

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 14. 005

CRE 耐药基因的流行情况与耐药情况*

汪一萍¹,倪剑锋²,鲁 勇¹,应建飞¹,蒋 磊²,史俊颖²

1. 宁波大学附属人民医院检验科,浙江宁波 315105;2. 宁波基内生物技术有限公司,浙江宁波 315200

摘 要:**目的** 研究宁波大学附属人民医院耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)的耐药情况及分子流行病学特征等,为 CRE 的院内防控提供依据。**方法** 收集宁波大学附属人民医院 2017—2020 年细菌室保存的 CRE 样品,对其进行细菌鉴定、药敏试验、耐药基因检测及同源性分析。**结果** 共收集 222 株 CRE,检测出大肠埃希菌 78 株,肺炎克雷伯菌 71 株,阴沟肠杆菌 28 株,其他肠杆菌 45 株,仅对阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素、米诺环素具有较好的敏感性。碳青霉烯酶耐药基因分布:NDM 基因 131 株,KPC 基因 56 株,IMP 基因 13 株,VIM 基因 1 株,OXA-48 基因 1 株,未检出 20 株。49 株产 KPC 酶肺炎克雷伯菌 MLST 分型显示:ST11 型 26 株,ST15 型 7 株,其余还有 9 种 ST 分型。**结论** 宁波大学附属人民医院分离的 CRE 主要是大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,其中 NDM 和 KPC 为主要耐药基因型。

关键词:肠杆菌科细菌; 碳青霉烯酶; 耐药; 荧光定量聚合酶链反应; 多位点序列分型

中图法分类号:R446. 11 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2022)14-1891-05

Prevalence and drug resistance situation of CRE resistance genes*

WANG Yiping¹,NI Jianfeng²,LU Yong¹,YING Jianfei¹,JIANG Lei²,SHI Junying²

1. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated People's Hospital of Ningbo University, Ningbo, Zhejiang 315105, China; 2. Geneinn Biotechnology (Ningbo) Co. Ltd, Ningbo, Zhejiang 315200, China

Abstract: Objective To study the bacterial drug resistance and molecular epidemiological characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE), etc in the Affiliated People's Hospital of Ningbo University, to provide the basis for the prevention and control of CRE in hospital. **Methods** CRE samples were collected from the bacterial laboratory of the Affiliated People's Hospital of Ningbo University from 2017 to 2020. Bacterial identification, drug sensitivity test, drug resistance gene detection and homology analysis were performed. **Results** A total of 222 CRE strains were collected, and 78 strains of Escherichia coli, 71 strains of Klebsiella pneumoniae, 28 strains of Enterobacter cloacae and 45 strains of other Enterobacter were detected. Only amikacin, gentamicin, tobramycin and minocycline had good drug sensitivity. Distribution of carbapenem resistant genes including 131 strains of NDM gene, 56 strains of KPC gene, 13 strains of IMP gene, 1 strain of VIM gene, 1 strain of OXA-48 gene, 20 strains were not detected. The MLST typing of 49 KPC-producing Klebsiella pneumoniae showed that 26 strains were ST11 type, 7 strains were ST15 type, and the rest had 9 kinds of ST types. **Conclusion** The CRE in the Affiliated People's Hospital of Ningbo University are mainly Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae, and NDM and KPC are the main drug-resistant genotypes.

Key words: Enterobacteriaceae; carbapenemase; drug resistance; fluorescence quantitative polymerase chain reaction; multilocus sequence typing

碳青霉烯类抗菌药物一直是产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)或 AmpC 酶的肠杆菌科细菌治疗首选药物^[1-2]。随着此类抗菌药物的广泛使用,临床耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率逐年升高,增加了临床用药的选择难度^[3-4]。产碳青霉烯酶是形成 CRE 菌株的主要耐药机制,不同类型碳青霉烯酶具有不同的水解抗菌药物活性,其耐药谱也存在一定差异^[5-6]。按照 Ambler 分子分类

原则,编码碳青霉烯酶的耐药基因可分为 A、B、D 3 类^[7]。本研究对 2017—2020 年临床分离的 CRE 菌株进行药敏试验、耐药基因鉴定,并对耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)进行同源性分析,为 CRE 的耐药检测,以及预防和控制 CRE 的院内传播提供实验室依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集 2017—2020 年宁波大学附属

* 基金项目:浙江省宁波市科技创新 2025 重大专项(2019B10057)。

作者简介:汪一萍,女,主任技师,主要从事临床分子诊断研究。

人民医院临床分离的 CRE 222 株,作为对照的标准(或参考)菌株均购自中国普通微生物菌种保藏管理中心。

1.2 仪器与试剂 所用仪器主要包括全自动细菌鉴定及药敏分析系统(法国生物梅里埃公司)、恒温培养箱(上海恒一科学仪器有限公司)、荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)、离心机及金属浴(德国 Eppendorf 公司)。主要试剂包括大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌及 3 种碳青霉烯酶耐药基因(NDM、KPC 和 OXA-48)检测试剂盒(宁波基内生物技术有限公司),美罗培南、亚胺培南、阿米卡星与环丙沙星等抗菌药物(中国药品生物制品检定所)。本研究中引物的合成和扩增产物测序均由上海杰李生物技术有限公司完成。

1.3 CRE 菌株鉴定及药敏试验 222 株 CRE 菌株均使用全自动细菌鉴定及药敏分析系统进行鉴定,并对各种抗菌药物的耐药率进行数据分析。

1.4 CRE 菌株的基因检测 (1)CRE 菌株的荧光定量 PCR 检测:以 CRE 菌株 DNA 为模板,分别对两种常见细菌的基因进行检测,包括大肠埃希菌的特异性基因(ydj)和肺炎克雷伯菌的特异性基因(phoE)中 3 种常见碳青霉烯酶耐药基因(NDM、KPC 和 OXA-48),反应体系为 25 μ L,包括 6 μ L DNA 模板和 19 μ L PCR 反应混合液。PCR 反应条件为 37 $^{\circ}$ C 2 min,94 $^{\circ}$ C 2 min,循环 1 次;93 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 1 min,循环 35 次,单点荧光检测温度为 60 $^{\circ}$ C。荧光通道检测选择:ydj、KPC 基因选用 FAM 通道,NDM、OXA-48 基因选用 ROX 通道,内标基因选用 JOE 通道。(2)基因测序:设计 CRE 常见碳青霉烯酶耐药基因(NDM、KPC、OXA-48、IMP 和 VIM)引物进行测序^[8],将

CRE 菌株测序后所得的序列与 GenBank 核酸数据库(NDM: JX104760; KPC: li844849; OXA-48: NC_049454.1;IMP:JX104760;VIM:NG_022326.1)进行 BLAST 序列比对,见表 1。

表 1 耐药基因测序引物		
目标基因	引物序列(5'-3')	PCR 产物大小(bp)
NDM	F:GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	621
	R:CGGAATGGCTCATCACGATC	
KPC	F:CGTCTAGTTCTGCTGCTTTC	798
	R:CTTGTTCATCCTTGTTAGGCG	
OXA-48	F:GCGTGGTTAAGGATGAACAC	438
	R:CATCAAGTTCAACCCAACCG	
IMP	F:GGAATAGAGTGGCTTAATTCTC	232
	R:GGTTTAAAYAAAACAACCACC	
VIM	F:GATGGTGTGTTGGTCGCATA	390
	R:CGAATGCGCAGCACCAG	

1.5 CRKP 的同源性分析 以 CRKP 菌株 DNA 为模板,参考多位点序列分析(MLST)官方网站(<https://bigsdb.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>)上提供的肺炎克雷伯菌的 7 个管家基因(gapA、infB、mdh、pgi、phoE、rpoB、tonB)序列合成引物,见表 2;依次扩增 CRKP 菌株的这 7 个管家基因。PCR 反应条件如下:94 $^{\circ}$ C 2 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,50 $^{\circ}$ C 1 min,72 $^{\circ}$ C 30 s,循环 35 次;72 $^{\circ}$ C,10 min。将 CRKP 菌株的 7 个管家基因 PCR 产物进行双向测序。得到测序结果后分析 CRKP 菌株的亲缘性关系,即进行同源性分析。

表 2 肺炎克雷伯菌的 7 个管家基因引物序列

基因	引物序列(5'-3')	PCR 产物大小(bp)
gapA	F:GTTTTCCAGTCACGACGTTGTATGAAATATGACTCCACTCACGG	706
	R:TTGTGAGCGGATAACAATTTTCCTTCAGAAGCGGCTTTGATGGCTT	
infB	F:GTTTTCCAGTCACGACGTTGTACTCGCTGCTGGACTATATTCG	506
	R:TTGTGAGCGGATAACAATTTCCGCTTTCAGCTCAAGAACTTC	
mdh	F:GTTTTCCAGTCACGACGTTGTACCCAACCTCGTTTCAGGTTTCAG	800
	R:TTGTGAGCGGATAACAATTTCCCGTTTTTCCCCAGCAGCAG	
pgi	F:GTTTTCCAGTCACGACGTTGTAGAGAAAAACCTGCCTGTACTGTGGC	610
	R:TTGTGAGCGGATAACAATTTCCGCGCCACGCTTTATAGCGGTTAAT	
phoE	F:GTTTTCCAGTCACGACGTTGTAACCTACCGCAACACCGACTTCTTCGG	646
	R:TTGTGAGCGGATAACAATTTCTGATCAGAACTGGTAGGTGAT	
rpoB	F:GTTTTCCAGTCACGACGTTGTAGGCGAAATGGCWGAGAACCA	1 119
	R:TTGTGAGCGGATAACAATTTCGAGTCTTCGAAGTTGTAACC	
tonB	F:GTTTTCCAGTCACGACGTTGTACTTTATACCTCGGTACATCAGGTT	583
	R:TTGTGAGCGGATAACAATTTTCATTCGCCGGCTGRGCRGAGAG	

2 结 果

2.1 菌株分布 在 222 株 CRE 中,细菌培养鉴定法检出大肠埃希菌 78 株(35.1%),肺炎克雷伯菌 71 株(32.0%),阴沟肠杆菌 28 株(12.6%),霍氏肠杆菌 13

株(5.9%),费氏柠檬酸杆菌 9 株(4.1%),植生拉乌尔菌 8 株(3.6%),产气肠杆菌 6 株(2.7%),产酸克雷伯菌 5 株(2.3%),解鸟氨酸拉乌尔菌 3 株(1.4%),克氏柠檬酸杆菌 1 株(0.5%)。将荧光定量

PCR 鉴定+基因测序鉴定的结果与细菌培养鉴定结果进行对比,细菌培养鉴定为大肠埃希菌的 78 株中,测序鉴定 76 株符合细菌培养鉴定结果,另 2 株分别为产酸克雷伯菌与霍氏肠杆菌。细菌培养鉴定的符合率为 97.4%。

2.2 药敏试验结果 222 株 CRE 菌株对大部分抗菌药物的耐药率都大于 80.0%,对阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素、米诺环素具有较好的敏感性,见表 3。

2.3 荧光定量 PCR 与基因测序结果 222 株 CRE 荧光定量 PCR 与基因测序同时检出 NDM 基因阳性 131 株(59.0%),荧光定量 PCR 检出 KPC 基因阳性 56 株(24.3%),基因测序检出 IMP 基因阳性 13 株(5.9%),VIM 基因阳性仅有 1 株(0.5%),OXA-48 基因阳性仅 1 株(0.5%),荧光定量 PCR 未检出耐药基因 20 株(9.0%),见表 4。通过荧光定量 PCR 检测

耐药基因 NDM、KPC、OXA-48 的检出率为 84.7%;通过基因测序检测耐药基因 NDM、KPC、OXA-48、IMP、VIM 的检出率为 91.0%。将 NDM、KPC 和 OXA-48 基因的荧光定量 PCR 结果与基因测序结果进行分析,结果显示 NDM 荧光定量 PCR 的阳性符合率为 98.5%,阴性符合率为 97.8%;KPC 基因荧光定量 PCR 的阳性符合率为 94.6%,阴性符合率为 99.4%;OXA-48 基因荧光定量 PCR 的阳性符合率为 100.0%,阴性符合率为 100.0%。

2.4 MLST 结果 对 49 株 CRKP 的 MLST 结果显示,ST11 型最多为 26 株,其次为 ST15 型 7 株,ST2357 型 4 株,ST1810 型 3 株,ST278 型 2 株,ST2388 型 2 株,ST86 型 1 株,ST347 型 1 株,ST697 型 1 株,ST1326 型 1 株,ST2790 型 1 株。

表 3 222 株 CRE 菌株对常用抗菌药物的药敏试验结果

抗菌药物	CRE			大肠埃希菌			肺炎克雷伯菌		
	检测株数	耐药株数	耐药率	检测株数	耐药株数	耐药率	检测株数	耐药株数	耐药率
	(n)	(n)	(%)	(n)	(n)	(%)	(n)	(n)	(%)
美罗培南	218	212	97.2	77	76	98.7	70	68	97.1
亚胺培南	222	215	96.8	78	76	97.4	71	69	97.2
阿米卡星	222	37	16.7	78	10	12.8	71	17	23.9
庆大霉素	159	69	43.4	56	32	57.1	50	24	48.0
妥布霉素	217	80	36.9	77	35	45.5	69	30	43.5
头孢他啶	221	217	98.2	78	78	100.0	70	66	94.3
头孢吡肟	221	202	91.4	78	77	98.7	70	66	94.3
氨曲南	218	205	94.0	77	73	94.8	70	69	98.6
环丙沙星	217	168	77.4	78	70	89.7	69	55	79.7
左氧氟沙星	221	153	69.2	77	68	88.3	71	52	73.2
哌拉西林/他唑巴坦	205	188	91.7	76	74	97.4	67	67	100.0
复方磺胺甲噁唑	220	145	65.9	78	65	83.3	70	32	45.7
头孢哌酮/舒巴坦	218	205	94.0	75	73	97.3	70	66	94.3
米诺环素	212	101	47.6	73	30	41.1	69	30	43.5

表 4 CRE 耐药基因荧光定量 PCR 和耐药基因测序结果(n)

菌株	NDM		KPC		OXA-48		IMP	VIM	未检出	
	荧光定量	基因测序	荧光定量	基因测序	荧光定量	基因测序	基因	基因	荧光定量	基因测序
	PCR		PCR		PCR		测序	测序	PCR	
大肠埃希菌	65	65	3	1	1	1	4	0	5	11
肺炎克雷伯菌	14	13	49	49	0	0	3	1	4	9
阴沟肠杆菌	23	24	0	0	0	0	3	0	2	4
霍氏肠杆菌	10	10	0	0	0	0	0	0	3	3
费氏柠檬酸杆菌	8	8	0	0	0	0	1	0	0	1
植生拉乌尔菌	3	3	2	3	0	0	2	0	1	2
产气肠杆菌	1	1	1	0	0	0	0	0	4	5
产酸克雷伯菌	4	4	0	0	0	0	0	0	1	1
解鸟氨酸拉乌尔菌	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
克氏柠檬酸杆菌	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
合计	131	131	56	54	1	1	13	1	20	36

3 讨 论

CRE 往往对多种抗菌药物严重耐药,治疗极其困难,已成为全球范围的公共卫生问题^[9]。本研究收集的 222 株 CRE,检出株数位居前两位的依次为大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,与 CHINET 的调查结果一致^[10]。

NDM 型碳青霉烯酶于 2009 年在印度新德里被发现后迅速播散至全球,亚洲是产 NDM 型碳青霉烯酶菌株流行的主要区域^[11-13]。本研究通过对 78 株耐碳青霉烯类大肠埃希菌(CREC)的基因检测发现,大肠埃希菌以 NDM 基因最多(65 株),耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌也以 NDM 耐药基因为主,占比达 85.7% (24/28)。NDM 耐药基因表型的传播机制不同于其他碳青霉烯酶,该基因型多见于我国北方医院^[14]。新型含酶抑制剂的复方制剂头孢他啶-阿维巴坦对产金属酶的 CRE 无效,但却是目前治疗产 KPC 型和 OXA-48 型 CRE 的最好药物^[15],并且该药适用于复杂性尿路感染和院内获得性肺炎^[16],是治疗 CRE 感染的理想药物。

自 2007 年浙江省报道 CRKP 后,相关研究也证实 KPC 基因是我国肺炎克雷伯菌携带的最常见的碳青霉烯酶耐药基因^[17]。本研究通过对 71 株肺炎克雷伯菌的基因检测发现,肺炎克雷伯菌以 KPC 耐药基因最多(49 株),与前文报道一致。

OXA-48 耐药基因最早发现于 2001 年的土耳其,很快引起医院内暴发流行,有研究表明 OXA-48 基因比 KPC、NDM 基因更易于在肠杆菌科细菌中播散^[18],主要在儿童患者中分离^[19]。产 VIM 酶的 CRKP 最早于 2001—2003 年在南欧被发现,本研究发现 1 株携带 VIM 基因的肺炎克雷伯菌。

本研究 49 株 CRKP 的 MLST 结果显示 ST11 型为主要的流行克隆株,占 53.1%,这与 ST11 型 CRKP 为我国流行克隆株的报道一致^[20]。

CRE 引起的院内感染导致了病死率升高与医疗成本的明显增加,鉴于目前 CRE 的治疗难度,采取有效措施防止耐药菌的蔓延为当务之急。对于此类耐药细菌所致感染或定植的防控应多管齐下,有效感染防控措施包括手卫生、加强监测、接触预防、患者隔离(单间隔离或集中隔离)和环境清洁等。

参考文献

[1] MACVANE S H. Antimicrobial resistance in the intensive care unit: a focus on Gram-negative bacterial infections[J]. J Intensive Care Med, 2016, 32(1): 25-37.

[2] ZILBERBERG M D, NATHANSON B H, SULHAM K, et al. Carbapenem resistance, inappropriate empiric treatment and outcomes among patients hospitalized with Enterobacteriaceae urinary tract infection, pneumonia and sepsis[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 279.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100S [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2017.

[4] LOGAN L K, WEINSTEIN R A. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae; the impact and evolution of a global menace[J]. J Infect Dis, 2017 (Suppl 1): S28-S36.

[5] 黄峰, 许元元. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药基因检测及同源性[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(1): 21-25.

[6] 毕茹茹, 姜飞, 康海全, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药基因及同源性分析[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(4): 293-296.

[7] KAZI M, DREGO L, NIKAM C, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae at a tertiary care laboratory in Mumbai[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2015, 34(3): 467-472.

[8] 别立翰, 马晨芸, 蒋秀娣, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药基因分布情况及其同源性探讨[J]. 中国医药导刊, 2019, 21(2): 110-114.

[9] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2019 年三级医院细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020, 20(3): 233-244.

[10] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2020 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(4): 377-387.

[11] BAHAR G, VITOR-HOREN L, BETHEL C R, et al. Clinical evolution of New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM) optimizes resistance under Zn(II) deprivation[J]. Antimicrob Agents Chem, 2018, 62(1): e01849-17.

[12] REINA A C, MARTINEZ-PIERNAS A B, BERTAKIS Y, et al. Photochemical degradation of the carbapenem antibiotics imipenem and meropenem in aqueous solutions under solar radiation[J]. Water Res, 2018, 128: 61-70.

[13] ZHANG R, LIU L, ZHOU H, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) strains in China[J]. EBioMedicine, 2017, 19: 98-106.

[14] 林琳, 肖晓光, 王楠, 等. 阿维巴坦联合头孢他啶或氨曲南对耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌体外抗菌活性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(1): 15-19.

[15] ZHU X, SUN C, CHEN H, et al. Co-occurrence of three different plasmids in an extensively drug-resistant hypervirulent Klebsiella pneumoniae isolate causing urinary tract infection[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 23: 203-210.

[16] SU S, LI C, ZHAO Y, et al. Outbreak of KPC-2-Producing Klebsiella pneumoniae ST76 isolates in an intensive care unit and neurosurgery unit[J]. Microb Drug Resist, 2020, 26(9): 1009-1018.

[17] 王菊梅, 张洪球, 陆军, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶基因检测及同源性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(23): 5281-5284. (下转第 1898 页)

患者的肝脏肿瘤最大径呈正相关($P<0.05$)。PIVKA-Ⅱ可以作为监测 HCC 患者的肿瘤变化、治疗及预后判断的一项指标。

本研究还对 PIVKA-Ⅱ联合 AFP 检测对 HCC 的诊断效能进行了探讨,以乙型肝炎相关肝硬化患者为对照,绘制 ROC 曲线,通过计算得到 PIVKA-Ⅱ的 cut-off 值为 52.91 mAU/mL。且本研究结果显示,PIVKA-Ⅱ,以及 PIVKA-Ⅱ联合 AFP 检测的诊断效能均高于 AFP。PIVKA-Ⅱ,以及 PIVKA-Ⅱ联合 AFP 检测诊断 HCC 比 AFP 更灵敏,PIVKA-Ⅱ联合 AFP 检测可弥补单一 AFP 检测对 HCC 诊断的局限性,可提高乙型肝炎患者中早期 HCC 的检出率。

综上所述,PIVKA-Ⅱ在诊断 HCC 中有较好的辅助诊断价值,在乙型肝炎相关肝硬化患者中筛查 HCC 的 cut-off 值为 52.91 mAU/mL。PIVKA-Ⅱ联合 AFP 检测可以进一步提高对 HCC 的诊断效能,推荐将血清 PIVKA-Ⅱ、AFP 联合检测用于早期 HCC 诊断,有利于及早发现早期 HCC,患者能够尽早接受治疗,提高生存率。

参考文献

[1] BURT A D, ALVES V, BEDOSSA P, et al. Data set for the reporting of intrahepatic cholangiocarcinoma, perihilar cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma: recommendations from the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR)[J]. *Histopathology*, 2018, 73(3): 369-385.

[2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)[J]. *中华消化外科杂志*, 2017, 16(7): 635-647.

[3] JENNIFER G, ANDREI B, PAUL J C, et al. Insights into the hepatocellular carcinoma patient journey: results of the first global quality of life survey[J]. *Future Oncology*, 2018, 14(17): 1701-1710.

[4] CHEN D T, PAN J H, CHEN Y H, et al. The mu-opioid

receptor is a molecular marker for poor prognosis in hepatocellular carcinoma and represents a potential therapeutic target[J]. *Br J Anaesth*, 2019, 122(6): E157-E167.

[5] CAVIGLIA G P, ABATE M L, GAIA S, et al. Risk of hepatocellular carcinoma in HBV cirrhotic patients assessed by the combination of miR-122, AFP and PIVKA-Ⅱ[J]. *Panminerva Med*, 2017, 59(4): 283-289.

[6] PURCELL Y, SARTORIS R, PARADIS V, et al. Influence of pretreatment tumor growth rate on objective response of hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(2): 305-313.

[7] SADIK N A, AHMED N R, MOHAMED M F, et al. Serum vascular endothelial growth factor in patients with hepatocellular carcinoma and its validity as a tumor biomarker[J]. *Open Biomarkers J*, 2019, 9(1): 84-94.

[8] KOMOROWSKI A L, HSU C C, JULKA K D, et al. AFP role in predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after living donor liver transplantation in HCV patients[J]. *Neoplasma*, 2018, 65(3): 455-460.

[9] RAHAMTALLA F A, ABDALLA M S, MUDAWI S B, et al. Estimation of telomerase, AFP, and AFP-L3 levels in Sudanese patients with hepatocellular carcinoma and chronic liver diseases[J]. *Comp Clin Pathol*, 2018, 27(5): 1133-1140.

[10] 薄维波, 李海英, 安仲武, 等. 血清 PIVKA-Ⅱ、TK1 和 AFP 联合检测在肝细胞癌诊断中的价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(11): 1317-1321.

[11] 李梦华, 王映, 都小晗, 等. AFP 与 TAP 联合检测在肝细胞癌中的临床应用研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(11): 1313-1316.

[12] 胡仁智, 赵世巧, 申波, 等. 血清甲胎蛋白及其异质体和异常凝血酶原对原发性肝癌的诊断价值[J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(8): 634-637.

(收稿日期: 2021-11-09 修回日期: 2022-04-03)

(上接第 1894 页)

[18] CASSINI A, HÖGBERG L D, PLACHOURAS D, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis[J]. *Lancet Infect Dis*, 2019, 19(1): 56-66.

[19] YIN D, DONG D, LI K, et al. Clonal dissemination of OXA-232 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*

in neonates[J]. *Antim Ager Chem*, 2017, 61(8): e00385-17.

[20] HU F P, GUO Y, ZHU D M, et al. Resistance trends among clinical isolates in China reported from CHINET surveillance of bacterial resistance, 2005 — 2014[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22(Suppl 1): S9-S14.

(收稿日期: 2021-10-27 修回日期: 2022-03-23)