

圈养大熊猫粪便源和环境源大肠杆菌质粒 介导 β -内酰胺类酶耐药基因的检测

覃振斌¹ 侯蓉² 林居纯* 高彤彤¹ 刘颂蕊²

(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 为了解起广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)及其相关耐药基因在大熊猫粪便源和环境源大肠杆菌的流行状况,采用双纸片和 K-B 纸片扩散法对分离自圈养大熊猫粪便($n=96$ 株)和生活环境($n=29$ 株)的大肠杆菌菌株,进行了产 ESBLs 菌株筛选和耐药性检测,并采用 PCR 及测序法检测菌株 ESBLs 耐药基因型。结果表明:96 株粪便源和 29 株环境源菌株 ESBLs 检出率分别为 26.04% 和 24.14%;ESBL 阳性菌对多数药物耐药率高于阴性菌($P \leq 0.05$);不同来源菌株对氨苄西林等 5 种药物呈较高水平耐药性(耐药率 $\geq 30\%$),且呈严重的多重耐药性;粪便源菌株 *bla*TEM、*bla*CTX-M、*bla*OXA 和 *bla*SHV 基因检出率分别为 16.67%、11.46%、7.29% 和 0%,而环境源菌株以上基因检出率分别为 13.79%、10.34%、0% 和 0%。研究发现,产 ESBLs 菌株较广泛存在于大熊猫粪便源和环境源大肠杆菌中,这些菌株具有更严重和复杂的耐药表型,其 ESBLs 基因型主要为 *bla*TEM 和 *bla*CTX-M。

关键词 大肠杆菌; 耐药性; β -内酰胺酶; 基因型

中图分类号 S863.9

文章编号 1007-4333(2018)03-0069-06

文献标志码 A

Detection of plasmid-mediated β -lactams resistance genes in *Escherichia coli* isolates from feces of captive Giant Panda and their habitats

QIN Zhenbin¹, HOU Rong², LIN Juchun^{1*}, GAO Tongtong¹, LIU Songrui²

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

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

Abstract To investigate the prevalence and types of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) resistance genes in *Escherichia coli* from feces and habitats of captive Giant Panda, double disc diffusion test and K-B disk diffusion method were used to confirm ESBLs and antibiotic resistance in *E. coli* isolates from captive Giant Panda feces ($n=96$) and their habitats ($n=29$). Additionally, the ESBLs genes were detected by PCR-sequencing. The results showed that: The detection rates of 96 fecal and 29 habitat strains producing ESBLs were 26.04% and 24.14%, respectively; The resistance rate of ESBLs positive strains was higher than that of negative strains ($P \leq 0.05$), and the strains from different resources harbored high resistance levels and multi-resistance to 5 antimicrobial agents including ampicillin (resistance rate $\geq 30\%$); The prevalence rate of *bla*TEM, *bla*CTX, *bla*OXA and *bla*SHV in fecal strains were 16.67%, 11.46%, 7.29% and 0%, respectively. However, the rates of above genes in habitat strains were 13.79%, 10.34%, 0% and 0%, respectively. In conclusion, ESBLs-producing *E. coli* existed widely in the strains tested. These strains had more serious resistance and complicated resistance mechanisms. *bla*TEM and *bla*CTX are dominant genotypes in these strains from Giant Panda and their habitats.

Keywords *Escherichia coli*; resistance; extended-spectrum β -lactamases; genotype

收稿日期: 2017-04-18

基金项目: 国家科技部支撑计划项目(2012BAC01B06)

第一作者: 覃振斌, 硕士研究生, E-mail: 310782602@qq.com

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

大熊猫是我国特有珍稀动物,也是世界濒危保护动物之一。野外和圈养大熊猫种群安全至关重要,其中大熊猫疾病控制是重点。在大熊猫致死性疾病中,以肠道疾病最为严重,而大肠杆菌是导致大熊猫肠道疾病的主要病原菌^[1-2]。同时,大肠杆菌也是大熊猫肠道正常菌群优势菌,对宿主生理波动、营养、消化、吸收、免疫等有极其重要的影响^[3]。

近年来,随着抗菌药物的使用,大熊猫肠道疾病得到有效控制,但同时也增加了某些肠道细菌产生广泛耐药性风险^[2]。大熊猫肠道分离细菌中33.90%菌株对氨基糖苷类、四环素类、氯霉素类和磺胺类药物呈不同水平耐药性^[4];分离自大熊猫粪便和阴道分泌物大肠杆菌的耐药性检测发现,76%菌株对至少一种抗菌药物耐药,36%菌株对3种及以上药物耐药^[5];大熊猫粪便源大肠杆菌菌株中78.89%菌株为耐药菌,33.90%菌株呈多重耐药性^[6]。以上耐药性检测结果显示,大熊猫肠道细菌的耐药情况十分严峻,加强细菌耐药性检测及控制抗菌药物的使用将是大熊猫疾病预防工作的重点。

在我国分离自病患和健康动物的大肠杆菌产ESBLs检出率已接近或超过40%,其主要类型为TEM、SHV、CTX-M和OXA^[7-8]。ESBLs的存在导致菌株对 β -内酰胺类,尤其头孢菌素类表现出更严重的耐药性^[9]。由于编码ESBLs基因常以整合子或插入序列方式,与其它耐药基因共同存在于同一质粒,导致多重耐药基因在细菌间广泛传播^[10]。因此,监测产ESBLs菌株及其耐药基因流行状况,对于临床治疗和控制耐药基因扩散具有重大意义。

目前有关兽医临床和健康动物源细菌产ESBLs及其基因特性研究报道较多,但有关大熊猫源及其生活环境源菌株的相关研究较少。因此,本研究拟以抗菌药物选择压力良好指示菌大肠杆菌为对照,检测圈养大熊猫粪便和生活源菌株的耐药性、产ESBLs及ESBLs耐药基因流行情况,旨在了解圈养大熊猫源菌株耐 β -内酰胺类药物耐药状况,以为 β -内酰胺类药物在大熊猫疾病防控的风险性评估提供资料。

1 材料与方法

1.1 菌株

2012年7月—2013年7月,于四川省成都大熊猫繁育研究基地采集健康大熊猫粪便和大熊猫生活

环境样本(污水、地面棉拭子),经伊红美兰培养基筛选,革兰氏染色和肠杆菌科细菌生化鉴定等共获得125株大肠杆菌,其中大熊猫粪便源96株,环境源29株。药敏质控菌:大肠杆菌 ATCC25922 购自中国兽医药品监察所。产ESBLs阳性菌由本实验室保存提供。

1.2 药敏纸片

氨基苄西林(AMP)、头孢唑啉(CFZ)、头孢西丁(FOX)、头孢呋辛(CXM)、头孢曲松(CRO)、头孢他啶(CAZ)、头孢他啶/克拉维酸(CAZ/Clav)、头孢噻肟(CTX)、头孢噻肟/克拉维酸(CTX/Clav)、氨曲南(AZM)、链霉素(STR)、阿米卡星(AMK)、四环素(TET)、多西环素(DOX)、氟苯尼考(FLO)、萘啶酸(NA)、诺氟沙星(NOR)、环丙沙星(CIP)、左氧氟沙星(LVF)、复方新诺明(SXT)(英国OXIDE公司)。

1.3 主要试剂

MH肉汤、MH琼脂、LB肉汤(杭州天和微生物试剂有限公司);质粒小量提取试剂盒(OMEGA公司); $2 \times$ Taq PCR MasterMix、DNA marker 15000、DNA marker II(天根生化科技(北京)有限公司)。

1.4 大肠杆菌药敏试验及产ESBLs酶检测

参照2012年美国临床和实验室标准化协会(CLSI)推荐的初筛和双纸片确认试验检测所有菌株产ESBLs情况^[11]。采用K-B纸片扩散法进行药敏试验^[11]。

1.5 菌株4种ESBLs基因PCR检测

PCR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 $1 \mu\text{L}$, $2 \times$ Taq PCR MasterMix $25 \mu\text{L}$,质粒DNA $2 \mu\text{L}$,无菌双蒸水加至 $50 \mu\text{L}$,PCR反应的退火温度见表1。将菌株的PCR产物送上海英骏生物技术有限公司测序,测序结果与GenBank相关序列进行比对,以确定所检测基因类型。

1.6 数据统计分析

使用SAS 9.0软件FREQ程序对不同来源菌株耐药基因检出率、耐药率等进行差异性分析,以 $P \leq 0.05$ 为显著差异的判断标准。

2 结果与分析

2.1 菌株产ESBLs检测结果

从96株大熊猫粪便源大肠杆菌中检测出25株

产 ESBLs 菌株,检出率达 26.04%。从 29 株环境源菌株中检出 7 株阳性菌株,检出率 24.14%。粪便

源和环境源菌株 ESBLs 检出率无显著性差异($P>0.05$)。

表 1 引物序列

Table 1 List of PCR primers

目的基因 Target gene	引物序列(5'-3') Primer sequence	扩增片段/bp Product length	退火温度/°C Annealing temperature	参考文献 Reference
<i>bla</i> _{TEM}	GGGGATGAGTATTCAACATTTCC GGGCAGTTACCAATGCTTAATCA	861	60	[12]
<i>bla</i> _{SHV}	AGCCGCTTGAGCAAATTA AAC ATCCCGCAGATAAATCACCAC	713	60	[13]
<i>bla</i> _{CTX}	GGGCTGAGATGGTGACAAAGAG CGTGCGAGTTCGATTTATTCAAC	915	62	[12]
<i>bla</i> _{OXA}	GGCACCAGATTCAACTTTCAAG GACCCCAAGTTTCTGTAAAGTG	564	60	[13]

2.2 菌株耐药性检测结果

对 96 株大熊猫粪便源和 29 株环境源大肠杆菌耐药性检测,结果显示:粪便源与环境源菌株对包括氨苄西林在内的 18 种抗菌药物耐药表型非常相似,即对氨苄西林(AMP)、头孢唑啉(CFZ)、四环素(TET)、多西环素(DOX)、复方新诺明(SXT)耐药

菌株比例较高(接近或超过 30%),而对其余 13 种药物耐药菌株比率较低(接近或低于 20%)。比较粪便源和环境源菌株耐药率可见,不同来源菌株的耐药率无显著性差异($P>0.05$)(表 2)。67.71%粪便源菌株呈 3~13 耐多重耐药性,75.86%环境源菌株呈 3~9 耐多重耐药性。

表 2 不同来源菌株对抗菌药物耐药率比较

Table 2 Comparison of resistance rates of *Escherichia coli* from different resources

药物 Antibiotic	粪便源菌 $n=96$ <i>E. coli</i> from feces	环境源菌 $n=29$ <i>E. coli</i> from habitat	ESBLs 阴性菌 $n=93$ ESBLs positive strain	ESBLs 阳性菌 $n=32$ ESBLs negative strain
氨苄西林 AMP	67.71	65.52	63.44 a	78.13 a
头孢唑啉 CFZ	54.17	72.41	49.46 A	84.38 B
头孢西丁 FOX	1.04	0.00	0.00 a	3.13 a
头孢呋辛 CXM	11.46	3.45	2.15 A	31.25 B
头孢曲松 CRO	12.50	6.90	3.23 A	34.38 B
头孢他啶 CAZ	1.04	0.00	0.00 a	3.13 a
头孢噻肟 CTX	10.41	6.90	2.15 A	31.25 B
氨曲南 AZM	6.26	0.00	3.23 a	9.38 a
链霉素 STR	13.54	20.69	7.53 A	37.50 B
阿米卡星 AMK	2.08	3.45	0.00 A	9.38 B
四环素 TET	70.83	65.52	62.37 A	90.63 B
多西环素 DOX	27.08	41.38	21.51 A	56.25 B
氟苯尼考 FLO	18.76	17.24	18.28 a	18.75 a
萘啶酸 NA	17.71	17.24	15.05 a	25.00 a
诺氟沙星 NOR	19.79	17.24	15.05 a	31.25 b
环丙沙星 CIP	5.21	6.90	2.15 A	15.63 B
左氧氟沙星 LVF	5.21	6.90	2.15 A	15.63 B
复方新诺明 SXT	42.71	48.28	36.56 A	65.63 B

注:与 ESBLs 阴性菌相比较,同行数据右上角标有相同字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著($0.01\leq P\leq 0.05$),标有不同大写字母表示差异极显著($P\leq 0.01$)。

Note:Compared with ESBLs negative bacteria, values with same letters within same column represent no significant differences ($p>0.05$), different small letters represent significant differences ($0.01\leq P\leq 0.05$), and different capital letters mean very significant ($P\leq 0.01$).

比较产 ESBLs 阳性菌 ($n=32$) 和阴性菌 ($n=93$) 的耐药率可见, 阳性菌株除对氨苄西林 (AMP)、头孢西丁 (FOX)、头孢他啶 (CAZ)、氨曲南 (AZM)、氟苯尼考 (FLO)、萘啶酸 (NA) 的耐药率与阴性菌无显著差异 ($P>0.05$) 外, 对其余 12 种药物耐药率有显著或极显著差异 ($P\leq 0.05$ 或 $P\leq 0.01$) (表 2)。比较二者多重耐药性可见, ESBLs 阳性菌呈 4~13 耐的多重耐药性, 以 5、7 耐菌株为主, 而阴

性菌呈 3~8 耐, 以 4 耐菌株为主。

2.3 菌株耐药基因型检测结果

96 株粪便源菌株中, 24 株菌携带 ESBLs 耐药基因 (检出率 25.00%), 其中 bla_{TEM} 检出率为 16.67%, bla_{CTX-M} 为 11.46%, bla_{OXA} 为 7.29%, 尚未检出 bla_{SHV} 基因。在 24 株携带了 ESBLs 耐药基因菌株中, 37.50% 菌株同时携带 2 或 3 种耐药基因 (表 3)。

表 3 大熊猫粪便和环境源大肠杆菌 ESBLs 耐药基因检出情况

Table 3 Detection of ESBLs genes in *Escherichia coli* isolates from Giant Panda feces and habitats

基因型 Genotype	粪便源菌 $n=96$ <i>E. coli</i> from feces		环境源菌 $n=29$ <i>E. coli</i> from habitat	
	菌株数 No. of strains	阳性率/% Positive rate	菌株数 No. of strains	阳性率/% Positive rate
	bla_{SHV}	0	0.00	0
bla_{TEM}	7	7.29	2	6.90
bla_{CTX-M}	5	5.21	1	3.45
bla_{OXA}	3	3.13	0	0.00
$bla_{TEM} + bla_{CTX-M}$	5	5.21	2	6.90
$bla_{TEM} + bla_{OXA}$	3	3.13	0	0.00
$bla_{TEM} + bla_{CTX-M} + bla_{OXA}$	1	1.04	0	0.00

29 株环境源菌株中, 共检出 5 株菌携带 ESBLs 耐药基因, 其检出率 17.24% 与粪便源检出率 25.00% 无显著性差异 ($P>0.05$)。29 株菌中 bla_{TEM} 检出率 13.79%, bla_{CTX-M} 为 10.34%, 尚未检出 bla_{OXA} 和 bla_{SHV} 。5 株阳性菌株中 40.00% 菌株同时携带 2 种 ESBLs 基因 (表 3)。

随机选取不同来源菌株 ESBLs 基因 PCR 产物测序比对结果显示, 6 株菌株 (粪便源和环境源各 3 株) bla_{TEM} 的 PCR 产物测序结果与 GenBank 的 bla_{TEM-1} 序列 (FJ668742.1) 同源率为 99%~100%, 4 株菌株 (粪便源和环境源各 2 株) bla_{CTX-M} 与 $bla_{CTX-M-14}$ (AB780368.1) 同源率为 99%~100%, 3 株粪便源菌株 bla_{OXA} 与 bla_{OXA-1} (KP698217.1) 同源率为 98%~99%。

3 讨论与结论

抗生素的广泛使用导致医学和兽医临床多重耐药细菌的出现和增多, 细菌耐药性已成为公共卫生

领域的严重问题^[7-9]。由于耐药基因在菌群间频繁交换, 导致即便没有接触过抗生素的野生动物体内和无抗生素污染环境中也检出耐药菌株, 说明了耐药细菌的发生呈群体水平, 已在全世界范围内散播^[14-15]。

圈养大熊猫由于使用抗菌药物治疗疾病, 和通过饲养环境与人类密切接触, 导致了大熊猫体内细菌耐药性的产生^[4-6]。本研究中大熊猫粪便分离菌株耐药性检测结果显示, 菌株对 18 种抗菌药物表现出不同程度的耐药性 (耐药率 1.06%~70.83%), 其中对氨苄西林、四环素类、磺胺类耐药率高于 2009 和 2011 年大熊猫源菌株耐药率^[4-5], 但低于医学临床和食品动物源菌株耐药率^[7-9]。尽管大熊猫粪便源菌株耐药性不及医学临床和食品动物源菌株严重, 但由于 67.71% 菌株呈多重耐药性, 且对一些并不用于大熊猫感染治疗的药物, 如四环素类、磺胺类表现出较高耐药率, 说明了这些耐药基因在自然界中已获得稳固传播的能力, 导致了大熊猫源菌株

呈现出复杂的多重耐药性。

大熊猫环境源菌株耐药表型与粪便源菌株非常相似,对氨苄西林、头孢唑啉、四环素、氟苯尼考、复方新诺明等耐药率,虽低于分离动物园和猪场环境菌株耐药率^[16-17],但远高于国外报道的农场和自然环境分离菌耐药率^[15],且 75.86% 菌株呈多重耐药性。说明在我国由于抗菌药物的滥用,导致环境源耐药菌不断增多,不仅增加了大熊猫种群安全的风险,也给人类及其它动物的生存及健康带来威胁。

ESBLs 是介导青霉素类及第三和第四代头孢菌素耐药最重要机制^[10]。本研究中大熊猫粪便和环境源 ESBLs 检出率分别为 26.04% 和 24.14%, 尽管低于医学临床菌株 48.90%^[7], 食品动物源菌株 36.83%^[8] 和 83.54%^[9], 和猪场环境源菌株 34.5% 的检出率^[17], 但由于 ESBLs 阳性菌对头孢唑啉等多种药物耐药更严重, 且具有更广泛和复杂的多重耐药性, 说明了细菌在获得 ESBLs 耐药基因的同时可能获得在同一质粒上的其它耐药基因, 从而导致对其它抗菌药物耐药性增强, 故应加强产 ESBLs 菌株的监测。

大肠杆菌携带 ESBLs 耐药基因 (bla_{TEM} 、 bla_{SHV} 、 bla_{CTX-M} 、 bla_{OXA} 及其他类型), 已经在医学临床^[18]、食品动物^[8-9]、伴侣动物^[19] 和环境源菌株中检出^[17]。本次对不同来源菌株耐药基因检测结果显示, 大熊猫粪便和环境源菌株以 bla_{TEM} (检测率分别为 16.67% 和 13.79%), bla_{CTX-M} (11.46% 和 10.34%) 为主, 与万莉^[20] 报道的圈养和自然栖息地大熊猫源菌株以 bla_{TEM} (检出率分别为 9.38%、4.76%) 和 bla_{CTX} (9.52%) 为主相一致, 说明在大熊猫源大肠杆菌中以 bla_{TEM} 、 bla_{CTX-M} 为主要基因型。

本研究中 ESBLs PCR 产物测序为 bla_{TEM-1} 、 $bla_{CTX-M-14}$ 和 bla_{OXA-1} , 而万莉^[20] 测序为 bla_{TEM-1} 、 $bla_{CTX-M-28}$ 。尽管 bla_{TEM-1} 、 bla_{OXA-1} 介导窄谱 β -内酰胺酶, 但因存在于质粒上, 且可突变为介导 ESBLs 的耐药基因, 故 bla_{TEM-1} 和 bla_{OXA-1} 的检出, 对于耐药性扩散仍具有重要意义。CTX-M 是不同于 TEM、SHV 型的 ESBLs, 能水解头孢菌素、单环 β -内酰胺类。 bla_{CTX-M} 常与 bla_{TEM-1} 在同一质粒上, 且可能与 bla_{TEM-1} 、 bla_{OXA-1} 和 bla_{SHV} 基因联合。这些质粒也可能携带其它多种耐药基因(氨基糖苷类、氯霉素、四环素类、甲氧嘧啶-磺胺类耐药), 在不同菌株或菌种间水平传播^[21]。本研究 bla_{CTX-M} 测序为 $bla_{CTX-M-14}$,

该基因型在医学临床、医院环境、食品动物源大肠杆菌中广泛存在^[21-22]。已有研究发现 $bla_{CTX-M-14}$ 基因可通过医院环境或体内移位获得, 其广泛传播的原因可能与其编码在 F 质粒上及其基因环境中存在 ISEcp1 和 IS903 有关^[22]。通过检测发现, 无论是大熊猫粪便源还是环境源菌株, 该基因型的检出率非常接近, 说明该基因型在粪便和环境中已获得稳固传播的能力, 但耐药基因的扩散是以质粒、ISEcp1 插入序列等可转移性基因元件的水平传播, 还是以同源性菌株的克隆传播, 有待进一步研究。

从耐药基因分布特性可见, 无论是粪便源还是环境源菌株均以 bla_{TEM} 为基础, 与其他基因 (bla_{CTX} 、 bla_{OXA}) 共存于同一菌株。多种耐药基因同时存在使细菌菌株具有更广泛水解 β -内酰胺类能力, 从而导致产 ESBLs 菌株对多数抗菌药物耐药, 表现出更广泛的多重耐药性。

参考文献 References

- [1] 鲍楠, 刘成君, 张和民, 李德生. 大熊猫肠道微生态的研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2005, 37(4): 57-58
Bao N, Liu C J, Zhang H M, Li D S. Research on intestinal microecology of Giant Panda [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2005, 37(4): 57-58 (in Chinese)
- [2] 周紫晓, 钟志军, 周潇潇, 彭广能, 李奇, 陶志勇, 杨平, 杨俊, 陈英, 王亚萍, 谭和林. 大熊猫肠道菌群的研究进展 [J]. 微生物学通报, 2016, 43(6): 1366-1371
Zhou Z Y, Zhong Z J, Zhou X X, Peng G N, Li Q, Tao Z Y, Yang P, Yang J, Chen Y, Wang Y P, Tan H L. Giant panda intestinal bacteria: A review [J]. *Microbiology China*, 2016, 43(6): 1366-1371 (in Chinese)
- [3] 张志和, 何光昕, 王行亮, 钟顺隆, 张安居, 李光汉. 大熊猫肠道正常菌群的研究 [J]. 兽类学报, 1995, 15(3): 170-175
Zhang Z H, He G X, Wang X L, Zhong S L, Zhang A J, Li G H. The study on the Giant Panda's intestinal flora [J]. *Acta Theriologica Sinica*, 1995, 15(3): 170-175 (in Chinese)
- [4] Zhang A Y, Wang H N, Tian G B, Zhang Y, Yang X, Xia Q Q, Tang J N, Zou L K. Phenotypic and genotypic characterisation of antimicrobial resistance in faecal bacteria from 30 Giant Pandas [J]. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 2009, 33(5): 456-460
- [5] Wang X, Yan Q, Xia X, Zhang Y, Li D, Wang C, Chen S, Hou R. Serotypes, virulence factors, and antimicrobial susceptibilities of vaginal and fecal isolates of *Escherichia coli* from Giant Pandas [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(17): 5146-5150
- [6] 李蓓, 李旭林, 郭丽娟, 龙梅, 郭放, 何雪梅, 罗燕, 邹立扣. 大熊猫肠道大肠杆菌的分离鉴定及其耐药性分析 [J]. 西南农业学报, 2012, 25(3): 1109-1113

- Li B, Li X L, Guo L J, Long M, Guo F, He X M, Luo Y, Zhou L K. Isolation and drug resistance analysis on *Escherichia coli* in intestines from Giant Pandas[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 25(3): 1109-1113 (in Chinese)
- [7] 菅记涌, 解泽强, 全秀秀, 孙盼盼, 朱浩, 陈亮. 大肠杆菌临床分布和耐药性变化[J]. *临床血液学杂志*, 2017, 30(4): 263-266
- Jian J Y, Xie Z Q, Quan X X, Sun P P, Zhu H, Chen L. Analysis of changes in clinical distribution and antimicrobial resistance of *Escherichia coli*[J]. *Journal Clinical Hematology*, 2017, 30(4): 263-266 (in Chinese)
- [8] 舒刚, 侯蓉, 林居纯, 钟钦卿, 刘颂蕊, 邓向东. 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[J]. *中国农业大学学报*, 2016, 21(8): 92-97
- Shu G, Hou R, Lin J C, Zhong Q Q, Liu S R, Deng X D. Detection of *Escherichia coli* plasmid-mediated β -lactamase from livestock and poultry and characterization of antimicrobial resistance [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2016, 21(8): 92-97 (in Chinese)
- [9] 曹敏, 谭艾娟, 吕世明, 常鑫, 丁昌庆, 陈婷, 王珍燕. 贵州部分地区猪源大肠杆菌耐药性分析及 ESBLs 基因型检测[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(4): 1098-1104
- Cao M, Tan A J, Lv S M, Cang X, Ding C Q, Chen T, Wang Z Y. Resistance analysis and genotype detection of ESBLs-producing swine *E coli* strains in parts of Guizhou Province [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2016, 43(4): 1098-1104 (in Chinese)
- [10] Caq Y, Caskurl H, Fan Y, Cao B, Vahaboglu H. Resistance mechanisms[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2016, 4(17): 326-334
- [11] Cockerill F R. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* [M]. 22nd. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012
- [12] 苑丽, 刘建华, 胡功政, 潘玉善, 莫娟, 魏永俊, 裴亚玲. 鸡大肠杆菌 TEM 和 CTX-M 型超广谱 β -内酰胺酶基因分型研究[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(20): 4310-4316
- Yuan L, Liu J H, Hu G Z, Pan Y S, Mo J, Wei Y J, Pei Y L. Genotypes of TEM-type and CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases produced by *Escherichia coli* isolated from the fowl[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(20): 4310-4316 (in Chinese)
- [13] Dallenne C, Da Costa A, Decre D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2010, 65(3): 490-495
- [14] Sjölund M, Bonnedahl J, Hernandez J, Bengtsson S, Cederbrant G, Pinhassi J, Kahlmeter G, Olsen B. Dissemination of multidrug-resistant bacteria into the Arctic [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, 14(1): 70-72
- [15] Allen S E, Boerlin P, Janecko N, Lumsden J S, Barker I K, Pearl D L, Reid-Smith R J, Jardine C. Antimicrobial resistance in generic *Escherichia coli* isolates from wild small mammals living in swine farm, residential, landfill, and natural environments in southern Ontario, Canada [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(3): 882-888
- [16] 李州. 圈养野生动物大肠杆菌耐药性流行病学研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2012
- Li Z. Epidemiology study on drug-resistant of *Escherichia coli* from captive wild animals[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2012 (in Chinese)
- [17] 郑新添, 黄其春, 陈星星, 张孝辉, 谢建斌. 源自猪场环境大肠杆菌耐药性检测及其产 ESBLs 菌耐药基因特征[J]. *安徽农业大学学报*, 2014, 41(3): 375-379
- Deng X T, Huang Q C, Chen X X, Zhang X H, Xie J B. Antimicrobial susceptibility and ESBLs' genotype of *Escherichia coli* isolated from external environment nearby pig farm[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2014, 41(3): 375-379 (in Chinese)
- [18] 姚蔚, 钱菊娣, 项頔, 张寿国, 李劲松. ESBLs 大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌整合子分布及其与 ESBLs 基因关系研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2010, 22(6): 509-513
- Yao W, Qian J D, Xiang L, Zhang S G, Li J S. Integron and its correlation with genes coding for ESBLs-producing *E coli* and *K pneumouiae* isolates [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2010, 22(6): 509-513 (in Chinese)
- [19] 赵相胜. 犬源大肠杆菌耐药性及分子流行病学初步研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014
- Zhao X S. First insights into prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates from dogs [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [20] 万莉. 大熊猫源大肠杆菌耐药性检测及质粒介导耐药基因的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2013
- Wan L. Surveillance of antimicrobial resistance and detection of plasmid-mediated resistance gene among *Escheichia coli* isolates from Giant Pandas [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2013 (in Chinese)
- [21] 吴爱琴, 元刚. CTX-M 型超广谱 β -内酰胺酶的研究进展[J]. *检验医学与临床*, 2009, 6(6): 450-452
- Wu A Q, Yuan G. Research on CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases [J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2009, 6(6): 450-452 (in Chinese)
- [22] 肖伟强, 孙明月, 潘军, 常彦敏, 姚新伟, 夏胜利, 盛家和, 许青霞. 临床与环境标本分离的大肠埃希菌 *bla*_{CTX-M-14} 基因环境和菌株同源性分析[J]. *临床检验杂志*, 2015, 33(7): 490-493
- Xiao W Q, Sun M Y, Pan J, Chang Y M, Yao X W, Xia S L, Sheng J H, Xu Q X. Analysis of the genetic environment and homology of *bla*_{CTX-M-14} in *Escherichia coli* isolates from clinical and environmental samples [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2015, 33(7): 490-493 (in Chinese)