

• 论 著 •

复合转座子 ISEcp1B 与 IS903 介导 CTX-M ESBLs 新基因亚型传播机制的研究*

廖伟娇¹, 江洁华², 徐韞健¹, 李 宁¹

(广州医学院附属第一医院:1. 检验科;2. 输血科 510120)

摘要:目的 研究肺炎克雷伯菌 Kp49, CTX-M 型超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)新亚型的基因环境,并分析其传播的分子机制。方法 用 K-B 药敏法分析肺炎克雷伯菌 Kp49 的耐药性;用多重聚合酶链反应(PCR)技术扩增 CTX-M-G1、TEM、SHV、DHA、ACT、IMP-1、VIM-1、ISEcp1B、IS903 及 I 类整合子,PCR 扩增 ISEcp1B 下游的 CTX-M 型 ESBLs 全序列并测序。结果 肺炎克雷伯菌 Kp49 只对亚胺培南敏感,对其余 21 种抗菌剂均耐药。检出 TEM、SHV、CTX-M-G1 及 DHA 基因 I 类整合子。检出 1 种新的 CTX-M ESBLs 基因亚型,全长 876 bp,与 bla_{CTX-M-14} 相比有 1 个核苷酸不同(GenBank 登陆号:EF446126)。bla_{CTX-M-like} 的上游是 ISEcp1B 的遗传元件,下游是插入序列 IS903 的保守序列组成复合转座子。可能是 ISEcp1B 序列通过转座子机制俘获 β -内酰胺酶,并提供 -35 及 -10 位点 2 个启动子,对下游 CTX-M 型 ESBLs 的高水平表达起重要的调控作用。结论 插入序列 ISEcp1B 与 IS903 组成的复合转座子可能介导了新的 CTX-M ESBLs 基因亚型的水平传播,并驱使其高度表达,使 Kp49 对多种抗菌剂耐药。

关键词:克雷伯菌,肺炎; β 内酰胺酶类; DNA 可移植因子; 疾病传播; 转座子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)10-1027-03

Study on the molecular mechanism of the dissemination of a novel CTX-M-like extended spectrum beta-lactamase mediated by complex transposons ISEcp1B and IS903*

Liao Weijiao¹, Jiang Jiehua², Xu Yunjian¹, Li Ning¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Blood Transfusion, The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangdong 510120, China)

Abstract: **Objective** To investigate the genetic environment and the mechanism of dissemination of the novel CTX-M-type extended spectrum beta-lactamases(ESBLs) in *klebsiella pneumoniae* 49 (Kp49). **Methods** Kirby-Bauer susceptibility method was performed to analyze the drug resistance of Kp49. The genes of CTX-M-G1, TEM, SHV, DHA, ACT, IMP-1, VIM-1, whole length of bla_{CTX-M-like} gene, insertion sequence ISEcp1B, IS903 and integron I were amplified by multiple PCR. The whole length of bla_{CTX-M-like} gene in the down stream of ISEcp1B was amplified by PCR and sequenced. **Results** (1) Kp49 was only susceptible to imipenem, but was resistant to the other 21 antibiotics. (2) TEM, SHV, CTX-M-G1, DHA and integron I were found in Kp49. (3) A novel 876 bp bla_{CTX-M-like} gene was found and confirmed to differ from bla_{CTX-M-14} by 1 nucleotide(GenBank accession number: EF446126). (4) bla_{CTX-M-like} was flanked upstream by an ISEcp1B element and downstream by an IS903. The ISEcp1B might provide -35 and -10 promoter sequences that may drive the expression of bla_{CTX-M-like} gene at a high level. **Conclusion** The high level resistance of Kp49 to antibiotics is due to the production of complex transposons; insertion sequence ISEcp1B and IS903 mediate the dissemination of the novel CTX-M-like ESBLs and drive the expression of it at a high level.

Key words: *klebsiella pneumoniae*; beta lactamases; DNA transposable elements; disease transmission; transposon

由于抗菌剂的滥用,给临床治疗带来很大的困难。从 1990 年德国首先报道 1 种对头孢噻肟的水解活性远远大于头孢他啶,但其抗菌活性可被克拉维酸所抑制的 ESBLs(CTX-M-1)后,在世界各地不断地被发现,报道的 CTX-M 型 ESBLs 已经有 50 多种,本地区以 CTX-M-3、CTX-M-9、CTX-M-14 等型多见^[1-2]。目前,CTX-M 型 ESBLs 的传播机制仍不是很明确,可能是质粒、转座子、插入序列等通过接合、转座多种形式实现的,质粒携带的 β -内酰胺酶耐药基因在质粒间及质粒与染色体间转移,主要是通过转座子或插入序列为工具实现的^[3-4]。由 GenBank 数据库序列信息分析,CTX-M 型 ESBLs 的基因定位在 I 型整合子或转座子等可转移基因元件上。虽然 I 型整合子可增强 ESBLs 基因的表达,但现有的报道与 CTX-M 内酰胺酶有联系的并不多。近年来,通过对 CTX-M 酶的“基因环

境”进行研究,发现插入序列 ISEcp-1B、IS26 及 IS903 等可能对 CTX-M 型基因的表达和水平传播起重要作用,作者对此进行研究,并报道如下^[5]。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 本研究所用的肺炎克雷伯菌 Kp49 收自本院呼吸研究所的中心监护室,分离于胸腔积液标本,经 Vitek-2 药敏卡鉴定。质控菌株:大肠埃希菌(ATCC25922)、肺炎克雷伯菌(ATCC700603)。

1.2 抗菌剂 药敏纸片购自 Oxoid 公司, Vitek-2 GNP 药敏卡购自法国生物梅里埃公司。

1.3 PCR 引物 CTX-M-G1 带酶切位点引物为自行设计,其余引物,由英俊生物公司合成。见表 1。

1.4 仪器及试剂 VITEK-2 全自动微生物鉴定仪(法国生物

* 基金项目:广东省广州市医药卫生科技项目(201102A213137);广州医学院附属第一医院科研基金项目(y200909gyfy)。

梅里埃公司);PCR 扩增仪(美国 BioRad PE 公司);双向电泳分析仪和凝胶成像系统(英国 UVP INC 公司)。常用试剂: Taq 酶、dNTPs、DL2000 Marker、质粒抽提试剂盒均由 TaKaRa 公司提供。

1.5 药敏实验 采用 K-B 药敏法,取临床上已经分离的多重耐药菌株,经 35 °C 孵育 18~24 h 后的细菌培养物,用无菌生理盐水制成 0.5 麦氏单位的菌液,参照美国临床实验室标准委员会(CLSI)文件(2010 年)推荐的标准。

1.6 DNA 模板的制备 用加热裂解法,将过夜培养的细菌置于 60 μL pH8.0 的 TE 缓冲液(10 mmol/L Tris-Cl 和 1 mmol/L EDTA)中配成一定浓度的菌悬液,并震荡混匀。将菌悬液于 97 °C 水浴 10 min, -20 °C 放置 1 min,以离心半径 8

cm, 12 000 r/min 离心 5 min 后取上清液,置 -20 °C 备用。

1.7 PCR 反应条件 (1)β-内酰胺酶、插入序列及整合子的筛查:反应体系总体积 20 μL,其中正、反引物各 1 μL, 10×PCR 缓冲液 2 μL, dNTP 150 μmol/L, Mg²⁺ 2.5 mmol/L, Taq 酶 1 U, DNA 模板 1 μL。反应条件:除退火温度不同外(表 1), 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 30 s, 50 °C 35 s, 72 °C 45 s, 30 个循环, 72 °C 延伸 10 min; (2) I 类整合子可变引物反应体系同上, 反应条件: 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 35 s, 56 °C 35 s, 72 °C 90 s, 30 个循环, 72 °C 延伸 10 min; (3) 自行设计 CTX-M 型 ES-BLs 带酶切位点的引物,进行步移测序,扩增产物送上海英俊生物工程公司测序,结果在 GeneBank 中经 BLAST 分析,以确定其基因型别。

表 1 PCR 引物及条件

引物名称	引物序列(5'→3')	目的基因	产物长度(bp)	退火温度(°C)
TF	GTGTCGCCCTTATTCCC	TEM	785	55
TB	CATAGTTGCCTGACTCCC			
SF	TGTATTATCTCCCTGTTAGC	SHV	843	52
SB	TAGCGTTGCCAGTGCTC			
CGF	ACCGTTACGCCGCTGATG	CTX-M-G1	792	53
CGB	GGCTGGGTAAAATAGGTC			
D1F	ATGGCGGTTGCCGTCTC	DHA-1	967	56
D1B	TGACTCTTTCGGTATTCGGGAG			
C1F	ACCGTTACGCCGCTGATG	ACT-1	1 326	56
C1B	CCACGAGCTGCCAAACCC			
Y1 F	GCTTACAGCCTCTTTCTCCAC	CMY-G-1	1 082	56
Y1 B	CCTCGACACGGACAGGGTTA			
CMF*	CGGAATTCATGGTGACAAAGAGAGTGCAAC	CTX-G-W	876	56
CMB	GCGCTCGAGTTACAGCCCTTCGGCGAT			
IM1F ^[6]	CTACCGCAGCAGCAGAGTCTTTG	IMP-1	587	56
IM1B	GAACAACCAGTTTTGCCTTACC			
VF	AGTGGTGAGTATCCGACAG	VIM-1	836	50
VB	ATGAAAGTGCGTGGAGAC			
IV F	GGCATCCAAGCAGCAAG	Integron I	可变	56
IVB	AAGCAGACTTGACCTGA			
IF ^[7]	TGCGGGTYAARGATBTKGAT	Integron I	491	50
IB	CARCACATGCGTRTARAT			
ISEF ^[8]	AAAATGATTGAAAGGTGGT	ISEcp1B	546	52
ISEB	ACYTTACTGGTRCTGCACAT			
903F	AGCGGTAAATCGTGGAGTGA	IS903	可变	56
903B	ACYTTACTGGTRCTGCACAT			
903C	CTACGGCACCACCAATGATA			
513F	TGGAAGAGGGCGAAGACGAT	ORF513	可变	52
513B	CGAATGCTCTGAGTCATCAT			
513C	TGCACTCTCTTGTCAACAT			
26F	AGCGGTAAATCGTGGAGTGA	IS26	可变	52
26B	ACYTTACTGGTRCTGCACAT			

F: 正义引物; B: 反义引物; *: 此研究所用引物。

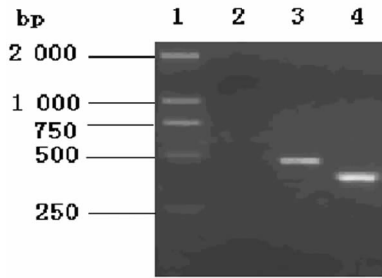
2 结 果

2.1 肺炎克雷伯菌 Kp49 的耐药特性 Kp49 对除亚胺培南外的 21 种抗菌剂均耐药。对氨苄西林、头孢噻肟、头孢他啶、

头孢曲松、头孢唑啉、头孢哌酮、头孢吡肟、头孢克罗、环丙沙星、阿米卡星、头孢西丁等均耐药;克拉维酸、舒巴坦不能抑制头孢噻肟、头孢他啶、头孢哌酮的耐药性。

2.2 初筛 PCR 结果 检出 Kp49 菌株携带 TEM、SHV、CTX-M-G1、DHA-1 β -内酰胺酶基因、I 类整合子、插入序列 ISEcp1B 及 IS903 基因。

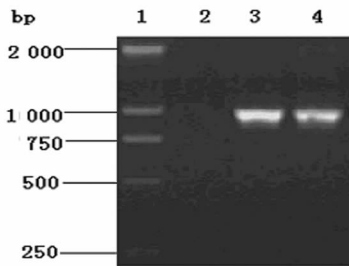
2.3 插入序列 ISEcp1B PCR 产物电泳结果 见图 1。



1: DNA Marker; 2: 阴性对照; 3: Kp49 号菌株基因组 ISEcp1B PCR 产物电泳结果。

图 1 ISEcp1B PCR 产物电泳结果

2.4 插入序列 IS903 的 PCR 产物电泳结果 见图 2。



1: DNA Marker; 2: 阴性对照; 3, 4: Kp49。

图 2 IS903 PCR 产物的电泳结果

2.5 Kp49 的 ISEcp1B、CTX-M-like 及 IS903 基因序列 该序列已成功在 GenBank 登陆, 登陆号为: EF446127。其中的 bla_{CTX-M-like} 与 bla_{CTX-M-14} 相比, 在 825 bp 处有 1 个核苷酸不同, 导致 1 个氨基酸不同, 第 275 位由脯氨酸取代谷氨酰胺, 在 GenBank 登陆号为: EF446126。

3 讨论

1990 年, 最早发现的 CTX-M-1 型 ESBLs 是在德国的 1 株大肠埃希菌上找到的, 是 1 种对头孢噻肟水解活性与等电点均高的 ESBLs。新型的 CTX-M 型酶不断被发现, 至今已有 50 多种新的 CTX-M 型 ESBLs, 他们与 TEM、SHV 的相关性不大, 但与产酸克雷伯菌的染色体的内酰胺酶高度同源, 多见于南美、东欧、东亚等国家和地区。肖庆忠等^[2] 经过连续 2 年来的监测分析, 广州地区以 CTX-M-3、CTX-M-9、CTX-M-14、CTX-T-17、CTX-M-18、CTX-M-24 等型多见, 该研究结果和近来国内外的研究报道可基本推测出 CTX-M 型 ESBLs 可能是广州地区、华南地区乃至全国最为常见的 ESBLs 类型之一。

本实验的肺炎克雷伯菌 Kp49 只对亚胺培南敏感, 对头孢噻肟、头孢他啶、头孢哌酮及头孢西丁等 21 种抗菌剂均耐药; 克拉维酸、舒巴坦不能抑制头孢噻肟、头孢他啶、头孢哌酮的耐药性, 这对临床的治疗造成很大的困难。用多重 PCR 技术对 Kp49 进行了 β -内酰胺酶筛查, 发现 Kp49 同时携带 CTX-M-G1、TEM、SHV、DHA 等 β -内酰胺酶。CTX-M 型 ESBLs 具有 ESBLs 的一般特性, 能水解头孢菌素、单环 β -内酰胺类抗菌剂, 对酶抑制剂敏感。CTX-M 型 ESBLs 对窄谱头孢菌素水解活性最高, 而水解青霉素类的活性不及 TEM 和 SHV 型; 其最

主要的特征就是大部分 CTX-M 型 ESBLs (除了 CTX-M-6、CTX-M-15 和 CTX-M-19 外) 对头孢噻肟水解力高于头孢他啶。对头孢他啶水解活性弱是多数 CTX-M 型 ESBLs 区别于 TEM、SHV 型 ESBLs 的标志之一。此外, CTX-M 型 ESBLs 还表现出对头孢匹罗有高度的水解活性, 而对头孢西丁和碳青霉烯类 (亚胺培南、美罗培南) 无水解活性。由于 Kp49 产 TEM、SHV 的作用, 故对头孢他啶高度耐药, DHA-1 则水解头孢西丁, 这与其耐药表型相符。

目前 β -内酰胺酶的传播与表达的机制仍不是很明确, 可能是质粒、转座子、插入序列等通过接合、转座多种形式实现的。质粒通过接合作用、整合子通过整合酶俘获耐药基因通过共用的启动子进行表达的研究已有大量的报道, 整合子只有 1~2 个共用的启动子, 如何调控远距离耐药基因盒的表达, 是否还有别的调控机制。

本研究对 Kp49 介导耐药基因传播的遗传元件进行了筛查, 检测出插入序列 ISEcp1B、IS903 及 I 类整合子。对 I 类整合子可变引物 PCR 产物进行测序, 发现 1 200 bp 片段有磺胺类耐药基因的 *dhfr* 基因; 1 800 bp 片段有 *dhfr* 基因和氨基糖苷类药物的 *aadA2* 基因。I 类整合子介导了 *dhfr* 和 *aadA2* 耐药基因的传播。套式 PCR 结果显示, 整合子内并无 CTX-M-like 基因, 在 Kp49 中两者的相关性不大。

ISEcp1B 测序结果提示, 插入序列连接 CTX-M 型 ESBLs, 由于 CTX-M-G1 扩增的 DNA 片段较短, 自行设计两端带酶切位点引物进行扩增, 测序结果显示全长 876 bp, 与 bla_{CTX-M-14} 相比, 在 825 bp 处有 1 个核苷酸不同, 导致 1 个氨基酸不同, 第 275 位由脯氨酸取代谷氨酰胺 (GenBank 登陆号: EF446126)。通过序列分析发现: bla_{CTX-M-like} 的上游是 ISEcp1B 的遗传元件, 下游是插入序列 IS903 的保守序列组成复合转座子 (GenBank 登陆号: EF446127)。

插入序列 ISEcp1B (长度 1 655 bp) 由 ISEcp1 衍生而来, 有 3 个亚型, 作用弱于其他的 IS 元件, 其转座酶的氨基酸序列与 IS1380 转座子家族只有 25% 的同源性。ISEcp1B 包括围绕着推断与 ISEcp1B 转座酶相比有 1 个氨基酸 Q179R 改变的编码 *tnpA* 基因, 有 2 个不完全相同的 18 bp 反向重复序列 (4 个错配)。转位酶能够识别反向重复序列, 并催化转座因子发生删除作用。在许多的磷酸化转移酶中发现的“DDE”基元同样存在于 ISEcp1B 转座酶中^[9]。有文献报道, 在 CTX-M 型的侧翼发现有插入序列 ISEcp1B 与 IS903, 参与耐药基因从染色体到质粒的播散^[10]。证据间接提示这些基因的转移可能是由插入序列或转座子介导的。

由 EF446127 序列分析可知: 产 CTX-M 型 ESBLs 功能性基因片段经测序证实位于转座酶 A 插入序列 ISEcp1B 编码区的下游, 发现了启动子-35TGAAA 及-10TACAAT, 还有 1 个 IRR 是转位酶能够识别的位点。随着 ATG 起始编码 CTX-M-like 基因, 在 CTX-M-like 起始编码基因的上游除 57 bp 的 IRR 外, 没有发现其他启动子, 推断 ISEcp1B 可能提供了 bla_{CTX-M-like} 基因表达的启动子。

bla_{CTX-M-like} 下游基因编码 IS903 样的插入序列, 是 1 个 1 057 bp 长的插入序列, 在其末端有 1 个 18 bp 的反向重复序列, 并有 1 个转位酶基因。IS903 转座子主要通过 1 个简单的插入途径, 并产生 1 个 9 bp 目的复制产物。IS903 转座子有 2 个必需元件: (1) 在末端必须存在 1 个反向重复序列; (2) 转座酶必须存在 cis 位点以便高效转位。实验证明: 通过把带卡那霉素抗性基因的 IS903 插入到缺乏转座子载 (下转第 1032 页)

相似的敏感性和特异性,而 rSj26-Sj32 与华支睾吸虫病、卫氏并殖吸虫病和泡型棘球蚴病患者血清无交叉反应,与 rSj26 和 Sj32 作为单个抗原已报道的结果相一致^[17-19]。本研究提示,纯化的 rSj26-Sj32 融合蛋白用于急性日本血吸虫病患者血清中抗体的检测具有良好的免疫反应性,是 1 种有价值的诊断抗原。今后需扩大样本量进行检测,进一步研究 rSj26-Sj32 融合蛋白在急性日本血吸虫病免疫诊断中的使用价值,为其现场应用提供有价值的材料。

参考文献

[1] 郝阳,吴晓华,郑浩,等. 2007 年全国血吸虫病疫情通报[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2008,20(6):401-404.

[2] 罗庆礼,沈继龙,汪学龙,等. 重组日本血吸虫 26 kU 谷胱甘肽-S-转移酶的表达、纯化及其免疫特性分析用于急性血吸虫病免疫诊断[J]. 安徽医科大学学报,2005,40(6):491-494.

[3] 石佑恩, Dell R, Diesfeld HJ, 等. 日本血吸虫成虫 31/32 × 10³ 诊断蛋白与血吸虫单克隆抗体和患者血清的免疫印斑反应[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1988,6(4):245-247.

[4] Zhu YC, He W, Liang YS, et al. Development of a rapid simple dipstick dye immunoassay for schistosomiasis diagnosis[J]. J Immunol Meth, 2002, 266(1):1-5.

[5] 何伟,朱荫昌,陈万全,等. 血吸虫病快速免疫诊断——胶体试纸条法的研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2000,12(1):18-20.

[6] 何伟,朱荫昌,曹国群,等. 血吸虫病快速诊断试剂盒的优化及其应用[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2002,14(6):401-404.

[7] 赵巍,苏川,吴海玮,等. 日本血吸虫(中国大陆株)22.6 × 10³ 重组抗原的免疫原性研究[J]. 中国人兽共患病杂志,1998,14(3):24-27.

[8] 龚镇奎,駱林,肖红雨,等. ELISA 方法检测血吸虫抗体的研究

[J]. 湖北预防医学杂志,2001,12(5):1-2.

[9] 张仁利,贺连华,吴平芳,等. 日本血吸虫感染者尿液中特异性 IgG 及亚类的检测[J]. 中国热带医学,2004,4(4):156-158.

[10] 鞠川,冯正,胡薇. 日本血吸虫病免疫诊断方法的研究进展[J]. 国际医学寄生虫病杂志,2006,33(5):250-255.

[11] Wu GA. Historical perspective on the immunodiagnosis of schistosomiasis in China[J]. Acta Tropica, 2002, 82(2):193-198.

[12] 李允鹤. 寄生虫病免疫学及免疫诊断[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1991:42-54,210-234.

[13] Chitsulo L, Engels D, Montresor A, et al. The global status of schistosomiasis and its control[J]. Acta Tropica, 2000, 77(1):41-51.

[14] 魏泉德,石佑恩. 血吸虫病治疗前后 IgG 及其亚类的变化和疗效考核的研究[J]. 中国人兽共患病杂志,1998,14(1):30-32.

[15] Rabello AL, Garcia MM, da Silva RA, et al. Humoral immune responses in acute schistosomiasis mansoni: relation to morbidity [J]. Clin Inf Dis, 1995, 21(3):608-615.

[16] Bocter FN, Peter JB. IgG subclasses in human chronic schistosomiasis: over-production of schistosoma-specific and nonspecific IgG₄ [J]. Clin Exp Immunol, 1990, 82(3):574-578.

[17] 王志成,徐元宏,汪学龙,等. 日本血吸虫谷胱甘肽-S-转移酶在虫卵阶段的定位[J]. 安徽医科大学学报,2007,42(1):1-4.

[18] 王细宏,罗飞,沈继龙. 重组日本血吸虫谷胱甘肽-S-转移酶单克隆抗体在急性血吸虫病临床诊断中的应用[J]. 检验医学,2008,23(6):578-581.

[19] 沈定文,罗金萍,陈喜珪,等. 日本血吸虫 31/32 × 10³ 抗体的检测及其在诊断中的作用[J]. 中国公共卫生,2000,16(1):28-29.

(收稿日期:2011-02-05)

(上接第 1029 页)

体的细菌中,IS903 的移动能引起基因间的沉默(基因的插入或缺失),或基因的相互作用(上游产生或介导启动子),是使其靶基因产生突变的有效方法。

由 ISEcp1B 和 IS903 2 个 IS 连接在 CTX-M 型 ESBLs 的两侧构成了复合转座子。复合转座子很容易携带着抗菌剂抗性基因,从细菌染色体转移到质粒或噬菌体基因组上。转座子的移动或通过分子间的相互作用能引起更广泛的基因重排,包括缺失、插入染色体部分的复制,这些更容易促进基因的进化。复合转座子俘获及启动 CTX-M 型 β-内酰胺酶表达的能力,在一定程度上能解析 bla_{CTX-M} 型 β-内酰胺酶在世界范围内流行的原因。

参考文献

[1] Bae IK, Lee BH, Hwang HY, et al. A novel ceftazidime-hydrolyzing extended-spectrum beta-lactamase, CTX-M-54, with a single amino acid substitution at position 167 in the omega loop [J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 58(2):315-319.

[2] 肖庆忠,苏丹虹,江洁华,等. 广州地区 3 500 株革兰阴性杆菌 CTX-M 型和 OXA 型超广谱 β-内酰胺酶基因分型研究[J]. 中华医院感染学杂志,2005,15(12):1321-1326.

[3] Marie FL, Laurent P, Daniel A, et al. In vitro analysis of ISEcp1B-mediated mobilization of naturally occurring lactamase gene bla_{CTX-M} of kluyvera ascorbata [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(4):1282-1286.

[4] 韩立中,蒋晓飞,王大方,等. 1 株铜绿假单胞菌中检出两种新的整合子[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2005,25(6):485-489.

[5] Eckert C, Gautier V, Arlet G, et al. DNA sequence analysis of the genetic environment of various bla_{CTX-M} genes [J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 57(1):14-23.

[6] 张永标,张扣兴,唐英春,等. 产质粒介导的 AmpC 酶和 ESBLs 细菌的耐药性及 β-内酰胺酶基因型研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2004,24(7):577-582.

[7] 李心晖,石磊,杨维青,等. 三类整合酶基因(int1)的简并引物 PCR 方法建立及应用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2005,25(2):156-160.

[8] Eckert C, Gautier V, Saladin-Allard M, et al. Dissemination of CTX-M-type-lactamases among clinical isolates of enterobacteriaceae in Paris, France [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(4):1249-1255.

[9] Poirer L, Decousser JW, Nordmann P, et al. Insertion sequence ISEcp1B is involved in expression and mobilization of a bla_{CTX-M} beta-lactamase gene [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(9):2938-2945.

[10] Ho PL, Shek RH, Chow KH, et al. Detection and characterization of extended-spectrum beta-lactamases among bloodstream isolates of enterobacter spp. in Hong Kong, 2000-2002 [J]. J Antimicrob Chemother, 2005, 5(3):326-332.

(收稿日期:2011-02-05)