

鸡源大肠埃希菌质粒介导的喹诺酮耐药基因的检测与分析

李琳, 刘星, 刘松松, 张鹏飞, 吴畏, 杨欢

(安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230036)

摘要: 为了解安徽省合肥地区鸡源致病性大肠埃希菌对氟喹诺酮类药物 (fluoroquinolones, FQs) 的耐药性及质粒介导的喹诺酮耐药基因 (plasmid-mediated quinolone resistance, PMQR) 的流行情况, 对从合肥地区多个规模化养鸡场病鸡病料中分离保存的 37 株疑似大肠埃希菌进行细菌分离培养、生化编码鉴定和致病性测定。利用 K-B 纸片琼脂扩散法检测鸡源致病性大肠埃希菌对 4 种 FQs 的耐药性, 设计并合成 4 对特异性引物通过菌液 PCR 法对所分离细菌进行 PMQR 基因 (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA*) 扩增。结果显示, 所检测的 37 份疑似病料均为致病性大肠埃希菌; 37 株大肠埃希菌中对 FQs 呈 3 耐以上 (包括 3 耐) 菌株占 67.57% (25/37); 37 株大肠埃希菌中检测到 *qnrA* 基因, 检出率为 56.77% (21/37), 而 *qnrB*, *qnrS*, *qepA* 基因均未检出。提示合肥地区鸡源致病性大肠埃希菌对 FQs 耐药性严重, PMQR 基因以 *qnrA* 基因为主, 且 *qnrA* 基因的流行与 FQs 耐药性具有相关性。

关键词: 鸡源; 致病性大肠埃希菌; 氟喹诺酮类药物 (FQs); PMQR 基因

中图分类号: S859.796

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2011)06-0896-06

Detection and analysis of plasmid-mediated quinolone resistance genes of *Escherichia coli* isolates from chickens

LI Lin, LIU Xing, LIU Song-song, ZHANG Peng-fei, WU Wei, YANG Huan

(School of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: To investigate the fluoroquinolones (FQs) resistance of *Escherichia coli* isolates from chickens in Hefei area of Anhui province and the prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes, 37 *Escherichia coli* strains were identified by bacteria cultivation, biochemical code identification and pathogenic determination. K-B diffusion method was adopted to detect FQs resistance of *Escherichia coli*, and PMQR genes (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA*) were detected by PCR amplification. The results showed that 37 suspected *Escherichia coli* strains were identified as pathogenic *Escherichia coli*. The resistance rate to above 3 (include 3) antimicrobials of FQs was 67.57% (25/37). The prevalent rate of *qnrA* gene was 56.77% (21/37), and *qnrB*, *qnrS*, *qepA* genes were not detected. The results suggested FQs resistance of *Escherichia coli* strains from chickens in Hefei area is rather serious, PMQR genes focuses on *qnrA* gene, and the prevalence of *qnrA* gene is correlated with the FQs resistance.

Key words: chicken; pathogenic *Escherichia coli*; fluoroquinolones (FQs); PMQR genes

致病性大肠杆菌是最重要的人畜共患病病原菌, 不仅可引起人和动物的大肠杆菌病, 而且可通过污染食品引起人类食物中毒。氟喹诺酮类药物 (fluoroquinolones, FQs) 以其抗菌谱广、杀菌力强和低毒高效成为治疗大肠杆菌病首选药物之一。但是随着 FQs 在临床上的长期、大量、广泛使用甚至滥用, 大肠杆菌对 FQs 的耐药性日益增加, 不仅给

临床用药带来很大困难, 而且给畜牧业发展和人类健康带来严重威胁, 该问题已引起国内外学者的高度重视。在我国, 大肠埃希菌对 FQs 的耐药率位居全球之首^[1]。大肠埃希菌对 FQs 的耐药机制非常复杂, 以往观点认为均由染色体介导^[2], 但染色体介导的耐药性仅通过垂直传播, 由母代传给子代细菌。Martinez 等^[3]于 1998 年报道在美国的肺炎克雷伯氏

菌中发现了质粒介导的喹诺酮耐药基因 (plasmid-mediated quinolone resistance, PMQR) *qnrA*, 后来又陆续发现了 *qnrB*、*qnrS*、*qnrC*、*qnrD* 和 *qepA*, 这些 PMQR 基因介导的耐药性可在不同种属细菌及不同宿主间进行水平传播。由于 PMQR 已在全球 5 大洲的多种肠杆菌科细菌中发现, 且 PMQR 阳性菌株对 FQs 的耐药率和多重耐药率逐年显著增加^[4-6], 因此质粒介导的 FQs 耐药性的严重性日益突出, 正成为全球性高度关注的热点和焦点^[7]。为此, 作者首次开展安徽省合肥地区鸡源致病性大肠埃希菌 FQs 耐药性和 PMQR 基因 (*qnrA*、*qnrB*、*qnrS*、*qepA*) 流行状况的筛查及两者之间相关性的研究, 旨在为合肥地区鸡源致病性大肠埃希菌 FQs 的耐药机制研究、耐药性控制及临床合理用药奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料采集 2009 年自合肥地区多个规模化养鸡场采集疑似大肠埃希菌的病、死鸡的内脏样本。

1.1.2 主要试剂 肠杆菌科细菌生化编码鉴定管、药敏纸片 (氧氟沙星、环丙沙星、罗美沙星、恩诺沙星)、M-H 培养基、营养琼脂培养基、肉汤培养基 (均购自杭州微生物试剂有限公司); 伊红美兰培养基 (购自江苏宜兴市永信生物有限公司); 琼脂糖、*Taq* DNA 聚合酶、EDTA、EB、Tris 碱 (均购自上海生工生物工程有限公司); 冰乙酸 (购自上海中秦化学试剂有限公司)。

1.1.3 试验动物 昆明系小鼠 (18~22g) 购自安徽医科大学实验动物中心。

1.1.4 仪器 BIO-RAD 型 PCR 扩增仪, 购自伯乐生命医学产品 (上海) 有限公司; DYY-8C 型电泳仪, 购自北京市六一仪器厂; 超净工作台, 购自苏净集团安泰公司; 蒸汽灭菌器, 购自上海申安医疗器械厂湘仪 TG16-W 型离心机; PYS-150Z-A 型震荡培养箱, 购自 KELI 仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 大肠埃希菌的分离纯化、鉴定与保存 取采集到的 37 株疑似大肠埃希菌的病、死鸡内脏器官样本, 直接剪取小块接种伊红美兰培养基, 依次标记为 J1~J37, 37℃ 培养 24 h 后, 挑取可疑菌落转种营养琼脂平板, 37℃ 培养 24 h, 以纯化细菌。待鉴定菌株分别接种营养琼脂平板, 37℃ 培养 24 h, 挑取 2~3 个菌落用无菌生理盐水制成 MaFarland 0.5 浊度的细菌悬液, 吸取细菌悬液接种肠杆菌科细菌生化编码管 (包括葡萄糖、赖氨酸、鸟氨酸、硫化氢、靛基质、乳糖、卫茅醇、苯丙氨酸、尿素、枸橼酸盐利用 10 项生化试验), 37℃ 培养 24 h, 记录结果并转化为编码, 查肠杆菌科细菌鉴定编码表检索菌名。试验中用大肠埃希菌 ATCC25922 做对照, 以检测该细菌生化编码管的质量。鉴定的大肠埃希菌在新鲜菌液中加入 20% 甘油制成甘油菌, 置于 -20℃ 冰箱保存备用。

1.2.2 大肠埃希菌的致病性测定 37 株大肠埃希菌接种营养肉汤培养基, 37℃ 培养 24 h。取菌液 (10^8 CFU·mL⁻¹) 腹腔注射实验小鼠, 每株菌注射 3 只小鼠, 0.3 mL·只⁻¹。对照组小鼠注射灭菌生理盐水。注射后各组实验动物正常饲养, 观察发病情况, 并及时剖检死亡小鼠并分离细菌。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of PCR

基因 Gene	引物序列(5'-3') Primer sequences (5'-3')	产物长度/bp Product length	登录号 Accession number
<i>qnrA</i>	F: CCAGGATTTGAGTGACAGC R: TCCCAAGGGTTCCAGCA	592	EU195836
<i>qnrB</i>	F: GGMATHGAAATTCGCCACTG R: TTTGCGYGYCCGAGTCGAA	469	DQ777878
<i>qnrS</i>	F: CACTTTGATGTCGCAGAT R: CAACAATACCCAGTGCTT	472	NC009807
<i>qepA</i>	F: GCAGGTCCAGCAGCGGGTAG R: CTCCTGCCCCGAGTATCGTG	218	AB263754

1.2.3 致病性大肠埃希菌的耐药性测定 (药敏试验) 采用 K-B 纸片琼脂扩散法, 操作方法和结果判读按美国临床实验室标准化委员会 (CLSI) 制订的规则和标准进行。分别挑取 37 株致病性大肠埃希菌接种 M-H 培养液, 28℃ 振荡培养 24 h, 离心洗涤 4 次,

采用平板倾注法进行活菌计数并将细菌配成浓度为 10^8 CFU·mL⁻¹ 的悬液。用无菌棉蘸取菌液均匀涂布于 M-H 琼脂平板, 室温干燥 5 min 后, 取药敏纸片均匀贴于培养基上, 30℃ 培养 24 h, 观察、判读结果。试验中以大肠埃希菌 ATCC25922 作质控。

1.2.4 PMQR基因的引物设计与检测 根据GenBank中登录的大肠埃希菌 *qnrA*、*qnrB*、*qnrS*、*qepA* 基因的序列,应用 primer premier 5.0 软件设计引物,PCR引物序列见表1。

PMQR 基因的 PCR 反应体系。以 J1~J37 菌液为模板 (菌液 1 μL), 上、下游引物 ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

各 0.5 μL , Buffer (Mg^+ plus) 2.5 μL , dNTP Mixture (各 2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 2 μL , *TaqE* ($5 \text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 0.3 μL , 总反应体积为 20 μL 。

PMQR 基因的反应条件见表2。扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳 ($1\times\text{TAE}$, 120 V, 30 min), 凝胶成像系统拍照分析。

表2 PMQR基因的PCR扩增参数

Table 2 Parameters of PCR reaction for detection of PMQR genes

基因 Gene	运行参数 Operating parameters
<i>qnrA</i>	(95 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)+{(94 $^{\circ}\text{C}$, 35 s)+(58 $^{\circ}\text{C}$, 35 s)+(72 $^{\circ}\text{C}$, 1 min)} \times 32+(72 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)
<i>qnrB</i>	(95 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)+{(94 $^{\circ}\text{C}$, 45 s)+(53 $^{\circ}\text{C}$, 45 s)+(72 $^{\circ}\text{C}$, 1 min)} \times 32+(72 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)
<i>qnrS</i>	(95 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)+{(94 $^{\circ}\text{C}$, 35 s)+(56 $^{\circ}\text{C}$, 35 s)+(72 $^{\circ}\text{C}$, 1 min)} \times 32+(72 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)
<i>qepA</i>	(95 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)+{(94 $^{\circ}\text{C}$, 30 s)+(58 $^{\circ}\text{C}$, 30 s)+(72 $^{\circ}\text{C}$, 1 min)} \times 30+(72 $^{\circ}\text{C}$, 10 min)

2 结果与分析

2.1 致病性大肠埃希菌的分离

从37份病鸡内脏中分离到37株疑似菌,在伊红美兰培养基上呈深紫色,并有金属光泽,经细菌生化编码鉴定均为大肠埃希菌。

2.2 致病性大肠埃希菌的鉴定

37株大肠埃希菌人工感染实验小鼠6h后,小鼠开始死亡,48h内全部死亡,死亡小鼠眼睑水肿,解剖发现胃部胀气,小肠积液,肝脾肿大出血,并从肝脏中分离到大肠埃希菌。而对照组小鼠均未见异常。说明37株大肠埃希菌均为致病性大肠埃希菌。

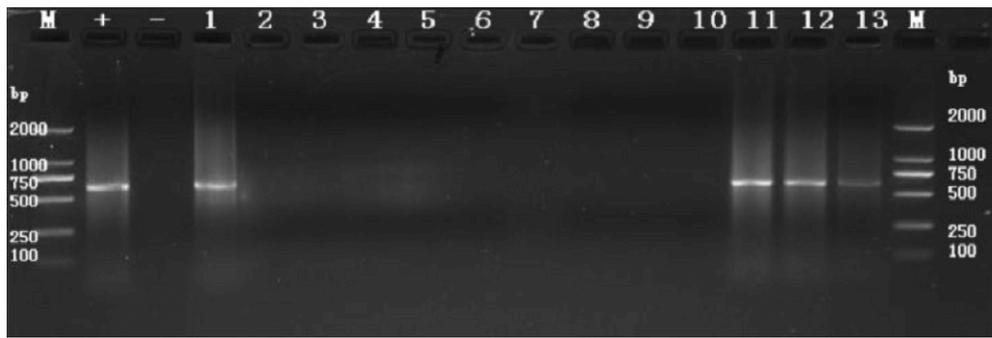
表3 37株鸡源致病性大肠埃希菌对FQs的耐药性测定结果

Table 3 FQs resistance of 37 pathogenic *Escherichia coli* strains from chickens

菌株 Strains	药物 Drugs				菌株 Strains	药物 Drugs			
	氧氟沙星 Ofloxacin	环丙沙星 Ciprofloxacin	罗美沙星 Lomefloxacin	恩诺沙星 Enrofloxacin		氧氟沙星 Ofloxacin	环丙沙星 Ciprofloxacin	罗美沙星 Lomefloxacin	恩诺沙星 Enrofloxacin
J1	R	R	R	R	J20	R	R	R	R
J2	S	S	I	R	J21	R	I	I	R
J3	S	S	I	S	J22	R	R	R	R
J4	S	S	I	S	J23	S	S	S	S
J5	R	R	R	R	J24	R	R	R	R
J6	R	R	I	R	J25	R	R	R	R
J7	S	S	S	S	J26	R	R	R	R
J8	R	R	R	R	J27	R	R	R	R
J9	S	S	S	S	J28	S	R	I	R
J10	R	R	R	R	J29	I	I	R	R
J11	R	R	I	R	J30	S	S	S	R
J12	R	R	R	R	J31	R	R	R	R
J13	R	R	R	R	J32	R	R	R	R
J14	R	R	R	R	J33	R	R	R	R
J15	R	R	R	R	J34	R	R	R	R
J16	R	R	R	R	J35	I	R	R	R
J17	R	R	I	R	J36	R	R	R	R
J18	S	S	S	I	J37	R	R	R	R
J19	S	S	R	I					

注: J1-J37表示37株致病性大肠埃希菌; R表示耐药、S表示敏感、I表示中介。

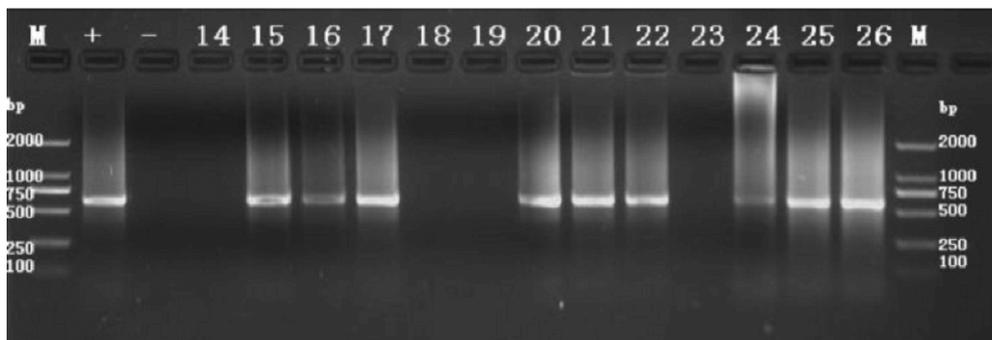
Note: J1-J37 refer to 37 pathogenic *Escherichia coli* strains; R refers to resistant, S refers to sensitive, I refers to intermediate.



M: DL2000 DNA Marker; +: 阳性对照; -: 阴性对照; 1-13: 菌株 J1-J13
M: DL2000 DNA Marker; +: Positive control; -: Negative control; 1-13: Strains J1-J13

图 1 大肠杆菌 J1-J13 的 *qnrA* 基因电泳图

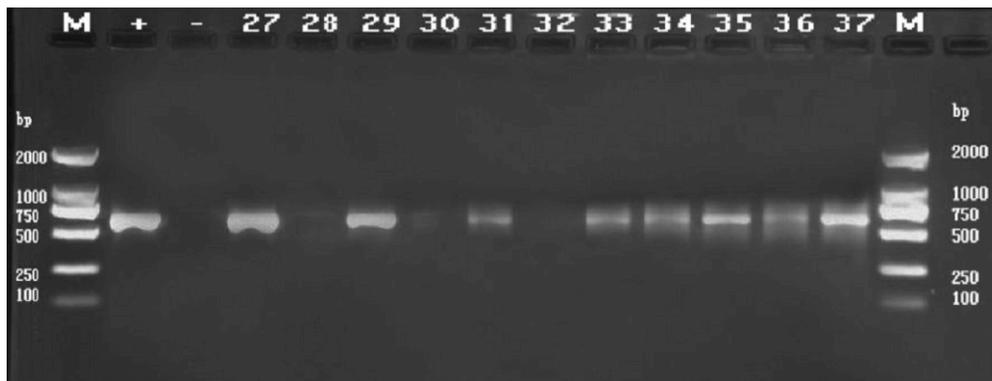
Figure 1 The electropherogram of *qnrA* gene in *Escherichia coli* strains J1-J13



M: DL2000 DNA Marker; +: 阳性对照; -: 阴性对照; 14-26: 菌株 J14-J26
M: DL2000 DNA Marker; +: Positive control; -: Negative control; 14-26: Strains J14-J26

图 2 大肠杆菌 J14-J26 的 *qnrA* 基因电泳图

Figure 2 The electropherogram of *qnrA* gene in *Escherichia coli* strains J14-J26



M: DL2000 DNA Marker; +: 阳性对照; -: 阴性对照; 27-37: 菌株 J27-J37
M: DL2000 DNA Marker; +: Positive control; -: Negative control; 14-26: Strains J27-J37

图 3 大肠杆菌 J27-J37 的 *qnrA* 基因电泳图

Figure 3 The electropherogram of *qnrA* gene in *Escherichia coli* strains J27-J37

2.3 致病性大肠埃希菌的耐药性

37 株致病性大肠埃希菌对 FQs 的耐药性测定结果见表 3。

由表 3 可见: ① 37 株致病性大肠埃希菌对 4

种 FQs 均呈现较高程度的耐药, 耐氧氟沙星有 25 株 (67.57%), 耐环丙沙星有 26 株 (70.27%), 耐罗美沙星有 24 株 (64.86%), 耐恩诺沙星有 30 株 (81.08%), 对 4 种药物平均耐药率为 70.95%。② 37

株致病性大肠埃希菌中,耐4种FQs药物的菌株有21株(56.76%),3耐的菌株有4株(10.81%),2耐的菌株有3株(8.11%),1耐的菌株有3株(8.11%),敏感菌株有6株(16.22%)。由此可见,大肠埃希菌对FQs的耐药性较严重,且多重耐药现象比较普遍。

2.4 PMQR 基因的检测

利用设计的4对特异性引物对37株致病性大

肠埃希菌进行PCR检测,结果显示,*qnrA*基因的检出率为56.77%(21/37),而未检测到*qnrB*、*qnrS*、*qepA*基因。

37株致病性大肠杆菌*qnrA*基因的筛查结果显示(图1~图3),J1、J11、J12、J13、J15、J16、J17、J20、J21、J22、J24、J25、J26、J27、J29、J31、J33、J34、J35、J36和J37共21株菌株扩增出了*qnrA*基因的目的条带(592bp),*qnrA*阳性率为56.77%。

表4 *qnrA* 基因与鸡源大肠埃希菌 FQs 耐药性的相关性

Table 4 Correlation of *qnrA* gene and FQs resistance of *Escherichia coli* from chicken

耐 FQs 药物数 Numbers of FQs	4 耐 Resistant to four drugs	3 耐 Resistant to three drugs	2 耐 Resistant to two drugs	1 耐 Resistant to one drug	敏感 Sensitive to drugs
耐药菌株数	21	4	3	3	6
耐药菌 <i>qnrA</i> 阳性	16	3	2	0	0
耐药菌 <i>qnrB</i> 阳性	0	0	0	0	0
耐药菌 <i>qnrS</i> 阳性	0	0	0	0	0
耐药菌 <i>qepA</i> 阳性	0	0	0	0	0

2.5 *qnrA* 基因与鸡源大肠埃希菌 FQs 耐药性的相关性分析

从表4可知,2耐以上(含2耐)的FQs耐药菌株均检测到*qnrA*基因,未检测到*qnrB*、*qnrS*和*qepA*基因,对FQs敏感和1耐的菌株均未检测到*qnrA*、*qnrB*、*qnrS*和*qepA*基因,提示目前合肥地区PMQR基因以*qnrA*基因为主,且*qnrA*阳性菌均为2耐以上菌株,*qnrA*基因与大肠埃希菌的FQs耐药性具有相关性,大肠埃希菌对FQs的耐药性越严重,*qnrA*基因的阳性率越高。

3 讨论

3.1 大肠埃希菌对 FQs 的耐药性现状

据报道,我国鸡源大肠埃希菌对FQs的耐药性在50%以上,其中对环丙沙星的耐药率约60%,对恩诺沙星的耐药率高达70%以上^[8-9]。本研究通过采用K-B纸片琼脂扩散法,检测出37株鸡源大肠埃希菌对4种FQs药物(氧氟沙星、环丙沙星、罗美沙星、恩诺沙星)的平均耐药率为70.95%,其中2耐以上达75.68%(28/37),表明合肥地区鸡源致病性大肠埃希菌对FQs的耐药性较为严重。

3.2 *qnr* 基因的检测与分析

自1998年报道发现*qnrA*基因以来,人们对*qnr*基因的流行病学展开了全面研究。国外文献报道*qnrA*基因在肠杆菌中的检出率为0.3%~48%^[10]。国内先后从上海、安徽、武汉、北京、广州等地分离的大肠埃希菌、肺炎克雷伯氏菌、弗氏柠檬酸杆菌、

产酸克雷伯菌、阴沟肠杆菌、斯氏普罗维登斯菌和肠炎沙门氏菌等多种细菌中检测到*qnrA*基因^[11]。到目前为止,先后有30多个国家和地区发现了喹诺酮耐药质粒,其中大部分由*qnrA*基因介导^[12]。杜向党等报道2005~2007年从豫北地区分离的235株鸡源大肠埃希菌中仅发现1株*qnrA*阳性菌株(0.4%)^[13]。肖方等对2005~2008年从河南省分离的鸡源大肠埃希菌中*qnrA*基因阳性率为0.6%^[14]。黄思扬等报道从山东采集的532株鸡源大肠埃希菌*qnrA*的检出率为0.75%^[15]。林居纯等报道四川省鸡源大肠埃希菌*qnr*基因的流行率为17.65%^[16]。本研究检测的合肥地区37株鸡源致病性大肠埃希菌中*qnrA*基因的流行率为56.76%,高于国外和国内其他省市,且*qnrA*阳性菌均为耐2种以上FQs菌株,其中4耐占76.19%,3耐以上占90.48%,表明合肥地区鸡源致病性大肠埃希菌以*qnrA*基因为主,且*qnrA*的流行率与FQs耐药表型密切相关,提示合肥地区鸡源致病性大肠埃希菌*qnrA*基因的流行可能是导致FQs耐药性的主要原因之一。

肖方等2005~2008年从河南省病鸡病料中分离保存的158株产16S rRNA甲基化酶大肠埃希菌的*qnrB*和*qnrS*的检出率分别为2.4%和13.3%^[14]。黄思扬等报道从山东采集的鸡源大肠埃希菌*qnrB*和*qnrS*的检出率分别为3.9%和5.1%^[15]。而本研究未检测出*qnrB*和*qnrS*基因,提示*qnrB*和*qnrS*基因可能不是合肥地区的主要流行基因。

3.3 *qepA* 基因的检测与分析

自报道发现 *qepA* 基因以来, 国内外学者对 *qepA* 基因介导的耐药性流行状况进行了调查研究。法国、日本、韩国、比利时、加纳等国报道人源 FQs 耐药大肠埃希菌中 *qepA* 基因流行率为 0.3%~5%^[17-18]; 动物源大肠埃希菌中 *qepA* 基因的流行率为 21.6%^[15]。而在国内, 山东、北京等省市人源 FQs 耐药大肠埃希菌中 *qepA* 基因的阳性率为 4.8%~5.8%^[19]; 四川、山东、广东、北京等省市报道动物源 FQs 耐药大肠埃希菌 *qepA* 基因流行率为 0.75%~58.3%^[20]。而本研究未检测出 *qepA* 基因, 提示 *qepA* 基因可能不是合肥地区的主要流行基因。

本研究对合肥地区鸡源致病性大肠埃希菌的 FQs 耐药性进行了测定, 结果显示耐药性严重; 从合肥地区鸡源致病性大肠埃希菌中检测出 *qnrA* 基因, 且流行率较高; 并发现 *qnrA* 基因的流行率与大肠埃希菌的 FQs 耐药性密切相关。本研究为合肥地区鸡源大肠埃希菌的 FQs 耐药机制研究、耐药性控制及临床合理用药奠定了基础。

参考文献:

- [1] Yang J, Luo Y, Li J, et al. Characterization of clinical *Escherichia coli* isolates from China containing transferable quinolone resistance determinants[J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65(3): 453-459.
- [2] Morgan-Linnell S K, Becnel Boyd L, Steffen D, et al. Mechanisms accounting for fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* clinical isolates[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(1): 235-241.
- [3] Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby G A. Quinolone resistance from a transferable plasmid [J]. Lancet, 1998, 351: 797-799.
- [4] Poirer L, Cattoir V, Nordmann P. Is plasmid-mediated quinolone resistance a clinically significant problem? [J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14: 295-297.
- [5] Courvalin P. New plasmid-mediated resistances to antimicrobial agents [J]. Arch Microbiol, 2008, 189(4): 289-291.
- [6] Kim H B, Park C H, Kim C J, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants over a 9-year period[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(2): 639-645.
- [7] Robicsek A, Jacoby G A, Hooper D C. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance [J]. Lancet Infect Dis, 2006, 6: 629-640.
- [8] 王辉, 陈民钧. 氟喹诺酮类抗生素的耐药机制及其耐药现状[J]. 中华儿科杂志, 2002, 40(8): 476-477.
- [9] 李芳, 张荣武, 袁雅平, 等. 2009~2010 年我国部分地区鸡源大肠埃希菌耐药性分析. 山东畜牧兽医, 2010, 166(11): 55-57.
- [10] Wu J, Ko W, Tsai S, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA, QnrB, and QnrS among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese hospital[J]. Antimicrobial Agents Chemotherapy, 2007, 49: 1223-1227.
- [11] Xiong Z, Wang P, Wei Y, et al. Investigation of qnr and aac(6)-Ib-cr in *Enterobacter cloacae* isolates from Anhui Province, China[J]. Diagn Microbiol Infect Dis. 2008, 62(4): 457-459.
- [12] Cambau E, Lascols C, Sougakoff W, et al. Occurrence of qnrA-positive clinical isolates in French teaching hospitals during 2002-2005[J]. Clin Microbiol Infect. 2006, 12(10): 1013-1020.
- [13] 杜向党, 李新生, 秦上尚, 等. 鸡源大肠埃希菌质粒介导的氟喹诺酮类药物耐药基因 *qnrA* 的分子检测[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(5): 28-30.
- [14] 肖方, 李新生, 张素梅, 等. 质粒介导的喹诺酮类耐药基因在鸡源大肠杆菌中的流行[J]. 华北农学报, 2010, 25(1): 222-225.
- [15] Huang S Y, Dai L, Xia L N, et al. Increased prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in chicken *Escherichia coli* isolates from 2001 to 2007[J]. Foodborne Pathog Dis, 2009, 6(10): 1203-1209.
- [16] 林居纯, 吴聪明, 陈雅莉, 等. 我国鸡源大肠埃希菌喹诺酮耐药株中 *qnr* 基因的发现[J]. 中国兽医杂志, 2008, 44(6): 10-11.
- [17] Kim E S, Jeong J Y, Choi S H, et al. Plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump gene, *qepA*, in *Escherichia coli* clinical isolates in Korea [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 65(3): 335-338.
- [18] Namboodiri S S, Opintan J A, Lijek R S, et al. Quinolone resistance in *Escherichia coli* from Accra, Ghana [J]. BMC Microbiology, 2011, 11:44.
- [19] Xia L N, Li L, Wu C M, et al. A Survey of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes from *Escherichia coli* isolates and their dissemination in Shandong, China [J]. Foodborne Pathog Dis, 2010, 7(2): 207-215.
- [20] Wu C M, Wang Y, Cao X Y, et al. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance genes in Enterobacteriaceae isolated from chickens in China[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(2): 408-411.