



KẾT QUẢ KHẢO SÁT *Escherichia coli* SINH BETA-LACTAMASE PHỔ RỘNG TRÊN GÀ TẠI MỘT SỐ CƠ SỞ GIẾT MỒ Ở TỈNH VĨNH LONG

Bùi Thị Lê Minh, Lưu Hữu Mạnh và Nguyễn Nhật Xuân Dung

Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/08/2016

Ngày chấp nhận: 25/10/2016

Title:

Study on extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* on chickens from slaughterhouses in Vinh Long province

Từ khóa:

E. coli, ESBL, blaCTX-M, blaTEM, blaSHV, gà, cơ sở giết mổ

Keywords:

E. coli, ESBL, blaCTX-M, blaTEM, blaSHV, chickens, slaughterhouse

ABSTRACT

The study was conducted to determine the prevalence of infection and detection of genes coding for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) on *E. coli* isolated from chickens at slaughterhouses in Vinh Long province. Overall, 180 samples (45 lung samples, 45 liver samples, 45 meat samples and 45 fecal samples) of 45 chickens at three slaughterhouses were analyzed by the combined disk diffusion method. The results showed that 51.11% of chickens infected ESBL-producing *E. coli* in all slaughterhouses. From chickens with positive results, 69 ESBL-producing *E. coli* isolates were selected for the antibiotic susceptibility test to 13 antibiotics by Kirby-Bauer disk diffusion method. The results additionally indicated that these isolates were resistant to 1-9 antibiotics. The resistance was most frequently observed to beta-lactams including ampicillin (100%), cefaclor (100%) and cefuroxime (98.55%); however, these isolates were still sensitive to amikacin (98.55%) and fosfomycin (84.06%). Through 10 tested isolates by PCR method, the prevalence of blaCTX-M, blaTEM and blaSHV genes was determined to be 100%, 90% and 80% respectively.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định tỷ lệ nhiễm và phát hiện gene mã hóa beta-lactamase phổ rộng (ESBL) trên *E. coli* phân lập từ gà tại một số cơ sở giết mổ ở tỉnh Vĩnh Long. Tổng cộng có 180 mẫu (45 mẫu phổi, 45 mẫu gan, 45 mẫu thịt và 45 mẫu phân) của 45 con gà từ ba cơ sở giết mổ ở tỉnh Vĩnh Long được kiểm tra bằng phương pháp đĩa kết hợp. Kết quả nghiên cứu cho thấy, 51.11% gà nhiễm *E. coli* sinh ESBL ở cả ba cơ sở giết mổ. Từ những con gà dương tính, 69 chủng *E. coli* sinh ESBL được kiểm tra tính nhạy cảm với 13 loại kháng sinh bằng phương pháp đĩa khuếch tán Kirby-Bauer. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chủng vi khuẩn này đề kháng từ 1 - 9 loại kháng sinh. Sự đề kháng cao nhất đối với các kháng sinh nhóm beta-lactam: ampicillin (100%), cefaclor (100%) và cefuroxime (98,55%). Tuy nhiên, các chủng vi khuẩn này vẫn còn nhạy cảm cao với kháng sinh amikacin (98,55%), fosfomycin (84,06%). Qua kiểm tra 10 chủng vi khuẩn bằng phương pháp PCR, sự hiện diện của gen blaCTX-M, blaTEM and blaSHV được xác định lần lượt là 100%, 90% và 80%.

Trích dẫn: Bùi Thị Lê Minh, Lưu Hữu Mạnh và Nguyễn Nhật Xuân Dung, 2016. Kết quả khảo sát *Escherichia coli* sinh beta-lactamase phổ rộng trên gà tại một số cơ sở giết mổ ở tỉnh Vĩnh Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 2): 1-5.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *E. coli* là một trong những nguyên nhân gây ngộ độc thực phẩm ở người. *E. coli* cũng là vi khuẩn thường trú trong đường ruột người và vật nuôi, chúng được xem là yếu tố chỉ thị cho sự nhiễm bẩn phân trên thực phẩm. Kháng sinh nhóm beta-lactam được sử dụng rộng rãi để điều trị bệnh cho người và vật nuôi đã dẫn đến sự chọn lọc cơ chế đề kháng kháng sinh ở các chủng vi khuẩn *E. coli* không gây bệnh và gây bệnh. Sự đề kháng với các kháng sinh beta-lactam ở vi khuẩn *E. coli* được biết đến do tạo ra beta-lactamase phổ rộng (Extended spectrum beta-lactamase: ESBL). Men này làm thủy phân vòng beta-lactam do đó kháng sinh bị bất hoạt (Laura *et al.*, 2002). Hiện nay, vi khuẩn kháng thuốc ngày càng nhiều và đề kháng kháng sinh là vấn đề đang được quan tâm nghiên cứu trên thế giới. Kết quả nghiên cứu gần đây của các nhà khoa học trên thế giới cho thấy, tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL trên thịt gà tương đối cao như ở Hà Lan, Đan Mạch, Pháp, Đức lần lượt là 77% (68/80), 3,3% (4/121), 43% (15/35) và 34% (50/149) và phát hiện *E. coli* sinh ESBL phân lập từ người, gà, bò, heo mang gen blaCTX-M15 mã hóa ESBL tương đồng với nhau, các gen này có thể truyền từ vật nuôi sang người và truyền ngang giữa các dòng vi khuẩn thông qua plasmid (Cóilín Nunan and Richard Young, 2012). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát hiện trạng nhiễm và mức độ phát hiện các gen mã hóa beta-lactamase phổ rộng ở vi khuẩn *E. coli* phân lập từ gà và môi trường giết mổ tại một số cơ sở giết mổ gia cầm ở tỉnh Vĩnh Long.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Mẫu được thu thập từ 3 cơ sở giết mổ gia cầm ở tỉnh Vĩnh Long, trong đó cơ sở giết mổ A tọa lạc tại huyện Long Hồ có công suất giết mổ 2.000 con/ngày đêm với dây chuyền giết mổ treo bán công nghiệp, cơ sở giết mổ B tọa lạc tại huyện Mang Thít hoạt động dưới hình thức giết mổ thủ công có công suất 1.000 con/ngày đêm, cơ sở giết mổ C tọa lạc tại huyện Bình Minh dưới hình thức giết mổ thủ công có công suất 300 - 500 con/ngày đêm. Mỗi cơ sở được khảo sát môi trường giết mổ gồm nguồn nước sử dụng, nước vật lông, nước thải và mẫu tampon sàn giết mổ. 180 mẫu gồm gan, phổi, thịt và phân của 45 con gà thu thập tại ba cơ sở giết mổ. Số lượng gà thu thập tại mỗi cơ sở dựa theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia kỹ thuật lấy và bảo quản mẫu thịt tươi từ các cơ sở giết mổ và kinh doanh thịt để kiểm tra vi sinh vật (QCVN 01-04:2009/BNNPTNT).

Hóa chất và môi trường sử dụng gồm MacConkey agar, Mueller Hinton agar, Simmons citrate agar, Methyl Red - Voges Proskauer, nutrient agar, nutrient broth, trypton, thuốc thử Kovac, methyl red, Mytaq Mix 2X. Các loại môi cho phản ứng PCR, nước cất, 100bp DNA ladder, agarose, Ethidium bromide, các loại đĩa giấy kháng sinh.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp phân lập *E. coli* sinh beta-lactamase phổ rộng

Mẫu được cấy trên môi trường thạch MacConkey có bổ sung ceftazidime 2mg/l, ủ ở 37°C trong 24 giờ. Sau nuôi cấy, mỗi mẫu dương tính chọn khuẩn lạc *E. coli* điển hình kiểm tra đặc tính sinh hóa sinh indol, methyl red, voges proskauer và citrate. Các khuẩn lạc *E. coli* tiếp tục được kiểm tra đặc tính sinh beta-lactamase phổ rộng bằng phương pháp đĩa kết hợp (CLSI, 2014).

2.2.2 Phương pháp kiểm tra tính đề kháng với kháng sinh của vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL được kiểm tra tính nhạy cảm với 13 loại kháng sinh bằng phương pháp đĩa khuếch tán Kirby-Bauer. Các kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu gồm ampicillin (10 µg), cefuroxime (30 µg), cefaclor (30 µg), gentamicin (10 µg), streptomycin (10 µg), kanamycin (30 µg), amikacin (30 µg), tetracycline (30 µg), doxycycline (30 µg), norfloxacin (10 µg), ofloxacin (5 µg), fosfomycin (50 µg), trimethoprim + sulfamethoxazole (1,25/23,75 µg). Kết quả xác định mức độ nhạy cảm, trung gian và kháng của vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL đối với kháng sinh dựa theo tiêu chuẩn CLSI (2014).

2.2.3 Phương pháp xác định gen mã hóa beta-lactamase phổ rộng

Gen mã hóa beta-lactamase phổ rộng được xác định bằng phương pháp PCR. Mẫu DNA của vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL được chiết tách bằng phương pháp sốc nhiệt. Nghiên cứu sử dụng cặp mồi F: 5'-ATGAGTATTCAACATTTCCG-3' và R: 5'-TTACTGTCATGCCATCC-3' để khuếch đại đoạn gen blaTEM có chiều dài 351 bp (Rasheed *et al.*, 2000); cặp mồi F: 5'-ACTGAATGAGGCGCTTCC-3' và R: 5'-ATCCCGCAGATAAATCACC-3' để khuếch đại đoạn gen blaSHV có chiều dài 297 bp (Gniadkowski *et al.*, 1998) và cặp mồi F: 5'-CGCTTTGCGATGTGCAG-3' và R: 5'-ACCGCGATATCGTTGGT-3' để khuếch đại đoạn gen blaCTX-M có chiều dài 550 bp (Bonnet *et al.*, 2000). Phản ứng khuếch đại DNA được thực hiện trong một chu trình nhiệt theo Lucena *et al.* (2012).

2.2.4 Phương pháp phân tích thống kê

Số liệu so sánh tỷ lệ được phân tích thống kê bằng phương pháp Chi-square test, sử dụng phần mềm Minitab version 16.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả phân lập E. coli sinh ESBL trên phân gà và môi trường giết mổ

Kết quả khảo sát môi trường giết mổ cho thấy, sản giết mổ ở 3 cơ sở giết mổ gia cầm ở tỉnh Vĩnh Long đều có sự hiện diện của E. coli sinh ESBL, ngoài ra E. coli sinh ESBL còn hiện diện trong nước vật lông và nước thải nhưng chưa phát hiện vi khuẩn này trong nguồn nước sử dụng ở các cơ sở giết mổ này. Kết quả nghiên cứu đã chứng minh sản giết mổ, nước vật lông và nước thải là nguồn chứa vi khuẩn E. coli sinh ESBL, do đó các chủ cơ sở giết mổ cần quan tâm đến vệ sinh sát trùng khu vực giết mổ, thay nước vật lông trong khoảng thời gian xác định và xây dựng hệ thống xử lý chất thải hoàn chỉnh để tránh sự phát tán các vi khuẩn E. coli gây bệnh cũng như vi khuẩn E. coli đề kháng kháng sinh ra cộng đồng.

Bảng 1: Kết quả phát hiện E. coli sinh ESBL trên môi trường giết mổ

Môi trường giết mổ	Số mẫu khảo sát (cơ sở giết mổ)	Số mẫu dương tính (cơ sở giết mổ)	Tỷ lệ dương tính (%)
Sàn giết mổ	3	3	100
Nước sử dụng	3	0	0,00
Nước vật lông	3	1	33,33
Nước thải	3	1	33,33

Bảng 2: Kết quả phát hiện E. coli sinh ESBL trên phân gà

Cơ sở giết mổ	Số mẫu khảo sát (con gà)	Số mẫu dương tính (con gà)	Tỷ lệ dương tính (%)
A	15	6	13,33
B	15	7	15,56
C	15	10	22,22
Tổng	45	23	51,11

Ngoài ra, kết quả nghiên cứu còn cho thấy, tỷ lệ nhiễm E. coli sinh ESBL ở mẫu phân gà tại các cơ sở giết mổ khá cao (51,11%). Đây có thể là nguồn lây nhiễm vào thân thịt trong quá trình giết mổ và lan truyền vi khuẩn E. coli sinh ESBL ra môi

3.3 Kết quả kiểm tra tính đề kháng với kháng sinh của E. coli sinh ESBL

Vi khuẩn E. coli sinh ESBL phân lập từ gà ở cơ sở giết mổ nhạy cảm với amikacin 98,55%, fosfomycin 84,06%, và doxycycline 62,32%,

trường xung quanh nếu các cơ sở giết mổ không quan tâm đến vấn đề xử lý chất thải. Theo Hetty Blaak et al. (2014), E. coli sinh ESBL không chỉ hiện diện trên gà mà còn có thể truyền sang người thông qua nguồn nước, trong đó ruồi có thể làm lan truyền E. coli sinh ESBL từ gà sang người. Chúng có thể di chuyển từ nơi này sang nơi khác và làm vấy nhiễm vi khuẩn vào thực phẩm của con người. Tại Bồ Đào Nha, Costa et al. (2009) thu thập 76 mẫu phân gà thịt tại cơ sở giết mổ, kết quả có 38,2% (29/76) mẫu có sự hiện diện của E. coli sinh ESBL. Tại Nhật, Hiroi et al. (2012) cũng đã khảo sát E. coli sinh ESBL trên mẫu phân của 30 gà thịt và 17 gà đẻ tại các cơ sở giết mổ, kết quả cho thấy sự hiện diện của E. coli sinh ESBL ở mẫu phân gà thịt và gà đẻ lần lượt là 60% và 5,9%.

3.2 Kết quả khảo sát E. coli sinh ESBL trên thân thịt gà

Trên thân thịt gà, vi khuẩn E. coli sinh ESBL hiện diện ở nhiều tổ chức khác nhau như gan (6,67%), phổi (24,4%) và thịt (26,67%). Sự hiện diện E. coli sinh ESBL trong các tổ chức có thể do bị nhiễm khuẩn trong quá trình giết mổ. Kết quả ở Bảng 1 cho thấy, nền sàn giết mổ và nước vật lông có sự hiện diện E. coli sinh ESBL là một trong những nguyên nhân vấy nhiễm vi khuẩn lên thân thịt bởi vì các con gà được vật lông con trong cùng một cái bể hay chậu nước, sau đó gà được mổ lấy ruột và đặt trên nền sàn. Ngoài ra, sự hiện diện E. coli sinh ESBL trong các tổ chức có thể do gà trước khi giết mổ đã mang trùng. Điều này có thể giải thích, E. coli là vi khuẩn thường trú ở đường ruột, chúng được thải chủ yếu qua phân và có thể truyền qua đường tiêu hóa, vết thương ngoài da, niêm mạc bị tổn thương tạo điều kiện cho sự bám dính của vi khuẩn E. coli. Vi khuẩn đi vào máu gây nhiễm trùng huyết và đi đến các cơ quan (Barnes et al., 2008; Ramirez et al., 2009).

Bảng 3: Tỷ lệ nhiễm E. coli sinh ESBL trên các loại mẫu

Loại mẫu	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)
Gan	45	3	6,67 ^a
Phổi	45	11	24,4 ^b
Thịt	45	12	26,67 ^b

^{a,b}: Những giá trị mang chữ số mũ khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (P=0,000)

ngược lại chúng đề kháng rất cao với các kháng sinh nhóm ampicillin và cefaclor đồng tỷ lệ 100%, cefuroxime 98,55% và trimethoprim+sulfamethoxazole 78,26%. Ngoài ra, các chủng vi khuẩn này còn đa kháng từ 3 đến 11 loại kháng sinh với 69 kiểu hình đa kháng.

Bảng 4: Tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL đề kháng và nhạy cảm với kháng sinh

Tên kháng sinh	Số chủng kiểm tra (n = 69)					
	Nhạy		Trung gian		Kháng	
	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Ampicillin	0	0,00	0	0,00	69	100
Cefuroxime	0	0,00	1	1,45	68	98,55
Cefaclor	0	0,00	0	0,00	69	100
Gentamicin	15	21,74	4	5,80	50	72,46
Streptomycin	2	2,90	6	8,70	61	88,40
Kanamycin	20	28,98	2	2,90	47	68,12
Amikacin	68	98,55	0	0,00	1	1,45
Tetracycline	9	13,04	19	27,54	41	59,42
Doxycycline	43	62,32	22	31,88	4	5,79
Norfloxacin	37	53,62	7	10,15	25	36,23
Ofloxacin	43	62,32	11	15,94	15	21,74
Fosfomycin	58	84,06	2	2,90	9	13,04
Trimethoprim+sulfamethoxazole	14	20,29	1	1,45	54	78,26

3.4 Kết quả xác định gen blaCTX-M, blaTEM và blaSHV mã hóa ESBL

10 chủng vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL phân lập từ gan (2 chủng), phổi (3 chủng), thịt (2 chủng) và phân (3 chủng) được xác định các gen blaCTX-M, blaTEM và blaSHV mã hóa ESBL. Kết quả cho thấy, các gen này hiện diện với tỷ lệ cao lần lượt là 100%, 90% và 80%. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu còn phát hiện có 3 kiểu hiện diện các gen này trên vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL. Sự hiện diện độc lập gen blaCTX-M trên 1 chủng vi khuẩn phân lập từ gan, hiện diện đồng thời 2 gen blaCTX-M và blaTEM trên 1 chủng vi khuẩn phân lập từ phổi, các chủng vi khuẩn còn lại hiện diện đồng thời 3 gen blaTEM, blaCTX-M và blaSHV. Sự hiện diện của nhiều gen mã hóa beta-lactamase phổ rộng trên 1 chủng *E. coli* sinh ESBL sẽ gây khó khăn cho công tác điều trị bệnh nhiễm khuẩn *E. coli* bởi vì vi khuẩn sẽ đa kháng với thuốc kháng sinh do các ESBL có mức độ hoạt động kháng lại các cephalosporin khác nhau, chẳng hạn như blaTEM và blaSHV có khả năng phân giải ceftazidime, blaCTX-M có khả năng phân giải cefotaxime, ceftriaxone và cefpodoxime (Rossolini *et al.*, 2008).

Bảng 5: Tỷ lệ phát hiện gen blaTEM, blaCTX-M và blaSHV

Gen	Số chủng vi khuẩn kiểm tra (n=10)	
	Số chủng vi khuẩn dương tính	Tỷ lệ (%)
BlaCTX-M	10	100
BlaTEM	9	90
BlaSHV	8	80

Bảng 6: Các kiểu hiện diện gen blaTEM, blaCTX-M và bla SHV trên *E. coli* sinh ESBL

Kiểu hiện diện gen	Số chủng vi khuẩn kiểm tra (n=10)	
	Số chủng vi khuẩn dương tính	Tỷ lệ (%)
BlaCTX-M	1	10
BlaCTX-M + blaTEM	2	20
BlaCTX-M + blaTEM + blaSHV	7	70

4 KẾT LUẬN

Đây là nghiên cứu đầu tiên về sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL trên gà từ cơ sở giết mổ gia cầm ở tỉnh Vĩnh Long. Nghiên cứu này đã xác định được tỷ lệ cao vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL và gen blaCTX-M, blaTEM và blaSHV trên gà từ cơ sở giết mổ. Vì vậy, rất cần thiết để tăng cường giám sát và kiểm soát sự lây lan của các chủng vi khuẩn đề kháng thuốc kháng sinh trong cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Barnes H.J, Nolan L.K, and Vaillancourt J.P., 2008. Colibacillosis, Diseases of poultry, 12th edition. Blackwell Publishing Company, 691-737.

Bonnet R., Sampaio J.L.M., Labia R., De Champs C., Sirot D., Chanal C., Sirot J., 2000. A novel CTX-M β-lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae isolated in Brazil. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 44 (7):1936-1942.

Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-second informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S24, 34 (1): 50-57&110-112.

- Cóilín Nunan and Richard Young, 2012. E. coli superbugs on farm and food. Soil Association, 38-56.
- Costa D., Laura Vinué, Patricia Poeta, Ana Cláudia Coelho, Manuela Matos, Yolanda Salenz, Sergio Somalo, Myriam Zarazaga, Hernandez Rodrigues, Cannen Torres, 2009. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates in faecal samples of broilers. *Veterinary Microbiology*, 138:339-344.
- Gniadkowski Marek, Pawel Grzesiowski, Pawel Grzesiowski, Andwaleria Hryniewicz, 1998. Outbreak of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric hospital, in Warsaw, Poland: clonal spread of the TEM-47 extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing strain and transfer of a plasmid carrying the SHV-5-like ESBL-encoding gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42(12):3079-3085.
- Hetty Blaak, Raditijo A. Hamidjaja, Angela H. A. M. van Hoek, Lianne de Heer, Ana Maria de Roda Husman, and Franciska M. Schets, 2014. Detection of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* on Flies at Poultry Farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(1):239-246.
- Hiroi M., Fumie Yamazaki, Tetsuya Harada, Naomi Takahashi, Natsuko Iida, Yoshihiro Noda, Miya Yagi, Tomohiro Nishio, Takashi Kanda, Fumihiko Kawamori, Kanji Sugiyama, Takashi Masuda, Yukiko Harakudo and Norio Ohashi, 2012. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in food-producing animals. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(2): 189-195.
- Laura Briñas, Myriam Zarazaga, Yolanda Salenz, Fernanda Ruiz-Larrea and Carmen Torres, 2002. β -lactamases in ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolated from foods, humans, and healthy animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol 46.
- Lucena M.A.H, Ephrime B. Metillo, and Jose M. Oclarit, 2012. Prevalence of CTX-M Extended spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae at a Private Tertiary Hospital in Southern Philippines. *Philippine Journal of Science*. 141 (1): 117-121.
- Ramirez R.M, Almanza Y., Garcia S., Heredia N., 2009. Adherence and invasion of avian pathogenic *Escherichia coli* to avian tracheal epithelial cells. *World J. Microbiol. Biotechnol*, 25: 1019-1023.
- Rasheed J.K., Anderson G.J., Yigith H., Queenan A.M., Doménech-SalInchez A., Swenson J.M., Biddle J. W., Jacoby G. A., Tenover F. C., 2000. Characterization of the extended-spectrum β -lactamase reference strain, *Klebsiella pneumoniae* K6 (ATCC 700603), which produces the novel enzyme SHV-18. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44 (9): 2382-2388.
- Rossolini G.M. , D'Andrea M.M. and Mugnaioli C., 2008. The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 14: 33-41.