

产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌耐药性分析及 CTX-M 酶的检测

闫记 王慧珠 郑喜邦 成军

【摘要】 目的 分析北京地坛医院产超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β lactamases, ESBLs)大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌的耐药情况及其携带 CTX-M 酶的基因类型。**方法** 对北京地坛医院 2006 年 8 月至 2007 年 7 月期间收集的无重复 21 例产 ESBLs 菌株,采用微量药敏定量实验检测 20 种抗生素的最小抑菌浓度,用针对 CTX-M 基因的特异性引物进行 PCR 扩增并确定其基因型,PCR 产物进行克隆测序。**结果** 21 例菌株对大多数 β -内酰胺类药物明显耐药,多数对氨基糖苷类和氟喹诺酮类耐药,但对亚胺培南 100% 敏感;产 CTX-M 酶的有 10 株,其中有 7 株产 CTX-M-14 酶,2 株产 CTX-M-3 酶,1 株产 CTX-M-9 酶。**结论** 北京地坛医院 2006 年 8 月至 2007 年 7 月期间产 ESBLs 菌多为多重耐药菌,并且存在 CTX-M 酶的流行,主要是 CTX-M-14 酶和 CTX-M-3 酶。

【关键词】 大肠埃希菌;肺炎克雷伯杆菌;CTX-M 酶; β -内酰胺酶;基因型

Antibiotic resistance analysis and CTX-M enzyme detection of ESBLs-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* YAN Ji, WANG Hui-zhu, ZHENG Xi-bang, CHENG Jun. Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Beijing 100015, China

Corresponding author: CHENG Jun, Email: cj@genetherapy.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate genotypes of CTX-M and resistance phenotype of ESBLs-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from Beijing Ditan Hospital. **Methods** The MICs of 20 antibiotics against 21 ESBLs-producing germs were determined by microquality and quantity analysis. CTX-M-type β -lactamase encoding genes were amplified by PCR. The nucleotide sequence of CTX-M encoding genes were characterized with automatic sequencer. **Results** Resistance to most β -lactams, fluoroquinolones and aminoglycosides antibiotics were found in 21 ESBLs-producing strains. No strain was found to be resistant to imipenem. Ten strains were investigated to produce CTX-M-type ESBLs, including CTX-M-14 (7 strains) and CTX-M-3 (2 strains), CTX-M-9 (1 strain). **Conclusions** Most of ESBLs-

作者单位:100015 北京市,北京地坛医院传染病研究所(闫记、王慧珠、成军);广西大学动物科技学院(闫记、郑喜邦)

通讯作者:成军 Email: cj@genetherapy.com.cn

producing strains were multi-drug resistant and there were prevalence of CTX-M-type β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in Beijing Ditan Hospital from August in 2006 to July in 2007. Main genotypes of CTX-M of ESBLs-producing bacteria were CTX-M-14 and CTX-M-3.

【Key words】 *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; CTX-Menzyme; β -lactamase; Genotype

大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌是临床上重要的致病菌,也是导致医院感染的常见病原菌,临床治疗效果和费用与其耐药性密切相关。随着第3代头孢菌素在临床上的广泛应用,对这类抗生素耐药的大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌不断增多,主要原因是它们产生了能分解这类抗生素的超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamases, ESBLs)。ESBLs按照其基因型可分为TEM型、CTX-M型、SHV型、OXA型等。其中,CTX-M型ESBLs是1989年由德国和阿根廷几乎同时发现的一种超广谱 β -内酰胺酶^[1],其对头孢噻肟的水解活性远高于头孢他啶,因而被命名为头孢噻肟酶(cefotaximase)家族^[2]。该酶家族扩增迅速,相继在其他地区被报道,已成为细菌耐药机制研究的重点之一。近来据国外的部分报道CTX-M型ESBLs导致的耐药已逐渐占据主导地位。在我国,CTX-M酶已陆续在部分城市发现,主要有CTX-M-3、CTX-M-9、CTX-M-14等。本研究对北京地坛医院2006年8月至2007年7月期间收集的无重复21例产ESBLs菌进行了检测,以了解其对临床抗生素的耐药情况和CTX-M型 β -内酰胺酶的流行情况,为临床正确选择与合理使用抗菌药物提供参考依据。

材料与方法

一、菌株

2006年8月至2007年7月期间从北京地坛医院住院患者体液中分离的产ESBLs细菌,其中大肠埃希菌18株、肺炎克雷伯杆菌3株,标本取自痰液6例、胆汁2例、伤口分泌物1例、引流液1例、尿液1例、胸腹水1例、腹腔积液1例、脓液1例、静脉血3例、全血2例、咽2例。以上标本均经MicroscanWalkaway 40型全自动细菌鉴定仪鉴定正确,ESBLs用NCCLS推荐的纸片扩散法表型确证实验确证,质控:大肠埃希菌25922和35218(天坛生物制品检定所)。

二、主要试剂和培养基

血平皿、麦康凯培养基,购自天津金章公司,药敏纸片购自天坛生物制品检定所,大肠埃希菌 *E. coli* DH5 α 为本室保存, DNA回收试剂盒购自博大泰克公司, T4 DNA连接酶购自 Promega 公司, PCR的 Taq酶购自 MBI 公司, DL2000购自 TaKaRa 公司, pGEM-T载体购自 Promega 公司, 琼脂糖购自上海 Yito 公司, 氨苄西林购自华北制药有限公司, dNTP Mix(10 mmol/L)、Mg²⁺ Free Buffer、MgCl₂(25 mmol/L)、Taq DNA聚合酶(5 U/ μ l)均购自 Promega 公司。引物合成及核苷酸序列测序由北京奥科生物工程技术服务公司完成。

三、细菌鉴定与药敏试验

标本按常规方法接种培养,分离出单个菌落进行鉴定。革兰阴性杆菌细菌鉴定与药敏试验采用由美国 DADE 公司提供的革兰阴性鉴定和药敏复合板 NC21,批号 B1017-301,结果判断按 CLSI 的标准执行^[3]。大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的检测是根据(M100-10,2000)规定(ESBLs)的表型筛选及确证实验方法进行。

四、PCR 扩增及测序

1. CTX-M 基因引物设计与合成:根据 GenBank 提供的各型 ESBLs 基因序列设计引物^[4]。其中 CTX-M 型 ESBLs 根据同源性分成 4 组:CTX-M-1 组、CTX-M-2 组、CTX-M-8 组及 CTX-M-9 组,分别设计特异性引物,见表 1。

表 1 PCR 引物

引物	序列	目的基因	产物长度
P1	5' - CAGCGCTTTTGCCGTCTAAG-3'	CTX-M-1	944 bp
P2	5' - GGCCCATGGTTAAAAAATCACTGC-3'		
P3	5' - GCATTCCGCCGCTCAATGTTA-3'	CTX-M-2	942 bp
P4	5' - GGTTCGTTGCAAGACAAGAC-3'		
P5	5' - ACTTCAGCCACACGGATTCA-3'	CTX-M-8	977 bp
P6	5' - CGAGTACGTCACGACGACTT-3'		
P7	5' - GTTACAGCCCTTCGGCGATGATTC-3'	CTX-M-9	877 bp
P8	5' - GCGCATGCTGACAAAGAGAGTGCAA-3'		

2. 模板的制备及扩增:将标本用接种环在直径为 7 cm 的血清皿上划线,然后置于细菌培养箱 37℃ 培养 24 h,待第二天挑选单个克隆于已加入 100 μ l 双蒸水的 EP 管中,煮沸 15 min,14 000 r/min 离心 10 min 后取上清作为模板,用 PCR 方法扩增目的基因片段。在 0.2 ml 的 EP 管中依次加入 13.3 μ l 双蒸水,2.5 μ l 的 10 \times 缓冲液(含 20 mmol/L $MgCl_2$)、2 μ l 2 mmol/L dNTP、1 μ l 12.5 μ mol/L 上游引物、1 μ l 12.5 μ mol/L 下游引物、5 μ l 模板、0.2 μ l Taq DNA 聚合酶(5 U/ μ l)。于 PE 9600 PCR 仪中扩增。扩增条件见表 2。

表 2 CTX-M 基因 PCR 扩增条件

基因	预变性	变性	退火	延伸	循环数	72℃ 终延伸
CTX-M-1	94℃ 5 min	94℃ 45 s	58℃ 1 min	72℃ 1 min	35	7 min
CTX-M-2	94℃ 5 min	94℃ 45 s	58℃ 1 min	72℃ 1 min	35	7 min
CTX-M-8	94℃ 5 min	94℃ 45 s	58℃ 1 min	72℃ 1 min	35	7 min
CTX-M-9	94℃ 5 min	94℃ 45 s	60℃ 1 min	72℃ 1 min	35	7 min

3. PCR 产物回收克隆及序列分析:PCR 产物于 1% 琼脂糖凝胶电泳后切取目的片段,玻璃奶法回收 PCR 产物,与 pGEM-T 载体连接,转化 DH5 α 感受态细菌,在含氨苄青霉素的 LB 培养板上,37℃ 培养 16 h。挑取白色菌落,摇菌,用菌液作为模板进行 PCR 鉴定,选择出现特异性目的片段的菌液送北京奥科公司测定 DNA 序列。测序结果在 GenBank 中(www.ncbi.nlm.nih.gov)采用 BLAST 程序中

的 blastx 在 GenBank 网上检索,然后与 GenBank 提供的 ESBL 基因核苷酸序列进行同源性比较,以确定其基因亚型。

结 果

一、药敏试验

本研究中,21 株产 ESBLs 菌对氨苄青霉素的耐药率为 100%,对氨苄青霉素/青酶烷砒的耐药率为 100%,对哌拉西林的耐药率为 100%,对哌拉西林-他唑巴坦的耐药率为 9.5%;对头孢唑啉的耐药率为 95.2%,对头孢噻吩的耐药率为 100%;对头孢西丁的耐药率为 28.6%,头孢呋肟的耐药率为 95.2%;对头孢他啶、头孢噻肟、头孢曲松和头孢泊肟的耐药率分别为 38.1%、66.7%、90.5% 和 100%;对头孢吡肟的耐药率为 71.4%;对复方新诺明的耐药率为 80.1%;对庆大霉素的耐药率为 81.0%,对环丙沙星的耐药率为 76.2%;对阿米卡星的耐药率为 33.3%,对妥布霉素的耐药率为 90.5%;对氨曲南的耐药率为 57.1%;对亚胺培南全部敏感。结果见表 3。

二、PCR 扩增产物电泳结果

21 株菌中共有 10 株产 CTX-M 酶,CTX-M-1 组有 2 株在 944 bp 处出现特异目的条带(图 1),CTX-M-9 组有 8 株在 877 bp 处出现特异的目的条带(图 2),CTX-M-2 组和 CTX-M-8 组没有发现阳性株。

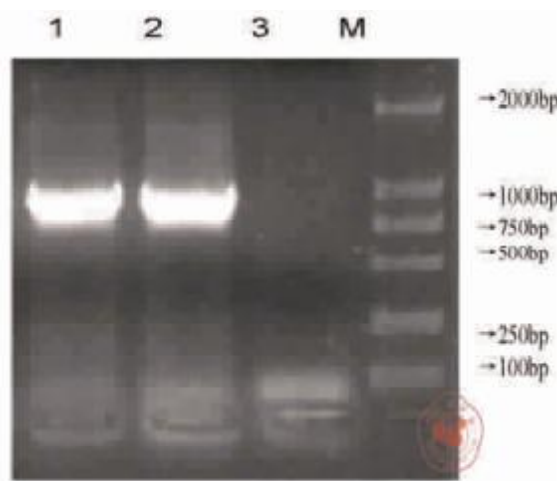


图 1 CTX-M-1 组 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳
M: DNA Marker; 1、2: 产 CTX-M-1 类酶菌株的 PCR 产物; 3: 不产 CTX-M-1 类酶菌株的 PCR 产物

三、DNA 序列测定

选取编号为 E1、E2、E3、E4、E7、E10、E11、E13 的大肠埃希菌和编号为 K2、K3 的肺炎克雷伯杆菌的转化菌液测序。结果显示 CTX-M-9 组中编号为 E1、E2、E4、E7、E11、K2、K3 的 7 株菌产 CTX-M-14,编号为 E13 的菌株产 CTX-M-9。CTX-M-1 组中编号为 E3 和 E10 的菌株产 CTX-M-3。

表3 21株产ESBLs菌对20种抗生素的药敏试验结果($\mu\text{g/ml}$)

抗生素	细菌分离株药敏浓度										
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11
氨苄青霉素/青酶烷砜	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8
头孢唑啉	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
环丙沙星	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2
头孢泊肟	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
头孢吡肟	>16	>16	>16	>16	≤ 2	>16	>16	>16	≤ 2	>16	>16
头孢呋肟	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
庆大霉素	8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8
亚胺培南	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4
哌拉西林/他唑巴坦	≤ 8	64	≤ 8	≤ 8	≤ 8	>64	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8
哌拉西林	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
复方新诺明	$\leq 2/38$	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38
阿米卡星	16	>32	16	16	>32	>32	32	8	8	16	8
妥布霉素	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8
氨苄青霉素	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
氨曲南	>16	>16	≤ 8	≤ 8	>16	>16	>16	≤ 8	>16	>16	>16
头孢曲松	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32
头孢他啶	>16	16	≤ 8	≤ 8	>16	>16	16	≤ 8	>16	>16	>16
头孢噻吩	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
头孢噻肟	>32	>32	>32	>32	≤ 4	≤ 4	>32	>32	≤ 4	>32	>32
头孢西丁	16	>16	16	8	16	>16	>16	8	8	16	16

抗生素	细菌分离株药敏浓度									
	E12	E13	E14	E15	E16	E17	E18	K1	K2	K3
氨苄青霉素/青酶烷砜	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8	>16/8
头孢唑啉	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	8	>16	>16
环丙沙星	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	>2	>2	>2	>2	≤ 1	>2
头孢泊肟	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
头孢吡肟	>16	>16	≤ 2	8	>16	≤ 2	>16	≤ 2	>16	>16
头孢呋肟	>16	>16	16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
庆大霉素	4	4	>8	>8	>8	4	>8	>8	>8	>8
亚胺培南	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4	≤ 4
哌拉西林/他唑巴坦	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	>64	64	≤ 8	64
哌拉西林	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
复方新诺明	$\leq 2/38$	$\leq 2/38$	>2/38	$\leq 2/38$	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38	>2/38
阿米卡星	16	8	8	>32	8	>32	>32	16	8	>32
妥布霉素	>8	4	4	>8	>8	>8	>8	>8	>8	>8
氨苄青霉素	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
氨曲南	≤ 8	≤ 8	≤ 8	>16	>16	>16	>16	≤ 8	>16	>16
头孢曲松	>32	>32	≤ 4	>32	>32	>32	>32	≤ 4	>32	>32
头孢他啶	≤ 8	≤ 8	≤ 8	≤ 8	>16	>16	>16	≤ 8	≤ 8	16
头孢噻吩	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
头孢噻肟	>32	>32	≤ 4	≤ 4	>32	≤ 4	>32	≤ 4	>32	>32
头孢西丁	≤ 2	≤ 2	16	≤ 2	16	>16	>16	8	≤ 2	>16



图2 CTX-M-9 组 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳
M: 标准分子量 DNA; 1-8: 产 CTX-M-9 类酶菌株的 PCR 产物

讨 论

1983 年,ESBLs 首先在德国被发现,是丝氨酸蛋白酶的衍生物,是一种存在于细菌中的酶,能水解某些抗生素尤其是头孢他啶、头孢噻肟和氨曲南等广谱头孢菌素的 β -内酰胺环,可以质粒形式在细菌之间传播^[5]。目前,ESBLs 是革兰阴性菌耐药的主要原因之一。

ESBLs 按照其基因型可分为 TEM 型、CTX-M 型、SHV 型、OXA 型等。CTX-M 型 ESBLs 根据其氨基酸的序列的相似性又可分为 4 大类,分别是: CTX-M-1 类(包括 CTX-M-1、CTX-M-3、CTX-M-22、CTX-M-25、CTX-M-28 等)、CTX-M-2 类(包括 CTX-M-2、CTX-M-4、CTX-M-6、CTX-M-7、CTX-M-5 等)、CTX-M-8 类(包括 CTX-M-8、CTX-M-25、CTX-M-26)和 CTX-M-9 类(包括 CTX-M-9、CTX-M-14、CTX-M-24、CTX-M-16 等)。各地区流行的 CTX-M 酶基因型存在一定差异^[6],CTX-M-2 曾于 1990 年在阿根廷引起一次暴发流行^[7],日本的肠杆菌科细菌中以 CTX-M-3 和 CTX-M-2 流行为主;韩国曾报道有 CTX-M-14 的流行;波兰以 CTX-M-3 为主,西班牙以 CTX-M-9 和 CTX-M-3 为主。据报道,CTX-M-2、CTX-M-3 和 CTX-M-14 是世界范围内流行最快的 3 种 CTX-M 酶^[8]。我国的 CTX-M-14 酶最先报道于广州,随后其他地区相继出现 CTX-M-14 的报道,1999 年北京协和医院临床分离的大肠埃希菌中 ESBLs 基因型主要为 CTX-M-3 型^[9]。本研究中,21 株产 ESBLs 菌中有 10 株产 CTX-M 酶,其中有 7 株菌产 CTX-M-14,1 株产 CTX-M-9,2 株产 CTX-M-3,未发现 CTX-M-2 组和 CTX-M-8 组的 ESBLs,这与其他地区 ESBLs 基因型的报道基本吻合。

本研究中的 21 株产 ESBLs 菌株对大多数 β -内酰胺类药物耐药,并显示出多重耐药性。对含 β -内酰胺酶抑制剂复合制剂的哌拉西林/他唑巴坦较敏感,这可能与他唑巴坦抑菌作用优于克拉维酸和舒巴坦有关,亦可能与该院较少使用该药有关,但对于同样含有 β -内酰胺酶抑制剂复合制剂的氨苄青霉素/青霉素/青霉素/青霉素耐药率则为 100%,说明该院近期可以考虑不用氨苄青霉素和氨苄青霉素/青霉素

砒,以防止诱导更大范围的交叉耐药;对氟喹诺类、氨基糖苷类多数耐药,耐药率均高达76%~90%(阿米卡星除外);对复方新诺明亦高度耐药;对头孢唑啉、头孢噻吩、头孢呋肟的耐药率达95%~100%;对头孢噻肟、头孢曲松和头孢泊肟等三代头孢菌素的耐药率达66%~100%;对头孢吡肟的耐药率为71.4%;对头孢西丁、头孢他啶、氨曲南的耐药率仅为28%~57%,提示临床治疗产ESBLs菌株引起的感染首选药物应为碳青霉烯类、阿米卡星和头霉素类抗生素。基因型研究发现21株临床菌株产CTX-M型ESBLs较多,占47.6%(10/21),CTX-M-ESBLs对头孢噻肟具有强大的水解活性,对头孢曲松的水解能力亦高,对头孢他啶的水解能力较差。第三代头孢菌素中,头孢噻肟、头孢曲松在我国临床的应用较头孢他啶范围广,用量大,而且有资料表明我国肠杆菌科临床株对头孢噻肟、头孢曲松的耐药率较头孢他啶高,推测可能与细菌产CTX-M-ESBLs有关^[11]。

根据NCCLS的推荐意见,产ESBLs菌株均应视为对所有头孢菌素和氨曲南耐药,但是否可用头孢他啶治疗产CTX-M酶菌株引起的感染仍有争议。鉴于头孢他啶的耐药选择压力高于头孢噻肟^[10]、产CTX-M酶菌株接种量提高会导致头孢他啶的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)升高、产CTX-M酶菌株可能同时产其他 β -内酰胺酶使其对头孢他啶水解能力提高及某些CTX-M酶对头孢他啶具较高的水解活性,因此认为不宜用头孢他啶治疗产CTX-M酶菌株引起的感染。

参 考 文 献

- 1 Tzouveleakis LS, Tzelepi E, Tassios PT, et al. CTX-M-type beta-lactamases: an emerging group of extended-spectrum enzymes. *Int J Antimicrob Agents*, 2000, 14: 137-142.
- 2 Coque TM, Oliver A, Perez-Diaz JC, et al. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum beta-lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46: 500-510.
- 3 Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fifteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S15, 2005, 25: 106.
- 4 季淑娟, 陈亚岗, 俞云松, 等. 浙江省产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌的基因型分布. *中华传染病杂志*, 2005, 2: 75-78.
- 5 National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 6th ed. Approved standard M2-A6(M100-S7). Wayne: NCCLS, 2003.
- 6 Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48: 1-14.
- 7 Bauernfeind A, Stemmlinger I, Jungwirth R, et al. Sequences of beta-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40: 509-513.
- 8 Chanawong A, MZali FH, Heritage J, et al. Three cefotaximases, CTX-M-9, CTX-M-13, and CTX-M-14, among *Enterobacteriaceae* in the People's Republic of China. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46: 630-637.
- 9 Wang H, Kelkar S, Wu W, et al. Clinical isolates of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases: prevalence of CTX-M-3 at a hospital in China. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47: 790-793.
- 10 Xiong Z, Zhu D, Wang F, et al. Investigation of extended-spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from China. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2002, 44: 195-200.
- 11 朱戌冬, 徐英春, 吴伟元, 等. 一种新CTX-M型超广谱 β -内酰胺酶及其临床意义. *中华检验医学杂志*, 2001, 24: 207-210.

(收稿日期:2007-06-22)

(本文编辑:温少芳)

闫记,王慧珠,郑喜邦,等.产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌耐药性分析及CTX-M酶的检测[J/CD].中华实验和临床感染病杂志:电子版,2008,2(4):286-293.