

广西虾源副溶血弧菌喹诺酮类耐药基因 *qnrC*、*qnrS*、*qnrVC*的检测及分析

盛雪晴¹, 杨廷雅¹, 张振豪², 潘英姿¹, 梁祖奎¹, 苏清荣¹, 邓翊煊¹, 陈耐牟¹, 肖双燕¹, 梁静真^{1*}

¹广西大学动物科学技术学院广西水生动物病害诊断实验室, 广西 南宁

²防城港市港口区渔业技术推广站, 广西 防城港

Email: *20130047@gxu.edu.cn, *237350349@qq.com

收稿日期: 2020年7月23日; 录用日期: 2020年8月6日; 发布日期: 2020年8月13日

摘要

本实验通过PCR方法检测34株广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌中喹诺酮类耐药基因*qnrC*、*qnrS*和*qnrVC*的分布情况。耐药基因检测结果表明, 34株副溶血弧菌中*qnrC*、*qnrS*和*qnrVC*基因的检出率分别为2.9%、0.0%与2.9%。*qnrC*基因在防城港市、钦州市、北海市的检出率分别为16.7%、0%、0%。*qnrS*基因在防城港市、钦州市、北海市的检出率均为0%。*qnrVC*基因在防城港市、钦州市、北海市的检出率分别为0%、0%、6.3%, 三种耐药基因的检出率在三个市的副溶血弧菌之间差异均不显著($P > 0.05$)。基于*qnrC*基因的氨基酸序列同源性比较结果表明, 防城港株F17383与副溶血弧菌TOE26912.1、TOP53441.1、OQU02262.1亲缘关系最近, 氨基酸同源性分别为100.0%、98.8%和98.8%。基于*qnrVC*基因氨基酸序列同源性比较结果表明, 北海株B13121与副溶血弧菌AXI69764.1亲缘关系最近, 同源性为99.4%。

关键词

凡纳滨对虾, 副溶血弧菌, *qnrC*基因, *qnrS*基因, *qnrVC*基因

Detection and Analysis of Quinolone Resistance Genes, *qnrC*, *qnrS* and *qnrVC*, in *Vibrio Parahaemolyticus* from Shrimp in Guangxi

Xueqing Sheng¹, Tingya Yang¹, Zhenhao Zhang², Yingzi Pan¹, Zuluang Liang¹, Qingrong Su¹, Yixuan Deng¹, Naimou Chen¹, Shuangyan Xiao¹, Jingzhen Liang^{1*}

*通讯作者。

文章引用: 盛雪晴, 杨廷雅, 张振豪, 潘英姿, 梁祖奎, 苏清荣, 邓翊煊, 陈耐牟, 肖双燕, 梁静真. 广西虾源副溶血弧菌喹诺酮类耐药基因 *qnrC*、*qnrS*、*qnrVC* 的检测及分析[J]. 水产研究, 2020, 7(3): 115-123. DOI: 10.12677/ojfr.2020.73016

¹Guangxi Aquatic Animal Disease Diagnostic Laboratory, Institute of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning Guangxi

²Fangchenggang Gangkou Station of Fishery Technology Extension, Fangchenggang Guangxi
Email: *20130047@gxu.edu.cn, *237350349@qq.com

Received: Jul. 23rd, 2020; accepted: Aug. 6th, 2020; published: Aug. 13th, 2020

Abstract

In this study, the distribution of quinolone resistance genes *qnrC*, *qnrS*, and *qnrVC* in 34 strains of *Vibrio parahaemolyticus* from shrimp in Guangxi was detected by PCR. The detection results of antibiotic resistance genes showed that the detection rates of *qnrC*, *qnrS* and *qnrVC* genes in 34 strains of *V. parahaemolyticus* are 2.9%, 0.0% and 2.9% respectively. The detection rates of *qnrC* gene in Fangchenggang City, Qinzhou City and Beihai City were 16.7%, 0% and 0%, respectively. The detection rates of *qnrS* gene in Fangchenggang City, Qinzhou City and Beihai City were all 0%. The detection rates of *qnrVC* gene in Fangchenggang City, Qinzhou City and Beihai City were 0%, 0% and 6.3%, respectively. The detection rates of the three antibiotic resistance genes were not significantly different among the strains of *Vibrio parahaemolyticus* of three cities ($P > 0.05$). Based on the homology comparison of the amino acid sequences of *qnrC* gene, the Fangchenggang strain F17383 had the closest genetic relationship with *V. parahaemolyticus* TOE26912.1, TOP53441.1 and OQU02262.1, sharing homology of 100.0%, 98.8% and 98.8%, respectively. And based on the homology comparison of the amino acid sequences of *qnrVC* gene, the Beihai strain B13121 had the closest genetic relationship with *V. parahaemolyticus* AXI69764.1, sharing homology of 99.4%.

Keywords

Litopenaeus vannamei, *Vibrio parahaemolyticus*, *qnrC* Gene, *qnrS* Gene, *qnrVC* Gene

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)具有营养价值高、肉质鲜美、生长快以及对盐度和温度的适应性较强等特点, 是全球养殖产量最高的对虾品种之一[1]。然而近年来, 副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)引起的病害问题已成为影响凡纳滨对虾养殖成功的重要因素。因此, 深入研究副溶血弧菌的生物学特性, 寻找控制副溶血弧菌病的办法尤为重要[2]。目前, 副溶血弧菌病的常用控制措施是使用抗生素或消毒剂。喹诺酮类药物是一种具有广谱杀菌作用的合成类抗生素[3], 其种类包括恩诺沙星、氧氟沙星、诺氟沙星等[4]。该类抗生素的抑菌原理主要为通过抑制细菌的DNA促旋酶和DNA拓扑异构酶IV来阻止细菌DNA的合成[5]。已有研究表明, 细菌对喹诺酮类耐药性产生机制主要包括DNA促旋酶和DNA拓扑异构酶IV基因的突变、通过改变细胞膜来主动外排药物[6]以及质粒介导喹诺酮类耐药基因(PMQR)的参与[7]等。*qnrC*、*qnrS*、*qnrVC*均为PMQR基因, 其编码蛋白可与DNA促旋酶及拓扑异构酶IV结合, 从而保护喹诺酮类的作用靶位, 使细菌形成对喹诺酮类的抗性, 这些PMQR基因通常与整合子或插入序列相连、并

与其他耐药基因一起在菌株间进行水平传播[3]。目前,有关副溶血弧菌对喹诺酮类耐药分子机制的研究已有不少报道[8][9]。但是关于广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌中 *qnrC*、*qnrS*、*qnrVC* 基因分布情况的相关研究仍为少见。本试验对 34 株广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌进行三种喹诺酮类耐药基因 *qnrC*、*qnrS*、*qnrVC* 基因的检测和相关序列分析,其结果可为凡纳滨对虾副溶血弧菌病的科学防控提供指导,为副溶血弧菌的喹诺酮类耐药分子机制的深入研究提供基础数据。

2. 实验材料与方法

2.1. 实验材料

试验菌株为本实验室于 2013 年至 2018 年从广西防城港市、钦州市和北海市患病凡纳滨对虾中分离的 34 株副溶血弧菌(表 1),在试验前均已进行 API 生化鉴定和 16S rRNA 分子鉴定以确认。细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自北京康润诚业生物科技有限公司。 $2 \times Taq$ MasterMix 由北京艾德莱生物科技有限公司生产。

Table 1. Source information of 34 strains of *Vibrio parahaemolyticus*

表 1. 34 株副溶血弧菌来源信息

采样地点	菌株数	菌株编号
防城港	6	F17383、F17386、F17387、F17388、F18281、F18282
钦州市	12	Q13031、Q13017、Q13023、Q13030、Q13031、Q13079、Q13085、Q14017、Q14018、Q14020、Q17438、Q15056
北海市	16	B17131、B17134、B17135、B17136、B17137、B17139、B17143、B17144、B13062、B13121、B13138、B14135、B17129、B17130、B18228、B18229

2.2. 细菌 DNA 的提取及耐药基因 PCR 鉴定

依照细菌基因组 DNA 提取试剂盒的说明书来进行细菌总 DNA 的提取。*qnrC*、*qnrS* 和 *qnrVC* 的 PCR 反应引物分别参照 Wu [10]等、Kim [11]等和 Liu [12]等的方法进行设计并由生工生物工程(上海)有限公司合成(表 2)。通过 PCR 法检测 3 种耐药基因,其 25 μ L 反应体系为:DNA 模板 2 μ L,上、下游引物各 1 μ L, $2 \times Taq$ Master Mix 12.5 μ L,灭菌去离子水 8.5 μ L。设置 PCR 反应程序为 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s,退火 30 s(退火温度见表 2),72 $^{\circ}$ C 90 s,30 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。以 1.0% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物,在凝胶成像系统观察电泳结果。将符合预计片段长度的 PCR 产物送广州华大基因科技有限公司进行测序。

Table 2. Primer sequences of PCR reaction

表 2. PCR 反应引物序列

耐药基因	引物序列	退火温度	预计片段长度
<i>qnrC</i>	F: 5'-GGGTTGTACATTTATTGAATCG-3' R: 5'-CACCTACCCATTTATTTTCA-3'	47 $^{\circ}$ C	308 bp
<i>qnrS</i>	F: 5'-CAATCATACATATCGGCACC-3' R: 5'-TCAGGATAAACAACAATACCC-3'	55 $^{\circ}$ C	642 bp
<i>qnrVC</i>	F: 5'-AATTTTAAGCGCTCAAACCTCCG-3' R: 5'-TCCTGTTGCCACGAGCATATTTT-3'	50 $^{\circ}$ C	521 bp

2.3. 序列分析

在美国国家生物技术信息中心(NCBI)网站搜寻不同细菌来源的耐药基因序列。使用 DNASStar 软件的

Megalign 模块计算耐药基因的氨基酸序列的同源性。采用 ClustalX 进行序列完全比对分析后采用 Mega5 软件的邻接法构建系统发育进化树, Bootstrap 重复 1000 次检验其可信度。

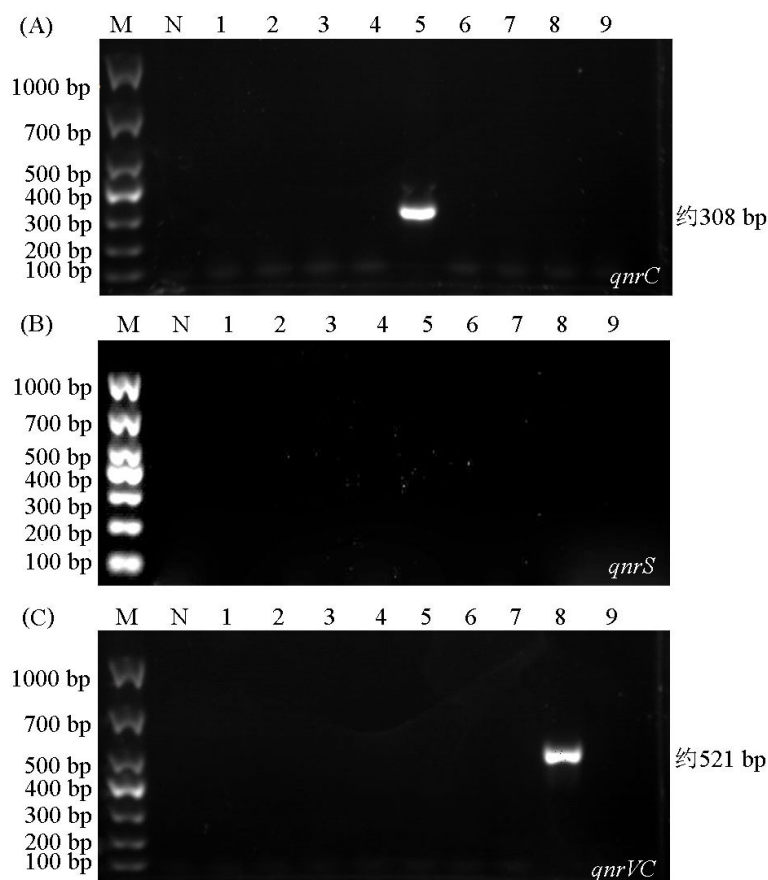
2.4. 统计分析

使用 SPSS18.0 软件的 χ^2 检验分析在防城港市、钦州市和北海市之间 *qnrC*、*qnrS* 和 *qnrVC* 基因检出率的差异性, 当 $P < 0.05$ 时表示差异显著。

3. 实验结果

3.1. 耐药基因的 PCR 检测结果

对 34 株副溶血弧菌进行喹诺酮类耐药基因 *qnrC*、*qnrS*、*qnrVC* 检测, 结果表明部分受试菌株可扩增出大小约为 308 bp 的 *qnrC* 基因片段或 521 bp 的 *qnrVC* 基因片段(图 1), 与预计片段长度基本一致。将阳性 PCR 产物送测序, 其测序结果经比对确认这些产物片段均为 *qnrC* 基因或 *qnrVC* 基因的序列片段。经反复 PCR 验证, 所有菌株均未扩增出约为 642 bp 的 *qnrS* 基因片段。



注: M 为 DL1000 DNA Marker; N 为阴性对照; *qnrC* 基因电泳图(A 图)的 1 至 9 号分别为菌株 B17137、B17139、B17143、B17144、F17383、F17386、F17387、F17388、Q17438 的 PCR 扩增产物; *qnrS* 基因电泳图(B 图)的 1 至 9 号分别菌株 B17139、B17143、B17144、F17383、F17386、F17387、F17388、Q17438、Q13030 的 PCR 扩增产物; *qnrVC* 基因电泳图(C 图)的 1 至 9 号分别为菌株 Q13017、Q13023、Q13030、Q13031、B13062、Q13079、Q13085、B13121、B13138 的 PCR 扩增产物。

Figure 1. PCR amplification results of gene *qnrC*, *qnrS* and *qnrVC*
图 1. *qnrC*、*qnrS* 和 *qnrVC* 基因 PCR 扩增结果

3.2. 耐药基因的序列分析

qnrC 基因的氨基酸序列同源性比较(图 2)结果表明, 防城港株 F17383 与副溶血弧菌广西株 TOE26912.1、湖北株 TOP53441.1、美国株 OQU02262.1 亲缘关系最近, 氨基酸同源性分别为 100.0%、98.8%和 98.8%; 与噬海藻弧菌 *V. algivorus* (WP_144389023.1)、*V. gangliei* (WP_105901077.1)和奇异变形杆菌 *Proteus mirabilis* (ACK75961.1)的氨基酸同源性为 98.8%、97.6%、97.6%; 与 *Moritella viscosa* (CED58093.1)氨基酸同源性相对较低, 为 61.9%。

		同源性/%												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
菌株	1	■	97.6	73.8	77.4	61.9	73.8	98.8	100.0	98.8	94.0	97.6	98.8	F17383
	2	2.4	■	66.5	72.5	55.5	66.5	96.8	97.3	96.8	94.6	99.5	96.8	ACK75961.1
	3	32.2	42.9	■	69.3	58.7	100.0	64.7	64.7	64.2	65.6	66.1	64.2	CAQ79275.1
	4	27.0	33.8	39.0	■	57.8	69.3	70.2	70.6	70.2	71.6	72.0	70.2	CDQ48382.1
	5	52.8	65.7	58.7	61.2	■	58.7	55.5	55.0	54.6	56.0	55.0	54.6	CED58093.1
	6	32.2	42.9	0.0	39.0	58.7	■	64.7	64.7	64.2	65.6	66.1	64.2	EGU43399.1
	7	1.2	3.2	46.1	37.4	65.7	46.1	■	98.6	98.2	91.9	96.4	98.2	OQU02262.1
	8	0.0	2.8	46.1	36.7	66.7	46.1	1.4	■	98.6	92.3	96.8	98.6	TOE26912.1
	9	1.2	2.8	46.7	37.2	67.3	46.7	1.4	0.9	■	91.9	96.4	100.0	TOP53441.1
	10	6.2	5.6	44.5	35.2	64.6	44.5	8.6	8.1	8.1	■	94.1	91.9	WP_017025661.1
	11	2.4	0.5	43.7	34.5	66.7	43.7	3.7	3.2	3.2	6.1	■	96.4	WP_105901077.1
	12	1.2	2.8	46.7	37.2	67.3	46.7	1.4	0.9	0.0	8.1	3.2	■	WP_140358865.1
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	

Figure 2. Homology comparison of the amino acid sequences of *qnrC* gene among different species

图 2. 不同物种 *qnrC* 基因的氨基酸序列的同源性比较

进化树构建结果如图 3 所示, 可见 F17383 与副溶血弧菌广西株 TOE26912.1、湖北株 TOP53441.1、美国株 OQU02262.1 聚为一支, 在进化关系上相对较近; 与 *Moritella viscosa* (CED58093.1)在进化关系上相对较远。

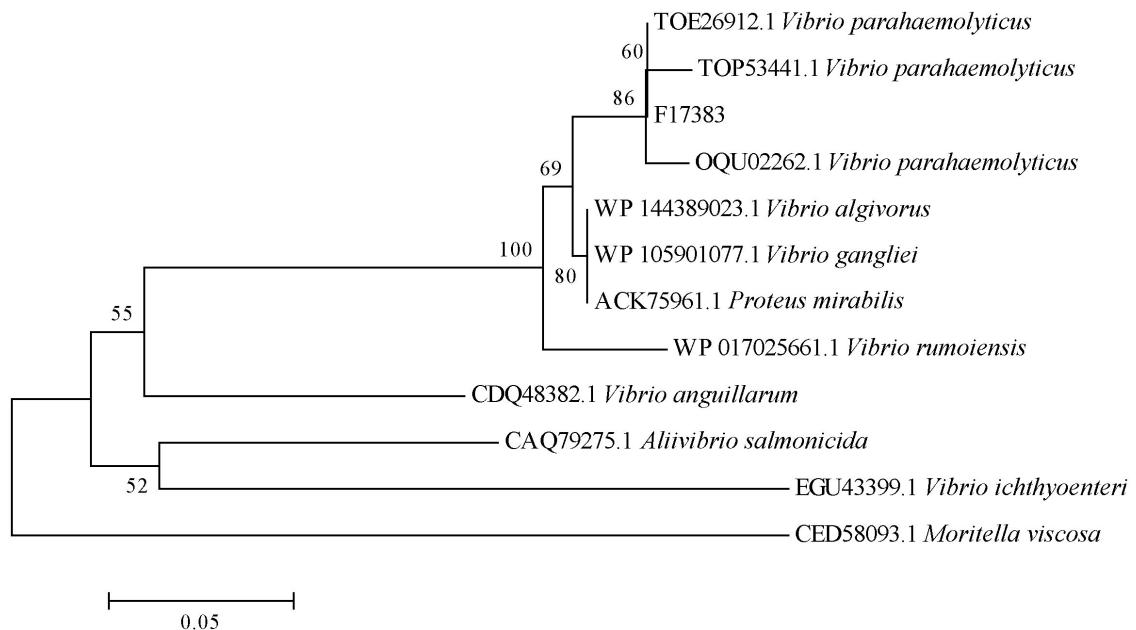


Figure 3. Phylogenetic tree based on the amino acid sequences of *qnrC* gene

图 3. 基于 *qnrC* 基因氨基酸序列构建的进化树

qnrVC 基因氨基酸序列同源性比较(图 4)结果表明, 北海株 B13121 与副溶血弧菌香港株 AXI69764.1 亲缘关系最近, 其同源性为 99.4%; 与副溶血弧菌深圳株 AXA19787.1、藤江弧菌(*V. fujianensis*) WP_099610042.1、弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*) AQT26619.1、鳗弧菌(*V. anguillarum*) TYC88856.1 的氨基酸同源性在 97.5%~98.7%之间; 与副溶血弧菌深圳株 ANS55787.1、肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*) BCD58983.1、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*) AXV36521.1、创伤弧菌(*V. vulnificus*) WP_072606284.1、拟态弧菌(*V. mimicus*) TXZ06185.1、霍乱弧菌(*V. cholerae*) KAA1213539.1 的同源性在 84.9%~85.5%之间。

		同源性/%												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
菌株	1	■	85.5	98.7	97.5	99.4	85.5	85.5	84.9	84.9	98.1	85.5	97.5	B13121
	2	16.1	■	80.7	78.9	80.7	100.0	100.0	99.5	98.6	79.8	98.2	80.7	ANS55787.1
	3	1.3	22.3	■	98.2	99.1	80.7	80.7	80.3	80.7	98.6	81.2	99.1	AQT26619.1
	4	2.6	24.8	1.9	■	97.2	78.9	78.9	78.4	78.9	96.8	79.4	97.2	AXA19787.1
	5	0.6	22.3	0.9	2.8	■	80.7	80.7	80.3	80.7	97.7	81.2	98.2	AXI69764.1
	6	16.1	0.0	22.3	24.8	22.3	■	100.0	99.5	98.6	79.8	98.2	80.7	AXV36521.1
	7	16.1	0.0	22.3	24.8	22.3	0.0	■	99.5	98.6	79.8	98.2	80.7	BCD58983.1
	8	16.9	0.5	22.9	25.5	22.9	0.5	0.5	■	98.2	79.4	97.7	80.3	KAA1213539.1
	9	16.9	1.4	22.3	24.8	22.3	1.4	1.4	1.9	■	79.8	97.7	80.7	TXZ06185.1
	10	1.9	23.6	1.4	3.3	2.3	23.6	23.6	24.2	23.6	■	80.3	97.7	TYC88856.1
	11	16.1	1.9	21.7	24.2	21.7	1.9	1.9	2.3	2.3	22.9	■	81.2	WP_072606284.1
	12	2.6	22.3	0.9	2.8	1.9	22.3	22.3	22.9	22.3	2.3	21.7	■	WP_099610042.1
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	

Figure 4. Homology comparison of the amino acid sequences of *qnrVC* gene among different species
图 4. 不同物种 *qnrVC* 基因的氨基酸序列的同源性比较

进化树构建结果如图 5 所示, 可见北海株 B13121 与副溶血弧菌香港株 AXI69764.1、副溶血弧菌深圳株 AXA19787.1、藤江弧菌 WP_099610042.1、弗氏柠檬酸杆菌 AQT26619.1、鳗弧菌 TYC88856.1 聚为一支, 在进化关系上相对较近; 与副溶血弧菌深圳株 ANS55787.1、肺炎克雷伯菌 BCD58983.1、嗜水气单胞菌 AXV36521.1、创伤弧菌 WP_072606284.1、拟态弧菌 TXZ06185.1、霍乱弧菌 KAA1213539.1 等在进化关系上相对较远。

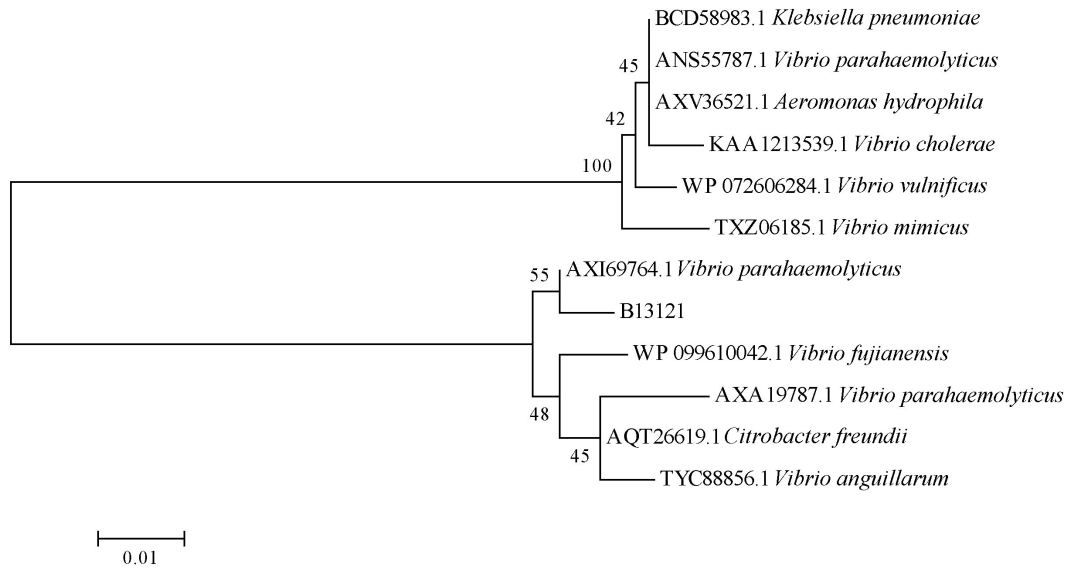


Figure 5. Phylogenetic tree based on the amino acid sequences of *qnrVC* gene
图 5. 基于 *qnrVC* 基因氨基酸序列构建的进化树

3.3. 耐药基因在广西三个市菌株的检出率

34株副溶血弧菌中, *qnrC*、*qnrS*、*qnrVC* 基因总检出率分别为 2.9% (1/34)、0% (0/34)、2.9% (1/34)。三种耐药基因在三个市的分布情况如表 3 所示, *qnrC* 基因在防城港市、钦州市、北海市的检出率分别为 16.7% (1/6)、0% (0/12)、0% (0/16)。*qnrS* 基因在防城港市、钦州市、北海市的检出率均为 0%。*qnrVC* 基因在防城港市、钦州市、北海市的检出率分别为 0% (0/6)、0% (0/12)、6.3% (1/16)。比较分析结果表明, 三种耐药基因的检出率在三个市的副溶血弧菌之间差异均不显著($P > 0.05$)。

Table 3. Comparison of the detection rates of three resistance genes of *Vibrio parahaemolyticus* in three cities
表 3. 三个市之间副溶血弧菌三种耐药基因检出率比较

耐药基因	检出率%			总检出率%	P 值
	防城港市	钦州市	北海市		
<i>qnrC</i>	16.7% (1/6)	0% (0/12)	0% (0/16)	2.9% (1/34)	0.090
<i>qnrS</i>	0% (0/6)	0 (0/12)	0 (0/16)	0% (0/34)	-
<i>qnrVC</i>	0% (0/6)	0% (0/12)	6.3% (1/16)	2.9% (1/34)	0.560

注: 括号内的数值为携带耐药基因的菌株数与受试菌株总数之比。“-”表示 P 值无法计算。

4. 讨论

副溶血弧菌为凡纳滨对虾养殖中的常见致病菌, 在一定条件下会造成对虾红体、烂鳃、早期死亡综合症等病症[13]。同时, 副溶血弧菌也是人畜共患病病原菌, 可导致腹泻、呕吐等胃肠疾病。抗生素治疗目前被认为是治疗副溶血弧菌病的有效手段。已有研究表明, 我国一些地区水产养殖源弧菌对部分喹诺酮类抗生素已产生耐药性, 如广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌对盐酸沙拉沙星、环丙沙星的耐药率分别为 94.03%、4.48% [14]; 福建、海南、江苏和浙江等地的副溶血弧菌对恩诺沙星的耐药率在 4.5%~18.5%之间[15]; 上海、山东、江苏等地水产养殖源弧菌对环丙沙星、恩诺沙星和诺氟沙星的耐药率达 16.7%~32.5% [16]等, 这些有关水产养殖源弧菌的喹诺酮类耐药性的报道给人们敲响了警钟。对副溶血弧菌进行喹诺酮类耐药基因调查, 对于收集副溶血弧菌菌株的分子流行病学特征以及监测其喹诺酮类耐药性具有重要意义。

自 1998 年首次报道了一种质粒介导喹诺酮类耐药基因并将其命名为 *qnrA* 基因后, 研究人员相继在许多不同的细菌上发现各种 *qnr* 基因[17]。*qnrC*、*qnrS*、*qnrVC* 等质粒介导喹诺酮类耐药基因的编码蛋白可以保护喹诺酮类的作用靶位, 使细菌免受喹诺酮类抑制[3]。本试验 *qnrC* 基因的氨基酸序列同源性分析结果表明, 防城港株 F17383 与副溶血弧菌广西株 TOE26912.1、湖北株 TOP53441.1、美国株 OQU02262.1 的同源性在 98.8%~100.0%之间, 表明来自不同地区的几株副溶血弧菌菌株之间其 *qnrC* 基因相对比较保守。*qnrVC* 基因的同源性分析和进化树构建结果表明, 北海株 B13121 与副溶血弧菌香港株 AXI69764.1、深圳株 AXA19787.1 聚为一支, 同源性分别为 99.4%和 97.5%, 但 B13121 与另一副溶血弧菌深圳株 ANS55787.1 位于进化树的不同分支上, 其同源性仅为 85.5%。由于 *qnrVC* 基因可以通过质粒以及插入序列、转座子、整合子等可移动遗传组件在不同细菌种群之间进行水平传播[18], 推测 B13121、香港株 AXI69764.1、深圳株 AXA19787.1 这 3 株菌株的 *qnrVC* 基因可能与深圳株 ANS55787.1 的 *qnrVC* 基因具有不同的来源, 但具体来源为何仍需要进一步的探讨。

根据本试验结果, 广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌中喹诺酮类耐药基因 *qnrC*、*qnrS*、*qnrVC* 的总检出率分别为 2.9%、0%、2.9%, 三种基因的检出率在防城港市、钦州市、北海市菌株之间的差异均不显著($P > 0.05$)。与其它水产养殖源弧菌相比, 本试验受试菌株的 *qnrC* 检出率与娄阳(0%) [19]、周海波(5.6%) [20]的检出率

接近, *qnrS* 检出率与娄阳(0%) [19]、李健(0%) [16]、周海波(0.9%) [20]的研究结果接近, *qnrVC* 检出率小于李健(25%) [16]和刘旭(50%) [18]的检出率、与周海波(2.8%) [20]的检出率接近。可见, 不同来源的弧菌之间 *qnrVC* 检出率差异性相对较大, 造成该结果的原因可能与菌株所处的水环境含 *qnrVC* 基因浓度不同有关, 水产养殖用水也可能被含有 *qnrVC* 基因的生活废水或畜禽养殖废水污染[21]。据报道, 与抗性基因碱基突变相比, 质粒介导的 *qnr* 基因水平传播能力更强, 且含有质粒介导喹诺酮类耐药基因的临床分离细菌往往还会携带诸如广谱 β -内酰胺酶基因等其它抗生素类耐药基因[3]。由于 *qnrC*、*qnrVC* 等质粒介导耐药基因的存在增加了广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌对喹诺酮类抗生素产生耐药的可能性, 为尽可能控制副溶血弧菌对喹诺酮类和 β -内酰胺类等其它抗生素耐药状况的加剧, 建议应继续加强对 *qnrC*、*qnrS*、*qnrVC* 等喹诺酮类耐药基因的监控, 同时避免水产养殖用水受生活废水或畜禽养殖废水的污染。

5. 结论

34 株广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌中, *qnrC*、*qnrS*、*qnrVC* 基因的检测率为 2.9%、0%、2.9%, 在三个市之间三种耐药基因的检出率没有显著差异。防城港株 F17383 的 *qnrC* 基因的氨基酸序列与副溶血弧菌 TOE26912.1、TOP53441.1、OQU02262.1 亲缘关系最近, 北海株 B13121 的 *qnrVC* 基因的氨基酸序列与副溶血弧菌 AXI69764.1 亲缘关系最近。

基金项目

国家现代农业产业技术体系广西创新团队建设专项(nycytxgxcxt-d-14-02), 广西大学博士启动项目(XBZ160128), 广西农业农村厅水产养殖病害测报项目(桂财预函[2019] 105 号)。

参考文献

- [1] 张海灵. 南美白对虾养殖中常见细菌性疾病的防治措施[J]. 江西水产科技, 2019(5): 29-30.
- [2] 翟秀梅, 王斌, 毛连菊, 等. 副溶血弧菌对南美白对虾生理生化指标的影响[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(2): 162-168.
- [3] 卞佳豪, 奉竹, 林颖峥, 等. 喹诺酮类药物的抗菌和抗性机制[J]. 中国兽药杂志, 2020, 54(1): 80-85.
- [4] 刘立早, 孙振中, 张玲玲. 水产养殖池塘底泥中氟喹诺酮类抗生素的检测方法研究[J]. 水产科技情报, 2019, 46(4): 219-223.
- [5] 赵姝, 李健, 马立才, 等. 海水养殖动物源弧菌喹诺酮类药物耐药表型与基因型分析[J]. 海洋渔业, 2019, 41(4): 463-471.
- [6] Levin-Reisman, I., Ronin, I., Gefen, O., et al. (2017) Antibiotic Tolerance Facilitates the Evolution of Resistance. *Science*, 355, 826-830. <https://doi.org/10.1126/science.aaj2191>
- [7] 任艳. 细菌耐药性产生机制及防控措施[J]. 养禽与禽病防治, 2015(5): 2-4.
- [8] 黄伟德, 肖双燕, 黎姗梅, 等. 广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌耐药性和耐药基因的检测[J]. 西南农业学报, 2018, 31(9): 1979-1988.
- [9] 李翠苹, 翟倩倩, 王想, 李健. 对虾养殖池副溶血弧菌的分离鉴定及其耐药特征、毒力基因分析[J]. 渔业科学进展, 2020(41): 1-8.
- [10] Wu, J.J., Ko, W.C., Tsai, S.H., et al. (2009) Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants, QnrA, QnrB, and QnrS, among Clinical Isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese Hospital. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, 519-524.
- [11] Kim, H.B., Park, C.H. and Kim, C.J. (2010) Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants over a 9-Year Period. *Chinese Journal of Infection Chemotherapy*, 53, 639-645. <https://doi.org/10.1128/AAC.01051-08>
- [12] Liu, M., Wong, M.H.Y. and Chen, S. (2013) Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance in *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 42, 187-193. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.04.024>
- [13] 刘杰, 曾令泽, 贺晓晨, 许飘尹, 盛雪晴, 梁静真, 黄钧. 广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌的分离鉴定及其耐药性

- [J]. 广西畜牧兽医, 2019, 35(5): 197-202.
- [14] 刘杰. 广西凡纳滨对虾源副溶血弧菌毒力基因检测及 *tlh* 基因的克隆与表达[D]: [硕士学位论文]. 南宁: 广西大学, 2016.
- [15] 李林桂. 海水弧菌耐药性 I 类整合子分析与副溶血弧菌分子分型研究[D]: [硕士学位论文]. 雅安: 四川农业大学, 2013.
- [16] 李健. 海水养殖源弧菌耐药性调查与外排泵抑制剂对其耐药性的影响[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
- [17] 周维, 汤菊芬, 甘楨, 等. 溶藻弧菌耐药基因 *qnr* 的克隆及生物信息学分析[J]. 生物技术, 2015, 25(5): 414-419.
- [18] 刘旭. 海水养殖源弧菌耐药性调查及 *qnrVC* 基因在弧菌中的流行情况研究[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- [19] 娄阳. 上海市不同来源副溶血性弧菌耐药性研究及潜在风险分析[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- [20] 周海波. 副溶血性弧菌耐药性调查及对喹诺酮类药物耐药变异特征的研究[D]: [硕士学位论文]. 扬州: 扬州大学, 2017.
- [21] 陈总会, 赵长臣, 江小燕, 等. 水产养殖过程中嗜水气单胞菌对喹诺酮药物的敏感性及其耐药基因分析[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(17): 83-84