

新疆昌吉地区猪源喹诺酮耐药大肠杆菌 PMQR 因子检测及分析

夏绪进 程伟华 夏利宁* 苏战强 林亚军

(新疆农业大学 动物医学学院,乌鲁木齐 830052)

摘要 为了解2013年新疆昌吉地区猪源喹诺酮类耐药大肠杆菌携带质粒介导喹诺酮耐药基因的流行情况,采用PCR方法对355株喹诺酮耐药猪源大肠杆菌进行PMQR因子(*qnrA*、*qnrB*、*qnrC*、*qnrD*、*qnrS*、*qepA*、*oqxA*、*oqxB*和*aac(6′)-Ib-cr*)检测,对目的条带进行DNA测序确定基因型。结果显示:该地区猪源喹诺酮耐药大肠杆菌PMQR因子的携带率高达86.8%(308/355),其中42.9%(152/355)的菌株携带2种PMQR因子,11.3%(40/355)的菌株携带3种PMQR因子,6.5%(23/355)的菌株携带4种PMQR因子;检出率较高的PMQR因子有*qnrS*(62.5%,222/355)、*aac(6′)-Ib-cr*(55.8%,198/355)、*oqxA*(26.2%,93/355)和*oqxB*(29.0%,103/355),未检出*qnrA*、*qnrB*、*qnrC*、*qnrD*、*qepA*等基因。与本实验室2010年的调查结果比较,该地区猪源喹诺酮耐药大肠杆菌携带的PMQR因子已从*oqxA*、*oqxB*为主发展成以*qnrS*、*aac(6′)-Ib-cr*、*oqxA*、*oqxB*为主,提示应加强PMQR因子监控。

关键词 猪;喹诺酮耐药大肠杆菌;PMQR因子;检测分析

中图分类号 S 828; Q 789

文章编号 1007-4333(2016)04-0095-07

文献标志码 A

Detection and analysis of PMQR determinants in Quinolone-resistant *Escherichia coli* isolates from swine in Xinjiang Changji area

XIA Xu-jin, CHENG Wei-hua, XIA Li-ning*, SU Zhan-qiang, LIN Ya-jun

(College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract In order to investigate the prevalence and characteristics of plasmid mediated quinolone resistance (PMQR) determinants in quinolone-resistant *E. coli* from swine in Xinjiang Changji area, polymerase chain reaction (PCR) was used to detect PMQR (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *qepA*, *oqxA*, *oqxB*, *aac(6′)-Ib-cr*) determinants in 355 strains from swine quinolone-resistant (ciprofloxacin, norfloxacin, enrofloxacin) *E. coli*. The positive strains were confirmed by using DNA sequencing to determine the objective band. The results showed that *qnrS* (62.5%, 222/355), *aac(6′)-Ib-cr* (55.8%, 198/355), *oqxA* (26.2%, 93/355), *oqxB* (29.0%, 103/355), were main PMQR determinants in *E. coli* from swine in Xinjiang Changji area. *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* and *qepA* genes were not detected in any of the isolates. 86.8% (308/355) quinolone-resistant *E. coli* from swine in Xinjiang Changji area harbored PMQR determinants, 42.9% (152/355) strains carried two PMQR determinants, 11.3% (40/355) strains carried three PMQR determinants, 6.5% (23/355) strains carried four kinds of PMQR determinants. Compared with the result of acquisition in sample survey on 2010, PMQR determinants carried by *E. coli* from swine, *oqxA* and *oqxB*, are replaced by *qnrS*, *aac(6′)-Ib-cr*, *oqxA* and *oqxB* in this region. Hence, PMQR determinants monitoring should be strengthened in the future.

Keywords swine; quinolone-resistant *E. coli*; PMQR determinants; detection and analysis

大肠杆菌病是兽医临床上的多发病,给畜牧业造成巨大的经济损失,严重威胁着规模化养猪场的可持续发展。虽然治疗大肠杆菌病的药物种类不

少,但大多数菌株对其已出现耐药现象。喹诺酮类药物因其抗菌谱广、抗菌作用强和耐受性好等优点,临床上被广泛应用于大肠杆菌感染的治疗。过去认

收稿日期:2015-06-11

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260614)

第一作者:夏绪进,硕士研究生,E-mail:15292878556@163.com

通讯作者:夏利宁,副教授,主要从事兽医药理与毒理学研究,E-mail:xln750530@163.com

为喹诺酮类抗菌药物的耐药仅由染色体介导、靶位改变及主动外排所致^[1]。1998年以后陆续报道细菌存在质粒介导喹诺酮耐药机制。如已发现介导喹诺酮类低水平耐药的 *qnrA*^[2]、*qnrS*^[3]、*qnrB*^[4]、*qnrD*^[5] 和 *qnrC*^[6] 基因;可同时介导氨基糖苷类和喹诺酮类药物耐药的 *aac(6′)-Ib-cr* 基因^[7];多药转运泵出系统家族中外排泵 *qepA*、*oqxA* 和 *oqxB* 基因^[8]等。这些基因位于质粒上故被称为质粒介导喹诺酮耐药(Plasmid-mediated quinolone resistance, PMQR)因子。各种 PMQR 因子的相继出现和流行,使得细菌对氟喹诺酮类(Fluoroquinolones, FQs)药物的耐药率甚至多重耐药率逐年上升^[9-11],使其成为全球高度关注的热点和焦点^[12]。我国动物源大肠杆菌对 FQs 的耐药率位居全球之首^[13],然而新疆地区猪源大肠杆菌携带 PMQR 因子的检测报道却较少。本研究对新疆昌吉地区 2013 年分离的猪源喹诺酮耐药大肠杆菌进行 PMQR 因子检测,并与 2010 年的检测结果比较。了解该地区近几年猪源大肠杆菌携带 PMQR 因子的变化情况,掌握该地区猪源大肠杆菌 PMQR 因子的流行趋势,旨在为进一步研究该地区 PMQR 耐药的传播机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌株来源

试验用大肠杆菌于 2013 年 3 月采自新疆昌吉某规模化养猪场,经过生化鉴定并采用微量肉汤法测定其对第一代喹诺酮类药萘啶酸(Nalidixic acid, NA)、第二代喹诺酮类药吡哌酸(Pipemidic acid, PIP)和第三代喹诺酮类药环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)、恩诺沙星(Enrofloxacin, ENR)和诺氟沙星(Norfloxacin, NOF)的最小抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC)。其中喹诺酮耐药猪源菌 355 株,敏感菌株 54 株。被检基因的阳性质粒由中国农业大学动物医学学院药理与毒理实验室惠赠。

1.1.2 试剂与药品

LB(Luria-Bertani)肉汤培养基和麦康凯培养基(北京奥博星生物有限公司); $2 \times Taq$ PCR MasterMix、DL2000、DNA Marker II、DNA;琼脂糖(美国 Bio-rad 公司);回收试剂盒(北京天根生化科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 模板的制备

将试验用大肠杆菌划线接种于 LB 平板,37 °C 培养 18~24 h,刮取 1~2 接种环菌苔加入 150 μ L 灭菌超纯水中,涡旋混匀,100 °C 煮沸 10 min,12 000 r/min 离心 10 min,取上清,-20 °C 保存备用。

1.2.2 PMQR 因子引物合成

根据文献[7,14-16],分别设计扩增 PMQR 因子(包括:*qnrA*、*qnrB*、*qnrC*、*qnrD*、*qnrS*、*qepA*、*oqxA*、*oqxB* 和 *aac(6′)-Ib*)的引物。引物由上海英骏生物技术有限公司(北京)合成。

1.2.3 PCR 扩增

PMQR 因子 PCR 扩增反应体系: $2 \times Taq$ PCR MasterMix 10 μ L,上、下游引物各 0.2 μ L,DNA 模板 0.5 μ L,加灭菌超纯水 9.1 μ L 至总反应体积为 20 μ L。PCR 反应运行参数见表 1。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,缓冲液为 $1 \times TAE$,120 V 恒压电泳 30 min,在 EB 中浸泡 10 min 后,用凝胶成像系统拍照分析。

1.2.4 *aac(6′)-Ib-cr* 的检测

对检测出 *aac(6′)-Ib* 的 PCR 产物进一步用 *BstF5I* 酶进行酶切,酶切反应体系:NEB Buffer 1.5 μ L,*BstF5I* 0.5 μ L,*aac(6′)-Ib* PCR 产物 500 ng,灭菌超纯水加至 15 μ L,50 °C 酶切 3 h。酶切产物内加 $6 \times$ loading buffer,缓冲液为 $1 \times TAE$,经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,60 V 恒压电泳 60 min,用凝胶成像系统拍照分析。一旦有 *-cr* 变异存在,*aac(6′)-Ib* 丢失 *BstF5I* 酶的酶切位点,通过凝胶电泳图的条带情况即可得知 *aac(6′)-Ib* 是否存在 *-cr* 变异。

1.2.5 胶回收

胶回收 PCR 反应体系各组分总反应体积 50 μ L, $2 \times Taq$ PCR MasterMix 酶 25 μ L,上、下游引物各 0.8 μ L,DNA 模板 1.25 μ L,无 RNA 酶水加至 50 μ L,按回收试剂盒说明书进行琼脂糖凝胶 DNA 回收。

1.2.6 序列测定与分析

将 PCR 回收产物及相应待测基因的上游或下游引物,送上海生工生物工程技术有限公司进行测序(表 1)。获得的 DNA 序列利用 NCBI 网站(www.ncbi.nlm.nih.gov/)的 BLAST 程序进行比对,确定基因型。

表1 PCR 扩增引物序列和反应运行参数

Table 1 Primer sequences and parameters of PCR reaction

引物 Primers	引物序列(5'→3') Primer sequence (5' rime→3')	扩增产物大小/bp Amplification product size	退火温度/°C Annealing temperature	参考文献 References
<i>qnrA-F</i>	TCAGCAAGAGGATTTCTCA	627	48	[14]
<i>qnrA-R</i>	GGCAGCACTATTACTCCCA			
<i>qnrB-F</i>	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG	469	53	[15]
<i>qnrB-R</i>	ACGATGCCTGGTAGTTGTCC			
<i>qnrC-F</i>	GGGTTGTACATTTATTGAATC	447	50	[6]
<i>qnrC-R</i>	TCCACTTTACGAGGTTCT			
<i>qnrD-F</i>	CGAGATCAATTTACGGGGAATA	582	55	[5]
<i>qnrD-R</i>	AACAAGCTGAAGCGCCTG			
<i>qnrS-F</i>	ACGACATTCGTCAACTGCAA	619	55	[15]
<i>qnrS-R</i>	TAAATTGGCACCCCTGTAGGC			
<i>oqxA-F</i>	CTCGGCGCGATGATGCT	393	57	[16]
<i>oqxA-R</i>	CCACTCTTCACGGGAGACGA			
<i>oqxB-F</i>	TTCTCCCCGCGGGAAGTAC	512	64	[16]
<i>oqxB-R</i>	CTCGGCCATTTTGGCGCGTA			
<i>qe pA-F</i>	GCAGGTCCAGCAGCGGGTAG	218	60	[17]
<i>qe pA-R</i>	CTTCCTGCCCGAGTATCGTG			
<i>aac(6')-Ib-F</i>	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	482	55	[7]
<i>aac(6')-Ib-R</i>	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT			

1.2.7 统计分析

检出率差异统计采用 SPSS 20 软件进行卡方检验。

2 结果

2.1 喹诺酮类耐药大肠杆菌耐药谱型检出结果

355 株耐药菌株对 3 代 5 种喹诺酮类药物共有 27 种耐药谱型,主要集中在对 3~5 种药物耐药的

谱型,共 211 株,占总数的 59.4%,(表 2)。其中对 3 种药物耐药的 2 种谱型分别为: CIP-NOF-ENR (57, 16.1%) 和 CIP-ENR-NA (22, 6.2%); 对 4 种药物耐药的 3 种谱型分别为: CIP-NOF-ENR-PIP (36, 10.1%)、CIP-NOF-ENR-NA (69, 19.4%) 和 CIP-ENR-PIP-NA (20, 5.6%); 并且检出对 5 种药物都耐药的谱型 CIP-NOF-ENR-PIP-NA 76 株,占 21.4%。

表2 耐药谱型检出结果

Table 2 Drug-resistant spectrum detection results

耐药类型 Drug-resistant type	耐药谱型 Type of drug resistance	株数 Strains	比率/% Rate
3	CIP-NOF-ENR	57	16.1
3	CIP-ENR-NA	22	6.2
4	CIP-NOF-ENR-PPA	36	10.1
4	CIP-NOF-ENR-NA	69	19.4
4	CIP-ENR-PPA-NA	20	5.6
5	CIP-NOF-ENR-PPA-NA	76	21.4

2.2 猪源大肠杆菌 PMQR 因子 PCR 扩增结果

对昌吉地区猪源大肠杆菌进行 PMQR 因子检测,检出 *qnrS*、*aac(6')-Ib*、*oqxA*、*oqxB* 和 *aac(6')*-

Ib-cr 基因,电泳检测见图 1~图 5。未检出 *qepA*、*qnrA*、*qnrB*、*qnrC* 和 *qnrD*。



1~22 为部分猪源菌株 *qnrS* 扩增结果;M 为 DNA marker;+ 为阳性对照;- 为阴性对照。

1-22 section swine bacteria *qnrS* amplification results; M, DNA marker; +, positive control; -, negative control.

图 1 *qnrS* 扩增电泳图

Fig. 1 *qnrS* amplification electrophoresis



1~22 位部分猪源菌株 *aac(6')-Ib* 扩增结果;M 为 DNA marker;+ 为阳性对照;- 为阴性对照。

1-22, section swine bacteria *aac(6')-Ib* amplification results; M, DNA marker; +, positive control; -, negative control.

图 2 *aac(6')-Ib* 扩增电泳图

Fig. 2 *aac(6')-Ib* amplification electrophoresis

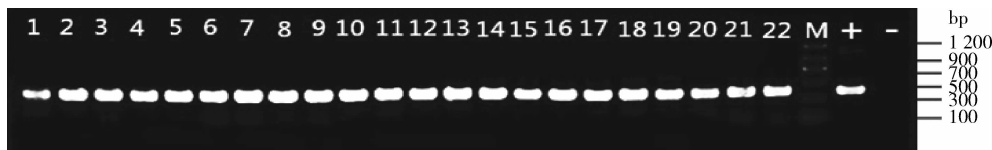


1~22 为部分 BstF5I 单酶切条带;M 为 DNA marker;+ 为阳性对照;- 为阴性对照。

1-22, section BstF5I single enzyme bands; M, DNA marker; +, positive control; -, negative control.

图 3 *aac(6')-Ib* 的 BstF5I 酶切

Fig. 3 *aac(6')-Ib* of BstF5I digestion

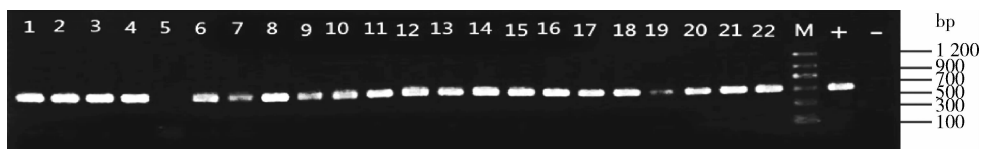


1~22 为部分猪源菌株 *oqxA* 扩增结果 M 为 DNA marker;+ 为阳性对照;- 为阴性对照。

1-22, section swine bacteria *oqxA* amplification results; M, DNA marker; +, positive control; -, negative control.

图 4 *oqxA* 扩增电泳图

Fig. 4 *oqxA* amplification electrophoresis



1~22 为部分猪源菌株 *oqxB* 扩增结果;M 为 DNA marker;+ 为阳性对照;- 为阴性对照。

1-22, section swine bacteria *oqxB* amplification results; M, DNA marker; +, positive control; -, negative control.

图 5 *oqxB* 扩增电泳图

Fig. 5 *oqxB* amplification electrophoresis

2.3 猪源大肠杆菌 PMQR 因子及基因型检出结果

如表 3 所示：355 株耐药菌株中 PMQR 因子阳性率为 86.8% (308/355)。依次检出 *qnrS* (62.5%, 222/355)、*oqxA* (26.2%, 93/355)、*oqxB* (29.0%, 103/355) 和 *aac(6')-Ib-cr* (55.8%, 198/355) 基因。2 种基因共存的 5 个基因型，分别为：*qnrS/oqxA* (2.0%, 7/355)、*qnrS/oqxB* (1.4%, 5/355)、*oqxA/oqxB* (6.8%, 24/355)、*qnrS/aac(6')-Ib-cr* (29.6%, 105/355) 和 *aac(6')-Ib-cr/oqxB* (3.1%, 11/355)。3 种耐药基因共存的 4 个基因型 *qnrS/*

oqxA/oqxB (5.4%, 19/355)、*aac(6')-Ib-cr/oqxA/oqxB* (3.9%, 14/355)、*qnrS/aac(6')-Ib-cr/oqxA* (0.6%, 2/355) 和 *qnrS/aac(6')-Ib-cr/oqxB* (1.4%, 5/355)。4 种耐药基因共存的 1 个基因型为 *qnrS/oqxA/oqxB/aac(6')-Ib-cr* (6.5%, 23/355)。

54 株敏感菌株中 PMQR 因子阳性率为 50.0% (27/54)；仅 *qnrS* 检出率较高 (42.6%, 23/54)，*oqxA* (1.9%, 1/54)、*oqxB* (3.7%, 2/54) 和 *aac(6')-Ib-cr* (5.6%, 3/54) 的检出率相对很低。

表 3 PMQR 因子检出情况
Table 3 PMQR gene detection rate

PMQR 因子 PMQR determinernts	基因型 Genotype	耐药菌株		敏感菌株	
		Resistance strains		Sensitive strains	
		菌株数 Number strain	检出率/% Detection rate	菌株数 Number strain	检出率/% Detection rate
未检出 PMQR 因子 Undetected PMQR	—	47	13.2 A	27	50.0 B
1 种耐药基因 One kind of resistance genes	<i>qnrS</i>	222	62.5 A	23	42.6 B
	<i>oqxA</i>	93	26.2 A	1	1.9 B
	<i>oqxB</i>	103	29.0 A	2	3.7 B
	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	198	55.8 A	3	5.6 B
2 种耐药基因 Two kinds of resistance genes	<i>qnrS/oqxA</i>	7	2.0	—	—
	<i>qnrS/oqxB</i>	5	1.4	—	—
	<i>oqxA/oqxB</i>	24	6.8	—	—
	<i>qnrS/aac(6')-Ib-cr</i>	105	29.6	1	1.9
3 种耐药基因 Three kinds of resistance genes	<i>aac(6')-Ib-cr/oqxB</i>	11	3.1	1	1.9
	<i>qnrS/oqxA/oqxB</i>	19	5.4	—	—
	<i>aac(6')-Ib-cr/oqxA/oqxB</i>	14	3.9	—	—
	<i>qnrS/aac(6')-Ib-cr/oqxA</i>	2	0.6	—	—
4 种耐药基因 Four kinds of resistance genes	<i>qnrS/aac(6')-Ib-cr/oqxB</i>	5	1.4	—	—
	<i>qnrS/oqxA/oqxB/aac(6')-Ib-cr</i>	23	6.5	—	—

注：“—”为未检出。同行数据不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: “—” indicates not detected. Values marked with same column with different capital letters differ significantly ($P < 0.05$).

2.4 猪源大肠杆菌喹诺酮类耐药表型与耐药基因符合率结果

对 355 株喹诺酮类耐药猪源大肠杆菌进行 5 种喹诺酮类抗菌药物的耐药表型与携带 PMQR 因子的基因型之间的符合率进行分析：符合率 = (PMQR 因子检出阳性菌株数/耐药菌株数) × 100%。结果表明耐药基因型与耐药表型之间符

合率最高的为 *qnrS* 基因，对一代喹诺酮类药物萘啶酸为 40.1%，二代喹诺酮类药物吡哌酸为 35.1%，对三代喹诺酮类药物的符合率为 30.6%~33.9%；其次为 *aac(6')-Ib-cr* 基因，对一代喹诺酮类药物萘啶酸为 32.4%，二代喹诺酮类药物吡哌酸为 23.0%，对三代喹诺酮类药物为 25.1%~28.3%；*oqxA* 和 *oqxB* 基因，对一代喹诺

酮类药物萘啶酸分别为 30.2% 和 27.0%，二代喹诺酮类药物吡哌酸为 28.4% 和 25.0%，三代喹诺

酮类药物为 18.4%~21.1% 和 20.5%~25.0%。结果见表 4。

表 4 携带 PMQR 因子大肠杆菌耐药表型与基因的符合率

Table 4 Portable PMQR gene of *Escherichia coli* resistant phenotype and gene compliance rate

抗菌药物 Antimicrobials	阳性菌株数/耐药菌株数 Number of positive strains/ Number of resistant strains				符合率 Compliance rate			
	<i>qnrS</i>	<i>oqxA</i>	<i>oqxB</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>qnrS</i>	<i>oqxA</i>	<i>oqxB</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>
萘啶酸 Nalidixic acid	89/222	67/222	60/222	72/222	40.1%	30.2%	27.0%	32.4%
吡哌酸 Pipemidic acid	52/148	42/148	37/148	34/148	35.1%	28.4%	25.0%	23.0%
环丙沙星 Ciprofloxacin	96/283	52/283	58/283	71/283	33.9%	18.4%	20.5%	25.1%
诺氟沙星 Norfloxacin	78/245	50/245	61/245	68/245	31.8%	20.4%	24.9%	27.8%
恩诺沙星 Enrofloxacin	93/304	64/304	76/304	86/304	30.6%	21.1%	25.0%	28.3%

3 讨论

1) 喹诺酮类耐药大肠杆菌耐药谱型分析。本研究表明,新疆昌吉地区猪源喹诺酮类耐药大肠杆菌对 3 代 5 种喹诺酮类药物共有 27 种耐药谱型,大多数耐药谱型主要集中在对一代、二代和三代喹诺酮类药物均耐药的 3 耐、4 耐和 5 耐菌株中,说明新疆昌吉地区细菌耐药情况已十分严重呈多样化发展。

2) 猪源大肠杆菌 PMQR 因子及基因型检出情况比较分析。对 355 耐药菌株进行 9 种 PMQR 因子检测及测序分析,只检测出 *qnrS*(62.5%, 222/355)、*oqxA*(26.2%, 93/355)、*oqxB*(29.0%, 103/355) 和 *aac(6')-Ib-cr*(55.8%, 198/355) 4 种基因。与本实验室对 2010 年耐药菌株样品的检出结果^[18]相比,检出的 PMQR 因子类型一致,但是各基因检出率相差较大。*qnrS* 和 *aac(6')-Ib-cr* 基因检出率分别由 2010 年的 6.3% 和 5.1% 上升到 62.5% 和 55.8%, 而 *oqxA* 和 *oqxB* 基因检出率分别由 2010 年的 44.3% 和 50.6% 下降到 26.2% 和 29.0%。说明新疆昌吉地区 *qnrS* 和 *aac(6')-Ib-cr* 基因已成流行性分布, PMQR 因子主要以 *aac(6')-Ib-cr*、*qnrS*、*oqxA* 和 *oqxB* 为主。本研究中 86.8% 的猪源喹诺酮类耐药大肠杆菌中检出 PMQR 因子,其中单

耐药基因以 *qnrS* 基因型检测率最高, 2 种耐药基因共存形式以 *qnrS/aac(6')-Ib-cr* 基因型检出率最高, 3 种耐药基因共存形式以 *aac(6')-Ib-cr/oqxA/oqxB* 基因型检出率最高, 并且存在 23 株 4 种耐药基因共存的基因型, 应警惕细菌携带的 PMQR 因子向多样化发展。

3) PMQR 因子对菌株的 FQs 耐药表型贡献情况分析。对 54 株敏感菌株进行上述 PMQR 因子检测及测序分析, 分别检出 *qnrS*(42.6%, 23/54)、*oqxA*(1.9%, 1/54)、*oqxB*(3.7%, 2/54) 和 *aac(6')-Ib-cr*(5.6%, 3/54) 基因。通过 SPSS 20 对耐药菌和敏感菌 PMQR 因子的携带率进行卡方检验分析发现: 无论是 PMQR 因子阳性率, 还是各基因检出率, 耐药菌株都显著高于敏感菌株($P < 0.05$)。说明 PMQR 因子的存在是导致菌株耐药的主要因素之一; PMQR 因子对菌株的 FQs 耐药表型有较高的贡献。

4) 猪源大肠杆菌喹诺酮类耐药表型与耐药基因符合情况分析。在检出的 4 种 PMQR 基因中, 其各基因型与耐药表型符合率较低, 无明显的相关性。这主要是细菌对喹诺酮类药物产生耐药性是多种耐药机制共存导致的, 主要还是以染色体基因突变(靶位改变、主动外排和膜空蛋白缺失) 为主。尽管

PMQR 基因仅引起细菌对喹诺酮类药物低水平耐药,但其可使细菌突变频率增高,诱发细菌产生高水平的耐药,可对染色体介导的氟喹诺酮耐药起重要的辅助作用,更加严重的威胁感染性疾病的治疗^[19]。此外,PMQR 基因位于质粒上,导致喹诺酮耐药性在人畜病原菌间的迅速扩散成为可能,使细菌耐药性水平传播的风险加大,造成喹诺酮耐药性在地区性流行,存在引发公共安全事件的风险。

上述结果表明新疆昌吉地区猪源 PMQR 因子已呈多样化分布,需在生产实践中加强管理,严控 PMQR 因子向多样化扩展。因此加强 PMQR 因子的检测分析及其耐药表型相关性研究势在必行。

4 结 论

新疆昌吉地区猪源大肠杆菌 PMQR 因子主要以 *qnrS*、*aac(6')-Ib-cr*、*oqxA* 和 *oqxB* 为主;PMQR 因子已由个别基因流行向多基因流行趋势发展;PMQR 因子的基因型也复杂多变呈多样化发展。提示应加强 PMQR 因子的监控及流行性调查。

参 考 文 献

[1] Chenia H Y, Pillay B, Pillay D. Analysis of the mechanisms of fluoroquinolone resistance in urinary tract pathogens [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2006, 58(6): 1274-1278

[2] Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby G A. Quinolone resistance from a transferable plasmid[J]. *Lancet*, 1998, 351: 797-799

[3] Hata M, Suzuki M, Matsumoto M, Takahashi M, Sato K, Ibe S, Sakae K. Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, 49(2): 801-803

[4] Jacoby G A, Walsh K E, Mills D M, Walker V J, Oh H, Robicsek A, Hooper D C. *QnrB*, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006, 50(4): 1178-1182

[5] Cavaco L M, Hasman H, Xia S, Aarestrup F M. *QnrD*, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enteric serovar* Kentucky and *Bovismorbificans* strains of human origin [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53(2): 603-608

[6] Wang M, Guo Q, Xu X, Wang X, Ye X, Wu S, Hooper D C. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, *qnrC*, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53(5): 1892-1897

[7] Park C H, Robicsek A, Jacoby G A, Sahm D, Hooper D C.

Prevalence in the United States of *aac(6')-Ib-cr* encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006, 50(11): 3953-3955

[8] Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance [J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005, 56(1): 20-51

[9] Poirel L, Cattoir V, Nordmann P. Is plasmid-mediated quinolone resistance a clinically significant problem? [J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008, 14(4): 295-297

[10] Courvalin P. New plasmid-mediated resistances to antimicrobial agents [J]. *Archives of Microbiology*, 2008, 189(4): 289-291

[11] Kim H B, Park C H, Kim E C, Jacoby G A, Hooper D C. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants over a 9-year period [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53(2): 639-645

[12] Robicsek A, Jacoby G A, Hooper D C. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance [J]. *The Lancet, Infectious Disease*, 2006, 6(10): 629-640

[13] Yang J, Luo Y, Li J, Ma Y, Hu C, Jin S, Ye L, Cui S. Characterization of clinical *Escherichia coli* isolates from China containing transferable quinolone resistance determinants [J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2010, 65(3): 453-459

[14] Guerra B, Helmuth R, Thomas K, Beutlich J, Jahn S, Schroeter A. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Salmonella* spp isolates from reptiles in Germany [J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2010, 65(9): 2043-2045

[15] Gay K, Robicsek A, Strahilevitz J, Perk C H, Jacoby G, Barrett T J, Medaia F, Chiller T M, Hooper D C. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica* [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2006, 43(3): 297-304

[16] Rodríguez-Martínez J M, Díaz de Alba P, Briaies A, Machuca J, Lossa M, Fernández-Cuenca F, Rodríguez Baño J, Martínez-Martínez L, Pascual A. Contribution of *oqxAB* efflux pumps to quinolone resistance in extended-spectrum- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2013, 68(1): 68-73

[17] Xia L N, Li L, Wu C M, Liu Y Q, Tao X Q, Dai L, Qi Y H, Lu L M, Shen J Z. A survey of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes from *Escherichia coli* isolates and their dissemination in Shandong, China [J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2010, 7(2): 207-215

[18] 南海辰, 底丽娜, 夏利宁. 新疆多源喹诺酮类耐药大肠杆菌耐药基因检测及分析 [J]. *中国农业科学*, 2014, 47(20): 4096-4108

Nan H C, Di L N, Xia L N. Detection and analysis of resistance genes in quinolone-resistant *Escherichia coli* isolates from different livestock in Xinjiang [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(20): 4096-4108 (in Chinese)

[19] Péricón B, Courvalin P, Galimand M. Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by *QepA*-mediated efflux in *Escherichia coli* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007, 51(7): 2464-2469