

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.21.021

多重耐药肺炎克雷伯菌的整合子-基因盒分布研究

胡海珍¹, 朱国萍², 李小宁^{1△}

1. 皖南医学院弋矶山医院检验科, 安徽芜湖 241000; 2. 安徽师范大学, 安徽芜湖 241000

摘要:目的 研究芜湖地区肺炎克雷伯菌携带的整合子-基因盒分布情况, 分析耐药基因盒与耐药表型两者的相关关系。方法 收集 2018 年 6 月至 2019 年 8 月皖南医学院弋矶山医院 105 株肺炎克雷伯菌的分离株。通过 PCR 扩增技术, 对整合酶基因进行扩增, 对含有整合子的肺炎克雷伯菌的可变区进行 PCR 扩增, 检测碱基序列, 并对序列进行耐药基因盒比对及分析。结果 对 105 株肺炎克雷伯菌整合子进行检测, 发现含 I 类整合子的菌株有 61 株 (58.1%), 未发现含有 II、III 类整合子菌株。对含有 I 类整合子菌株的可变区进行 PCR 扩增, 扩增产物进行凝胶成像系统检测, 有 39 株可见亮条带, 其中非多重耐药肺炎克雷伯菌有 3 株, 仅产超广谱 β -内酰胺酶的肺炎克雷伯菌有 18 株, 既产超广谱 β -内酰胺酶又产碳青霉烯酶的肺炎克雷伯菌有 18 株。将显示出亮条带的 39 株肺炎克雷伯菌菌株的 5'-3' 可变区的 PCR 产物进行测序, 其中 27 株可比对出耐药基因, 总共有 5 种耐药基因, 分别为磺胺类 dfrA1、dfrA12 和氨基糖苷类 aacA4、aadA1、aadA2, 且这 27 株的药敏试验显示均对磺胺类、氨基糖苷类的抗菌药物耐药。结论 研究发现芜湖地区肺炎克雷伯菌以 I 类整合子为主, 尚未发现 II、III 类整合子。多重耐药菌较非多重耐药菌整合子的检出率高, 芜湖地区肺炎克雷伯菌菌株对氨基糖苷类及磺胺类药物的耐药率较高, 应尽量避免使用。

关键词:肺炎克雷伯菌; 整合子; 基因盒; 多重耐药; 耐药表型

中图法分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)21-3151-05

Distribution of integron gene cassette in multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae*

HU Haizhen¹, ZHU Guoping², LI Xiaoning^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Yijishan Hospital, Wannan Medical College, Wuhu, Anhui 241000, China; 2. Anhui Normal University, Wuhu, Anhui 241000, China

Abstract: Objective To study the distribution of integron gene cassette of *Klebsiella pneumoniae* in Wuhu area, and analyze the correlation between drug resistance gene cassette and drug resistance phenotype. **Methods** The 105 strains of *Klebsiella pneumoniae* from June 2018 to August 2019 in Yijishan Hospital of Wannan Medical College were collected. The integrase gene was amplified by PCR amplification technology. The variable region of *Klebsiella pneumoniae* containing integron was amplified by PCR, and the base sequence was determined. The sequence was compared and analyzed by drug resistance gene cassette. **Results** According to the analysis of 105 strains of *Klebsiella pneumoniae* integrons, 61 strains (58.1%) containing class I integrons were found, and no strains containing class II and III integrons were found. PCR amplification of the variable region containing I class integrons and detection of the amplified products by gel imaging system revealed 39 visible bands, of which 3 were non multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, 18 strains of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta lactamases, and 18 strains *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta lactamases and carbapenems. The PCR products of the 5'-3' variable region of 39 *Klebsiella pneumoniae* strains with bright bands were sent to sequencing, among them, 27 strains had comparable drug resistance genes. There were 5 kinds of resistance genes in total, which were sulfonamides dfrA1, dfrA12 and aminoglycosides aacA4, aadA1 and aadA2. The drug sensitivity test of these 27 strains showed that they were resistant to sulfonamides and aminoglycosides. **Conclusion** Class I integrons are the main integrons in *Klebsiella pneumoniae* in Wuhu, but class II and class III integrons have not been found. The rate of integron detection in multidrug-resistant bacteria was higher than that in non multidrug-resistant bacteria. The resistance rate of *Klebsiella pneumoniae* to aminoglycosides and sulfonamides was higher in Wuhu area, which should be avoided as far as possible.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*; integron; gene cassette; multidrug resistance; drug resistance phenotype

肺炎克雷伯菌属于肠杆菌科中的克雷伯菌属,该菌广泛存在于自然界中,是一种常见的条件致病菌。肺炎克雷伯菌易对药物产生耐药性,且耐药率在升高,其耐药机制比较复杂。随着抗菌药物的广泛使用,容易造成体内菌群失调,引发肺部炎症、肝脓肿、泌尿系统感染等疾病^[1-2],已经出现了多重耐药、广泛耐药的肺炎克雷伯菌感染,给临床抗感染治疗带来挑战。

整合子是常见的可移动遗传元件,具有捕获并整合外来基因盒的新型 DNA 元件,是一种天然复制的表达载体,具备基因盒的遗传结构及位点重组系统,通过对外来基因进行切除和整合,从而获取耐药基因,同时,在上游的启动子作用下使其表达^[3-4]。它通过获取耐药基因盒的方式,使自身的位点特异性基因重组,将多种耐药基因组装在一起造成耐药基因扩散,使细菌具有耐药性,甚至是多重耐药性^[5]。随着越来越多的新药研发,抗菌药物的广泛使用,细菌耐药基因盒的类型逐渐增多,最终导致更多复杂的耐药菌出现^[6]。因此,从分子机制上研究整合子-基因盒介导耐药形成的原因,显得尤为重要。本研究拟采用 PCR 扩增技术检测芜湖地区整合子-基因盒在肺炎克雷伯菌中的分布情况,分析肺炎克雷伯菌菌株中含有的耐药基因盒,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 菌株收集 收集 2018 年 6 月至 2019 年 8 月 105 株经 Vitek2 全自动细菌鉴定仪鉴定为肺炎克雷伯菌菌株的分离株,均来自皖南医学院弋矶山医院,编号依次为 1~105。按照《全国临床检验操作规程》第 4 版^[7]操作流程对细菌进行分离培养。

1.1.2 药敏试验 采用 Vitek2 全自动微生物分析鉴定仪对 105 株肺炎克雷伯菌分离株进行细菌再次鉴定及药敏试验,对药敏试验结果进行初步筛查。多重耐药菌株的判断标准:对青霉素类、头孢菌素类、碳青霉烯类、氨基糖苷类、喹诺酮类中的 3 类或 3 类以上耐药的菌株,即为多重耐药菌株。产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)的肺炎克雷伯菌的判断标准:ESBLs 可以水解灭活青霉素类、头孢菌素类;一般对青霉素类抗菌药物及碳青霉烯类抗菌药物无水解作用;活性可被舒巴坦、克拉维酸等复合制剂所抑制。耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)的判断标准:对碳青霉烯类抗菌药物(如亚胺培南、美罗培南等)耐药的菌株。

1.2 仪器与试剂 引物序列根据参考文献[8]由安徽通用生物有限公司设计合成,见表 1。琼脂糖凝胶购自安徽通用生物有限公司,PCR 仪购自美国 ABI 公司,电泳仪购自北京六一仪器厂,凝胶成像系统购自美国 Biorad 公司,Vitek2 微生物鉴定分析仪购自法国 Biomerieux 公司。

1.3 方法

1.3.1 模板制备 将收集的菌种用三区划线法接种

在血平板上,放入培养箱中 37 ℃ 培养 24 h;用灭菌过的接种针蘸取单个菌落后,将其接种于盛有肉汤的 EP 管中,随后放入 37 ℃ 摇床中增菌后待用。

表 1 引物序列及产物长度

基因名称	引物序列	产物长度(bp)
整合酶Ⅰ	5':ACG AGC GCA AGG TTT CGG T	525
	3':GAA AGG TCT GGT CAT ACA TG	
整合酶Ⅱ	5':GTG CAA CGC ATT TTG CAG G	403
	3':CAA CGG AGT CAT GCA GAT G	
整合酶Ⅲ	5':CAT TTG TGT TGT GGA CGG C	717
	3':GAC AGA TAC GTG GTT TGG CAA	
整合子可变区	5':GGC ATC CAA GCA GCA AG	可变
	3':AAG CAC TTG ACC TGA T	

1.3.2 整合子检测 PCR 反应体系共 20.0 μL: DNA 模板 1.0 μL,引物(整合酶Ⅰ、整合酶Ⅱ或整合酶Ⅲ)0.8 μL,绿酶(M7822 GoTaq G2 Green Master Mix)10.0 μL,灭菌水 8.2 μL。PCR 反应条件:95 ℃ 预变性 5 min,94 ℃ 变性 45 s,60、54、52 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 3 min,34 个循环;72 ℃ 延伸 10 min。1% 琼脂凝胶:用电子天平称取 0.6 g 琼脂糖加入烧瓶,往烧瓶中加入 60 mL 1×TAE,用微波炉进行多次短时间加热,至琼脂糖溶解且看不见任何絮状物后,过凉水冷却至 55 ℃,加入 6.0 μL EB 摇晃至均匀后,缓慢倒入洁净的模具中,倾倒过程中应避免气泡的产生,放置室温中冷却至凝固定型,待琼脂凝固后可拔出梳子,备用。PCR 产物各取 5.0 μL 进行点样并记录位置,设电压 120 V,电泳 30 min,电泳结束后,使用凝胶成像仪检测。

1.3.3 基因盒的检测 PCR 反应体系共 50.0 μL: DNA 模板 4.0 μL,引物(整合子可变区)4.0 μL,绿酶(M7822 GoTaq G2 Green Master Mix)18.0 μL,灭菌水 24.0 μL。PCR 反应条件:94 ℃ 预变性 4 min,94 ℃ 变性 4 min,55 ℃ 退火 1 min,72 ℃ 延伸 5 min,34 个循环;72 ℃ 延伸 10 min。1% 琼脂凝胶:同 1.3.2。PCR 产物各取 5.0 μL 进行点样并记录位置,设电压 120 V,电泳 30 min,电泳结束后,使用凝胶成像仪检测。

1.3.4 扩增产物的测序及分析 PCR 扩增产物送安徽通用生物有限公司测序。采用 BLAST 比对分析测序结果。

1.4 统计学处理 统计分析采用 Graphpad Prism 6.0 统计学软件,计数资料以率表示,采用 χ² 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

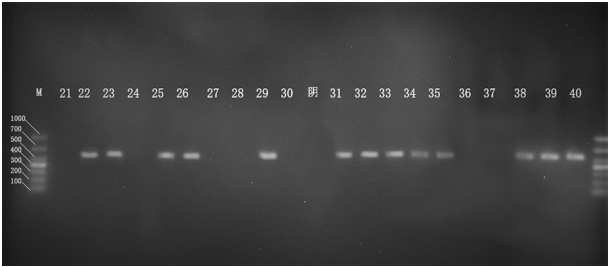
2.1 药敏试验 105 株肺炎克雷伯菌分离株依据耐药性分类:非多重耐药肺炎克雷伯菌有 52 株(49.5%);多重耐药肺炎克雷伯菌有 53 株(50.5%),包括仅产 ESBLs 的肺炎克雷伯菌有 35 株,同时产

ESBLs 和 CRKP 肺炎克雷伯菌有 18 株。

2.2 整合子检测结果 在 105 株肺炎克雷伯菌分离株中,检出 I 类整合子 61 株(部分检测结果见图 1),检出率为 58.1%(61/105),未检出 II 类和 III 类整合子菌株。61 株中有 18 株是同时产 ESBLs 和 CRKP 肺炎克雷伯菌,有 20 株是仅产 ESBLs 的肺炎克雷伯菌,有 23 株是非多重耐药肺炎克雷伯菌。多重耐药肺炎克雷伯菌的 I 类整合子的检出率(71.7%,38/53)明显高于非多重耐药肺炎克雷伯菌(44.2%,23/52),差异有统计学意义($P=0.0043$)。

2.3 可变区基因盒测序结果 含有 I 类整合酶的 61 株菌中,可变区的 PCR 扩展后凝胶电泳并通过凝胶成像系统显像,其中有 39 株可见亮条带,22 株未见条带。39 株亮条带中,非多重耐药肺炎克雷伯菌有 3 株,仅产 ESBLs 的肺炎克雷伯菌有 18 株,同时产 ESBLs 和 CRKP 的肺炎克雷伯菌有 18 株。22 株未见条带中 20 株为非多重耐药肺炎克雷伯菌,2 株为产 ESBLs 的肺炎克雷伯菌。将 39 株 PCR 产物送至安

徽通用生物有限公司测序,经 BLAST 比对,有 27 株的基因序列比对出耐药基因(27 株菌株均对喹诺酮类耐药,却未检出相应的耐药基因盒 qnrVc1,其中有 13 株菌株对亚胺培南耐药,却未检出相应的耐药基因盒 blaKPC),12 株未比对出耐药基因。共比对出 5 种耐药基因:氨基糖苷类 aadA1、aacA4、aadA2 和磺胺类 dfrA1、dfrA12。该 39 株耐药表型及比对出的耐药基因盒组合情况见表 2。



注:M 表示 DNA Marker,阴表示阴性对照,22、23、25、26、29、31、32、33、34、35、38、39、40 为扩增结果阳性条带。

图 1 I 类整合子(21~40 号菌株)

表 2 39 株可变区阳性条带的肺炎克雷伯菌检测结果

标号	耐药表型	整合子	产 ESBLs/CRKP	耐药基因盒
2	e+d+b+c+a+f+g	I	产 ESBLs,CRKP	aacA4
8	e+d+f+a+b	I	产 ESBLs,CRKP	aacA4
31	e+d+c+f+a+b+g	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+dfrA12+aadA2
91	e+d+f+b+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	aacA4+aadA1+aadA2
92	e+d+f+b+c+a	I	产 ESBLs,CRKP	—
93	e+d+f+b+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+aadA2
94	e+d+f+b+c+a	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+aadA2
95	e+d+f+b+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+aadA2
96	e+d+f+b+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+aadA2
97	e+d+f+b+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+aadA2
98	e+d+f+b+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+aadA2
99	e+d+f+b+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	—
100	e+d+f+b+c+a	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+aadA2
101	e+d+f+b+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	—
102	e+d+f+b+c+a	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+aadA2
103	e+d+f+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	—
104	e+d+f+b+c+a	I	产 ESBLs,CRKP	aadA1+aadA2
105	e+d+f+c+a+g	I	产 ESBLs,CRKP	—
4	e+d+b+c+f+g	I	产 ESBLs	aacA4
7	e+d+b+f+g	I	产 ESBLs	—
9	e+d+c+f+b+g	I	产 ESBLs	aacA4
19	e+d+c+f+g	I	产 ESBLs	—
20	e+d+b+f+g	I	产 ESBLs	—
22	e+d+c+f+g	I	产 ESBLs	—
26	e+d+c+f+b+g	I	产 ESBLs	aadA1+dfrA12+aadA2
32	e+d+f+g	I	产 ESBLs	—
39	e+d+f+c+b+g	I	产 ESBLs	aacA4
49	e+d+c+f+b+g	I	产 ESBLs	aadA1+dfrA12+aadA2

续表 2 39 株可变区阳性条带的肺炎克雷伯菌检测结果

标号	耐药表型	整合子	产 ESBLs/CRKP	耐药基因盒
50	e+d+f+b+g	I	产 ESBLs	aadA1+dfrA12+aadA2
55	e+d+c+f+b+g	I	产 ESBLs	aadA1+dfrA12+aadA2
68	e+d+c+f+b+g	I	产 ESBLs	aadA1+dfrA12+aadA2
72	e+d+c+f+b+g	I	产 ESBLs	aacA4
75	e+d+c+f+b+g	I	产 ESBLs	aacA4
79	e+d+c+f+g	I	产 ESBLs	—
82	e+d+f+c+b+g	I	产 ESBLs	aadA1+dfrA12+aadA2
85	e+d+c+g+f	I	产 ESBLs	—
34	e+g	I	—	dfrA1
40	e+g	I	—	dfrA1
70	e+g	I	—	dfrA1

注:a 类为碳青霉烯类;亚胺培南、美罗培南;b 类为氨基糖苷类;庆大霉素、阿米卡星;c 类为喹诺酮类;环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星;d 类为头孢菌素类;头孢唑啉、头孢他啶、头孢噻肟、头孢吡肟;e 类为广谱青霉素类;氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林;f 类为单环类;氨基南;g 类为磺胺类;复方磺胺甲噁唑;—表示无相应结果。

3 讨 论

肺炎克雷伯菌引发肺炎、肝脓肿、泌尿系统等感染性疾病日益增多,非多重耐药肺炎克雷伯菌引起的感染,给临床抗感染治疗带来巨大挑战。研究肺炎克雷伯菌的耐药机制,对于临床医生及时选择有效的抗菌药物起到很大的指导作用。目前,碳青霉烯类抗菌药物是治疗临床上多重耐药菌感染患者常用且有效的药物。随着此类药物的大范围不规范应用,导致耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌不断增多,尤其是 CRKP。根据我国监测报告,CRKP 菌株的检出率呈逐年上升趋势,亚胺培南和美罗培南的耐药率由 2015 年的 15.6%和 14.4%,上升至 2017 年的 20.9%和 24.0%^[9-10]。

整合子是一类可以通过位点特异性重组方式捕获、剪切、整合外源性耐药基因的 DNA 元件,其被认为是导致抗菌药物抗性、毒性和致病性产生及扩散的移动元件^[11]。其基本组成包括 5'-保守末端、3'-保守末端及中间的可变区,可变区可在整合酶作用下插入一个或者多个耐药基因盒,使得细菌表现出相应耐药特征。根据 5'-保守末端中编码整合酶 Int I 基因的不同,整合子目前可以分为 6 类,最常见的是 I 类整合子,其次是 II、III 类整合子。

基因盒通常是碱基数目较少的、可移动的环状 DNA 小分子,一般可单独存在,通过整合酶及启动子的作用,基因盒才可能完成转录并表达。基因盒编辑的基因有限,所以一般不含有启动子,只有被整合子捕获后并插入到整合酶基因上特殊的位点时才能依靠整合子上的启动子进行转录及表达。能够整合到整合子上的基因盒主要为耐药基因盒,一般由其所编码的基因名字对其命名^[12]。因耐药基因盒可被自由剪切或整合,从而导致基因盒在细菌之间相互传递^[13]。相关研究显示,基因盒中最常见的是 aadA 和 dfrA 基因盒^[14-15]。

本研究所收集的 105 株肺炎克雷伯菌分离株中,非多重耐药肺炎克雷伯菌有 52 株(49.5%),多重耐

药肺炎克雷伯菌有 53 株(50.5%),53 株中有 35 株是产 ESBLs 的肺炎克雷伯菌,剩余 18 株是同时产 ESBLs 和 CRKP 的肺炎克雷伯菌,本次收集标本中无仅产 CRKP 的肺炎克雷伯菌,可见产 CRKP 的肺炎克雷伯菌同时对青霉素、头孢类、喹诺酮类等有着较高的耐药性。

通过对 105 株肺炎克雷伯菌分离株进行检测,发现 I 类整合子 61 株(58.1%),未发现 II、III 类整合子菌株。61 株中 38 株(62.3%)为多重耐药肺炎克雷伯菌,23 株(37.7%)为非多重耐药肺炎克雷伯菌,由此可见,I 类整合子在多重耐药和非多重耐药肺炎克雷伯菌中的分布差异极为明显,多重耐药肺炎克雷伯菌分离株中 I 类整合子的检出率明显高于非多重耐药肺炎克雷伯菌。

本研究中对 61 株有 I 类整合子菌株的可变区进行 PCR 扩增,凝胶电泳试验后凝胶块经凝胶成像系统显示,有 39 株出现亮条带,39 株可变区扩增产物送测序,测序结果经基因比对,其中有 27 株比对出了 5 种耐药基因,分别是磺胺类 dfrA1、dfrA12 和氨基糖苷类 aadA1、aacA4、aadA2。结合菌株的耐药表型结果分析,耐药基因盒与耐药表型有一定的相关联系,但有些菌株表达了耐药表型却未检出所对应的耐药基因盒,如 27 株菌株都对喹诺酮类耐药,却未检出相应的耐药基因盒 qnrVc1,其中有 13 株菌株对亚胺培南耐药,却未检出相应的耐药基因盒 blaKPC,说明耐药表型与耐药基因盒不是完全对应的,还需进一步研究其他的耐药机制。

综上所述,芜湖地区肺炎克雷伯菌以 I 类整合子为主,未发现 II、III 类整合子,多重耐药肺炎克雷伯菌较非多重耐药肺炎克雷伯菌的整合子检出率高,整合子可变区的携带基因盒与细菌耐药性有着相关关系,耐药基因和耐药表型具有一致性,且细菌存在多种耐药机制。根据研究结果显示,芜湖地区肺炎克雷伯菌对氨基糖苷类及磺胺类抗菌药物耐药率较高,应尽量

避免此类抗菌药物的使用。

参考文献

- [1] SAWANO T, TSUBOKURA M, LEPPOLD C, et al. Klebsiella pneumoniae sepsis deteriorated by uncontrolled underlying disease in a decontamination worker in Fukushima, Japan [J]. J Occup Health, 2016, 58(3): 320-322.
- [2] ATIFPOUR M, GHOLIPOUR A, DAMAVANDI M S. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae isolates in nosocomial and community-acquired urinary tract infections[J]. Jundishapur J Microbiol, 2016, 9(3): e31179.
- [3] 陈文凤, 叶彤, 李琳. 整合子在细菌耐药中的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2019, 40(3): 216-218.
- [4] 徐令清, 黄圳婷, 汤贤贤, 等. 铜绿假单胞菌整合子分布差异与耐药性的关系 [J]. 重庆医学, 2019, 48(16): 2755-2758.
- [5] 刘唯, 陈键, 杨子林. 重症监护病房老年患者感染嗜麦芽寡养单胞菌整合基因调查及耐药性分析[J]. 实用预防医学, 2019, 26(5): 577-580.
- [6] 杨海清. 2016—2017 年某院 ICU 多重耐药菌监测的调查发现[J]. 河南预防医学杂志, 2019, 30(3): 209-210.
- [7] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 720-721.

(上接第 3150 页)

参考文献

- [1] 董芬, 张彪, 单广良. 中国甲状腺癌的流行现状和影响因素[J]. 中国癌症杂志, 2016, 26(1): 47-52.
- [2] 孙辉, 刘晓莉. 甲状腺癌规范化诊治理念更新及其意义[J]. 中国实用外科杂志, 2015, 35(1): 72-75.
- [3] 黄婷, 李卫星, 张丽. 促甲状腺激素及甲状腺自身抗体与分化型甲状腺癌的关系研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(36): 4258-4261.
- [4] 康海岩, 杨庭显, 张磊. 甲状腺癌患者血清 Gal-3, IL-17, IL-35, anti-TgAb 的变化及其意义[J]. 西北国防医学杂志, 2017, 38(8): 21-24.
- [5] 张雷, 何流, 龙佩, 等. 检测分化型甲状腺癌患者术前 Tg、TgAb 及 TSH 水平的临床分析[J]. 中国医学装备, 2017, 14(10): 97-100.
- [6] 冯红芳, 陈创, 孙圣荣, 等. 1 585 例甲状腺癌的临床病理特点及总结分析[J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(2): 77-81.
- [7] 谢强. 甲状腺癌术后相关激素水平的变化及意义[J]. 中国现代普通外科进展, 2016, 19(1): 28-31.
- [8] 翟中山, 李天听, 陈学宝, 等. 甲状腺球蛋白及抗体测定在结节性甲状腺肿与甲状腺癌鉴别诊断中的意义[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(23): 4502-4504.
- [9] 黄上林, 付利军, 邱新光. 血清抗甲状腺球蛋白抗体水平与罹患甲状腺癌风险大小的相关性分析[J]. 中华内分泌

- [8] 周亚玲, 陈红, 朱丽华. 临床革兰阴性杆菌整合子携带情况及其与耐药性的相关性分析[J]. 临床检验杂志, 2019, 37(1): 59-61.
- [9] 徐安, 卓超, 苏丹虹, 等. 2005—2014 年 CHINET 克雷伯菌属细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(3): 267-274.
- [10] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2016 年中国 CHINET 细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(5): 481-491.
- [11] CHEN D Q, JIANG Y T, FENG D H, et al. Integron mediated bacterial resistance and virulence on clinical pathogens[J]. Microb Pathog, 2018, 114: 453-457.
- [12] 魏取好, 蒋晓飞, 吕元. 细菌整合子研究进展 [J]. 中国抗菌药物杂志, 2008, 33(1): 1-5.
- [13] 周亚玲, 陈红, 朱丽华, 等. 临床革兰阴性杆菌整合子携带情况及其与耐药性的相关性分析 [J]. 临床检验杂志, 2019, 37(1): 59-61.
- [14] 秦声远, 陈凤. 产 ESB� 肺炎克雷伯菌的 β -内酰胺类与氨基糖苷类和磺胺类耐药元件分析 [J]. 中华医院感染杂志, 2017, 27(21): 4815.
- [15] 茅孝莹, 许小敏, 陈琳, 等. 大肠埃希菌临床连续分离株常见耐药元件检测与分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(21): 4801.

(收稿日期: 2020-02-28 修回日期: 2020-06-28)

- 外科杂志, 2019, 13(1): 9-12.
- [10] 叶卫丰, 贺敏, 苏建荣. IL-17 和 IL-35 在甲状腺癌患者血清中的水平及临床意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2015, 14(1): 32-35.
- [11] 潘秀和, 彭笑, 高巧艳, 等. IL-35 在感染、炎症与自身免疫性疾病中的作用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2015, 35(3): 237-240.
- [12] 刘杨, 吴高松, 王文斌, 等. 血清 IL-17、IL-35 及 SIL-2R 表达水平与甲状腺癌发生发展的关系[J]. 肿瘤防治研究, 2016, 43(9): 789-791.
- [13] 王惟, 张达容, 黄煜琪, 等. 甲状腺癌患者血清 IL-17, IL-35, SIL-2R 表达水平及其临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(4): 729-732.
- [14] 罗艳, 胡桂英, 李颖, 等. 促甲状腺激素和甲状腺自身抗体在分化型甲状腺癌患者中的表达[J]. 安徽医学, 2016, 38(1): 60-62.
- [15] 刘彦章, 王晓华. 血清促甲状腺激素浓度与分化型甲状腺癌患者相关性研究[J]. 安徽医药, 2015, 19(10): 1969-1970.
- [16] 李杰, 张博, 白杨, 等. 血清甲状腺球蛋白及促甲状腺素在分化型甲状腺癌预后判断中的意义[J]. 临床外科杂志, 2016, 24(3): 193-196.

(收稿日期: 2020-02-21 修回日期: 2020-06-20)