

猪源大肠杆菌耐药性及超广谱 β -内酰胺酶流行性分析

杨守深^{1,3}, 曾雪花², 林 敏^{1,3}, 王佳慧^{1,3}, 曾晓菲^{1,3}, 邱敏华^{1,3}, 许慧婷^{1,3}, 谢隐华^{1,3}, 杨小燕^{1,3}

摘要:目的 对福建地区分离的猪源大肠杆菌进行耐药性测定以及对 ESBLs 流行性进行分析,以期为临床合理用药科学提供依据。**方法** 采用琼脂稀释法测定 373 株菌大肠杆菌对 12 种抗菌药物的敏感性,并用 PCR 方法检测 ESBLs 耐药基因的携带情况以及分析 CTX-M 阳性菌的种系发育关系。**结果** 分离株对甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、萘啶酸、氟苯尼考及氨基西林耐药率较高,分别为 93.8%、82.8%、73.7% 和 70.0%;对恩诺沙星、四环素、庆大霉素、多西环素、环丙沙星、卡那霉素、头孢噻呋和头孢噻肟的耐药率依次为 54.4%、53.1%、52.0%、46.6%、44.0%、41.0%、35.9% 和 30.8%。在 373 株大肠杆菌中,共有 122 株菌携带有 ESBLs 耐药基因,检出率为 32.7%,其中 CTX-M、TEM 及 OXA 的检出率分别是 18.0%(67)、12.1%(45) 和 7.5%(28),其中 CTX-M 的阳性菌中以 CTX-M-14 最为流行,其次是 CTX-M-65 和 CTX-M-55;其种系发育显示分离株主要分布在 A 群。**结论** 福建地区猪大肠杆菌对抗菌药表现出较强的耐药性,ESBLs 在猪源大肠杆菌中广泛流行,CTX-M 是其主要流行的基因型,并且多数菌以共生型大肠杆菌为主。

关键词:药物敏感性;耐药基因;流行特征;种系发育

中图分类号:S852.61

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2019)01-0045-06

Antimicrobial resistance analysis and extended-spectrum- β -lactamases genes detection in *Escherichia coli* isolated from swine

YANG Shou-shen^{1,3}, ZENG Xue-hua², LIN Min^{1,3}, WANG Jia-hui^{1,3}, ZENG Xiao-fei^{1,3}, QIU Min-hua^{1,3}, XU Hui-ting^{1,3}, XIE Yin-hua^{1,3}, YANG Xiao-yan^{1,3}

(1. College of Life Sciences, Longyan University, Longyan 364012, China;

2. College of Animal Science and Technology, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Hangzhou 310032, China;

3. Fujian Provincial Key Laboratory for the Prevention and Control of Animal Infectious Diseases and Biotechnology, College of Life Sciences, Longyan 364012, China)

Abstract: The aim of this research was to study the prevalence of antimicrobial resistance and distribution of extended-spectrum- β -lactamases (ESBLs) genes of the *Escherichia coli* isolated from swine, and provided guidance for the rational use of antibiotics. A total of 373 isolates were tested for antimicrobial susceptibility to 12 antimicrobial agents by agar dilution method, screened for ESBLs genes and analysed phylogenetic group among the CTX-M positive isolates by PCR. Results showed strains were found high resistance rates to trimethoprim/sulfamethoxazole, nalidixic acid, florfenicol and ampicillin, with resistance rates of 93.8%, 82.8%, 73.7% and 70.0%, respectively. Strains had showed resistance to enrofloxacin, tetracycline, gentamicin, doxycycline, ciprofloxacin, kanamycin, ceftiofur and cefotaxime, and the resistance rates were 54.4%, 53.1%, 52.0%, 46.6%, 44.0%, 41.0%, 35.9% and 30.8% as follows. There were 32.7% (122/373) of the isolates carried ESBLs genes, including CTX-M (18.0%, 67), TEM (12.1%, 45) and OXA(7.5%, 28) genes, and the CTX-M-14 was the most predominant subtype during the encoding CTX-M isolates, then of CTX-M-65 and CTX-M-55. Phylogeny showed that the strains were mainly distributed in the A group. This research revealed that high rates of resistance to antimicrobial agents, and ESBLs was widely prevalent in *Escherichia coli* isolated from Fujian Province. The CTX-M was the most predominant gene among those strains, and the majority of them belonged to symbiotic *Escherichia coli*.

龙岩市科技计划项目(No. 2015LY26)资助

通讯作者:杨小燕,Email:lyxy1988@126.com;

ORCID:0000-0001-6386-3397

作者单位:1. 龙岩学院生命科学学院,龙岩 364012;

2. 浙江农林大学动物科技学院,杭州 311300;

3. 福建省家畜传染病防治与生物技术重点实验室,龙岩

364012

Keywords: antimicrobial susceptibility; resistance gene; epidemic characteristics; phylogeny

Supported by the Longyan Science and Technology Project (No. 2015LY26)

Corresponding author: Yang Xiao-yan, Email: lyyxy1988@126.com

大肠杆菌(*Escherichia coli*)属于革兰氏阴性菌,广泛存在于自然界,为人和动物肠道中的常居菌,在一定条件下可引起仔猪黄、白痢和仔猪水肿病,在兽医临幊上属于多发常见病,发病率和死亡率普遍较高。 β -内酰胺类药物是兽医临幊重要的抗感染药物,广泛用于动物疾病的治疗。随着近十多年来, β -内酰胺类药物在兽医临幊上长期不合理的使用,导致耐药菌株的产生并且广泛扩散流行,抗菌效果降低甚至丧失,导致大批量动物死亡,给猪场养殖业带来巨大的经济损失。超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)是介导大肠杆菌对第三代头孢菌素耐药的重要机制。ESBLs耐药基因由质粒携带可通水平传播,在全球范围内迅速扩散,造成耐药。同时动物源产ESBLs大肠杆菌可经食物链直接或间接传播给人,给人类的健康造成严重威胁。

目前,福建地区猪源大肠杆菌ESBLs流行病学的研究资料相对较少。因此,本实验对该地区分离的猪源大肠杆菌ESBLs流行性进行调查以及种系发育进行分析,旨在阐明该地区分离株的ESBLs流行分布特征和种系发育进行情况,以期对该病原菌耐药性风险评估及兽医临床合理使用药提供一定的科学依据。

1 材料和方法

1.1 细菌分离与鉴定 2014—2016年采用肛门拭子采集规模化猪场粪便样品,将采集的粪便样品在洁净工作台中接种于3 mL灭菌的LB肉汤中,37℃震荡培养箱增菌12~24 h,再用接种环接取少量菌液均匀划线于麦康凯琼脂上,37℃培养箱12~24 h,挑取麦康凯琼脂上红色不透明中等大小可疑单菌落进行纯化并鉴定。所有分离株经革兰氏染色后镜检、生化鉴定和16S rRNA^[1](F: AGAGTTT-GATCTGGCTCAG, R: GGTTACCTTGTTACG-ACTT)分析检测。分离株保存在终浓度为30.0%甘油肉汤中,-20℃冰箱保存备用。大肠杆菌ATCC 25922作为药敏质控菌,由本实验室保存。

1.2 药物与试剂 麦康凯琼脂(MacConkey Agar),LB肉汤(LB Broth),LB琼脂(LB Agar),水解酪蛋白琼脂(MH Agar),水解酪蛋白肉汤(MH

Broth),均购自广州环凯微生物科技有限公司;氨苄西林、头孢噻呋、庆大霉素、卡那霉素、四环素、多西环素、氟苯尼考、萘啶酸、恩诺沙星、环丙沙星和甲氧苄啶/磺胺甲噁唑,购自中国兽医药品监察所;头孢噻肟购自中国药品生物制品检定所;rTaq DNA聚合酶购自宝生物工程(大连)有限公司;引物合成和PCR产物序列测定由华大生物科技(上海)有限公司完成。

1.3 药物敏感性测定 大肠杆菌药物敏感性的测定方法参考美国临床实验室标准化委员会(M100-S25)推荐方法执行,采用琼脂二倍稀释法测定分离菌株的最低抑菌浓度(MIC),以完全抑制细菌生长的最低浓度为最低抑菌浓度。其中头孢噻呋^[2]和氟苯尼考^[3]的耐药折点参考文献报道,恩诺沙星的耐药折点参考(CLSI, M3-A3)鸡大肠杆菌的耐药折点,并根据MIC的测定值,计算每种药物的MIC₅₀和MIC₉₀。大肠杆菌ATCC 25922作为药敏质控菌株。

1.4 基因组DNA提取 用水煮法提取DNA模板,将鉴定纯化的大肠杆菌划线接种于麦康凯琼脂平板上,37℃培养12~24 h后,挑取单个菌落接种于4 mL LB肉汤中,37℃振荡培养12~24 h,将菌液分装到2 mL的EP管中12 000 r/min离心2 min,弃上清,加入250~300 μL灭菌超纯水,置于沸水浴10 min,冰浴5 min后,12 000 r/min离心5 min,取上清液至另一灭菌EP管,储于4℃冰箱保存。

1.5 ESBLs基因的检测及CTX-M亚型分析 试验检测了ESBLs耐药基因,包括TEM、SHV、OXA和CTX-M基因,其中CTX-M型包括CTX-M-1G和CTX-M-9G,引物序列参考相关文献报道,见表1。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测,目的基因的PCR产物经序列测定后提交NCBI平台通过BLAST进行分析确认。

1.6 种系发育关系分析 根据Clermont等文献报道的方法判断大肠杆菌种族系统进化关系^[4]。采用多重PCR及交叉式检索表的方法,以chuA基因、yjaA基因及一个未知DNA片段TspE4.C2的存在或缺少为依据来判定菌株所在的种族。

表 1 基因引物序列及片段长度
Tab.1 Primer sequences of genes and gene length

基因类别	基因名称	引物序列(5'-3')	片段长度(bp)
超广谱β-内酰胺酶	TEM	5'-ATAAAATTCTTGAAGACGAAA-3'	1080 ^[5]
		5'-GACAGTTACCAATGCTTAATC-3'	
	SHV	5'-CACTCAAGGATGTATTGTG-3'	885 ^[6]
		5'-TTAGCGTTGCCAGTGCTCG-3'	
	OXA	5'-TGAAGGGTTGGCGATT-3'	925 ^[7]
		5'-ACCCGGAGCCTCATTAATTGT-3'	
	CTX-M-1G	5'-CTTCCAGAATAAGGAATCCC-3'	949 ^[8]
		5'-CGTCTAAGGCGATAAACAAA-3'	
	CTX-M-9G	5'-GTGACAAAGAGAGTGCAACGG-3'	857 ^[6]
		5'-ATGATTCTCGCCGCTGAAGCC-3'	
种系发育	chuA	5'-GACGAACCAACGGTCAGGAT-3'	279 ^[4]
		5'-TGCGGCCAGTACCAAAGACA-3'	
	yjaA	5'-TGAAGTGTCAAGGAGACGCTG-3'	211 ^[4]
		5'-ATGGAGAATGCGTCCCTAAC-3'	
	TspE4C2	5'-GAGTAATGTCGGGCATTCA-3' 5'-CGCGCCAACAAAGTATTACG-3'	152 ^[4]

注:F,上游引物;R,下游引物

2 结 果

2.1 细菌分离情况 2014—2016年期间,从福建地区规模化猪场粪便中共分离大肠杆菌373株。大肠杆菌在麦康凯培养基上菌落呈圆形凸起,边缘整齐,粉色至深红色;在伊红美蓝培养基上,菌落中心呈黑色,有金属光泽。分离株经革兰氏染色及油镜观察,呈红色短杆菌;生化鉴定结果符合大肠杆菌的相关特征;16S rRNA检测,可获得1 500 bp的目的条带,经测序并分析,确认分离株为大肠杆菌。

2.2 药物敏感性分析 采用琼脂二倍稀释法测定了分离株对临床常用抗菌药物的敏感性,实验结果以耐药率、MIC₅₀和MIC₉₀显示,见表2和表3。结

果表明,373株大肠杆菌对甲氧苄啶/磺胺甲噁唑耐药率最高为93.8%;对萘啶酸、氟苯尼考及氨苄西林耐药较为严重,耐药率分别为82.8%,73.7%和70.0%;对恩诺沙星、四环素、庆大霉素、多西环素、环丙沙星及卡那霉素的耐药率依次为54.4%、53.1%、52.0%、46.6%、44.0%和41.0%;对第三代头孢菌素,头孢噻呋和头孢噻肟的耐药率相对较低,但是仍达到35.9%和30.8%。分离株对部分药物不仅耐药率较高,而且耐药水平也较高,分离株对萘啶酸、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、氨苄西林及氟苯尼考MIC大于等于64 μg/mL,分别占总数的69.4%、64.9%、53.4%和51.2%。

表 2 大肠杆菌对抗菌药物的最低抑菌浓度

Tab.2 Distribution of minimum inhibitory concentration values for antimicrobials in *Escherichia coli* isolates

药物名称	MIC各浓度菌株分布(μg/mL)													
	≤0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	≥256
氨苄西林	0	0	1	3	15	6	12	21	19	35	62	73	68	58
头孢噻呋	10	32	15	26	22	42	55	37	31	22	22	31	10	18
头孢噻肟	8	26	13	32	49	76	54	26	15	26	7	18	8	15
庆大霉素	0	0	1	12	14	31	38	36	47	43	56	41	25	29
卡那霉素	0	0	6	6	7	13	24	25	46	50	43	59	58	36

表 2(续)

药物名称	MIC 各浓度菌株分布 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)													
	≤ 0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	≥ 256
四环素	0	0	5	10	24	20	35	42	39	44	54	37	39	24
多西环素	0	1	15	30	15	25	39	34	40	43	49	36	18	28
氟苯尼考	0	0	0	2	16	14	11	21	34	45	39	68	66	57
萘啶酸	0	0	0	0	0	0	4	17	14	29	50	93	93	73
恩诺沙星	2	12	15	31	56	54	35	31	25	24	34	27	12	15
环丙沙星	3	15	22	27	35	53	54	44	38	13	26	18	14	11
甲氧苄啶/磺胺甲噁唑	0	0	0	0	2	9	12	18	19	28	43	69	95	78

表 3 大肠杆菌对抗菌药物的 MIC_{50} 、 MIC_{90} 和耐药率Tab.3 MIC_{50} , MIC_{90} and resistance rates for antimicrobials in *Escherichia coli*

药物名称	MIC_{50}	MIC_{90}	耐药折点 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		耐药率
	($\mu\text{g}/\text{mL}$)	($\mu\text{g}/\text{mL}$)	敏感 (S)	耐药 (R)	
氨苄西林	64	256	≤ 8	≥ 32	70.0%
头孢噻呋	2	64	≤ 2	≥ 8	35.9%
头孢噻肟	1	64	≤ 1	≥ 4	30.8%
庆大霉素	16	128	≤ 4	≥ 16	52.0%
卡那霉素	32	128	≤ 16	≥ 64	41.0%
四环素	16	128	≤ 4	≥ 16	53.1%
多西环素	8	128	≤ 4	≥ 16	46.6%
氟苯尼考	64	256	/	≥ 16	73.7%
萘啶酸	64	256	≤ 16	≥ 32	82.8%
恩诺沙星	2	64	≤ 0.5	≥ 2	54.4%
环丙沙星	2	64	≤ 1	≥ 4	44.0%
甲氧苄啶/磺胺甲噁唑	64	256	≤ 2	≥ 4	93.8%

注：“/”表示无耐药折点可参考。

2.3 ESBLs 基因的流行情况 采用 PCR 方法检测了 ESBLs 耐药基因, 在 373 株大肠杆菌中, 共有 122 株菌携带有 ESBLs 耐药基因, 检出率为 32.7%, 其中 CTX-M、TEM 及 OXA 的检出率分别是 18.0% (67)、12.1% (45) 和 7.5% (28), SHV 基因未检出, 并且 CTX-M 以 CTX-M-9G 的检出率最高 14.7% (55/373), CTX-M-1G 的检出率为 3.2% (12/373)。CTX-M-9G 亚型分析表明 CTX-M-14 最为流行 (61.9%, 38/55), 其次是 CTX-M-65 (21.8%, 12/55) 和 CTX-M-48 (9.1%, 5/55), 其种系发育显示分离株主要分布在 A 群, 其次是 D 群。CTX-M-1G 主要以 CTX-M-55 亚型最为流行 (83.3%, 10/12), 主要以 A 群为主。部分 CTX-M 阳性株还携带有其他的 ESBLs 基因, 其中有 10 株菌同时携带 CTX 和 TEM 基因, 另有 8 株菌同时携带 CTX 和 OXA 基因, 试验结果见表 4。

表 4 大肠杆菌耐药基因 CTX-M 亚型及种系发育分布

Tab.4 Distribution of the subtype and phylogeny of the *Escherichia coli* carried CTX-M genes

耐药基因	亚型	种系发育关系	TEM	OXA	SHV	菌株数及检出率($n=67$)
CTX-M-1G	CTX-M-3	D	—	—	—	2(3.0%)
	CTX-M-55	A	—	—	—	10(14.9%)
CTX-M-9G	CTX-M-14	A	+	—	—	6(9.0%)
	CTX-M-14	A	—	+	—	1(1.5%)
CTX-M-14	CTX-M-14	A	—	—	—	19(28.4%)
	CTX-M-14	B1	—	+	—	2(3.0%)
	CTX-M-14	B1	+	—	—	1(1.5%)
	CTX-M-14	B2	+	—	—	1(1.5%)
	CTX-M-14	B2	—	—	—	2(3.0%)

表4(续)

耐药基因	亚型	种系发育关系	TEM	OXA	SHV	菌株数及检出率(n=67)
CTX-M-14	D	—	—	—	—	6(9.0%)
CTX-M-48	A	—	+	—	—	3(4.5%)
CTX-M-48	D	—	+	—	—	2(3.0%)
CTX-M-65	A	+	—	—	—	2(3.0%)
CTX-M-65	A	—	—	—	—	6(9.0%)
CTX-M-65	D	—	—	—	—	4(6.0%)

3 讨 论

本研究调查了福建地区猪源大肠杆菌对临床常用的12种抗菌药耐药情况,结果表明该地区猪源大肠杆菌耐药性较为严重,主要体现在耐药率及耐药水平均较高。对甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、萘啶酸、氟苯尼考及氨苄西林的耐药率在70%~93.8%之间,并且MIC值大于等于64 μg/mL菌株数均超过50%,在51.2%~69.4%。β-内酰胺类药物作为兽医临床重药的抗感染药物,尤其是第三代头孢菌素,在本试验中分离株对头孢噻肟(30.8%)和头孢噻呋(35.9%)表现出较强的耐药性,与广东(34.5%,37.9%)和四川(40.4%,头孢噻呋)的报道相接近,但是明显低于贵州(93.29%,头孢噻呋)的耐药率,另一常用药氨苄西林的耐药率为70%,与广东,四川、贵州等地相似(79.3%~91.25%)^[9-11],均处于在较高的耐药水平。β-内酰胺类药物耐药性快速增长,可能跟该类药物的大量使用有关。氟苯尼考作为广谱抗菌药同样被大量使用,本实验中氟苯尼考的耐药率高达73.7%,该结果与四川73.97%相似^[9],但贵州地区的实验结果显示氟苯尼考的耐药率仅为21.95%^[10],表现出相对较好的敏感性。

目前,ESBLs以TEM、SHV、CTX-M和OXA型较为常见,其中以CTX-M型最为流行^[12-14]。到目前为止CTX-M型已有100多种,并可分为5个亚群:CTX-M-1G、CTX-M-2G、CTX-M-8G、CTX-M-9G和CTX-M-25G^[15],并且在CTX-M阳性大肠杆菌中CTX-M-9G基因检出率最高^[13, 16]。本研究在福建多个地区采集的373株大肠杆菌中,32.7%的菌株携带有ESBLs基因,高于2015年福建闽西的地区28.6%的检出率^[17],其中CTX-M的检出率最高为18.0%,同样以CTX-M-9G最为流行(55/67),但是也有不同的情况,王基伟^[18]及佐明开^[19]对吉林和江西的研究结果表明,最为流行是TEM型,而非CTX-M型。

本研究显示CTX-M中最为流行亚型是CTX-

M-14、其次CTX-M-65和CTX-M-55,然而2015年福建闽西地区调查结果显示,最为流行的亚型是CTX-M-15^[17],与本试验结果明显不同,CTX-M-14属于CTX-M-9G,而CTX-M-15属于CTX-M-1G,并且CTX-M-15在本研究中未检出,说明在该地区流行的亚型很可能已经发生改变。2011年,郑红青等研究广东地区猪源产ESBLs大肠杆菌,结果表明CTX-M-14最为流行,其次是CTX-M-55和CTX-M-65^[16]。然而2016年,靳婵调查广东地区屠宰前猪源大肠杆菌CTX-M流行情况时,发现不仅CTX-M的检出率相对较低,其流行的亚型也不一样,检出率最高的为CTX-M-55,其次为CTX-M-14和CTX-M-65^[20],以上研究结果表明检出率和流行的亚型存在一定的差异,可能是与样品来源不同、地域差异及管理水平等因素有关。值得注意的是同一个养殖场,不同的样品来源,CTX-M的流行亚型也不同^[21]。

种系发育是大肠杆菌分子流行病学的重要特征,根据TSPE4.C2、yjaA及chuA这三个基因的不同组合,可将大肠杆菌分为A、B1、B2和D这4个种系发育型。共生型大肠杆菌主要分布在A组,毒力因子较多的常常位于B2组和D组^[22-24]。健康猪源大肠杆菌主要分布在A群和B1群,腹泻仔猪大肠杆菌分布在B2和D群的比例显著高于健康猪源^[18]。有资料表明,动物源CTX-M-14和CTX-M-55基因阳性的大肠杆菌,其种系发育均以A组为主^[13, 25]。本实验中,CTX-M-14、CTX-M-65和CTX-M-55,大多数属于A组,占CTX-M阳性菌的70.1%,与他人的研究结果一致,说明CTX-M阳性菌多数以共生型大肠杆菌为主。

利益冲突:无

引用本文格式:杨守深,曾雪花,林敏,等.猪源大肠杆菌耐药性及超广谱β-内酰胺酶流行性分析[J].中国人兽共患病学报,2019,35(1):45-50. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2018.00.218

参考文献：

- [1] 谢和平,朱庆艳,陈武,等. 华南虎源大肠杆菌的快速鉴定及致病特性的初步研究[J]. 野生动物,2012,33(3):109-112.
- [2] Ma J, Zeng Z, Chen Z, et al. High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr*, *aac*(6')-*Ib-cr*, and *qepA* among ceftiofur-resistant Enterobacteriaceae isolates from companion and food-producing animals[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(2): 519-524. DOI: 10.1128/AAC.00886-08
- [3] 何涛. 动物源大肠杆菌对乙酰甲喹和氟苯尼考的敏感性折点及分子耐药机制研究[D]. 北京:中国农业大学,2015.
- [4] Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(10): 4555-4558. DOI: 10.1128/AEM.66.10.4555-4558.2000
- [5] Weill FX, Demartin M, Tande D, et al. SHV-12-like extended-spectrum-beta-lactamase-producing strains of *Salmonella enterica* serotypes Babelsberg and Enteritidis isolated in France among infants adopted from Mali[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(6): 2432-2437. DOI: 10.1128/JCM.42.6.2432-2437.2004
- [6] Brinas L, Moreno MA, Zarazaga M, et al. Detection of CMY-2, CTX-M-14, and SHV-12 beta-lactamases in *Escherichia coli* fecal-sample isolates from healthy chickens[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(6): 2056-2058. DOI: 10.1128/AAC.47.6.2056-2058.2003
- [7] 曲志娜,刘红玉,王娟,等. 青岛地区产ESBLs鸡源大肠杆菌耐药性调查与优势基因型分析[J]. 中国农业科学,2015,48(10): 2058-2066.
- [8] Liu JH, Wei SY, Ma JY, et al. Detection and characterisation of CTX-M and CMY-2 beta-lactamases among *Escherichia coli* isolates from farm animals in Guangdong province of China[J]. Int J Antimicrob Agents, 2007, 29(5): 576-581. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2006.12.015
- [9] 岳秀英,葛荣,吴晓岚,等. 四川省猪、鸡源大肠杆菌对抗生素耐药性研究[J]. 中国兽医杂志,2017,53(1):93-95.
- [10] 曹敏,谭艾娟,吕世明,等. 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.
- [11] 孙坚. 肠外致病性大肠杆菌 ESBLs 耐药与毒力关系研究[D]. 广州:华南农业大学,2012.
- [12] Ho PL, Chow KH, Lai EL, et al. Extensive dissemination of CTX-M-producing *Escherichia coli* with multidrug resistance to 'critically important' antibiotics among food animals in Hong Kong, 2008-10[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(4): 765-768. DOI: 10.1093/jac/dkq539
- [13] 曾莉. 不同来源大肠杆菌 ESBLs 基因分子流行病学研究[D]. 广州:华南农业大学,2016.
- [14] 蒋鸿超,奎莉越,黄海林,等. 儿童产超广谱β-内酰胺酶大肠埃希菌I类整合子及其与ESBLs基因关系的研究[J]. 临床儿科杂志,2015,33(4):345-347.
- [15] Canton R, Gonzalez-Alba JM, Galan JC. CTX-M enzymes: origin and diffusion[J]. Front Microbiol, 2012, 3: 110. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00110
- [16] 郑红青. 食品动物源大肠杆菌 ESBLs 传播机制研究[D]. 广州:华南农业大学,2011.
- [17] 郑新添,张孝辉,吴玲,等. 猪源产ESBLs大肠杆菌三种耐药基因检测及分析[J]. 龙岩学院学报,2015,33(2):100-103.
- [18] 王基伟. 猪源大肠杆菌分离鉴定及耐药性研究[D]. 长春:吉林农业大学,2015.
- [19] 左明开. 江西猪源产ESBLs ETEC 流行及质粒相关性研究[D]. 南昌:江西农业大学,2016.
- [20] 靳婵. 屠宰前鸡猪源大肠杆菌耐药性和β-内酰胺酶基因调查研究[D]. 广州:华南农业大学,2016.
- [21] 高丽丽. 猪源产ESBL大肠杆菌的扩散及膨润土促其耐药基因转移机制的研究[D]. 泰安:山东农业大学,2015.
- [22] Picard B, Garcia JS, Gouriou S, et al. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection[J]. Infect Immun, 1999, 67(2): 546-553.
- [23] Johnson JR, Stell AL. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise[J]. J Infect Dis, 2000, 181(1): 261-272. DOI: 10.1086/315217
- [24] Boyd EF, Hartl DL. Chromosomal regions specific to pathogenic isolates of *Escherichia coli* have a phylogenetically clustered distribution[J]. J Bacteriol, 1998, 180(5): 1159-1165.
- [25] 甄盼盼,汤电,任艳娜,等. 食品动物源产CTX-M-14 大肠杆菌传播分子机制的演变[J]. 中国畜牧兽医,2012,39(9):195-202.

收稿日期:2018-02-22 编辑:刘岱伟