

一养殖场中质粒介导喹诺酮类药物耐药基因 *qnrS* 的流行特性

陈祥[#], 张维秋[#], 殷嘉浚, 张宁, 陈辰, 杨谖, 焦新安^{*}

扬州大学, 江苏省人兽共患病学重点实验室/江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 扬州 225009

摘要:【目的】研究质粒介导喹诺酮类药物耐药基因 *qnrS* 在一养殖场中的流行特点。【方法】分离养殖场不同来源样品中的大肠杆菌菌株, 利用美国临床标准委员会 (CLSI) 推荐的药敏纸片法测定菌株耐药情况, 通过质粒接合试验获得 *qnrS* 阳性接合子, 测定 *qnrS* 对喹诺酮类药物最小抑菌浓度 (MIC) 值的影响及其与其它类抗生素耐药性的相关性, 利用脉冲场凝胶电泳分析该场中 *qnrS* 阳性菌株遗传进化关系。【结果】环境源菌株 *qnrS* 的阳性率为 29.2%, 显著高于禽源菌株基因检出率 (13.4%), 新进的雏鸡可迅速从养殖场中获得 *qnrS* 基因并在鸡群中流行。*qnrS* 基因可使接合子对喹诺酮类药物 MIC 值不同程度升高, 并且与其它五类抗生素具有相关性, 不同 *qnrS* 阳性菌株间遗传关系较远, 但也存在同一克隆株的流行。【讨论】*qnrS* 基因主要通过质粒的播散等进行水平传播, 同时也存在同一克隆株的流行传播。*qnrS* 基因多样性及其水平传播方式造成了它的广泛流行, 加强对耐药基因的监测及研究对减少多重耐药菌株的产生具有重要意义。

关键词: 质粒介导喹诺酮类药物耐药, *qnrS*, 最小抑菌浓度, 多重耐药, 脉冲场凝胶电泳

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2013) 10-1080-07

20 世纪 80 年代, 氟喹诺酮类药物环丙沙星以其对革兰氏阴性菌广谱和体外良好的杀菌能力而被广泛应用于临床治疗^[1]。对其实际的高耐药率似乎与传统认为的细菌对喹诺酮类药物耐药主要是由染色体突变介导的垂直传播造成的不符^[2]。自 1998 年报道发现质粒上的基因也可介导喹诺酮类药物耐药^[3], 相继有多种质粒介导的喹诺酮类药物耐药 (Plasmid-mediated quinolone resistance, PMQR) 基因被报道, 它们可以在不同菌株间相互传播, 提高了细菌对喹诺酮类药物的耐药率。

为了解质粒介导的喹诺酮类药物耐药基因 *qnrS*

的流行传播特点, 本研究通过对某养殖场进行跟踪监测, 并对阳性菌株脉冲场凝胶电泳进行分析, 探究 *qnrS* 基因可能的流行特点。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品及菌株来源: 2010 年 2 月至 6 月于浙江某养禽场采集样品, 其中家禽样本采自各年龄段随机抽取的个体, 环境样包括灰尘、养殖场排出的污水、饮用水及土壤等。家禽采用肛拭获得样品, 环境

基金项目: 国家自然科学基金 (31001079); 国家“863 计划” (2012AA101601-6); 江苏高校优势学科建设工程项目

^{*} 通信作者。Tel: +86-514-87971136; E-mail: jjiao@yzu.edu.cn

作者简介: [#] 对本文有同等贡献。陈祥 (1978 -), 男, 江苏盐城人, 博士, 副教授, 主要从事微生物学研究, E-mail: chenxiang@yzu.edu.cn;

张维秋 (1986 -), 女, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要从事耐药性研究, E-mail: weiqiuzhang@aliyun.com

收稿日期: 2013-02-10; **修回日期:** 2013-06-16

样本则在养殖场地内外就地采集灰尘、饮用水、污水及土壤等,此外,还采集部分饲料样品。共采集该场样品 545 份,其中家禽肛拭样品 395 份、环境样品 133 份、饲料样品 17 份(见表 1)。共分离到 379 株大肠杆菌,其中饲料源样品中未分离到细菌。*qnrS*

阳性菌株由浙江大学医学院蒋琰博士惠赠;J53Azi^R由上海华山医院王明贵教授赠送。药敏质控菌为大肠杆菌 ATCC25922,沙门菌 H9812 为脉冲场凝胶电泳 Marker。

表 1. 采集样品和细菌分离统计
Table 1. Summary of collected samples and *E. coli* isolates

Sample	Number of samples (No. of the isolates)					
	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Total
Avian swab samples	100 (54)	70 (61)	85 (54)	90 (79)	50 (42)	395 (290)
Chicken	85 (43)	60 (51)	76 (46)	90 (79)	44 (37)	355 (256)
Duck	11 (10)	3 (3)	3 (3)	0	6 (5)	23 (21)
Geese	4 (1)	7 (7)	6 (5)	0	0	17 (13)
Environment samples	0	26 (8)	28 (18)	19 (18)	60 (45)	133 (89)
Dust	0	6 (0)	5 (0)	3 (1)	15 (6)	29 (7)
Solid	0	10 (3)	10 (4)	8 (9)	25 (21)	53 (37)
Sewage	0	4 (5)	8 (14)	8 (8)	20 (18)	40 (45)
Water	0	6 (0)	5 (0)	0	0	11 (0)
Feed samples	0	4 (0)	5 (0)	2 (0)	6 (0)	17 (0)
Total	100 (54)	100 (69)	118 (72)	111 (97)	116 (87)	545 (379)

1.1.2 主要试剂: *Taq* DNA polymerase、DNA Fragment Purification Kit、*Xba* I 购自大连 TaKaRa 公司;蛋白酶 K 购自 Calbiochem 公司;Tris-base、SDS、EDTA、Boric acid 和 Sodium Lauroyl Sarcosine 购自 Amresco 公司;SeaKem Gold 琼脂糖购自 Cambrex Bio Science Rockland;Pulse Field Certified Agarose 购自 Bio-RAD 公司;麦康凯琼脂、MH 琼脂、药敏纸片和药物标准溶液购自杭州微生物试剂有限公司。其余常规试剂为国产或进口分析纯产品。

1.2 样品处理

肛拭子样品用800 μL PBS 浸泡,挑取适量三区划线于麦康凯平板,环境样品(灰尘、土壤等)及饲料样品用 PBS 浸泡后混匀,取适量涂布麦康凯平板,水样品浓缩后涂布麦康凯平板,37℃ 培养 16 – 18 h;每份样品挑取 1 个典型菌落在麦康凯平板上分区划线,37℃ 培养18 h,选取单个典型菌落纯培养后进行生化鉴定和保存^[4]。

1.3 药物敏感性测定

随机选取不同来源的 108 株大肠杆菌,2、3、4、5 和 6 月份分别选取 16、15、30、28 和 19 株菌株。其中鸡源大肠杆菌 72 株(2、3、4、5 和 6 月份分别选取 15、14、18、21 和 4 株);鸭源菌株 8 株(2 月 1 株、4 月 2 株和 6 月 5 株),鹅源菌株 5 株(3 月 1 株和 4

月 4 株),泥土源菌株 9 株(4 月 4 株、5 月 3 株和 6 月 2 株),灰尘源菌株 4 株(5 月 1 株和 6 月 3 株),污水源菌株 10 株(4 月 2 株、5 月 3 株和 6 月 5 株)。依据美国临床标准委员会 (CLSI)^[5] 对肠杆菌科细菌推荐测试的抗生素,按 Kirby-Bauer 法进行药敏纸片试验(萘啶酸、环丙沙星、庆大霉素、复方新诺明、头孢西丁、氯霉素、四环素),从培养了 16 – 18 h 的 MH 琼脂平板上,挑取单个菌落,直接用生理盐水制成 0.5 麦氏单位(约 1.5 × 10⁸ CFU/mL)。在 15 min 内,用无菌棉拭子蘸取调好的菌液,在 MH 琼脂平板表面涂布接种,将确定好的药敏纸片分贴到平板表面。37℃ 倒置培养 16 – 18 h 后,测量各药敏纸片抑菌圈直径,参照 CLSI 手册中药物敏感性标准作出结果判断。质控菌为大肠杆菌 ATCC 25922。

1.4 *qnrS* 基因的检测

根据文献报道^[6]对分离的细菌进行 *qnrS* 基因的检测,细菌 DNA 模板的制备按全菌裂解法进行^[7]。PCR 反应条件:94℃ 预变性 3 min;94℃ 30 s, 57℃ 30 s,72℃ 40 s,30 个循环。取 PCR 产物 3 μL, 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,PCR 产物纯化后送至北京华大基因进行测序。

1.5 细菌接合实验

以 *qnrS* 阳性菌为供体菌,叠氮钠抗性菌株

J53Azi^R 作受体菌进行质粒接合实验,试验按照液体接合法^[8-9]进行,供体菌和受体菌 37℃ 培养至对数生长期,各取供受体菌 500 μL 加入 4 mL 新鲜的 LB 培养基中,37℃ 静置孵育过夜,取适量的液体涂于双抗生素的 TSA 平板上,37℃ 培养。所选择的抗生素为叠氮钠及包括头孢他啶、庆大霉素、四环素、氯霉素及甲氧苄啶等的非喹诺酮类药物组合筛选,以避免在筛选过程中可能发生的喹诺酮类药物作用靶点染色体的突变。挑取双抗生素平板上的菌落分别在含及不含环丙沙星的 TSA 平板上筛选,挑取纯化后单菌落利用 PCR 测定 PMQR 基因是否发生转移。

1.6 喹诺酮类药物 MIC 值及多重耐药表型鉴定

参照 CLSI 推荐的标准^[5],采用微量稀释法测定 5 种喹诺酮类抗生素对受体菌、供体菌及接合子的最小抑菌浓度。依据 CLSI^[5]对肠杆菌科细菌推荐测试的抗生素,按 Kirby-Bauer 法对受体菌、供体菌及接合成功获得的接合子进行 10 大类 15 种抗生素(青霉素类:氨苄西林、哌拉西林;头孢类:头孢噻吩、头孢他啶、头孢噻肟;碳青霉烯类:美罗培南;单环内酰胺类:氨曲南;氨基糖苷类:庆大霉素、阿米卡星、链霉素;四环素类:四环素,磺胺类:复方新诺明;氯霉素类:氯霉素;磷霉素类:磷霉素;硝基呋喃类:呋喃妥因)的药敏纸片实验。质控菌为大肠杆菌 ATCC 25922。

1.7 脉冲场凝胶电泳分析

选择不同时间不同来源的 26 株 *qnrS* 阳性菌进

行脉冲场凝胶电泳实验,分析其遗传进化关系。按照美国疾病预防控制中心 Pulse-Net 的大肠杆菌 O157:H7 PFGE 标准化方法操作^[10],Marker 为沙门菌 H9812。

2 结果

2.1 细菌分离

2010 年 2 月至 6 月在该养殖场中共分离到 379 株大肠杆菌,其中鸡源菌株 256 株,鸭源菌株 21 株,鹅源菌株 13 株,泥土源菌株 37 株,灰尘源菌株 7 株,污水源菌株 45 株,饲料源样品中未分离到细菌(表 1)。

2.2 药物敏感性测定

在分离到 379 株细菌中,选取该场禽源大肠杆菌和环境源大肠杆菌共 108 株进行药敏纸片实验,结果显示分离菌株对抗生素的耐药性严重(表 2),80% 以上的菌株对萘啶酸、复方新诺明和四环素耐药,对头孢西丁(美福仙)的耐药率最低。禽源菌株对四环素的耐药率达到 97.6%,而环境源菌株达到 100%。对于氯霉素类药物耐药性而言,通过比较同一批鸡群不同时间的耐药率发现随着日龄的增大,分离到的细菌对氯霉素的耐药性呈现下降趋势,这可能与养殖场将氯霉素类药物(菌沙斯氟苯尼考溶液)作为预防鸡群细菌性疾病的常规药物仅在 1-2 周龄的小鸡中使用有关。

表 2. 菌株药敏性测定
Table 2. The susceptibility testing of *E. coli* isolates

Sources	No. of strains	Percentage of the resistance (No. of the isolates)						
		NAL	CIP	GEN	SXT	FOX	CHL	TET
Avian	85	92.9(79)	57.6(49)	18.8(16)	84.7(72)	5.9(5)	74.1(63)	97.6(83)
Environment	23	95.7(22)	60.9(14)	26.1(6)	91.3(21)	0	60.9(14)	100(23)
Total	108	93.5(101)	58.3(63)	20.4(22)	86.1(93)	4.6(5)	71.3(77)	98.1(106)

2.3 *qnrS* 基因的检测

通过 PCR 测定,379 株大肠杆菌分离株中共检测到 65 株 *qnrS* 基因阳性细菌(表 3),*qnrS* 基因存在于所有来源的菌株中。环境源菌株中该基因的阳性率为 29.2%(26/89),显著高于禽源菌株基因检出率(13.4%,39/290)。该养殖场在二月份把鸡全部卖出后,从三月起新购进一批雏鸡,新进雏鸡在三月份的检测中未检出 *qnrS* 阳性菌株,经过一段时间

后再次在该鸡群的分离株中检测到 *qnrS* 基因菌株,此后 *qnrS* 基因在鸡群中一直维持 13.5% 左右的流行率。

通过对 *qnrS* 基因的亚型测定可知,养殖场内存在两种亚型的 *qnrS* 基因(*qnrS1* 和 *qnrS2*)的流行。部分序列上传 GenBank,序列号为 JF773336-JF773339,JF773345-JF773350。

表 3. *qnrS* 阳性菌株分布

Table 3. The distribution of the *qnrS*-positive strains

Month	Number of strains					The positive rate of <i>qnrS</i> (%)				
	Total	Chicken	Duck	Geese	Environment	Total	Chicken	Duck	Geese	Environment
Feb	54	43	10	1	0	18.5	21.0	10.0	0	0
Mar	69	51	3	7	8	0	0	0	0	0
Apr	72	46	3	5	18	13.9	13.0	66.7	0	11.1
May	97	79	0	0	18	21.6	13.9	0	0	55.6
Jun	87	37	5	0	45	27.6	13.5	100	0	31.1
Total	379	256	21	13	89	17.2	12.1	38.1	0	29.2

2.4 受供体菌抗生素敏感性测定

通过质粒接合实验共得到五株接合子,通过对5种喹诺酮类药物的最小抑菌浓度测定可知,*qnrS*的转移可使接合子对萘啶酸的 MIC 升高 8 – 16 倍,可使环丙沙星的 MIC 升高 16 – 32 倍(表 4)。

供体菌对除头孢他啶、氨基南、呋喃妥因和美罗培南外的 7 大类 11 种抗生素可表现耐药,其中氨苄西林、链霉素、四环素、复方新诺明及氯霉素这 5 种抗生素的耐药基因可随 *qnrS* 基因共同转移,使接合子对这些抗生素表现耐药。

表 4. 菌株及其接合子的多重耐药性测定

Table 4. Results on conjugative transfer experiments and MDR phenotype

Strains	<i>qnrS</i> subtype	Sources	Time	MIC					MDR ^a
				NA	CIP	NOR	OFL	LVX	
C389	<i>qnrS1</i>	chicken	2010.2	32	0.125	0.25	0.5	0.5	AMP-TET-SXT-FOF
C544	<i>qnrS1</i>	chicken	2010.4	64	0.25	1	2	0.5	AMP-PIP-CEF-CTX-GEN-AMK-STR-TET-SXT-CHL-FOF
C578	<i>qnrS1</i>	duck	2010.4	32	0.5	1	1	0.5	AMP-TET-SXT
C594	<i>qnrS1</i>	solid	2010.5	32	0.125	0.5	1	0.5	TET-SXT-CHL
C709	<i>qnrS1</i>	dust	2010.6	32	0.25	0.5	1	0.5	AMP-AMK-TET-SXT-CHL
J53				4	0.008	0.016	0.03	0.016	
T-C389	<i>qnrS1</i>			32	0.25	0.5	1	0.5	TET-SXT
T-C544	<i>qnrS1</i>			32	0.125	0.5	1	0.5	AMP-STR-TET-SXT-CHL
T-C578	<i>qnrS1</i>			32	0.5	1	1	0.5	AMP-TET-SXT
T-C594	<i>qnrS1</i>			64	0.25	1	1	0.5	TET-SXT-CHL
T-C709	<i>qnrS1</i>			64	0.25	1	2	0.5	TET-SXT-CHL

^a: AMK, amikacin; AMP, ampicillin; CEF, cephalothin; CHL, chloramphenicol; CTX, cefotaxime; FOF, fosfomycin; GEN, gentamicin; PIP, piperacillin; STR, streptomycin; SXT, trimethoprim-sulfamethoxazole; TET, tetracycline.

2.5 *qnrS* 阳性菌遗传进化关系分析

选取 26 株不同来源的 *qnrS* 阳性株进行脉冲场凝胶电泳,对所得到的 PFGE 图谱基于 UPGMA 聚类分析,绘制菌株的系统进化树(图 1)。

通过 PFGE 对养殖场内 *qnrS* 阳性菌株的遗传进化关系分析显示,26 株菌株共分成 22 个 PFGE 型,聚类分析显示虽然菌株分离自同一养殖场并且均为 *qnrS* 阳性菌株,但是菌株间亲缘关系普遍较远,说明 *qnrS* 基因主要通过水平传播,同时也存在细菌的克隆传播造成的流行。分离于环境(污水)及鸭肛拭样品中的 2 株 *qnrS2* 阳性菌株 C726 及 C770 的 PFGE 带型相同,显示环境中与动物种群中携带 *qnrS* 基因的菌株可通过某些途径进行传播;分离自棚舍上灰尘、地面泥土及鸭肛拭样品中的 4 株 *qnrS* 阳性菌株(C594、C607、C709 和 C769)的 PFGE

带型相同,说明可能为同一克隆株的传播(图 1)。

3 讨论

质粒介导的喹诺酮类药物耐药基因 *qnr* 虽然仅介导低水平的喹诺酮类药物耐药,但是其可显著升高接合子对喹诺酮类药物的 MIC 值^[11],Qnr 蛋白产生低水平耐药,但治疗浓度的喹诺酮类药物可以促进高水平耐药性的出现^[12]。*qnrS* 基因于 2003 年 10 月在日本的一株痢疾杆菌 2b 中被发现^[13],其存在于一个独特的接合型质粒上,并且可以引起低水平的喹诺酮类药物耐药性的转移,它编码 218 个氨基酸的五肽重复序列蛋白,与 QnrA1 的氨基酸具有 59% 的同源性。

本研究通过对养殖场不同来源样品 *qnrS* 基因

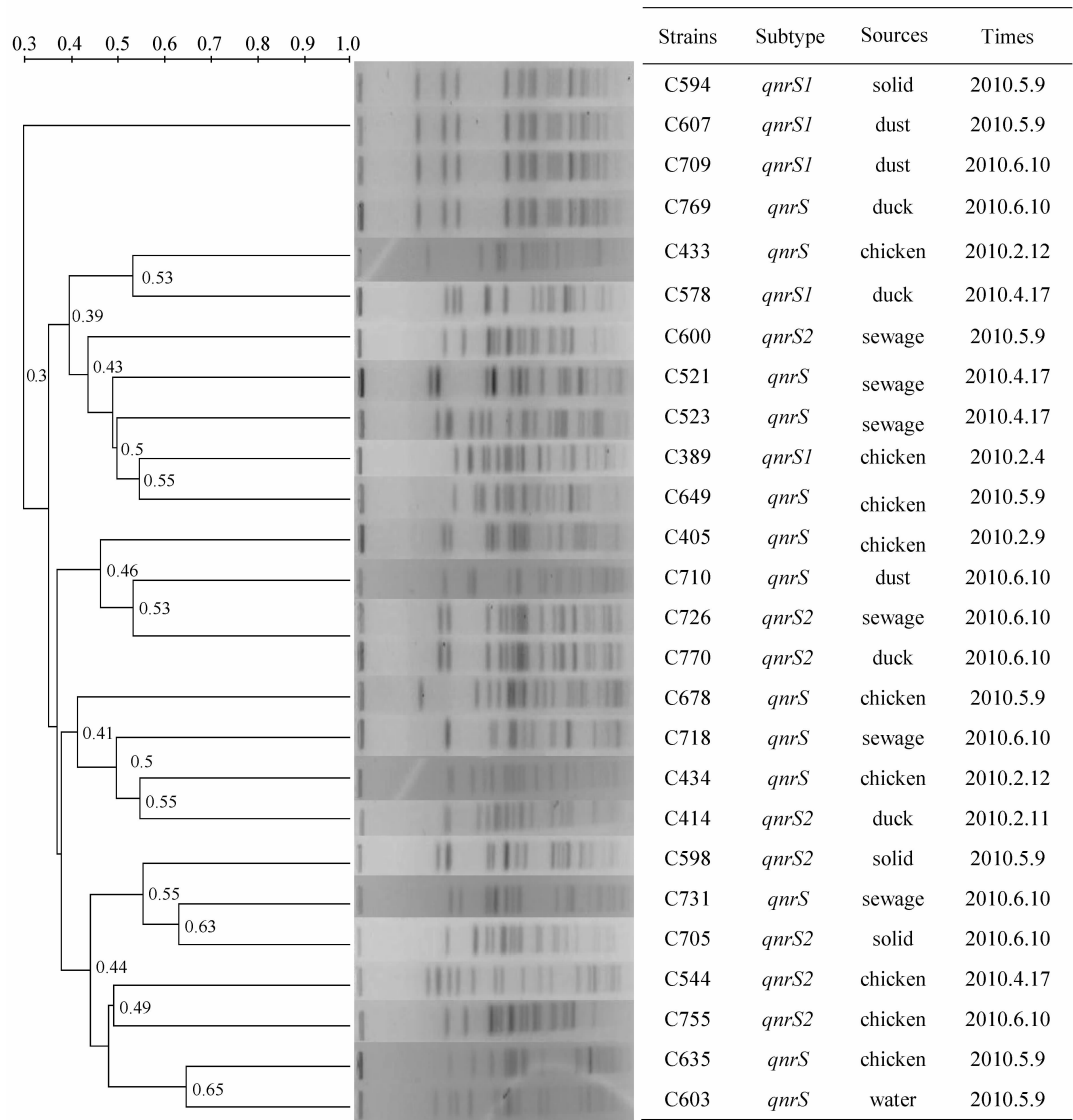


图 1. 某养殖场 *qnrS* 阳性菌株聚类分析

Figure 1. Dendrogram of cluster analysis of *qnrS*-positive strains on a farm.

的跟踪监测可知,在多数来源的样品中均可检测到阳性菌株,并且存在 2 个亚型的 *qnrS* (*qnrS1* 和 *qnrS2*) 基因流行。在环境源菌株中基因检出率为 29.2% (26/89) 显著高于禽源菌株检出率 13.4% (39/290) ($P < 0.005$)。其中,三月份的采样主要是养殖场新进的一批小鸡,未能检测到阳性菌株,但是经过一段时间后,四月份鸡群中 *qnrS* 基因阳性率迅速升高 (13.0%),说明经过一定时间的生活后,鸡群可以从养殖场中获得 *qnrS* 基因。

结合该养殖场用药习惯,1-2 周龄鸡中用磺胺类药物红球磺胺氯吡嗪钠可溶性粉和氯霉素类药物菌沙斯氟苯尼考溶液,4-6 周龄鸡中用氨基糖苷类

诺达肠乐硫酸新霉素可溶性粉,成年鸡用肠杆泰硫酸安普霉素可溶性粉。与 *qnrS* 共同转移的抗生素耐药性中含有这三大类药物的耐药性,说明药物的使用可能一定程度上促使了耐药基因的整合与转移。

聚类分析显示,同一养殖场中 *qnrS* 阳性菌遗传关系普遍较远,但也发现有 2 组不同来源的细菌显示出相同的 PFGE 带型,如分离于污水及鸭肛拭样品中的两株 *qnrS2* 阳性菌株 C726 及 C770 的 PFGE 带型相同,说明环境中与动物种群中携带 *qnrS* 基因的菌株可通过某些途径进行传播;分离自棚舍上灰尘、地面泥土及鸭肛拭样品中的 4 株 *qnrS* 阳性菌株

PFGE 带型相同,说明可能来源于同一克隆株。而通过对 *qnrS* 接合子的多重耐药表型测定显示,*qnrS* 基因与其他抗生素耐药基因具有相关性,5 株 *qnrS1* 亚型的接合子耐药表型并不一致,说明 *qnrS* 基因主要通过质粒播散或整合子等水平模式进行传播流行,也可在小范围内以克隆株的形式传播。

本研究显示 *qnrS* 基因与其他类型抗生素具有相关性,而当在其它抗生素的压力下共同转移入另一菌株时,可造成菌株对多种抗生素的耐药;而 *qnrS* 基因多样性的传播及流行方式造成基因在各个来源的菌株中广泛存在和流行。因此,加强对质粒介导的喹诺酮类药物耐药基因的监测及研究,降低耐药基因的流行率对减少多重耐药菌株的产生具有重要意义。

参考文献

- [1] Paton JH, Reeves DS. Fluoroquinolone antibiotics. microbiology, pharmacokinetics and clinical use. *Drugs*, 1988, 36(2): 193-228.
- [2] Acar JF, Goldstein FW. Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*, 1997, 24 (Suppl 1): S67-73.
- [3] Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, 1998, 351 (9105): 797-799.
- [4] Chen X, Gao S, Jiao XA, Liu XF. Prevalence of serogroups and virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from pigs with postweaning diarrhea in eastern China. *Veterinary Microbiology*, 2004, 103(1): 13-20.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement; CLSI Document M100-S20. Wayne Pennsylvania, 2005, 30: 1-131.
- [6] Chen X, Zhang WQ, Pan WJ, Yin JJ, Pan ZM, Gao S, Jiao XA. Prevalence of *qnr*, *aac* (6')-Ib-cr, *qepA*, and *oqxAB* in *Escherichia coli* isolates from humans, animals, and the environment. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, 56(6): 3423-3427.
- [7] Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd eds. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- [8] Wang M, Tran JH, Jacoby GA, Zhang Y, Wang F, Hooper DC. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, 47 (7): 2242-2248.
- [9] Wang M, Tran J, Jacoby G, Zhang Y, Wang F, Hooper DC. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Chinese Journal of Infection and Chemotherapy*, 2006, 6(4): 217-221. (in Chinese) 王明贵, Tran JH, Jacoby GA, 张婴元, 汪复, Hooper DC. 大肠埃希菌临床分离株对喹诺酮类抗菌药的质粒介导耐药. 中国感染与化疗杂志, 2006, 6(4): 217-221.
- [10] Gautam RK. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for typing of *Escherichia coli* O157:H7 and other gram-negative organisms in 1 day. *Journal of Clinical Microbiology*, 1997, 35(11): 2977-2980.
- [11] Wang M, Sahm DF, Jacoby GA, Zhang Y, Hooper DC. Activities of newer quinolones against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* containing the plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnr*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, 48(4): 1400-1401.
- [12] Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, 2006, 6(10): 629-640.
- [13] 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. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, 49 (2): 801-803.

Prevalence and transmission of plasmid-mediated quinolone resistance *qnrS* gene among *Escherichia coli* isolates in a poultry farm

Xiang Chen[#], Weiqiu Zhang[#], Jiajun Yin, Ning Zhang, Chen Chen, Su Yang, Xin'an Jiao^{*}

Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis/Jiangsu Co-Innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

Abstract: [**Objective**] To investigate the prevalence and transmission of plasmid-mediated quinolone resistance *qnrS* gene among *Escherichia coli* isolates in a poultry farm and its environment. [**Methods**] *E. coli* isolates from fecal samples in a poultry farm and its environment from February to June 2010 were screened for the prevalence and dynamic changes of *qnrS* gene. Susceptibility testing, conjugant experiments, and pulsed field gel electrophoresis of *qnrS*-positive isolates were also performed. [**Results**] A total of 379 isolates were randomly obtained from feces samples of chickens, ducks and geese in a poultry farm and its environment. The *qnrS* positive strains were detected in all sources of isolates and two alleles of *qnrS* were prevalent on this farm. The positive rate of *qnrS* gene in environmental strains was 29.2% , which was significantly higher than that in the avian strains (13.4%). Chicken can quickly acquire *qnrS* gene after they live on this farm. Transconjugants of the *qnrS* gene can elevate ciprofloxacin Minimum inhibitory concentrations (MICs) by 16 – 32 fold compared with the recipient. Various determinants for resistance to other antimicrobial agents were also transferred with the *qnrS* plasmid. The *Xba* I PFGE analysis of the *qnrS* positive strains showed that the dissemination of *qnrS* was not mainly due to the clonal dissemination of positive strains. However, *qnrS*-positive strains with indistinguishable PFGE patterns were found in ducks and environment. [**Conclusion**] Both horizontal gene transfer and clonal spread could be responsible for the dissemination of the *qnrS* gene in the poultry farm and its environment, but it is mainly disseminated by horizontal transmission.

Keywords: plasmid-mediated quinolone resistance, *qnrS*, minimum inhibitory concentration, multiple drug resistance, pulsed field gel electrophoresis

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31001079), by the National Programs for High Technology Research and Development of China (2012AA101601-6) and by the Project Funded by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions

* Corresponding author. Tel: +86-514-87971136; E-mail: jiao@yzu.edu.cn

These authors contributed equally to this work.

Received: 10 February 2013/Revised: 16 June 2013