DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.21.031
第26卷第21期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 21
2004年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2004

文章编号:1000-5404(2004)21-1957-04

论著

儿童革兰阴性杆菌耐药状况及 *ampC* 基因的检测与分析

蔡瑜娇[1],刘 岚[2],刘昌林[2],刘 昕[1],黄正根[1],高玉梅[1] ([1]第三军医大学基础医学部分子遗传学教研室,重庆 400038;[2]重医儿童医院检验科细菌室,重庆 400014)

提 要:目的 了解某儿童医院222株革兰阴性杆菌的耐药现状及 *ampC* 基因的分布情况。方法 采用Microscan walkaway-4.0鉴定222株革兰阴性杆菌的药敏情况,行PCR扩增检测222株革兰阴性杆菌中 *ampC* 基因。结果 222株菌对IPM、AK、CIP、FEP、CAZ、ATM、CRO、CN、SXT、PIP的药物敏感率从高到低依次为:IPM 90.5%、AK 79.3%、CIP 68%、FEP 50.9%、CAZ 46.4%、ATM 43.2%、CRO 41.1%、CN 37%、SXT 35.5%、PIP 20.7%。154株细菌 *ampC* 基因阳性(占69.4%),对所检测的各药物的敏感率从高到低依次为:IPM 92.9%、AK 81.1%、CIP 69.5%、FEP 55.2%、CN 45.5%、CAZ 41.6%、ATM 37%、CRO 34.4%、SXT 33.8%、PIP 13.6%。在革兰阴性杆菌中对PIP的耐药性与 *ampC* 基因的分布有关。结论 革兰阴性杆菌的耐药状况严重,明确 *ampC* 基因的分布状况有助于临床抗菌药物的选用。

关键词:*ampC*;PCR;耐药性;β-内酰胺酶;革兰阴性杆菌
中图法分类号:R378;R394.3;R915 文献标识码:A

Status of drug resistance and detection and analysis of the *ampC* gene in gram-negative clinical strains from children

CAI Yu-jiao[1], LIU Lan[2], LIU Chang-lin[2], LIU Xin[2], HUANG Zheng-gen[2], GAO Yu-mei[1] ([1]Department of Molecular Genetics, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]Department of Clinical laboratory, Children's Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400014, China)

Abstract: **Objective** To investigate the status of the drug resistance and the distribution of the *ampC* gene in 222 gram-negative clinical isolates from the children's hospital. **Methods** Microscan walkaway-4.0 was used for detecting the susceptibility of antimicrobial agents against 222 gram-negative clinical strains. *ampC* gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR). **Results** The sensitivity rates of 222 strains to imipenem (IPM), amikacin (AK), ciprofloxacin (CIP), cefepime (FEP), ceftazidime (CAZ), azt reonam (ATM), ceftriaxone (CRO), gentamicin (CN), sulphamethoxazole/trimethoprim (SXT), and piperacillin (PIP) were 90.5%, 79.3%, 68%, 50.9%, 46.4%, 43.2%, 41.1%, 37%, 35.5%, and 20.7%, respectively. *ampC* gene was found in 154 out of 222 strains by PCR. The sensitivity rates of these strains to the antimicrobial agents detected were 92.9%, 81.1%, 69.5%, 55.2%, 45.5%, 41.6%, 37%, 34.4%, 33.8%, and 13.6%, respectively. The distribution of *ampC* gene was correlated well with the status of the drug resistance to PIP in gram-negative clinical strains. **Conclusion** The drug resistant status of gram-negative clinical strains is severe. Well understanding of the distribution of *ampC* gene can be helpful in selection of antimicrobial agents in clinical practice.

Key words: *ampC*; PCR; drug resistance; β-lactamase; gram-negative clinical strain

近年来,革兰阴性杆菌已成为临床主要的致病菌之一,其日益增加的耐药性也为其治疗带来了极大的困难[1,2]。β-内酰胺类抗生素是目前临床使用最广泛的抗生素,革兰阴性杆菌对β-内酰胺类抗生素最主要的耐药机制是产生多种具有水解β-内酰胺环活性的β-内酰胺酶,AmpC酶是其中重要的一种。在革兰阴性杆菌中产AmpC酶最多见的是肠杆菌属,如阴沟肠杆菌[3,4]。为研究儿童革兰阴性杆菌引起的耐药状况及 *ampC* 基因的分布状况,我们收集重庆市西南医院及儿童医院2003年10月至2004年1月的222株革兰阴性杆菌进行耐药性分析及 *ampC* 基因的检测,并将结果报告如下。

作者简介:蔡瑜娇(1975-),女,安徽省无为县人,硕士研究生,医师,主要从事细菌耐药性及细菌耐药基因的分子流行病学方面的研究。电话:(023)68753879
通信作者:刘 昕,电话:(023)68753934,E-mail:molegene@mail.tmmu.com.cn
收稿日期:2004-06-28;修回日期:2004-10-09

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1 材料与方法

1.1 菌株

在西南医院和重医儿童医院的儿科患者送检的各种标本中共分离出革兰阴性杆菌222株，其中包括肠杆菌科150株（阴沟肠杆菌31株、大肠埃希菌103株、产气肠杆菌7株、液化沙雷菌9株）假单胞菌科48株和不动杆菌科24株。

1.2 药敏实验

细菌耐药性的鉴定：222株细菌均经全自动细菌鉴定系统microscan walkaway-4.0鉴定到种并鉴定其耐药性，鉴定纸片包括以下12种：头孢他啶（ceftazidime，CAZ）、头孢曲松（ceft riaxone，CRO）、头孢吡肟（cefepime，FEP）、哌拉西林（piperacillin，PIP）、亚胺培南（imipenem，IPM）、氨曲南（azt reonam，ATM）、头孢西丁（cefoxitin，FOX）、阿米卡星（amikacin，AK）、庆大霉素（Gentamicin，CN）、妥布霉素（Tobramycin，TOB）、环丙沙星（Ciprofloxacin，CIP）、复方新诺明（sulphamethoxazole/trimethoprim，SXT）。质量控制为大肠埃希菌ATCC25922，阳性对照阴沟肠杆菌029M由北京协和医院检验科王辉老师惠赠。

1.3 *ampC* 基因的克隆

1.3.1 PCR的引物设计与合成 *ampC* 基因随细菌种类不同而有很大差异。用PCR方法检测临床主要的致病革兰阴性杆菌 *ampC* 基因分布，需要针对不同细菌设计不同的引物。为此，自GenBank数据库中收集 *ampC* 基因序列数据，用ClustW程序做多序列比对，由上海博亚公司合成。根据多序列比对的结果，革兰阴性杆菌 *ampC* 基因可以分为6组：假单胞菌科、不动杆菌科、埃希菌属、阴沟肠杆菌、产气肠杆菌、沙雷菌属，分别设计引物（表1），其扩增产物均位于 *ampC* 基因的编码区（CDS）。

表1 PCR扩增引物

Tab 1 Primers for PCR amplification

Strain	Primers	Sequence(5′-3′)	Product(bp)
Enterobacter cloacae	UP	5′GCCTGGGGCTATCGTGACGGTAAAGCGG3′	208
	DOWN	5′GACCCTGATACATTGACCCGATACGCCAG3′	
Enterobacter aerogenes	UP	5′GAGGTGACGGATGAAGCGGCATTACTGCG3′	241
	DOWN	5′GATAACCCCAGGCATAGTCCTTGCTCTG3′	
Pseudomonas	UP	5′GCCTGAAAGGAGAACCGCATTACTTCAG3′	299
	DOWN	5′GATCTGTGCCTGGTCCTTCTGCACCGAG3′	
Acinetobacter	UP	5′GCTATAACCAAGAAAATCAGCCGATTCG3′	292
	DOWN	5′GTCACTTTATTAGGTTTCATCACAATCTG3′	
Escherichia coli	UP	5′GGATACAACTGGCACAATCTCGCTACTGG3′	237
	DOWN	5′GAATAAACGCGACATAGCTACCAAATCCG3′	
Serratia proteamaculans	UP	5′CTTACGGCATCAAGTCCAACGCTCG3′	182
	DOWN	5′CGACAGTTTCACTGGATACGGGTAG3′	

1.3.2 模板DNA的制备 采用水煮法：取单菌落于5 ml LB培养液中37 ℃震荡过夜，取1.5 ml菌液于1.5 ml离心管中，离心5 000 r/min，5 min，弃上清；用1.5 ml双蒸水重悬后离心同上；0.5 ml双蒸水再次重悬，煮沸15 min，离心12 000 r/min，5 min，取上清保存于-20 ℃。用于PCR的模板DNA的终浓度为50~100 ng/μl。

1.3.3 *ampC* 基因的PCR扩增及扩增产物的克隆

1.3.3.1 模板的确定及PCR扩增 根据已收集细菌的耐药状况，在样本菌株中选择阳性模板如下：假单胞菌科45号、不动杆菌科20号、埃希菌属73号、阴沟肠杆菌029M、产气肠杆菌7号、沙雷菌属9号。取0.2 ml的PCR管，反应体系为50 μl（表2），采用热启动PCR，设置PCR反应条件为：94 ℃预变性3 min，加入 *Taq* 酶1 μl（5 U/μl）；以下共30个循环：94 ℃变性，30 s；退火（温度见表2）30 s；72 ℃延伸，20 s；循环结束后72 ℃延伸10 min，缓慢冷却至4 ℃。

表2 PCR反应体系(μl)及退火温度

Tab 2 PCR reaction system and anneal temperature

System strain	ddH_2O	10× buffer (Mg+ free)	Mg+ (25 mmol/L)	4 dNTP (2.5 mmol/L)	Primer up (10 μmol/L)	Primer down (10 μmol/L)	Sample (50~100 ng/μl)	*Taq*™ (5 U/μl)	Anneal temperature(℃)
Enterobacter cloacae	31	5	3	4	2	2	2	1	58
Enterobacter aerogenes	30	5	4	4	2	2	2	1	56
Pseudomonas	30	5	4	4	2	2	2	1	56
Acinetobacter	30	5	4	4	2	2	2	1	52
Escherichia coli	30	5	4	4	2	2	2	1	54
Serratia proteamaculans	30	5	4	4	2	2	2	1	51

1.3.3.2 扩增产物的克隆 PCR产物经1.5%的琼脂糖凝胶电泳70 min，用胶回收试剂盒（E.Z.N.A Gel Extraction Kit（200）D2501-02）进行切胶回收。胶回收产物与T载体（pMD 18-T Vector）进行T-A连接。转化JM109感受态细胞并用蓝白斑筛选重组子，用质粒提取试剂盒（E.Z.N.A Plasmid Miniprep Kit Ⅰ（50）D6942-01）提取重组子质粒DNA并用双酶切（*Hind* Ⅲ及 *Eco*RⅠ）鉴定。将双酶切鉴定后的菌液送上海博亚公司测序。

收集到的样本菌株按照以上方法制备DNA，并按同样条件进行PCR扩增，产物经1.5%的琼脂糖凝胶电泳70 min，了解 *ampC* 基因在222株革兰阴性杆菌中的分布情况。

1.4 统计学方法

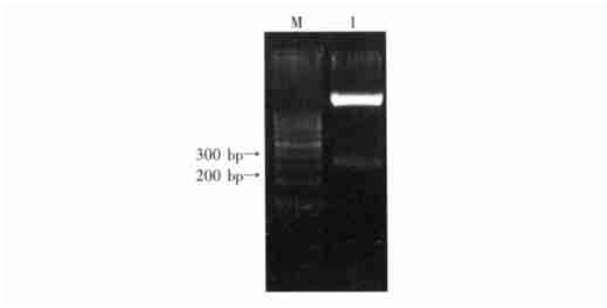
采用SPSS 10.0软件进行χ^2检验。

2 结果

2.1 *ampC* 基因的扩增与克隆

6对引物均扩增出预期大小的扩增产物，将6个扩增产物分别进行T-A克隆后，经蓝白斑筛选出的重组子又用双酶切鉴定证实插入片段为预期大小，见图1。测序后将结果与GenBank数据库中提供的已知 *ampC* 基因序列进行比对，确定6个扩增产物均为相应菌株 *ampC* 基因片段。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



M: Maker(100 bp); 1: Insert: 299 bp

图 1　连接产物的双酶切鉴定

Fig 1　Digestion of ligation product

2.2　*ampC* 基因的分布

在 222 株革兰阴性杆菌中, 有 154 株细菌通过 PCR 扩增出 *ampC* 基因片段, *ampC* 基因的阳性率为: 69.4%。其中阴沟肠杆菌 24 株、大肠埃希菌 80 株、产气肠杆菌 3 株、液化沙雷菌 1 株, 假单胞菌科 33 株和不动杆菌科 13 株, 其 *ampC* 基因的阳性率分别为: 66.7%、77.7%、42.9%、11.1%、68.8%、54.2%。见图 2; 阳性对照的设立: 阴沟肠杆菌为 029M, 其余菌株的阳性对照均采用已测序鉴定的质粒为模板行 PCR 扩增的产物。



M: Maker (100 bp); 1: Negative control (ATCC25922); 2: Negative sample; 3 and 4 (*Serratia proteamaculans*): 3— negative sample, 4— No 9 plasmid sample; 5—7 (*Escherichia coli*): 5— negative sample, 6— positive sample, 7— No 73 plasmid sample; 8—10 (*Enterobacter cloacae*): 8— negative sample, 9— positive sample, 10— 029M; 11—13 (*Enterobacter aerogenes*): 11— negative sample, 12— positive sample, 13— No 7 plasmid sample; 14—16 (*Acinetobacter*): 14— negative sample, 15— positive sample, 16— No 20 plasmid sample; 17—19 (*Pseudomonas*): 17— negative sample, 18— positive sample, 19— No 45 plasmid sample

图 2　***ampC*** 基因的 **PCR** 扩增

Fig 2　PCR amplification of *ampC* gene

2.3　受试菌的耐药状况

222 株革兰阴性杆菌对 12 种抗菌药物的耐药(R)、中介(I)、敏感(S)状况, 见表 3。从表 3 中看, 222 株菌对以上 12 种抗生素的药物敏感率从高到低依次为: IPM 90.5%、AK 79.3%、CIP 68%、FEP 50.9%、CAZ 46.4%、ATM 43.2%、CRO 41.1%、CN 37%、SXT 35.5%、PIP 20.7%。

154 株(*ampC* 基因阳性)菌的耐药状况见表 4。从表 4 中看, 154 株菌对以上 12 种抗生素的药物敏感率从高到低依次为: IPM 92.9%、AK 81.1%、CIP 69.5%、FEP 55.2%、CN 45.5%、CAZ 41.6%、ATM 37%、CRO 34.4%、SXT 33.8%、PIP 13.6%。

表 3　222 株革兰阴性杆菌对 12 种抗生素的耐药性

Tab 3　Status of drug resistance of 222 gram-negative clinical strains to 12 antimicrobial agents

Strain antibiotic	*Enterobacter* R/I/S	*Enterobacter cloacae* R/I/S	*Pseudomonas aeregenes* R/I/S	*Acinetobacter* R/I/S	*Escherichia coli* R/I/S	*Serratia proteamaculans* R/I/S	Sensitivity (%)
CAZ	17/13/1	1/4/2	14/17/17	9/1/14	44/0/59	1/5/3	46.4
CRO	19/12/0	3/3/1	34/8/6	9/2/13	47/0/56	3/3/3	41.1
FEP	16/1/14	1/1/5	17/2/29	10/0/14	44/1/58	3/0/6	50.9
PIP	19/12/0	4/3/0	15/19/14	9/3/12	84/2/17	3/3/3	20.7
ATM	17/12/2	2/3/2	20/21/7	11/2/11	45/1/57	4/2/3	43.2
IPM	0/0/31	0/0/7	16/0/32	0/1/23	3/1/99	0/0/9	90.5
FOX	28/0/3	5/1/1			14/2/87	3/4/2	
AK	7/0/24	2/0/5	17/2/29	6/1/17	8/0/95	3/0/6	79.3
CN	17/0/14	4/0/3	21/3/24	10/0/14	58/1/44	5/0/4	37
TOB			20/0/28	6/1/16			
CIP	8/0/23	1/1/5	4/8/36	8/0/16	36/4/63	1/0/8	68
SXT	11/0/20	4/0/3	37/1/10	10/0/14	65/0/38	3/0/6	35.5

表 4　154 株菌对 12 种抗生素的耐药性

Tab 4　Status of drug resistance of 154 strains to 12 antimicrobial agents

Strain antibiotic	*Enterobacter* R/I/S	*Enterobacter cloacae* R/I/S	*Pseudomonas aeregenes* R/I/S	*Acinetobacter* R/I/S	*Escherichia coli* R/I/S	*Serratia proteamaculans* R/I/S	Sensitivity (%)
CAZ	14/9/1	1/1/1	10/15/8	8/0/5	31/0/49	0/1/0	41.6
CRO	15/9/0	2/1/0	24/7/2	8/1/4	33/0/47	1/0/0	34.4
FEP	12/1/11	1/0/2	13/1/19	8/0/5	32/0/48	1/0/0	55.2
PIP	15/9/0	2/1/0	12/14/7	8/1/4	68/2/10	1/0/0	13.6
ATM	13/9/2	1/1/1	10/17/4	9/1/3	32/1/47	1/0/0	37
IPM	0/0/24	0/0/3	7/0/26	0/0/13	3/1/76	0/0/1	92.9
FOX	23/0/1	3/0/0			5/2/73	0/1/0	
AK	5/0/19	2/0/1	10/2/21	6/0/7	3/0/77	1/0/0	81.1
CN	13/0/11	2/0/1	14/2/17	9/0/4	42/1/37	1/0/0	45.5
TOB			13/0/20	6/1/6			
CIP	5/0/19	0/1/2	3/3/27	6/0/7	28/1/51	0/0/1	69.5
SXT	8/0/16	3/0/0	33/0/0	8/0/5	49/0/31	1/0/0	33.8

2.4　*ampC* 基因的分布与细菌耐药情况的分析

将 222 株细菌根据 *ampC* 基因的有无分为阳性 154 株(有)和阴性 68 株(无), 并根据细菌耐药性将 222 株细菌分为 3 组: 耐药(R)、中介(I)、敏感(S)。对以上数据进行 χ^2 检验发现: 对 PIP 而言, 革兰阴性杆菌中 *ampC* 基因的分布与细菌的耐药性有关(表 5), 说明革兰阴性杆菌中 *ampC* 基因阳性的菌株的耐药性明显增高, 与 *ampC* 基因阴性的菌株的耐药性有显著性差异。

表 5　***ampC*** 基因的分布与细菌耐药情况数据

Tab 5　Status of the drug resistance and the distribution of the *ampC* gene

	R	I	S	Total
ampC gene (+)	106	27	21	154
ampC gene (-)	28	15	25	68
Total	134	42	46	222

$\chi^2 = 18.665$,　$P < 0.01$

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3 讨论

AmpC 酶属于 Bush 分类中的Ⅰ类酶或 Ambler C 类酶，是一种能水解青霉素类，1、2、3 代头孢菌素类和单环类抗生素的 β-内酰胺酶，β-内酰胺酶抑制剂不能抑制其水解活性[5]。AmpC 酶的产生可分为染色体介导和质粒介导两种，以染色体介导为主[6]。根据 *ampC* 基因表达的不同[7]，可将带有 *ampC* 基因的细菌分为两种表型：①持续低水平表达（组成性表达），当有合适的诱导物存在时，可诱导表达约相当于 10～100 倍低水平表达量的 AmpC 酶；②持续高水平表达（去阻遏突变）。因此，对革兰阴性杆菌中 *ampC* 基因的分布及表达状况的分析，有助于指导临床合理地选用抗生素[8]。

我们在对儿科 222 株革兰阴性杆菌进行 *ampC* 基因的检测中发现，154 株 *ampC* 基因阳性，阳性率从高到低分别为：大肠埃希菌 77.7%、假单胞菌科 68.8%、阴沟肠杆菌 66.7%、不动杆菌科 54.2%、产气肠杆菌 42.9%、沙雷菌属 11.1%，在埃希菌属中的分布最高，分布大于 50%的有埃希菌、假单胞菌科、肠杆菌属、不动杆菌科。在 12 种抗生素的药敏实验中，敏感率大于 50%的只有亚胺培南、头孢吡肟、阿米卡星、环丙沙星，说明儿科革兰阴性杆菌的耐药状况严重。同时，在对 154 株 *ampC* 基因阳性细菌的耐药状况的分析中发现，第 3 代头孢菌素头孢他啶、头孢曲松及酶抑制剂氨曲南的敏感率明显下降，而第 4 代头孢中头孢吡肟及碳青霉烯类亚胺培南的敏感率升高。对 PIP 而言，革兰阴性杆菌中 *ampC* 基因的分布与细菌的耐药性有关。目前治疗持续高产 AmpC 酶株感染可采用碳青霉烯类如亚胺培南或四代头孢菌素头孢吡肟，也可与氨基糖甙类及喹诺酮类抗生素合并用药[9,10]。

参考文献：

[1] 周志慧，李兰娟，俞云松，等. 阴沟肠杆菌耐药及 *ampC* 基因表达状况研究[J]. 中华传染病杂志，2002，20(6)：337－340.

[2] Pitout J D, Sanders C C, Sanders W E Jr. Antimicrobial resistance with focus on β-lactam resistance in gram-negative bacilli [J]. Am J Med, 1997, 103(1): 51－59.

[3] Livermore D M. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance [J]. Clin Microbiol Rev, 1995, 8(4): 557－584.

[4] Sanders C C. Chromosomal cephalosporinases responsible for multiple resistance to newer beta-lactam antibiotics[J]. Annu Rev Microbiol, 1987, 41(10): 573－593.

[5] Lister P D, Gardner V M, Sanders C C. Clavulanate induces expression of the Pseudomonas aeruginosa AmpC cephalosporinase at physiologically relevant concentrations and antagonizes the antibacterial activity of ticarcillin. [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1999, 43(4): 882－889.

[6] Bennett P M, Chopra I. Molecular basis of β-lactamase induction in bacteria[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1993, 37(2): 153－158.

[7] Coudron P E, Moland E S, Thomoson K S. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among *Escherichia coli*, Klebsiella pneumoniae and Proteus mirabilis isolates at a veterans medical center [J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(5): 1791－1796.

[8] Meyer K S, Urban C, Eagan J A, *et al*. Nosocomial outbreak of Klebsiella infection resistant to late-generation cephalosporins [J]. Ann Intern Med, 1993, 119(5): 353－358.

[9] 张丁丁，范昕建，雷秉钧，等. 产 AmpC 酶阴沟肠杆菌的耐药性及耐药结构基因的序列分析[J]. 华西医学，2002，17(4)：492－494.

[10] 徐英春，陈民钧. AmpC 酶与革兰阴性菌的耐药特征[J]. 中华微生物学和免疫学杂志，2001，21(S1)：14－16.

（编辑 栗 嘉）

（上接 1953 页）

文献报道 DSA 全脑血管造影对自发性 SAH 阳性率在 50%～95%不等，Muller-Forell 等[3] 对 773 例经三血管以上 DSA 全脑造影的自发性 SAH 进行了回顾性研究，结果 12.4% 的患者无血管异常。我们对 428 例患者进行检查的阳性率为 75%，其中主要原因是动脉瘤和血管畸形。许多作者认为 DSA 全脑血管造影阳性率低的主要原因是检查时间过早，动脉瘤破裂后消失或周围血凝块的存在影响了造影剂在动脉瘤中的充盈，因此超早期 DSA 检查动脉瘤可消失。但在随后的数周内可再次出现，所以重复进行 DSA 检查非常必要。Koyama 根据临床症状对 3 例 DSA 检查阴性患者进行外科手术探查，结果显示在动脉瘤中有血栓形成，同时动脉瘤的漏斗部有扩张。Khan[4] 对 19 例初次 DSA 检查阴性患者进行重复 DSA 检查，发现 3 例由动脉瘤破裂引起的自发性 SAH。我们在检查中亦发现，延迟检查时阳性率明显高于超早期检查，支持上述结论。

DSA 全脑血管造影是诊断脑血管病最直接和最可靠的检查方法。DSA 主要优点在于能清晰显示脑血管各级分支及动脉瘤的位置大小形态分布，畸形血管的供血动脉及引流静脉，了解血流动力学改变，可为血管内栓塞治疗或外科手术治疗提供可靠的病因病理解剖，对指导治疗有极其重要作用。动脉瘤和血管畸形是自发性 SAH 的主要原因，超早期检查尽管提供了超早期外科或血管内治疗的机会，但阳性率相对较低。

关键词：蛛网膜下腔出血；血管造影
中图法分类号：R816.2 文献标识码：B

参考文献：

[1] Zouaoui A, Sahel M, Marro B, *et al*. Three-dimensional computed tomographic angiography in detection of cerebral aneurysms in acute subarachnoid hemorrhage[J]. Neurosurgery, 1997, 41(1): 125－130.

[2] Otawara Y, Ogasawara K, Ogawa A, *et al*. Evaluation of vasospasm after subarachnoid hemorrhage by use of multislice computed tomographic angiography[J]. Neurosurgery, 2002, 51(4): 939－943.

[3] Muller-Forell W, Welschehold S, Kohler J, *et al*. Subarachnoid hemorrhage without aneurysm[J]. Radiologe, 2002, 42(11): 871－879.

[4] Khan N, Schuknecht B, Yonekawa Y. Presentation and management of patients with initial negative 4-vessel cerebral angiography in subarachnoid hemorrhage[J]. Acta Neurochir Suppl, 2002, 82: 71－81.

（编辑 汪勤俭）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net