

乌鲁木齐市宠物犬、猫粪源大肠杆菌耐药性分析与 ESBLs 基因型检测

佟盼盼 杨银萍 谢金鑫 张萌萌 张凌 唐雪林 张毅 芦星 苏战强*

(新疆农业大学 动物医学学院,乌鲁木齐 830052)

摘要 为分析宠物源大肠杆菌对抗菌药物的耐药情况及 ESBLs 耐药基因型,采集乌鲁木齐市 181 份宠物犬、猫肛拭子样品,分离获得 120 株大肠杆菌,通过 Kirby-Bauer(K-B)药敏纸片法对分离株进行药物敏感性试验,采用 PCR 方法检测 CTX-M(CTX-M-1G、CTX-M-2G 和 CTX-M-9G)、TEM 和 SHV 三种超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)基因。结果显示:120 株大肠杆菌对四环素、氨苄西林、复方新诺明和哌拉西林的耐药率在 35.8%~60.8%;对头孢噻肟、链霉素、庆大霉素、氯霉素、环丙沙星和多粘菌的耐药率在 10.0%~29.2%;对亚胺培南、左氧氟沙星、阿米卡星、头孢他啶、氨基曲南、氨苄西林-舒巴坦、阿莫西林、头孢吡肟和美罗培南的耐药率在 0.8%~10.0%。58 株(48.3%)大肠杆菌呈多重耐药表型(Multidrug resistance,MDR);犬源分离株主要对 3 类抗生素产生耐药(16.9%,12/71),猫源分离株主要对 4 类抗生素产生耐药(18.4%,9/49);其中共检测出 35 株 ESBLs 阳性菌株,CTX-M-1G、CTX-M-9G 和 TEM 基因的检出率分别为 40.0%(14/35)、28.6%(10/35)和 34.3%(12/35),未扩增出 CTX-M-2G 和 SHV 基因。综上,从健康和患病宠物中均分离到多重耐药大肠杆菌,流行的 ESBLs 基因型以 CTX-M 和 TEM 为主。

关键词 宠物; 大肠杆菌; 耐药性; ESBLs; 检测

中图分类号 S852.61

文章编号 1007-4333(2020)11-0090-09

文献标志码 A

Drug resistance analysis and ESBLs genotype detection of *Escherichia coli* derived from pet dogs and cats feces in Urumqi

TONG Panpan, YANG Yinping, XIE Jinxin, ZHANG Mengmeng, ZHANG Ling,

TANG Xuelin, ZHANG Yi, LU Xing, SU Zhanqiang*

(College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract In order to identify the antibiotic resistance of *Escherichia coli* and ESBLs genes from pets, a total of 120 stains were isolated from 181 rectal swabs from dogs and cats in Urumqi. The drug sensitivity of the isolates was investigated by Kirby-Bauer (K-B) method. Three different extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) of CTX-M(CTX-M-1G, CTX-M-2G and CTX-M-9G), TEM and SHV genes were detected by PCR. The results showed that: The drug resistance rate of the 120 strains of *E. coli* to tetracycline, ampicillin, compound minocycline and piperacillin was 35.8% - 60.8%, that to cefotaxime, streptomycin, gentamicin, chloramphenicol, ciprofloxacin, and polymyxin was 10.0% - 29.2%, and that to imipenem, levofloxacin, amikacin, ceftazidime, aztreonam, ampicillin-sulbactam, amoxicillin, cefepime, and meropenem was 0.8% - 10.0%. A total of 58 strains (48.3%) of *E. coli* showed multidrug resistance (MDR). The strains from dogs were mainly resistant to 3 kinds of antibiotics (16.9%, 12/71), while the strains from cats were mainly resistant to 4 kinds of antibiotics (18.4%, 9/49). Among them, 35 ESBLs positive strains were detected. The detection rates of ESBLs gene CTX-M-1G, CTX-M-9G and TEM were 40.0%(14/35),

收稿日期: 2020-03-12

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2019D01A51);自治区高层次人才引进工程项目

第一作者: 佟盼盼,博士研究生,E-mail:tongpanpan123@163.com

通讯作者: 苏战强,副教授,主要从事动物源食品病原微生物防控研究,E-mail:szq00009@163.com

28.6% (10/35) and 34.3% (12/35), respectively. *CTX-M-2G* and *SHV* were not detected. In conclusion, MDR *E. coli* strains were isolated from healthy and sick pets and the *CTX-M* and *TEM* genes were most popular ESBLs genotypes.

Keywords pet; *Escherichia coli*; resistance; ESBLs; detection

我国宠物的拥有数量呈逐年增长趋势,据《2019年中国宠物行业白皮书》(消费报告)数据显示:预测到2024年,我国宠物犬、猫拥有数量达2.48亿只,犬、猫俨然成为伴侣动物中的主流。研究表明犬、猫已成为致人类肠道和肠外感染的大肠杆菌的储存库^[1]。由于宠物临床的不规范用药导致大肠杆菌的耐药性日趋严重^[2],甚至出现了对 β -内酰胺类抗生素耐药的现象^[2-3]。 β -内酰胺类抗生素应用广泛,属于一线抗菌药物,大肠杆菌对该类抗生素耐药主要依赖于质粒介导的 β -内酰胺酶,其中超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)受到广泛关注^[3-4]。

宠物携带耐药大肠杆菌不但影响治疗效果,且潜在从宠物传播到人类的风险^[2-3,5]。目前,国外已报道宠物可将耐药大肠杆菌传染给人类,严重威胁人类的健康^[3,6]。近年来我国广大科研工作者对细菌耐药性及传播机制做了大量的研究,主要集中在食源性大肠杆菌^[7-8],仅有几个省份报道了宠物源大肠杆菌的耐药情况^[9-13],其中很少有关新疆地区宠物源产ESBLs大肠杆菌的分子流行病学数据。因此,本研究旨在对乌鲁木齐市犬、猫源大肠杆菌进行耐药性分析,并对产ESBLs菌株进行 β -内酰胺酶基因检测,以期为指导宠物临床合理用药提供理论依据,同时为ESBLs在细菌中的流行病学和进化提供有价值的信息。

1 材料与方法

1.1 样品来源

从2018年9月—2019年6月,从乌鲁木齐市2家宠物医院收集犬、猫肛拭子样品,在采样过程中接受体检和接种疫苗的犬、猫记录为健康宠物;出现体温升高、食欲不振、精神萎靡,伴随呕吐、腹泻等临床症状的犬、猫记录为患病宠物。共采集肛拭子样品181份,包括犬源114份(健康犬33份,患病猫81份),猫源67份(健康猫19份,患病猫48份)。

1.2 试剂及培养基

抗生素药敏纸片氨苄西林、哌拉西林、头孢噻肟、头孢噻肟/克拉维酸、头孢他啶、头孢他啶/克拉维酸、头孢吡肟、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林-他

唑巴坦、氨苄西林-舒巴坦、氨曲南、亚胺培南、美罗培南、庆大霉素、阿米卡星、左氧氟沙星、环丙沙星、四环素、复方新诺明、氯霉素、多粘菌素和链霉素购自杭州微生物试剂有限公司;脑心浸液肉汤(BHI)、胰酪胨大豆肉汤培养基(TSB)、麦康凯琼脂(MAC)、MH琼脂(MHA)购自青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;科玛嘉尿道定位显色培养基购自上海欣中生物工程有限公司;质控菌株大肠杆菌 ATCC25922 和肺炎克雷伯菌 ATCC700603 由本实验室保存。

1.3 大肠杆菌的分离鉴定

向装有肛拭子样品的采集管中加入2 mL 0.85%生理盐水,室温震荡混匀10 min,静置3 min,取10 μ L混悬液加入BHI培养基中增菌,37 $^{\circ}$ C,培养16 h。将增菌液划线接种MAC平板,37 $^{\circ}$ C,培养16 h,观察菌落形态,每块平板上挑取疑似大肠杆菌单菌落划线接种科玛嘉尿道定位显色培养基平板,37 $^{\circ}$ C,培养16 h,取单菌落置于TSB中,37 $^{\circ}$ C,培养16 h,利用大肠杆菌16S rDNA特异性引物(F:5'-GCGGACGGGTGAGTAATGT-3'和R:5'-TCATCCTCTCAGA CCAGCTA-3',生工生物工程(上海)有限责任公司合成)进行PCR鉴定^[14],阳性菌置于20%甘油的生理盐水中-80 $^{\circ}$ C保存备用。

1.4 药物敏感性检测

采用K-B药敏纸片法对宠物源大肠杆菌分离株进行药物敏感性检测。根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2016版执行标准,判定结果为耐药(Resistance, R)、中介(Intermediate, I)或敏感(Susceptible, S)^[15]。

1.5 ESBLs表型检测

通过双纸片协同试验检测产ESBLs菌株,同时使用头孢他啶(30 μ g)和头孢他啶/克拉维酸(30/10 μ g)及头孢噻肟(30 μ g)和头孢噻肟/克拉维酸(30/10 μ g)2对药敏纸片,当头孢他啶和头孢噻肟中有任何一个,在加克拉维酸后,抑菌环直径与不加克拉维酸的抑菌环相比,增大值 ≥ 5 mm时,判定为产ESBLs^[15]。大肠杆菌 ATCC25922 和肺炎克雷伯菌 ATCC700603 为质控菌。

1.6 ESBLs 耐药基因检测

采用煮沸裂解法提取分离株总 DNA 作为 PCR 模板,提取本实验室保存的携带 ESBLs 耐药基因的菌株总 DNA 作为 PCR 阳性对照。根据参考文献 [16-19] 合成 ESBLs 耐药基因,包括 *CTX-M* (*CTX-M-1G*、*CTX-M-2G* 和 *CTX-M-9G*)、*TEM* 和 *SHV*,

引物(表 1)均由上海生工生物工程有限责任公司合成。PCR 反应体系 25 μL : Mix 12.5 μL , ddH₂O 9.5 μL ,上下游引物各 1 μL ,模板 DNA 1 μL 。反应条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,48 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,共 30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 10 min,根据不同扩增基因调整退火温度。

表 1 检测耐药基因的引物序列

Table 1 Sequences of primers used to screen resistance gens

基因 Gene	引物序列(5'-3')(正向/反向) Primer sequence (5'-3') (Forward/reverse)	扩增产物/bp Product size	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$ Annealing temperature	参考文献 Reference
<i>CTX-M</i>	ATGTGCAGYACCAGTAARGT/TGGGTRAARTARGTSACCAGA	593	50	[16]
<i>CTX-M-1G</i>	GTTACAATGTGTGAGAAGCAG/CCGTTTCCGCTATTACAAAC	1 018	50	[16]
<i>CTX-M-2G</i>	ATGATGACTCAGAGCATTTCG/TGGGTTACGATTTTCGCCGC	865	55	[17]
<i>CTX-M-9G</i>	ATGGTGACAAAGAGAGTGCA/CCCTTCGGCGATGATTCTC	870	60	[18]
<i>TEM</i>	ATGAGTATTCAACATTTCCGT/TTACCAA	861	48	[19]
<i>SHV</i>	TGCTTAATCAGTGACCGGGTTATTCTTATTTGTCGCT/TAGCG TTGCCAGTGCTCG	1 081	48	[19]

1.7 数据分析

采用 IBM SPSS Statistics 21.0 进行数据分析。单因素分析采用卡方检验或 Fisher 精确检验, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

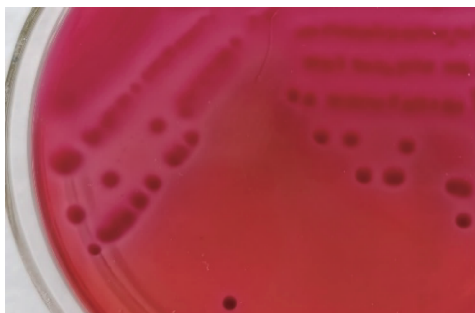
2.1 宠物源大肠杆菌的分离鉴定结果

犬、猫肛拭子样品增菌后划线接种麦康凯平板,疑似大肠杆菌呈深桃红色、圆形、扁平,边缘光滑(图 1(a)),挑取单菌落在科马嘉尿道定位显色培养

基上纯化(图 1(b)),经大肠杆菌特异性 PCR 鉴定(图 2),从 181 份犬、猫肛拭子中共获得 120 株(66.3%)大肠杆菌,包括犬源 71 株,猫源 49 株。

2.2 宠物源大肠杆菌的药物敏感性

由表 2 可知,120 株犬、猫源大肠杆菌对 19 种药物均表现出了耐药性,对四环素、氨苄西林、复方新诺明和哌拉西林的耐药率在 35.8%~60.8%;对头孢噻肟、链霉素、庆大霉素、氯霉素、环丙沙星和多粘菌素 6 种药物的耐药率在 10.0%~29.2%;对亚胺培南、左氧氟沙星、阿米卡星、头孢他啶、氨基南、



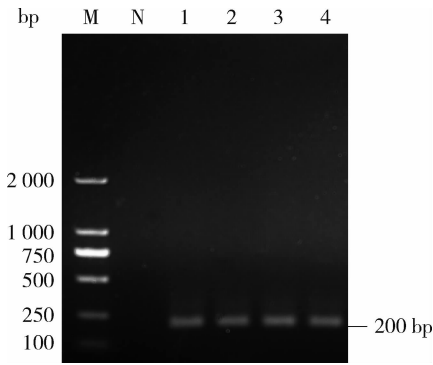
(a) 麦康凯平板上的菌落形态
(a) Colony morphology on MAC agar plate



(b) 科马嘉尿道显色定位培养基上菌落形态
(b) Colony morphology on CHROMagar™ orientation

图 1 宠物源大肠杆菌分离株菌落形态

Fig. 1 Colony morphology of *E. coli* isolates from pets



M, DNA 标记 DL 2 000; N, 阴性对照; 1, 阳性对照 *E. coli* 25 922; 2~4, 大肠杆菌分离株

M, DNA Marker DL 2 000; N, negative control; 1, *E. coli* 25 922 as positive control; 2-4, *E. coli* isolates

图 2 宠物源大肠杆菌分离株 16S rDNA PCR 扩增

Fig. 2 Amplification of 16S rDNA of *E. coli* isolates from pets by PCR

氨苄西林-舒巴坦、阿莫西林、头孢吡肟和美罗培南的耐药率在 0.8%~10.0%; 这些分离株对哌拉西林-他唑巴坦完全敏感。经双纸片协同试验后, 35 株(29.2%)大肠杆菌为产 ESBLs 菌株。这些大肠杆菌对链霉素、庆大霉素、环丙沙星和左氧氟沙星的耐药率, 患病犬高于健康犬, 而患病猫低于健康猫, 差异显著($P < 0.05$)。与患病猫相比, 健康猫源大肠杆菌对阿米卡星的耐药率更高。

2.3 宠物源大肠杆菌多重耐药性

20 种抗生素包括四环素类、氨基糖苷类、磺胺类、 β -内酰胺类、氯霉素类、喹诺酮类及多肽类共 7 类。多重耐药的表型定义为同时对 ≥ 3 类抗生素耐药^[20]。宠物源大肠杆菌多重耐药表型的检出率为 48.3%(58/120)。如图 3 所示, 犬源和猫源分离株中均存在多重耐药表型, 且差异不显著($P > 0.05$),

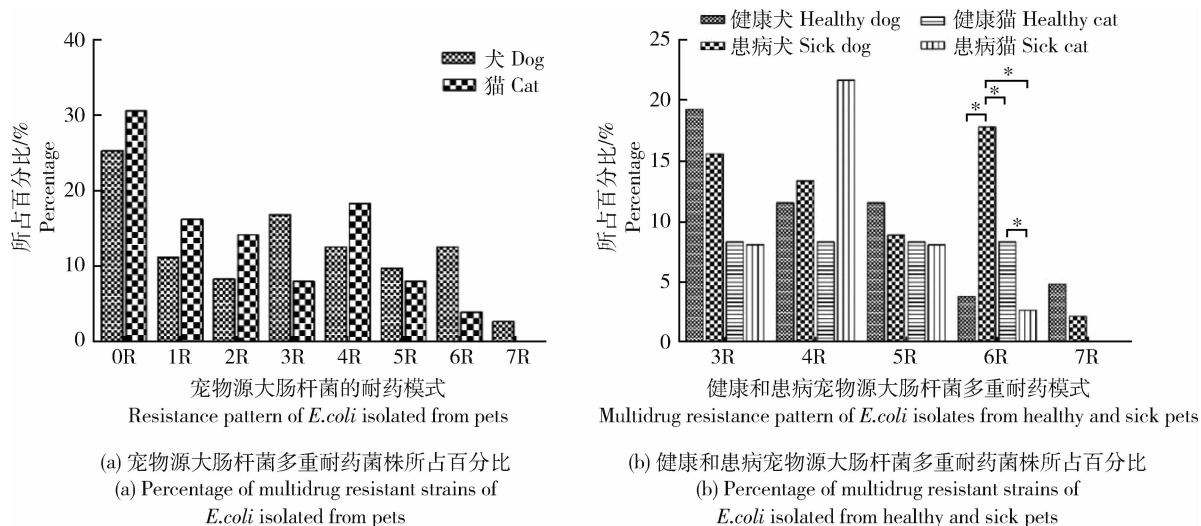
表 2 宠物源大肠杆菌对抗菌药物的敏感性

Table 2 Antimicrobial sensitivity of *E. coli* strains isolated from pets

抗菌药物 Antibiotics	大肠杆菌分离株的耐药率/%(分离株数量) Resistance rate of <i>E. coli</i> isolates (No. of isolates)				
	总数 ($n=120$)	健康犬 ($n=26$)	患病犬 ($n=45$)	健康猫 ($n=12$)	患病猫 ($n=37$)
	Total	Healthy dog	Sick dog	Healthy cat	Sick cat
四环素 TET	60.8(73)	57.7(15) a	68.9(31) a	58.3(7) a	54.1(20) a
氨苄西林 AMP	51.7(62)	50.0(13) a	57.8(26) a	33.3(4) a	51.4(19) a
复方新诺明 SXT	43.3(52)	46.2(12) a	46.7(21) a	33.3(4) a	40.5(15) a
哌拉西林 PIP	35.8(43)	38.5(10) a	37.8(17) a	33.3(4) a	32.4(12) a
头孢噻肟 CTX	29.2(35)	23.1(6) a	37.8(17) a	25.0(3) a	24.3(9) a
链霉素 S	27.5(33)	26.9(7) ab	40.0(18) b	16.7(2) ab	16.2(6) a
庆大霉素 GEN	25.8(31)	26.9(7) ab	35.6(16) b	16.7(2) ab	16.2(6) a
氯霉素 CHL	22.5(27)	26.9(7) a	22.2(10) a	8.3(1) a	24.3(9) a
环丙沙星 CIP	14.2(17)	11.5(3) ab	26.7(12) b	8.3(1) ab	2.7(1) a
多粘菌素 PB	10.0(12)	11.5(3) a	11.1(5) a	16.7(2) a	5.4(2) a
亚胺培南 IMP	9.2(11)	3.9(1) a	6.7(3) a	16.7(2) a	13.5(5) a
左氧氟沙星 LVX	9.2(11)	3.9(1) ab	17.8(8) b	8.3(1) ab	2.7(1) a
阿米卡星 AMI	7.5(9)	0 a	11.1(5) ab	25.0(3) b	2.7(1) a
头孢他啶 CAZ	6.7(8)	3.9(1) a	8.9(4) a	8.3(1) a	5.4(2) a
氨曲南 ATM	5.0(6)	3.9(1) a	6.7(3) a	8.3(1) a	2.7(1) a
氨苄西林-舒巴坦 AMC	1.7(2)	0 a	2.2(1) a	0 a	2.7(1) a
阿莫西林/克拉维酸 SAM	1.7(2)	0 a	2.2(1) a	0 a	2.7(1) a
美罗培南 MER	0.8(1)	0 a	0 a	8.3(1) a	0 a
头孢吡肟 FEP	0.8(1)	0 a	0 a	0 a	2.7(1) a
哌拉西林-他唑巴坦 TZP	0	0 a	0 a	0 a	0 a

注: 表中同一行数字不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different letters on the same line indicate significant difference ($P < 0.05$).



(a) 宠物源大肠杆菌多重耐药菌株所占百分比
(a) Percentage of multidrug resistant strains of *E. coli* isolated from pets

(b) 健康和患病宠物源大肠杆菌多重耐药菌株所占百分比
(b) Percentage of multidrug resistant strains of *E. coli* isolated from healthy and sick pets

0R,1R,2R,3R,4R,5R,6R 和 7R;0,1,2,3,4,5,6 和 7 类结构不同抗菌药物同时耐药; * 表示显著差异, $P < 0.05$ 。

0R,1R,2R,3R,4R,5R,6R 和 7R refer the resistance of *E. coli* strain to 0,1,2,3,4,5,6, and 7 of different structure antibacterial drugs; * :Significant difference, $P < 0.05$ 。

图3 大肠杆菌分离株多重耐药菌株所占百分比

Fig. 3 Percentage of multidrug resistant strains of *E. coli* isolates

犬源分离株主要对 3 类抗生素产生耐药 (16.9%, 12/71), 猫源分离株主要对 4 类抗生素产生耐药 (18.4%, 9/49); 对 6 类抗生素耐药菌株的分离率, 患病犬显著高于健康犬 ($P < 0.05$), 而健康猫显著高于患病猫 ($P < 0.05$)。58 株多重耐药菌对 3~14 种抗生素耐药, 其中分离自患病宠物的 2 株大肠杆菌对 14 种抗生素耐药, 与健康宠物相比, 患病宠物大肠杆菌的耐药谱型更丰富。在健康和患病犬中均分离到对 7 类抗生素耐药的菌株, 而猫源分离株中不存在这样的菌株。

2.4 宠物源大肠杆菌 ESBLs 耐药基因检测

对 35 株产 ESBLs 分离株进行 β -内酰胺酶基因 CTX-M、TEM 和 SHV 检测, 如图 4 所示, 22 株 (62.9%) 至少携带一种 β -内酰胺酶基因, CTX-M (593 bp) 和 TEM 基因的携带率分别为 54.3% (19/35) 和 34.3% (12/35), 其中 CTX-M-1G (1 018 bp) 和 CTX-M-9G (870 bp) 基因携带率分别为 40.0% (14/35) 和 28.6% (10/35), 5 株同时检测到 CTX-M-1G 和 CTX-M-9G 基因, 9 株同时携带 CTX-M 和 TEM 基因 (表 3), 未检测到 CTX-M-2G 和 SHV 基因。

3 讨论与结论

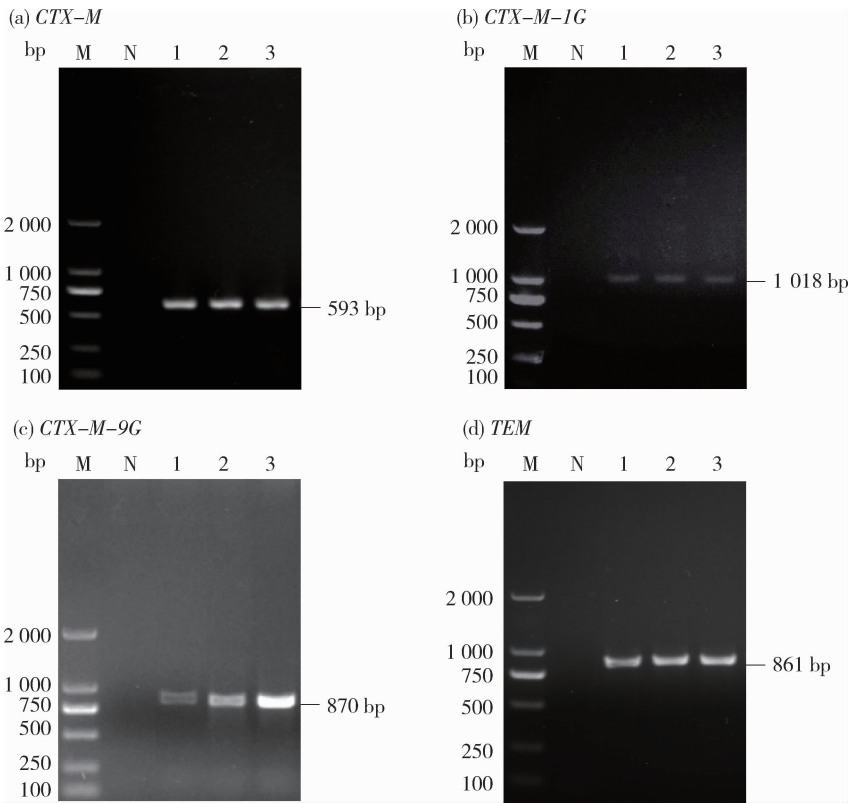
3.1 宠物源大肠杆菌的耐药情况

伴侣动物耐药菌的产生和流行受到国内外的广

泛关注^[9-13,21-23]。近年来从宠物中分离出越来越多的多重耐药大肠杆菌, 这些菌携带的耐药基因可在人类和动物之间进行水平传播^[22]。成年犬、猫感染致病性大肠杆菌可导致肾盂肾炎和尿道炎, 患病犬、猫与人类接触可导致人类发生尿路感染^[23]。基于宠物与人类的亲密关系, 不仅国外重视研究宠物源大肠杆菌的耐药问题, 在我国也有多个地区开展了针对宠物源大肠杆菌的耐药性研究, 包括吉林、成都、广州和石河子等^[9-12], 大量的研究发现宠物携带大量的耐药菌, 但新疆地区关于此相关研究报道相对较少, 因此, 本研究对乌鲁木齐市宠物源大肠杆菌进行耐药性研究具有重要意义。

本研究中宠物源大肠杆菌分离株对早期使用较多的抗生素如四环素和氨苄西林的耐药较为严重, 与吉林、石河子、广州地区所报道的宠物源大肠杆菌的耐药率相似均在 50% 以上^[9,12-13]。这些分离株对临床常见抗生素, 如复方新诺明、哌拉西林、头孢噻肟、链霉素、庆大霉素等也存在不同程度耐药。在同一类型的抗生素中, 如链霉素 (27.5%) 和阿米卡星 (7.5%) 的耐药率也存在一定差异。这种情况可能与临床宠物医生抗生素用药习惯及用药频率有关。

本研究发现宠物源大肠杆菌对四环素、氨苄西林、头孢噻肟和环丙沙星的耐药率分别为 60.8%、51.7%、29.2% 和 14.2%, 均低于国内其他地区^[9,12]。根据宠物医院用药情况发现, 目前宠物适



M, DNA 标记 DL 2 000; N, 阴性对照; 1, 阳性对照; 2 和 3, 大肠杆菌分离株
 M, DNA Marker DL 2 000; N, negative control; 1, positive control; 2 and 3, *E. coli* isolates

图 4 大肠杆菌分离株 β -内酰胺酶基因扩增

Fig. 4 Amplification of β -lactamase genes of *E. coli* isolates by PCR

表 3 35 株产 ESBL 菌株的 β -内酰胺酶基因分型

Table 3 Genotyping of β -lactamase gene of the 35 ESBL-producing isolates

样品来源(n) Sample source	携带基因的分离株数量(占总分离株数量百分比/%) No. of isolates with ESBLs (Percentage of total isolates)					
	<i>CTX-M</i>	<i>CTX-M-1G</i>	<i>CTX-M-9G</i>	<i>CTX-M-1G+CTX-M-9G</i>	<i>TEM</i>	<i>CTX-M+TEM</i>
健康犬(n=6) Healthy dog	3(50.0)	2(33.3)	2(33.3)	1(16.7)	1(16.7)	1(16.7)
患病犬(n=17) Sick dog	10(58.8)	8(47.1)	5(29.4)	3(17.6)	7(41.2)	6(35.3)
健康猫(n=3) Healthy cat	2(66.7)	1(33.3)	1(33.3)	0	0	0
患病猫(n=9) Sick cat	4(44.4)	3(33.3)	2(22.2)	1(11.1)	4(44.4)	2(22.2)
总数(n=35) Total	19(54.3)	14(40.0)	10(28.6)	5(14.3)	12(34.3)	9(25.7)

用的抗生素种类较多,促使大部分临床宠物医生在用药方面有更多的选择权。国外的研究结果显示,澳大利亚宠物源大肠杆菌对氟喹诺酮类药物的耐药率最高为9.3%,美国宠物源大肠杆菌对氨苄西林的耐药率最高达23%;葡萄牙健康犬源大肠杆菌对四环素的耐药率最高为20%^[24-26]。与国外相比,乌鲁木齐市宠物源大肠杆菌的耐药率更高,多重耐药情况更严重。此外,从健康和患病宠物中均分离到多重耐药大肠杆菌,与健康宠物相比,患病宠物大肠杆菌的耐药谱型更丰富,宠物临床上应重视监测大肠杆菌的耐药性,慎用耐药率高的抗生素。

3.2 宠物源大肠杆菌 ESBLs 耐药基因的携带情况

超广谱头孢菌素,尤其是第三和第四代头孢菌素,被世界卫生组织和世界动物卫生组织列为对人类和动物极为重要的抗菌药物^[27]。大肠杆菌主要通过产生 ESBLs 实现对超广谱头孢菌素耐药^[4]。在本研究中发现 29.2% 宠物源大肠杆菌为产 ESBLs 菌株,高于国内杨守深等^[11]对广州宠物的研究结果。本研究在 35 株耐头孢噻肟的菌株中检测到 CTX-M 和 TEM 型 ESBLs,检测率分别为 54.3%(19/35)和 34.3%(12/35),以 CTX-M 型 ESBLs 为主,且包含 CTX-M-1G(40.0%)和 CTX-M-9G(28.6%),这与国内外的研究结果一致^[24,28]。13 株产 ESBL 菌株未检测到 CTX-M、TEM 和 SHV,表明这些菌株可能携带其他酶,降低了对三代头孢菌素的敏感性^[8]。

碳青霉烯类抗菌药物是治疗革兰氏阴性菌感染的“最后一道防线”。值得注意的是,在药敏试验中,发现有 9.2% 的宠物源大肠杆菌分离株对亚胺培南耐药,而且在 1 只幼龄布偶猫体检的肛拭子中分离到 1 株对美罗培南和亚胺培南同时耐药的菌株,这些菌株的耐药基因有待进一步研究。

综上所述,乌鲁木齐市宠物源大肠杆菌对临床常用抗生素的耐药率在 10.0%~60.8%,并出现了对碳青霉烯类耐药的菌株,提示该地区宠物源大肠杆菌耐药情况严重,应重视产 ESBLs 大肠杆菌在宠物中流行的严峻形势,慎用耐药率高的抗生素,对防止耐药基因在大肠杆菌中的广泛播散具有重要意义。

参考文献 References

[1] Younis K, Baddour M, Ibrahim M S. Detection of

diarrheagenic *Escherichia coli* in pet animals and its antibiotic resistance in Alexandria Governorate [J]. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 2015, 45(1): 113-118

- [2] Chen Y Y, Liu Z H, Zhang Y R, Zhang Z B, Lei L, Xia Z F. Increasing prevalence of ESBL-producing multidrug resistance *Escherichia coli* from diseased pets in Beijing, China from 2012 to 2017[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2852
- [3] Carvalho A C, Barbosa A V, Arais L R, Ribeiro P F, Carneiro V C, Cerqueira A M. Resistance patterns, ESBL genes, and genetic relatedness of *Escherichia coli* from dogs and owners[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2016, 47(3): 150-158
- [4] Bradford P A. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21 st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2001, 14(4): 933-951
- [5] Lloyd D H. Reservoirs of antimicrobial resistance in pet animals[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2007, 45(S2): S148-S152
- [6] Johnson J K, Perencevich E N, Lincalis D P, Venezia R A. Dog bite transmission of antibiotic-resistant bacteria to a human[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2006, 27(7): 762-763
- [7] 宋立, 宁宜宝, 张秀英, 沈青春, 张广川, 林树茂, 吴好庭, 赵晖, 高光, 冯忠武. 中国不同地区家禽大肠杆菌血清型分布和耐药性比较研究[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(7): 1466-1473
Song L, Ning Y B, Zhang X Y, Shen Q C, Zhang G C, Lin S M, Wu H T, Zhao H, Gao G, Feng Z W. Comparative research on serotype distribution and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from poultry in different areas of China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(7): 1466-1473 (in Chinese)
- [8] Rao L L, Lv L C, Zeng Z L, Chen S, He D D, Chen X J, Wu C M, Wang Y, Yang T, Wu P, Liu Y H, Liu J H. Increasing prevalence of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in food animals and the diversity of CTX-M genotypes during 2003-2012[J]. *Vet Microbiology*, 2014, 172(3/4): 534-541
- [9] 赵相胜, 孙洋, 纪雪, 刘军, 祝令伟, 佟盼盼, 冯书章. 犬源大肠杆菌分离鉴定及耐药性分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2014, 30(3): 268-272
Zhao X S, Sun Y, Ji X, Liu J, Zhu L W, Tong P P, Feng S Z. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from dogs [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2014, 30(3): 268-272 (in Chinese)

- [10] 文娟, 杨晓农, 朱子凤, 陈瑞, 杨泓涛, 荣茂伶. 犬源大肠杆菌对氨基糖苷类药物耐药性及 4 种耐药基因的检测[J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(12): 3133-3139
Wen J, Yang X N, Zhu Z F, Chen R, Yang H T, Rong M L. Detection of resistance to aminoglycoside antibiotics and four resistance genes of canine *Escherichia coli* [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2015, 42(12): 3133-3139 (in Chinese)
- [11] 杨守深, 王佳慧, 林敏, 曾晓菲, 邱敏华, 陈文燕, 何玉琴, 林钊盛, 林炜明. 宠物源大肠杆菌产 ESBLs 流行性调查与耐药机制研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(12): 1110-1116
Yang S S, Wang J H, Lin M, Zeng X F, Qiu M H, Chen W Y, He Y Q, Lin Z S, Lin W M. Prevalence and drug-resistance mechanism of ESBLs in *Escherichia coli* isolates of pet origins[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2019, 35(12): 1110-1116 (in Chinese)
- [12] 王蕾, 王婧, 张晓洁, 何高明. 犬源大肠杆菌的药敏分析研究[J]. 畜牧兽医杂志, 2019, 38(2): 4-6, 12
Wang L, Wang J, Zhang X J, He G M. Analysis of drug sensitivity of canine *Escherichia coli* [J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2019, 38(2): 4-6, 12 (in Chinese)
- [13] 易梦颖, 王晶, 卢沛兰, 黄馨仪, 夏应碧, 黄佳为, 严杰聪, 庄子琳, 刘健华. 宠物源大肠埃希菌耐药性及耐药基因调查[J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(6): 15-21
Yi M Y, Wang J, Lu P L, Huang X Y, Xia Y B, Huang J W, Yan J C, Zhuang Z L, Liu J H. Antimicrobial resistance and resistance genes of *Escherichia coli* from pets[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2019, 40(6): 15-21 (in Chinese)
- [14] Teichmann A, Agra H N, Nunes Lde S, da Rocha M P, Renner J D, Possuelo L G, Carneiro M, Rieger A, Benitez L B, Valim A R. Antibiotic resistance and detection of the sul2 gene in urinary isolates of *Escherichia coli* in patients from Brazil [J]. *Journal of Infection in Developing Countries*, 2014, 8(1): 39-43
- [15] M100-S26. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-sixth informational supplement [S]. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016
- [16] Pagani L, Dell'Amico E, Migliavacca R, D'Andrea, M M, Giacobone E, Amicosante G, Romero E, Rossolini G. Multiple CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases in nosocomial isolates of enterobacteriaceae from a hospital in northern Italy [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 41(9): 4264-4269
- [17] Saladin M, Cao V T, Lambert T, Donay J L, Herrmann J L, Ould-Hocine Z, Verdet C, Delisle F, Philippon A, Arlet G. Diversity of CTX-M beta-lactamases and their promoter regions from Enterobacteriaceae isolated in three Parisian hospitals [J]. *Fems Microbiology Letters*, 2002, 209(2): 161-168
- [18] Eckert C, Gautier V, Saladin-Allard M, Hidri N, Verdet C, Ould-Hocine Z, Barnaud G, Delisle F, Rossier A, Lambert T, Philippon A, Arlet G. Dissemination of CTX-M-type beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Paris, France [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, 48(4): 1249-1255
- [19] Lin C F, Hsu S K, Chen C H, Huang J R, Lo H H. Genotypic detection and molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a regional hospital in central Taiwan [J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2010, 59(6): 665-671
- [20] Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C, Saifon P. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008, 52(8): 2818-2824
- [21] 陈传荣, 周妮妮, 韩敏敏, 魏建忠, 孙斐, 李郁. 宠物犬及犬粮源沙门氏菌的耐药性分析及 PFGE 分型 [J]. 中国预防兽医学报, 2017, 39(7): 544-549
Chen C R, Zhou N N, Han M M, Wei J Z, Sun F, Li Y. Antimicrobial resistance and PFGE molecular typing of *Salmonella* isolated from pet dog and dog food [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2017, 39(7): 544-549 (in Chinese)
- [22] Rubin Joseph E, Pitout Johann D D. Extended-spectrum β -lactamase, carbapenemase and AmpC producing Enterobacteriaceae in companion animals [J]. *Veterinary Microbiology*, 2014, 170(1/2): 10-18
- [23] Jacob J, Lorber B. Diseases transmitted by man's best friend: the dog [J]. *Microbiology Spectrum*, 2004, 54(2): 321-332
- [24] Saputra S, Jordan D, Mitchell T, Wong H S, Abraham R J, Kidsley A, Turnidge J, Trott D J, Abraham S. Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolated from companion animals in Australia [J]. *Veterinary Microbiology*, 2017, 211: 43-50
- [25] Davis J A, Jackson C R, Fedorka-Cray P J, Barrett J B,

- Brousse J H, Gustafson J, Kucher M. Anatomical distribution and genetic relatedness of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from healthy companion animals[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, 110(2): 597-604
- [26] Costa D, Poeta P, Sáenz Y, Coelho A C, Matos M, Vinué L, Rodrigues J, Torres C. Prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates recovered from healthy pets [J]. *Veterinary Microbiology*, 2008, 127(1/2): 97-105
- [27] Collignon P J, Conly J M, Andremont A, McEwen S A, Aidara-Kane A, Agerso Y, Andremont A, Collignon P, Conly J, Dang Ninh T, Donado-Godoy P, Fedorka-Cray P, Fernandez H, Galas M, Irwin R, Karp B, Matar G, McDermott P, McEwen S, Mitema E, Reid-Smith R, Scott H M, Singh R, DeWaal C S, Stelling J, Toleman M, Watanabe H, Woo G J. World health organization ranking of antimicrobials according to their importance in human medicine: a critical step for developing risk management strategies for the use of antimicrobials in food production animals[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2009, 49(1): 132-141
- [28] Abbas G, Khan I, Mohsin M, Sajjad-Ur-Rahman, Younas T, Ali S. High rates of CTX-M group-1 extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* from pets and their owners in Faisalabad, Pakistan [J]. *Infection and Drug Resistance*, 2019(12): 571-578

责任编辑：秦梅