

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.04.03

豫北地区猪源大肠杆菌耐药性及基因多态性分析

张明亮^{1,2,3}, 周玲玲^{1,2}, 连凯琪^{1,2,3*}, 周孝蕊¹, 宋玉伟^{1,2}, 王双山^{1,2}

(1. 安阳工学院生物与食品工程学院, 河南安阳 455000; 2. 河南省动物疫病防控与营养免疫院士工作站, 河南安阳 455000;

3. 河南省兽用生物制品研发与应用国际联合实验室, 河南安阳 455000)

[收稿日期] 2019-01-16 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 04-0016-07 [中图分类号] S852.61

[摘要] 为了解豫北地区规模化养殖场猪源大肠杆菌的耐药性及基因多态性, 对分离的 21 株猪源大肠杆菌进行药物敏感实验, 采用 PCR 技术对其耐药基因进行检测, RAPD 技术进行基因多态性分析。结果表明: 豫北地区规模化养殖场分离的猪源性大肠杆菌菌株对常见 16 种抗生素存在不同情况的耐药性。其中对四环素、红霉素、麦迪霉素、阿莫西林、磺胺异恶唑、环丙沙星、新生霉素、复方新诺明、恩诺沙星、甲氧苄啶的耐药率均为 100%, 对庆大霉素、洛美沙星的耐药率为 85% 以上, 对其他药物的耐药率相对较低; PCR 检测得到 8 种耐药基因的条带; 对菌株进行 RAPD 分析得到 7 种不同的基因型。大肠杆菌极易产生耐药性, 耐药基因广泛存在于耐药菌株中, 但耐药表型与耐药基因之间无绝对相关性。豫北地区猪源大肠杆菌感染多重耐药十分严重, 严重影响了该地区猪源大肠杆菌病的诊治和预防。

[关键词] 猪源大肠杆菌; 药物敏感实验; 耐药基因; RAPD 技术

Analysis of Drug Resistance and Genetic Polymorphism of *Escherichia coli* Isolated from Pigs in North of Henan Province

ZHANG Ming-liang^{1,2,3}, ZHOU Ling-ling^{1,2}, LIAN Kai-qi^{1,2,3*},ZHOU Xiao-rui¹, SONG Yu-wei^{1,2}, WANG Shuang-shan^{1,2}

(1. Anyang Institute of Technology, College of Biological Science and Food Engineering, Anyang, Henan 455000, China;

2. Academician Workstation of Animal Disease Control and Nutrition Immunity in Henan Province, Anyang, Henan 455000, China;

3. Henan Joint International Research Laboratory of Veterinary Biologics Research and Application, Anyang, Henan 455000, China)

Corresponding author: LIAN Kai-qi, liankaiqi616@163.com

Abstract: To determine the drug resistance and gene polymorphism of *Escherichia coli* isolated from pigs from north of Henan province, in this study, 21 isolated porcine *Escherichia coli* were detected with drug sensitivity test, and the drug resistance genes were detected by PCR, the gene polymorphism was analyzed by RAPD. The results showed that the isolated *Escherichia coli* strains have different resistance to 16 common antibiotics, and the drug

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31802170); 安阳工学院博士科研启动基金项目(BSJ2016013)

作者简介: 张明亮, 讲师, 博士, 从事病原微生物和分子免疫学研究。

通讯作者: 连凯琪。E-mail: liankaiqi616@163.com

resistance rate of strains for tetracycline, erythromycin, medemycin, amoxicillin, sulfamethoxazole, ciprofloxacin, neomycin, sulfamethoxazole, enrofloxacin, trimethoprim were 100%, The drug resistance rate for gentamicin and lomefloxacin were more than 85%, and drug resistance rate for the remained antibiotics had the low resistance rate. At the same time, 8 drug resistance genes was obtained by PCR from the isolated strains; 7 different genotypes were obtained with the RAPD analysis. The above results showed that porcine *Escherichia coli* was easy to form the resistance to drug, and resistance genes were widely existed in these resistant strains, but there was no correlation between resistant phenotype and resistant genes. This study revealed that porcine *Escherichia coli* were multidrug resistance in north of Henan, would seriously affect diagnosis and treatment prevention of porcine *Escherichia coli*.

Key words: porcine *Escherichia coli*; drug sensitivity test; drug resistance gene; RAPD technology

猪大肠杆菌病是猪群常见传染病,其病原为致病性大肠杆菌,主要引发猪败血症、仔猪黄痢、仔猪白痢等症状^[1-2]。大肠杆菌血清型种类复杂,给疫苗的研制和制备带来了很多的困难,目前治疗大肠杆菌病仍然以抗菌药物为主。但近年来随着各种抗生素的滥用,细菌的耐药率持续上升,多重耐药问题更加严重,给大肠杆菌的治疗带来困难,在增加治疗成本的同时也给人类食品安全留下隐患。对猪源大肠杆菌基本耐药情况的研究,有助于预防和治疗此菌引起的疾病,同时对维护公共卫生安全也有着重要的意义^[3]。本研究得到了 21 株猪源大肠杆菌,分析菌株的耐药情况,检测其耐药基因分布,同时对病原菌进行了 RAPD 分析,以期为该地区猪源大肠杆菌病的防治提供科学的理论依据。

1 材料

1.1 实验菌株 从河南安阳、新乡、焦作等地区的规模化猪场采集 21 株(菌株 1、3、6、7、8、10、11、21 分离自安阳滑县、内黄、安阳县规模化养殖场;菌株 9、14、15、16、20 分离自新乡辉县市、卫辉市、长垣县规模化养殖场;菌株 2、4、5、12、13、17、18、19 分离自焦作市马村区、修武县、孟州市规模化养殖场)疑似大肠杆菌病死猪的肝脏、分泌物等。采用细菌学、PCR 试验等方法鉴定为猪源致病性大肠杆菌。大肠杆菌标准菌株 ATCC25922 购自中国兽医药品监察所。

1.2 试剂 LB 琼脂、麦康凯琼脂、LB 液体培养基

购自青岛海博生物技术有限公司;药敏纸片购自杭州滨河微生物试剂有限公司。Premix Taq, DL2000 DNA Marker 购自宝日医生物技术(北京)有限公司。

1.3 引物设计与合成 参照相关文献^[4-5]及 Gene-Bank 设计出 9 种扩增常见抗生素基因和 RAPD 多态性分析所用的引物(表 1)。

2 方法

2.1 药敏试验 本实验采用纸片扩散法(K-B 法)^[6]。测定大肠杆菌对四环素、红霉素、头孢拉定、麦迪霉素、阿莫西林、磺胺异恶唑、环丙沙星、新生霉素、复方新诺明、恩诺沙星、甲氧苄啶、庆大霉素、洛美沙星、阿米卡星、头孢氨苄、头孢曲松钠等 16 种常用抗生素的敏感性。采用标准质控大肠杆菌 ATCC25922 菌株作为对照组。结果参考美国临床和实验室标准协会(CLSI2017 版)肠杆菌科细菌抑菌圈直径标准,来判定分离株对各种抗生素的敏感情况^[7-8]。

挑取分离培养的单个典型菌落在 MH 肉汤培养基中 37 °C 培养,取适量菌液均匀地涂布在 MH 琼脂培养基表面,用无菌镊子夹取常用抗生素的药敏纸片,分别贴到琼脂平板表面,先将平板中央放一张药敏片,周围分布均匀放四张,37 °C 培养。用毫米刻度尺测量抑菌圈的大小,结果与标准结果进行对比。参考标准见表 2。

表 1 PCR 扩增耐药基因引物的序列

Tab 1 primer sequence for PCR amplification of drug-resistant gene

抗生素类型	耐药基因	引物序列	退火温度/°C	目的片段/bp
四环素类	TetA	F:GCTACATCCTGCTTGCCTTC R:CATAGATCGCCGTGAAGAGG	54	210
	TetB	F:TTGGTTAGGGCAAGTTTTC R:GTAATGGGCCAATAACACCG	52	659
	TetC	F:CTTGAGAGCCTTCAACCCAG R:ATGGTCGTCATCTACCTGCC	54	418
氨基糖苷类	AadA1	F:TCATTCCGTGGCGTTATCC R:CCTTGGTGATCTCGCCTTTTCG	54	489
	Aph(3')-IIa	F:TCTGAAACATGGCAAAGGTAG R:AGCCGTTTCTGTAATGAAGGA	50	582
β-内酰胺类	BlaTEM-1	F:TTGGGTGCACGAGTGGGT R:TAATTGTTGCCGGGAAGC	53	504
氯霉素类	Cat-1	F:TTTATGCGGCCTTTATTACATTC R:AGCACCTTGTCGCCTTGC	53	388
	Sul1	F:TTTCTGACCCTGCGCTCAT R:GTGCGGACCTAGTCAGCGCCA	56	425
磺胺类	Sul3	F:GATAGTTTTCCGATGGAGG R:GAAGCCCATACCCGGATCAAG	54	495

RAPD 多态性分析所用的引物序列为:AGCGGGCCAA;以上引物均由北京六合华大基因科技有限公司合成。

表 2 抗生素的抑菌圈直径与敏感度参考标准

Tab 2 Antibiotic Bacteriostasis Circle Diameter and Sensitivity reference standard

抗生素	判定标准抑菌圈直径/mm		
	耐药(R)	中度敏感(I)	敏感(S)
麦迪霉素	≤21	22~30	≥31
头孢拉定	≤16	17~22	≥23
庆大霉素	≤18	19~26	≥27
甲氧苄啶	≤10	11~15	≥16
红霉素	≤21	22~30	≥31
新生霉素	≤21	22~31	≥32
恩诺沙星	≤34	35~37	≥38
阿米卡星	≤18	19~26	≥27
四环素	≤23	24~30	≥31
复方新诺明	≤24	25~29	≥30
头孢曲松钠	≤28	29~35	≥36
阿莫西林	≤18	19~25	≥26
头孢氨苄	≤19	20~24	≥25
洛美沙星	≤26	27~35	≥36
环丙沙星	≤29	30~34	≥35
磺胺异恶唑	≤12	13~16	≥17

2.2 模板 DNA 的制备 利用煮沸法提取细菌的基因组 DNA。取过夜培养的大肠杆菌菌液 600 μL, 10000 r/min 离心 2min, 弃上清, 加 300 μL ddH₂O, 以相同的转速离心后弃上清, 再加 150 μL ddH₂O, 沸水煮 10 min, 离心取上清, 置于-20 °C 备用。

2.3 大肠杆菌基因 PCR 的扩增 耐药基因扩增体系 20 μL: Premix Taq 10 μL, 上下游引物各 0.5 μL, 模板 DNA 1 μL, 用 ddH₂O 补平至 20 μL。PCR 反应程序: 预变性 95 °C 5 min, 95 °C 40 s, 不同退火温度 (温度见表 1), 72 °C 45 s, 34 个循环; 终末延伸 72 °C 10 min。对 PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳。

2.4 基因多态性分析的 PCR 扩增 随机引物扩增体系 25 μL: Premix Taq 12.5 μL, 引物 1 μL, 模板 DNA 1 μL, 用 ddH₂O 补平至 25 μL。PCR 反应程序: 预变性 95 °C 5 min, 95 °C 1 min, 36 °C 5 min, 72 °C 5 min, 4 个循环; 95 °C 1 min, 36 °C 1 min, 72 °C 2 min, 30 个循环, 终末延伸 72 °C 10 min。对 PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳。

3 结果与分析

3.1 分离株药敏试验 对分离的阴性致病性大肠杆菌菌株进行药敏试验,结果表明 21 株大肠杆菌对四环素、红霉素、麦迪霉素、阿莫西林、磺胺异恶唑、复方新诺明、环丙沙星、恩诺沙星、新生霉素、甲氧苄啶耐药率为 100%;对庆大霉素、洛美沙星耐药

率为 80%以上;阿米卡星、头孢氨苄、头孢曲松钠、头孢拉定在 40%~70%。其中,对氨基糖苷类敏感的菌株为菌株 1、6、8、9、11、16、20;对 β -内酰胺类敏感的菌株为菌株 1、2、5、12、13、15、18、19;对喹诺酮类敏感的菌株为菌株 10、19(表 3)。

表 3 大肠杆菌菌株对抗生素的敏感性试验

Tab 3 Antimicrobial susceptibility test of *Escherichia coli* against antimicrobial drugs

抗生素的种类	抗菌药物	大肠杆菌菌株数(株)			耐药率/%
		耐药(R)	中敏(I)	敏感(S)	
四环素类	四环素	21	0	0	100%
大环内酯类	红霉素	21	0	0	100%
大环内酯类	麦迪霉素	21	0	0	100%
β -内酰胺类	阿莫西林	21	0	0	100%
磺胺类	磺胺异恶唑	21	0	0	100%
磺胺类	复方新诺明	21	0	0	100%
喹诺酮类	环丙沙星	21	0	0	100%
喹诺酮类	恩诺沙星	21	0	0	100%
香豆素类	新生霉素	21	0	0	100%
抗菌增效剂	甲氧苄啶	21	0	0	100%
氨基糖苷类	庆大霉素	19	2	0	90%
喹诺酮类	洛美沙星	19	0	2	89%
氨基糖苷类	阿米卡星	14	7	0	67%
β -内酰胺类	头孢氨苄	14	7	0	67%
β -内酰胺类	头孢曲松钠	11	10	0	52%
β -内酰胺类	头孢拉定	9	6	6	43%

3.2 分离株耐药基因的 PCR 扩增 对分离鉴定的 21 株猪源致病性大肠杆菌进行了四环素类、氨基糖苷类、 β -内酰胺类、氯霉素类、磺胺类 9 种耐药基因的扩增。其中 TetA、TetB、BlaTEM-1 耐药基因的菌株数检出率为 100%;Sul3 耐药基因的菌株检出率为 85.71%;Aph(3')-II a 耐药基因的菌株检出率为 76.19%;AadA1 耐药基因的菌株检出率为 57.14%;Sul1 耐药基因的菌株检出率为 38.09%;Cat1 耐药基因的菌株检出率为 19.04%;而 TetC 耐药基因未

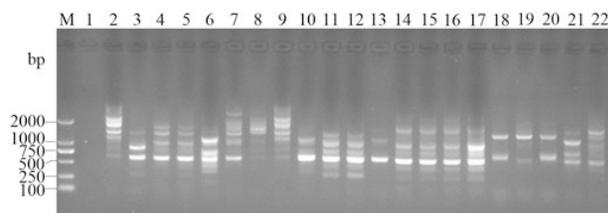
被检测到(表 4)。

3.3 多态性分析的 PCR 扩增 对分离鉴定的 21 株大肠杆菌(图 1)进行限制性片段多态性分析。根据指纹图谱的条带数目和位置,可以将 21 株分离株分为 7 个基因型。2、7、9 命名为 I 型,占 14.3%;3、21 命名为 II 型,占 9.5%;4、5 命名为 III 型占 9.5%;6、11、12 命名为 IV 型,占 14.3%,占 9.5%;8、22 命名为 V 型,占 9.5%;10、13、18、19、20 命名为 VI 型,占 23.8%;14、15、16、17 命名为 VII 型,占 19%。

表 4 分离株耐药基因检测结果

Tab 4 Detection results of drug resistance genes in isolates

抗生素种类	耐药菌株数	基因	PCR 检测的菌株数	检出率/%
四环素类	21	TetA	21	100.00
		TetB	21	100.00
		TetC	0	0
氨基糖苷类	21	AadA1	12	57.14
		Aph(3')-II a	16	76.19
β -内酰胺类	21	BlaTEM-1	21	100.00
氯霉素类	21	Cat1	4	19.04
磺胺类	21	Sul1	8	38.09
		Sul3	18	85.71



M: DL2000 Marker; 1: 水对照; 2-22: 分离株分析结果

M: DNA Marker Ladder (DL 2000);

1: Water Control; 2-22: Analysis results of isolates

图 1 分离菌株 RAPD 多态性分析电泳图谱

Fig 1 RAPD polymorphism analysis of isolated strains

4 讨论与结论

大肠杆菌是肠杆菌科的重要成员,能引起动物的大肠杆菌病。近些年,抗生素的滥用或不合理运用,使大肠杆菌耐药基因不断出现。从最初的单一耐药,耐药率低,传播速度缓慢,到如今变为耐药谱宽,耐药率高,耐药性传播速度快的局面^[2]。本研究对豫北地区分离的大肠杆菌菌株进行了药敏实验,结果表明分离株对四环素、红霉素、麦迪霉素、阿莫西林、磺胺异恶唑、环丙沙星、新生霉素、复方新诺明、恩诺沙星、甲氧苄啶的耐药程度较高,耐药率均为 100%,这一结果与艾伟昌等^[3]报道的河南省猪源大肠杆菌对四环素、磺胺异恶唑、复方新诺明的耐药率分别为 97.7%、97.7%、90.6%结果相近,提示该地区临床应禁用这些药物,加强这些药物在该地区的使用监管。同时,对于恩诺沙星的耐药

率,本研究显著高于艾伟昌等^[3]的报道,这表明大肠杆菌的耐药机制可能与同一地区的饲养管理条件及抗生素使用种类存在广泛的联系。同时发现分离自安阳各县的菌株对氨基糖苷类抗生素较为敏感,分离自焦作各区县的菌株对 β -内酰胺类抗生素较为敏感,这为相应地区防治猪源大肠杆菌临床用药提供了参考。菌株的多重耐药也是近年来抗生素难以奏效的重要因素。有报道指出,河南省规模化猪场大肠杆菌耐药现象非常严重,耐药谱较广,并且呈现不同程度的多重耐药,每种菌株至少对 3 种抗生素耐药^[9]。本研究结果与该报道一致。研究表明多重耐药在分离株中普遍存在。这可能是由于细菌处于相同的药物选择压力下,导致相似耐药谱型的出现^[10]。建议临床中合理用药,同时采取多种用药方式以减轻对大肠杆菌的选择性压力,降低细菌产生耐药性的概率^[11]。

四环素类、氨基糖苷类、大环内酯类、 β -内酰胺类等抗生素是临床防治大肠杆菌的首选药物。多年的滥用或不合理运用使大肠杆菌耐药基因不断出现。本研究对分离出的 21 株大肠杆菌进行了 9 种耐药基因的检测,结果表明四环素类 TetA、TetB 均为 100%;氨基糖苷类 AadA1、Aph(3')-II a 分别为 57.14%、76.19%; β -内酰胺类 BlaTEM-1 为 100%;氯霉素类 Cat1 为 19.04%;磺胺类 Sul1、Sul3 分别为 38.09%、85.71%。其中四环素类耐药基因

TetB 检测率高于张炳亮等^[12]的报道;与王学君等^[13]报道的四环素类耐药基因 TetA 检出率相当,这表明四环素耐药基因 TetA 可能成全国性分布,这与该类抗生素的不合理运用有关。同时,颜友荣^[14]等的报道表明四环素类 TetC 耐药基因检出率为 43.20%,而本研究并未检出该基因的存在,表明不同地区介导同一耐药性的耐药基因可能存在差异。氨基糖苷类耐药基因 Aph(3')-IIa 是常见的耐药基因之一,本研究检出率高于张炳亮等^[12]的报道,低于晏云涛等^[2]的报道,这可能与不同地区猪的年龄、性别和品种相关。

磺胺类药物具有与对氨基甲酸相类似的分子结构,二者竞争性抑制二氢叶酸合成酶的活性,从而抑制细菌的生长与繁殖。Sul1 基因在不同临床和环境分离菌株中存在,具有携带和传播磺胺抗性的作用^[15-16]。Sul1 和 Sul3 是已知的质粒编码的磺胺耐药基因,可产生二氢叶酸合成酶并诱导磺胺类药物的抗性^[17],二氢叶酸还原酶利用 NADPH 还原二氢叶酸产生四氢叶酸,从而影响细菌核蛋白合成。细菌的耐药机制是十分复杂的。发现分离菌株对磺胺类完全不敏感,而磺胺类耐药基因 Sul1 和 Sul3 检出率分别为 38.09% 和 85.71%,这可能是因为分离菌株含有其他耐药基因或存在其他耐药机制。本研究发现 Sul3 检出率较高,提示该基因可能是介导本地区猪源大肠埃希菌对磺胺类药物产生耐药性的主要基因型。氯霉素类药物是一种广谱抗生素,吸收快、体内分布广泛,在兽医临床上发挥着重要的作用,特别对大肠杆菌和沙门菌等革兰阴性菌有较强的抑菌作用^[18]。氟苯尼考因其安全性和有效性在我国兽医临床上被广泛使用,是目前兽医临床主要应用的氯霉素类抗生素。本研究在分离株中检测到了氯霉素类耐药基因,表明该地区已出现耐药菌株,应做好该类抗生素的合理应用,避免耐药性跨种传播。耐药基因的检测有助于了解该地区流行株耐药基因存在的种类、数量及流行规律,从而丰富和完善猪源致病性大肠杆菌耐药性的分子流行病学资料,而目前国内外尚未见商品化的相关耐药基因检测试剂盒,这为研制 PCR 试剂盒

奠定了基础。

随机扩增 DNA 多态性扩增(RAPD)技术曾被用于确定微生物感染的暴发流行、传染源及其遗传相差型等研究^[19-20]。RAPD 图谱具有较大相似性的菌株之间应该属于同一类群,反之则为不同的类群,因此,可以通过 RAPD 分型的方法来检测菌株之间同源性的。本研究的分型中,共得到 7 种不同的基因型,显示出该地区致病性大肠杆菌基因型的复杂性。同时,发现同一基因型的不同菌株对抗生素的敏感性存在较大差异,表明该地区大肠杆菌在抗生素选择压力下,其耐药性更加的复杂化。

本研究对豫北地区猪源致病性大肠杆菌的耐药性、耐药基因及分子分型做了研究,为全面了解豫北地区猪源致病性大肠杆菌的流行病学提供了参考数据,同时为该地区猪源大肠杆菌病临床针对性合理用药提供了实验依据。

参考文献:

- [1] 吴旭锦,朱小甫.猪腹泻病例中大肠杆菌的分离与鉴定[J].陕西农业科学,2018,64(6):72-74.
Wu X J, Zhu X P. Isolation and identification of *Escherichia coli* in swine diarrhea cases [J]. Shanxi Journal of Agricultural Sciences, 2018, 64(6): 72-74.
- [2] 晏云涛,赵汝,苗淑淑,等.猪源大肠埃希菌药敏试验及耐药基因检测[J].动物医学进展,2018,39(7):42-46.
Yan Y T, Zhao R, Miao S S, et al. Drug Susceptibility Test and Drug Resistant Gene Detection of Pig Source *Escherichia coli* [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2018, 39(7): 42-46.
- [3] 艾伟昌,李金磊,董鹏,等.河南省猪源大肠杆菌的分离鉴定与耐药性分析[J].上海畜牧兽医通讯,2017,(6):29-31.
Ai W C, Li J L, Dong P, et al. Isolation, identification and drug resistance of *Escherichia coli* isolated from pigs in Henan [J]. Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2017, (6): 29-31.
- [4] 廖成水,程相朝,张春杰,等.鸡源致病性沙门氏菌新近分离株的耐药性与耐药基因[J].中国兽医科学,2011,41(7):751-755.
Liao C S, Cheng X C, Zhang C J, et al. Antimicrobial resistance and resistance genes of pathogenic *Salmonella* recently isolated from chicken [J]. Chinese Veterinary Science, 2011, 41(7): 751-755.

- [5] 闫新武,雷连成,张明亮,等. 貂源绿脓杆菌的分离鉴定及生物学特性[J]. 中国兽医学报, 2014, 34(10): 1610-1614.
Yan X W, Lei L C, Zhang M L, et al. Identification and study on biological characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the minks[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2014, 34(10): 1610-1614.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [C] 25th informational supplement. Document M100-S25, Wayne, PA: CLSI, 2015.
- [7] Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases the CTX-M enzymes[J]. JAntimicrob Chemother, 2012, 48(1): 1-14.
- [8] 李俊贤,陈鹏,杨晓伟,等. 3种动物源大肠杆菌分离株的耐药性分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018, (16): 106-108.
Li J X, Chen P, Yang X W, et al. Drug Resistance Analysis of *Escherichia coli* Isolated from Three Animal [J]. Heilongjiang animal science and veterinary medicine, 2018, (16): 106-108.
- [9] 王克领,张青娟,徐引弟,等. 河南地区猪源性大肠杆菌血清型鉴定与耐药性调查[J]. 河南农业科学, 2014, (9): 164-167.
Wang K L, Zhang Q X, Xu Y D, et al. Serotype Identification and Drug Resistance Investigation of Swine *Escherichia coli* in Henan Area [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2014, (9): 164-167.
- [10] 李晴,张泽,曹甸磊,等. 养殖废水产ESBLs大肠杆菌多重耐药性及耐药基因检测[J]. 中国预防兽医学报, 2018, 40(6): 495-499.
Li Q, Zhang Z, Cao D L, et al. Detection of multiple drug resistance and the resistance genes of ESBL-producing *Escherichia coli* from livestock wastewater [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2018, 40(6): 495-499.
- [11] 毛福超,郁川,韩璐,等. 豫西地区禽源大肠杆菌的分离鉴定与耐药性分析[J]. 河南农业科学, 2016, 45(1): 127-130.
Mao F C, Yu C, Han L, et al. Isolation, Identification and Drug Resistance Analysis of *Escherichia coli* from Chickens in Western Henan Province [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2016, 45(1): 127-130.
- [12] 张炳亮,董发明,王文文,等. 河南地区猪源性大肠杆菌耐药性及耐药基因型分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2018, 47(4): 1-7.
Zhang B L, Dong F M, Wang W W, et al. Drug resistance and genotype of *Escherichia coli* in Henan [J]. Journal of Northwest A&F University (Nat. Sci. Ed.), 2018, 47(4): 1-7.
- [13] 王学君,谭艾娟,吕世明,等. 贵州省猪源大肠杆菌对四环素类药物的耐药性及耐药基因检测[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(5): 1367-1373.
Wang X J, Tan A J, Lv S M, et al. Detection of Resistance and Resistance Genes of Swine *Escherichia coli* in Guizhou to Tetracyclines [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2018, 45(5): 1367-1373.
- [14] 颜友荣,方向红,王琳琳. 苏中地区猪大肠杆菌的耐药性与耐药基因的试验[J]. 中国兽医杂志, 2018, 52(2): 90-92.
Yan Y R, Fang X H, Wang L L. Drug Resistance and Drug Resistance Genes in Central of Jiangsu [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2018, 52(2): 90-92.
- [15] Wu S I, Dalsgaard A, Hammerum AM, et al. Prevalence and characterization of plasmids carrying sulfonamide resistance genes among *Escherichia coli* from pigs, pig carcasses and human [J]. Acta Vet Scand. 2010, 30(6): 1-7.
- [16] Margarita Trobos, Henrik Christensen, Marianne Sunde, et al. Characterization of sulphonamide-resistant *Escherichia coli* using comparison of sul2 gene sequences and multilocus sequence typing [J]. Microbiology, 2009, 155: 831-836.
- [17] Hadis Arabi, Iraj Pakzad, Ayat Nasrollahi. Sulfonamide Resistance Genes (sul) M in Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) and Non-ESBL Producing *Escherichia coli* Isolated From Iranian Hospitals [J]. Jundishapur J Microbiol, 2015, 8(7): e19961.
- [18] 陆彦,晏志勋,赵红玉,等. 印第安纳沙门氏菌对氯霉素类药物耐药性分析[J]. 微生物学通报, 2013, 40(7): 1225-1230.
Lu Y, Yan Z X, Zhao H Y, et al. Resistance analysis of *Salmonella* Indiana to the chlmpenicols [J]. Microbiology China, 2013, 40(7): 1225-1230.
- [19] Moore J E, Watabe M, Millar B C, et al. Molecular characterization of verocytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 by random amplification of polymorphic DNA (RAPD) typing [J]. Br J Biomed Sci, 2008, 65(3): 161-163.
- [20] 陈荣忠,向荣,莫和国,等. 社区获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 RAPD 基因分型及药敏分析[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(5): 530-534.
Chen R Z, Xiang R, Mo H G, et al. RAPD genotyping and drug sensitivity analysis of community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus* [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2018, 43(5): 530-534.