双向测序。登陆 PubMLST 数据库下载 *Nm* 的 7 个管家基因的标准序列,使用 DNA Star 的 SeqMan 软件将双向测序结果拼接并加入相应基因的一个标准序列与之比对,截取与标准序列等长的待分析序列提交到 PubMLST 数据库 http://pubmlst.org/neisseria/sequence 进行分析,获取该序列的等位基因号,若与 PubMLST 数据库不能完全比对上的,将序列及测序文件递交至数据库以获得新的命名。每株菌株获得 7 个管家基因的等位基因号后按顺序排列形成等位基因谱,再次提交 PubMLST 数据库获取该菌株的序列型(sequence type, ST)及所属的 ST 克隆群。若等位基因谱中有 1 个新的等位基因号,则提交菌株的等位基因谱和相关的菌株信息到官方数据库以获取新的 ST 型别号。

1.4　序列分析　参考文献[12]和查询 PubMLST 数据库中相关序列型信息,下载国际上 7 个高致病性 *Nm* 序列群的主要流行株等位基因谱作参照,结合海南省的序列型,采用 Splits Tree 4.0 软件制作进化树,分析海南省 *Nm* 变化趋势。

2　结　果

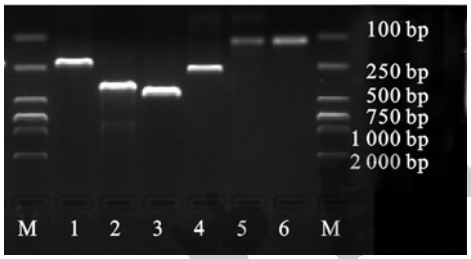
2.1　菌株血清学分群(表 1)　对收集的 17 份样本进行复苏,结果除了 2005 年 1 株、2009 年的 3 株菌株未能复苏,1 份脑脊液未能检出 *Nm* 外,其他 12 株分离株经鉴定均为 *Nm*,其中 3 株为 B 群、2 株为 C 群、2 株为 Y 群、2 株为 W135 群、3 株为不可分群。

2.2　基因群分布(表 1、图 1)　除了 2 株血清学不可分群株经普通 PCR 分群为 B 群和 C 群各 1 株,1 份脑脊液 PCR 分群为 C 群外,其他 14 株菌株 PCR 分群与血清学分群结果一致(其中 1 株健康人群 2005 年阳性样本由中国疾病预防控制中心检测)。

表 1　海南省 2005—2015 年 *Nm* 来源分群情况

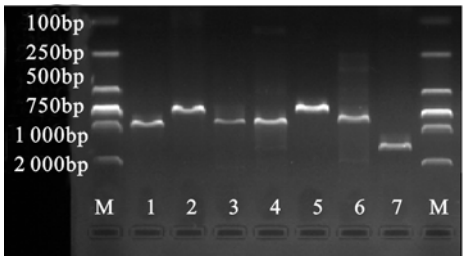
年份（年）	菌株数量	菌株来源			血清学分群					普通 PCR 基因分群				
		病例	密切接触者	健康人群	B	C	Y	W135	不可分群	B	C	Y	W135	不可分群
2005	1	0	0	1	0	1[a]	0	0	0	0	1[a]	0	0	0
2009	3	0	0	3	1[b]	1[b]	0	1[b]	0	1[d]	1[d]	0	1[d]	0
2010	5	1	1	3	2	1	0	1	1	3	1	0	1	0
2012	6	1	1	4	0	1	2	1	2	0	2	2	1	1
2013	1[c]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
2015	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
合计	17	4	2	11	4	4	2	3	3	5	6	2	3	1

注：a 2005 年上送中国疾病预防控制中心鉴定结果，编号为 C104；b 2009 年上送中国疾病预防控制中心鉴定结果，编号分别为 B165、A103、B035；c 脑脊液标本 1 份；d 2009 年提取的核酸检测。



注：M：Marker；1：crgA；2：A 群阳性对照；3：B 群（B165）分离株；4：C 群（A103）分离株；5：Y 群阳性对照；6：W135 群（B035）分离株。

图 1　A、B、C、Y、W135 群 *Nm* PCR 扩增

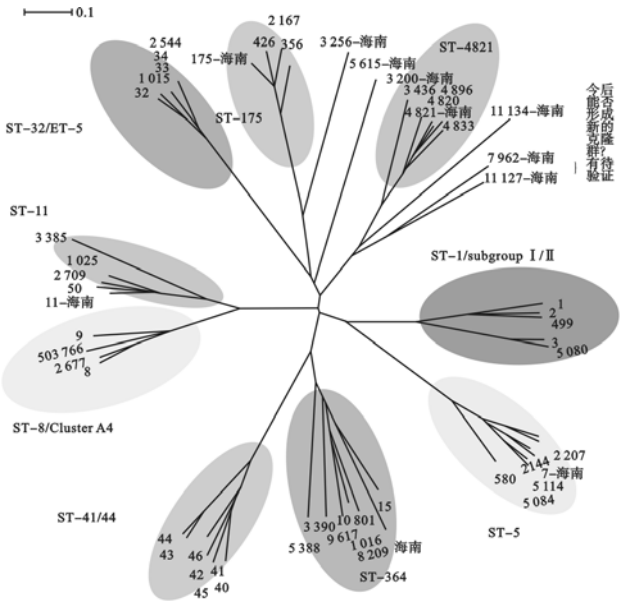


注：M：Marker；1：abcZ；2：adk；3：aroE；4：fumC；5：gdh；6：pdhC；7：pgm。

图 2　7 个管家基因扩增结果

2.3　MLST 分型（表 2、图 2）　除了 1 株 B 群健康带菌者分离株的 aroE 基因换用测序引物扩增才成功，其他的样本均能成功扩增出 abcZ、adk、aroE、fumC、gdh、pdhC、pgm 7 个管家基因，片段大小分别为 900、730、780、800、680、770、1 200 bp。17 株菌株共分为 11 种不同 ST，B 群 5 株 *Nm* 有 5 种 ST，其中 ST-11127 型和 ST-11134 型为新发现的 ST；C 群 6 株 *Nm*（包括标本）有 3 种 ST；Y 群 2 株、W135 群 3 株、不可分群 1 株 *Nm* 均为 1 种 ST。除了 1 株 C 群、3 株 B 群健康带菌者分离株和 1 株 B 群病例分离株为无序列群分类（unassigned complex STs，UA）外，其他 12 株分属于 ST-4821、ST-11、ST-5、ST-175、ST-364 克隆群，其中前 3 个克隆群为高致病性克隆群，分别占 29.41%（5/17）、17.65%（3/17）、5.88%（1/17）。ST-4821 克隆群有 ST-4821 型和 ST-3200 型。ST-4821 型来自 3 份 C 群流脑病人和 1 株不可分群密切接触者。ST-3200 型来自 2005 年的 C 群健康带菌者。ST-11、ST-5 克隆群分别只有 W135 群的 ST-11 型和不可分群的 ST-7 型，均来自健康带菌者。2 株 Y 群 ST-175 型属 ST-175 克隆群，1 株 B 群 ST-8209 型属 ST-364 克隆群，均来自健康带菌者。

2.4　菌株进化分析（图 3）　来自 2005 年健康者 ST-3200 型与来自病人 C 群的 ST-4821 型比较有 2 个基因座的改变，并与 ST-4821 型在同一分支上。2010 年来自密切接触者 ST-11127 型与来自 2015 年流脑病例的 ST-7962 型比较有 3 个基因座的改变，在同一分支上，它们与 ST-11134 型比较，有 2 个等位基因相同，均为 B 群无序列群分类；与 C 群 ST-4821 型比较，有 3 个等位基因相同。其他不同序列型的菌株进化关系较远。



注：ST-32、ST-8、ST-41/44 是欧美等发达国家的主要 B、C 血清群流行株[13]；ST-1/subgroup Ⅰ/Ⅱ 是以往发展中国家的主要 A 群流行株。

图 3　海南省 *Nm* 序列型与全球 7 个高致病性克隆群所属部分序列型的相关性比较分析

表 2　海南省 *Nm* 多位点序列分型结果

年份(年)	管家基因测序结果等位基因号							序列型(ST－)	克隆群	血清型(基因群)
	abcZ	adk	aroE	fumC	gdh	pdhC	pgm			
2005	222	3	58	261	263	5	255	3 200	ST-4821	C
2009	46	18	13	56	9	18	8	3 256	UA	C
2009	13	3	15	40	3	11	6	8 209	ST-364	B
2009	2	3	4	3	8	4	6	11	ST-11/ET-37	W135
2010	222	3	58	3	718[a]	18	8	11 127[b]	UA	B
2010	46	3	13	7	6	41	77	5 615	UA	B
2010	2	3	4	3	8	4	6	11	ST-11/ET-37	W135
2010	222	2	58	205	30	2	16	11 134[b]	UA	NG(B)
2010	222	3	58	275	30	5	255	4 821	ST-4821	C
2012	222	3	58	275	30	5	255	4 821	ST-4821	C
2012	222	3	58	275	30	5	255	4 821	ST-4821	NG(C)
2012	6	7	4	56	26	18	8	175	ST-175	Y
2012	2	3	4	3	8	4	6	11	ST-11/ET-37	W135
2012	1	1	2	1	3	2	19	7	ST-5/亚群Ⅲ	NG
2012	6	7	4	56	26	18	8	175	ST-175	Y
2013	222	3	58	275	30	5	255	4 821	ST-4821	C
2015	222	3	58	482	386	18	77	7 962	UA	B

注:a 新的等位基因号; b 新的 ST 型别号; UA 无序列群分类。

3　讨　论

Nm 是寄居于人鼻咽部的革兰氏阴性双球菌,可引起 ECM 和菌血症。海南省以往为 ECM 流行区域,曾在 1962 年、1967 年、1977 出现 3 次全省范围内流行。20 世纪 80 年代开始推广使用 A 群 ECM 疫苗后,ECM 发病率逐渐下降,病例呈零星、散发状态。2000—2009 年,除 2003 年发生 1 例 ECM 病例外,其余年份均未有病例报告。自 2010 年以来,陆续有 C 群 ECM 确诊病例,2015 年 2 月海南省首次报告 B 群 ECM 确诊病例。

MLST 方法是通过对 7 个管家基因的测序结果,用核苷酸序列变异来发现细菌型别差异的分型方法[14],自 1998 年问世以来,已广泛用于各种细菌的分子分型,成为目前分子流行病学研究的新方法。而且 MLST 方法,可以直接从血清、脑脊液等临床标本中扩增出管家基因,通过测序获得等位基因图谱[3]即序列型。本研究就有 1 份病例样本未分离出菌株,但通过脑脊液标本核酸扩增,获得了是 C 群 *Nm* 核酸,测序后得到 ST-4821 序列型的结果,为 ECM 的临床诊断和流行病学监测提供了科学依据。MLST 研究表明,全球 *Nm* 的 7 个高致病性克隆群分别是 ST-1 /subgroup Ⅰ/Ⅱ、ST-5 /subgroup Ⅲ、ST-8 /Cluster A4、ST-11 /ET-37 complex、ST-32 /ET-5 complex、ST-41/44 /lineage 3[6]和 ST-4821[4]。本研究发现,所有的 C 群 ECM 病例分离株或核酸样本,其序列型均是 ST-4821 型,均来自文昌市,与引起安徽省 C 群 ECM 爆发流行的致病株 ST-4821 型是同一序列型。2012 年来自 C 群 ECM 病例密切接触者的分离株血清学分群为不可分群株,但 PCR 分群为 C 群,其序列型也是 ST-4821 型,属 ST-4821 高致病性克隆群。可见 C 群的致病株 ST-4821 型是海南省 *Nm* 优势流行株序列群,也是文昌市 *Nm* 的流行株序列群。而早在 2005 年海口市的健康人群中就已经存在属于 ST-4821 高致病克隆群的 ST-3200 型的 C 群菌株,其与 ST-4821 型相比有 2 个基因座的改变,因此应加强 *Nm* 的监测,尤其是疑似 ECM 病例的监测,及早发现病原。

从健康人群中分离的 3 株 W135 群,序列型均为 ST-11 型,是高致病性菌株属 ST-11 高致病性克隆群,分别来自 2009、2010 年的海口市和 2012 年的文昌市。截止 2015 年 10 月 12 日 ECM 数据库里序列型 ST-11 已有 3 546 株来自全球的登记株,而 W135 群的 ST-11 克隆群是全球广为传播流行的菌株型别之一[13]。中国也于 2006 年开始先后在福建、广西、广东、湖南、安徽等地发现了感染 W135 群的 ST-11 型 ECM 病例[15],从病例的密切接触者中也分离出 ST-11 型 *Nm*。海南省虽未有 W135 群的 ECM 病例,但存在着爆发流行的风险,应加强流脑菌群的监测,及时了解菌株的序列型,以便制定相应

中国公共卫生 CPH

的预防控制措施。

本次研究发现有 1 株 2012 年来自文昌市健康带菌者的不可分群菌株 ST-7 型,属 ST-5 高致病性克隆群。截止 2015 年 10 月 05 日 ST-7 型在 PubMLST 数据库显示已有 320 菌株登记信息,其中 8 株为中国登记株,即 6 株 C 群、1 株 A 群健康分离株和 1 株 A 群病例分离株;3 株不可分群株的 2 株来自尼日尔的携带者,1 株为阿尔及利亚病例分离株。其余 309 株均为世界各地的 A 群分离株。尽管海南省至今未培养出 A 群 *Nm*,也未有 A 群 ECM 病例,但 ST-5 克隆群的 A 群菌株在中国曾引起两次大范围的流脑暴发,并在 1987 年通过每年的麦加朝圣开始引起世界性的大流行[13]。故应当继续加强 A 群、A + C 群流脑疫苗的接种,提高人群免疫力,密切关注流脑菌群变迁。

本研究的 B 群 *Nm* 序列型较分散,且 gdh 基因位点 718 和 2 个 ST 型是 MLST 数据库中以前没有的。海南省 2015 年首次出现的 B 群 ECM 病例,为新生儿,其序列型 ST-7962,与 2010 年来自儋州市病例(7 月龄病例的分离株未能成功复苏,已无法验证及基因分型)密切接触者的 B 群 *Nm* ST-11127 型有较高的同源性,均为无序列群分类,从进化关系图上看有形成新的克隆群趋势,但这有待今后更进一步以及更多的菌株去研究验证。据文献报道,在针对某种 *Nm* 血清群疫苗的选择性压力作用下,没有疫苗预防控制的血清群菌株的发病率会随之增加。海南省已将 A 群、A + C 群 ECM 疫苗纳入儿童免疫规划,有四价多糖 ECM 疫苗可预防由 A、C、W135 、Y 群引起的 ECM,但尚无 B 群 ECM 疫苗。

近年来,B 群 ECM 病例在中国的发病率在逐年增加[5,16],如何提高人群尤其是婴幼儿抗 B 群 ECM 免疫力已成为预防 ECM 的关键,加速 B 群 ECM 疫苗的研发或评估已刻不容缓,同时加强 ECM 病原学监测,做到早发现,早处理。

志谢　文中利用 splits tree 4.0 软件制作的进化树,由安徽医科大学第二附属医院血液内科的晏开力协助完成,在此表示感谢

参考文献

[1] 张欣强,李孝权,张颖,等. 2011 广州市脑膜炎奈瑟菌分离株的分子特征分析[J]. 医学动物防治,2012,28(7):758 – 761.
[2] 徐征,朱兵清,高源,等. 中国不可分群脑膜炎奈瑟菌的分子分型分析[J]. 疾病监测,2014,29(9):688 – 692.
[3] 王中强,邱少富,王勇,等. 多位点序列分型技术及其研究进展[J]. 军事医学科学院院刊,2010,34(1):77 – 78.
[4] Shao Z,Li W,Ren J,et al. Identification of a new *Neisseria meningitides* serogroup C clone from Anhui province,China[J]. Lancet,2006,367(9508):419 – 423.
[5] 邵祝军,徐丽,高源,等. 中国流行性脑脊髓膜炎流行菌群变化趋势分析[J]. 中国计划免疫,2007,13(6):541 – 544.
[6] 刘美真,柯昌文,管大伟,等. 2003—2011 年广东省 C 群脑膜炎奈瑟菌 MLST 分子流行病学研究[C]. 第三界传染病防控基础研究与应用技术论坛,2012,267 – 276.
[7] 杨梦,袁辉,徐晓倩,等. 江西省 2005—2008 年 C 群脑膜炎奈瑟菌分子分型分析[J]. 中国流行病学杂志,2009,30(10):1095 – 1096.
[8] 吕静,杨红梅,江永忠,等. 2006—2010 年湖北省流行性脑脊髓膜炎病原学和血清学分析[J]. 中国病原生物杂志,2012,7(4):287 – 290.
[9] 鞠长燕,刘衡川. 脑膜炎奈瑟菌分子分型方法的进展[J]. 微生物与感染,2008,3(2):118 – 120.
[10] 中华人民共和国卫生部. WS 295-2008 流行性脑脊髓膜炎诊断标准[S]. 北京:人民卫生出版社,2008.
[11] 王少玲,吴捷,刁保卫,等. 霍乱疫情分离株流行菌型及耐药性分析[J]. 中国公共卫生,2012,28(1):79 – 81.
[12] 晏开力,刘丹青,沈永刚,等. 安徽省脑膜炎奈瑟菌的分子流行病学研究[J]. 中国疫苗和免疫,2011,17(3):201 – 204.
[13] 孙晓芳,杨郝亮,周海健,等. 中国脑膜炎奈瑟菌 nadA 基因多态性分析[J]. 疾病监测,2012,27(11):844 – 848.
[14] 周晓燕,陈燕芬,崔步云,等. 我国羊种 3 型布鲁氏菌的多位点序列分型研究[J]. 中国人兽共患病学报,2011,27(5):371 – 375.
[15] 夏昕,戴德芳,湛志飞,等. 湖南省首例 W135 群流行性脑脊髓膜炎病例流行病学及病原学分析[J]. 疾病监测,2013,28(9):714 – 716.
[16] 林世平,林一曼,姜伊祥,等. 1 例罕见的新生儿 B 群流脑死亡病例的实验室结果分析[J]. 热带医学杂志,2015,15(5):603 – 605.

收稿日期: 2016-04-07　　(吴少慧编校)