

临床产 ESBLs 大肠埃希菌整合子检测及基因型分析

蓝惠华, 张 玲, 王玮玮, 杨 艳, 程 玲, 骆园园, 金丹丹, 王厚照*

(厦门大学附属成功医院 检验科 福建 厦门 361003)

摘 要 了解临床分离的产 ESBLs 大肠埃希菌(ESBLs-producing *Escherichia coli* ESBL-EC) 中 I、II、III 类整合子及 ESBL-EC 基因型的分布。收集 2014 年 1 月至 12 月某三甲医院住院患者分离的大肠埃希菌,经全自动细菌分析系统鉴定并检测其对临床常用抗菌药物的耐药性,双纸片协同试验确定 ESBL-EC,采用聚合酶链反应(PCR)对整合子基因和 ESBLs 基因进行检测。K-B 法比较整合子阳性菌株与阴性菌株的耐药率。结果发现,98 株临床非重复 ESBL-EC 对青霉素类、头孢菌素类、喹诺酮类、单环酰胺类和庆大霉素耐药率均大于 50%,对妥布霉素耐药率为 31.62%,对呋喃妥因、阿莫西林/克拉维酸和阿米卡星较敏感,分别为 11.11%、13.4% 和 6.12%;对碳青霉烯类抗菌素、替加环素和哌拉西林/他唑巴坦敏感率为 100%。98 株菌中检出 47 株含 I 类整合子(47.96%) 3 株含 II 类整合子(3.06%),所有菌株中有 1 株同时含 I 类和 II 类整合子,未检出 III 类整合子。整合子阳性菌株对四环素和复方新诺明的耐药率高于整合子阴性菌株($P < 0.05$)。98 株菌中 β -内酰胺酶基因 TEM、CTX-M-9、CTX-M-1、CTX-M-2 和 SHV 阳性率分别为 62.24%、53.06%、32.65%、4.08% 和 3.06%,ESBL-EC 基因型分布以 TEM 合并 CTX-M-9 型(共 30 株)最多见,占 30.61%。结果表明,I 类整合子在产 ESBLs 大肠埃希菌中分布广泛,本研究尚不足以证明整合子的存在可影响 ESBL-EC 菌株抗生素耐药水平。同时携带 TEM 和 CTX-M-9 基因是安徽医科大学解放军 174 临床学院产 ESBLs 大肠埃希菌临床耐药菌株产生的主要原因。

关键词 大肠埃希菌; β -内酰胺酶类; 整合子类; 聚合酶链反应

中图分类号 Q939.93; R378.2+1 文献标识码 A 文章编号 1005-7021(2017)05-0071-006
doi: 10.3969/j.issn.1005-7021.2017.05.012

Detection of Integrins and Genotypes of Clinical ESBLs-Producing *E. coli* Strains

LAN Hui-hua, ZHANG Ling, WANG Wei-wei, YANG Yan, CHENG Ling, LUO Yuan-yuan, JIN Dan-dan, WANG Hou-zhao

(Dept. of Lab. of Chenggong Hosp. affil. to Xiamen Uni., Xiamen 361003)

Abstract The distribution of class I, II and III integrins and the genotype of ESBLs-producing *E. coli* (ESBL-EC) strains isolated from clinical was studied. *E. coli* strains isolated from in-patients in a tertiary hospital from Jan. 1 to Dec. 31 2014 were collected. A France Bio-Merieux company VITEK-2 compact automatic bacterial identification instrument was employed to identify the bacteria and determine antibiotic resistance of the *E. coli*. According to the NCCLS (2005), the double disk confirmatory tests were adopted to detect ESBLs. The polymerase chain reaction (PCR) was used to detect the integrins and ESBLs gene types. Comparison of drug resistance rates of the positive and negative strains with the K-B method. The results showed that the resistance rates of penicillin, cephalosporin and quinolone, monocyclic amide and gentamycin were higher than 50% in average, resistant rate to tobramycin is 31.62%, to

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目(2013D006); 全军医学科技创新项目(13QN047); 南京军区医学科技创新项目(2013ZD27); 南京军区医学科技创新项目(14MS08)

作者简介: 蓝惠华 女, 主管技师, 硕士。研究方向为细菌耐药机制的研究。E-mail: lanhuihua2010@sina.com

* 通讯作者。男, 副主任技师, 主任。主要从事细菌耐药机制方面的研究。E-mail: wanghouzhao@126.com

收稿日期: 2017-01-06

nitrofurantoin, amoxicillin/clavulanic acid and amikacin were 11.11%, 13.4 and 6.12% respectively. The sensitive rates to carbapenems, tigecycline and piperacillin/tazobactam were 100%. 98 of the strains, 47 strains (47.96%) were detected containing class I integron, 3 strains (3.06%) containing class II integron, one of them both containing classes I and class II integron, however, class III integron was not detected. The resistance rates of tetracycline and cotrimoxazole to integron positive strains were significantly higher than those to integron negative strains ($P < 0.05$). Of the 98 ESBL-EC strains, the positive rates of genes TEM, CTX-M-9, CTX-M-1, CTX-M-2 and SHV were 62.24%, 53.06%, 32.65%, 4.08% and 3.06% respectively. The distribution of genotype in ESBL-EC strains was TEM-1 fused with CTX-M-9 type was the commonest in the hospital, accounted for 30.61%. The distribution of class I integron in ESBL-EC was wide. This study would not be enough yet to prove the existence of the integron will affect the antibiotic resistance level of ESBL-EC strains. Simultaneously carrying TEM and CTX-M-9 genes may have been the main reason that caused ESBL-EC strains clinical drug resistance to produce.

Keywords *Escherichia coli*; beta-lactamases; integrons; polymerase chain reaction

质粒编码的超广谱 β -内酰胺酶(Extended Spectrum Beta-Lactamases, ESBLs)是革兰阴性杆菌中抵抗 β -内酰胺酶类抗生素的最主要机制之一,自20世纪80年代初首次报道以来, β -内酰胺酶类抗生素尤其是广谱头孢菌素的滥用,是导致产ESBLs菌株广泛流行的主要因素^[1]。产ESBL大肠埃希菌(ESBL-EC)是目前临床分离的最常见的产ESBLs菌株,可引起医院许多严重和致命性感染,如脑膜炎和血液感染等。整合子与细菌多重耐药和耐药基因播散密切相关,为了解ESBL-EC的 β -内酰胺类获得性耐药基因与整合子遗传标记存在状况,对98株ESBL-EC进行了14种 β -内酰胺类获得性耐药基因以及3种整合子标记(Int1、Int2和Int3)检测,为临床治疗、预防产ESBLs细菌引起的感染提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象 分离的ESBL-EC菌株来源于2014年1月至12月厦门大学附属成功医院住院患者的中段尿、阴道分泌物、血液等标本,剔除同病例相同部位重复分离的菌株,共98株。质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853,由该院微生物室保存提供。

1.1.2 仪器和试剂 生物安全柜(HFSAFE-1200B2),哥伦比亚血琼脂平板(郑州安图),CO₂恒温培养箱(MCO-15AC),VITEK-Compact 2全自动微生物分析系统(法国梅里埃公司),Micro17R微量冷冻离心机,Thermo微量移液器,恒温金属浴,XW-80A型旋涡混合器,Nanophotometer超微

量可见分光光度计,BIO-Rad S1000基因扩增仪,BIO-Rad电泳仪,BIO-Rad凝胶成像系统。dNTPs、Taq DNA聚合酶、蛋白酶K和DNA Marker由TaKaRa公司提供;TBE电泳缓冲液由实验室自配;MH琼脂和药敏纸片购自英国OXOID公司。

1.2 方法

1.2.1 细菌分离和鉴定及药物敏感试验 采用VITEK-Compact 2全自动微生物分析系统配套的鉴定卡和药敏卡进行细菌鉴定及药敏。超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌的检测则采用美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)推荐的双纸片法。结果按照美国临床实验室标准化研究所(CLSI 2013年版)的标准进行判读^[2]。

1.2.2 引物设计 耐药基因引物由上海生工生物工程有限公司合成,见表1。

1.2.3 DNA模板制备^[6] 将菌株接种血平板,37℃培养18~24h,取少许纯培养菌落于装有200 μ L无菌蒸馏水的1.5 mL EP管中,充分震荡混匀。恒温金属浴100℃煮沸10 min,煮沸时防止管盖爆开,取出冷却,14 000 r/min离心10 min,取上清,采用超微量可见分光光度计检测提取的DNA含量,用无菌蒸馏水调整为实验所需浓度(200~300 ng/ μ L)。

1.2.4 基因检测 采用PCR法检测,引物及目的片段大小见表1,反应体系总体积为50 μ L,其中10 \times PCR buffer 5 μ L,25 mmol/L MgCl₂ 3 μ L,1 mmol/L dNTPs 4 μ L,上下游引物各1 μ L,DNA模板2 μ L,Taq酶0.3 μ L,无菌水补充至50 μ L。整合子基因反应条件:94℃ 4 min;94℃ 1 min,62℃ 1 min,72℃ 1 min,35个循环;72℃ 8 min。超广谱 β -内酰胺酶基因反应条件:93℃ 2 min;93

℃ 30 s ,55 ℃ 30 s ,72 ℃ 60 s ,35 个循环;72 ℃ 5 min。扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶中(含 0.5 g/mL 溴化乙锭) ,120 V 电压 ,电泳 40 min ,凝胶成像仪观察结果 ,并拍照保存。

表 1 基因引物序列、产物终长度及退火温度

Table 1 Primer sequences of resistance genes , the objective product length and the annealing temperature

基因名称	引物序列片段(5′→3′)	产物长度/bp	退火温度/℃	参考文献
整合子基因				
Int1	Int1-F: GGT CAA GGA TCT GGA TTT CG Int1-R: ACA TGC GTG TAA ATC ATC GTC	456	62	[3]
Int2	Int2-F: CAC GGA TAT GCG ACA AAA AGG T Int2-R: GTA GCA AAC GAG TGA CGA AAT G	789	62	[3]
Int3	Int3-F: AGT GGG TGG CGA ATG AGT G Int3-R: TGT TCT TGT ATC GGC AGG TG	433	60	[3]
超广谱 β-内酰胺酶基因				
TEM	P1: AGG AAG AGT ATG ATT CAA CA P2: CTC GTC GTT TGG TAT GGC	535	58	[4]
SHV	P1: TGC GCA AGC TGC TGA CCA GC P2: TTA GCG TTG CCA GTG CTC GA	305	56	[4]
CTX-M-1 群	P1: ATG GTT AAA AAA TCA CTG CGT CAG TTC P2: TCA CAA ACC GTT GGT GAC GAT TTT AGC CGC	876	56	[4]
CTX-M-2 群	P1: ATG ATG ACG CAG AGC ATT CGC CGC TCA P2: TCA GAA ACC GTG GGT TAC GAT TTT CGC	876	56	[4]
CTX-M-8 群	P1: ATG ATG AGA CAT CGC GTT AAG CGG P2: TTA ATA ACC GTC GGT GAC GAT TTT CGC G	876	56	[4]
CTX-M-9 群	P1: ATG ATG AGA CAT CGC GTT AAG CGG P2: TTA ATA ACC GTC GGT GAC GAT TTT CGC G	876	56	[4]
CTX-M-25 群	P1: ATG ATG AGA AAA AGC GTA AGG CGG GCG P2: TTA ATA ACC GTC GGT GAC AAT TCT GGC	876	56	[4]
CARB	P1: AAA GCA GAT CTT GTG ACC TAT TC P2: TCA GCG CGA CTG TGA TGT ATA AAC	588	55	[4]
LAP	P1: ATG AAA AAG ATC CGC CTT ATT ATA A P2: TTA CCA GTT CTT AAT TAC TGA ATC	858	55	[4]
KLSU	P1: ATG GTT AAA AAA ATCATT ACG CCA GTT T P2: CTA TAA TCC CTC AGT GAC GAT TTT C	876	55	[4]
SCO	P1: ATG ACA AGA TCT GCC CTT TTG AT P2: TTA TTC CAG AAC TTC GGC AGC A	867	55	[4]
PER	F: GCT CCG ATA ATG AAA GCG T R: TTC GGC TTG ACT CGG CTG A	520	55	[5]
GES	F: AGT CGG CTA GAC CGG AAA G R: TTT GTC CGT GCT CAG GAT	399	57	[5]
VEB	F: CAT TTC CCG ATG CAA AGC GT R: CGA AGT TTC TTT GGA CTC TG	648	55	[5]

1.2.5 统计学处理 利用 SPSS17.0 软件进行分析 ,耐药率的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法 , $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 ESBL-EC 菌株药敏试验结果

98 株 ESBL-EC 对抗菌药物耐药情况严重 ,对氨苄西林、哌拉西林、头孢唑啉、头孢噻肟、头孢曲松、头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南、复方新诺明、环丙沙星、左氧氟沙星、四环素、庆大霉素耐药率较高 ,耐药率均大于 50% ,对妥布霉素耐药率为 31.62% ,呋喃妥因、阿莫西林/克拉维酸和阿米卡星较敏感 ,分

别为 11.11%、13.4% 和 6.12%;对替加环素、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南和厄他培南最敏感 ,未见耐药菌株(表 2)。

2.2 PCR 扩增结果

2.2.1 整合子基因型 98 株 ESBL-EC 中 ,47.96% (47/98) 的分离菌株为 I 类整合子阳性 ,3.06% (3/98) 的分离菌株为 II 类整合子阳性 ,所有菌株中有 1 株同时含 I 类和 II 类整合子 ,未检出 III 类整合子。电泳图见图 1~2。整合子阳性与阴性菌株的耐药率 ,除四环素与复方新诺明具有统计学差异 ($P < 0.05$) ,其余抗生素差异均无统计学意义(表 2)。

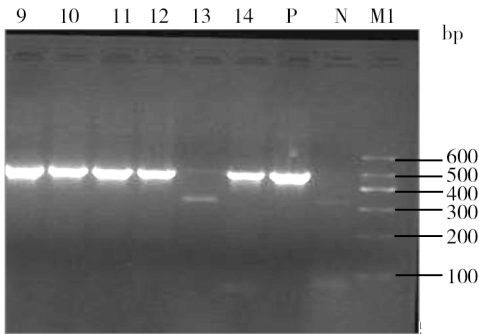


图1 I类整合子遗传标记电泳图

Fig.1 Electrophorogram of Int1 amplified products
M1: DNA marker I; P: 阳性对照; N: 阴性对照; 9~12、14: 阳性菌株; 13: 阴性菌株
M1: DNA marker I; P: Positive control; N: Negative control;
9-12 ,14: Positive samples; 13: Negative sample

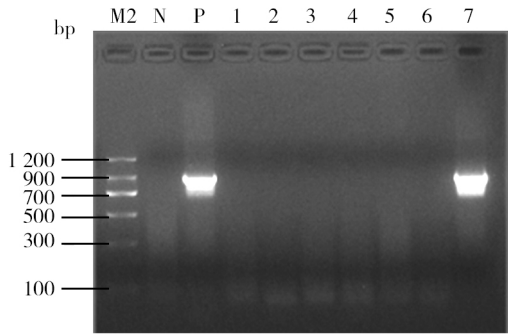


图2 II类整合子遗传标记电泳图

Fig.2 Electrophorogram of Int2 amplified products
M2: DNA marker II; P: 阳性对照; N: 阴性对照; 1~6: 阴性菌株; 7: 阳性菌株
M2: DNA marker II; P: Positive control; N: Negative control;
1-6: Negative samples; 7: Positive sample

表2 98株产ESBLs大肠埃希菌对21种抗菌药物的耐药情况(%)

Table 2 Drug resistance of 98 strains ESBL-EC to 21 kinds of antimicrobial agents (%)

抗生素	总耐药率/%	整合子阳性菌株(n = 49)			整合子阴性菌株(n = 49)			χ^2	P
		敏感(S)	中介(I)	耐药(R)	敏感(S)	中介(I)	耐药(R)		
氨苄西林	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	—	—
阿莫西林/克拉维酸	13.40	58.33	33.33	8.33	51.02	30.61	18.37	2.217	0.136
哌拉西林	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	—	—
哌拉西林/他唑巴坦	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	—	—
头孢唑啉	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	—	—
头孢噻肟	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	—	—
头孢曲松	100.00	0.00	0.00	100.00	2.04	0.00	97.96	1.000	0.500
头孢他啶	81.40	13.04	0.00	86.96	25.00	0.00	75.00	2.450	0.118
头孢吡肟	51.02	46.94	2.04	51.02	44.90	4.08	51.05	0.000	1.000
氨曲南	72.45	24.49	0.00	75.51	30.61	0.00	69.39	0.460	0.498
复方新诺明	67.35	14.29	0.00	85.71	51.02	0.00	48.98	15.034	<0.001
环丙沙星	70.41	30.61	4.08	65.31	24.49	0.00	75.51	0.654	0.419
左氧氟沙星	63.27	32.65	10.20	57.14	26.53	4.08	69.39	1.581	0.209
妥布霉素	31.62	15.00	14.00	20.00	25.00	13.00	11.00	3.822	0.051
替加环素	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	—	—
四环素	76.74	8.70	0.00	91.30	40.00	0.00	60.00	14.126	<0.001
呋喃妥因	11.11	68.97	13.79	17.24	70.59	23.53	5.89	2.560	0.110
亚胺培南	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	—	—
厄他培南	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	—	—
庆大霉素	60.20	30.61	0.00	63.39	48.98	0.00	51.02	1.500	0.221
阿米卡星	6.12	89.80	0.00	10.20	97.96	0.00	2.04	—	0.204

注 “—”表示无相关的统计量

2.2.2 超广谱β-内酰胺酶基因型 98株ESBL-EC中,TEM基因阳性61株(62.24%),CTX-M-9基因阳性52株(53.06%),CTX-M-1基因阳性32株(32.65%),CTX-M-2基因阳性4株(4.08%),SHV基因阳性3株(3.06%),7株未检出基因型(7.14%)。基因分布以TEM+CTX-M-9基因阳性

组(共30株)最多见,占30.61%,单CTX-M-9基因阳性组(共16株)和TEM+CTX-M1基因阳性组(共15株)较多见,分别占16.33%和15.31%,单TEM基因阳性组和单CTX-M1基因阳性组分别占10.2%和12.24%。TEM和CTX-M-9基因电泳图见图3、图4。各基因型检出情况及分布见表3。

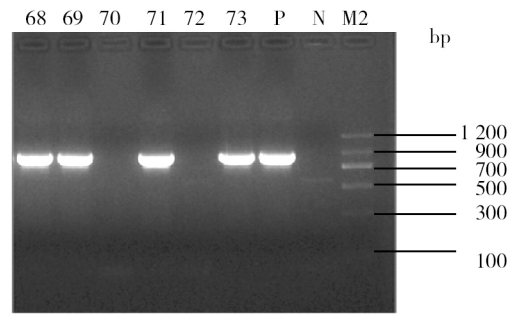


图3 CTX-M-9 基因 PCR 电泳图

Fig. 3 Electropherogram of CTX-M-9 gene amplified products
M2: DNA marker II; P: 阳性对照; N: 阴性对照; 68、69、71、73: 阳性菌株; 70、72: 阴性菌株
M2: DNA marker II; P: Positive control; N: Negative control; 68 ,69 ,71 ,73: Positive samples; 70 ,72: Negative samples

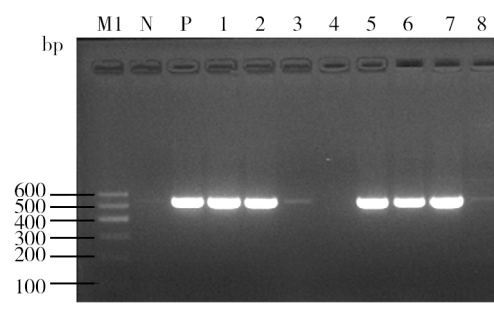


图4 TEM 基因 PCR 电泳图

Fig. 4 Electropherogram of TEM gene amplified products
M1: DNA marker I; P: 阳性对照; N: 阴性对照; 1、2、5 ~ 7: 阳性菌株; 3、4、8: 阴性菌株
M1: DNA marker I; P: Positive control; N: Negative control; 1 ,2 ,5-7: Positive samples; 3 ,4 ,8: Negative samples

表3 ESBL-EC 基因型分布

Table 3 Distribution of gene types of ESBL-EC

基因型	菌株数	构成比/%
TEM	10	10.20
CTX-M-1	12	12.24
CTX-M-9	16	16.33
SHV	1	1.02
TEM + CTX-M-1	15	15.31
TEM + CTX-M-9	30	30.61
CTX-M-1 + CTX-M-2	1	1.02
CTX-M-2 + CTX-M-9	1	1.02
TEM + CTX-M-9 + CTX-M-1	2	2.04
TEM + CTX-M-1 + CTX-M-2	1	1.02
TEM + CTX-M-9 + SHV	2	2.04
未分类型别	7	7.14
合计	98	99.99

3 讨论

大肠埃希菌是临床常见的条件致病菌,也是医院感染的常见致病菌。近年来,由于临床上广泛使用β-内酰胺类抗生素(尤其是头孢菌素类抗生素)治疗大肠埃希菌感染性疾病,导致产超广谱β-内酰胺的大肠埃希菌(ESBLs-producing *Escherichia coli*, ESBL-EC)的分离率越来越多,并引起国内外研究者的广泛关注。例如欧洲ESBL-EC分离率由冰岛的5%到保加利亚的近40%,平均占12.6%^[7];而在中国、印度或中东的ESBL-EC检出率更高,如2012年报道的印度检出率高达76.8%^[8];CHINET监测数据显示,2014年度我国ESBL-EC检出率为55.8%^[9],因而持续的监

控系统 and 有效的感染控制措施是必要的。

ESBLs 由质粒介导,可通过接合、转化或转导等形式使耐药基因在同种属甚至不同种属细菌间传递扩散,给临床治疗带来众多问题。本研究药敏结果显示:ESBL-EC 菌株对青霉素类、头孢菌素类、氨基糖苷类(除阿米卡星外)、喹诺酮类等抗菌药物耐药率均较高,这可能是由于ESBLs是β-内酰胺酶基因发生突变导致氨基酸的改变,由质粒携带,可使氨基糖苷类、喹诺酮类等抗菌药物的耐药基因在细菌之间传递扩散相关^[10]。对阿米卡星耐药率比较低,但是阿米卡星具有肾毒性、耳毒性,临床上应慎重使用。对替加环素、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南和厄他培南敏感,因此建议在临床治疗中可根据患者的病情、实际情况选择这些抗菌药物。

随着新型β-内酰胺酶的不断产生,ESBLs 基因型也越来越多,各种ESBLs 基因型间的遗传背景及功能特征有一定的差异,因此,对ESBLs 基因型再细分研究是必要的。ESBLs 在世界各国广泛流行,但不同国家、不同地区流行的ESBLs 基因型有一定的差异。例如,日本以Toho-1型和SHV型为主^[11];美国以TEM-10、TEM-12和TEM-26为主^[12];非洲以TEM-53、TEM-63为主^[13];我国以CTX-M型为主,但其流行的亚型种类各异^[14-15]。本研究表明,CTX-M型(81.63%)最普遍,TEM型次之(61.22%),与蒋鸿超等^[16]的报道相符。本研究中大部分临床分离菌株检出2种或2种以上的基因型(60.20%),以TEM + CTX-M-9阳性组(30.61%)最常见,说明多重耐药在临

床分离菌普遍存在。本研究除检测 CTX-M、TEM 和 SHV 型基因外,还进行 CARB、LAP、KLSU、SCO、PER、GES、VEB 等基因的扩增,但均为阴性,可能与 ESBL 基因型具有集中趋势及存在明显的地域差异相关,也可能与本研究选取菌株数量有限相关。

整合子是存在于细菌质粒或染色体上基因捕获和表达的可移动遗传单位,由 5' 保守末端和 3' 保守末端及两者间的可变区三部分组成,可携带多种耐药基因盒,包括对氨基糖苷类、喹诺酮类、磺胺和消毒剂等耐药的基因,与细菌多重耐药和耐药基因的播散密切相关^[10]。在大肠埃希菌的研究中目前发现了 I、II 和 III 类整合子,其中以 I 类整合子最为常见^[17]。本研究 98 株 ESBL-EC 中 47 株携带 I 类整合子(47.96%),3 株携带 II 类整合子(3.06%),大多为多重耐药菌株,可见 I 类整合子广泛存在于 ESBL-EC 菌株中,并可能影响其抗生素耐药水平。而本研究结果,对于 ESBL-EC 株,整合子阳性与整合子阴性除了对四环素和复方新诺明的耐药率差异具有统计学意义($P < 0.05$)外,对其他抗生素的耐药率差异均无统计学意义,尚不足以证明整合子的存在可影响 ESBL-EC 菌株抗生素耐药水平,这与国内报道^[15-16]有一定的差异,可能与不同地区和医院所使用的抗生素种类、剂量及时间不同,造成对产 ESBLs 菌株的筛选及诱导不同,以及所收集的标本来源不一样等多方面原因造成的。

由于本研究收集的菌株仅来源于某三甲医院住院患者分离的标本,尚不能代表该地区的具体情况,关于整合子对 ESBL-EC 株耐药性的影响,还有待扩大样本,多收集几家三甲医院的菌株进一步对比研究,以增加说服力。同时,对整合子与 ESBLs 各基因型之间的关系及其在耐药传播中的具体作用还需进一步深入研讨,这对有效遏制耐药基因的传播以期达到控制多重耐药菌株的产生和播散具有深远的意义。

参考文献:

- [1] Bradford PA. Extended-Spectrum-Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat [J]. Clin Microbiol Rev, 2001, 14(4): 933-951.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement [S]. CLSI 2013.
- [3] Machado E, Cantón R, Baquero F, et al. Integron Content of Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains over 12 Years in a Single Hospital in Madrid, Spain [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(5): 1823-1829.
- [4] 翁幸璧, 糜祖煌, 金辉. 多重耐药大肠埃希菌获得性耐药基因检测及指标聚类分析 [J]. 中华临床感染病杂志, 2011, 4(3): 2736-2739.
- [5] Dallenne C, Da C A, Decré D, et al. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae [J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65(3): 490-495.
- [6] 杨艳, 王厚照, 张玲. 多重耐药鲍曼不动杆菌耐药性及 β -内酰胺酶耐药基因的研究 [J]. 微生物学杂志, 2015, 35(4): 54-58.
- [7] Hawser SP, Bouchillon SK, Lascols C, et al. Susceptibility of European *Escherichia coli*, clinical isolates from intra-abdominal infections, extended-spectrum β -lactamase occurrence, resistance distribution, and molecular characterization of ertapenem-resistant isolates (SMART 2008-2009) [J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(3): 253-259.
- [8] Nasa P, Juneja D, Singh O, et al. An observational study on bloodstream extended-spectrum beta-lactamase infection in critical care unit: incidence, risk factors and its impact on outcome [J]. Eur J Intern Med, 2012, 23(2): 192-195.
- [9] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 4(5): 401-410.
- [10] 蓝惠华, 张玲, 王厚照. 可移动性遗传元件介导的产 ESBLs 大肠埃希菌耐药机制的研究进展 [J]. 职业与健康, 2016, 32(1): 127-130.
- [11] Yagi T, Kurokawa H, Shibata N, et al. A preliminary survey of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan [J]. FEMS Microbiol Lett, 2000, 184(1): 53-56.
- [12] Pfaller MA, Segreti J. Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum beta-lactamases [J]. Clin Infect Dis, 2006, 42 Suppl 4(4): 153-163.
- [13] Storberg V. ESBL-producing Enterobacteriaceae in Africa—a nonsystematic literature review of research published 2008-2012 [J]. Infect Ecol Epidemiol, 2014, 4(4): 1-16.
- [14] 李佩波, 蔡敏泓, 黄永茂, 等. I 类整合子在耐多药产 ESBLs 大肠埃希菌中的分布探讨 [J]. 重庆医学, 2012, 41(6): 547-549.
- [15] 陈体, 漆涌. 产 ESBLs 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌 I 类整合子与耐药性关系 [J]. 临床检验杂志, 2011, 29(1): 28-30.
- [16] 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.
- [17] Díaz-Mejía JJ, Amábile-Cuevas CF, Rosas I, et al. An analysis of the evolutionary relationships of integron integrases, with emphasis on the prevalence of class I integrons in *Escherichia coli* isolates from clinical and d environmental origins [J]. Microbiology, 2008, 154(1): 94-102.