

动物性食品源大肠杆菌质粒介导喹诺酮的耐药机制研究

姜晓冰¹, 张家洋², 王艳博³, 于涛³, 姬生栋¹, 孟赫诚⁴, 石磊⁴

(1. 河南师范大学生命科学学院, 河南新乡 453007) (2. 新乡学院生命科学技术学院, 河南新乡 453000)

(3. 新乡学院化学化工学院, 河南新乡 453000) (4. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 本研究以动物性食品源大肠杆菌为研究对象, 采用琼脂二倍稀释法调查菌株对抗生素的药物敏感性, 通过 PCR 扩增及产物测序检测质粒介导喹诺酮耐药 (PMQR) 基因的分布以及喹诺酮耐药决定区 (QRDR) 靶基因突变, 旨在更好的了解食源性大肠杆菌对喹诺酮类药物产生耐药性的分子机制。645 份动物性食品样品中共检出大肠杆菌 179 株, 总检出率为 27.7%。179 株动物性食品源大肠杆菌对 15 种抗生素均表现出不同程度的耐药性, 其中对四环素、链霉素、茶啉酸和复方新诺明的耐药水平较高。PMQR 基因阳性菌株共 14 株, 占受试菌株的 7.8%, 其中有 11 株能通过接合转移将 PMQR 基因转移至受体菌中。QRDR 靶位突变在 PMQR 阳性菌株中普遍存在, 介导菌株对喹诺酮的高水平耐药。研究结果表明, 动物性食品可能成为耐药菌株的潜在“蓄水池”, 并通过食物链将耐药性传递给人类, 从而引起人类的感染以及耐药菌株的流行。

关键词: 大肠杆菌; 动物性食品; 喹诺酮耐药

文章编号: 1673-9078(2016)1-58-64

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.009

Mechanism of Plasmid-mediated Quinolone Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Animal-derived Food

JIANG Xiao-bing¹, ZHANG Jia-yang², WANG Yan-bo³, YU Tao³, JI Sheng-dong¹, MENG He-cheng⁴, SHI Lei⁴

(1.College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

(2.College of Life Science and Technology, Xinxiang University, Xinxiang 453000, China)

(3.College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinxiang University, Xinxiang 453000, China)

(4.College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: *Escherichia coli* was isolated from animal-derived food samples and the antibiotic susceptibility of isolated strains was investigated by agar dilution method. The distribution of plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes and mutations in the quinolone resistance-determining region (QRDR) were analyzed by the polymerase chain reaction (PCR) amplification and product sequencing. A total of 179 strains of *E. coli* were detected (27.7%) in 645 animal-derived food samples. The resistance of these isolates to 15 different antibiotics was observed, with high level of resistance to streptomycin, tetracycline, nalidixic acid, and trimethoprim/sulfamethoxazole. Fourteen strains were PMQR-gene positive, accounting for 7.8% of the test strains, and 11 of the PMQR-positive strains could transfer quinolone resistance to the recipient through conjugation. Mutations in QRDR were prevalent among the PMQR-positive isolates, which could be responsible for the high-level resistance to quinolone. Our results demonstrate that animal-derived food may act as a reservoir for drug-resistant strains and can be a channel for transfer of resistant genes to humans via the food chain, thus causing human infection and a possible outbreak of drug-resistant strains.

Key words: *Escherichia coli*; animal-derived food; quinolone resistance

收稿日期: 2015-04-01

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目 (15A180006); 河南省现代农业产业技术体系资助项目 (Z2012-04-02)

作者简介: 姜晓冰 (1984-), 女, 博士, 讲师, 主要从事食品微生物安全方面的研究

通讯作者: 石磊 (1961-), 男, 博士, 教授

大肠杆菌具有致病性、条件致病性和非致病性等多样性特点, 并且是人和动物肠道内的共生菌, 也是食品卫生监测的重要指示菌^[1-2]。为了防治食源性致病菌的危害, 常常在畜禽生产过程中使用抗菌药物, 抗菌药物的不合理使用会导致致病菌产生耐药性。大肠杆菌不仅可以通过自身基因突变和捕获外源耐药基因

产生耐药性,还能够将耐药基因进行垂直和水平传播,成为动物体内潜在的耐药基因库^[3]。这些耐药菌株还可能通过食物链进入人体,对人类健康造成威胁。

喹诺酮类抗生素,是由萘啶酸发展起来的全合成抗菌药物,具有独特的作用机制、优秀的药物动力学性能和抗菌活性等特性。随着喹诺酮类药物在临床和兽医上的广泛应用,大肠杆菌对此类药物的耐药性日趋严重^[1,3]。以往的研究显示,大肠杆菌对喹诺酮类的耐药机制主要是由染色体介导,包括 DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV 的喹诺酮耐药决定区(quinolone resistance-determining region, QRDR)突变、主动外排系统表达增强以及膜孔蛋白缺失^[4]。1998 年 Mart ínez-Mart ínez 等首次证实由质粒介导的喹诺酮耐药,并将该耐药基因命名为 *qnrA*^[5]。随后,质粒介导的喹诺酮类耐药(plasmid-mediated quinolone resistance, PMQR)基因 *qnrS*、*qnrB*、*aac (6')-Ib-cr*、*qepA*、*qnrC* 和 *qnrD* 等也相继被报道^[4]。大量研究表明,PMQR 基因通常位于一些大小不等的可接合质粒上。尽管 PMQR 基因只介导低水平耐药,但是这些基因的存在不仅有利于使菌株对喹诺酮类产生高水平耐药,还能通过基因水平转移传播耐药性导致多重耐药菌株的流行。目前,国内外关于 PMQR 基因在大肠杆菌中的分布情况研究较多,但是这些大肠杆菌菌株多为临床分离株,也有来自环境和食品动物的分离株^[6-7],而针对食品源大肠杆菌的研究却鲜有报道。

随着抗生素作为生长促进剂在畜牧业中的广泛应用,动物性食品源细菌的耐药性问题日趋严重。这些耐药菌株可以通过多种途径传播并经食物链进入人体,最终危及人体健康。研究动物性食品源大肠杆菌的药敏特征及耐药机制有助于人们从食物链的源头和动物性食品的生产中采取合理的干预措施,从而减少和防止大肠杆菌耐药性的产生,保障食品安全。鉴于此,本研究对动物性食品样品中大肠杆菌的污染状况进行调查,检测菌株对不同抗生素的药物敏感性;同时检测 PMQR 基因的分布情况以及 QRDR 靶基因突变,旨在更好的了解食源性大肠杆菌对喹诺酮类药物产生耐药性的分子机制。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2007 年 8 月至 2009 年 9 月从河南省新乡市各大超市和农贸市场采集生肉样品 645 份,包括 183 份猪肉,136 份牛肉,235 份鸡肉和 91 份羊肉。样品在 2 h 内运送至实验室进行后续操作。样品的采集和处理按

照中华人民共和国国家标准 GB/T 4789.1-2003 食品卫生微生物学检验总则中规定的方法进行。

1.2 标准菌株

质控菌株大肠埃希氏菌 ATCC25922 及铜绿假单胞菌 ATCC27853 由海军总医院检验科惠赠;PMQR 阳性对照株和接合转移受体菌(大肠杆菌 J53Az^r)由复旦大学华山医院抗生素研究所王明贵教授惠赠。

1.3 试剂与仪器

EC 肉汤、EMB 琼脂,北京陆桥技术有限责任公司;API 20E 生化试剂条,法国 BioMerieux 公司;用于 PCR 扩增的试剂,大连宝生物工程有限公司;扩增引物,上海英骏生物技术有限公司;15 种抗生素:氨苄西林(AMP)、氨苄西林/舒巴坦(SAM)、头孢他啶(CAZ)、头孢噻肟(CTX)、头孢哌酮(CFP)、头孢吡肟(FEP)、链霉素(STR)、庆大霉素(GEN)、阿米卡星(AMK)、萘啶酸(NAL)、环丙沙星(CIP)、左氧氟沙星(LVX)、复方新诺明(SXT)、四环素(TET)、氯霉素(CHL),美国 Sigma 公司。

均质袋,美国 Biospec 公司;拍击式均质器,上海本昂科学仪器有限公司;基因扩增仪,杭州朗基科学仪器有限公司;电泳仪,北京市六一仪器厂;凝胶成像分析系统,美国 Bio-Rad。

1.4 方法

1.4.1 样品中大肠杆菌的分离与鉴定

以无菌操作取样品 25 g 放入含有 225 mL 磷酸盐缓冲液的均质袋中,在拍击式均质器上连续均质 1-2 min,取 1 mL 均质液加入含有 10 mL EC 肉汤的试管中,于 44.5 °C 培养 24 h,观察小倒管内是否有气泡产生。对于产气者,用接种环取培养物分别划线接种于 EMB 平板,37 °C 培养 18~24 h。挑取可疑菌落进行革兰氏染色和生化试验,同时利用 API 20E 生化试剂条对鉴定结果做进一步证实。

1.4.2 抗菌药物敏感性试验

采用琼脂二倍稀释法检测细菌对 15 种抗生素的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),按照美国临床实验室标准协会(CLSI)推荐的标准判断药敏结果。以大肠埃希氏菌 ATCC25922 及铜绿假单胞菌 ATCC27853 作为质控菌株。

1.4.3 PCR 扩增 PMQR 基因

采用煮沸法提取细菌总 DNA 制备模板。PMQR 相关基因(*qnrA*、*qnrB*、*qnrC*、*qnrD*、*qnrS*、*aac (6')-Ib* 和 *qepA*)的引物设计及 PCR 反应条件见表 1。扩

增产产物送至上海生工进行 DNA 测序, 并对测序结果进行比对分析。

1.4.4 接合转移试验

选择 PMQR 阳性菌株作为供体菌, 大肠杆菌 J53Az^f (叠氮钠耐药菌株 Lac⁻菌株) 作为受体菌, 接合转移试验参照文献进行^[7]。接合子在含叠氮钠 (150 μg/mL) 和磺胺 (180 μg/mL) 的 TSA 琼脂平板上进行筛选 (为避免诱导耐药不用喹诺酮类筛选)。在筛选平板上生长的菌落同时接种至含和不含环丙沙星 (0.06 μg/mL) 的 TSA 平板, 以了解喹诺酮类耐药是

否同时转移。筛选出的接合子经 PCR 检测 *qnr* 和 (或) *aac* (6') -*Ib* 基因, 并且 *aac* (6') -*Ib* 阳性扩增产物需经测序确定是否为 *aac* (6') -*Ib-cr*。

1.4.5 PCR 检测 QRDR 基因突变

PCR 扩增 PMQR 阳性菌株的 *gyrA*、*gyrB*、*parC* 和 *parE* 基因, 扩增所用引物及反应条件见表 1。扩增产物经测序后, 采用 DNAMAN 软件进行序列拼接、校正和氨基酸序列的推导, 并采用 BLAST 软件将测序结果与 GenBank 数据库进行同源性分析, 以确定 QRDR 靶基因突变情况。

表 1 PCR 扩增引物

Table 1 Primers used for PCR amplification

基因	引物	序列 (5'-3')	扩增产物长度/bp	退火温度/°C
<i>qnrA</i>	QnrA-F	TCAGCAAGAGGATTCTCA	627	48
	QnrA-R	GGCAGCACTATTACTCCCA		
<i>qnrB</i>	QnrB-F	ATGACGCCATTACTGTATAA	562	53
	QnrB-R	GATCGCAATGTGTGAAGTTT		
<i>qnrC</i>	QnrC-F	GGGTTGTACATTTATTGAATC	447	50
	QnrC-R	TCCACTTTACGAGGTTCT		
<i>qnrD</i>	QnrD-F	CGAGATCAATTTACGGGGAATA	582	50
	QnrD-R	AACAAGCTGAAGCGCCTG		
<i>qnrS</i>	QnrS-F	ACCTTCACCGCTTGCACATT	571	57
	QnrS-R	CCAGTGCTTCGAGAATCAGT		
<i>aac</i> (6') - <i>Ib</i>	Aac-F	TGACCTTGCGATGCTCTATG	508	58
	Aac-R	TTAGGCATCACTGCGTGTTTC		
<i>qepA</i>	QepA-F	CGTGTGCTGGAGTTCTTTC	403	55
	QepA-R	CTGCAGGTACTGCGTCATG		
<i>gyrA</i>	GyrA-F	GAGGGATAGCGGTTAGATGAGC	525	58
	GyrA-R	CCGTTCAACCAGCAGGTTAGG		
<i>gyrB</i>	GyrB-F	GCCTTCTTCACTTTGTACAGCG	794	56
	GyrB-R	GTGACGCGGTACTIONCACCTG		
<i>parC</i>	ParC-F	AATGAGCGATATGGCAGAGCG	487	58
	ParC-R	TTGGCAGACGGGCAGGTAG		
<i>parE</i>	ParE-F	TACCGAGCTGTTCTTGTGG	266	58
	ParE-R	GGCAATGTGCAGACCATCAG		

2 结果与讨论

2.1 动物性食品中大肠杆菌的分离情况

645 份动物性食品样品中共检出大肠杆菌 179 株, 总检出率为 27.7%。史秋梅等^[9]从河北省不同地区集贸市场和超市采样, 发现生肉中大肠杆菌的阳性率为 18.9%; 只帅等^[10]研究发现采集自陕西省的生肉中大肠杆菌的检出率高达 87.3%。检出率的不同可能与采样地区、采样数量的差异有关, 也可能是由于不同的

分离方法造成。本次检测的动物性食品中大肠杆菌污染最严重的是鸡肉, 其次分别为猪肉、牛肉和羊肉 (表 2)。

2.2 大肠杆菌对抗生素的药物敏感性结果

大肠杆菌对 15 种抗生素的药敏判定标准及敏感、中介和耐药菌株测定结果见表 3。本研究中耐药率为耐药和中介耐药的菌株在所有菌株中所占的比例。由图 1 可见, 179 株大肠杆菌对四环素的耐药率最高, 达 79.9% (143 株); 其次分别为链霉素 (140 株,

78.2%)、萘啶酸 (99 株, 55.3%)、复方新诺明 (97 株, 54.2%)、氨苄西林 (85 株, 47.5%)、氯霉素 (63 株, 35.2%) 和环丙沙星 (58 株, 32.4%); 受试菌株对阿米卡星最敏感, 耐药率仅为 2.2% (4 株)。

表 2 动物性食品中大肠杆菌的分离情况

Table 2 Prevalence of *Escherichia coli* in animal-derived food

生肉样品	样品数量	阳性样品数/%
猪肉	183	52 (28.4)
牛肉	136	37 (27.2)
鸡肉	235	85 (36.2)
羊肉	91	5 (5.5)
合计	645	179 (27.7)

本研究中动物性食品源大肠杆菌对选用的抗生素均表现出不同程度的耐药性, 其中对四环素、链霉素、萘啶酸和复方新诺明的耐药水平较高, 与先前的报道一致^[1,3,10]。受试菌株对这四种抗生素的耐药率与国内

表 3 动物性食品源大肠杆菌药敏结果

Table 3 Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from animal-derived food

抗生素	MIC/ (μg/mL)			菌株数/株		
	敏感	中介	耐药	敏感	中介	耐药
氨苄西林	≤8	16	≥32	94	3	82
氨苄西林/舒巴坦	≤8/4	16/8	≥32/16	164	6	9
头孢他啶	≤4	8	≥16	138	6	35
头孢噻肟	≤1	2	≥4	137	9	33
头孢哌酮	≤16	32	≥64	145	10	24
头孢吡肟	≤8	16	≥32	155	5	19
链霉素	≤32	-	≥64	39	0	140
庆大霉素	≤4	8	≥16	135	0	44
阿米卡星	≤16	32	≥64	174	0	4
萘啶酸	≤16	-	≥32	80	5	94
环丙沙星	≤1	2	≥4	121	5	53
左氧氟沙星	≤2	4	≥8	149	0	30
复方新诺明	≤2/38	-	≥4/76	82	0	97
四环素	≤4	8	≥16	36	10	133
氯霉素	≤8	16	≥32	116	14	49

注: 链霉素无CLSI折点浓度, 本研究参考欧洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 制定的链霉素折点浓度; 复方新诺明的折点浓度=甲氧苄氨嘧啶的折点浓度/磺胺甲基异噁唑的折点浓度。

PMQR 机制的发现改变了人们长期以来认为喹诺酮类耐药仅由染色体介导的观点。迄今为止, 研究者已发现三种 PMQR 机制, 分别是 Qnr 家族蛋白、氨基糖苷乙酰转移酶 AAC (6')-Ib-cr 以及外排泵 QepA 和 OqxAB。Qnr 蛋白能够保护靶酶使其不受喹诺酮类药物的抑制; AAC (6')-Ib-cr 能够乙酰化含游离氨基的喹诺酮类药物, 如诺氟沙星和环丙沙星; QepA 和 OqxAB 能将喹诺酮类药物自菌体泵出体外。目前,

相关的研究结果较为相近, 但是明显高于国外文献中的研究结果, 这可能与我国兽医临床抗生素的超剂量和高频率使用有关, 特别是以抗生素作为促生长和预防用添加剂在健康动物饲料中大量使用有着密切关系。

2.3 大肠杆菌中 PMQR 基因检测结果

179 株食源性大肠杆菌中 PMQR 基因阳性菌株共 14 株, 占受试菌株的 7.8% (表 4); 其中, 3 株携带 *qnrA1* (1.7%), 1 株携带 *qnrB4* (0.6%), 5 株携带 *qnrS1* (2.8%) (图 2)。*aac* (6')-*Ib* 基因阳性菌株共有 15 株 (8.4%), 其中 7 株经测序确认为携带其变体基因 *aac* (6')-*Ib-cr*, 占受试菌株的 3.9% (图 2); 有 2 株 *aac* (6')-*Ib-cr* 基因阳性菌株同时还分别携带 *qnrA1* 和 *qnrS1*。在所有菌株中均未检测到 *qnrC*、*qnrD* 和 *qepA* 基因。

PMQR 基因分布非常广泛, 在许多国家和地区的肠杆菌科细菌中均有检出。除了临床菌株, 从食品动物中分离的肠杆菌科细菌也可检测到此类基因。Yue 等^[11]对我国广东省 232 株禽源和猪源大肠杆菌进行 *qnr* 基因筛查, 14 株阳性菌株中有 1 株携带 *qnrB*, 13 株携带 *qnrS*; Jiang 等^[12]发现从养殖鱼类中分离的 218 株大肠杆菌中分别有 33 株、21 株和 5 株携带 *qnrB*、*qnrS* 和 *qnrD* 基因。然而关于 PMQR 基因在动物性食品源

大肠杆菌中的分布却鲜有报道。本研究的结果显示, 7.8%的受试菌株携带 PMQR 基因, 其中以 *aac (6') -Ib-cr* 和 *qnrS* 基因的检出率较高。Han 等^[6]对我国 292 株大肠杆菌临床分离株研究发现, *qnrA*、*qnrB*、*qnrS* 和 *aac (6') -Ib-cr* 的检出率分别为 1.0%、1.0%、2.1% 和 3.4%; 庄娜等^[13]报道广东省动物源大肠杆菌中 *qnrB*、*qnrS* 和 *aac (6') -Ib-cr* 的检出率分别为 10.5%、18.9% 和 31.5%; Chen 等^[5]对 1022 株分离自人、动物和环境的大肠杆菌进行检测, 结果表明 *qnrA*、*qnrB*、*qnrS* 和 *aac (6') -Ib-cr* 的检出率分别为 0.4%、1.1%、4.2% 和 4.9%。总体而言, *aac (6') -Ib-cr* 和 *qnr* 家族在我国较为流行; *qnr* 家族中以 *qnrS* 基因最为常见。并且, *qnr* 和 *aac (6') -Ib-cr* 基因在不同来源、不同地区大肠杆菌分离株中的分布情况存在一定差异。

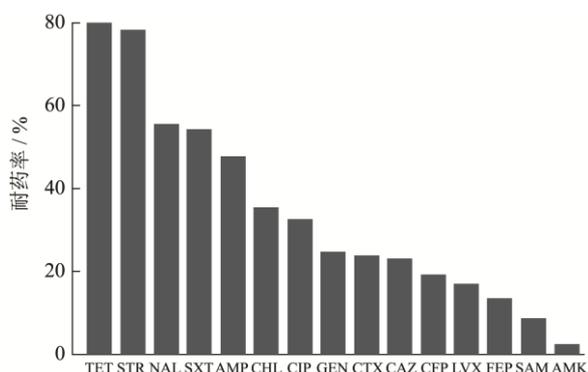


图 1 Antibiotic resistance rates of *Escherichia coli* isolated from animal-derived food

2.4 接合转移试验

接合转移是细菌耐药基因水平转移最容易发生、转移效率最高的方式, 耐药基因的接合转移主要是由具有自主转移功能的接合质粒介导的。本研究以 PMQR 阳性菌株为供体菌、大肠杆菌 J53A_{z'} 为受体菌, 通过接合转移试验检测 PMQR 基因的转移性。结果显示, 14 株 PMQR 阳性菌株中有 11 株接合转移成功(表 4)。在所有接合子中, *qnr* 和 *aac (6') -Ib-cr* 基因的检测方法与相应的供体菌相同, 表明在接合转移过程中两者均发生转移。但是, 两者是位于同一个质粒上一同传播, 还是位于不同的质粒上同时发生转移, 还需要对这些基因进行定位才能确定。药敏结果显示, 11 株接合子对环丙沙星的 MIC 值为 0.032~1 μg/mL, 相对于受体菌来说 MIC 值增加了 4~32 倍; 对左氧氟沙星的 MIC 值为 0.032~0.5 μg/mL, 相对于受体菌来说 MIC 值提高了 2~32 倍。接合子对环丙沙星和左氧氟沙星的耐药性虽然还没有达到临床上定义的耐药折

点, 但是 MIC 值的增加说明转移到受体菌中的 *qnr* 和 *aac (6') -Ib-cr* 确实能发挥喹诺酮耐药的作用, 只是这种耐药作用是低水平的。我们的结果证实携带 PMQR 基因的质粒多数是可接合质粒, 能够在细菌之间进行转移从而导致喹诺酮耐药的传播。

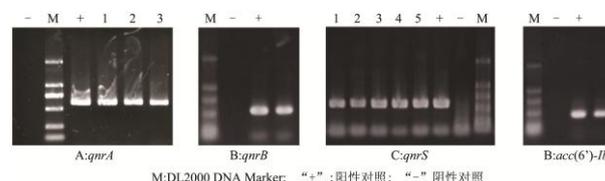


图 2 PMQR 基因的 PCR 扩增结果
Fig.2 PCR amplification of PMQR genes

2.5 QRDR 基因突变

表 4 的结果表明, 作为供体菌的 PMQR 阳性菌株对喹诺酮类的 MIC 值均大于接合子的 MIC 值, 这可能是由于供体菌中还存在其它的耐药机制。通过对供体菌、接合子和受体菌的 QRDR 检测发现, 14 株 PMQR 阳性菌株中有 12 株在 GyrA 亚基和/或 ParC 亚基存在氨基酸突变, 而在 GyrB 和 ParE 亚基中未检出突变; 其相应的接合子及受体菌 J53 的 QRDR 未发现突变。这表明染色体的靶位突变介导较高水平的喹诺酮耐药。12 株大肠杆菌的 GyrA 中发生的 Ser83→Leu 变异为最常见的突变, 同时有 7 株菌的 GyrA 第 87 位发生突变 Asp87→Asn; ParC 亚基的突变类型为 Ser80→Ile。尽管 PMQR 仅能介导低水平的喹诺酮耐药, 但是研究表明 PMQR 阳性菌株在喹诺酮药物的选择压力下更容易发生染色体突变, 或者含染色体突变的菌株在适宜的条件下可以捕获 PMQR 基因, 在这两种情况下菌株同时具有质粒和染色体介导的喹诺酮耐药机制, 导致高水平耐药。

3 结论

本研究首次调查 PMQR 基因在动物性食品源大肠杆菌中的分布及转移。结果显示, 179 株动物性食品源大肠杆菌中共检出 14 株 PMQR 阳性菌株, 其中有 11 株能通过接合转移将 PMQR 基因转移至受体菌中。这些数据表明, 动物性食品可能成为耐药菌株的潜在“蓄水池”, 摄入人体的动物性食品源耐药大肠杆菌菌株把人体肠道作为临时寄居地, 很可能把耐药基因转移至肠道正常菌群甚至致病菌中, 导致耐药性在细菌之间传播, 对人类健康构成潜在的威胁。食品生产企业及卫生监管部门应当加强对动物性食品源细菌耐药性的监测, 以确保动物性食品的安全性。

表4 PMQR 阳性菌株鉴定结果

Table 4 Identification of PMQR-positive isolates

菌株	PMQR 基因	MIC/($\mu\text{g}/\text{mL}$)		QRDR 突变	
		CIP	LVX	GyrA	ParC
ER494	<i>aac (6') -Ib-cr</i>	0.25	0.25	WT	WT
ER93	<i>aac (6') -Ib-cr</i>	64	16	Ser83Leu, Asp87Asn	Ser80Ile
ER153	<i>aac (6') -Ib-cr</i>	1	0.5	Ser83Leu	WT
ER251	<i>aac (6') -Ib-cr</i>	64	8	Ser83Leu, Asp87Asn	Ser80Ile
ER31	<i>aac (6') -Ib-cr</i>	4	2	WT	WT
ER354	<i>qnrA1</i>	2	1	Ser83Leu	Ser80Ile
ER589	<i>qnrA1</i>	4	4	Ser83Leu	Ser80Ile
ER28	<i>qnrA1, aac (6') -Ib-cr</i>	8	2	Ser83Leu	Ser80Ile
ER178	<i>qnrB4</i>	8	8	Ser83Leu, Asp87Asn	WT
ER467	<i>qnrS1</i>	1	0.5	Ser83Leu	WT
ER109	<i>qnrS1</i>	8	4	Ser83Leu, Asp87Asn	Ser80Ile
ER24	<i>qnrS1</i>	8	4	Ser83Leu, Asp87Asn	Ser80Ile
ER65	<i>qnrS1</i>	16	32	Ser83Leu, Asp87Asn	Ser80Ile
ER284	<i>qnrS1, aac (6') -Ib-cr</i>	32	32	Ser83Leu, Asp87Asn	Ser80Ile
ER494T	<i>aac (6') -Ib-cr</i>	0.032	0.032		
ER251T	<i>aac (6') -Ib-cr</i>	0.064	0.032		
ER31T	<i>aac (6') -Ib-cr</i>	0.032	0.032		
ER354T	<i>qnrA1</i>	0.25	0.25		
ER589T	<i>qnrA1</i>	0.25	0.25		
ER28T	<i>qnrA1, aac (6') -Ib-cr</i>	0.5	0.25		
ER178T	<i>qnrB4</i>	0.125	0.25		
ER109T	<i>qnrS1</i>	0.25	0.5		
ER24T	<i>qnrS1</i>	0.25	0.5		
ER65T	<i>qnrS1</i>	0.5	0.5		
ER284T	<i>qnrS1, aac (6') -Ib-cr</i>	1	0.5		
J53	-	0.008	0.016		

注: T代表接合子; J53为受体菌; WT为野生型; Ser, 丝氨酸; Leu, 亮氨酸; Asp, 天冬氨酸; Asn, 天冬酰胺; Ile, 异亮氨酸。

参考文献

- [1] Jiang X, Yu T, Wu N, et al. Detection of *qnr*, *aac(6')-Ib-cr* and *qepA* genes in *Escherichia coli* isolated from cooked meat products in Henan, China [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 187: 22-25
- [2] 李碧霞,游淑珠,邝筱珊,等.LAMP 实时浊度法快速检测肠出血性大肠杆菌 O157 的研究[J].现代食品科技, 2014, 30(7):268-272
- [3] Ryu S H, Lee J H, Park S H, et al. Antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from commercial and cooked foods [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 159: 263-266
- [4] Hernández A, Sánchez M B, Martínez J L. Quinolone resistance: much more than predicated [J]. Frontiers in Microbiology, 2011, 2: 22
- [5] Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby G A. Quinolone resistance from a transferable plasmid [J]. Lancet, 1998, 351: 797-799
- [6] Chen X, Zhang W, Pan W, et al. Prevalence of *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA*, and *oqxAB* in *Escherichia coli* isolates from humans, animals, and environment [J]. Antimicrobial

- Agents and Chemotherapy, 2012, 56: 3423-3427
- [7] Han C, Yang Y, Wang M, et al. The prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants among clinical isolates of ESBL or AmpC-producing *Escherichia coli* from Chinese pediatric patients [J]. Microbiology and Immunology, 2010, 54: 123-128
- [8] Tausova D, Dolejska M, Cizek A, et al. *Escherichia coli* with extended-spectrum β -lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in great cormorants [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2012, 67: 1103-1107
- [9] 史秋梅,张艳英,高桂生,等.河北省部分地区肉、蛋食品大肠杆菌污染状况的检测[J].河北科技师范学院学报, 2012, 26(4):7-11
SHI Qiu-mei, ZHANG Yan-ying, GAO Gui-sheng, et al. Analysis on pathogenic germ *E. coli* in meat and eggs from Hebei province of China [J]. Journal of Hebei Normal University of Science and Technology, 2012, 26(4): 7-11
- [10] 只帅,席美丽,刘攻关,等.陕西部分地区不同食源性大肠杆菌耐药性检测[J].中国食品学报,2011,11(1):196-201
ZHI Shuai, XI Mei-li, LIU Gong-guan, et al. Drug resistance detection of *Escherichia coli* from different food origins in some districts of Shaanxi province [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(1): 196-201
- [11] Yue L, Jiang H X, Liao X P, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in poultry and swine clinical isolates of *Escherichia coli* [J]. Veterinary Microbiology, 2008, 132(3): 414-420
- [12] Jiang H, Tang D, Liu Y, et al. Prevalence and characteristics of β -lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* isolated from farmed fish in China [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2012, 67(10): 2350-2353
- [13] 庄娜,陈雪影,岳磊,等.动物源大肠杆菌 PMQR 基因流行性检测[J].中国农业科学,2012,45(10):2052-2057
ZHUANG Na, CHEN Xue-ying, YUE Lei, et al. Detection of PMQR gene in *Escherichia coli* isolated from animals [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(10): 2052-2057