

重庆市部分养殖场金黄色葡萄球菌 耐药性分析及 ESBL 基因检测

陈瑶, 丁红雷, 何英, 牟豪, 王立敏, 王豪举*

(西南大学兽医传染病学实验室, 重庆 400715)

摘要: 为了解重庆市部分养殖场动物源性金黄色葡萄球菌的耐药及携带超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamases, ESBLs)基因情况, 从重庆部分养殖场采集共 1 371 份样品, 经前处理、增菌、划线接种、挑取疑似菌落, PCR 扩增金黄色葡萄球菌特异性 *nuc* 基因, 对分离鉴定的金黄色葡萄球菌进行药物敏感性试验, 并检测菌株中携带的 ESBL 基因。结果显示: 从 1 371 份样品中分离到 89 株金黄色葡萄球菌, 包括 25 株猪源菌株、32 株鸡源菌株、6 株牛源菌株、10 株羊源菌株和 16 株兔源菌株。89 株菌对青霉素类药物耐药最为严重, 其次为四环素类、大环内酯类和喹诺酮类。除 2 株兔源菌株外, 其余分离菌均为多重耐药, 耐药数量从 2 种到 21 种不等, 猪源菌株的多重耐药最为严重。ESBL 基因检测结果显示共有 86 株细菌携带 *bla*_{TEM-1a} 基因, 携带率高达 96.6%。分离的金黄色葡萄球菌菌株耐药严重, 且广泛携带 TEM-1a 型 ESBL 基因。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 分离鉴定; 抗菌药物; 药物敏感性测定; ESBL

中图分类号: Q933; S852.611

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2018)05-1074-07

Antimicrobial Susceptibility Analysis and ESBL Gene Detection of *Staphylococcus aureus* Isolated at Animal Farms in Chongqing

CHEN Yao, DING Hong-lei, HE Ying, MU Hao, WANG Li-min, WANG Hao-ju*

(Laboratory of Veterinary Lemology, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: This paper aims at understanding the information about the antimicrobial resistance and the existence of extended-spectrum β -lactamases (ESBL) genes in livestock-associated *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) at some animal farms of Chongqing. One thousand three hundred and seventy-one samples were collected from animal farms. After pretreating, enriching and culturing. The *S. aureus* specific gene *nuc* was amplified from the suspected colonies, and the antimicrobial susceptibility of the identified *S. aureus* was tested. Meanwhile, the ESBL genes were amplified. Results were as follows: Eighty-nine *S. aureus* clinical strains were isolated and identified from 1 371 samples, including 25 pig-originated strains, 32 chicken-originated strains, 6 dairy cattle-originated strains, 10 goat-originated strains, and 16 rabbit-originated strains. The isolates were most resistant to penicillins, and also more resistant to tetracyclines, macrolides, and quinolones. Except for 2 rabbit-originated strains, other isolates exhibited varying degrees of multi-drug resistance, defined as resistance to 2 to 21 antimicrobials. The most prevalent multi-drug resistant strains were pig-originated. The ESBL genes detection result showed that 86 (96.6%) organisms contained *bla*_{TEM-1a}. The *S. aureus* isolates were resistant to tested antimicrobials seriously, and most of them carried TEM-1a type ESBL.

收稿日期: 2017-10-18

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2013CB12720); 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2015shmszx80033)

作者简介: 陈瑶(1992-), 女, 四川广安人, 硕士生, 主要从事预防兽医学研究, E-mail: 374191461@qq.com

* 通信作者: 王豪举, 副教授, E-mail: kyc_wjhj@swu.edu.cn

Key words: *Staphylococcus aureus*; isolation and identification; antimicrobial; antimicrobial susceptibility testing; ESBL

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是一种重要的人畜共患病病原菌,广泛存在于动物和人的呼吸道、消化道、体表等部位。金黄色葡萄球菌有多种感染途径,不同感染途径导致的临床症状也不同。在兽医临床上常造成乳房炎、关节炎、脐炎、局部脓肿等疾病;也可引起人的皮肤化脓和败血症,其产生的肠毒素是造成人类食物中毒的一大元凶^[1]。自 1961 年 K. R. Eriksen^[2]检出第一株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)开始,关于金黄色葡萄球菌对各种抗菌药物耐药的报道越来越频繁,至今已经发现耐环丙沙星、红霉素、庆大霉素、四环素、万古霉素等的耐药菌株^[3-4],特别是多重耐药现象越来越严重^[5],由此造成的一系列公共卫生问题已成为全世界关注的焦点之一。

超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamases, ESBLs)是一种能够水解青霉素,第一、第二、第三代和部分第四代头孢菌素类抗生素和氨曲南,其活性又能够被 β -内酰胺酶抑制剂(如克拉维酸)抑制的酶类。多种 ESBL 基因编码的蛋白均具有 ESBLs 活性。除 TEM-12 由染色体介导外,其余 ESBL 基因由质粒介导。目前世界各地发现的 ESBL 基因已经超过 200 种^[6]。ESBL 基因常常存在于革兰阴性菌,如大肠杆菌和克雷伯菌,目前尚未见金黄色葡萄球菌携带 ESBL 基因的报道。

本研究分离了重庆市部分养殖场中的金黄色葡萄球菌,测定了其对多种药物的耐药性,并检测了菌株中是否携带 ESBL 基因,为了解重庆市动物源性金黄色葡萄球菌的耐药情况提供了基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 金黄色葡萄球菌菌株 ATCC 25923 和分离菌株由本实验室保存。

1.1.2 主要试剂 甘露醇氯化钠培养基、Muel-ler-Hinton 液体培养基购自杭州微生物试剂有限公司,溶菌酶购自 BBI 生命科学有限公司,溶菌素购自 Biosharp 公司,PrimeSTAR® Max DNA Polymerase 购自宝生物工程(大连)有限公司,质粒提取试剂盒购自 Omega 公司。

1.1.3 药敏试纸片 24 种抗生素药敏纸片购自杭州微生物试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 样品采集和处理

1.2.1.1 样品采集:所有样品于 2014.03—2017.12 采集于重庆市的部分牛、鸡、山羊、猪和兔养殖场。采集的所有样品均置于有冰袋的泡沫箱中,6 h 之内运回实验室进行处理。共采集样品 1 371 份。

1.2.1.2 样品处理:样品经增菌后,将菌液或脓汁划线接种于甘露醇氯化钠平板,37 °C 培养 20 h 后置于 4 °C 3~4 d。每个平板挑取 3~5 个浅黄色、黄色或橙色疑似金黄色葡萄球菌菌落划线于 LB 平板,37 °C 培养 20 h。挑取单个菌落,革兰染色,观察细菌形态。

1.2.2 临床菌株的 PCR 检测

1.2.2.1 引物设计与合成:根据 GenBank 中公布的金黄色葡萄球菌 *nuc* 基因序列,用 Primer Premier 5.0 设计特异性引物 nuc-F:5'-AGGGATGGC-TATCAGTAATGTTTC-3' 和 nuc-R:5'-CAT-CAGCATAAATATACGCTAAGCCAC-3'。引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。

1.2.2.2 分离菌株的 PCR 鉴定:水煮法提取菌液 DNA,随后进行 PCR 扩增。反应体系:2 × Taq Master Mix 10 μ L, nuc-F(10 μ mol · L⁻¹)0.5 μ L, nuc-R(10 μ mol · L⁻¹)0.5 μ L,模板 DNA 0.5 μ L, ddH₂O 8.5 μ L,总反应体系 20 μ L。反应条件:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 20 s,58 °C 退火 20 s,72 °C 延伸 30 s,共 30 个循环;最后 72 °C 延伸 6 min。经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统观察结果。以金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 作为阳性对照。

1.2.3 药物敏感性试验 根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)抗菌药物敏感性试验标准,采用 K-B 纸片法对金黄色葡萄球菌临床分离株进行药物敏感性试验。以金黄色葡萄球菌 ATCC25923 作为质控菌株。

1.2.4 金黄色葡萄球菌 ESBL 基因检测

1.2.4.1 质粒的提取:取 4 mL 菌液,12 000 r · min⁻¹ 室温离心 1 min,弃上清,加入 250 μ L solution I 重悬后加入终质量浓度为 5 μ g · mL⁻¹ 的溶菌素和

10 μg · mL⁻¹ 的溶菌酶,37 ℃ 反应至液体澄清后,按照试剂盒说明书提取质粒。

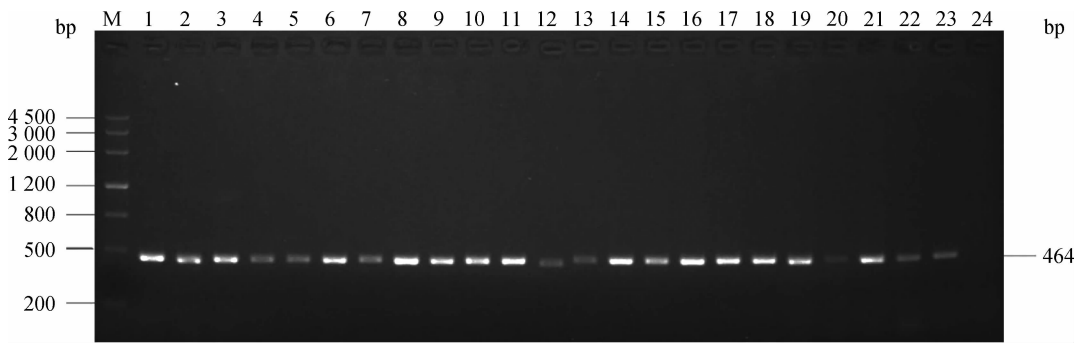
1.2.4.2 ESBL 基因的 PCR 扩增:以提取的质粒为模板,使用 PrimeSTAR® Max DNA Polymerase PCR 扩增 8 个 ESBL 基因,包括 *bla*_{TEM}^[7] F-5'-TC-CGCTCATGAGACAATAACC-3', R-5'-TTGGTCT-GACAGTTACCAATGC-3',退火温度 55 ℃、*bla*_{CTX-M}^[7] F-5'-TCTTCCAGAATAAGGAATCCC-3', R-5'-CCGT-TTCCGCTATTACAAAC-3',退火温度 50 ℃、*bla*_{SHV}^[8] F-5'-TGGTTATGCGTTATATTCGCC-3',R-5'-GGTTA-GCGTTGCCAGTGCT-3',退火温度 61 ℃、*bla*_{OXA-2}^[9] F-5'-AAGAAACGCTACTCGCCTGC-3',R-5'-CCAC-TCAACCCATCCTACCC-3',退火温度 58 ℃、*bla*_{OXA-10}^[10] F-5'-GTCTTTCGAGTACGGCATTA-3', R-5'-ATTTTCTTAGCGGCAACTTAC-3',退火温度 53 ℃、*bla*_{VEB}^[11] F-5'-GATAGGAGTACAGACATA-TG-3', R-5'-TTTATTCAAATAGTAATTCCACG-3',退

火温度 47 ℃、*bla*_{PER}^[12] F-5'-ATGAATGTCATCA-CAAAATG-3',R-5'-TCAATCCGGACTCACT-3',退火温度 49 ℃和 *bla*_{GES}^[13] F-5'-ATGCGCTTCATTACGCAC-3', R-5'-CTATTTGTCCGTGCTCAGG-3',退火温度 55 ℃,引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。扩增的 PCR 产物送北京六合华大基因科技有限公司测序,测序结果经 BLAST 比对后进行基因分型。

2 结 果

2.1 菌株分离

本研究在 1 371 份样品中,通过选择性培养基的培养和增菌,并通过 PCR 鉴定共分离到金黄色葡萄球菌 89 株(图 1),分离率为 6.5%(表 1)。其中在牛、猪、鸡、羊和兔场各分离到 6 株(1.7%)、25 株(7.3%)、32 株(6.7%)、10 株(11.4%)、16 株(15.2%)菌株。兔场的分离率最高,其次为羊场、猪场、鸡场,奶牛场的分离率最低。



M. 相对分子质量标准 marker III;1. ATCC25923;2~23. 临床分离菌株;24. ddH₂O
M. Marker III; 1. ATCC25923; 2-23. Isolates; 24. ddH₂O

图 1 金黄色葡萄球菌特异性 *nuc* 基因的检测
Fig.1 Detection of *S. aureus* specific *nuc* gene

表 1 金黄色葡萄球菌菌株分离鉴定情况

Table 1 Isolation and identification of *S. aureus* strains from different animals

动物 Animal	采样份数 Number of samples	分离菌株数 Number of isolates	分离率/% Isolation rate	样品来源 Source of samples
牛 Dairy cattle	355	6	1.7	牛奶 Milk
猪 Pig	343	25	7.3	鼻拭子 Nose swab
鸡 Chicken	480	32	6.7	肛拭子 Anus swab
山羊 Goat	88	10	11.4	肛拭子 Anus swab
兔 Rabbit	105	16	15.2	鼻拭子 Nose swab
合计 Total	1 371	89	6.5	

2.2 药物敏感性

89 株金黄色葡萄球菌临床分离株对 24 种抗菌药物的敏感性结果见表 2。分离菌株对青霉素类药物耐药最为严重,其次为四环素类、大环内酯类和喹

诺酮类。

从菌株来源来看,猪源和鸡源菌株的耐药情况较羊源、牛源和兔源菌株严重。

表 2 金黄色葡萄球菌临床分离株的药物敏感性
Table 2 Antimicrobial susceptibility of *S. aureus* isolates

抗菌药物	相关指标	猪	鸡	牛	山羊	兔	合计
Antimicrobial agents	Related index	Pig	Chicken	Cattle	Goat	Rabbit	Total
青霉素 G Penicillin G	R/S/I	25/0/0	32/0/0	6/0/0	10/0/0	10/6/0	83/6/0
	耐药率/% DRR	100	100	100	100	63	93
氨苄西林 Ampicillin	R/S/I	25/0/0	31/1/0	6/0/0	10/0/0	10/6/0	82/7/0
	耐药率/% DRR	100	97	100	100	63	92
头孢噻吩 Cephalothin	R/S/I	1/20/4	2/25/5	0/5/1	1/9/0	5/10/1	9/69/11
	耐药率/% DRR	4	6	0	10	31	10
头孢唑啉 Cefazolin	R/S/I	12/10/3	17/10/5	0/2/4	5/4/1	8/8/0	42/34/13
	耐药率/% DRR	48	53	0	50	50	47
头孢西丁 Cefoxitin	R/S/I	9/16/0	11/21/0	0/6/0	0/10/0	5/11/0	25/64/0
	耐药率/% DRR	36	34	0	0	31	28
亚胺培南 Imipenem	R/S/I	5/16/4	3/23/6	1/2/3	0/10/0	5/8/3	14/59/16
	耐药率/% DRR	20	9	17	0	31	16
卡那霉素 Kanamycin	R/S/I	12/9/4	12/13/7	1/2/3	6/2/2	0/16/0	31/42/16
	耐药率/% DRR	48	38	17	60	0	35
庆大霉素 Gentamicin	R/S/I	8/14/3	3/27/2	0/5/1	0/9/1	0/16/0	11/71/7
	耐药率/% DRR	32	9	0	0	0	12
阿米卡星 Amikacin	R/S/I	0/24/1	3/25/4	0/6/0	1/8/1	0/16/0	4/79/6
	耐药率/% DRR	0	9	0	10	0	4
妥布霉素 Tobramycin	R/S/I	11/11/3	10/22/0	1/5/0	5/5/0	0/16/0	27/59/3
	耐药率/% DRR	44	31	17	50	0	30
红霉素 Erythromycin	R/S/I	14/2/9	12/2/18	1/0/5	3/0/7	7/4/5	37/7/45
	耐药率/% DRR	56	38	17	30	44	42
阿奇霉素 Azithromycin	R/S/I	15/8/2	13/9/10	2/4/0	3/4/3	3/12/1	36/37/16
	耐药率/% DRR	60	41	33	30	19	40
克拉霉素 Clarithromycin	R/S/I	12/12/1	14/13/5	2/3/1	2/6/2	5/9/2	35/43/11
	耐药率/% DRR	48	44	33	20	31	39
四环素 Tetracycline	R/S/I	14/4/7	21/6/5	1/1/4	7/0/3	8/7/1	51/18/20
	耐药率/% DRR	56	66	17	70	50	57
多西环素 Doxycycline	R/S/I	15/10/0	19/11/2	1/5/0	5/3/2	0/9/7	40/38/11
	耐药率/% DRR	60	59	17	50	0	45
氯霉素 Chloramphenicol	R/S/I	13/8/4	13/10/9	0/3/3	2/4/4	0/15/1	28/40/21
	耐药率/% DRR	52	41	0	20	0	31
克林霉素 Clindamycin	R/S/I	15/0/10	13/1/18	1/1/4	0/0/10	5/9/2	34/11/44
	耐药率/% DRR	60	41	17	0	31	38
诺氟沙星 Norfloxacin	R/S/I	13/12/0	10/21/1	1/4/1	0/8/2	0/16/0	24/61/4
	耐药率/% DRR	52	31	17	0	0	27

(续表 2 Continued)

抗菌药物	相关指标	猪	鸡	牛	山羊	兔	合计
Antimicrobial agents	Related index	Pig	Chicken	Cattle	Goat	Rabbit	Total
环丙沙星 Ciprofloxacin	R/S/I	12/11/2	11/12/9	1/4/1	2/4/4	0/16/0	26/47/16
	耐药率/% DRR	48	34	17	20	0	29
恩诺沙星 Enrofloxacin	R/S/I	13/12/0	11/10/11	0/3/3	0/6/4	0/14/2	24/45/20
	耐药率/% DRR	52	34	0	0	0	27
氧氟沙星 Ofloxacin	R/S/I	4/15/6	3/22/7	0/6/0	1/8/1	0/16/0	8/67/14
	耐药率/% DRR	16	9	0	10	0	9
依诺沙星 Enoxacin	R/S/I	12/12/1	10/21/1	1/5/0	0/10/0	0/16/0	23/64/2
	耐药率/% DRR	48	31	17	0	0	26
复方新诺明	R/S/I	11/13/1	4/25/3	1/5/0	0/8/2	2/14/0	18/65/6
Trimethprim-sulfamethoxazole	耐药率/% DRR	44	13	17	0	13	20
甲氧苄啶 Trimethprim	R/S/I	13/11/1	7/22/3	1/5/0	1/9/0	3/13/0	25/60/4
	耐药率/% DRR	52	22	17	10	19	28

R/S/I. 耐药/敏感/中介
R/S/I. Resistant/Sensitive/Intermediate; DRR. Drug-resistant rate

由图 2 可见,不同动物来源菌株和同一动物来源不同菌株对所测定药物的耐药数量不同。最高的 1 株猪源菌株耐 21 种药物,最低的 2 株兔源菌株耐 1 种药物,耐 15 种及以上药物的菌株有 15 株,占总菌株数的 16.8%。猪源菌株中耐 16 种及以上药物的有 12 株,占猪源菌株数的 48%。鸡源菌株的耐药数为 2~18 种不等;牛源菌株有 5 株耐 5 种及以下药物,1 株菌耐 11 种药物;羊源菌株的耐药数为

2~10 种不等;兔源菌株耐药数为 2~9 种不等。

2.3 ESBL 基因检测及分型

通过对 *bla*_{TEM}、*bla*_{CTX-M}、*bla*_{SHV}、*bla*_{OXA-2}、*bla*_{OXA-10}、*bla*_{VEB}、*bla*_{PER} 和 *bla*_{GES} 8 个 ESBL 基因的 PCR 检测发现,只有 *bla*_{TEM} 基因能被扩增出来(图 3),该基因存在于 86 株临床分离菌株,占有所有分离菌株的 96.6%。通过 BLAST 序列比对分析,所有 86 个 *bla*_{TEM} 基因均为 TEM-1a 基因型。

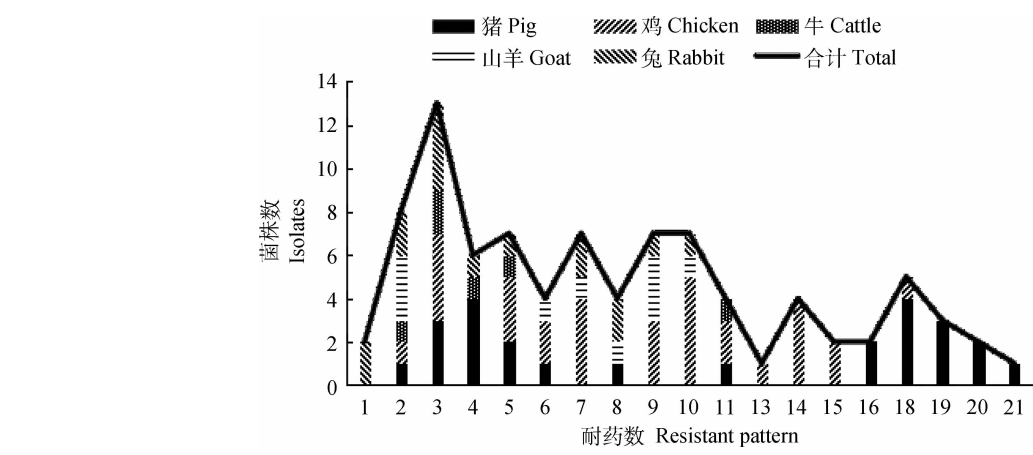
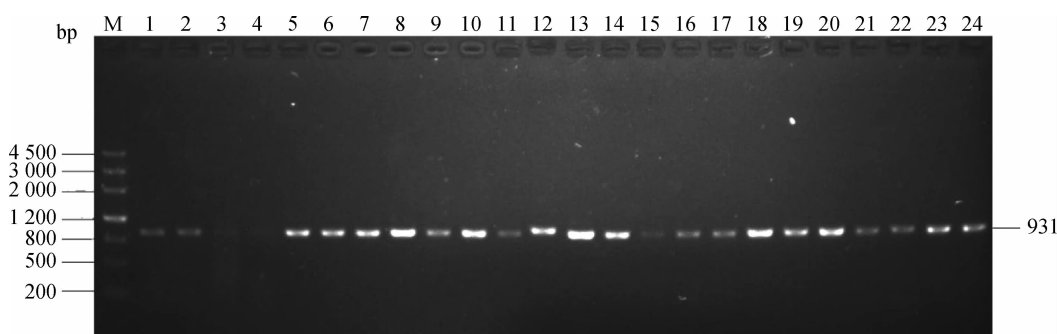


图 2 金黄色葡萄球菌临床分离株的多重耐药情况
Fig. 2 The number of multidrug-resistance *S. aureus* isolates

3 讨论

金黄色葡萄球菌是自然界、人和动物的体表、消化道、呼吸道广泛存在的细菌,当机体抵抗力降低、

环境条件恶劣、体表或外科手术创面暴露时,金黄色葡萄球菌可乘机感染这些部位。由于金黄色葡萄球菌可能造成广泛的感染,在人和兽医临床上通常使用抗菌药物来预防和治疗金黄色葡萄球菌感染,这



M. 相对质量标准 marker III; 1~24. 临床分离菌株

M. Marker III; 1-24. Clinical isolates

图3 bla_{TEM} 基因 PCR 扩增

Fig. 3 Amplification of bla_{TEM} gene by PCR

也造成了金黄色葡萄球菌对抗菌药物的广泛耐药, 如对 β -内酰胺类、氨基糖苷类、大环内酯类、四环素类等耐药, 特别是 MRSA 菌株在人源和动物源性菌株的广泛存在^[14-15], 除此之外, 在一些国家还分离到了动物源性耐万古霉素金黄色葡萄球菌^[16]。

在中国, 金黄色葡萄球菌特别是 MRSA 不仅成为医院和社区感染的重要病原菌, 也是造成畜牧业重大经济损失的重要病原之一, 耐药金黄色葡萄球菌通过食物链向人的传播成为严重的公共卫生问题。关于动物源性金黄色葡萄球菌耐药的报道呈逐年上升趋势, 但对重庆市金黄色葡萄球菌的耐药情况还知之甚少。本研究在重庆市部分养殖场随机采样分离到了 89 株金黄色葡萄球菌, 这些菌株分离自牛、猪、鸡、山羊和兔。牛源菌株的分离率较低, 这可能是由于金黄色葡萄球菌不是引起重庆地区奶牛乳房炎的主要病原, 因为本研究采集的牛奶超过三分之一存在乳房炎。

从耐药情况来看, 分离菌株对青霉素类药物严重耐药, 对四环素类药物耐药也较为严重, 对大环内酯类、氨基糖苷类、酰胺醇类、林可胺类、喹诺酮类、磺胺类药物也存在不同程度的耐药, 这可能与养殖场在饲料和饮水中添加此类药物作为日常预防用药有关, 也与部分养殖场经常使用抗生素有关。山羊和家兔养殖中一般不在饲料和饮水中添加预防性抗菌药物, 这可能是羊源和兔源菌株的耐药率远远低于其他来源菌株的重要原因。

本研究分离的多重耐药菌株极为常见, 特别是猪源多重耐药菌株, 这与在养猪生产中抗菌药物的使用最为频繁有关。羊源和兔源菌株多重耐药情况较轻微, 在养羊及养兔生产中, 由于其细菌性疾病的

发病率一般低于猪、牛和鸡, 因此一般很少在饲料和饮水中添加抗菌药物, 用于治疗频率也低于上述两种动物, 因此羊源和兔源菌株的多重耐药情况远远低于猪源和鸡源菌株。

本研究分离的菌株对青霉素类和头孢菌素类药物广泛耐药, 说明这些菌株可能为产 ESBLs 金黄色葡萄球菌。目前 CSLI 没有金黄色葡萄球菌 ESBLs 筛选和确证试验标准, 故未进行金黄色葡萄球菌 ESBLs 表型筛选和确证。但这些菌株可能携带 ESBL 基因, 故检测了 8 个大类的 ESBL 基因。检测的 ESBL 基因经 BLAST 序列比对, 均为 bla_{TEM-1a} 基因, 说明在重庆市分离的动物源性金黄色葡萄球菌中 bla_{TEM-1a} 基因型流行比较广泛。在今后的研究中, 还要加强对重庆地区金黄色葡萄球菌人源菌株和其他地区菌株中 ESBL 基因的检测, 以明确金黄色葡萄球菌主要携带的 ESBL 基因的基因型。

4 结 论

通过对重庆不同畜禽养殖场金黄色葡萄球菌的分离鉴定及药物敏感性试验, 初步分析重庆市不同动物来源的金黄色葡萄球菌的耐药规律, 对临床用药具有一定的指导意义。同时通过对金黄色葡萄球菌中 ESBL 基因的检测, 发现了 ESBLs 在金黄色葡萄球菌中的流行, 且广泛存在 bla_{TEM-1a} 基因型。

参考文献 (References):

- [1] SATO O Y, OMOE K, NAITO I, et al. Molecular epidemiology and identification of a *Staphylococcus aureus* clone causing food poisoning outbreaks in Japan[J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(7):2637-2640.

- [2] ERIKSEN K R. “Celbenin”-resistant staphylococci [J]. *Ugeskr Laeger*, 1961, 123:384-386.
- [3] SEINIGE D, VON ALTROCK A, KEHRENBURG C. Genetic diversity and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from wild boars [J]. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2017, 54: 7-12.
- [4] VELLAPPALLY S, DIVAKAR D D, AI KHERAIF A A, et al. Occurrence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the oral cavity of patients with dental caries [J]. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2017, 64(3):343-351.
- [5] ASSIS L M, NEDELJKOVIĆ M, DESSEN A. New strategies for targeting and treatment of multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Drug Resist Updat*, 2017, 31:1-14.
- [6] GHAFOURIAN S, SADEGHIFARD N, SOHEILI S, et al. Extended spectrum beta-lactamases: definition, classification and epidemiology [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2015, 17:11-21.
- [7] STÜRENBURG E, KÜHN A, MACK D, et al. A novel extended-spectrum β -lactamase CTX-M-23 with a P167T substitution in the active-site omega loop associated with ceftazidime resistance [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 54(2):406-409.
- [8] PAI H, LYU S, LEE J H, et al. Survey of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: prevalence of TEM-52 in Korea [J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37(6): 1758-1763.
- [9] YAN J J, TSAI S H, CHUANG C L, et al. OXA-type beta-lactamases among extended-spectrum cephalosporin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a university hospital in southern Taiwan [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2006, 39(2):130-134.
- [10] BERT F, BRANGER C, LAMBERT-ZECHOVSKY N. Identification of PSE and OXA β -lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* using PCR - restriction fragment length polymorphism [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2002, 50(1):11-18.
- [11] PASTERÁN F, RAPOPORT M, PETRONI A, et al. Emergence of PER-2 and VEB-1a in *Acinetobacter baumannii* strains in the Americas [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(9):3222-3224.
- [12] CELENZA G, PELLEGRINI C, CACCAMO M, et al. Spread of *bla*_{CTX-M-type} and *bla*_{PER-2} β -lactamase genes in clinical isolates from Bolivian hospitals [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 57(5):975-978.
- [13] VOURLI S, GIAKKOUPIS P, MIRIAGOU V, et al. Novel GES/IBC extended-spectrum β -lactamase variants with carbapenemase activity in clinical enterobacteria [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2004, 234(2): 209-213.
- [14] LI J, JIANG N S, KE Y B, et al. Characterization of pig-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Vet Microbiol*, 2017, 201:183-187.
- [15] 宋敏艳, 韦艺媛, Muhammad Zahoor Khan, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌诱导牛乳腺上皮细胞炎症反应的分子标志物研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(10): 1995-2002.
- SONG M Y, WEI Y Y, KHAN M Z, et al. Molecular marker study of inflammatory reaction in bovine mammary epithelium cell line induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2016, 47(10): 1995-2002. (in Chinese)
- [16] BHATTACHARYA D, BANERJEE J, BANDYOPADHYAY S, et al. First report on vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in bovine and caprine milk [J]. *Microb Drug Resist*, 2016, 22(8):675-681.

(编辑 白永平)