维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2007)02-0142-05

儿童临床产 ESBLs 菌基因型分布及其耐药特征的研究

刘 岚[1],郑玉强[1],赵 昕[2],刘昌林[1],朱 军[1],谢 伟[1],景春梅[1]

(1.重庆医科大学附属儿童医院检验科,重庆 400014;2.重庆医科大学检验系,重庆 400016)

【摘 要】目的:对本地区 2002~2004 年儿童临床分离的产超广谱 β-内酰胺酶(Extended-Spectrum β-Lactamases,ESBLs)细菌的流行特点和基因型别进行分析,了解产 ESBLs 细菌的耐药基因的型别分布和耐药特征变化情况。方法:用 microscan walkaway-4.0 细菌鉴定仪对 4022 株革兰氏阴性菌鉴定到种并做药敏分析,K-B 法确认产 ESBLs 菌株,并用 PCR 法扩增,筛选其中 108 株 ESBLs 阳性菌株进行初步基因分型。结果:产 ESBLs 菌 1468 株,大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯菌的分别为 52.5%和 65.8%;总产酶率为 58.0%;2002~2004 年产酶率分别为:68.2%、56.9%、50.8%。PCR 初步分型结果表明:108 株 ESBLs 菌检测到 TEM、SHV 及 CTX 三种基因型;大肠埃希氏菌 59 株,主要为 TEM 型(56/59);肺炎克雷伯菌 29 株,主要为 SHV 型(28/29);阴沟肠杆菌 13 株,以 TEM 型为主(12/13);铜绿假单孢菌 7 株,以 TEM 型为主(6/7)。2002 年以 TEM 型为主(75%),2003 年主要为 TEM 型(40%)和 SHV 型(57.1%),2004 年主要为 TEM 型(90.9%),CTX 为少见基因型(3.7%)。产 ESBLs 菌对青霉素类、氨曲南及头孢菌素类抗生素耐药率为 56.2%~100%,具有多重耐药特点。结论:产 ESBLs 菌发生率在逐年下降,产 ESBLs 菌主要携带 TEM 和 SHV 型 β-内酰胺酶基因,其中绝大部分产 TEM 型 β-内酰胺酶;但耐药情况不容乐观;提示临床应加强细菌耐药性与基因型变化的了解,合理用药,减少耐药菌的产生,更好的控制院内感染。

【关键词】ESBLs;基因分型;耐药性

【中国图书分类法分类号】R978.1+1 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-08-31

Distribution of gene typing of clinical ESBLs-producing bacterium in children and its drug resistance

LIU Lan, et al

(*Department of Clinical Laboratory, the Children's Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To analyze the epidemic characteristics and gene type of the Extended-Spectrum β-Lactamases (ESBLs)-producing Gram-negative bacterium in Chong-qing area from 2002 to 2004, and investigate its distribution of gene typing and drug resistance. *Methods*: There were 4022 Gram-negative bacterium isolated in clinic from 2002 to 2004, and they were identified and done the drug sensitivity by the microscan walkaway-4.0. ESBLs-producing strains were detected by K-B method and amplified by PCR. The DNA of 108 chosen ESBLs-producing strains were genotyped by Tripure Isolation Reagent. *Results*: 1468 ESBLs-producing strains were detected. The rates of Escherichia.coli and Klebsiella.pneumoniae were 52.5% and 65.8% respectively. The general positive rate of ESBLs-producing was 58.0%. And the rates in year 2002, 2003 and 2004 were 68.2%, 56.9% and 50.8% 2002 to 2004 respectively. The result of PCR showed that 3 types of gene typing, TEM, SHV and CTX were detected in 108 chosen ESBLs-producing strains. The TEM type was the main type in E. coli (56/59), E.asburiane (12/13) and P.aeruginosa (6/7) while the SHV type was the main type in K.pneumoniae (28/29). TEM type was the main type for year 2002 (75%), both TEM (40%) and SHV (57.1%) for 2003, and TEM for 2004 (90.9%) with CTX as infrequent type (3.7%). The resistance rates of ESBLs-producing isolates against penicillins, aztreonam and the third generation cephalosporins were about 56.2%-100%, and almost multi-resistant. *Conclusion*: The incidence of ESBLs-producing isolates was decreasing by year, and ESBLs-Producing isolates mainly carried TEM and SHV types of β-Lactamases with the TEM one as the major. Their drug resistances were not so good. Those indicated that it is necessany to strengthen the understanding about bacterium resistance and gene type change, administer medicines reasonably to decrease the resistant ones and control the infection in hospital better.

【Key words】ESBLs; Gene type; Resistance

作者介绍:刘 岚(1960-),女,主任技师,

主要研究方向:感染性疾病和细菌耐药。

维普资讯 http://www.cqvip.com

超广谱 β-内酰胺酶 (Extended-Spectrum β-Lactamases,ESBLs) 是指由细菌质粒介导的能水解氧亚氨基 β-内酰胺抗生素，并可被 β-内酰胺酶抑制剂(如克拉维酸)所抑制的一类酶[1]。大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯菌是临床产 ESBLs 最常见的两种菌属。近年来，随着第三代头孢菌素的泛用，产 ESBLs 的大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯菌也日益增多，它们表现出的多重耐药性以及经质粒介导容易在同种属或不同种属细菌间传递造成爆发流行的特点，特别是院内相同质粒谱带 ESBLs 菌更应高度重视，对预防医院感染有重要的意义[2]。β-内酰胺抗生素的过度使用，不仅造成产 ESBLs 的细菌种类不断增加，而且 ESBLs 表型的基因种类也不断增加。为此，以我院分离的细菌为对象，采用 NCCLS 的方法检测 3 年产 ESBLs 的细菌的变化情况，并用 PCR 方法对其基因进行初步分型，为预防产 ESBLs 耐药细菌的产生，院内感染的控制以及临床用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 收集我院 2002 年 1 月 ~2004 年 12 月临床分离的 4022 株革兰氏阴性杆菌，按 NCCLS 提供的标准方法对 ESBLs 进行确认，共检测出 1468 株 ESBLs 菌。通过 PCR 方法扩增，选择其中 108 株 ESBLs 阳性菌株对其基因进行初步分型，并分析它们的耐药性。2002 年到 2004 年分别为 40株、35 株、33 株，菌种分类如下：大肠埃希氏菌属 59 株，肺炎克雷伯氏菌属 29 株，阴沟肠杆菌属 13 株，铜绿假单孢菌属 7 株。所有菌株经常规方法和 microscan walkaway-4.0 鉴定到种。质控菌株为大肠埃希氏菌 ATCC25922 和铜绿假单包菌 ATCC27853。

1.1.2 药敏纸片 鉴定纸片包括以下 11 种：头孢他啶(ceftazidime,CAZ)，头孢曲松(ceftriaxone,CRO)，头孢吡肟(cefepime,FEP)，哌拉西林(piperacillin,PIP)，亚胺培南(imipenem,IPM)，氨曲南 (azt reonam,ATM)，丁胺卡那霉素 (amikacin,AK)，庆大霉素(Gentamicin,CN)，妥布霉素(Tobramycin,TOB)，环丙沙星(Ciprofloxacin,CIP)，复方新诺明(Sulphamethoxazole/trimethoprim,SXT)。质量控制为大肠埃希氏菌 ATCC25922。

1.1.3 主要试剂 microscan walkaway-4.0 鉴定系统 (法国 BIO-Merieux 公司)，Tripure Isolation Reagent (Roche 公司)，dNTP、TaqDNA 聚合酶(Sigma 公司)。

1.1.4 主要实验仪器 PTC-100PCR 仪(美国)、Biofuge 22R 型高速低温离心机、37℃水浴箱、THZ-C 恒温振荡器、DYY-2C 型电泳仪、GDS-8000 凝胶成像分析仪。

1.2 方法

1.2.1 ESBLs 菌的检测 (1)筛选试验：NCCLS 推荐的纸片扩散法筛选 ESBLs，按标准纸片扩散法进行操作，只要符合下面任何一项指标，即怀疑产 ESBLs：头孢他啶≤22mm，头孢噻肟≤27mm，头孢曲松≤25mm，氨曲南≤27mm。(2)确证试验：按 NCCLS 纸片法进行确证试验，将筛选的可疑菌株用头孢他啶、头孢他啶 / 克拉维酸、头孢噻肟、头孢噻肟 / 克拉维酸 2 组抗生素做纸片扩散法药敏试验，任一组中含克拉维酸的纸片和不含克拉维酸的纸片间抑菌环直径相差≥5 mm，即可证实为 ESBLs 阳性，并用大肠埃希菌 ATCC26932 和克雷伯菌 ATCC690612 作质量控制。

1.2.2 ESBLs 菌的药敏实验 采用 K-B 纸片法，取单个 ESBLs 阳性菌落做适度稀释，调整菌量为 0.5 麦氏单位，将配好的菌液均匀的涂于 M-H 琼脂培养基上，并贴上药敏纸片，36.5℃孵育 18~24h，测定抑菌圈大小。

1.2.3 ESBLs 基因分型 利用 Tripure 提取 ESBLs 阳性菌 DNA，-20℃保存。用同一分子量的 Marker 和 PCR 方法对 ESBLs 进行基因分型，其扩增引物见表 1(由上海博亚公司合成)。

50μl PCR 反应体系为：DNA 100ng、2.5mmol/L $MgCl_2$、0.4mmol/L dNTP、0.4pmol/L 的引物、2.5U Taq 酶。扩增条件为：94℃-30s-54℃/56℃/58℃-30s-72-20s-72℃-20s，35 个循环。反应产物在含 2%EB 琼脂糖凝胶上电泳，在紫外灯下观察结果。

1.2.4 电泳分析 将 PCR 扩增的 108 株 ESBLs 阳性菌株，

表 1 3 种基因型的引物序列

基因型别		引物序列
TEM	上游引物	5'-ATGAGTATTCAACATTTCCGTGTC-3'
	下游引物	5'-TTACCAATGCTTAATCAGTGAGG-3'
SHV	上游引物	5'-ATGCGTTATATTCGCCTGTG-3'
	下游引物	5'-TTAGCGTTGCCAGTGCTCG-3'
CTX-M	上游引物	5'-ATGATGACTCAGAGCATTCG-3'
	下游引物	5'-TCAGAAACCGTGGGTTACG-3'

维普资讯 http://www.cqvip.com

分别选取 9 例 SHV、TEM 的电泳条带进行分析。

2 结 果

2.1 ESBLs 菌的检出率

3 年共检测 4022 株革兰阴性杆菌，检测到 1468 株 ESBLs 菌，检出率为 36.5%。1319 株大肠埃希氏菌检测到 692 株 ESBLs 菌，其产酶率为52.5%；1017 株肺炎克雷伯菌共检测到 669 株 ESBLs，其产酶率为 65.8%。大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯菌 3 年总产酶率为 58.0%，2002~2004 年每年产酶率分别为 68.2%、56.9%和 50.8%，结果见表 2。

2.2 ESBLs 菌株初步基因分型及其型别分布

108 株 ESBLs 菌株为：大肠埃希氏菌 59 株、肺炎克雷伯菌 29 株、阴沟肠杆菌 13 株、铜绿假单孢菌 7 株。检测到 3 种基因型，74 株 TEM 型、30 株 SHV 型以及 4 株 CTX 型。2002~2004 年 ESBLs 的基因型分布见表 3，主要基因的电泳图谱：TEM 基因电泳结果见图 1：1,2,3,4,5,6,7,8,9 条带的分子量位于 800~1000bp，平均约 860bp，分别代表检测标本的 61,62,64,66,71,72,73,74,76 号，为 TEM 型；SHV 基因电泳结果见图 2：1,2,3,4,5,6,7,8,9 条带的分子量位于 1000~1100bp 之间，平均约 1080bp，分别代表检测标本的 81,85,88,90,93,103,104,106,112 号，为 SHV 型。在图 2 中，由于非特异性扩增因素的影响，出现了分子量位于 400~1000bp 之间的条带。

2.3 产 ESBLs 细菌耐药情况

产 ESBLs 菌对青霉素类、氨曲南及头孢菌素类抗生素耐药率高达 56.2%~100%，具有多重耐药特点；2002~2004 年耐药率有下降趋势，但临床可选抗生素很少，产 ESBLs 菌仅对碳青酶烯类和头霉素类抗生素具有较高的敏感性，结果见表 4。

表 2 2002~2004 年产 ESBLs 菌的产酶率

时间(年)	大肠埃希氏菌			肺炎克雷伯菌			产酶率合计
	分离数(株)	产酶数(株)	产酶率(%)	分离数(株)	产酶数(株)	产酶率(%)	
2002	390	240	61.1	271	213	78.6	68.2
2003	506	250	49.4	352	238	67.6	56.9
2004	423	202	46.8	394	218	55.3	50.8
合计	1319	692	52.5	1017	669	65.8	58.0

表 3 2002~2004 年的基因分型的分析

基因型	2002 年(株)	2003 年(株)	2004 年(株)	合计
TEM	30(75%)	14(40%)	30(90.9%)	74
SHV	8(20%)	20(57.1%)	2(6.1%)	30
CTX	2(5%)	1(2.9%)	1(3%)	4
合计	40	35	33	108

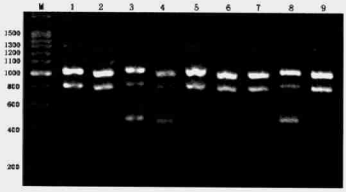


图 1 TEM 基因 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳结果。

注：M:DNA marker 上图显示 200bp 的标准 λDNA；1,2,3,4,5,6,7,8,9 号显示分子量位于 800~1000bp 之间的 TEM 带，约 860bp。

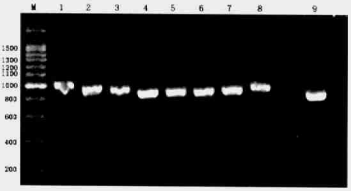


图 2 SHV 基因 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳结果。

注：M:DNA marker 上图显示 200bp 的标准 λDNA；1,2,3,4,5,6,7,8,9 号显示分子量位于 1000~1100bp 之间的 SHV 带，约 1080bp。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 4 产 ESBLs 菌体外对常用抗生素的耐药情况

抗生素	大肠埃希氏菌耐药率(%)			肺炎克雷伯菌耐药率(%)		
	2002 年 390 株	2003 年 506 株	2004 年 423 株	2002 年 271 株	2003 年 352 株	2004 年 394 株
氨苄青霉素 / 青霉素烷(SAM)	56.2	68.4	71.2	64.3	70.2	68.5
氨苄青霉素(AMP)	98.3	90.6	81.8	100	96.4	84.3
氧哌嗪青霉素 /TAZO(TZP)	100	88.1	80.4	97.3	90.4	80.3
菌克单(ATM)	92.4	90.3	75.4	94.2	86.2	83.3
头孢噻吩(KF)	92.1	95.3	90.1	97.4	90.2	94.3
头孢唑啉(KZ)	80.5	79.2	70.4	83.4	80.6	79.2
头孢呋肟(CXM)	90.5	95.4	93.1	98.1	94.2	87.1
头孢噻肟(CTX)	87.6	80.4	74.8	90.2	86.3	76.8
复达欣(CAZ)	90.4	83.2	70.4	76.4	70.2	64.3
菌必治(CRO)	84.2	70.4	79.1	88.8	76.4	78.3
头孢吡肟(FEP)	62.5	60.3	52.5	76.5	68.7	63.8
亚胺硫霉素(IPM)	0	0	0	0	0	0
头孢西丁(FOX)	20.2	26.7	15.2	16.4	25.7	33.6
庆大霉素(CN)	87.6	80.6	82.1	90.4	88.9	77.3
丁胺卡那霉素(AK)	56.2	43.4	36.1	55.2	60.3	53.2
妥布霉素(TOB)	45.2	42.1	40.5	36.7	49.6	35.3
氧哌嗪青霉素(PIP)	86.4	90.2	83.3	78.3	74.2	72.1
环丙氟哌酸(CIP)	89.4	80.3	77.7	80.6	75.2	63.5
复方新诺明(SXT)	74.4	64.2	67.3	80.2	88.6	65.5

3 讨 论

近年来由于临床治疗学快速发展而带来的负面效应,是医院感染率上升和耐药株增加的主要原因。特别是三代头孢菌素的广泛使用,使革兰氏阴性菌中 ESBLs 成为医院感染的致病菌之一。由于传播途径广,常常是新生儿病房、ICU 等各科病房暴发流行的主要菌株。儿童是感染性疾病的易感群体,免疫器官的不健全,抵抗力较低,导致常见的感染性疾病发病频繁,院内外不正规用药较为普遍,三代头孢的使用已是抗感染的常见药,社会获得性与医院内交叉感染耐药菌也不可避免,这可能是儿童感染产 ESBLs 菌发生率与耐药率居高不下,并且耐药率高于成人的原因之一。经我院三年的连续监测,大肠埃希氏、肺炎克雷伯氏菌产生 ESBLs 菌发生率达 58%,产 ESBLs 菌的特性包含几个方面[3]:①丝氨酸活性 Ambler's A 类或 D 类 β - 内酰胺酶;②能水解氧亚胺 β - 内酰胺类抗生素,对广谱青霉素和头孢菌素水解活性强;③活性能被 β 内酰胺酶抑制剂抑制;④根据 Bush-Jacoby-Medeiros 功能分类属 2be 亚组。ESBLs 种类最多的是 TEM 或 SHV 族酶,其中大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯菌仍是主要产酶株,与报道相同[4]。ESBLs 可以通过结合、转化和转导等形式使耐药基因在细菌中扩散,从而造成医院严重的交叉感染和院外耐药基因的扩散。已有多起关于产 ESBLs 细菌引起医院感染暴发流行的报告[5]。产 ESBLs 细菌所致的感染暴发流行的产生与患者较多使用第三代头孢菌素及全身抵抗力下降有关,给临床抗感染治疗带来很大困难。

很多因素影响对感染儿童的治疗,由于儿童在学校的相互密切的接触以及个人日常的卫生情况差,儿童频繁暴露于各种病原菌之中,不同年龄的儿童在一种疾病上的临床表现可能差异很大,而且从新生儿、婴儿期经过青少年期进入成年期,不同发育时期的生理性差异对药物治疗有很大的影响[6]。在新生儿期,肝、肾发育均未发育成熟,肝酶分泌的不足或缺乏,肾清除功能较差,新生儿感染时应避免应用毒性大的抗生素药物。从表 4 的体外药敏结果可以看出,产 ESBLs 细菌对大多数抗生素耐药。产 ESBLs 菌 2002~2004 年的耐药特征 19 种抗生素除亚胺硫霉素(IMP)耐药率为零外,三代头孢耐药率较高,丁胺卡那霉素(AK)、妥布霉素(TOB)耐药率约小于 50%,其它耐药率均在 60%以上,但从耐药谱中表现的耐药率大多数有逐年下降的趋

维普资讯 http://www.cqvip.com

势。其中氨基糖甙类药物有明显的耳、肾毒性，小儿应尽量避免应用。因此，丁胺卡那霉素(AK)、妥布霉素(TOB)、耐药率比成人较低，而庆大霉素(CN)则有较高的耐药率在 80%以上，喹诺酮类抗菌药的环丙氟哌酸(CIP)与磺胺类的复方新诺明(SXT)的耐药率都大于 60%~70%，在 18 岁以下的未成年人一般避免使用，主要影响骨骼的发育，产 ESBLs 菌的耐药率高于国内报道的成人感染，因此，体外药物敏感试验在临床儿科病人的治疗中具有重要作用，因细菌感染具有高危险性，提高实验室诊断的灵敏度以及采用较好致病菌的鉴定的方法，可以使临床医生在治疗时采用广谱抗生素进行经验性治疗[7]的时间缩短，革兰氏阴性菌引起的感染，特别是在治疗大肠埃希菌和克雷伯菌感染时，既要考虑慎用青霉素类和头孢类抗生素，又要考虑在未获得实验室有关 ESBLs 菌报告时的经验治疗，因此，微生物实验室及临床医生要高度重视产 ESBLs 菌。产 ESBLs 细菌体外药敏试验与报告临床医生的方法应依据 NCCLS 指南文件的要求，由于产 ESBLs 细菌的抗菌谱特点，一经确认为产 ESBLs 的细菌，青霉素类、头孢类、氨曲南不管体外药敏实验敏感与否，均应向临床报告耐药，尽早使用对产酶菌有效的药物，碳青酶烯类、含酶抑制剂的 β-内酰胺类抗生素进行治疗。这样可以避免使用青霉素类及头孢类抗生素和氨曲南，缩短治疗时间、减少耐药菌的产生在小儿疾病医治中具有重要的意义。本研究中 ESBLs 在大肠埃希菌中的检出率为 52.5%，在肺炎克雷伯菌的检出率为 65.8%，较杨健等报告的 34.9%和 34.2%高[8]，这与儿童常见病原菌感染以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主的特点及其近年来广泛使用三代头孢有密切关系。产 ESBLs 菌的常规检测可为临床治疗提供参考依据。

据国内外文献报告临床感染细菌在不断地发生变迁，60 年代以前是革兰氏阳性球菌的感染，60 年代以后至 80 年代由于抗生素的普遍应用，革兰氏阳性感染菌得到控制，则多是革兰氏阴性杆菌的感染，而 90 年代革兰氏阳性菌特别是葡萄球菌属的多个菌种感染又逐渐回升，其中特别是以耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA)为代表的医源性感染症，感染率不断上升，占葡萄球菌菌种的 30%~60%，已成为世界各国关注的问题。与我院吴仕孝 1990 年首次报道 3 例金黄色葡萄球菌暴发感染调查[9]一致。近年来，革兰氏阴性菌又占据了主导地位，临床上三代头孢抗菌药物的使用产 ESBLs 菌已成为革兰氏阴性具代表性耐药菌之一。此菌可由质粒、染色体介导，特别质粒介导的产 ESBLs 菌，传播速度快，易引起院内爆发流行，在本研究中发现，基因型主要以 TEM 和 SHV 型为主，CTX-M 型基因是少见型。而细菌中大肠埃希氏菌主要以 TEM 型基因为主，占 94.9%；而肺炎克雷伯菌则以 SHV 基因型为主，占 96.6%。2002 年以 TEM 型为主(75%)，2003 年主要为 TEM 型(40%)和 SHV 型(57.1%)，2004 年主要为 TEM 型(90.9%)，CTX 为少见基因型(3.7%)。张晓兵等报道[10]，ESBLs 菌主要携带 TEM 型和 SHV 型基因，绝大部分携带 TEM 型基因，这与我们研究结果一致，显示了本地区儿童与成人主要的流行基因型基本相同。在三年的基因型中发现耐药谱有相应的变化，产 ESBLs 菌产酶率有逐年下降的趋势，而耐药率 2003 年大肠埃希氏菌产 ESBLs 菌对氨苄青霉素/青霉素烷(SAM)68.4%，头孢唑啉(KZ)79.2%、头孢呋肟(CXM)95.4%、氧哌嗪青霉素(PIP)耐药率 90.2%，肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌对氨苄青霉素/青霉素烷(SAM)70.2%，丁胺卡那霉素(AK)60.3%、复方新诺明(SXT)88.6%分别高于 2002 年，这还有待于进一步研究。通过产 ESBLs 菌基因型与耐药特征的分析，将对控制医院中 ESBLs 产生株和产酶菌的播散以及对临床合理使用抗生素有一定的指导作用。

参 考 文 献

[1] Bradford PA.Extended-spectrum β-Lac-tamases in the 21st century, character-ization, epidemiology, and detection of this important resistance threat[J].Clin Microbiol Rev, 2001; 14: 933-951.

[2] 刘 岚，刘昌林，卢仲义.产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)的质粒谱分析[J].临床检验杂志，2001;19(5):282-283.

[3] 吴伟元，陈民钧，王 辉.阴沟肠杆菌去阻遏持续高产 Ampc 酶和超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)的检测[J].中国临床药理学杂志，2001;17(2):104-109.

[4] Bush K, Jacoby G A, Medeiross A A.A functional classification scheme for β-lactamases and corrclation with molecaular structure [J].Antimicrob Agents Chemother, 1995; 39(6): 1211.

[5] Lister PD, Gardner VM, Sanders CC.Clavulanate induces expression of the Pseudomonas aeruginosa Ampc cephalosporinase at phiologically relevant concentrations and antagonizes the antibacterial activity of ticarcillin [J].Antimicrob Agent Chemother, 1999; 43 (4): 882-889.

[6] Blumer JL.Carbapenems in paediatrics [J].Scand J Infect Dis Suppl, 1995; 96: 38-44.

[7] Hughes WT, ArmstrongD, Bodey GP, et al.1997 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever[J].Clin Infect Dis, 1997; 25: 551-573.

[8] 杨 健，陈升汶，吴伟元，等.医院细菌耐药监测研究[J].中华医院感染学杂志，2003;13(4):363-365.

[9] 吴仕孝，沈 犁，唐 军，等.质粒分析及限制酶分析在新生儿细菌感染中的应用[J].实用儿科杂志，1990;3(5):121-123.

[10] 张晓兵，府伟灵，廖 扬，等.临床产 ESBLs 细菌的耐药特征和基因分型的研究[J].中华医院感染学杂志，2005;15(4):386-389.