

志贺菌耐药基因及其检测方法

周潜 韩燕 刘经纬 尹跃平

中国医学科学院北京协和医学院皮肤病医院 中国疾病预防控制中心性病控制中心, 南京 210042

通信作者: 尹跃平, Email: yinyp@ncstdlc.org

【摘要】 志贺菌是常见的革兰阴性致病菌, 是细菌性痢疾的病原体。目前已发现志贺菌对多种抗菌药物产生耐药。本文对志贺菌关于喹诺酮类、大环内酯类和 β -内酰胺类抗菌药物的耐药基因进行综述, 并阐述了各种检测方法在耐药基因检测方面的原理和运用, 为我国开展对志贺菌耐药基因的研究与检测提供参考依据。

【关键词】 志贺菌属; 耐药基因; 检测方法

基金项目: 国家科技重大专项 (2018ZX10101001-004-003); 南京市国家级临床医学中心培育计划 (2019060001)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20210124-00017

Progress on drug resistance genes and detection methods of *Shigella*

Zhou Qian, Han Yan, Liu Jingwei, Yin Yueping

Institute of Dermatology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College; National Center for STD Control, China CDC, Nanjing 210042, China

Corresponding author: Yin Yueping, Email: yinyp@ncstdlc.org

【Abstract】 *Shigella* is a common Gram-negative pathogen which causes bacillary dysentery. At present, *Shigella* has been found to be resistant to a variety of antibiotics. In this paper, the resistance genes of *Shigella* to quinolones, macrolides and β -lactams are reviewed, and mechanism and applications of related detection methods are described, so as to provide a reference for the research and detection of *Shigella* resistance genes in China.

【Key words】 *Shigella*; Drug resistance genes; Detection method

Fund program: National Science and Technology Major Project of China (2018ZX10101001-004-003); Nanjing Incubation Program for National Clinical Research Center(2019060001)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20210124-00017

志贺菌 (*Shigella*) 于 1898 年由 Kiyoshi Shiga 发现并命名, 是细菌性痢疾的病原体^[1]。根据菌体抗原的结构不同分为 4 个血清群: 痢疾志贺菌 (*S. dysenteriae*)、福氏志贺菌 (*S. flexneri*)、鲍氏志贺菌 (*S. boydii*) 和宋内志贺菌 (*S. sonnei*)^[2]。目前已发现志贺菌对包括磺胺类、四环素类、链霉素以及喹诺酮类等多种抗菌药物产生耐药^[1]。志贺菌耐药机制与药物作用靶位的改变、染色体编码的外排系统蛋白表达增强和质粒介导耐药基因的表达有关^[3]。2019 年, WHO 建议将环丙沙星作为治疗志贺菌感染的一线药物, 阿奇霉素、头孢克肟和头孢曲松作为二线治疗药物^[4]。本文选取喹诺酮类、大环内酯类与 β -内酰胺类三类抗菌药物, 综述了志贺菌耐药基因及其检测方法的研究进展和应用。

一、志贺菌耐药基因

1. 喹诺酮类耐药基因

志贺菌耐喹诺酮类药物的机制主要包括染色体介导的药物作用靶位基因的改变与质粒介导的喹诺酮类耐药基因。染色体介导的氟喹诺酮类抗菌药物的耐药主要是编码 DNA 回旋酶和拓扑异构酶 IV 的基因发生突变导致, DNA 回旋酶由 *gyrA* 和 *gyrB* 基因编码, 拓扑异构酶 IV 由 *parC* 和 *parE* 基因编码^[5]。突变最常发生在 *gyrA* 基因起始处附近 Ala67 和 Gln107 之间的区域, 即喹诺酮类药物耐药决定区 (QRDR), 以 *gyrA* 基因上的 Ser83、Asp87 和 His211 突变最为常见^[6], 并常与 *parC* 上的 Ser80 突变共同发生, 在 *parC* 和 *gyrA* 区域发生多个突变能显著降低志贺菌对喹诺酮类药物的敏感性^[7]。

质粒介导的喹诺酮类抗性区基因 (PMQR), 即 *qnr* 基因分离物 [*qnrA*、*qnrB*、*qnrS*、*aac* (6')-I b-cr] 可借助如整合子或插入序列共同区等可移动遗传元件, 通过接合或转化的方式, 在志贺菌与其他肠杆菌科细菌之间传播^[8]。*aac* (6')-I b-cr 和 *qnrS* 基因分别于 1998 年和 2002 年首次在福氏志贺菌 2a 型和 1a 型中发现^[9]。Qnr 蛋白能直接与 DNA 结合, 减少回旋酶与 DNA 的结合, 并保护拓扑异构酶 IV 免受喹诺酮的侵害, 从而逆转喹诺酮类抑制 DNA 回旋酶的能力, 同时 Qnr 家族蛋白可以提高细菌对喹诺酮类药物的耐药突变预防浓度 (MPC) 值, 从而提高耐药突变的发生率。*aac* (6')-I b-cr 基因编码与喹诺酮活性降低相关的氨基糖苷乙酰转移酶, 这种双功能酶能乙酰化环丙沙星、诺氟沙星和其他喹诺酮类药物, 但左氧氟沙星不受这种乙酰转移酶的影响^[8]。除此以外, 在志贺菌中也发现了 *mdfA*、*acrA* 和 *acrB* 等外排泵编码基因调节的喹诺酮类药物耐药性^[10]。

2. 大环内酯类耐药基因

大环内酯类药物通过阻断 50s 核糖体中肽酰转移酶的活性, 抑制细菌蛋白质合成发挥抑菌作用。以往的研究认为志贺菌对大环内酯类药物耐药主要原因为药物作用靶位的改变, 如编码 L22 核糖体蛋白的 *rplV* 与编码 L4 核糖体蛋白的 *rplD* 和 *rrlH* 基因发生点状突变; 以及由 *ompA*、*ompW*、*mefA* 和 *msrA* 等外排泵介导的耐药性。近年的研究发现质粒介导的阿奇霉素耐药基因同样发挥重要的作用, 包括 *mph*、*erm* 和 *ere* 基因^[11-12]。*mph* 基因编码的磷酸转移酶可使脱氧二甲胺己糖 C-2' 位置发生磷酸化而失活, 与阿奇霉素耐药高度相关, 对阿奇霉素高度耐药 (MIC>256 μg/mL) 的志贺菌中均发现携带有 *mphA* 基因^[13]。根据对 *mphA* 相关质粒的研究, 志贺菌中 *mphA* 耐药基因的获得主要来源于大肠杆菌质粒的传播^[14]。法国的研究筛查到携带 p2246-CTXM 质粒的阿奇霉素耐药志贺菌上带有 IS26-*mphA*-*mrx*-*mphR* (A)-IS6100 基因盒^[12]。*erm* 基因是红霉素甲基化酶基因, 使核糖体 23S rRNA 上特定位点的腺嘌呤甲基化以阻止红霉素结合, 在以色列发现携带 *ermB* 基因的 2a 型福氏志贺菌菌株表现出对阿奇霉素低敏^[15]。

男男性行为者 (MSM) 人群中发现的志贺菌表现出对阿奇霉素的敏感性降低, 并筛查出多种携带大环内酯类抗性基因的质粒, Darton 等^[16]研究发现在 MSM 中暴发的宋内志贺菌和 3a 型福氏志贺菌中存在具有显著的 DNA 同源性的 IncF I 和 IncF II 质粒, 上有 *erm* 基因, 该基因通过编码 rRNA 甲基化酶进行靶位修饰使志贺菌产生耐药性。英国的一项横断面研究对 MSM 人群中暴发的 3a 型福氏志贺菌进行全基因组测序, 发现了携带 *mphA* 和 *ermB* 的质粒 pKSR100, 表现为对

大环内酯类抗菌药物的高水平耐药性^[17], 该质粒也被证实存在于 2a 型福氏志贺菌与宋氏志贺菌中^[18]。

3. β-内酰胺类耐药基因

志贺菌耐 β-内酰胺类抗菌药物的重要机制是质粒中的含有超广谱 β-内酰胺酶 (ESBLs) 基因与 AmpC 酶基因。ESBLs 属于 Ambler 分类 A 类, Bush 分类的 2be 亚群, 对 β-内酰胺类抗菌药物具有广泛水解活性。2004 年, 首次在孟加拉国发现了产 ESBLs 的志贺菌^[19]。迄今为止, 已有多个国家和地区的研究发现志贺菌携带不同类型的 ESBLs 基因, 包括 *bla*_{TEM}、*bla*_{SHV} 和 *bla*_{CTX-M} 基因^[20-21], 其中 CTX-M 型 ESBLs 与耐药性的水平传播最为相关, CTX-M-15 对哌拉西林、苄青霉素、头孢曲松和头孢噻肟具有很高的催化效率^[22-23]。在来自中国患者的福氏志贺菌分离株中发现两个偶联质粒 IncHI2 和 IncF, 携带有 *bla*_{CTX-M-123} 的 ESBLs 基因, 该基因由 CTX-M-9 和 CTX-M-1 组成, 可在福氏志贺菌中水平传播^[24]。SHV 基因型 ESBLs 是广谱酶 SHV-1 的编码基因核苷酸突变形成的酶, 如 SHV-2 相比 SHV-1 发生 Gly238→Ser 突变, 具有超广谱特性^[25]。近年还发现有携带 SHV-12 等 SHV 型超广谱酶的志贺菌流行^[26]。TEM 型内酰胺酶根据其水解底物谱, 可分为 4 类包括广谱 B 内酰胺酶、ESBLs、耐酶抑制剂 β-内酰胺酶和 CMT。志贺菌中发现由质粒介导的 TEM-1 基因发生水平转移, 引起宋氏志贺菌对氨苄西林的耐药^[27]。

AmpC 酶是由染色体或质粒介导产生的一类 β-内酰胺酶, 属于 Ambler 分类 C 类, Bush 分类的 1 群, 为作用于头孢菌素且不被克拉维酸抑制的 β-内酰胺酶。Taneja 等^[28]研究发现, 有 20% 对头孢曲松或头孢吡肟具有耐药性的福氏志贺菌产 AmpC 酶。在中国台湾的细菌性病疾流行期间, 也发现耐头孢曲松的宋内志贺菌分离株中存在 CMY-2 型 AmpC β-内酰胺酶质粒^[29]。

二、志贺菌耐药基因的检测方法

1. 常规 PCR 法

PCR 法是将志贺菌耐药基因作为靶基因, 针对基因两端设计特异性引物进行扩增, 进行琼脂糖电泳或序列测定以检测靶基因是否存在或发生突变的方法。PCR 法在耐药基因检测方面具有操作简便、成本低等特点。1994 年, Rahman 等^[30]根据大肠埃希菌 *gyrA* 基因设计特异性引物, 通过结合 PCR 法与一代 DNA 测序技术首次发现了喹诺酮耐药志贺菌 *gyrA* 基因上的 Ser83 突变。之后, 更多研究者使用 PCR 法鉴定出志贺菌耐药基因, Ezernitchi 等^[15]使用 PCR 法对以色列 2014—2016 年收集的志贺菌进行耐药基因检测, 其中对阿奇霉素低敏感的志贺菌均带有 *mphA* 和 *ermB* 基因。毛联钢等^[31]使用 PCR 法对宁波地区肠道感染志贺菌喹诺酮类药物耐药

基因进行检测,发现环丙沙星耐药菌中 97.59% 的分离株带有 Ser83、Asp87 和 Ser80 突变。

2. 多重 PCR 法

多重 PCR 是在传统 PCR 基础上发展出的一种检测方法,其在同一 PCR 反应体系里加入 2 对以上引物,从而可以同时扩增出多个核酸片段的 PCR 反应^[32]。对于志贺菌耐药基因,可同时设计针对多个基因的特异性引物,选择合适的退火温度,实现对多个基因的克隆和鉴定。王倩等^[33]使用多重 PCR 方法,在退火温度为 57.5 °C 的条件下,可同时扩增出 *gyrA*、*parC* 和毒力致病性基因 *ipaH* 用于下一步测序与鉴定。Zhang 等^[34]使用多重 PCR 的方法对北京、成都和乌鲁木齐等地收集的志贺菌菌株 β-内酰胺酶类抗菌药物耐药性进行检测,发现可同时对多种 ESBLs 基因进行检测。多重 PCR 较传统 PCR 方法耗时较短,但由于引物之间的相互作用,对多重 PCR 的扩增条件要求较高,需要反复优化调整复性条件和引物浓度以增加扩增效率。

3. 实时荧光定量 PCR 法 (qPCR)

qPCR 是在 PCR 体系中加入荧光基团,扩增过程中通过荧光信号累积对 PCR 进程进行实时检测的方法。根据 RT-qPCR 的化学发光原理可分为探针类方法 (TaqMan 探针和分子信标) 和非探针类方法 (SYBR Green I 等荧光染料)。针对志贺菌的 QRDR 区 *gyrA* 和 *parC* 突变,可设计特异性 TaqMan MGB 探针检测突变碱基进行检测。Kim 等^[35]开发了针对 *gyrA* 基因 Ser83 和 Asp87 突变与 *parC* 基因 Ser80 和 Agr87 突变的 TaqMan 探针,使用 qPCR 法可检测是否存在碱基突变,qPCR 法的检测结果与测序结果相同。对于质粒介导的耐药基因,qPCR 法可定量检测耐药基因及转录水平。Zhang 等^[11]对来自中国的 392 株志贺菌分离株通过 qPCR 法进行耐药基因分析,检测到 55% (44/80) 的阿奇霉素低敏志贺菌具有 *mphA* 基因,未发现与阿奇霉素耐药性相关的外膜蛋白基因 *ompA* 和 *ompW* 的过表达。相较常规 PCR,qPCR 法具有对待测基因进行快速及精确相对定量检测的特点,并能通过定量 mRNA 来分析待测基因的表达水平。

4. 基因芯片法

基因芯片法又称 DNA 微阵列杂交法,主要基于固体基质 (载玻片或硅薄膜) 上的二维阵列以高通量地定性或定量测定 DNA 分子,其探针由数 kb 或几十个特定核苷酸构成,DNA 微阵列技术现主要应用分析 DNA 突变及多态性、检测基因表达差异、发现新的致病基因等多个研究领域^[36]。Taitt 等^[37]开发了 ARDM v.2 DNA 芯片,该芯片可识别针对 17 种抗菌药物的 236 个耐药性基因,每个基因在芯片上包含 4 或 5 对重复探针,将芯片与生物素化的 DNA 片段杂交后,使用

辣根过氧化物酶标记链霉亲和素来产生信号。Taitt 等^[38]通过该芯片对多种腹泻致病菌的耐药基因进行检测,在 2 株志贺菌中发现了质粒介导的 *qnrS* 基因,同时检测到头孢耐药志贺菌株中的 *bla*_{CTX-M-9} 和 *bla*_{CTX-M-1} 基因。

5. 全基因组测序法 (WGS)

WGS 可以快速全面地找出个体基因组上的所有突变,在定义耐药基因型和预测耐药表型具有很高的灵敏度和特异性。通过 WGS 进行生物信息学分析构建进化树,可对细菌基因组学与传播模式进行精确研究。通过 WGS 识别耐药基因常采用二代测序方法,形成短读序列片段以后,使用定制算法将片段映射到参考序列以确定是否存在耐药基因,耐药基因的参考序列可在 CARD 或 NCBI 等数据库中获得^[39]。Baker 等^[40]通过全基因组测序的方法,对福氏志贺菌 3a 型进行谱系与耐药基因研究,所有的分离株均携带一个共同的多药耐药元件 (SRL-MDRE),而 MSM 相关谱系中发现了额外的耐药相关可移动遗传元件,编码了对其他抗菌药物的耐药性。Mook 等^[40]对英国发现的志贺菌分离株 183660 进行 WGS 后,发现在 p183660 质粒上存在超广谱 β-内酰胺酶 (ESBL) 基因 TEM-1 和 CTX-M,使该分离株获得对 β-内酰胺类抗菌药物的高水平耐药性。

三、展望

志贺菌对各种抗菌药物的耐药性不断增加,对其耐药基因与突变位点的研究与检测尤为重要,根据目前已知的耐药基因对志贺菌进行检测,有助于对志贺菌感染的有效治疗提供依据。在耐药基因检测方面,可根据实验室条件选择 PCR 法、DNA 微阵列技术和全基因组测序法,在检测志贺菌感染同时进行耐药基因检测。在未来,随着检测技术的不断更新,有望研究出更多低成本、操作简便的耐药基因检测技术,进一步实现对志贺菌的有效防控。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Kotloff KL, Riddle MS, Platts-Mills JA, et al. Shigellosis[J]. Lancet, 2018, 391 (10122): 801-812. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33296-8.
- [2] The HC, Thanh DP, Holt KE, et al. The genomic signatures of *Shigella* evolution, adaptation and geographical spread[J]. Nat Rev Microbiol, 2016, 14(4): 235-250. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.10.
- [3] Baker S, The HC. Recent insights into *Shigella*[J]. Curr Opin Infect Dis, 2018, 31(5): 449-454. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000475.
- [4] World Health Organization. The selection and use of essential medicines: report of the WHO expert committee on selection and use of essential medicines, 2019 (including the 21st WHO model list of essential medicines and the 7th WHO model list of essential

- medicines for children)[EB/OL]. [2021-01-24]. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330668>.
- [5] Redgrave LS, Sutton SB, Webber MA, et al. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success[J]. Trends Microbiol, 2014, 22(8): 438–445. DOI: 10.1016/j.tim.2014.04.007.
- [6] Zhang WX, Chen HY, Tu LH, et al. Fluoroquinolone resistance mechanisms in *Shigella* isolates in Shanghai, China, between 2010 and 2015[J]. Microb Drug Resist, 2019, 25(2): 212–218. DOI: 10.1089/mdr.2018.0113.
- [7] Tamanna, Ramana J. Structural Insights into the fluoroquinolone resistance mechanism of *Shigella flexneri* DNA gyrase and topoisomerase IV [J]. Microb Drug Resist, 2016, 22(5): 404–411. DOI: 10.1089/mdr.2015.0018.
- [8] Rodríguez-Martínez JM, Machuca J, Cano ME, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance: two decades on[J]. Drug Resist Updat, 2016, 29: 13–29. DOI: 10.1016/j.drug.2016.09.001.
- [9] Hata M, Suzuki M, Matsumoto M, et al. Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(2): 801–803. DOI: 10.1128/AAC.49.2.801–803.2005.
- [10] Muthuirulandi Sethuvel DP, Devanga Ragupathi NK, Anandan S, et al. Update on *Shigella* new serogroups/serotypes and their antimicrobial resistance[J]. Lett Appl Microbiol, 2017, 64(1): 8–18. DOI: 10.1111/lam.12690.
- [11] Zhang C, Zhang R, Yu Q, et al. Decreased susceptibility to azithromycin among clinical *Shigella* isolates from China[J]. Microb Drug Resist, 2017, 23(5): 596–601. DOI: 10.1089/mdr.2016.0134.
- [12] Boumghar- Bourtchai L, Mariani-Kurkdjian P, Bingen E, et al. Macrolide-resistant *Shigella sonnei*[J]. Emerg Infect Dis, 2008, 14(8): 1297–1299. DOI: 10.3201/eid1408.080147.
- [13] Brown JD, Willcox SJ, Franklin N, et al. *Shigella* species epidemiology and antimicrobial susceptibility: the implications of emerging azithromycin resistance for guiding treatment, guidelines and breakpoints[J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72(11): 3181–3186. DOI: 10.1093/jac/dkx268.
- [14] Mannion AJ, Martin HR, Shen Z, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance in *Shigella flexneri* isolated from macaques[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 311. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00311.
- [15] Ezernitchi AV, Sirotkin E, Danino D, et al. Azithromycin non-susceptible *Shigella* circulating in Israel, 2014–2016[J]. PLoS One, 2019, 14(10): e0221458. DOI: 10.1371/journal.pone.0221458.
- [16] Darton TC, Tuyen HT, The HC, et al. Azithromycin resistance in *Shigella* spp. in Southeast Asia[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(4): e01748–17. doi: 10.1128/AAC.01748–17.
- [17] Baker KS, Dallman TJ, Ashton PM, et al. Intercontinental dissemination of azithromycin-resistant shigellosis through sexual transmission: a cross-sectional study[J]. Lancet Infect Dis, 2015, 15(8): 913–921. DOI: 10.1016/S1473–3099(15)00002–X.
- [18] Baker KS, Dallman TJ, Field N, et al. Horizontal antimicrobial resistance transfer drives epidemics of multiple *Shigella* species[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 1462. DOI: 10.1038/s41467–018–03949–8.
- [19] Rahman M, Shoma S, Rashid H, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-mediated third-generation cephalosporin resistance in *Shigella* isolates in Bangladesh[J]. J Antimicrob Chemother, 2004, 54(4): 846–847. DOI: 10.1093/jac/dkh413.
- [20] Sabra AH, Araj GF, Kattar MM, et al. Molecular characterization of ESBL-producing *Shigella sonnei* isolates from patients with bacillary dysentery in Lebanon[J]. J Infect Dev Ctries, 2009, 3(4): 300–305. DOI: 10.3855/jidc.128.
- [21] Ranjbar R, Ghazi FM, Farshad S, et al. The occurrence of extended-spectrum β -lactamase producing *Shigella* spp. in Tehran, Iran[J]. Iran J Microbiol, 2013, 5(2): 108–112.
- [22] Bialvaei AZ, Pourlak T, Aghamali M, et al. The prevalence of CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamases among *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. isolated from three Iranian Hospitals[J]. Eur J Microbiol Immunol (Bp), 2017, 7(2): 133–137. DOI: 10.1556/1886.2017.00004.
- [23] Kim JS, Kim J, Jeon SE, et al. Complete nucleotide sequence of the IncI1 plasmid pSH4469 encoding CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamase in a clinical isolate of *Shigella sonnei* from an outbreak in the Republic of Korea[J]. Int J Antimicrob Agents, 2014, 44(6): 533–537. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2014.08.007.
- [24] Liu Y, Cheng Y, Yang H, et al. Characterization of extended-spectrum β -lactamase genes of *Shigella flexneri* isolates with fosfomicin resistance from patients in China[J]. Ann Lab Med, 2017, 37(5): 415–419. DOI: 10.3343/alm.2017.37.5.415.
- [25] Fortineau N, Naas T, Gaillot O, et al. SHV-type extended-spectrum beta-lactamase in a *Shigella flexneri* clinical isolate[J]. J Antimicrob Chemother, 2001, 47(5): 685–688. DOI: 10.1093/jac/47.5.685.
- [26] Wang Y, Ma Q, Hao R, et al. Antimicrobial resistance and genetic characterization of *Shigella* spp. in Shanxi Province, China, during 2006–2016 [J]. BMC Microbiol, 2019, 19(1): 116. DOI: 10.1186/s12866–019–1495–6.
- [27] Jeong YS, Lee JC, Kang HY, et al. Epidemiology of nalidixic acid resistance and TEM-1- and TEM-52-mediated ampicillin resistance of *Shigella sonnei* isolates obtained in Korea between 1980 and 2000[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(12): 3719–3723. DOI: 10.1128/aac.47.12.3719–3723.2003.
- [28] Taneja N, Mewara A, Kumar A, et al. Cephalosporin-resistant *Shigella flexneri* over 9 years (2001–09) in India[J]. J Antimicrob Chemother, 2012, 67(6): 1347–1353. DOI: 10.1093/jac/dks061.
- [29] Huang IF, Chiu CH, Wang MH, et al. Outbreak of dysentery associated with ceftriaxone-resistant *Shigella sonnei*: first report of plasmid-mediated CMY-2-type AmpC beta-lactamase resistance in *S. sonnei*[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(6): 2608–2612. DOI: 10.1128/JCM.43.6.2608–2612.2005.
- [30] Rahman M, Mauff G, Levy J, et al. Detection of 4-quinolone resistance mutation in *gyrA* gene of *Shigella dysenteriae* type 1 by PCR[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1994, 38(10): 2488–2491. DOI: 10.1128/aac.38.10.2488.

- [31] 毛联钢,沈玄艺,冯伟云,等. 宁波地区肠道感染志贺菌喹诺酮类药物耐药性及其耐药基因分析[J]. 现代实用医学, 2019, 31(9): 1206-1209. DOI: 10.3969/j.issn.1671-0800.2019.09.033.
Mao LG, Shen XY, Feng WY, et al. Analysis on quinolones resistance and resistance genes of *Shigella* intestinal infection in Ningbo area[J]. Mod Pract Med, 2019, 31(9): 1206-1209. DOI: 10.3969/j.issn.1671-0800.2019.09.033.
- [32] 官昭瑛,李慧敏,何曼文,等. 多重 PCR 技术在快速检测中的应用[J]. 山东化工, 2021, 50(3): 85-88. DOI: 10.3969/j.issn.1008-021X.2021.03.034.
Guan ZY, Li HM, He MW, et al. Application of multiplex PCR technology in rapid detection[J]. Shandong Chemical Industry, 2021, 50(3): 85-88. DOI: 10.3969/j.issn.1008-021X.2021.03.034.
- [33] 王倩,徐新明,胡蕊,等. 福氏志贺氏菌 QRDR 基因 *gyrA*, *parC* 及毒力基因 *ipaH* 的多重 PCR 检测[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(1): 22-26. DOI: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.01.004.
Wang Q, Xu XM, Hu R, et al. Multiplex PCR detection of QRDR genes *gyrA*, *parC* and virulence gene *ipaH* of *Shigella flexneri*[J]. J Clin Pathol Res, 2019, 39(1): 22-26. DOI: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.01.004.
- [34] Zhang W, Luo Y, Li J, et al. Wide dissemination of multidrug-resistant *Shigella* isolates in China[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(11): 2527-2535. DOI: 10.1093/jac/dkr341.
- [35] Kim J, Jeon S, Kim H, et al. Multiplex real-time polymerase chain reaction-based method for the rapid detection of *gyrA* and *parC* mutations in quinolone-resistant *Escherichia coli* and *Shigella* spp [J]. Osong Public Health Res Perspect, 2012, 3(2): 113-117. DOI: 10.1016/j.phrp.2012.04.004.
- [36] 邱秀文,吴小芹,黄麟,等. 基因芯片技术在生物研究中的应用进展[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 60-62. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1302.2014.05.018.
Qiu XW, Wu XQ, Huang L, et al. Application progress of gene chip technology in biological research[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2014, 42(5): 60-62. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1302.2014.05.018.
- [37] Taitt CR, Leski TA, Stockelman MG, et al. Antimicrobial resistance determinants in *Acinetobacter baumannii* isolates taken from military treatment facilities[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(2): 767-781. DOI: 10.1128/AAC.01897-13.
- [38] Taitt CR, Leski TA, Prouty MG, et al. Tracking antimicrobial resistance determinants in diarrheal pathogens: a cross-institutional pilot study[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(16): 5928. DOI: 10.3390/ijms21165928.
- [39] Sadouki Z, Day MR, Doumith M, et al. Comparison of phenotypic and WGS-derived antimicrobial resistance profiles of *Shigella sonnei* isolated from cases of diarrhoeal disease in England and Wales, 2015[J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72(9): 2496-2502. DOI: 10.1093/jac/dkx170.
- [40] Mook P, McCormick J, Bains M, et al. ESBL-producing and macrolide-resistant *Shigella sonnei* infections among men who have sex with men, England, 2015[J]. Emerg Infect Dis, 2016, 22(11): 1948-1952. DOI: 10.3201/eid2211.160653.

(收稿日期: 2021-01-24)