

张萍, 王静悦, 刘海侠, 等. 鸡源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药性分析和耐药基因检测 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (5): 44-50.

ZHANG P, WANG J Y, LIU H X, et al. Detection of drug resistance and resistance genes of *Escherichia coli* isolated from chickens to  $\beta$ -lactam antibiotics [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (5): 44-50.

## 鸡源大肠杆菌对 $\beta$ -内酰胺类药物的耐药性分析和耐药基因检测

张萍<sup>1</sup>, 王静悦<sup>1</sup>, 刘海侠<sup>2</sup>, 徐孝宙<sup>2</sup>, 陈晓庆<sup>1</sup>, 方光远<sup>1</sup>, 薛媚<sup>1</sup>, 罗万和<sup>3</sup>, 高修歌<sup>4\*</sup>

(1. 金陵科技学院动物科学与食品工程学院, 江苏 南京 211169;

2. 江苏农林职业技术学院, 江苏 句容 212400;

3. 塔里木大学动物科学与技术学院, 新疆 阿拉尔市 843300;

4. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 为研究江苏部分地区鸡源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物的耐药情况和耐药基因, 分析其耐药表型与耐药基因的相关性, 以 K-B 纸片扩散法对分离的 20 株鸡源大肠杆菌进行 11 种  $\beta$ -内酰胺类药物的敏感性分析, PCR 法检测 *bla*<sub>CTX-M-1</sub>、*bla*<sub>CTX-M-2</sub>、*bla*<sub>CTX-M-8</sub>、*bla*<sub>CTX-M-9</sub>、*bla*<sub>TEM</sub> 与 *bla*<sub>SHV</sub> 等 6 种耐药基因携带情况。结果显示: 20 株鸡源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药率较高, 其中苯唑西林为 100%、氨苄西林为 75%、头孢呋辛为 70%, 对头孢哌酮、头孢曲松的耐药率最低, 均为 30%, 且分离菌株表现为多重耐药; 共检出 3 种耐药基因, *bla*<sub>CTX-M-1</sub>、*bla*<sub>TEM</sub>、*bla*<sub>SHV</sub>, 检出率分别为 85%、30%、30%, 7 株分离菌同时携带 2 种及以上耐药基因, 占比 35% (7/20); 11 种  $\beta$ -内酰胺类药物与 *bla*<sub>CTX-M-1</sub> 基因的符合率较高, 均达 85% 以上, 与 *bla*<sub>SHV</sub> 基因的符合率相对低些, 均在 40% 以下, 且耐药表型与耐药基因型并不完全吻合。提示: 江苏部分地区鸡源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药问题比较严重, 应加强当地鸡源大肠杆菌的耐药性监测, 从而选择合适的药物防治鸡大肠杆菌病。

**关键词:** 大肠杆菌; 耐药性;  $\beta$ -内酰胺类; 耐药基因

中图分类号: S852.61

文献标志码: A

文章编号: 0529-5130(2024)05-0044-07

## Detection of drug resistance and resistance genes of *Escherichia coli* isolated from chickens to $\beta$ -lactam antibiotics

ZHANG Ping<sup>1</sup>, WANG Jingyue<sup>1</sup>, LIU Haixia<sup>2</sup>, XU Xiaozhou<sup>2</sup>, CHEN Xiaoqing<sup>1</sup>, FANG Guangyuan<sup>1</sup>,

XUE Mei<sup>1</sup>, LUO Wanhe<sup>3</sup>, GAO Xiuge<sup>4\*</sup>

(1. College of Animal Science and Food Engineering, Jinling Institute of Technology, Nanjing 211169, China;

2. Jiangsu Polytechnic College of Agricultural and Forestry, Jurong 212400, China;

3. College of Animal Science and Technology, Tarim University, Alar 843300, China;

4. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** To detect the drug resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens in some areas of Jiangsu Province, K-B disk diffusion method was used to test the drug sensitivity of 20 *E. coli* strains isolated from chickens to 11  $\beta$ -lactam antibiotics. Furthermore, six resistance genes to  $\beta$ -lactam antibiotics, including *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, *bla*<sub>CTX-M-2</sub>, *bla*<sub>CTX-M-8</sub>, *bla*<sub>CTX-M-9</sub>, *bla*<sub>TEM</sub> and *bla*<sub>SHV</sub>, were detected by PCR to analyze the correlation between the resistance phenotypes and resistance genes. The results showed that 20 strains of *E. coli* exhibited a high resistance rate to  $\beta$ -lactams, of which benzoxacillin was 100%, ampicillin was 75%, cefuroxime was 70%; and the resistance rate to cefoperazone and ceftriaxone was the lowest, which was 30%. These isolates showed multi-drug resistance. Three resistance genes were detected, *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, and *bla*<sub>SHV</sub>, with the detection rates of 85%, 30%, and 30%, respectively. Seven isolated strains carried 2 or more resistance genes, accounting for 35% of the whole (7/20). The 11  $\beta$ -lactam antibiotics showed a high rate of concordance with *bla*<sub>CTX-M-1</sub> at 85% and above, and a relatively low rate of concordance with the *bla*<sub>SHV</sub>, below 40%; but the resistance phenotype and resistance genes did not match exactly. The present study suggested that the drug resistance of *E. coli* to  $\beta$ -lactams was a serious problem in some areas of Jiangsu Province, and surveillance of local drug-resistant bacteria should be strengthened so that appropriate drugs could be selected for the control

收稿日期: 2023-10-23; 修回日期: 2024-03-12

基金项目: 江苏省大学生创新训练计划项目 (202313573101Y); 中央高校基本科研业务费 (KYLH2023003)

第一作者: 张萍, 女, 博士, 副教授

\* 通信作者: 高修歌, 副研究员, 主要从事兽医药理学与毒理学教学科研工作, E-mail: vetgao@njau.edu.cn.

of *E. coli* diseases in chickens there.

**Keywords:** *Escherichia coli*; drug resistance;  $\beta$ -lactam; resistance genes

鸡大肠杆菌病是一种以大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 感染所引起的急、慢性细菌传染病<sup>[1]</sup>, 该病在养鸡场较为常见, 各种日龄的鸡均可感染, 临床症状主要有急性败血症、腹膜炎、心包炎、气囊炎、输卵管炎、关节炎、眼炎等<sup>[2]</sup>, 且会继发或并发于其他病原体所致的疾病, 发病率为 30%~60%<sup>[3]</sup>, 给养鸡业造成了很大的经济损失<sup>[4]</sup>。

大肠杆菌血清型众多且复杂, 不同血清型之间的交叉保护作用有限<sup>[5]</sup>, 因此使用抗菌药物依然是目前预防与治疗鸡大肠杆菌病的主要措施。随着抗菌药物长期、广泛的应用, 尤其是抗菌药物的不规范使用, 使鸡源大肠杆菌的耐药速度加快, 耐药率逐年上升, 尤其是多重耐药菌株和超级耐药菌株的出现, 加大了临床大肠杆菌病的防控难度。同时大肠杆菌可以作为耐药基因的储藏库, 通过多种方式将其携带的耐药基因进行传播, 严重威胁人类健康<sup>[6]</sup>。

$\beta$ -内酰胺类药物是兽医临床常用的一类抗菌药物, 也是目前世界上使用最为广泛的药物<sup>[3]</sup>。然而由于药物滥用和选择压力, 大肠杆菌对该类药物已出现严重的耐药性, 且多重耐药菌株的数量也在逐年增多<sup>[7-8]</sup>。佟盼盼<sup>[9]</sup>研究发现, 江苏、吉林、辽宁等地区分离的鸡源大肠杆菌对氨苄青霉素和哌拉西林耐药率为 100%, 对头孢噻肟耐药率超过 95%, 且多重耐药现象严重, 多重耐药菌株占总分离菌株的 97%。徐亚亚等<sup>[10]</sup>研究发现, 江苏南通、泰州、扬州等地区禽致病性大肠杆菌分离株对 13 种抗菌药物的耐药率均超过了 50%, 其中对氨苄西林、头孢氨苄的耐药率均超过了 80%。因此, 有必要继续对江苏等地区鸡源大肠杆菌的耐药性进行监测, 为兽医临床合理用药提供数据支撑。

大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物产生耐药性的原因多种, 其中产  $\beta$ -内酰胺酶 (BLA) 是大肠杆菌对该类药物耐药的主要机制<sup>[11]</sup>, 该酶是细菌在药物选择压力下, 由细菌染色体或质粒编码表达合成的生物酶, 通过水解  $\beta$ -内酰胺环使得  $\beta$ -内酰胺类药物失去抗菌活性<sup>[2]</sup>。 $\beta$ -内酰胺酶的作用范围十分广泛, 又称超广谱  $\beta$ -内酰胺酶 (ESBLs), 由质粒介导的 ESBLs 基因亚型种类较多, 以头孢噻肟酶 (CTX-M)、替莫尼拉酶 (TEM)、巯基可变  $\beta$ -内酰胺酶 (SHV) 等型较为常见<sup>[12-13]</sup>。编码 CTX-M 型 ESBLs 的基因均由质粒介导, 也是目前世界上流行最广的 ESBLs, 根据氨基酸同源性, 可分为 CTX-M-1、CTX-M-2、CTX-M-8、CTX-M-9、CTX-M-25、

KLUC 等 6 个亚群<sup>[14]</sup>, 并在不同国家地区均有不同程度的流行。TEM 型 ESBLs 主要由质粒介导, 在大肠杆菌中的检出率较高, TEM 亚型种类较多, 对底物的水解能力存在差异, 使其耐药表型各不相同<sup>[2]</sup>。SHV 型 ESBLs 常见于肺炎克雷伯菌, 呈世界性流行, 近些年研究发现, SHV 型 ESBLs 也存在于大肠杆菌中, 其中 SHV-2、SHV-5、SHV-9 等亚型较为流行<sup>[15]</sup>。

本研究对江苏南京、南通和句容等地区的鸡源大肠杆菌进行分离鉴定, 监测鸡源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药情况, 检测 *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> 等耐药基因携带情况, 分析耐药表型与耐药基因的关系, 为江苏部分地区鸡源大肠杆菌的耐药性现状及鸡源大肠杆菌病的临床合理用药提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株来源

本实验室于 2022 年 10 月至 2023 年 5 月, 采集江苏南京、南通、句容等地区养鸡场疑似大肠杆菌感染病鸡样本, 分离并鉴定鸡源大肠杆菌 20 株, 见表 1; 质控菌株 (大肠杆菌参考菌株 ATCC 25922), 购自上海鲁微科技有限公司。

表 1 菌株来源

采集地	菌株名称	菌株数量
南京	NJF、NJF01、NJS01、NJS02、NJS03、NJS04	6
句容	JRB01、JRB03、JRB04、JRB05、JRB06、JRB07、JRB08、JRB09、JRB10、JRB11	10
南通	NTB01、NTB02、NTB03、NTB04	4

### 1.2 主要试剂和培养基

LB 培养基、麦康凯琼脂、伊红美蓝琼脂购于青岛海博生物技术有限公司, ddH<sub>2</sub>O、DL2000 DNA Marker 购于天根生化科技 (北京) 有限公司, 2 × Rapid Taq Master Mix 购于南京诺唯赞生物科技股份有限公司, 10 × Tris-硼酸-EDTA (TBE) 缓冲液、Goldview 购于北京索莱宝科技有限公司, 药敏试纸片购于杭州滨和微生物试剂有限公司等。

### 1.3 细菌的分离纯化及 PCR 鉴定

将病原标本无菌划线, 接种至麦康凯培养基上, 37 °C 恒温培养 16~24 h, 分离出单一的红色菌落, 挑取单个红色菌落接种于伊红美蓝培养基上, 37 °C 恒温培养 16~24 h, 分离出有金属光泽的疑似大肠杆

菌单菌落,挑取培养基上纯化的单个菌落,进行革兰染色,并接种至 LB 培养基上,置于摇床,130 r/min,37 ℃ 恒温培养 6 h。以 37 ℃ 培养 6 h 新鲜菌液为模板,参考文献 [5],合成鉴定大肠杆菌特异性基因 *phoA* 引物,对疑似大肠杆菌菌株进行 PCR 检测,引物序列如下:*phoA*-F: 5'-GGCAATACACTCACTATGCGCTG-3',*phoA*-R: 5'-AGGATTCGCAGCATGATCCTG-3',产物大小为 761 bp。PCR 反应体系:2 × Rapid *Taq* Master Mix 12.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 8.5 μL,上游引物 1 μL,下游引物 1 μL,模板 DNA 2 μL,总共 25 μL。PCR 扩增条件:94 ℃ 预变性 10 min;94 ℃ 变性 30 s,50 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸

40 s,35 个循环;72 ℃ 总延伸 10 min,4 ℃ 保存。反应结束后,取 4 μL PCR 扩增产物置于 1% 琼脂糖凝胶上,进行电泳分析。

#### 1.4 药敏试验

根据美国临床实验室标准协会 (CLSI) 制定的抗生素药敏试验标准,K-B 纸片扩散法检测 20 株大肠杆菌对 11 种 β-内酰胺类药物的敏感性。

#### 1.5 耐药基因检测

##### 1.5.1 引物设计与合成

参考文献 [3, 7, 12],由通用生物系统有限公司 (安徽) 合成 6 种 β-内酰胺类耐药基因引物,引物的序列及片段大小见表 2。

表 2 耐药基因引物序列及片段大小

目的基因	引物名称	引物序列 (5'→3')	片段大小/bp	参考文献	GenBank 号
<i>bla<sub>SHV</sub></i>	<i>bla<sub>SHV</sub></i> -F	GGTTATGCGTTATATTCGCCTGTG	861	[3]	MK948008.1
	<i>bla<sub>SHV</sub></i> -R	TTAGCGTTGCCAGTGCCTCGATCA			
<i>bla<sub>TEM</sub></i>	<i>bla<sub>TEM</sub></i> -F	ATAAAATTCCTTGAAGACGAAA	1 083	[7]	KT867019.1
	<i>bla<sub>TEM</sub></i> -R	GACAGTTACCAATGCTTAATC			
<i>bla<sub>CTX-M-1</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-1</sub></i> -F	CGCTTTGGGATGTGCAG	551	[12]	DQ663489.1
	<i>bla<sub>CTX-M-1</sub></i> -R	ACCGGATATCGTGTGGT			
<i>bla<sub>CTX-M-2</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-2</sub></i> -F	GCGAGAGCGATAAGCA	636	[12]	MW393849.1
	<i>bla<sub>CTX-M-2</sub></i> -R	GATACCTCGCTCCATTTATTG			
<i>bla<sub>CTX-M-8</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-8</sub></i> -F	TGAATACTTCAGCCACACG	922	[12]	AB543595.1
	<i>bla<sub>CTX-M-8</sub></i> -R	TAGAATTAATAACCGTCGGT			
<i>bla<sub>CTX-M-9</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-9</sub></i> -F	ATGGTGACAAAGAGAGAGTGCA	868	[12]	HM569735.1
	<i>bla<sub>CTX-M-9</sub></i> -R	CCCTTCGGCGATGATTCT			

##### 1.5.2 PCR 扩增

取分离得到的细菌单菌落置于 LB 培养基中,摇床培养 6~8 h,将其作为后续检测模板。反应体系为 25 μL,包括 2 × Rapid *Taq* Master Mix 12.5 μL,上下游引物各 1 μL,DNA 模板 1 μL,ddH<sub>2</sub>O 9.5 μL。反应条件为:95 ℃ 预变性 3 min;95 ℃ 变性 15 s,53 ℃ 退火 15 s,72 ℃ 延伸 30 s,共 35 个循环;72 ℃ 终末延伸 5 min。反应结束后,取 4 μL PCR 扩增产物置于 1% 琼脂糖凝胶上进行分析,紫外检测仪上拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 细菌的分离及 PCR 鉴定

分离菌株在麦康凯培养基上生长呈现边缘整齐的圆形、表面光滑、粉红色或红色的菌落;在伊红美蓝平板上的特征为深紫黑色、光滑且带有金属光泽的圆

形菌落;革兰染色镜检呈红色短杆状,两端呈钝圆形,多是单一或两个存在,未观察到芽胞,属于革兰阴性杆菌,符合大肠杆菌的形态特征,见图 1。分离菌株经 *phoA* 扩增,得到与预期大小一致的片段,见图 2。通过麦康凯培养基、伊红美蓝培养基分离培养,PCR 鉴定,确定 20 株分离菌株为大肠杆菌。

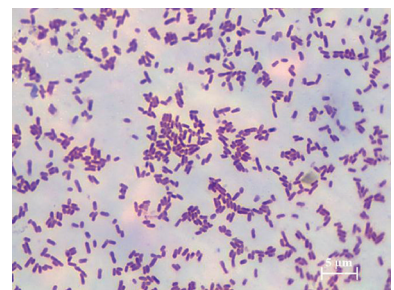


图 1 大肠杆菌革兰染色镜检 (1 000×)

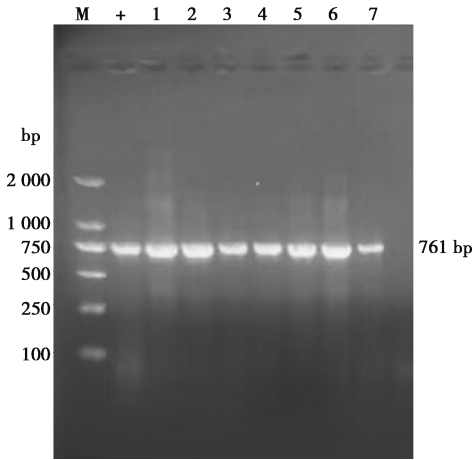


图2 部分菌株 *phoA* 的 PCR 扩增产物电泳  
M. DL2000 Marker; +. 大肠杆菌参考株; 1~7. 部分大肠杆菌分离株 (JRB01、JRB03、JRB04、JRB05、JRB06、JRB07、JRB08)。

图2 部分菌株 *phoA* 的 PCR 扩增产物电泳

### 2.2 药敏试验

20株大肠杆菌分离株对β-内酰胺类药物的敏感性测定结果见表3。结果显示，大肠杆菌对青霉素类药物的耐药率最高，如对苯唑西林耐药率为100%，氨苄西林为75%；对第一代头孢类药物如头孢噻吩、头孢唑林的耐药率分别为55%、50%；对第二代头孢类药物头孢呋辛耐药率较高，为70%，头孢西丁为50%；对第三代头孢类药物头孢他啶、头孢曲松、头孢哌酮、头孢噻肟的耐药率较低，在30%~40%之间；对第四代头孢类药物头孢吡肟耐药率也比较高，为60%。同时，分离株还存在多重耐药现象，多重耐药菌占比80%（16/20），其中有5株大肠杆菌对3~6种受试药物表现耐药，占比25%；有7株大肠杆菌对7~9种受试药物表现耐药，占比35%；有4株大肠杆菌对10种以上受试药物表现出耐药性，占比20%，表明20株大肠杆菌分离株对β-内酰胺类药物具有较明显的耐药性。

### 2.3 耐药基因 PCR 扩增

β-内酰胺类耐药基因检测结果见图3、表4。20株大肠杆菌分离株中共检出3种耐药基因，即 *bla<sub>CTX-M-1</sub>*、*bla<sub>TEM</sub>* 和 *bla<sub>SHV</sub>*，检出率分别为85%（17/20）、30%（6/20）和30%（6/20），未检测出 *bla<sub>CTX-M-2</sub>*、*bla<sub>CTX-M-8</sub>*、*bla<sub>CTX-M-9</sub>*型；同时携带2种及以上耐药基因的有7株，其中6株大肠杆菌含有 *bla<sub>TEM</sub>*+*bla<sub>CTX-M-1</sub>*，检出率30%；1株大肠杆菌含有 *bla<sub>SHV</sub>*+*bla<sub>CTX-M-1</sub>*，检出率5%；2株大肠杆菌含有 *bla<sub>TEM</sub>*+*bla<sub>SHV</sub>*+*bla<sub>CTX-M-1</sub>*，检出率为10%。

表3 大肠杆菌对β-内酰胺类药物的敏感性

药物种类	抗菌药物	耐药率	中介率	敏感率
青霉素类	氨苄西林	75	0	25
	苯唑西林	100	0	0
第一代头孢类	头孢噻吩	55	20	25
	头孢唑林	50	0	50
第二代头孢类	头孢西丁	55	10	35
	头孢呋辛	70	0	30
	头孢他啶	40	5	55
第三代头孢类	头孢哌酮	30	30	40
	头孢曲松	30	25	45
	头孢噻肟	40	25	35
第四代头孢类	头孢吡肟	60	5	35

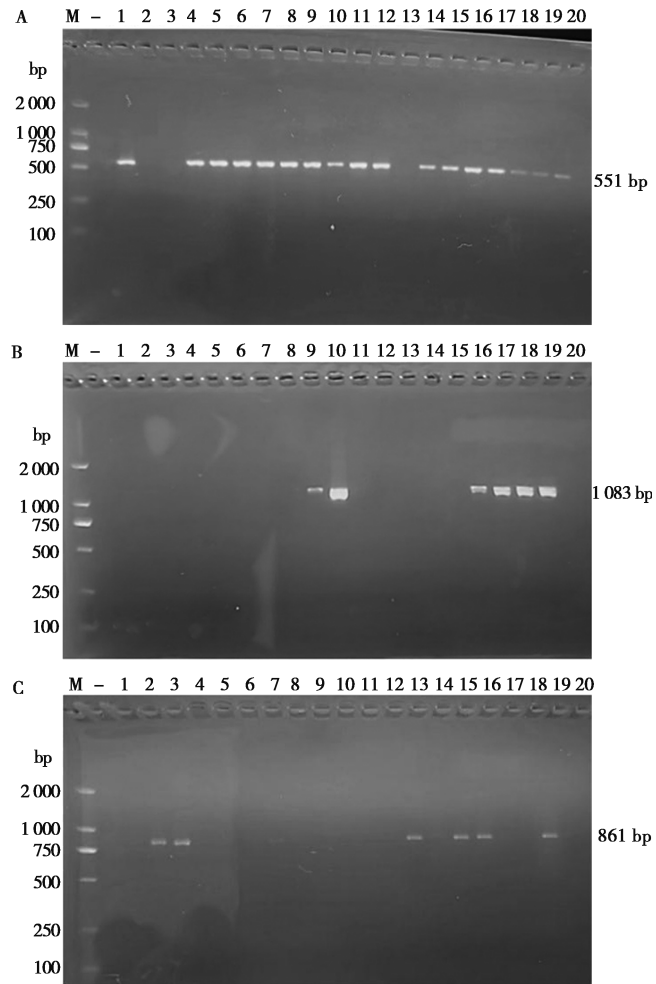


图3 大肠杆菌分离株耐药基因的 PCR 扩增产物电泳  
M. DL2000 Marker; -. 阴性对照; 1~20. 大肠杆菌分离株 (NJF、NJF01、NJS01、NJS02、NJS03、NJS04、NTB01、NTB02、NTB03、NTB04、JRB01、JRB03、JRB04、JRB05、JRB06、JRB07、JRB08、JRB09、JRB10、JRB11)。

A. *bla<sub>CTX-M-1</sub>*; B. *bla<sub>TEM</sub>*; C. *bla<sub>SHV</sub>*。

图3 大肠杆菌分离株耐药基因的 PCR 扩增产物电泳

表 4 20 株大肠杆菌分离株耐药基因检出率

耐药基因携带情况		菌株数	检出率/%
单耐药基因	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	6	30
	<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	6	30
	<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	17	85
	<i>bla</i> <sub>CTX-M-2</sub>	0	0
	<i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub>	0	0
	<i>bla</i> <sub>CTX-M-9</sub>	0	0
双耐药基因	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	6	30
	<i>bla</i> <sub>SHV</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	1	5
三耐药基因	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	2	10

## 2.4 耐药基因型与耐药表型的比较分析

20 株鸡源大肠杆菌临床分离株对 11 种  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药基因型与耐药表型比较分析结果见表 5。结果表明, 头孢类药物与 *bla*<sub>CTX-M-1</sub> 基因的符合率高, 均达 90% 及以上, 其中头孢他啶、头孢哌酮、头孢曲松、头孢噻肟与 *bla*<sub>CTX-M-1</sub> 基因的符合率最高, 均为 100%, 青霉素类药物中氨苄西林与 *bla*<sub>CTX-M-1</sub> 基因的符合率也超过 90%。头孢他啶、头孢哌酮、头孢吡肟与 *bla*<sub>TEM</sub> 基因的符合率较高, 均在 50% 及以上; 其次为氨苄西林、头孢噻吩, 与 *bla*<sub>TEM</sub> 基因的符合率在 40% 及以上。11 种药物与 *bla*<sub>SHV</sub> 基因的符合率相对较低, 均在 40% 及以下, 尤其是头孢噻肟与 *bla*<sub>SHV</sub> 基因的符合率最低, 仅为 12.50%, 其次是头孢哌酮, 为 16.67%。

## 3 讨论

近些年国内鸡源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药情况比较严重, 且耐药水平和耐药速度已呈高速发展的态势。艾伟昌等<sup>[16]</sup>从河南省 4 个地区养鸡场分离鉴定出的大肠杆菌, 对氨苄西林的耐药率为 87%, 对头孢噻吩的耐药率为 54%, 而对头孢他啶的敏感性较好, 敏感率为 89%。张济培等<sup>[7]</sup>研究发现, 广东地区分离的水禽源大肠杆菌对氨苄西林的耐药率超过 80%, 对头孢他啶、头孢噻吩的耐药率超过 40%。张立伟等<sup>[8]</sup>从河北地区分离鉴定出的鸡源大肠杆菌对内酰胺类药物耐药较为严重, 其中对氨苄西林的耐药率最高, 为 95%; 对头孢噻吩、头孢曲松、头孢噻肟、头孢吡肟的耐药率均超过了 70%; 对头孢吡肟耐药率最低, 为 12.5%。本试验耐药表型检测结果显示, 江苏部分地区分离的 20 株鸡源大肠杆菌对青霉素类药物的耐药性最为严重, 且存在多重耐药现象, 与上述研究结果基本一致, 表明大肠杆菌对部分  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药性不仅表现在江苏部分地区, 在全国范围都是比较严重; 对部分药物的耐药

性菌株之间存在一定的差异, 可能与大肠杆菌不同来源、不同时间的流行菌株存在差异性有关<sup>[17]</sup>。严重的耐药性给临床治疗鸡大肠杆菌病带来困难, 应加强临床细菌耐药性监测, 掌握耐药动态和发展趋势, 分析耐药性发展与抗菌药物使用之间的关系, 并根据药敏试验结果选择合适的抗菌药物, 以遏制鸡源大肠杆菌耐药性的传播。

表 5 大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物耐药基因型与耐药表型符合率

抗菌药物	耐药菌株数	耐药基因	P+/G+ *	耐药基因型与耐药表型符合率/%
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	14	93.33
氨苄西林	15	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	6	40.00
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	4	26.67
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	17	85.00
苯唑西林	20	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	6	30.00
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	6	30.00
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	10	90.91
头孢噻吩	11	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	5	45.45
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	4	36.36
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	9	90.00
头孢唑林	10	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	3	30.00
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	4	40.00
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	10	90.91
头孢西丁	11	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	4	36.36
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	3	27.27
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	13	92.86
头孢呋辛	14	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	4	28.57
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	4	28.57
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	9	100.00
头孢他啶	9	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	4	55.56
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	2	22.22
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	6	100.00
头孢哌酮	6	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	2	66.67
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	1	16.67
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	6	100.00
头孢曲松	6	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	2	33.33
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	2	33.33
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	8	100.00
头孢噻肟	8	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	3	37.50
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	1	12.50
		<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	11	91.67
头孢吡肟	12	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	4	50.00
		<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	4	33.33

注: P+/G+\*, 耐药且携带耐药基因菌株数。

大肠杆菌耐药性的产生,一方面与抗菌药物的不合理使用有关,另一方面与大肠杆菌携带的耐药基因有关,其中产生 ESBLs 是大肠杆菌产生耐药的重要机制。研究表明, *bla*<sub>CTX-M</sub> 是家禽肠道微生物群中产 ESBLs 大肠杆菌的主要流行类型<sup>[18-20]</sup>。Kiratisin 等<sup>[21]</sup>对大肠杆菌  $\beta$ -内酰胺类药物耐药基因检测结果表明,检出率最高的耐药基因是 *bla*<sub>CTX-M</sub>, 为 87.3%; 其次是 *bla*<sub>TEM</sub>, 检出率为 77%。曲志娜等<sup>[22]</sup>对 43 株产 ESBLs 的鸡源大肠杆菌进行  $\beta$ -内酰胺类药物耐药基因检测, 结果表明, *bla*<sub>CTX-M</sub>、*bla*<sub>TEM</sub> 的检出率分别为 93%、72%, 其中复合基因型检出率高达 72%。张玲等<sup>[11]</sup>对 34 株禽致病性大肠杆菌进行  $\beta$ -内酰胺类药物耐药基因检测, 结果表明, *bla*<sub>TEM-1</sub> 检出率最高, 为 67.6%。王鹏勇等<sup>[23]</sup>对 44 种携带  $\beta$ -内酰胺类耐药基因的大肠杆菌进行检测, 结果表明, *bla*<sub>TEM</sub> 的检出率最高, 为 81.81% (36/44); *bla*<sub>CTX-M</sub> 检出率为 34% (15/44); 而 *bla*<sub>SHV</sub> 的检出率最低, 为 2.3% (1/44)。本试验中发现有 85% (17/20) 的大肠杆菌携带 *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, 30% (6/20) 的大肠杆菌携带 *bla*<sub>TEM</sub>, 30% (6/20) 的大肠杆菌携带 *bla*<sub>SHV</sub>, 与上述研究结果基本一致, 但 *bla*<sub>TEM</sub> 与 *bla*<sub>SHV</sub> 的检出率低于曲志娜等<sup>[22]</sup>、王鹏勇等<sup>[23]</sup>的研究结果, 表明不同地区大肠杆菌流行的基因型有所差异。由于 *bla*<sub>CTX-M</sub> 型分布具有地域性, 且本试验中未检出 *bla*<sub>CTX-M-2</sub>、*bla*<sub>CTX-M-8</sub>、*bla*<sub>CTX-M-9</sub>, 表明 *bla*<sub>CTX-M-1</sub> 是江苏部分地区鸡源大肠杆菌携带的主要耐药基因。本试验研究还发现, 大肠杆菌同时携带多种耐药基因情况较为严重, 尤其是同时携带 *bla*<sub>TEM</sub> + *bla*<sub>CTX-M-1</sub> 基因菌株, 检出率最高 (30%), 这增加了大肠杆菌的多重耐药性, 导致  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药谱变宽, 加大了鸡大肠杆菌病的防治难度。

本试验中大肠杆菌耐药表型与耐药基因并不完全吻合, 如本试验中 11 号分离菌株 JRB01 对 11 种受试药物的耐药率均为 100%, 但仅检测出 1 种耐药基因 (*bla*<sub>CTX-M-1</sub>), 出现这种情况可能是因为在其他潜在的耐药基因或者耐药机制, 提示大肠杆菌的耐药基因检测不能取代常规的药敏试验, 这一发现与 Meireles 等<sup>[24]</sup>报道一致。

## 4 结论

本研究监测了江苏部分地区鸡源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药性现状和耐药基因, 20 株鸡源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类抗生素具有较高的耐药性, 且多重耐药情况较为严重; *bla*<sub>CTX-M-1</sub> 耐药基因的携带率最高, 其次为 *bla*<sub>TEM</sub> 和 *bla*<sub>SHV</sub>, 但耐药表型与耐药基因并不完全吻合, 可能存在其他耐药基因或者耐药

机制。本研究结果为江苏地区鸡源大肠杆菌耐药性现状提供了最新数据, 为防控鸡源大肠杆菌病的临床合理用药提供了指导。

## 参考文献:

- [1] 杨跃飞. 临床动物源性大肠杆菌的分离鉴定、耐药基因检测及多位点序列分型分析 [D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- [2] 坤清芳. 兔源大肠杆菌耐药性及耐药基因研究 [D]. 成都: 四川农业大学, 2017.
- [3] 苑丽. 鸡源分离菌超广谱  $\beta$ -内酰胺酶基因分型和整合子分子特征 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2010.
- [4] 魏亚敏. 鸡大肠杆菌病的流行新特点与防控 [J]. 中兽医学杂志, 2023 (2): 73-75.
- [5] 王瑶, 张耀东, 易正飞, 等. 禽致病性大肠杆菌血清型、进化分群及毒力基因的分子流行病学调查 [J]. 中国兽医科学, 2020, 50 (9): 1159-1166.
- [6] 陈鹏举. 穿黄散对产 ESBLs 大肠杆菌的抑菌作用及临床效果研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [7] 张济培, 谭华龙, 韦庆兰, 等. 广东地区水禽源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药性及耐药基因检测 [J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42 (9): 2487-2492.
- [8] 张立伟, 石玉祥, 张永英, 等. 鸡源大肠杆菌毒力基因检测及分子流行特征 [J]. 微生物学报, 2020, 60 (11): 2498-2510.
- [9] 佟盼盼. 鸡粪便菌群耐药基因及其产 ESBLs 大肠杆菌耐药性的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [10] 徐亚亚, 袁华根, 孙晨明, 等. 江苏部分地区禽致病性大肠杆菌分离株的生物学特征及耐药性研究 [J]. 畜牧与兽医, 2021, 53 (11): 74-79.
- [11] 张玲, 许薇, 李丽, 等. 禽源大肠杆菌  $\beta$ -内酰胺类耐药基因检测与耐药相关性分析 [J]. 中国家禽, 2014, 36 (24): 49-51.
- [12] 李蓓蓓, 张学英, 李菁华, 等. 长春地区部分医院革兰阴性杆菌超广谱  $\beta$ -内酰胺酶的基因类型及分布 [J]. 吉林大学学报 (医学版), 2010, 36 (1): 205-209.
- [13] TADESSE D A, LI C, MUKHERJEE S, et al. Whole-genome sequence analysis of CTX-M containing *Escherichia coli* isolates from retail meats and cattle in the United States [J]. Microb Drug Resist, 2018, 24 (7): 939-948.
- [14] D'ANDREA M M, ARENA F, PALLECCHI L, et al. CTX-M-type  $\beta$ -lactamases: a successful story of antibiotic resistance [J]. Int J Med Microbiol. 2013, 303 (6/7): 305-317.
- [15] HAWKEY P M. Prevalence and clonality of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Asia [J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14: 159-165.
- [16] 艾伟昌, 方忠意, 李金磊, 等. 河南省鸡源大肠杆菌的分离鉴定与耐药性分析 [J]. 畜牧与饲料科学, 2018, 39 (1): 4-7.
- [17] 许淑芸, 何白雪, 俞杰, 等. 新疆石河子市牛源大肠杆菌分离鉴定及对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药性分析 [J]. 中国动物检疫, 2022, 39 (7): 49-54.
- [18] DORADO-GARCIA A, SMID J H, VAN PEL W, et al. Molecular relatedness of ESBL/AmpC - producing *Escherichia coli* from

humans, animals, food and the environment: a pooled analysis [J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73 (2): 339-347.

[19] SGHAIER S, ABBASSI M S, PASCUAL A, et al. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae from animal origin and wastewater in Tunisia; first detection of O25b-B23-CTX-M-27-ST131 *Escherichia coli* and CTX-M-15/OXA-204-producing *Citrobacter freundii* from wastewater [J]. J Glob Antimicrob Resist, 2019, 17: 189-194.

[20] CORMIER A, ZHANG P L C, CHALMERS G, et al. Diversity of CTX-M-positive *Escherichia coli* recovered from animals in Canada [J]. Vet Microbiol, 2019, 231: 71-75.

[21] KIRATISIN P, APISARNTHANADRAK A, LAESRIPA C, et al. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52 (8): 2818-2824.

[22] 曲志娜, 张颖, 李玉清, 等. 鸡、猪大肠杆菌 ESBLs 基因型检测及耐药性分析 [J]. 中国农学通报, 2013, 29 (8): 50-54.

[23] 王鹏勇, 余蕊, 高尚, 等. 禽源大肠杆菌对  $\beta$ -内酰胺类药物的耐药性分析及其耐药基因检测 [C]. 中国畜牧兽医学会 2018 年学术年会禽病学分会第十九次学术研讨会, 南宁, 2018.

[24] MEIRELES D, LEITE-MARTINS L, BESSA L J, et al. Molecular characterization of quinolone resistance mechanisms and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in *Escherichia coli* isolated from dogs [J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2015, 41: 43-48.

· 信息 ·

## 21 种畜牧、兽医科学类核心期刊中《畜牧与兽医》 综合评价总分排名第 10

《2023 年版中国科技期刊引证报告（核心版）自然科学卷》以《中国科技论文与引文数据库》（CSTPCD）为基础，采用科学客观的研究方法与评价方式，遴选中国自然科学领域各学科分类重要期刊作为统计来源期刊。《2023 年版中国科技期刊引证报告（核心版）自然科学卷》共收录了中国（不含港澳台）正式出版的 1 996 种中文期刊和 155 种英文期刊，共 2 151 种中国科技核心期刊（中国科技论文统计源期刊）。其中畜牧、兽医科学类期刊共收录 21 种，包括 19 本中文期刊和 2 本英文期刊，《畜牧与兽医》综合评价总分排名第 10。21 种期刊主要指标详见附表。

附表 2023 年畜牧、兽医科学类期刊主要指标

序号	刊名	核心总被引频次			核心影响因子			综合评价总分		学科扩 散指标	学科影 响指标	红点 指标
		数值	排名	离均差率	数值	排名	离均差率	数值	排名			
1	ANIMAL NUTRITION	591	19	-0.66	1.160	4	0.29	43.6	6	4.95	0.76	0.00
2	JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY	958	14	-0.45	1.451	2	0.61	48.3	2	6.67	0.86	0.00
3	蚕业科学	618	18	-0.64	0.475	20	-0.47	30.5	15	7.48	0.29	0.14
4	动物医学进展	1 540	9	-0.11	0.644	16	-0.29	41.7	7	16.24	0.86	0.58
5	动物营养学报	7 147	1	3.12	2.100	1	1.33	77.6	1	15.00	1.00	0.80
6	家畜生态学报	1 253	11	-0.28	0.827	12	-0.08	39.3	9	8.48	0.95	0.47
7	经济动物学报	259	21	-0.85	0.583	18	-0.35	29.7	16	4.14	0.67	0.48
8	粮食与饲料工业	823	15	-0.53	0.633	17	-0.30	28.8	19	7.48	0.67	0.22
9	饲料工业	2 088	6	0.20	0.885	9	-0.02	41.0	8	10.33	0.90	0.74
10	饲料研究	2 872	4	0.66	1.169	3	0.30	29.1	17	10.14	0.90	0.70
11	畜牧兽医学报	2 391	5	0.38	1.041	7	0.15	44.6	5	11.90	0.95	0.58
12	畜牧与兽医	1 487	10	-0.14	0.699	15	-0.22	38.7	10	10.24	0.90	0.60
13	畜牧与饲料科学	741	16	-0.57	0.502	19	-0.44	32.8	13	8.52	0.86	0.48
14	中国动物传染病学报	654	17	-0.62	1.071	5	0.19	28.3	20	5.76	0.76	0.55
15	中国家禽	1 877	8	0.08	0.866	10	-0.04	33.9	12	7.71	0.86	0.58
16	中国兽药杂志	524	20	-0.70	0.418	21	-0.54	24.3	21	8.33	0.81	0.30
17	中国兽医科学	1 007	13	-0.42	0.786	13	-0.13	31.3	14	7.00	0.90	0.54
18	中国兽医学报	1 924	7	0.11	0.832	11	-0.08	38.1	11	11.24	0.86	0.56
19	中国畜牧兽医	3 203	3	0.85	0.984	8	0.09	46.9	3	14.86	0.95	0.60
20	中国畜牧杂志	3 301	2	0.91	1.052	6	0.17	45.5	4	13.33	0.95	0.65
21	中国预防兽医学报	1 171	12	-0.32	0.755	14	-0.16	28.9	18	6.43	0.81	0.48
21 种期刊平均值		1 735			0.902							

注：数据来自中国科学技术信息研究所《2023 年版中国科技期刊引证报告（核心版）自然科学卷》。