

研究报告

水产养殖环境耐药细菌中复合 1 型整合子的流行特征

马辰婕¹ 吴小梅¹ 林茂^{1,2*} 黄力行¹ 马英¹ 鄢庆彬¹

(1. 集美大学水产学院 福建 厦门 361021)

(2. 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心 福建 厦门 361021)

摘要:【目的】了解复合 1 型整合子在水产养殖环境中的分布和流行特征。【方法】对 108 株分离自福建水产养殖场的耐药细菌,通过 PCR 和序列分析,检测其复合 1 型整合子上下游保守区和可变区的携带情况。【结果】有 86 株(79.6%)和 47 株(43.5%)分别携带 1 型整合子和 ISCR1 元件,这两种上下游保守区均携带的耐药细菌则有 26 株(24.1%),其中 16 株(14.8%)耐药细菌成功地扩增出上下游可变区,分布于 8 属 9 种。进一步对 ISCR1 上下游序列的拼接和分析,表明这 16 株细菌携带两种类型的复合 1 型整合子: (1) *intI1-aac(6')-Ib-cr-arr-3-dfrA27-aadA16-qacEΔ1-sull-ISCRI-sdr-qnrB6-qacEΔ1-sull* (15 株); (2) *intI1-aac(6')-Ib-cr-arr-3-dfrA27-aadA16-qacEΔ1-sull-ISCRI-sapA-like-qnrB2-qacEΔ1(truncated)-sull* (1 株,肺炎克雷伯菌 C12),该阵列为新发现的复合 1 型整合子结构。【结论】复合 1 型整合子在水产养殖环境中并不少见,且存在于多种细菌中,但其基因阵列结构缺乏多样性。

关键词: 复合 1 型整合子, 整合子, ISCR1, 耐药性

Prevalent feature of complex class 1 integrons in drug-resistant bacteria isolated from aquaculture environment

MA Chen-Jie¹ WU Xiao-Mei¹ LIN Mao^{1,2*} HUANG Li-Xing¹
MA Ying¹ YAN Qing-Pi¹

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, China)

(2. Engineering Research Center of the Modern Technology for Eel Industry of Education Ministry, Xiamen, Fujian 361021, China)

Abstract: [Objective] In order to understand the distribution and genomic characteristics of complex class 1 integron in aquaculture environment. [Methods] 108 strains of drug-resistant bacteria were

Foundation item: Special Fund for Agro-Scientific Research in the Public Interest (No. 201203085); National Natural Science Foundation of China (No. 31202030); Regional Demonstration Project for Marine Economic Development (No. 16PZY002SF18); Natural Science Foundation of Fujian Province (No. 2014J01129); Scientific Research Fund of Fujian Provincial Department of Education (No. JA15292)

*Corresponding author: E-mail: linmao@jmu.edu.cn

Received: November 21, 2016; Accepted: January 16, 2017; Published online (www.cnki.net): January 16, 2017

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(No. 201203085); 国家自然科学基金项目(No. 31202030); 海洋经济发展区域示范项目(No. 16PZY002SF18); 福建省自然科学基金(No. 2014J01129); 福建省教育厅科技项目(No. JA15292)

*通讯作者: E-mail: linmao@jmu.edu.cn

收稿日期: 2016-11-21; 接受日期: 2017-01-16; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-01-16

isolated from aquaculture farms in Fujian province to check the carrying status of the upstream and downstream conserved and variable regions of the complex class 1 integron by PCR and sequencing. **[Results]** The results showed that 86 strains (79.6%) carried class 1 integrons and 47 strains (43.5%) carried ISCR1 elements. However, only 26 strains (24.1%) have both of the elements, of which 16 strains (14.8%) were successfully amplified upstream and downstream variable regions, involving 9 species, 8 genera. Furthermore, splicing and analysis of upstream and downstream sequences indicated that these 16 strains carried two types of complex class 1 integrons: (1) *intI1-aac(6')-Ib-cr-arr-3-dfrA27-aadA16-qacE Δ 1-sul1-ISCRI-sdr-qnrB6-qacE Δ 1-sul1* (15 strains); *intI1-aac(6')-Ib-cr-arr-3-dfrA27-aadA16-qacE Δ 1-sul1-ISCRI-sapA-like-qnrB2-qacE Δ 1(truncated)-sul1* (only *Klebsiella pneumoniae* C12 strain), which is a novel structure of complex class 1 integron. **[Conclusion]** The complex class 1 integron is not infrequent in aquaculture environment and exists in various bacteria, yet its gene structure lacks diversity.

Keywords: Complex class 1 integron, Integron, ISCR1, Drug resistance

伴随抗生素在临床的大量应用,细菌的耐药性也不断增强和扩散。细菌的耐药性除了天然具备,还可以通过基因突变、潜在基因表达和基因水平转移等方式获得。基因的水平转移是最常见的抗性获得方式,主要是因其能借助可移动元件在同种或不同种细菌之间进行转移,常见的可移动元件有接合性质粒、转座子、整合子和插入序列等^[1-2]。1993年,Stokes等首次在质粒pDGO100上发现一类特殊大片段元件,该元件由1型整合子和插入序列共同区1(Insertion sequence common region 1, ISCR1)两部分组成,前者对自身3'保守区域的*sul*基因进行适当修饰,后者则丢失自身5'保守区域的终止位点*terIS-1*,从而形成一种高效的基因捕获与转移系统——复合1型整合子(Complex class 1 integron),又可称为*sul*型整合子^[3-4]。

之后,各个国家的学者在医院分离细菌中陆续发现了不同的复合1型整合子,Lascols等在法国医院的病人排泄物分离得到的抗坏血酸克吕沃菌中发现复合1型整合子,该元件可以借助接合性质粒Kas96向大肠杆菌J53转移,实现抗性基因的跨菌种转移,其1型整合子区基因阵列为*aac(6')-Ib-cr-blaOXA-catB3-arr-3*, ISCR1区基因阵列为*qnrA1-ampR*^[5]。Bae等从韩国临床环境分离出具有新型复合1型整合子的大肠杆菌,其整合子阵列为*dfrA12-orfF-aadA2*,而ISCR1区不仅含*blaCTX-M-14*,还有另一种可移动元件ISEcpI^[6]。

Wachino等从日本医院样本分离的粘质沙雷菌中,发现整合子区为*aac(6')-Ib-catB3*及ISCR1区含*blaSMB-1*的复合1型整合子^[7]。Ramírez等从阿根廷医院分离的奇异变形杆菌广泛存在含*blaCTX-M-2*的复合1型整合子,能够在鲍氏不动杆菌中稳定表达,使鲍氏不动杆菌获得 β -内酰胺酶类抗性^[8]。Santos等在从葡萄牙医院样本分离出的肺炎克雷伯菌中发现携带有复合1型整合子的菌株,其上游整合子区为*arr-3-aadA16-dfrA27*,下游ISCR1区为*aac(6')-Ib-cr-blaOXA-30-catB3-arr-3*^[9]。Xia等在中国医院附近的废水分离出的点状气单胞菌中检出复合1型整合子,而且能够向大肠杆菌J53发生水平转移,其整合子区为*aacA4-qnrAC4-aacA4-catB3*, ISCR1区为*blaPER-1*^[10]。由此可见,复合1型整合子广泛存在于不同地区的细菌中,且种类多样。但现有研究都集中于人类临床病原菌或医院环境细菌,鲜见关于水产养殖环境细菌中复合1型整合子的报道。

医院环境细菌的耐药基因或元件可以经由废水和雨水等排水途径进入水产养殖池,而水产养殖环境中的耐药基因也可通过食物链等途径转移给人类病原菌,因此研究水产养殖环境中耐药细菌复合1型整合子的分布情况和结构特征,不仅对水产养殖环境中耐药性传播的风险评估和控制具有重要意义,而且对揭示不同环境间耐药性遗传元件的水平转移规律也有一定的参考价值。

1 材料与方 法

1.1 菌株

实验所用菌株分离自福建省 5 个鳗鱼养殖场, 根据菌落的大小、形状、颜色、边缘、光泽度、质地、透明度和表面湿润程度等形态特征进行初筛, 并结合耐药细菌对 9 类 17 种抗生素的药敏实验结果, 以及 16S rRNA 基因分子鉴定, 排除重复菌株, 获得以气单胞菌(*Aeromonas*)、柠檬酸杆菌(*Citrobacter*)、不动杆菌(*Acinetobacter*)、克雷伯菌(*Klebsiella*)等属为主的 20 属 31 种的 108 株不同的耐药性细菌(表 1)^[11]。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

MH 培养基购自青岛海博生物技术有限公司。药敏试纸购自英国 OXOID 公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技有限公司; *Taq* DNA 聚合酶、dNTPs 购自 Fermentas 公司; 引物及其后 PCR 扩增产物的测序服务由南京金斯瑞生物科技有限公司提供。移液器, 德国 Eppendorf 公司; 电泳仪 PP-1156, 北京凯元信瑞仪器有限公司; 自动对焦凝胶成像仪 JS-2012, 上海培清科技有限公司; PCR 仪, 德国 Biometra 公司。

1.3 细菌基因组 DNA 的提取

108 株耐药菌株在 MH 液体培养基中, 30 °C、180 r/min 培养 18 h 后使用试剂盒提取细菌基因组 DNA^[12]。

1.4 1 型整合子和 ISCR1 元件的 PCR 扩增

耐药菌株的基因组 DNA 分别以 1 型整合子的整合酶基因 *intI1* 和 ISCR1 元件的保守区引物进行 PCR 扩增, 对检测结果为阳性的菌株进一步以 ISCR1 上游和下游可变区的引物进行 PCR 扩增(表 2)。PCR

表 1 108 株耐药细菌菌属组成
Table 1 Composition of 108 strains of drug-resistant bacteria

菌属 Genus	菌株数 Number of strains	比例 Proportion (%)
气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>	26	24.07
柠檬酸杆菌属 <i>Citrobacter</i>	19	17.59
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	18	16.67
克雷伯菌属 <i>Klebsiella</i>	9	8.33
希瓦菌属 <i>Shewanella</i>	7	6.48
变形杆菌属 <i>Proteus</i>	5	4.63
福格斯菌属 <i>Vogesella</i>	3	2.78
邻单胞菌属 <i>Plesiomonas</i>	3	2.78
葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i>	3	2.78
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	3	2.78
泛菌属 <i>Pantoea</i>	2	1.85
沙雷菌属 <i>Serratia</i>	2	1.85
埃希氏菌属 <i>Escherichia</i>	1	0.93
爱德华菌属 <i>Edwardsiella</i>	1	0.93
寡养单胞菌属 <i>Stenotrophomonas</i>	1	0.93
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	1	0.93
金黄杆菌属 <i>Chryseobacterium</i>	1	0.93
类香味菌属 <i>Myroides</i>	1	0.93
植物杆菌属 <i>Phytobacter</i>	1	0.93
卓贝尔氏菌属 <i>Zobellella</i>	1	0.93

表 2 1 型整合子和 ISCR1 元件保守区和可变区的 PCR 引物
Table 2 The primer pairs to amplify genes associating with ISCR1 and class 1 integron

引物名称 Primer	引物序列 Primer sequence (5'→3')	片段大小 Size (bp)	目的基因 Target gene	退火温度 Temperature (°C)
IntI1-F	GTTCGGTCAAGTTCTGG ^[12]	890	<i>intI1</i>	55
IntI1-R	CGTAGAGACGTCGGAATG ^[12]			
ISCR1-F	ATGGTTTCATGCGGGT ^[13]	475	ISCR1	55
ISCR1-R	CTGAGGGTGTGAGCGAG ^[13]			
V1	GGCATCCAAGCAGCAAG ^[14]	Variable	Variable regions of class 1 integron	60
ISCR1-R	CTGAGGGTGTGAGCGAG ^[13]			
ISCR1-F	ATGGTTTCATGCGGGT ^[14]	Variable	Variable regions of ISCR1	60
SUL1-R	TTTGAAGGTTTCGACAGC ^[15]			

扩增体系: 2.5 μL $10\times\text{Taq}$ buffer (含 Mg^{2+}), 1.5 μL DNA 模板(0.1–1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), 0.5 μL dNTPs (10 mmol/L), 0.5 μL 引物对(10 $\mu\text{mol}/\text{L}$), 0.125 μL *Taq* 酶(5 U/ μL), 19.375 μL 去离子水。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 退火(表 2) 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min。

1.5 复合 1 型整合子可变区的测序及比对分析

所有的 PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测 (110 V, 20 min), 对于 *ISCR1* 上下游可变区的扩增产物分别进行测序, 并通过 SeqMan 软件进行拼接。DNA 序列在 GenBank 中进行 BLAST 比对、注释和登录。

1.6 耐药菌的药敏试验

药敏试验以 *E. coli* ATCC25922 为质控菌株, 采用标准的 K-B 纸片琼脂扩散法。受试菌液用生理盐水稀释至麦氏 0.5 浊度, 然后用无菌棉棒蘸取并均匀涂抹于 MH 平板上。待平板上水分干燥, 将已恢复常温的药敏纸片贴在平板表面并轻压, 28 $^{\circ}\text{C}$ 生

化培养箱中倒置培养 16–18 h 后, 测量各药敏纸片对细菌的抑菌圈直径, 结果判断参照美国临床实验室标准化委员会(CLSI)标准^[16]。

2 结果与分析

2.1 耐药细菌 1 型整合子与 *ISCR1* 元件的检测

对 1 型整合子和 *ISCR1* 保守区序列的检测结果(图 1)表明, 108 株耐药性细菌中, 86 株(79.6%)携带有 1 型整合子, 47 株(43.5%)携带有 *ISCR1* 元件, 两种元件均携带的耐药细菌有 26 株(24.1%)。

2.2 *ISCR1* 上游 1 型整合子及下游可变区检测

上述具备 1 型整合子和 *ISCR1* 的 26 株阳性菌株, 有 16 株可成功扩增出 *ISCR1* 上游 1 型整合子(图 2)与下游可变区(图 3), 即复合 1 型整合子在全部 108 株耐药细菌中的检出率为 14.8%。而其余 10 株虽携带有 1 型整合子和 *ISCR1* 元件, 但无法扩增得到 *ISCR1* 上游可变区, 表明其 1 型整合子与 *ISCR1* 可能各自独立存在或未正常衔接。

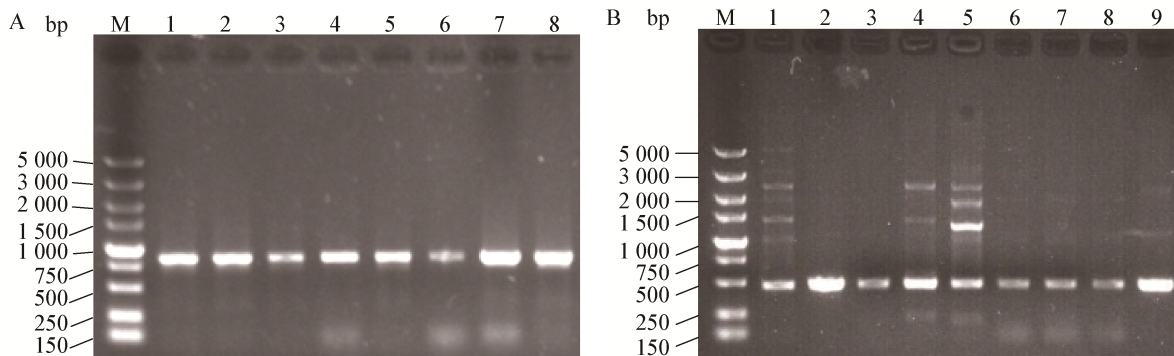


图 1 部分菌株 *intI1* (A)和 *ISCR1* (B)保守区电泳图

Figure 1 Electrophoretogram of conserved region of *intI1* (A) and *ISCR1* (B) of some test strains

Note: M: DNA marker; A: 1–8: Conserved regions of *intI1*; B: 1–9: Conserved regions of *ISCR1*.

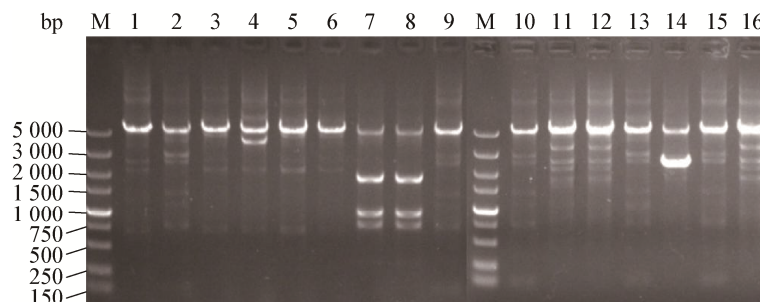


图 2 16 株耐药菌 *ISCR1* 上游 1 型整合子可变区电泳图

Figure 2 Electrophoretogram of variable region of class 1 integron in the front of *ISCR1*

Note: M: DNA marker; 1–16: Variable region of class 1 integron in the front of *ISCR1*.

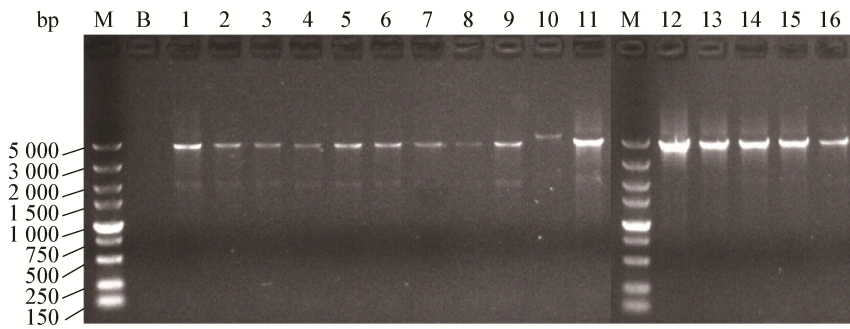


图 3 16 株耐药菌 ISCR1 下游可变区电泳图

Figure 3 Electrophoretogram of variable region in the back of ISCR1

Note: M: DNA marker; B: Blank; 1-16: Variable region in the back of ISCR1.

2.3 复合 1 型整合子的结构分析

上述 16 株细菌经测序和 BLAST 比对分析, 发现两类复合 1 型整合子结构(表 3)。这两类的上游整合子区结构尽皆相同, 即 *intI1-aac(6')-Ib-cr-arr-3-dfrA27-aadA16-qacEΔ1-sul1*, 仅在下游 ISCR1 区有所区别。第一类结构涉及 15 株细菌, 其下游 ISCR1 区为 *ISCR1-sdr-qnrB6-qacEΔ1-sul1*, 此类复合 1 型整合子全序列与 GenBank 中的肺炎克雷伯菌 C2367 (JF775514) 相似性达 99%。第二类结构仅在 1 株肺炎克雷伯菌 C12 中出现, 其下游 ISCR1 区是另外一种阵列结构, 即 *ISCR1-sapA-like-qnrB2-qacEΔ1(truncated)-sul1*, 此部分与 GenBank 中的沙门氏菌 *Salmonella* sp. (AM234698) 相似性达 99%, 但 *qacEΔ1* 基因在 5' 端缺失了 144 bp 的片段。此外, 第二类复合 1 型整合子全序列(GenBank 登录号 KX808525) 的 BLAST 结果显示最高相似性 (JF775514) 仅为 83%, 表明这是一种新的复合 1 型整合子结构。

2.4 复合 1 型整合子与耐药的相关性

16 株耐药细菌所携带的复合 1 型整合子共涉及 4 类 7 种抗生素耐药基因, 而药敏试验结果(表 4) 表明, *dfrA27* 基因所对应的抗甲氧苄氨嘧啶(TMP) 的表型阳性率最高(93.8%), 其次是 *arr-3* 基因对应的抗利福平(RIF) (81.3%) 和 *sul1* 基因对应的抗磺胺异恶唑(SIZ) (75%) 耐药表型, 而 *aac(6')-Ib-cr*、*aadA16*、*qnrB2*、*qnrB6* 等基因分别对应的氨基糖苷类(37.5%) 或抗喹诺酮类(18.8%) 的表型阳性率(至少耐该类抗生素中的一种) 较低。

3 结论与讨论

3.1 复合 1 型整合子的菌属偏好性

本研究检测的 108 株耐药细菌中有 16 株(14.8%) 得到完整的复合 1 型整合子, 分布于 8 属 9 种。对于水产养殖环境分离的优势菌属内而言, 克雷伯菌属中复合 1 型整合子的检出率(55.6%, 5/9) 最高, 其次是柠檬酸杆菌属(21.1%, 4/19), 而不动杆菌属

表 3 两类复合 1 型整合子结构与相关菌株

Table 3 The structures of two types of complex class 1 integrons and the related resistant bacteria

相关菌株 Strain	复合 1 型整合子结构 Structures of complex class 1 integrons
A1, M1, M2, C3, M12, M20, S21, S22, A15, M7, T19, M8, M17, M16, M18	<p><i>intI1-aac(6')-Ib-cr-arr-3-dfrA27-aadA16-qacEΔ1-sul1-ISCR1-sdr-qnrB6-qacEΔ1-sul1</i></p>
C12	<p><i>intI1-aac(6')-Ib-cr-arr-3-dfrA27-aadA16-qacEΔ1(sul1)-ISCR1-sapA-like-qnrB2-qacEΔ1(truncated)-sul1</i></p>

(5.6%, 1/18)和气单胞菌属(0/26)的检出率极低。Cheng 等从 2 309 株临床分离细菌中检测出 63 株携带复合 1 型整合子, 其中肺炎克雷伯菌占据多数(32 株)^[17]。伍好对 90 株肉鸡源克雷伯菌的检测发现有 46 株同时携带 1 型整合子和 ISCR1^[18]。由此可见, 不论是医院, 还是畜禽动物和水产养殖环境中, 克雷伯菌都是复合 1 型整合子的主要携带者之一。

3.2 复合 1 型整合子的结构特征

1 型整合子 3'保守区和 ISCR1 的 5'保守区重排形成复合 1 型整合子, 从而具有捕获更多抗性基因的能力^[19]。本研究发现 10 株细菌携带整合子和 ISCR1, 但是这两个元件并没有串联起来, 可能是各自独立存在。另外有 16 株细菌的整合子和 ISCR1 可以拼接为完整的两类复合 1 型整合子(表 3), 其中有 15 株细菌携带第一类复合 1 型整合子, 这类结构在 Ruiz 等^[20]研究的临床源肺炎克雷伯菌和 Liu 等^[21]在

养猪场分离的河生肠杆菌中也有过报道, 而其结构中的下游 ISCR1 区阵列 *sdr-qnrB6* 具有更高的检出率, 在 Cheng 等发现的 63 株复合 1 型整合子阳性菌株中有 20 株(31.7%)携带该阵列^[17]。本文中第二类复合 1 型整合子仅在肺炎克雷伯菌 C12 菌株中检出, 该基因结构未见报道过, 但其 ISCR1 区与 Quiroga 等^[13]和 Cheng 等^[17]研究结果相类似, 不过本研究中的 *qacEΔ1* 基因在 5'端有部分缺失, 原因不详。

3.3 复合 1 型整合子的基因盒

两类复合 1 型整合子各携带 5 种抗生素耐药基因(包括保守区的 *sul1*), 从耐药表型来看, 与抗叶酸合成类抗性相关的 *dfiA27* 和 *sul1* 基因, 以及抗利福平的 *arr-3* 基因表达的阳性率较高, 而 *aac(6)-Ib-cr*、*aadA16*、*qnrB2*、*qnrB6* 等基因的表达水平则较低。因此, 对于水产养殖中出现的含复合 1 型整合子的多重耐药病原细菌, 新霉素、恩诺

表 4 携带复合 1 型整合子菌株的耐药表型
Table 4 The drug sensitivity of the bacterial strains carrying complex class 1 integron

菌种 Specie	菌株 Strain	氨基糖苷类 Aminoglycosides			喹诺酮类 Quinolones			抗叶酸合成类 Antifolates		安莎霉素类 Ansamycins
		STR	KAN	NEO	NOR	OFL	ENR	SIZ	TMP	RIF
肺炎克雷伯菌 <i>K. pneumoniae</i>	A1	S	R	I	S	S	I	R	R	R
	M1	S	I	S	S	S	S	R	R	R
	M2	S	R	R	S	S	S	R	R	R
	C3	S	S	S	S	S	R	R	R	R
	C12	S	I	I	R	R	R	S	R	R
弗氏柠檬酸杆菌 <i>C. freundii</i>	M12	S	S	S	S	S	S	R	R	S
	M20	R	S	S	S	S	I	R	R	R
	M21	S	S	S	S	S	S	R	R	S
沃克曼柠檬酸杆菌 <i>C. werkmanii</i>	S22	R	S	S	S	S	S	R	R	R
医院不动杆菌 <i>A. nosocomialis</i>	A15	S	S	S	S	S	S	S	I	R
	M7	S	I	R	S	S	R	R	R	R
成团泛菌 <i>P. agglomerans</i>	T19	I	I	S	S	S	I	R	R	R
	M8	S	I	S	I	S	S	R	R	R
透明福格斯氏菌 <i>V. perluxida</i>	M17	S	S	S	S	S	S	R	R	S
嗜麦芽寡养单胞菌 <i>S. maltophilia</i>	M16	R	R	R	S	S	S	I	R	R
新万景希瓦菌 <i>S. seohaensis</i>	M18	I	S	S	S	S	S	S	R	R

注: R: 耐药; I: 中等敏感; S: 敏感; STR: 链霉素; KAN: 卡那霉素; NEO: 新霉素; NOR: 诺氟沙星; OFL: 氧氟沙星; ENR: 恩诺沙星; SIZ: 磺胺异恶唑; TMP: 甲氧苄氨嘧啶; RIF: 利福平。

Note: R: Resistant; I: Moderately sensitive; S: Sensitive; STR: Streptomycin; KAN: Kanamycin; NEO: Neomycin; NOR: Norfloxacin; OFL: Ofloxacin; ENR: Enrofloxacin; SIZ: Sulfamethoxazole; TMP: Trimethoprim; RIF: Rifampicin.

沙星这两种水产用抗菌药可作为推荐药物。此外, 基因盒还包含非抗生素耐药基因 *sdr* 和 *sapA*, 前者表达的产物是短链脱氢酶/还原酶(Short chain dehydrogenase/reductase), 这是一类涉及糖、醇、脂类、氨基酸、碳氢化合物、辅酶、荷尔蒙、异生物质等多种代谢, 并在氧化还原传感器机制中具有关键作用的酶^[22]。后者是一种毒力因子, 对应产物是抗菌肽结合蛋白, 能够结合和转移抗菌肽, 抵抗宿主的免疫反应, 提高菌体的存活率^[23]。许多研究表明, 携带复合 1 型整合子的细菌通常都具有多重耐药性^[24-25]。因此, 实际上复合 1 型整合子也可以作为监测多重耐药性的指标之一, 这对减少细菌耐药性风险具有重要的意义。

参 考 文 献

- [1] Stokes HW, Gillings MR. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into gram-negative pathogens[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2011, 35(5): 790-819
- [2] Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century?[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2006, 70(2): 296-316
- [3] Stokes HW, Tomaras C, Parsons Y, et al. The partial 3'-conserved segment duplications in the integrons In6 from pSa and In7 from pDGO100 have a common origin[J]. Plasmid, 1993, 30(1): 39-50
- [4] Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. Common regions e.g. *orf513* and antibiotic resistance: IS91-like elements evolving complex class 1 integrons[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006, 58(1): 1-6
- [5] Lascols C, Podglajen I, Verdet C, et al. A plasmid-borne *Shewanella algae* gene, *qnrA3*, and its possible transfer *in vivo* between *Kluyvera ascorbata* and *Klebsiella pneumoniae*[J]. Journal of Bacteriology, 2008, 190(15): 5217-5223
- [6] Bae IK, Lee YH, Jeong HJ, et al. A novel *bla*_{CTX-M-14} gene-harboring complex class 1 integron with an In4-like backbone structure from a clinical isolate of *Escherichia coli*[J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2008, 62(3): 340-342
- [7] Wachino JI, Yoshida H, Yamane K, et al. SMB-1, a novel subclass B3 metallo- β -lactamase, associated with ISCR1 and a class 1 integron, from a carbapenem-resistant *Serratia marcescens* clinical isolate[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011, 55(11): 5143-5149
- [8] Ramírez MS, Merkier AK, Quiroga MP, et al. *Acinetobacter baumannii* is able to gain and maintain a plasmid harbouring In35 found in *Enterobacteriaceae* isolates from Argentina[J]. Current Microbiology, 2012, 64(3): 211-213
- [9] Santos C, Caetano T, Ferreira S, et al. A novel complex class 1 integron found in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from Portugal[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2011, 17(7): 1036-1039
- [10] Xia RR, Guo XH, Zhang YZ, et al. *qnrVC*-like gene located in a novel complex class 1 integron harboring the ISCR1 element in an *Aeromonas punctata* strain from an aquatic environment in Shandong Province, China[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2010, 54(8): 3471-3474
- [11] Wu XM, Lin M, Yan QP, et al. Diversity and antimicrobial susceptibility of drug-resistant bacteria isolated from *Anguilla rostrata* and the farming water[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(7): 1043-1053 (in Chinese)
吴小梅, 林茂, 鄢庆彬, 等. 美洲鳗鲡及其养殖水体分离耐药菌的多样性和耐药性分析[J]. 水产学报, 2015, 39(7): 1043-1053
- [12] Xu H, Davies J, Miao V. Molecular characterization of class 3 integrons from *Delftia* spp.[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(17): 6276-6283
- [13] Quiroga MP, Andres P, Petroni A, et al. Complex class 1 integrons with diverse variable regions, including *aac(6')-Ib-cr*, and a novel allele, *qnrB10*, associated with ISCR1 in clinical enterobacterial isolates from Argentina[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2007, 51(12): 4466-4470
- [14] White PA, McIver CJ, Deng YM, et al. Characterisation of two new gene cassettes, *aadA5* and *dfrA17*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 182(2): 265-269
- [15] Arduino SM, Catalano M, Orman BE, et al. Molecular epidemiology of *orf513*-bearing class 1 integrons in multiresistant clinical isolates from Argentinean hospitals[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, 47(12): 3945-3949
- [16] CLSI. M100-S22 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement[S]. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012
- [17] Cheng CC, Sun JJ, Zheng F, et al. New structures simultaneously harboring class 1 integron and ISCR1-linked resistance genes in multidrug-resistant Gram-negative bacteria[J]. BMC Microbiology, 2016, 16: 71
- [18] Wu H. The research on the antibiotic resistance genes, integrons and ISCR1 elements among *Enterobacteriaceae* from chicken broilers[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2016 (in Chinese)
伍好. 肉鸡源性肠杆菌科细菌中耐药基因、整合子及 ISCR1 元件的研究[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2016
- [19] Chen LL, Li BQ. Novel transmission element of antibiotic resistance genes ISCR and its ecological risk[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(10): 3215-3225 (in Chinese)
陈琳琳, 李宝泉. 新型抗生素抗性基因传播元件 ISCR 及其生态风险[J]. 应用生态学报, 2015, 26(10): 3215-3225
- [20] Ruiz E, Sáenz Y, Zarazaga M, et al. *qnr*, *aac(6')-Ib-cr* and *qepA* genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp.: genetic environments and plasmid and chromosomal location[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2012, 67(4): 886-897
- [21] Liu ZB, Zhang ZG, Yan H, et al. Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant Enterobacteriaceae strains from pork and environmental samples in Xiamen, China[J]. Journal of Food Protection, 2015, 78(1): 78-88
- [22] Kavanagh KL, Jörnvall H, Persson B, et al. The SDR superfamily: functional and structural diversity within a family of metabolic and regulatory enzymes[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2008, 65(24): 3895-3906
- [23] Guo HX. Research of *sapA* gene identification and biological features in *Haemophilus parasuis*[D]. Guangzhou: Master's Thesis of Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2016 (in Chinese)
郭海祥. 副猪嗜血杆菌 *sapA* 基因的鉴定与生物学特性研究[D]. 广州: 仲恺农业工程学院硕士学位论文, 2016
- [24] Hamidian M, Holt KE, Hall RM. Genomic resistance island AG11 carrying a complex class 1 integron in a multiply antibiotic-resistant ST25 *Acinetobacter baumannii* isolate[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2015, 70(9): 2519-2523
- [25] Quiroga MP, Arduino SM, Merkier AK, et al. Distribution and functional identification of complex class 1 integrons[J]. Infection, Genetics and Evolution, 2013, 19: 88-96