

畜禽源大肠杆菌质粒介导 β -内酰胺酶检测及其 耐药基因特性研究

舒刚¹ 侯蓉² 林居纯^{1*} 钟钦卿¹ 刘颂蕊² 邓向东¹

(1. 四川农业大学 动物医学院, 成都 611130;

2. 成都大熊猫繁育研究基地, 成都 610081)

摘要 为探讨畜禽源大肠杆菌临床菌株产 β -内酰胺酶及其基因特性, 采用常规检测法检测菌株产 β -内酰胺酶情况, PCR 法检测 ESBLs、AmpC 基因型, 质粒结合转移试验研究耐药基因分子传播机制, 并使用微量肉汤稀释法检测供体菌及接合子的药物敏感性。结果显示: 467 株食品动物源大肠杆菌未检出产碳青霉烯酶和金属 β -内酰胺酶, 产 ESBLs 和 AmpC 分别达 36.83% 和 13.70%; 176 株产 β -内酰胺酶菌株检出 *bla*TEM、*bla*CTX-M、*bla*OXA、*bla*CIT 和 *bla*DHA 分别为 84.09%、60.80%、14.77%、35.80% 和 1.70%; 本次质粒转移率为 50%, 多数转化子获得了供体菌的耐药性及耐药基因。以上结果说明, 产 ESBLs、AmpC 菌株广泛存在于本次检测菌株中, *bla*TEM、*bla*CTX-M 和 *bla*CIT 是 β -内酰胺酶基因主要流行基因型, 质粒在 β -内酰胺酶基因的水平传播起主要作用。

关键词 畜禽; 大肠杆菌; ESBLs; AmpC; 基因型

中图分类号 S 852.61⁺2

文章编号 1007-4333(2016)08-0092-06

文献标志码 A

Detection of *Escherichia coli* plasmid-mediated β -lactamase from livestock and poultry and characterization of antimicrobial resistance

SHU Gang¹, HOU Rong², LIN Ju-chun^{1*}, ZHONG Qin-qing¹, LIU Song-rui², DENG Xiang-dong¹

(1. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. Chengdu Research Base of Giant Panda Breeding, Chengdu 610081, China)

Abstract To detect and characterize plasmid-mediated β -lactamase in *E. coli* isolates derived from livestock and poultry, the prevalence of β -lactamase in *E. coli* isolates was investigated by conventional test. Genotypes of extended spectrum β -lactamases (ESBLs) and AmpC were detected by PCR; Genetic transmission of β -lactamase genes was carried by plasmid conjugation experiment; Antimicrobial susceptibility of donors and transconjugants was tested by using broth micro dilution method. The results showed that the detection rates of carbapenemase, metallo- β -lactamase, ESBLs and AmpC in 467 *E. coli* isolates were 0.00%, 0.00%, 36.83% and 13.70%, respectively; The prevalence rates of *bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*OXA, *bla*CIT and *bla*DHA in 176 β -lactamase positive strains were 84.09%, 60.80%, 14.77%, 35.80% and 1.70%, respectively; The positive rate of plasmid conjugation was 50.00% in the study, and the majority of transconjugants had acquired antimicrobial resistance phenotypes and genotypes originated from parental isolates. In conclusion, ESBLs or/and AmpC producing strains exist widely among the isolates tested, *bla*TEM, *bla*CTX-M and *bla*CIT are dominant genotypes, and horizontal plasmid transfer plays a major role in the spread of β -lactamase genes in *E. coli*.

Keywords livestock and poultry; *Escherichia coli*; extended spectrum β -lactamase; AmpC; genotype

收稿日期: 2015-10-15

基金项目: 国家科技部支撑计划项目(2012BAC01B06); 四川省科技厅项目-苗子工程(035Z1143)

第一作者: 舒刚, 副教授, 主要从事兽医药理学研究, E-mail: dyysg2005@sicau.edu.cn

通讯作者: 林居纯, 教授, 主要从事兽医药理学研究, E-mail: juchunlin@126.com

大肠杆菌作为常见的共生菌和人兽共患病原菌,具有重要医学、兽医学及公共卫生学研究意义。随着抗菌药物的广泛使用,耐药菌株迅速出现,引起了全球广泛关注^[1-2]。我国食品动物源性大肠杆菌耐药性监测结果显示,菌株对多种抗菌药物呈高水平、多重耐药性,其中对 β -内酰胺类耐药呈持续上升趋势^[3-4]。 β -内酰胺酶的产生是细菌对 β -内酰胺类耐药主要原因。当前最具有临床意义的 β -内酰胺酶包括 ESBLs(SHV、TEM 和 CTX-M 型),碳青霉烯酶(KPC、VIM、IPM、NDM 和 OXA-48)和质粒介导的 AmpC(CMY 型)^[5]。2005 年以前,我国动物源大肠杆菌产超广谱 β -内酰胺酶少见,但近年来在共生和临床菌株中均检出产广谱 β -内酰胺酶,如广东分离菌中 ESBLs 检出率为 19.37%,以 *bla*CTX-M 基因型为主^[6];河南和山东菌株中 ESBLs 检出率分别高达 73.9% 和 83.13%,以 *bla*TEM 和 *bla*CTX-M 为主^[7-8]。由于编码广谱 β -内酰胺酶的基因常位于质粒等可移动基因元件上,与其他耐药基因相关。这表明不仅是 β -内酰胺类药物,其他非 β -内酰胺类抗菌药物也可共同筛选产广谱 β -内酰胺酶菌株,使广谱 β -内酰胺酶持久存在于微生物群中,从而在食品动物源大肠杆菌中频繁检出产酶菌^[9]。

在我国不同地区,由于使用抗菌药物的习惯不同,分离大肠杆菌耐药性呈现地域性特征,产超广谱 β -内酰胺酶及其基因型的流行也呈多样性^[3-4,6-8]。四川、重庆作为我国西南养殖业发达地区,每年抗菌药物使用量大,用药不规范现象严重,而对四川省畜禽源大肠杆菌耐药性,以及产超广谱 β -内酰胺酶监测较少^[4]。为丰富我国动物源细菌耐药性监测数据,和有效控制产超广谱 β -内酰胺酶菌株的流行和扩散,本研究收集了来自四川省不同养殖场大肠杆菌临床菌株,对菌株产 β -内酰胺酶及其基因型,耐药基因水平传播进行了检测研究,旨在了解四川省畜禽源大肠杆菌耐药性流行规律,为兽医临床合理使用抗菌药物提供依据。

1 材料与方 法

1.1 菌株

于 2006—2012 年从四川省、重庆地区不同养殖场的患病猪、鸡、鸭和奶牛粪便棉拭子、肝、肺或牛奶中分离鉴定出大肠杆菌 467 株;大肠杆菌 ATCC25922 购自杭州天和微生物试剂有限公司;

耐叠氮钠大肠杆菌 J53 AZ^r,由中国农业大学兽医药理学教研室惠赠。

1.2 主要药品及试剂

阿莫西林等药物购自中国兽药监察所;头孢他啶(CAZ)、头孢他啶/克拉维酸(CAZ/CA)、头孢噻肟(CTX)、头孢噻肟/克拉维酸(CTX/CA)、头孢西丁(FOX)、美罗培南(MEM)和 I 型新德里金属 β -内酰胺酶检测盒等药敏纸片,均购自杭州天和微生物试剂有限公司;叠氮钠,购自杭州天和微生物试剂有限公司;琼脂糖,购自基因公司(西班牙生产,上海 Yito 责任有限公司分装);小量质粒提取试剂盒,购于美国 OMEGA 公司;2 × Taq PCR MasterMix、DNA marker 15000、DNA marker II 等购自天根生化科技(北京)有限公司。

1.3 产 β -内酰胺酶检测

采用双纸片确认法进行 ESBLs 筛选^[10];用头孢西丁纸片扩散法和三维试验检测 AmpC^[11];改良 Hoged 试验检测碳青霉烯酶^[10];I 型新德里金属 β -内酰胺酶检测盒检测金属酶。

1.4 细菌质粒 DNA 提取

按 OMEGA 公司小量质粒提取试剂盒使用说明提取菌株质粒 DNA。

1.5 产 β -内酰胺酶菌株基因型 PCR 检测

扩增 ESBLs 基因包括 *bla*TEM、*bla*SHV、*bla*CTX-M-1 型、*bla*CTX-M-2 型、*bla*CTX-M-9 型、*bla*CTX-M-8/25 型和 *bla*OXA^[12-13];AmpC 有 *bla*MOX、*bla*CIT、*bla*DHA、*bla*ACC、*bla*EBC 和 *bla*FOX^[14];*bla*NDM-1 为 *bla*NDM-1^[15],以上引物序列见表 1。以细菌质粒 DNA 为模板,PCR 反应体系为上、下游引物各 0.5 μ L,2 × Taq PCR MasterMix 10 μ L,质粒 DNA 1 μ L,无菌双蒸水加至 20 μ L。PCR 反应参数见表 1。

1.6 质粒结合转移试验

以 J53 AZ^r 为受体菌,产酶菌为供体菌进行肉汤结合试验^[14];接合子用含药胰蛋白胨大豆琼脂平板(同时含 64 μ g/mL 阿莫西林和 200 μ g/mL 叠氮钠或含 25 μ g/mL 头孢西丁和 200 μ g/mL 叠氮钠)进行筛选^[16];采用微量稀释法测定供体菌和接合子对不同抗菌药物的 MIC,且进行药物敏感性判断^[10];以接合子质粒 DNA 为模板扩增相关耐药基因。

表1 引物序列及PCR反应参数
Table 1 Primers used and its PCR parameters

目的基因 Target gene	序列(5'-3') Sequence (5'-3')	片段/bp Amplicon size	退火温度/°C Annealing temperature	延伸温度/°C Extended temperature
<i>bla</i> TEM	CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC	800	60	72
<i>bla</i> SHV	AGCCGCTTGAGCAAATTA AAC ATCCCGCAGATAAATCACCAC	713	60	72
<i>Bla</i> CTX-M-1 group	AGGAAGTGTGCCGCTGTATGC CATTGCCCGAGGTGAAGTGGT	505	62	72
<i>bla</i> CTX-M-2 group	ATGATGACTCAGAGCATTCG TCAGAAACCGTGGGTTACGA	876	60	72
<i>bla</i> CTX-M-9 group	CGCAGATAATACGCAGGTGCT CCGGTCGTATTGCCTTTGAG	495	61	72
<i>bla</i> CTX-M-8/25 group	AACACGCAGACGCTCTAC TCGAGCCGGAAGGTGTCAT	326	60	72
<i>bla</i> OXA	GGCACCAGATTCAACTTTCAAG GACCCCAAGTTTCCTGTAAGTG	564	60	72
<i>bla</i> MOX	GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT CACATTGACATAGGTGTGGTGC	520	64	72
<i>bla</i> CIT	TGGCCAGA ACTGACAGGCCAAA TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	462	64	72
<i>bla</i> DHA	ACTTTCACAGGTGTGCTGGGT CCGTACGCATACTGGCTTTGC	405	64	72
<i>bla</i> ACC	AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA TTCGCCGCAATCATCCCTAGC	346	64	72
<i>bla</i> EBC	TCGGTAAAGCCGATGTTGCGG CTTCCACTGCGGCTGCCAGTT	302	64	72
<i>Bla</i> FOX	AACATGGGGTATCAGGGAGATG CAAAGCGCGTAACCGGATTGG	190	64	72
<i>bla</i> NDM-1	GGTGCATGCCCGGTGAAATC ATGCTGGCCTTGGGGAACG	661	60	72

2 结果与分析

2.1 菌株产β-内酰胺酶检测

467株大肠杆菌除未检出产碳青霉烯酶、金属β-内酰胺酶,172株(检出率36.83%)产ESBLs,64株(13.70%)产AmpC,其中4株单产AmpC酶,60株同时产ESBLs和AmpC酶。

2.2 菌株β-内酰胺酶基因PCR检测

176株产酶菌中检出*bla*TEM 148株

(84.09%);*bla*CTX-M 107株(60.80%),其中47株含*bla*CTX-M-1型,60株含*bla*CTX-M-9型,其他*bla*CTX-M型尚未检出;*bla*OXA基因26株(14.77%);*bla*CIT基因63株(35.80%);*bla*DHA 3株(1.70%);尚未检出*bla*TEM、*bla*ACC、*bla*EBC、*bla*MOX、*bla*FOX和NDM-1。在176株产酶菌中,14.20%菌株只携带一种目的基因,85.80%菌株携带2种或2种以上目的基因(表2)。

表 2 产 β -内酰胺酶菌株基因型检出情况

Table 2 Detection of genotypes of β -lactamase-producing positive strains

基因型 Genotype	菌株数 Strains	占产 β -内酰胺酶菌株百分率/% ($n=176$) Rate to all β -lactamase-producing strains
<i>bla</i> TEM	6	3.41
<i>bla</i> OXA	3	1.70
<i>bla</i> CTX-M	9	5.11
<i>bla</i> CIT	6	3.41
<i>bla</i> DHA	1	0.57
<i>bla</i> TEM+ <i>bla</i> OXA	1	0.57
<i>bla</i> TEM+ <i>bla</i> CTX-M	84	47.73
<i>bla</i> CTX-M+ <i>bla</i> OXA	3	1.70
<i>bla</i> TEM+ <i>bla</i> CTX-M+ <i>bla</i> OXA	6	3.41
<i>bla</i> TEM+ <i>bla</i> CIT	38	21.59
<i>bla</i> OXA+ <i>bla</i> CIT	2	1.14
<i>bla</i> CTX-M+ <i>bla</i> CIT	2	1.14
<i>bla</i> TEM+ <i>bla</i> OXA+ <i>bla</i> CIT	10	5.68
<i>bla</i> TEM+ <i>bla</i> CTX-M+ <i>bla</i> CIT	2	1.14
<i>bla</i> CTX-M+ <i>bla</i> OXA+ <i>bla</i> CIT	1	0.57
<i>bla</i> TEM+ <i>bla</i> CIT+ <i>bla</i> DHA	1	0.57
<i>bla</i> CIT+ <i>bla</i> DHA	1	0.57

2.3 耐药质粒转移及其耐药表型

本次产酶菌株结合转移率为 50.00% (88 株/176 株)。供体菌和接合子对不同抗菌药物的药物敏感性检测结果显示,与供体菌相比,接合子保留了对阿莫西林、头孢唑啉、头孢噻吩、氨曲南、链霉素、

四环素、氯霉素、恩诺沙星和磺胺异噁唑较高的耐药性,而对头孢西丁、头孢曲松、头孢噻肟、头孢吡肟的耐药性大大降低,但其中介率较高,这是由于接合子对这些药物的 MIC 值较受体菌升高,但尚未达到耐药折点值(表 3)。

表 3 产 β -内酰胺酶共体菌与接合子耐药性比较

Table3 Resistance comparison of parental isolates with transconjugants %

抗菌药物 Antimicrobial agent	供体菌 ($n=88$) Parental isolates			接合子 ($n=88$) Transconjugants		
	敏感 S	中介 I	耐药 R	敏感 S	中介 I	耐药 R
阿莫西林 Amoxicillin	0.00	0.00	100.00	0.00	1.12	98.88
头孢唑啉 Cefazolin	3.37	0.00	96.63	12.36	10.11	77.53
头孢西丁 Cefoxitin	44.94	3.37	51.69	84.27	10.11	5.62
头孢噻吩 Ceftiofur	3.37	1.12	95.51	8.99	3.37	87.64
头孢曲松 Ceftriaxone	6.74	6.74	86.52	34.83	51.69	13.48
头孢噻肟 Cefotaxime	5.62	15.73	78.65	31.46	37.08	31.46
头孢吡肟 Cefepime	46.07	14.61	39.32	88.76	8.99	2.25
氨曲南 Aztreonam	0.00	8.99	91.01	22.47	15.73	61.80
链霉素 Streptomycin	2.25	1.12	96.63	12.36	7.87	79.78
四环素 Tetracycline	4.49	16.85	78.65	21.35	13.48	65.17
氯霉素 Chloramphenicol	0.00	3.37	96.63	4.49	12.36	83.15
恩诺沙星 Enrofloxacin	0.00	1.12	98.88	6.74	17.98	75.28
磺胺异噁唑 Sulfafurazole	0.00	—	100.00	3.98	—	96.02

接合子质粒提取与分析可见,接合子的质粒条带与供体菌相似或有部分缺失,说明经接合试验,受体菌获得了供体菌的全部或部分质粒,因而质粒上携带的耐药基因得到全部或部分转移。

转化子 β -内酰胺酶耐药基因 PCR 结果显示,88株转化子中有38株(43.18%)PCR扩增结果与供体菌完全符合,其余菌株只扩增出部分基因与供体菌相符,不相符基因以 AmpC 基因为主。

3 讨论与结论

1)随着头孢类药物在养殖业的使用,动物源细菌产 ESBLs 和 AmpC 酶检出呈增加趋势。流行的 ESBLs 和 AmpC 酶呈多样化,其中 TEM、SHV、CTX-M、DHA 和 CMY 型是主要流行趋势,尤其值得注意的是质粒介导的 CTX-M 型 ESBLs 和 CMY 型 AmpC 酶,这些酶分离率不断上升,分布范围扩大,且编码这些酶基因常与其他非 β -内酰胺耐药基因存在于同一质粒上,导致多种耐药基因随质粒广泛传播^[9,17]。本次从分离自四川省畜禽源大肠杆菌菌株中未检出碳青霉烯酶和金属 β -内酰胺酶,ESBLs 和 AmpC 检出率分别达 36.83% 和 13.70%,高于重庆地区分离的动物源菌株 ESBLs 检出率 5.83% 和 AmpC 1.84%^[18]、广东分离的食品动物源菌株 ESBLs 检出率 19.37%^[6],低于河南分离的鸡源菌株 ESBLs 76.7%^[7]、山东分离的鸡源菌株 ESBLs 83.13%^[8],说明我国产广谱 β -内酰胺酶菌株呈地方流行。本次检测还发现 64 株产 AmpC 菌株中 60 株同时检出 ESBLs,同时产 ESBLs 和 AmpC 菌株出现预示着多重耐药大肠杆菌感染的治疗更加困难。

2)耐药基因 PCR 检测结果显示,176 株 ESBLs 阳性菌以 *bla*TEM (检出率 84.09%) 和 *bla*CTX-M (检出率 60.80%) 为主,与国内报道动物源产 ESBLs 菌株基因型一致^[6,8]。以上说明了 *bla*TEM、*bla*CTX-M 是我国动物源产 ESBLs 大肠杆菌菌株的流行基因型。CTX-M 家族是不同于 TEM 和 SHV 型的 ESBLs 酶,对头孢噻肟表现出高水平耐药,*bla*CTX-M 基因常与介导氟喹诺酮类、氨基糖苷类、四环素类、磺胺-甲氧嘧啶耐药基因共存于可转移质粒上,导致耐药性共转移、共表达和共选择^[9]。本次检测 *bla*CTX-M 主要是 *bla*CTX-M-9 型和 *bla*CTX-M-1 型,已有报道认为这 2 种型是 *bla*CTX-M 中流行最广泛的基因型^[9]。且本次

检出的 *bla*CTX-M 主要与 *bla*TEM、*bla*OXA 和 *bla*CIF 形成组合存在于大肠杆菌中,表明了 *bla*CTX-M 型流行的多样性和复杂性,不同基因型酶组合在一起也导致酶水解底物谱更广泛。这很好地解释了本次检测菌株对头孢噻肟等第三代头孢菌素和单环 β -内酰胺类药物呈高水平耐药。此外,菌株中还检出 14.77% *bla*OXA,尽管低于山东分离株 47.83% 检出率^[8],但该基因的检出说明动物源大肠杆菌菌株产 ESBLs 基因的多样性。

对于 AmpC 基因型研究显示,我国动物源大肠杆菌菌株主要以 *bla*CMY 和 *bla*DHA 基因型(检出率低于 1%) 为主,而本次菌株检出了 *bla*CIT (35.80%) 和 *bla*DHA (1.70%),说明 AmpC 的 *bla*CIT 基因呈增加趋势。

3)质粒介导耐药性因其高突变率、易转移性和多重耐药性广泛受到关注。本次 176 株产 β -内酰胺酶菌株经质粒结合转移成功获得 88 株接合子(结合转移率 50%),说明了产 β -内酰胺酶基因较易发生转移。接合子保留了对阿莫西林、头孢唑啉、头孢噻肟、氨曲南高耐药性外,对链霉素、四环素、氯霉素、恩诺沙星和磺胺异噁唑也呈较高耐药性,说明了介导 β -内酰胺酶的基因与耐氨基糖苷类等基因存在于相同的质粒上,从而发生不相关耐药基因共转移,导致细菌多重耐药性扩散。但接合子对头孢西丁、头孢曲松、头孢噻肟、头孢吡肟耐药性大大降低,可能与一些接合子只获得供体菌部分质粒有关,或供体菌还存在其他耐药机制,如 PBP₂ 改变、外膜通透性下降或主动外排机制。

参 考 文 献

- [1] Moyaert H, de Jong A, Simiee S, Thomas V. Antimicrobial resistance monitoring projects for zoonotic and indicator bacteria of animal origin: Common aspects and difference between EASSA and EFSA [J]. *Veterinary Microbiology*, 2014, 171(2): 279-283
- [2] Boulianne M, Arsenault J, Daignault D, Archambault M, Letellier A, Dutil L. Drug use and antimicrobial resistance among *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp isolates from chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada [J]. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 2016, 80(1): 49-59
- [3] 王娟,黄秀梅,刘书科,盖文燕,赵思俊,曲志娜,王玉东,王君玮. 不同动物源大肠杆菌的耐药性监测分析 [J]. *中国兽医杂志*, 2013, 49(11): 64-67
Wang J, Huang X M, Liu S K, Gai W Y, Zhang S J, Qu Z N,

- Wang Y D, Wang J W. Antimicrobial resistance monitoring and analyzing of *Escherichia coli* in different animals[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2013, 49 (11): 64-67 (in Chinese)
- [4] 赖婧, 刘洋, 汪宇, 秦上尚, 李岩, 吴聪明. 800 株不同动物源大肠杆菌的耐药性监测[J]. 中国兽医杂志, 2011, 47(4): 12-14
- Lai J, Liu Y, Wang Y, Qin S S, Li Y, Wu C M. Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* isolates from different animals in Sichuan Province in 2007 [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2011, 47 (4): 12-14 (in Chinese)
- [5] Rubin J E, Pitout J D. Extended-spectrum- β -lactamase, carbapenemase and AmpC producing Enterobacteriaceae in companion animals[J]. *Veterinary Microbiology*, 2014, 170(1-2): 10-18
- [6] 汤电, 张浩吉, 纪雪筱, 刘继, 郭玉芳, 王丽华, 付晓平, 张小华, 孙永学, 蒋红霞. 广东地区患病食品动物源大肠杆菌 ESBLs 和 AmpC 酶流行分布调查[J]. 中国兽医学报, 2012, 32(2): 242-248
- Tang D, Zhang H J, Ji X X, Liu J, Guo Y F, Wang L H, Fu X P, Zhang X H, Sun Y X, Jiang H X. Prevalence of plasmid mediated ESBLs and AmpC-type β -lactamases among *E coli* isolated from sick food-producing animals in Guangdong[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2012, 32(2): 242-248 (in Chinese)
- [7] 苑丽, 刘建华, 胡功政, 刘智明, 莫娟, 潘玉善, 康宇, 魏永俊. 30 株鸡大肠杆菌 ESBLs 基因型检测及耐药性分析[J]. 中国预防兽医学报, 2009, 6(31): 438-442
- Yuan L, Liu J H, Hu G Z, Liu Z M, Mo J, Pan Y S, Kang Y, Wei Y J. Detection of extended-spectrum β -lactamases genotype and antibiotic resistance analysis among 30 *E coli* isolates from chicken [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2009, 6(31): 438-442 (in Chinese)
- [8] 曲志娜, 刘红玉, 王娟, 赵思俊, 李玉清, 黄秀梅, 盖文燕, 王君玮. 青岛地区产 ESBLs 鸡源大肠杆菌耐药性调查与优势基因分析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(10): 2059-2065
- Qu Z N, Liu H Y, Wang J, Zhao S J, Li Y Q, Huang X M, Gai W Y, Wang J W. Antimicrobial resistance investigation and dominant denotype analysis of ESBLs- producing *Escherichia coli* strains from chicken in Qingdao[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(10): 2059-2065 (in Chinese)
- [9] Lahlaour H, Ben Haj Khalifa A, Ben Moussa M. Epidemiology of enterobacteriaceae producing CTX-M type extended spectrum β -lactamase (ESBL) [J]. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2014, 44(9): 400-404
- [10] Cockerill F R. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-second Informational Supplement* [M]. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012
- [11] 李力, 刘正祥, 李晓玲, 刘娜. 细菌耐药酶 AmpC 检测方法的比较[J]. 西北国防医学杂志, 2009, 30(3): 223-224
- Li L, Liu Z X, Li X L, Liu Na. Comparison of detection method in bacteria drug-resistance enzyme AmpC [J]. *Medical Journal of National Defending Forces in Northwest China*, 2009, 30(3): 223-224 (in Chinese)
- [12] Kojima A, Ishii Y, Ishihara K, Esaki H, Asai T, Oda C, Tamura Y, Takahashi T, Yamaguchi K. Extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002: Report from the Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring program [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, 49 (8): 3533-3537
- [13] Dallenne C, Da C A, Decre D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae[J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2010, 65 (3): 490-495
- [14] Perez-Perez F J, Hanson N D. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, 40(6): 2153-2162
- [15] Mulvey M R, Grant J M, Plewes K, Plewes K, Roscoe D, Boyd D A. New delhi metallo-beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, Canada [J]. *Emerging Infection Disease*, 2011, 17(1): 103-106
- [16] 方晔, 李向阳, 杨锦红, 李方去, 韩珍. 亚抑菌浓度头孢西丁对耐药质粒结合转移的影响[J]. 检验医学, 2008, 23(1): 62-65
- Fang Y, Li X Y, Yang J H, Li F Q, Han Z. Influence of subinhibitory concentration of cefoxitin on resistant plasmid conjugation *in vitro* [J]. *Laboratory Medicine*, 2008, 23(1): 62-65 (in Chinese)
- [17] Trott D. β -lactam resistance in gram-negative pathogens isolated from animals [J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2013, 19(2): 239-249
- [18] 张珍珍, 吴俊伟, 魏述永, 唐建华, 陈红伟, 李赛. 动物源大肠杆菌超广谱 β -内酰胺酶与头孢菌素酶基因型分析[J]. 畜牧兽医学报, 2009, 40(6): 898-903
- Zhang Z Z, Wu J W, Wei S Y, Tang J H, Chen H W, Li S. Analysis of genotype of *Escherichia coli*-producing ESBLs and AmpC β -lactamases isolated from farm animals [J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2009, 40(6): 898-903 (in Chinese)