

• 论 著 •

产 NDM ExPEC 毒力与其耐药性和分子分型的关系研究*

冯丽娜,李从荣[△],姜树朋,杨勇文,蔡璇,李娟,冯锴,郭静
(武汉大学人民医院检验医学中心,湖北武汉 430060)

摘要:目的 对产新德里金属 β -内酰胺酶(NDM)肠外致病性大肠埃希菌(ExPEC)菌株进行分子分型,研究产 NDM ExPEC 毒力与其对碳青霉烯类抗菌药物的耐药性和分子分型之间的关系。方法 选取分离自该院的 15 株产 NDM ExPEC 菌株(实验组)和 28 株不产 NDM ExPEC 菌株(对照组)作为研究对象,对产 NDM ExPEC 菌株进行系统发育分群和多位点序列分型(MLST)研究,PCR 方法检测 7 种毒力基因在这两组菌株中的分布, χ^2 检验比较分布差异。结果 系统发育分群结果显示,15 株产 NDM ExPEC 菌株中,13 株属于 A 群,2 株属于 D 群;MLST 分型结果显示,ST410 是检出率最高的 ST 型;实验组毒力基因 fimH 检出率最高;对照组毒力基因 sat、fyuA 和 ompT 检出率高于实验组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 该院绝大多数产 NDM ExPEC 菌株的毒力较弱,表明细菌耐药性强并不意味着其致病性也强。

关键词:碳青霉烯酶; 新德里金属 β -内酰胺酶; 肠外致病性大肠埃希菌; 多位点序列分型; 毒力基因

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.08.004

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2020)08-0910-06

文献标识码:A

The relationship between virulence factors and molecular epidemiology and carbapenem-resistance of
New Delhi metallo- β -lactamase-producing extraintestinal pathogenic *Escherichia coli**

FENG Lina, LI Congrong[△], JIANG Shupeng, YANG Yongwen, CAI Xuan,

LI Juan, FENG Kai, GUO Jing

(Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University,
Wuhan, Hubei 430060, China)

Abstract: Objective To analyze the relationship between virulence factors and molecular epidemiology and carbapenem-resistance of New Delhi metallo- β -lactamase-producing extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. **Methods** 15 NDM-producing ExPEC strains and 28 NDM-none-producing ExPEC strains isolated during the same period were investigated. Phylogenetic groups were determined by a triplex PCR, and MLST determined the alleles and sequence types. Seven virulence genes were detected by PCR, and Chi-square test compared the distribution of the seven virulence genes in the two groups. **Results** The phylogenetic grouping of the 15 ExPEC strains capable of producing NDM, which were identified using reference methods, were as follows: 13 were placed in phylogenetic group A and 2 in phylogenetic group D. MLST indicated that sequence type 410(ST410) was the predominant type. The detection rate of virulence gene fimH was the highest in the experimental group. The detection rates of sat, fyuA and ompT in the control group were higher than those in the experimental group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The virulence of the majority of NDM ExPEC producing strains in our hospital is weaker than that of non NDM ExPEC producing strains, which indicates that the strong resistance of bacteria does not mean that they are also pathogenic.

Key words: carbapenemase; New Delhi metallo- β -lactamase; extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*; multilocus sequence typing; virulence genes

自 2010 年在印度发现以来,多个国家陆续报道检出产新德里金属 β -内酰胺酶(NDM)肠杆菌科细菌(又称“超级细菌”)[¹]。这种“超级细菌”几乎对临床

所有的抗菌药物耐药,导致感染此类细菌的患者具有很高的病死率,引起了全社会的广泛关注。肠外致病性大肠埃希菌(ExPEC)是中国最常见的致病性肠杆

* 基金项目:国家临床重点专科建设项目(财社[2010]305)。

作者简介:冯丽娜,女,技师,主要从事临床病原微生物耐药机制及检测方法研究。 [△] 通信作者, E-mail: congongli33@163.com。

本文引用格式:冯丽娜,李从荣,姜树朋,等. 产 NDM ExPEC 毒力与其耐药性和分子分型的关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(8): 910-915.

菌科细菌,可以表达多种 β -内酰胺酶,包 AmpC 酶、产超广谱 β -内酰胺酶 (ESBLs) 和碳青霉烯酶^[2]。ExPEC 产碳青霉烯酶,尤其是产 NDM 及其变体,成为重大的公共卫生问题^[3]。此外,ExPEC 能表达多种毒力因子,包括黏附素、毒素、多糖荚膜、脂多糖和蛋白酶,这些毒力因子在 ExPEC 入侵宿主、免疫防御及引起宿主损伤的过程中起着重要作用。多位点序列分型 (MLST) 是一种基于核酸序列测定的细菌分型方法,结合系统发育分群研究,可以对产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌 (CPE) 进行同源性分析,了解其种系间的发生关系,寻找其变异、进化和传播的规律。由于细菌在获取耐药基因和毒力基因的方式上存在一定程度的共性,所以两者之间可能存在一定的联系^[4]。本研究旨在分析产 NDM ExPEC 的毒力与 ST 型、系统发育分群和耐药性之间的关系。

1 材料与方法

1.1 材料来源 实验菌株分离自临床送检标本中的 15 株产 NDM ExPEC (实验组)。对照菌株共 28 株 (对照组),包括分离自临床送检标本中的 5 株对亚胺培南和 (或) 美罗培南不敏感 [最小抑菌浓度 (MIC) $\geq 2 \mu\text{g/mL}$] 但不产 NDM 的 ExPEC 及同期分离自临床送检标本中的 23 株对亚胺培南和美罗培南均敏感 (MIC $< 2 \mu\text{g/mL}$) 的 ExPEC。剔除同一患者相同部位分离的重复菌株。质控菌株大肠埃希菌 ATCC[®] 25922 和大肠埃希菌 ATCC[®] 35218 (监控 β -内酰胺酶/ β -内酰胺酶抑制剂复合物),由原卫生部临床检验中心提供。用于检测的所有菌株均为转种于哥伦比亚血平板后在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、含 5% CO_2 培养箱孵育 16~24 h 的新鲜菌株。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 主要仪器 MALDI-TOF 质谱仪 [布鲁克 (北京) 科技有限公司]、全自动细菌鉴定药敏系统 Phoenix-100 (美国 BD 公司)、NanoDrop2000c 分光光度计 (美国 Thermo 公司)、T100TM PCR 仪 (美国 Bio-Rad

公司)、DYY-6C 型电泳仪 (北京六一仪器厂)、G:BOX Chemi XT4 全自动凝胶成像分析系统 (英国 SYNGENE 公司)。

1.2.2 主要试剂 哥伦比亚血平板和 MH 琼脂平板 (广州市迪景微生物科技有限公司)、药敏纸片 (英国 OXOID 公司)、2 $\times$ Taq PCR Master Mix 和无核酶水 (上海莱枫公司)、PCR 引物 (武汉金开瑞生物合成有限公司)、Gel-Red 核酸染料 (北京 Biotech 公司)、DL1000 DNA Marker (大连宝生物公司)、亚胺培南粉末 (海正辉瑞制药有限公司)、基质 (德国 BrukerDaltonik 公司)。

1.3 方法

1.3.1 菌株鉴定及药物敏感性检测 菌株鉴定和药物敏感性检测采用 Phoenix-100 全自动细菌鉴定药敏系统,基质辅助激光解吸电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱仪复核鉴定结果,对于 Phoenix-100 全自动细菌鉴定药敏系统检测亚胺培南和 (或) 美罗培南的 MIC $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ 的菌株,采用纸片法 (K-B) 法和 (或) E-test 法复核亚胺培南和美罗培南的药敏结果。试验操作及结果解释参照美国临床和实验室标准化协会 (CLSI) M100 (第 28 版) 标准^[5]。

1.3.2 碳青霉烯酶基因检测 检测方法参考文献 [6]。

1.3.3 毒力基因检测 PCR 检测 15 株产 NDM 和 28 株不产 NDM ExPEC 的 7 种毒力基因 (aer、hly、papA、fimH、sat、fyuA 和 ompT),用于基因扩增的引物委托武汉金开瑞生物工程有限公司合成。引物序列见表 1。PCR 反应体系见表 2,扩增条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 循环 32 次,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 产物经 2.0% 琼脂糖凝胶电泳 (90 V $\times$ 40 min) 后,在凝胶成像系统中进行观察。 χ^2 检验比较 7 种毒力基因在两组菌株中的分布差异。

表 1 毒力基因和管家基因基因扩增引物

目的产物	编码基因	引物序列 (5'~3')	产物长度 (bp)	退火温度 ($^{\circ}\text{C}$)
毒力基因				
产气杆菌素	aer	正向:TAC CGG ATT GTC ATA TGC AGA CCG T 反向:ATA TCT TCC TCC AGT CCG GAG AAG	602	60
大肠埃希菌溶血素	hly	正向:ACA AGG ATA AGC ACT GTT CTG GCT 反向:CCA TAT AAG CGG TCA TTC CCG TCA	1 177	60
外膜蛋白酶	ompT	正向:GGA GGC CGA AAA GTC AGT CA 反向:AGG CGG TAA TTG GGT TCG TT	281	60
分泌性的自转运蛋白毒素	sat	正向:GCA GCT ACC GCA ATA GGA GGT 反向:CAT TCA GAG TAC CGG GGC CTA	934	60

续表 1 毒力基因和管家基因基因扩增引物

目的产物	编码基因	引物序列(5'~3')	产物长度 (bp)	退火温度 (℃)
耶尔森菌素	fyuA	正向:GTT TGG CGA CCA GGG TAA GA	266	60
		反向:GCT GCA TGT CTT TGG TGT GG		
I型菌毛	fimH	正向:CTG GTC GGT AAA TGC CTG GT	604	60
		反向:CCC CAG GTT TTG GCT TTT CG		
p 菌毛	papA	正向:ATG GCA GTG GTG TCT TTT GGT G	711	60
		反向:CGT CCC ACC ATA CGT GTT CTT C		
管家基因				
adenylate kinase	adk	正向:ATT CTG CTT GGC GCT CCG GG	583	62
		反向:CCG TCA ACT TTC GCG TAT TT		
fumaratehydratase	fumC	正向:TCA CAG GTC GCC AGC GCT TC	806	64
		反向:GTA CGC AGC GAA AAA GAT TC		
DNA gyrase	gyrB	正向:TCG GCG ACA CGG ATG ACG GC	911	62
		反向:ATC AGG CCT TCA CGC GCA TC		
isocitrate/isopropylmalate dehydrogenase	icd	正向:ATG GAA AGT AAA GTA GTT GTT CCG GCA CA	878	62
		反向:GGA CGC AGC AGG ATC TGT T		
malate dehydrogenase	mdh	正向:ATG AAA GTC GCA GTC CTC GGC GCT GCT GGC GG	932	60
		反向:TTA ACG AAC TCC TGC CCC AGA GCG ATA TCT TTC TT		
adenylosuccinate dehydrogenase	purA	正向:CGC GCT GAT GAA AGA GAT GA	816	62
		反向:CAT ACG GTA AGC CAC GCA GA		
ATP/GTP binding motif	recA	正向:CGC ATT CGC TTT ACC CTG ACC	780	62
		反向:TCG TCG AAA TCT ACG GAC CGG A		

表 2 基因检测 PCR 反应体系加样量(μL)

成分	毒力基因	管家基因	系统发育分群基因
2×Taq PCR 预混物	10.0	10.0	10.0
10 μmol/L 引物	0.5×2	0.5×2	1.0×3
50 ng/μL DNA 模板	1.5	1.0	1.5
ddH ₂ O	7.5	8.0	5.5
总体积	20.0	20.0	20.0

1.3.4 MLST 研究 对 15 株产 NDM ExPEC 进行 MLST 分型研究。用于 MLST 分型的 7 个管家基因的引物序列下载自 <http://www.mlst.net/> 网站,引物委托武汉金开瑞生物工程有限公司合成。引物序列见表 1。PCR 反应体系见表 2,扩增条件为 95 ℃ 预变性 5 min,95 ℃ 30 s、62 ℃ 30 s、72 ℃ 30 s 循环 32 次,72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。PCR 产物经 2.0% 琼脂糖凝胶电泳(90 V×40 min)后,在凝胶成像系统中进行观察。PCR 产物委托武汉金开瑞生物工程有限公司进行双向测序(Sanger 法),Chromas Version 2.6 查看测序结果,SeqMan Pro 对正反向测序结果进行剪切和拼接后,提交到 pubmlst 网站得到等位基因号和序列型(ST 型)。将 7 个管家基因的序列按照 adk、fumC、gyrB、icd、mdh、purA、recA 的先后顺序拼接

后,运用 ClustalXV2.0^[7] 进行比对,MEGA6.06^[8] 生成进化树(邻接法)。

1.3.5 系统发育分群研究 运用多重 PCR 对 15 株产 NDM ExPEC 进行系统发育分群。检测系统发育分群基因 ChuA、YjaA 和 TspE4C2,将产 NDM ExPEC 分为 A、B1、B2 和 D 这 4 个群^[9],引物序列见表 3,PCR 反应体系见表 2。PCR 扩增条件为:95 ℃ 预变性 5 min,95 ℃ 30 s、55 ℃ 30 s、72 ℃ 30 s 循环 30 次,72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析,计数资料以例数表示, χ^2 检验比较 7 种毒力基因(aer、hly、papA、fimH、sat、fyuA、ompT)在 15 株产 NDM ExPEC 菌株和同期分离的 28 株不产 NDM ExPEC 菌株中的分布差异, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 菌株分布 15 株产 NDM ExPEC 主要分离自尿液标本(8 例),检出的科室以泌尿外科(5 例)和肿瘤科(3 例)为主。

2.2 对抗菌药物的敏感性检测 15 株产 NDM ExPEC 对临床常用抗菌药物氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴

码基因的获取影响了毒力基因的表达。

ExPEC 能表达多种毒力因子,这些毒力因子可大致分为两类:细菌表面毒力因子和细胞毒因子。细菌表面毒力因子有助于 ExPEC 菌株的入侵、黏附、移动和免疫防御,如黏附素、多糖荚膜、脂多糖等,而细胞毒因子则可以引起宿主细胞不同程度的损伤,如溶血素、细胞毒素等。黏附素 I 型菌毛(编码基因 fimH)和 P 菌毛(编码基因 papA)可以促进细菌在物体表面的黏附;铁载体产气杆菌素(编码基因 aer)和耶尔森菌素(编码基因 fyuA)是一类用于摄取铁元素的低相对分子质量化合物;大肠埃希菌溶血素(编码基因 hly)是破坏细胞膜导致细胞裂解的蛋白质和脂质;分泌性自转运蛋白毒素(编码基因 sat)是肠杆菌科细菌中发现的丝氨酸蛋白酶自动转运家族蛋白中的一种;外膜蛋白酶(编码基因 ompT)是在肠杆菌科细菌外膜中发现的天冬氨酸蛋白酶。本研究检测这 7 种毒力因子编码基因在 15 株产 NDM ExPEC 和 28 株不产 NDM ExPEC 中的分布。毒力基因 fimH、aer、papA 和 hly 在两组细菌间的分布差异无统计学意义($P>0.05$),而 sat、fyuA 和 ompT 在不产 NDM ExPEC 中的检出率要高于产 NDM ExPEC 中的检出率。虽然产 NDM ExPEC 的耐药性强,但其携带的毒力基因反而较少,这与系统发育分群结果一致。同样有研究显示,多重耐药菌株的毒力要远小于敏感菌株^[19]。一些毒力因子(如蛋白酶、黏附素和铁摄取系统等)的作用并不典型,它们并不直接导致感染,而是提升细菌的竞争力和适应能力从而有助于其在人体的定植^[20]。

MLST 分型结果显示,15 株产 NDM ExPEC 中检出 8 种不同的 ST 型,以 ST410 最为常见。ZHANG 等^[21]对中国 25 个地区收集的 887 株 CPE 进行 MLST 分型,产 NDM 大肠埃希菌中最常见的 ST 型为 ST167,其次为 ST410,其中湖北省产 NDM 大肠埃希菌中最常见的 ST 型为 ST410,与本研究结果一致。有研究显示,ST131、ST38、ST69、ST155、ST393、ST405 和 ST648 是国际多重耐药高危克隆大肠埃希菌常见的几种 ST 型,其中以 ST131 最为常见^[22]。这种多重耐药、危险性高的菌株在许多国家均有检出^[23]。研究发现,ST131 菌株比非 ST131 菌株的总体毒力评分更高,并且一些毒力基因如 usp、ompT、sat、iutA、malX 与 ST131 密切相关。DOBRINDT 等^[24]发现,与非 ST131 ExPEC 相比,ST131 ExPEC 的某些毒力基因如 sat、iutA、malX、usp、iha、hra、ompT 持续高表达。2010 年在芝加哥和巴黎的 ST131 菌株中检测到 bla_{NDM}^[25-26],本院未检出产 NDM 的 ST131 ExPEC。本研究检出 1 株多重耐药高危克隆型别 ST648,早在 2011 年,就有研究发现,ST648 与菌株产 NDM 有关^[13,27];此外,ST648 还与产 ESBLs 大肠埃希菌引起的感染有关^[28]。

4 结 论

综上所述,产 NDM ExPEC 菌株的系统发育分群、MLST 分型和毒力基因研究得出的结论基本一致,即本院绝大多数产 NDM ExPEC 菌株的毒力较弱,菌株耐药性强并不意味着其致病性也强,相反,耐药基因的获取可能会影响毒力基因的表达,从而导致其致病性减小。对产 NDM ExPEC 菌株进行流行病学监测,有助于早期发现多重耐药高危克隆菌株,从而采取及时的感染防控措施,防止其暴发流行。

参考文献

- [1] KHAN S,ALI A,KHAN A U. Structural and functional insight of New Delhi Metallo β -lactamase-1 variants[J]. Future Med Chem,2018,10(2):221-229.
- [2] PITOUT J D. Extraintestinal pathogenic Escherichia coli: A combination of virulence with antibiotic resistance[J]. Front Microbiol,2012,3(1):9.
- [3] KHAN A U,MARYAM L,ZARRILLI R. Structure, genetics and worldwide spread of New Delhi Metallo-beta-lactamase(NDM):a threat to public health[J]. BMC Microbiol,2017,17(1):101.
- [4] BEYROUTHY R,ROBIN F,COUGNOUX A, et al. Chromosome-mediated OXA-48 carbapenemase in highly virulent Escherichia coli[J]. J Antimicrob Chemother, 2013,68(7):1558-1561.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100-28[S]. Wayne,PA,USA:CLSI,2018.
- [6] 冯丽娜,李从荣. MALDI-TOF MS 检测产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌的应用[J],中华微生物学和免疫学杂志, 2018,38(3):218-225.
- [7] THOMPSON J D,GIBSON T J,PLEWNIAC F, et al. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Res,1997,25(24):4876-4882.
- [8] TAMURA K,STECHER G,PETERSON D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6. 0[J]. Mol Biol Evol,2013,30(12):2725-2729.
- [9] CLERMONT O,BONACORSI S,BINGEN E. Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group[J]. Appl Environ Microbiol,2000,66(10):4555-4558.
- [10] KUMARASAMY K K,TOLEMAN M A,WALSH T R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study[J]. Lancet Infect Dis,2010,10(9):597-602.
- [11] HU X,XU X,WANG X, et al. Diversity of New Delhi metallo-beta-lactamase-producing bacteria in China[J]. Int J Infect Dis,2017,55(1):92-95.
- [12] WAILAN A M,PATERSON D L. The spread and acquisition of NDM-1:a multifactorial problem[J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2014,12(1):91-115.

- [13] HORNSEY M, PHEE L, WAREHAM D W. A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo-beta-lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(12):5952-5954.
 - [14] NAKANO R, NAKANO A, HIKOSAKA K, et al. First report of metallo-beta-lactamase NDM-5-producing *Escherichia coli* in Japan[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(12):7611-7612.
 - [15] YANG P, XIE Y, FENG P, et al. blaNDM-5 carried by an IncX3 plasmid in *Escherichia coli* sequence type 167[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(12):7548-7552.
 - [16] HERZER P J, INOUE S, INOUE M, et al. Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*[J]. *J Bacteriol*, 1990, 172(11):6175-6181.
 - [17] KAPER J B, NATARO J P, MOBLEY H L. Pathogenic *Escherichia coli*[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2(2):123-140.
 - [18] DOBRINDT U, HENTSCHEL U, KAPER J B, et al. Genome plasticity in pathogenic and nonpathogenic enterobacteria[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2002, 264(1):157-175.
 - [19] JOHNSON J R, KUSKOWSKI M A, GAJEWSKI A, et al. Virulence characteristics and phylogenetic background of multidrug-resistant and antimicrobial-susceptible clinical isolates of *Escherichia coli* from across the United States, 2000—2001[J]. *J Infect Dis*, 2004, 190(10):1739-1744.
 - [20] MOKADY D, GOPHNA U, RON E Z. Virulence factors of septicemic *Escherichia coli* strains[J]. *Int J Med Microbiol*, 2005, 295(6/7):455-462.
 - [21] ZHANG R, LIU L, ZHOU H, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) strains in China[J]. *EBio Med*, 2017, 19(1):98-106.
 - [22] BAQUERO F, TEDIM A P, COQUE T M. Antibiotic resistance shaping multi-level population biology of bacteria[J]. *Front Microbiol*, 2013, 4(1):15.
 - [23] MATHERS A J, PEIRANO G, PITOUT J D. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2015, 28(3):565-591.
 - [24] DOBRINDT U. (Patho-) Genomics of *Escherichia coli* [J]. *Int J Med Microbiol*, 2005, 295(6/7):357-371.
 - [25] BONNIN R A, POIREL L, CARATTOLI A, et al. Characterization of an IncFII plasmid encoding NDM-1 from *Escherichia coli* ST131[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e34752.
 - [26] PEIRANO G, SCHRECKENBERGER P C, PITOUT J D. Characteristics of NDM-1-producing *Escherichia coli* isolates that belong to the successful and virulent clone ST131[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(6):2986-2988.
 - [27] MUSHTAQ S, IRFAN S, SARMA J B, et al. Phylogenetic diversity of *Escherichia coli* strains producing NDM-type carbapenemases[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(9):2002-2005.
 - [28] VAN DER BIJ A K, PEIRANO G, GOESSENS W H, et al. Clinical and molecular characteristics of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* causing bacteremia in the Rotterdam Area, Netherlands[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(7):3576-3578.
- (收稿日期:2019-08-15 修回日期:2020-01-05)
-
- (上接第 905 页)
- [2] 里进, 叶光明, 陈良君, 等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)核酸检测假阴性结果原因分析及对策[J/OL]. *中华检验医学杂志*, 2020[2020-02-28]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1181137.htm>.
 - [3] 莫茜, 秦炜, 傅启华, 等. 正确认识新冠病毒核酸检测的影响因素[J/OL]. *中华检验医学杂志*, 2020[2020-02-28]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1180120.htm>.
 - [4] 中华人民共和国卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第 5 版)的通知(国卫办医函[2020]103 号) [EB/OL]. (2020-02-05) [2020-03-01]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-02/05/content_5474791.htm.
 - [5] 李萍, 赵四林, 陈煜枫, 等. 2 例新型冠状病毒肺炎粪便 SARS-CoV-2 核酸阳性临床启示[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(4):385-388.
 - [6] HAN Q, LIN Q, JIN S, et al. Recent insights into 2019-nCoV: a brief but comprehensive review[J/OL]. *J Infect*, 2020[2020-03-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. DOI:10.1016/j.jinf.2020.02.010.
 - [7] LI R, QIAO S, ZHANG G. Analysis of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) from different species sheds some light on cross-species receptor usage of a novel coronavirus 2019-nCoV[J/OL]. *J Infect*, 2020[2020-03-02]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. DOI:10.1016/j.jinf.2020.02.013.
 - [8] LI Y C, BAI W Z, HASHIKAWA T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may be at least partially responsible for the respiratory failure of COVID-19 patients[J/OL]. *J Med Virol*, 2020[2020-03-02]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. DOI:10.1002/jmv.25728.
 - [9] 胡慧婷, 袁静芝, 史清海, 等. 血清 sCD14、HMGB1 联合检测在肺部感染疾病中的临床诊断价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(3):270-273.
- (收稿日期:2020-03-09 修回日期:2020-04-11)