调查研究 文章编号:0253-3626(2010)02-0304-05

产 ESBLs 和 AmpC 肺炎克雷伯菌医院感染分子流行病学研究

朱卫民[1],陈勇川[2],杨 春[1],何光荣[1],黄文祥[1],郑行萍[1]
(1.重庆医科大学附属第一医院传染病寄生虫病研究所,重庆 400016;2.第三军医大学西南医院药学部,重庆 400038)

【摘 要】目的:研究调查临床分离的 120 株非重复肺炎克雷伯菌中产超广谱 β-内酰胺酶(Extended spectrum β-lactamases,ESBLs)和头孢菌素酶(Ampler class C β-lactamase,AmpC)菌株的发生率,以及 ESBLs 和 AmpC 的表型及基因型。方法:采用美国国家临床实验室标准委员会规定的 ESBLs 表型,筛选和确证 ESBLs 的发生率。以分析性等电聚焦、接合实验确定 ESBLs 和 AmpC 菌株中酶的表型。以质粒为模板,用 β-内酰胺酶通用引物、blaTEM、blaSHV 及 blaAmpC 作 PCR 扩增,并以染色体为模板,用 blaAmpC 为引物作 PCR 扩增以确定酶的基因型。结果:120 株非重复的肺炎克雷伯菌中,产 β-内酰胺酶的有 93 株(77.5%),其中 15 株产 ESBLs(12.5%),9 株产 AmpC(7.5%)。医院感染 ESBLs 阳性率(25.5%)明显高于院外感染株(3.7%),所有产 AmpC 菌株均来自院内感染。所有菌株均对亚胺培南敏感。AmpC 阳性菌株对 β-内酰胺抗生素的耐药率高于 AmpC 阴性菌株。产 ESBLs 或 AmpC 的 18 株菌中有 9 株的编码基因可通过接合实验而转移。结论:肺炎克雷伯菌大多为产 β-内酰胺酶菌株,其中产 ESBLs 和 AmpC 酶的频率较高,并常导致院内感染;其耐药质粒可通过接合转移给敏感菌,导致耐药性传播。

【关键词】肺炎克雷伯菌;超广谱 β-内酰胺酶;AmpC;分子流行病学
【中国图书分类法分类号】R515 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-07-13

A molecular epidemiology study on nosocomial infection caused by ESBLs and AmpC-producing klebsiella pneumoniae

ZHU Wei-min, et al
(*Institute of Infectious and Parasitic Diseases, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the prevalence, phenotypes and genotypes of ESBLs and AmpC-producing 120 nonrepetitive clinical isolates of K.pneumoniae. *Methods*: The occurrence of phenotype producing ESBLs was screened and determined according to the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). The phenotypes of β-lactamase were studied by isolectric focusing and conjugation methods. The plasmid and genomic DNA extracted from the bacteria were used to determine genotype of the β-lactamases by PCR with bla, blaTEM, blaSHV and blaAmpC-specific primers. *Results*: The study showed that among 120 isolates, the β-lactamase-producing strains, ESBLs-producing and AmpC-producing strains were 93 (77.5%), 15 (12.5%) and 9 (7.5%) isolates, respectively. The ESBLs-producing strains were much more frequently found in nosocomial isolates (25.5%) than that in community (3.7%). And all AmpC-producing strains were found in nosocomial isolates. None of them was resistant to imipenam. Furthermore, AmpC-producing strains were found to be more resistant to antibiotics than AmpC negative strains. The encoding genes could be transferred by conjugation and were found in 9 of 18 resistant strains producing both ESBLs and AmpC. *Conclusion*: A high incidence of ESBLs and AmpC-producing strains existed in K.pneumoniae. These β-lactamase producing strains had been the main pathogens of nosocomial infection. Otherwise, that the gene encoding ESBLs and AmpC could be transferred to susceptible strains by conjugation leading to the resistance spreading abroad.

【Key words】Klebsiella pneumoniae; Extended spectrum β-lactamases; AmpC; Molecular epidemiology

肺炎克雷伯菌是最常见的产超广谱 β-内酰胺酶(Extended spectrum β-lactamases,ESBLs)和头孢菌素酶(Ampler class C β-lactamase,AmpC)菌株,常引起医院感染爆发流行。产 ESBLs 和 AmpC 菌株流行机制很复杂,可同时存在流行菌株的扩散以及质粒或耐药基因的转移[1]。因此在鉴别产 ESBLs 和 AmpC 菌株流行时,精确的流行病学分型十分重要。近年来,我院肺炎克雷伯菌医院感染逐年增多,对第三代头孢菌素耐药株不断出现,为了解我院临床肺炎克雷伯菌中 ESBLs 和 AmpC 的发生率、流行情况、对抗菌药物的耐药性、产酶基因的转移特征,明确产 ESBLs 和 AmpC 肺炎克雷伯菌

作者介绍:朱卫民(1968-),女,副教授,博士,
研究方向:细菌耐药及其防治。

医院感染发生率及其流行病学特征，以便采取有效措施加以控制，本研究对我院 2005 年 9 月～2007 年 9 月临床分离的 120 株非重复肺炎克雷伯菌进行了 ESBLs 和 AmpC 的监测和分子流行病学研究。

1 材料与方法

1.1 菌株

120 株肺炎克雷伯菌均分离于我院 2005 年 9 月～2007 年 9 月的临床标本；收集和记录患者感染情况（院内/院外感染）、抗菌药使用情况（类别、剂量和疗程）。药敏质控菌为大肠埃希菌 ATCC25922 和铜绿假单胞菌 ATCC27853。接合实验受体菌为 DH5α。

1.2 抗生素及药敏纸片

氨苄西林（Ampicillin，AMP）；氨曲南（Aztreonam，ATM）；头孢他啶（Ceftazidime，CAZ）；头孢噻肟（Cefotaxime，CTX）；头孢曲松（Ceftriaxone，CRO）；头孢西丁（Cefoxitin，FOX）；亚胺培南（Imipenem，IMP）；阿莫西林/克拉维酸（Amoxicillin/clavulanate，AMC）；氨苄西林/舒巴坦（Ampicillin/sulbactam，SAM）；头孢呋新（Cefuroxime，CXM）；环丙沙星（Ciprofloxacin，CIP）和庆大霉素（Gentamicin，GEN）。

1.3 药敏试验与 ESBLs 检测

1.3.1 药敏试验 常规分离临床标本并经自动细菌鉴定系统 VITEK 和 API 鉴定。药敏试验采用琼脂稀释法测定 MIC；采用纸片扩散法和 E test 法检测 ESBLs，按 NCCLS（2000 年版）标准判断结果。

1.3.2 ESBLs 检测 采用双纸片协同试验初筛及浓度梯度法确证[2]。

1.4 AmpC 酶的检测

按标准的纸片扩散法操作[3]。

1.5 bla 基因 PCR 扩增

细菌质粒为模板，其中 blaAmpC 扩增采用质粒和染色体双模板。碱裂解法[4]提取质粒和染色体 DNA。扩增引物如下：β－内酰胺酶编码基因通用引物[5]正链 5'-TGGGTGCACGAGTGGGTTAC-3'负链 5'-TTATCCGCCTCCCCATCCACTC-3'；TEM 编码基因引物[6]正链 5'-AGATCAGT TGGGTGCACGAG-3'（nt 313～332）负链 5'-TGCTTAATCAGTGAGGCACC-3'（nt 1061~1042）；SHV 编码基因引物[7]正链 5'-GGTTATGCGTTATATTCGCC-3'（nt 121～140）负链 5'-TTAGCGTTGCCAGTGCTC-3'（nt 988～971）；AmpC 编码基因引物[6]正链 5'-ATTCGTATGCTGGATCT CGCCACC-3'（nt 413～436）负链 5'-CATGACCCAGTTCGCCATATCCTG-3'（nt 808～785）。100 μl 反应体系中各组份浓度分别为：50 mmol/L KCl，10 mmol/L Tris-HCl（pH8.3），1.5 mmol/L $MgCl_2$，0.1 μmol/L 寡聚核甘酸引物，200 μmol/L 4×dNTP，2.5 μ Taq DNA 聚合酶和 1 μl 模板 DNA。94℃预变性 5 min，94℃变性 1 min，55℃退火 1 min，72℃延伸 1 min，35 个循环，PCR 扩增产物用 1.2%琼脂糖凝胶电泳，EB 染色，凝胶照相。

1.6 β-内酰胺酶的等电聚焦

照文献[8]以超声破碎法提取 β－内酰胺酶。在薄层聚丙烯酰胺凝胺（Ampholine pH3.5～9.0）上进行等电聚焦，再用浸有 nitrocefin 的滤纸覆盖进行染色。

1.7 细菌接合实验[9]

供体菌为临床分离产酶肺炎克雷伯菌，受体菌为大肠埃希菌 DH5α。将供体菌、受体菌分别接种于 Maconkey 平板上，37℃培养 6 h；在 0.5 ml 肉汤中分别加入供、受体菌液各 20 μl，混匀，37℃接合 2 h，吸取 0.1 ml 菌液涂布于含氨苄西林 50 μg/ml 的 LB 平板上，37℃培养过夜。选取较小、透明、边缘不齐的灰白色菌落做细菌鉴定，是大肠埃希菌者为接合实验阳性，做接合菌药敏试验。

2 结 果

2.1 肺炎克雷伯菌 β-内酰胺酶分离率及其感染的分布

从临床标本中分离到 120 株非重复菌中，检出 β－内酰胺酶阳性菌 93 株，检出率 77.5%；ESBLs 阳性菌 15 株，检出率为 12.5%。在分析的 120 株肺炎克雷伯菌中，院内感染 55 株（45.8%），院外感染 27 株（22.5%），带菌状态 38 株（31.7%）。院内感染株中 ESBLs 阳性率为 25.5%（14/55）明显高于院外感染株 3.7%（1/27）。ESBLs 阳性菌感染患者在细菌分离前均不同程度使用过第三代头孢菌素或氨曲南，而 ESBLs 阴性菌感染者只有 3.2%使用过第三代头孢菌素。检出 AmpC 阳性菌 9 株，检出率为 7.5%（9/120）。院内感染株 AmpC 阳性率为 16.4%（9/55），院外感染株中未检出 AmpC 酶（0/27）。

2.2 bla 基因 PCR 扩增结果

经 1.2%琼脂糖凝胶电泳（5 V/cm，1 h），紫外线下观察结果。15 株 EBSLs 阳性菌中同时含有 blaTEM 和 blaSHV 基因的有 6 株，7 株只含有 blaSHV 基因，2 株只含有 blaTEM 基因。9 株 AmpC 阳性菌，6 株染色体上含有 blaAmpC，2 株质粒上含有 blaAmpC，1 株在染色体和质粒上均未扩增出 blaAmpC 基因；其中 3 株染色体上含有 blaAmpC 的菌株同时在质粒上含有 blaSHV 基因，2 株染色体上含有 blaAmpC 的菌株同时在质粒上含有 blaTEM 基因（表 1）。

2.3 ESBLs 和 AmpC 阳性菌耐药性

15 株 ESBLs 阳性菌对 AMP、CXM、CTX、CRO、CAZ、FOX、AMC、SAM 和 ATM 的耐药率分别为 100%、100%、60%、66.7%、66.7%、26.7%、40%、46.7%和 66.7%，但对IMP100%敏感。9 株 AmpC 阳性菌对 AMP、CXM、CTX、CRO、CAZ、FOX、AMC、SAM 和 ATM 的耐药分别为 100%、100%、88.9%、66.7%、66.7%、33.3%、100%、100%和 100%，对 IMP100%敏感。6 株 ESBLs 和 AmpC 均阳性的菌株对 AMP、CXM、CTX、CRO、CAZ、FOX、AMC、SAM 和 ATM 的耐药分别为 100%、100%、66.7%、66.7%、66.7%、33.3%、100%、100%和 100%，对

表 1　肺炎克雷伯菌 ESBLs 和 AmpC 的分子特性

Strains	ESBLs	AmpC	bla	blaTEM	blaSHV	blaAmpC^{p}	blaAmpC^{c}	pI
KP1	+	+	+	+			+	5.6、8.6
KP2	+		+	+	+			5.6、7.8
KP6	+		+	+	+			7.6
KP8	+		+		+			7.6、8.2
KP9	+		+	+	+			5.4、5.6、8.2
KP10	+		+		+			7.6、7.8
KP11	+	+	+	+			+	5.4、5.6、9.0
KP12	+		+	+	+			5.4、5.6、8.2
KP66		+	+			+		8.6
KP69	+	+	+		+		+	8.2、9.0
KP73	+		+	+	+			5.4、5.6、8.2
KP77	+	+	+		+		+	7.8、9.3
KP87	+		+	+	+			5.4、5.6、8.2
KP94		+	+			+		9.0
KP103	+	+	+		+		+	7.6、9.3
KP109		+	+				+	9.0
KP112	+		+		+			7.6、8.2
KP117	+	+	+		+			7.8、8.2

blaAmpC^{p}- 以质粒为模板扩增；blaAmpC^{c}- 以染色体为模板扩增

表 2　ESBLs、AmpC 肺炎克雷伯菌对 10 种抗生素的敏感性（MIC，μg/ml）

Strains	AMP	CXM	CTX	CRO	CAZ	FOX	IMP	AMC	AMS	ATM
KP1	>128	>128	>128	>128	16	16	0.25	>128	64	>128
KP2	>128	>128	64	>128	64	>128	0.125	4	4	64
KP6	>128	64	32	32	>128	64	1	2	4	>128
KP8	>128	32	16	32	32	16	0.25	8	4	16
KP9	>128	64	32	>128	>128	8	0.5	1	4	32
KP10	>128	>128	16	64	16	4	0.25	0.5	2	4
KP11	>128	>128	>128	>128	64	8	0.5	>128	>128	>128
KP12	>128	64	64	>128	16	8	1	4	32	64
KP66	64	>128	>128	>128	>128	16	0.25	>128	>128	>128
KP69	>128	64	32	32	16	32	0.5	64	32	64
KP73	>128	64	>128	64	>128	8	1	1	2	8
KP77	>128	>128	>128	>128	>128	8	2	>128	64	>128
KP87	>128	>128	>128	64	32	4	0.25	0.5	2	32
KP94	32	>128	64	32	16	64	2	64	32	64
KP103	64	64	>128	>128	64	>128	0.5	>128	32	>128
KP109	>128	>128	>128	>128	>128	8	1	>128	>128	64
KP112	>128	32	8	16	8	4	0.125	0.5	1	8
KP117	>128	>128	64	32	32	4	0.25	>128	32	32

AMP- 氨苄西林；CRO- 头孢曲松；CTX- 头孢噻肟；CXM- 头孢呋新；CAZ- 头孢他定；FOX- 头孢西丁；IMP- 亚胺培南；ATM- 氨曲南；AMC- 阿莫西林/克拉维酸；SAM- 氨苄西林/舒巴坦

表 3 产 ESBLs、AmpC 酶肺炎克雷伯菌对 10 种抗生素的耐药率(%)

Antibiotics	ESBLs(+)(15 株)	ESBLs(−)(3 株)	AmpC(+)(9 株)	AmpC(−)(9 株)	ESBLs(+)\AmpC(+)(6 株)
AMP	100	100	100	100	100
CXM	100	100	100	100	100
CTX	60	100	88.9	44.4	66.7
CRO	66.7	66.7	66.7	66.7	66.7
CAZ	66.7	66.7	66.7	66.7	66.7
FOX	26.7	33.3	33.3	22.2	33.3
IMP	0	0	0	0	0
AMC	40	100	100	0	100
AMS	46.7	100	100	11.1	100
ATM	66.7	100	100	55.6	100

AMP- 氨苄西林；CRO- 头孢曲松；CTX- 头孢噻肟；CXM- 头孢呋新；CAZ- 头孢他定；FOX- 头孢西丁；IMP- 亚胺培南；ATM- 氨曲南；AMC- 阿莫西林/克拉维酸；SAM- 氨苄西林/舒巴坦

表 4 9 株接合菌对 10 种抗生素的敏感性(MIC，μg/ml)

Strains	AMP	CXM	CTX	CRO	CAZ	FOX	IMP	AMC	SAM	ATM
KP2C	>128	>128	64	>128	16	4	0.125	2	4	16
KP6C	>128	64	32	64	32	2	0.25	1	0.5	64
KP8C	>128	32	16	32	16	8	0.125	0.5	0.25	2
KP9C	>128	64	32	>128	32	2	0.25	0.25	0.125	4
KP10C	>128	>128	16	64	16	2	0.125	0.125	0.125	0.5
KP12C	>128	64	32	>128	16	4	0.5	0.25	1	1
KP73C	>128	64	64	64	64	2	0.25	0.5	0.125	0.5
KP87C	64	>128	>128	64	16	1	0.125	0.25	0.5	2
KP117C	>128	>128	64	32	8	0.5	0.125	0.5	1	4
DH5α	0.125	0.25	0.25	0.25	0.25	0.125	0.125	0.125	0.125	0.25

AMP- 氨苄西林；CRO- 头孢曲松；CTX- 头孢噻肟；CXM- 头孢呋新；CAZ- 头孢他定；FOX- 头孢西丁；IMP- 亚胺培南；ATM- 氨曲南；AMC- 阿莫西林 / 克拉维酸；SAM- 氨苄西林 / 舒巴坦

IMP100%敏感(表 2、3)。

2.4 β-内酰胺酶的等电聚焦分析

β - 内酰胺酶粗提液的等电聚焦结果表明，10 株单纯 ESBLs 阳性菌株都能产生 pI 为 5.6 或 7.6 的 β - 内酰胺酶，其中 1 株只产生 pI 为 7.6 的 1 种 β - 内酰胺酶；1 株产生 pI 为 5.6 和 7.8 的两种 β - 内酰胺酶；2 株产生 pI 为 7.6 和 8.2 的两种 β - 内酰胺酶；1 株产生 pI 为 7.6 和 7.8 的两种 β - 内酰胺酶；1 株产生 pI 为 7.6 和 8.2 的 2 种 β - 内酰胺酶；4 株产生 pI 为 5.4、5.6 和 8.2 的 3 种 β - 内酰胺酶；3 株单纯 AmpC 阳性菌株分别产生 pI 为 8.6、9.0 和 9.0 的 β - 内酰胺酶；5 株 ESBLs 和 AmpC 双重阳性菌株都能产生两种以上 β - 内酰胺酶，pI 包括 5.4、5.6、7.8、8.2、8.6、9.0 和 9.3(表 1)。

2.5 细菌接合实验

18 株产酶耐药菌中有 9 株菌（KP2、KP6、KP8、KP9、KP10、KP12、KP73、KP87、KP117）接合成功，其接合菌 KP2C、KP6C、KP8C、KP9C、KP10C、KP12C、KP73C、KP87C、KP117C 的 MIC 见表 4。

3 讨 论

肺炎克雷伯菌为克雷伯菌属（Klebsiella）的一种，由于抗生素不合理使用等原因，近年来其临床耐药株逐渐增多。由肺炎克雷伯菌引起医院内感染发病率占住院病人的 4% ~ 18%，国外有报道该菌在医院内感染的发病率已居第三位，常为多重耐药株感染。

第三代头孢类抗生素如头孢噻肟、头孢曲松和头孢他啶在临床上的广泛应用，导致肺炎克雷伯菌产生了较广谱 β - 内酰胺酶作用底物更广的 ESBLs[10]，是细菌对这些抗生素耐药的主要原因。关于产 ESBLs 肺炎克雷伯菌引起医院感染的爆发流行已有报道[11,12]，尤其在大的教学医院和 ICU 病房，这些场所广谱头孢菌素尤其是第三代头孢菌素的使用频繁，对革兰阴性杆菌产生的选择性压力大，导致肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株增多，最近在英国、法国和葡萄牙对肺炎克雷伯菌医院分离株进行的监测显示，14% ~ 16%的菌株产生 ESBLs。

已有的研究表明,肺炎克雷伯菌产生的 ESBLs 主要为 TEM 和 SHV 类 β-内酰胺酶。本研究发现,120 株肺炎克雷伯菌有 12.5%(15/120)产生 ESBLs,且在院内感染株中 ESBLs 阳性率高达 25.5%(14/55),表明我院存在较为严重的产 ESBLs 菌株流行。尤其值得重视的是所有 ESBLs 阳性菌感染患者几乎都使用过第三代头孢菌素如头孢噻肟和头孢他啶或氨曲南治疗;而 ESBLs 阴性菌感染患者中只有 3.2%使用过第三代头孢菌素,进一步表明第三代头孢菌素或氨曲南的使用是细菌产生 ESBLs 的重要选择因素。因此,合理使用抗生素对预防耐药菌的产生和控制医院感染十分重要。

由质粒介导的 ESBLs 可通过接合、转化等方式转移耐药基因,引起耐药性传播。本研究显示 ESBLs 产生株能够以较高频率通过接合转移方式传递其耐药基因,使敏感的受体菌获得耐药质粒所携带的产酶基因并出现 ESBLs 的耐药表型,这对细菌耐药的流行具有重要意义。

细菌对第三代头孢菌素的耐药除 ESBLs 外,相当部分的耐药菌是由于产生 AmpC 酶而引起的。通常情况下,肺炎克雷伯菌只产生低水平 AmpC 酶,虽然第三代头孢菌素是 AmpC 酶的诱导剂,但其作用弱,不会直接导致细菌耐药。细菌发生耐药是因第三代头孢菌素的大量应用,致使细菌染色体发生相应突变,引起 AmpC 酶持续高产。本研究中我们采用 Coudron 等[3]最新推荐酶提取物三维试验法检测 AmpC 酶,由于该法使用酶提取物检测,排除了头孢西丁诱导细菌产 AmpC 酶的干扰,结果发现有 9 株菌出现了狭缝与头孢西丁抑菌圈交接处细菌生长区域扩大的现象,说明在这些菌株的酶提取物中存在头孢西丁的水解酶。

β-内酰胺酶等电聚焦结果提示 SHV 型 ESBLs 在我院流行已占相当比重。不同酶有其固有的 pI,根据 pI 不同可将酶区分开来[13],但 pI 为 7.6 的 β-内酰胺酶有 SHV-1、SHV-2、SHV-6、SHV-7 和 SHV-8,必须进一步测定酶基因的核甘酸序列才能区分开来。此外,本研究还检测到 TEM 类 ESBLs 的存在,其 pI 分别为 5.4 和 5.6。等电聚焦试验证实 9 株 AmpC 阳性肺炎克雷伯菌均含有 pI 大于 8.6 的酶带,因 ESBLs 其等电点在 8.2 以下,这就从另一个侧面说明所含 β-内酰胺酶不是 ESBLs。根据有关报道,肺炎克雷伯菌产的 AmpC 酶其 pI 多在 8.0 以上,其中有 AmpC 酶为 9.3,这与我们的试验结果相吻合。

本实验研究了 18 株临床分离的肺炎克雷伯菌产 ESBLs 和 AmpC 的情况,并且通过 β-内酰胺酶基因扩增以及等电点测定证实肺炎克雷伯菌在我院有流行趋势,也说明病区内可能存在 ESBLs 基因的转移或耐药质粒的播散。因此,进一步加强消毒隔离措施,严格遵守无菌操作规程和屏障护理,更加合理使用抗生素以控制医院感染的流行播散十分重要。

参 考 文 献

[1] Kassis-Chikhani N, Decré D, Gautier V, et al. First outbreak of multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae carrying blaVIM-1 and blaSHV-5 in a French university hospital[J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 57(1): 142-145.

[2] 沈定霞, Jones RN, 吴 坚. 产超广谱 β-内酰胺酶大肠杆菌的检测及其耐药表型和基因型[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000, 20(3): 273-276.

[3] Coudron P E, Moland E S, Thomson K S. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Proteus mirabilis isolates at a veterans medical center[J]. J.Clin Microbiol, 2000, 38(5): 1791-1796.

[4] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Cloning [M]. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.19.

[5] 束学安, 罗文侗, 修清玉, 等. 耐氨苄西林流感嗜血杆菌产 β-内酰胺酶机制研究[J]. 第二军医大学学报, 1999, 20(10): 770-772.

[6] Hanson N D, Thomson K S, Moland E S, et al. Molecular characterization of a multiply resistant Klebsiella pneumoniae encoding ESBLs and a plasmid mediated AmpC[J]. J.Antimicrob Chemother, 1999, 44(3): 377-380.9027

[7] 周清德, 缪竞智, 张秀珍. 产 ESBL 肺炎克雷伯菌医院感染分子流行病学研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2000, 10(1): 10.

[8] Seeberg A H, Tolxdorff-Neutzling R M, Wiedemann B. Chromosomal β-lactamases of Enterobacter cloacae are responsible for resistance to third-generation cephalosporins[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1983, 23(6): 918.

[9] Kallova J, Macickova T, Majtanova, et al. Transferable Amikacin Resistance in Gram-Negative Bacterial Isolates [J]. Chemotherapy, 1995, 41(3): 187-192.

[10] Harbottle H, Thakur S, Zhao S, et al. Genetics of antimicrobial resistance [J]. Anim Biotechnol, 2006, 17(2): 111-124.

[11] Munoz M A, Welcome F L, Schukken Y H, et al. Molecular epidemiology of two Klebsiella pneumoniae mastitis outbreaks on a dairy farm in New York State[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(12): 3964-3971.

[12] Haanperä M, Forssten S D, Huovinen P, et al. Typing of SHV extended-spectrum beta-lactamases by pyrosequencing in Klebsiella pneumoniae strains with chromosomal SHV beta-lactamase[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(7): 2632-2635.

[13] Bush K, Jacoby G A, Medeiros A A. A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with chromosomal SHV beta-lactamase molecular structure[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39(6): 1211-1233.

(责任编辑:冉明会)