

耐碳青霉烯类大肠埃希菌临床分布、耐药特征及携带 mcr 基因分析

刘 周, 杭修兵, 储雯雯, 李 昕, 姚 杰, 周 强 (安徽医科大学第二附属医院检验科, 合肥 230601)

摘要: 目的 分析临床耐碳青霉烯类大肠埃希菌 (carbapenem-resistance *Escherichia coli*, CREC) 分布及耐药特征, 检测其碳青霉烯酶合成基因及质粒介导的多黏菌素耐药 (mobile colistin resistance, mcr) 基因携带情况, 为多重耐药菌防控提供参考。方法 收集 2020 年 7 月~2021 年 6 月期间安徽医科大学第二附属医院住院患者送检的各类临床标本分离非重复 CREC 菌株, 微量肉汤稀释法进行药敏试验。聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增及测序技术检测碳青霉烯酶基因及 mcr 系列基因。多黏菌素诱导试验检测 mcr-9 阳性菌株的诱导耐药特征, 脉冲凝胶电泳 (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) 分析其同源性。结果 共收集 CREC 菌株 33 株, 主要分离自尿液标本 (30.3%)、痰液标本 (24.2%)、脓液/分泌物标本 (18.2%) 及血液标本 (15.2%), 菌株呈现多重耐药表型。PCR 检测结果显示, 23 株 CREC (69.7%) 携带 bla_{NDM} 基因, 8 株 CREC (24.2%) 携带 bla_{KPC} 基因。有 3 株 (9.1%) bla_{NDM} 阳性 CREC 菌株同时携带 mcr-9 基因, PFGE 分析显示 3 株细菌间无同源性。上述 mcr-9 阳性菌株经过 1/2 倍最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 多黏菌素 B 药物诱导 6h 后, 对多黏菌素 B 的 MIC 值均升高。结论 临床 CREC 呈现多重耐药, 主要碳青霉烯酶基因为 bla_{NDM} 及 bla_{KPC}。部分菌株同时携带 bla_{NDM} 及 mcr-9 基因, 且呈现多黏菌素诱导耐药特征。实验室应加强监测, 防控其流行播散。

关键词: 耐碳青霉烯类大肠埃希菌; 新德里金属酶; 多黏菌素 B; mcr 基因

中图分类号: R378.21; R446.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 05-001-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.05.001

Clinical Distribution, Antimicrobial Agent Resistance and mcr Genes Analysis of Carbapenem-resistant *Escherichia coli*

LIU Zhou, HANG Xiu-bing, CHU Wen-wen, LI Xin, YAO Jie, ZHOU Qiang

(Department of Clinical Laboratory, the Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China)

Abstract: **Objective** To analyze the clinical distribution, antimicrobial agent resistance rates of carbapenem resistance *Escherichia coli* (CREC), and detect the carbapenemase synthesis gene and the carrier of plasmid mediated mobile colistin resistance (MCR) gene, so as to provide reference for the prevention and control of multi-drug resistant bacteria. **Methods** From July 2020 to June 2021, Non-repetitive CREC strains isolated from various clinical specimens submitted by inpatients in the Second Hospital of Anhui Medical University were collected. The antimicrobial susceptibility testing was detected by microbroth dilution method. Carbapenemase encoding and mcr genes were analyzed by PCR amplification and sequencing. The polymyxin B induction assays of mcr-9-positive-isolates were performed, and the homology of mcr-9-positive-isolates was analyzed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). **Results** A total of 33 CREC isolates were collected, which mainly isolated from urine (30.3%), sputum (24.2%), pus/secretion (18.2%) and blood (15.2%), presenting multiple drug resistance phenotypes. 69.7% of the isolates ($n=23$) harboured bla_{NDM}, while 24.2% of them ($n=8$) harboured bla_{KPC}. Three CREC isolates (9.1%) carried both bla_{NDM} and mcr-9 genes, and PFGE analysis showed no homology among the three strains. After pretreatment with polymyxins B [1/2 \times minimum inhibitory concentration (MIC)], the MIC values of mcr-9-positive-strains to polymyxins B were increased. **Conclusion** The clinical CREC isolates performed multiple drug resistance phenotype, mainly harboured bla_{NDM} and bla_{KPC} carbapenemase encoding genes. CREC isolates co-harboring bla_{NDM} and mcr-9 were detected, and the polymyxin-induced drug resistance phenotype were detected in all this strains. Laboratory monitoring should be strengthened to prevent and control its spread.

Keywords: carbapenem-resistant *Escherichia coli*; new delhi metallo β -lactamase; polymyxins B; mcr gene

基金项目: 安徽省自然科学基金项目 (1908085QH366), 安徽省转化医学研究院科研基金项目 (2021zhyx-C47), 安徽省高校自然科学研究重大项目 (KJ2021ZD0029)。

作者简介: 刘周 (1984-), 男, 副主任技师, 主要从事细菌耐药机制及分子流行病学研究, E-mail: liuzhou0112@126.com。

通讯作者: 周强, 主任技师, E-mail: zhouqiang1973@163.com。

大肠埃希菌 (*Escherichia coli*) 是临床常见的条件致病菌, 可导致各类医院及社区获得性感染, 常见的感染类型包括泌尿系统感染、腹腔感染、血流感染等^[1-2]。大肠埃希菌易通过携带质粒介导的超广谱 β -内酰胺酶及头孢菌素酶编码基因对头孢类抗生素产生耐药表型, 而碳青霉烯类抗生素是治疗上述细菌所致重症感染的主要抗生素^[1]。近年来, 虽然大肠埃希菌对碳青霉烯类抗生素仍然保存较低的耐药率, 但由于其整体基数较大, 因此耐碳青霉烯类大肠埃希菌 (carbapenem-resistance *E. coli*, CREC) 在临床中仍然较为多见^[3-4]。CREC 常呈现多重耐药表型, 仅对多黏菌素、替加环素等敏感。2015年, 我国学者首次在大肠埃希菌中发现质粒介导的多黏菌素耐药 (mobile colistin resistance, mcr) 基因^[5], 其后 mcr 系列基因在临床菌株中不断被检出^[6]。目前本地区 CREC 菌株的 mcr 基因携带情况报道较少, 因此本研究拟对本地区一所省级综合性三甲医院临床分离的 CREC 临床分布、碳青霉烯耐药基因及 mcr 基因进行检测, 为临床多重耐药菌防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集安徽医科大学第二附属医院2020年7月~2021年6月期间临床住院患者送检各类临床标本分离的非重复 CREC 菌株共计33株, 同时收集相应患者性别、年龄及住院科室等基本临床资料。CREC 的判定标准为菌种鉴定为大肠埃希菌且亚胺培南最低抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC) 值 $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ 和/或厄他培南的 MIC $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ ^[7]。药敏试验质控菌株及 PCR 阴性对照菌株均为大肠埃希菌 ATCC25922。部分 PCR 阳性对照菌株为本实验前期测序确证并保存的临床菌株。

1.2 仪器与试剂 Microflex-LT 型质谱分析仪 (德国 BRUKER 公司), VITEK-2 型细菌药敏检测仪 (法国 BioMérieux 公司), CHEF Mapper XA 型脉冲场凝胶电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司), Biometra 型 PCR 仪 (德国 Analytikjena 公司), Tanon1600 型凝胶成像分析系统 (上海天能科技有限公司)。Agarose D-5 琼脂糖凝胶、Xba I 内切酶 (Takara 公司), 药敏纸片 (英国 Oxoid 公司), 多黏菌素 B 药物标准品 (上海源叶公司), 多黏菌素 B 药敏检测 (MIC 法) 试剂 (温州康泰公司), 所有 PCR 引物由上海生工公司合成。

1.3 方法

1.3.1 细菌鉴定、药敏检测及碳青霉烯酶表型分析: 应用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight

mass spectrometry, MALDI-TOF MS) 进行菌种鉴定; 应用 VITEK-2 药敏分析仪及配套药敏卡进行药敏检测, 折点参照 CLSI 2020 版标准^[7]; 应用微量肉汤稀释法进行多黏菌素 B 的药敏检测, 折点参照 EUCAST 2020 版标准^[8]; 联合碳青霉烯灭活 (modified carbapenem inactivation method, mCIM) 及 EDTA 碳青霉烯灭活 (EDTA-carbapenem inactivation method, eCIM) 试验分析 CREC 菌株碳青霉烯酶表型^[7]。

1.3.2 碳青霉烯耐药基因及 mcr 系列基因检测: 提取待测菌株 DNA 模板, 应用 PCR 筛检待测菌株常见碳青霉烯酶基因 (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{IMP} , bla_{VIM} , $\text{bla}_{\text{OXA-48}}$) 及 mcr 系列基因 (mcr-1 ~ mcr-9), 引物序列见表1及扩增方法参考文献^[9-11]。PCR 产物琼脂糖凝胶电泳后观察结果, 阳性扩增产物送上海生工测序后应用 GenBank NCBI 数据库比对分析。

表1 耐药基因 PCR 检测引物

目标基因	引物名称	引物序列	产物大小 (bp)
bla_{KPC}	KPC-F	5'TGTCACTGTATCGCCGTC3'	1 009
	KPC-R	5'CAGTGCTCTACAGAAAACC3'	
bla_{IMP}	IMP-F	5'GAAGCGTTTATGTCATAC3'	587
	IMP-R	5'GTACGTTTCAAGACTGATGC3'	
bla_{VIM}	VIM-F	5'GTTTGGTCGCATATCGCAAC3'	389
	VIM-R	5'AATGCCGACGACCAGGATAG3'	
bla_{NDM}	NDM-F	5'GCAGCTTGTGCGGCATGCGGGC3'	782
	NDM-R	5'GGTCGCGAAGCTGAGCACCGCAT3'	
$\text{bla}_{\text{OXA-48}}$	OXA-F	5'GCGTGTTAAGGATGAACAC3'	438
	OXA-R	5'CATCAAGTTCAACCCAACCG3'	
mcr-1	mcr-1-F	5'AGTCCGTTTGTCTTGTGGC3'	320
	mcr-1-R	5'AGATCCTTGGTCTCGGCTTG3'	
mcr-2	mcr-2-F	5'CAAGTGTGTGTGGTCGAGTT3'	715
	mcr-2-R	5'TCTAGCCCGACAAGCATACC3'	
mcr-3	mcr-3-F	5'AAATAAAATTTGTTCGCTTATG3'	929
	mcr-3-R	5'AATGGAGATCCCCGTTTTT3'	
mcr-4	mcr-4-F	5'TCACTTTCATCACTGCGTTG3'	1 116
	mcr-4-R	5'TTGGTCCATGACTACCAATG3'	
mcr-5	mcr-5-F	5'ATCGGTTGTCTGCATTATC3'	1 644
	mcr-5-R	5'TCATTGTGGTTGTCTTTTCTG3'	
mcr-6	mcr-6-F	5'AGCTATGTCAATCCCGTGAT3'	252
	mcr-6-R	5'ATTGGCTAGGTTGTCAATC3'	
mcr-7	mcr-7-F	5'GCCCTTCTTTTCGTTGT3'	551
	mcr-7-R	5'GGTTGCTCTCTTCTCGT3'	
mcr-8	mcr-8-F	5'TCAACAATTCTACAAAGCGTG3'	856
	mcr-8-R	5'AATGCTGCGCGAATGAAG3'	
mcr-9	mcr-9-F	5'TTCCCTTTGTTCTGGTTG3'	1 011
	mcr-9-R	5'GCAGGTAATAAGTCGGTC3'	

1.3.3 脉冲场凝胶电泳 (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) 分析: 取沙门菌 H9812 及 mcr-9 阳性 CREC 菌株单个菌落接种于 LB 肉汤, 37℃ 振荡增菌 6h 后富集菌体, 用低熔点琼脂糖凝胶制作包埋胶块并置于蛋白酶 K 溶液中 50℃ 水浴 18h。胶块多次清洗后, 置于 Xba I 内切酶体系 37℃ 水浴 4h。电泳条件参考文献 [12]。电泳胶块染色成像后用 Bio-Numerics 软件分析, PFGE 条带差异大于 7 条为不同 pulsotype 型^[13]。

1.3.4 多黏菌素诱导分析: 参考文献 [14] 报道进行, 待测 mcr-9 阳性 CREC 菌株用 M-H 肉汤制备麦氏浓度为 1.0 的菌悬液, 分别加入多黏菌素 B 使得体系中药物浓度为 1/2 倍 MIC 值。37℃ 振荡培养 6h 后富集菌体, 用无菌生理盐水洗涤 3 次后用无菌生理盐水配置麦氏浓度为 0.5 的菌悬液, 用于微量肉汤稀释法检测待测菌对多黏菌素的 MIC 值。上述试验重复三次。

1.4 统计学分析 应用 Shapiro-Wilk 法进行正态性检验, 符合正态分布的计量资料 (患者年龄) 以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。计数资料以率或构成比表示。基本临床资料及药敏检测结果录入 WHONET5.6 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 菌株临床分布 33 株 CREC 分离自尿液标本 (10 株, 30.3%)、痰液标本 (8 株, 24.2%)、脓液及分泌物标本 (6 株, 18.2%)、血液标本 (5 株, 15.2%)、腹腔积液标本 (2 株, 6.1%)、胆汁标本 (1 株, 3.0%)、导管尖端 (1 株, 3.0%)。CREC 感染临床患者以男性为主 (63.6%), 患者年龄 25 ~ 87 (62.4 \pm 15.0) 岁。患者所在临床科室主要为泌尿外科 (5 例, 15.2%)、重症监护病房 (4 例, 12.1%)、血液内科 (4 例, 12.1%)、普外科 (3 例, 9.1%)、急诊外科 (3 例, 9.1%) 等。

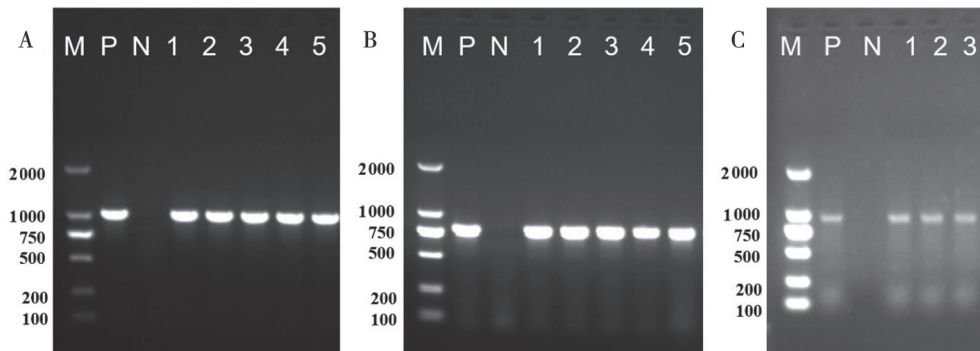
2.2 体外药敏结果 见表 2。CREC 菌株对头

孢菌素类及 β -内酰胺酶抑制剂类抗生素耐药率均为 100.0%, 对碳青霉烯类抗生素的耐药率为 93.9%~100.0%, 对左氧氟沙星的耐药率为 84.8%, 对阿米卡星、替加环素及多黏菌素 B 的耐药率分别为 24.1%, 3.4% 及 0.0%。

2.3 碳青霉烯酶表型及基因型检测 联合 mCIM 和 eCIM 试验检测显示, 31 株 CREC (93.9%) 产碳青霉烯酶, 改良碳青霉烯类失活法 (mCIM) 试验阳性菌株 8 株, EDTA-碳青霉烯类失活法 (eCIM) 试验阳性菌株 23 株。PCR 及测序结果检测显示, mCIM 阳性 CREC 均携带 bla_{KPC-2} 基因 (8 株, 24.2%); eCIM 阳性 CREC 均携带 bla_{NDM} 基因 (23 株, 69.7%), 其中 bla_{NDM-5} 阳性 12 株、bla_{NDM-1} 阳性 10 株、bla_{NDM-3} 阳性 1 株。部分 PCR 产物电泳结果见图 1A, B。

表 2 CREC 菌株对抗生素的体外药敏结果

抗生素	n	耐药率 (%)	中介率 (%)	敏感率 (%)
阿米卡星	33	24.2	0.0	75.8
阿莫西林 / 克拉维酸	33	100.0	0.0	0.0
多黏菌素 B	33	0.0	0.0	100.0
厄他培南	33	100.0	0.0	0.0
环丙沙星	23	100.0	0.0	0.0
哌拉西林 / 他唑巴坦	33	100.0	0.0	0.0
替加环素	29	3.4	37.9	58.6
头孢吡肟	33	100.0	0.0	0.0
头孢呋辛	33	100.0	0.0	0.0
头孢哌酮 / 舒巴坦	33	100.0	0.0	0.0
头孢曲松	33	100.0	0.0	0.0
头孢他啶	33	100.0	0.0	0.0
头孢西丁	33	100.0	0.0	0.0
亚胺培南	33	93.9	0.0	6.1
左氧氟沙星	33	84.8	0.0	15.2



注: M: 分子 Marker (DL2000); P: 阳性对照; N: 阴性对照; 1~5: 部分测试菌株。

图 1 PCR 产物凝胶电泳图 (A. bla_{KPC} 基因; B. bla_{NDM} 基因; C. mcr-9 基因)

2.4 mcr 基因检测及多黏菌素 B 诱导耐药特征 PCR 检测显示, 所有菌株的 mcr-1 ~ mcr-8 基因均为阴

性, 有 3 株 (9.1%) CREC 菌株 (试验编号: CR_EC12, CR_EC16, CR_EC26) 携带 mcr-9 基因,

见图 1C; 且 3 株 CREC 菌株均携带 bla_{NDM} 基因, 见表 3。PFGE 结果显示三者间条带差异大于 7 条,

提示为不同 *pulsotype* 型, 菌株间无同源性, 见图 2。

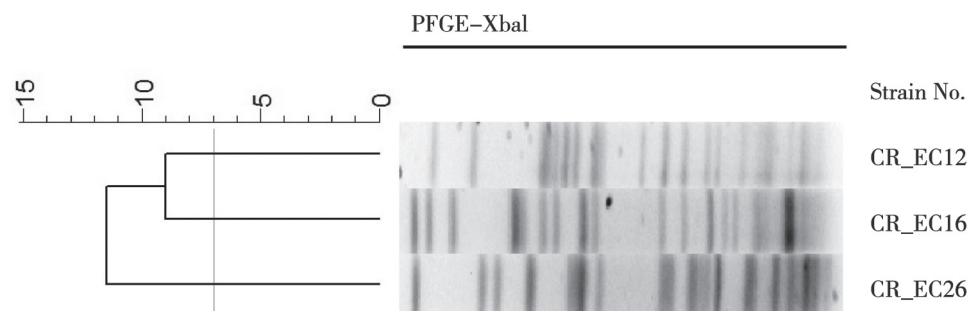


图 2 三株 *mcr-9* 阳性 CREC 菌株的 PFGE 聚类分析图

经多黏菌素 B (1/2 倍 MIC 浓度) 预处理 6h 后, 3 株 *mcr-9* 阳性 CREC 对多黏菌素 B 的 MIC 值出现不同程度的升高, CR_EC12 号菌株原始 MIC 值为 $1 \mu\text{g/ml}$, 诱导后 MIC 值为 $16\sim 32 \mu\text{g/ml}$; CR_

EC16 号菌株原始 MIC 值为 $1 \mu\text{g/ml}$, 诱导后 MIC 值为 $4\sim 8 \mu\text{g/ml}$; CR_EC26 号菌株原始 MIC 值为 $0.5 \mu\text{g/ml}$, 诱导后 MIC 值为 $1\sim 2 \mu\text{g/ml}$ 。

表 3 多黏菌素 B 诱导耐药结果

菌株编号	分离标本	碳青霉烯酶基因	原始 MIC 值 ($\mu\text{g/ml}$)	诱导后 MIC 值 ($\mu\text{g/ml}$)		
				测试 1	测试 2	测试 3
CR_EC12	血液	$\text{bla}_{\text{NDM-1}}$	1	16	32	32
CR_EC16	脓液	$\text{bla}_{\text{NDM-5}}$	1	4	4	8
CR_EC26	胆汁	$\text{bla}_{\text{NDM-1}}$	0.5	2	2	4

3 讨论

碳青霉烯酶是一类能够水解亚胺培南或美罗培南的 β -内酰胺酶, 根据 Ambler 分子分类可分为 A, B, D 三类。新德里金属酶 (new delhi metallo β -lactamase, NDM) 属于 B 类金属 β -内酰胺酶, 可介导菌株产生碳青霉烯耐药表型^[4]。一项全国性的分子流行病学研究表明, 我国临床分离的 CREC 菌株主要产 NDM 型碳青霉烯酶^[15]。本研究中, 69.7% 的 CREC 菌株携 bla_{NDM} 基因, 与上述报道基本一致。进一步测序结果显示, bla_{NDM} 基因亚型以 $\text{bla}_{\text{NDM-5}}$ 为主, 其次为 $\text{bla}_{\text{NDM-1}}$ 。研究表明, NDM-5 与 NDM-1 相比存在两个氨基酸位点 (Val88Leu 及 Met154Leu) 的差异, 使得其对碳青霉烯类抗生素具有更强的水解作用^[16]。在我国 $\text{bla}_{\text{NDM-5}}$ 基因多由 IncX3 质粒携带, 不仅在临床菌株中被检出, 在社区环境及动物来源菌株中也陆续被报道, 提示其存在广泛的播撒, 同时该类型质粒常携带多种耐药基因, 可介导菌株获得多重耐药表型^[16]。本研究中, CREC 菌株对临床常用的抗生素耐药率高, 主要分离自尿液、痰液及血液标本, 临床医师在抗感染治疗时应根据药敏结果并结合感染部位合理使用抗生素。

多黏菌素是由多黏类芽孢杆菌产生的一种多肽类抗生素, 有 A, B, C, D 和 E 五种, 目前有多

黏菌素 B 和多黏菌素 E 在临床上使用。尽管存在肾毒性和神经毒性, 但是在目前临床多重耐药菌检出率日益攀升的现状下, 多黏菌素类药物已经成为抗感染治疗的最后一道防线^[5]。因此, 当质粒介导的多黏菌素 B 耐药基因 *mcr* 被发现后, 立即引起了全球的广泛关注。近年来, *mcr* 基因的变异体 (*mcr-1* ~ *mcr-9*) 在世界各地被不断报道, 分布最广泛的是 *mcr-1* 和 *mcr-9* 基因^[6]。与其它 *mcr* 基因不同, 携带 *mcr-9* 基因的菌株多表现为多黏菌素 B 敏感的体外药敏表型, 但当菌株预先暴露于多黏菌素 B 药物环境中, *mcr-9* 基因的表达量就会升高, 进而产生诱导耐药表型^[14,17]。本研究中的 3 株 *mcr-9* 阳性 CREC 菌株经过 1/2 倍 MIC 浓度的药物预处理后, 其对多黏菌素 B 的 MIC 值均出现了上升, 进一步证实了 *mcr-9* 阳性菌株的多黏菌素诱导耐药特征。

另一方面, 虽然本研究中的 3 株 *mcr-9* 阳性 CREC 均同时携带 bla_{NDM} , 但 PFGE 分析显示菌株间无同源性, 提示本研究中 *mcr-9* 基因不是由菌株克隆播撒导致的传播。相关研究表明, *mcr-9* 基因主要由 IncHI2 型质粒携带, 这种质粒往往携带大量促进其自身水平转移的基因元件, 进一步加速了 *mcr-9* 基因在临床菌株中的隐性播撒^[18-19]。因此, 本研究中的 3 例 *mcr-9* 阳性菌株也可能与这种质粒的水平传播相关。目前, 头孢他啶/阿维巴

坦、替加环素和多黏菌素是临床治疗碳青霉烯类抗生素耐药肠杆菌感染的选择, 由于阿维巴坦不能抑制 NDM 型碳青霉烯酶, 因此在治疗 bla_{NDM} 阳性细菌所致重症感染时, 多黏菌素 B 往往成为临床首选的抗生素^[20]。如果 mcr-9 基因在临床菌株中广泛播撒, 而常规的体外药敏试验又不能及时发现其耐药表型, 则会给临床抗感染治疗带来较大风险。

综上所述, 本研究分析了本地区临床分离 CREC 菌株的耐药性及碳青霉烯酶携带特征, 并初步检测了 mcr 系列基因的携带情况。值得注意的是, 虽然所有菌株对多黏菌素 B 的 MIC 值均 $\leq 2 \mu\text{g/ml}$, 但仍然有 9.1% 的 CREC 菌株携带 mcr-9 基因, 并且 mcr-9 阳性菌株均表现为多黏菌素的诱导耐药特征, 这一特殊的耐药表型需要临床和微生物实验室高度重视。由于本研究纳入的菌株数量较少, 且为单中心来源, 因此研究结果存在一定局限性, 后续将继续增加研究菌株的数量及来源, 同时对 mcr-9 阳性菌株进行全基因组测序, 深入菌株的分子型别及携带 mcr-9 质粒的分子特征, 为临床多重耐药菌的防控提供参考数据。

参考文献:

- [1] SORA V M, MERONI G, MARTINO P A, et al. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: virulence factors and antibiotic resistance[J]. Pathogens, 2021, 10(11): 1355.
- [2] 徐慧, 徐岷, 刘彩林, 等. 2014 ~ 2019 年郑州大学第一附属医院血培养分离病原菌临床分布及耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(1):136-140.
XU Hui, XU Min, LIU Cailin, et al. Clinical distribution and antibiotic resistance of the blood culture isolates from the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 2014~2019 [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(1):136-140.
- [3] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014-2019 年不同等级医院细菌耐药监测报告[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(2):95-111.
China Antimicrobial Resistance Surveillance System. Surveillance on antimicrobial resistance of bacteria in different levels of hospitals: surveillance report from China Antimicrobial Resistance Surveillance System in 2014-2019 [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(2): 95-111.
- [4] 张艳双, 刘静, 万楠, 等. 耐碳青霉烯类肠杆菌科 (CRE) 耐药分子机制及控制流行的应对策略[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(2):1-4.
ZHANG Yanshuang, LIU Jing, WAN Nan, et al. Molecular mechanism of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) resistance and coping strategies for controlling epidemics [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(2):1-4.
- [5] LIU Yiyun, WANG Yang, WALSH T R, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2016, 16(2): 161-168.
- [6] LING Zhuoren, YIN Wenjuan, SHEN Zhangqi, et al. Epidemiology of mobile colistin resistance genes mcr-1 to mcr-9[J]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2020, 75(11): 3087-3095.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing [S]. 30th ed. Wayne: PA, CLSI supplement M100, 2020.
- [8] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (2012)[S]. Version 10.0, ECAS, 2020. <http://www.eucast.org>.
- [9] DOYLE D, PEIRANO G, LASCOLS C, et al. Laboratory detection of *Enterobacteriaceae* that produce carbapenemases[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2012, 50(12): 3877-3880.
- [10] REBELO A R, BORTOLAIA V, KJELDGAARD J S, et al. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4 and mcr-5 for surveillance purposes[J]. Euro Surveillance, 2018, 23(6): 17-00672.
- [11] BOROWIAK M, BAUMANN B, FISCHER J, et al. Development of a novel mcr-6 to mcr-9 multiplex PCR and assessment of mcr-1 to mcr-9 occurrence in colistin-resistant *Salmonella enterica* isolates from Environment, Feed, Animals and Food (2011-2018) in Germany[J]. Front Microbiol, 2020, 11:80.
- [12] 刘周, 储雯雯, 李昕, 等. VAP 患者下呼吸道分离 CRKP 的临床及分子生物学流行特征[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(5):403-409.
LIU Zhou, CHU Wenwen, LI Xin, et al. Clinical and molecular epidemiological characteristics of CRKP isolated from lower respiratory tract of patients with ventilator-associated pneumonia [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(5):403-409.
- [13] NEOH H M, TAN X E, SAPRI H F, et al. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): A review of the "Gold standard" for bacteria typing and current alternatives[J]. Infection Genetics Evolution, 2019, 74: 103935.
- [14] KIEFFER N, ROYER G, DECOUSSER J W, et al. Mcr-9, an inducible gene encoding an acquired phosphoethanolamine transferase in *Escherichia coli*, and its origin[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2019, 63(9): e00965-19.
- [15] ZHANG Rong, LIU Lizhang, ZHOU Hongwei, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) strains in China[J]. EBio Medicine, 2017, 19: 98-106.
- [16] USMAN QAMAR M, S LOPES B, HASSAN B, et al. The present danger of New Delhi metallo- β -lactamase: a threat to public health[J]. Future Microbiology, 2021, 15(1):1759-1778.
- [17] TYSON G H, LI Cong, HSU C H, et al. The mcr-9 gene of salmonella and *Escherichia coli* is not associated with colistin resistance in the United States[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2020, 64(8): e00573-20.

访结果,因FBG和TG/HDL-C与COVID-19疾病严重程度及长期预后之间相关性仍有待研究。其次,研究对象仅局限于非糖尿病年轻群体,结论外推时需谨慎。综上,本研究纳入西安地区COVID-19患者临床资料,发现非糖尿病患者入院FBG与HDL-C降低,LDL-C与TG/HDL-C升高。FBG降低与TG/HDL-C升高可能是非糖尿病患者并发COVID-19的危险因素,具有较好的发病预测价值。因此,COVID-19患者应做好血糖和血脂的监测和管理,有助于危险因素的早期识别和改善预后。

参考文献:

- [1] ZHU Lihua, SHE Zhigang, CHENG Xu, et al. Association of blood glucose control and outcomes in patients with COVID-19 and pre-existing type 2 diabetes[J]. Cell Metab, 2020, 31(6):1068-1077, e3.
- [2] ZHAO Yingying, XING Huichun. Influence of fasting plasma glucose level on admission of COVID-19 patients: A retrospective study[J]. J Diabetes Res, 2022, 2022:7424748.
- [3] WANG Guyi, ZHANG Quan, ZHAO Xianmei, et al. Low high-density lipoprotein level is correlated with the severity of COVID-19 patients: an observational study[J]. Lipids Health Dis, 2020, 19(1):204.
- [4] WEI Xiuqi, ZENG Wenjuan, SU Jingyu, et al. Hypolipidemia is associated with the severity of COVID-19[J]. Journal of Clinical Lipidology, 2020, 14(3): 297-304.
- [5] NOSRATI M, SAFARI M, ALIZADEH A, et al. The atherogenic index log (triglyceride/HDL-cholesterol) as a biomarker to identify type 2 diabetes patients with poor glycemic control[J]. International Journal of Preventive Medicine, 2021, 12: 160.
- [6] PENG Fei, LEI Si, ZHANG Quan, et al. Triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio is associated with the mortality of COVID-19: A retrospective study in China[J]. International Journal of General Medicine, 2022, 15: 985-996.
- [7] ZHANG Benping, DONG Chen, LI Shengzhong, et al. Triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio is an important determinant of cardiovascular risk and poor prognosis in Coronavirus disease-19: A retrospective case series study[J]. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity, 2020, 13: 3925-3936.
- [8] 国家卫生健康委办公厅, 国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(第六版)[EB/OL]. (2020-02-18) [2020-09-14]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [9] National Health Commission, National Administration of Traditional Chinese Medicine. Guidelines for the diagnosis and treatment of novel coronavirus pneumonia (Trial Version Sixth) [EB/OL]. (2020-02-18) [2020-09-14]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [10] ZHU Bing, JIN Shengwei, WU Lianpeng, et al. J-shaped association between fasting blood glucose levels and COVID-19 severity in patients without diabetes [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2020, 168: 108381.
- [11] ALHAKAK A, BUTT JH, GERDS TA, et al. Glycated haemoglobin levels among 3 295 hospitalized COVID-19 patients, with and without diabetes, and risk of severe infection, admission to an intensive care unit and all-cause mortality [J]. Diabetes, Obesity & Metabolism, 2022, 24(3): 499-510.
- [12] WANG Yijin, LIU Shuhong, LIU Hongyang, et al. SARS-CoV-2 infection of the liver directly contributes to hepatic impairment in patients with COVID-19 [J]. Journal of Hepatology, 2020, 73(4): 807-816.
- [13] 陈赛, 刘海艇, 李铁, 等. 新型冠状病毒肺炎患者肝功能异常的相关临床分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(5): 103-105, 117.
- [14] CHEN Sai, LIU Haiting, LI Tie, et al. Clinical analysis of abnormal liver function in patients with new coronavirus pneumonia [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(5): 103-105, 117.
- [15] WEI Congwen, WAN Luming, YAN Qiulin, et al. HDL-scavenger receptor B type 1 facilitates SARS-CoV-2 entry[J]. Nature Metabolism, 2020, 2(12): 1391-1400.
- [16] KLUCK G E G, YOO J A, SAKARYA E H, et al. Good cholesterol gone bad? HDL and COVID-19[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(19): 10182.

收稿日期: 2022-02-20

修回日期: 2022-07-27

(上接第5页)

- [18] PAN Yuanlong, FANG Yuan, SONG Xiaofeng, et al. Co-occurrence of mcr-9, extended spectrum beta-lactamase(ESBL) and AmpC genes in a conjugative IncHI2A plasmid from a multidrug-resistant clinical isolate of *Salmonella* diarizonae[J]. The Journal of Infection, 2021, 82(4): 84-123.
- [19] MACESIC N, BLAKEWAY L V, STEWART J D, et al. Silent spread of Mobile colistin resistance gene mcr-9.1 on IncHI2 "super-plasmids" in clinical carbapenem-resistant *Enterobacteriales*[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2021, 27(12): 1856.e7-1856.e13.
- [20] 蔡洪流, 姚亚克, 周华. 碳青霉烯类抗生素耐药肠杆菌科细菌感染的治疗策略 [J]. 中华临床感染病杂志, 2020, 13(5): 329-334.
- [21] CAI Hongliu, YAO Yake, ZHOU Hua. Antimicrobial treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections [J]. Chinese Journal of Clinical Infectious Diseases, 2020, 13(5): 329-334.

收稿日期: 2022-03-14

修回日期: 2022-04-29