

迟缓爱德华氏菌耐药性分析研究

黄新新^{1*}, 何宇平¹, 彭强辉², 曾 静³, 刘海泉⁴, 孙晓红⁴, 赵 勇⁴,
李 想¹, 郭德华¹

(1. 上海出入境检验检疫局动植物与食品检验检疫技术中心, 上海 200135; 2. 浙江清华长三角研究院, 嘉兴 314006;
3. 北京出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 北京 100026; 4. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘 要: 目的 分析来自不同地区和宿主的迟缓爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*, Et)耐药特性及抗性基因。

方法 采用 VITEK 2 Compact 全自动分析系统, 利用 VITEK 2 Compact AST-GN13(22095)药敏鉴定卡对 23 株 Et 进行药敏试验; 通过实时荧光 PCR 法检测抗性基因。**结果** manE291、ET-0711059、L49231、DT 这 4 株 Et 对复方新诺明耐药, 其中 ET-0711059 还对包括氨苄西林、庆大霉素等在内的其余 7 种抗生素耐药, 对环丙沙星处于中介耐药。23 株 Et 经氨基糖苷类、四环素类、磺胺类、喹诺酮类、大环内酯类等 30 种抗性基因检测, 16% Et 含有氨基糖苷类 *ant(3'')*-I 抗性基因及磺胺类 *sul1* 抗性基因; 另有 16% Et 含磺胺类 *sul2* 抗性基因; 40% Et 含四环素类 *tetA* 抗性基因。所有耐药菌株均为鱼源株, 6 株人源菌株不表现耐药。**结论** 所检测的 Et 菌株除了 1 株多重耐药, 其余菌株的耐药性并不突出, 主要表现为对复方新诺明的耐药。在检测的 Et 菌株中分布有一定比例的抗性基因, 但和耐药性并不完全相关。

关键词: 迟缓爱德华氏菌; 耐药性; 抗性基因

Analysis of antibiotic resistance of *Edwardsiella tarda*

HUANG Xin-Xin^{1*}, HE Yu-Ping¹, PENG Qiang-Hui², ZENG Jing³, LIU Hai-Quan⁴,
SUN Xiao-Hong⁴, ZHAO Yong⁴, LI Xiang¹, GUO De-Hua¹

(1. Technical Center for Animal, Plant and Food Inspection and Quarantine, Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China; 2. Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaxing 314006, China; 3. Beijing Inspection Quarantine Testing Center of Beijing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Beijing 100026, China; 4. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the characteristics of antibiotic resistance and antibiotic resistance genes in *Edwardsiella tarda* (Et) from different regions and hosts. **Methods** Using VITEK 2 Compact automatic analysis system, totally 23 strains of Et were tested by VITEK 2 Compact AST-GN13 (22095) susceptibility identification card. Resistance genes were detected by real-time fluorescence PCR. **Results** The 4 strains of ET, manE291, et-0711059, L49231, DT, were resistant to compound xinnomin, and et-0711059 was also resistant to the other seven antibiotics including ampicillin and gentamicin, with intermediate resistance to ciprofloxacin. Totally 23 strains of Et were tested for 30 resistance genes including aminoglycosides, tetracyclines, sulfonamides, quinolones and

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFE0110800)、上海市科技兴农项目(2019-02-08-00-10-F01149)

Fund: Supported by National Key Research and Development Program (2017YFE0110800) and Shanghai Science and Technology Project for Promoting Agriculture(2019-02-08-00-10-F01149)

*通讯作者: 黄新新, 博士, 副研究员, 主要研究方向为分子生物学及食品安全检测。E-mail: 1967209925@qq.com

*Corresponding author: HUANG Xin-Xin, Ph.D, Associate Professor, Technical Center for Animal, Plant and Food Inspection and Quarantine, Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China. E-mail: 1967209925@qq.com

macrolides, 16% of them contained aminoglycoside *ant*(3'')-I and sulfonamide *su*1, and 16% of them contained sulfonamide *su*2; 40% of them contained tetracycline *tetA* resistance gene. All antibiotic resistant strains were fish-derived strains, and 6 human-derived strains showed no antibiotic resistance. **Conclusion** In addition to one strain of multi-antibiotic resistance, the resistance of the other strains is not prominent, mainly manifest as resistance to compound neotamine. A certain proportion of resistance genes are distributed in the tested strains, but they are not completely related to antibiotic resistance.

KEY WORDS: *Edwardsiella tarda*, antibiotic resistance, resistance genes

1 引言

迟缓爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*, Et)为广谱感染菌,多种生物尤其是特种水产动物例如日本鳗、多宝鱼、比目鱼、斑点叉尾鮰等对其易感,从而导致严重的经济损失。由于某些 Et 菌株能感染人体,引发败血症等症状,因而也是重要的人畜共患病病原菌^[1,2]。为防止病害蔓延,水产养殖业通常会使用大量的抗生素,而药物滥用则易导致多种水产病原菌在药物选择下出现耐药性,其机制也愈发复杂^[3]。国内近年来对从鳊鱼等体内分离到的 Et 进行耐药检测表明,这些菌株均表现为多重耐药,且对各种抗生素的耐药性有较大差异^[4,5]。Lee 等^[6]分析从罗非鱼中分离的 Et,显示 41.6%的分离株对诺维霉素、氨苄西林、螺旋霉素和氯霉素耐药,并表现出同水银、铬、铜及锌等重金属的协同抗性。

耐药性的出现严重影响了公共卫生及社会的健康发展。2017 年世界经济全球风险报告指出,抗生素耐药性已经成为人类健康的最大威胁之一,同时也给环境微生态平衡以及养殖产业的健康发展带来了巨大损害^[7]。食源性耐药致病菌会沿着“养殖动物-环境-食品-人群”链条传播^[8],危害人类健康。据统计,人类约有 60%的细菌性疾病源自动物病原菌感染^[9],因此监测和控制耐药菌在食品性动物中的传播,对于人类健康和经济发展极其重要。

本研究选取分离自鱼源(斑点叉尾鮰、日本鳗、多宝鱼、比目鱼、斑鳢)及人源等不同宿主和不同地区的 23 株 Et,采用 VITEK 2 Compact AST-GN13(22095)药敏鉴定卡分析其耐药性,并设计 30 对针对氨基糖苷类、磺胺类、四环素类、喹诺酮类、大环内酯类、氯霉素等抗性基因引物,检测其抗性基因存在与否,了解这些地区及宿主中分离的 Et 耐药性及抗性基因分布情况,为指导生产养殖中合理使用抗生素提供方向。

2 材料与方法

2.1 菌 株

Et 标准菌株 ATCC 15947、ATCC 23692 购自上海汉尼生物技术有限公司,其余菌株分别从斑点叉尾鮰、日本鳗、

多宝鱼、比目鱼、斑鳢等宿主体内分离(表 1)。所有菌株均经过革兰氏染色、氧化酶试验、VITECK 32GN1+生化鉴定和 16SrDNA 序列同源性分析。置于-80 ℃甘油肉汤保存。

表 1 实验所用菌株

Table 1 Experimental strain

宿主	菌株	来源	鱼类致病性
比目鱼	BYK00679	安徽	Y
比目鱼	TX1	山东	Y
多宝鱼	EIB202	山东	Y
多宝鱼	TJ090818	天津	Y
多宝鱼	L-49231	辽宁	Y
多宝鱼	WY37	山东	Y
多宝鱼	ET-QD	山东	Y
斑点叉尾鮰	GD091027	广东	Y
花鳗	manE29L	广东	Y
花鳗	ET080729	广东	Y
日本鳗	080813-2	福建	Y
美国鳗	ET081126R	福建	Y
斑鳢	ET-YZH	江苏	Y
红慈鲷	ET-0711059	上海	Y
未知	BYK00685	江西	Y
马鲛脂鲤	PPD130/91	新加坡	Y
抹香鲸	ETB	比利时	Y
奥斯卡鱼	DT	广东	N
人	ET-1	美国	N
人	ET-11	美国	N
人	ET-13	美国	N
人	ET-0605	江苏	N
人	ET-89602	江苏	N
人	ATCC15947	美国	N
人	ATCC23692	美国	N

2.2 仪器及试剂

MIKRO 220R 小型台式冷冻离心机(德国 Hettich 公司); DHP-9052 生化培养箱(上海精宏实验设备有限公司); VITEK 2 Compact 全自动微生物分析系统(法国生物梅里埃有限公司); CFX96 实时荧光 PCR 仪(美国 Bio-rad 公司); VITEK 2 Compact AST-GN13(22095)药敏鉴定卡(法国生物梅里埃有限公司)。脑心浸液和胰蛋白胨大豆琼脂(北京陆桥公司); DNA 提取试剂盒(德国 TIANGEN 公司); SYBR Premix Ex Taq 预混液、引物(大连宝生物工程有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 细菌药敏试验

取 2 根洁净无菌的比浊管 1、2, 分别加入 3 mL 0.45% 灭菌氯化钠缓冲液, 无菌接种环挑取 24 h 培养的单个 Et 纯菌落至 1 号管 3 mL 0.45%灭菌氯化钠缓冲液中, 用旋涡

振荡器混匀, 配制 0.5 MCF 菌悬液。从 1 号管中吸取 145 μ L 至 2 号管中, 混匀。填充 AST-GN13 卡并上机检测。

2.3.2 细菌抗性基因检测

本研究共设计 30 对抗性基因引物(表 2), 包括: 氨基糖苷类: *aac*、*aac*(6')-Ib、*aacC1*、*aadD*、*aadE*、*ant*(3'')-I、*ant*(2'')-I、*aph*; 四环素类: *tetA*、*tetC*、*tetH*、*tetM*; 磺胺类: *sul1*、*sul2*、*sul3*; 喹诺酮类: *gyrA*、*parC*; β -内酰胺类: *ctx-m*、*pse-1*、*tem1*、*dha*、*oxa*、*shv*、*vim*; 氯霉素类: *cat1*、*cmlA*、*flor*; 大环内酯类: *ermA*、*ermB*、*ermC*。用 DNA 抽提试剂盒提取 Et 总 DNA。实时荧光 PCR 的反应体系为: SYBR Premix Ex Taq 预混液 12.5 μ L, 上下游引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, DNA 模板 2 μ L, ddH₂O 8.5 μ L。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 40 个循环; 最后进行溶解曲线分析。设立阴性及空白对照, 样品检测设 3 个复孔。

表 2 抗性基因的引物序列
Table 2 Primer sequences of antibiotic resistance genes

目标基因		序列(5'--3')	扩增片段/bp	参考基因序列号
<i>aac</i>	<i>aac</i> F	CACGGCTCGGCTGGTCCATA	244	NC_020133.1
	<i>aac</i> R	TCGCACCGCAACACCTTCG		
<i>aac</i> (6')-Ib	<i>aac</i> (6')-Ib F	GCGATGCTCTATGAGTGGC	357	NZ_CP010881.1
	<i>aac</i> (6')-Ib R	GTCCGTTTGGATCTTGGTG		
<i>aacC1</i>	<i>aacC2</i> F	GCATACGCGGAAGGCAATA	574	CP008735.1
	<i>aacC2</i> R	TCCAAGCATCGGCATCTCA		
<i>aadD</i>	<i>aadD</i> F	CTATTGGTGTTTATGGCTCT	631	KF798179
	<i>aadD</i> R	TATCCGTGTCGTCTCTGTCC		
<i>aadE</i>	<i>aadE</i> F	TTGCCCTTGGAAGAGTTAGA	473	NC_021988.1
	<i>aadE</i> R	TAATGAAGCCTTTCCGCCAC		
<i>ant</i> (3'')-I	<i>ant</i> (3'')-I F	CACAGTGATATTGATTTGCTGGT	646	NZ_CP010315.1
	<i>ant</i> (3'')-I R	CCTTGGTGATCTCGCCTTTC		
<i>ant</i> (2'')-I	<i>ant</i> (2'')-I F	AACGCAGGTCACATTGATACAC	414	KM589496
	<i>ant</i> (2'')-I R	GGTGGTACTTCATCGGCATAG		
<i>aph</i>	<i>aph</i> F	ACTCATCGTGGGTGGTGCT	330	NC_016811.1
	<i>aph</i> R	ATCGAGGTGGGAACAGAGG		
<i>ctx-m</i>	<i>ctx-m</i> F	GCGAACCGAATCTGTAAATC	392	KM377240
	<i>ctx-m</i> R	GGTGGTATTGCCTTTTCATCC		
<i>pse1</i>	<i>pse1</i> F	ACTGCGGCAAATATCATCCT	338	DQ133163
	<i>pse1</i> R	ATACTCCGAGCACCAAATCC		
<i>tem1</i>	<i>tem1</i> F	CTCGGTCGCCGCATACACTA	380	NG_041453.1
	<i>tem1</i> R	GCAACTTTATCCGCCTCCAT		
<i>dha</i>	<i>dha</i> F	GGGATGCCGTATGAGCAGTT	547	KM087853
	<i>dha</i> R	CTCTTTCGGTATTCGGGTAGTT		

续表 2

目标基因		序列(5'--3')	扩增片段/bp	参考基因序列号
<i>Oxa</i>	oxa F	CAATGGTGTCTTCGTGCTTT	683	KM111261
	oxa R	CAATGATGCCCTCACTTTCC		
<i>shv</i>	shv F	CATGACGGTCGGCGAACTCT	447	KP050489
	shv R	TCCCGCAGATAAAATCACCACAAT		
<i>vim</i>	vim F	GATTGCCGATGGTGTGTTGGT	560	KJ679406
	vim R	CCTCTGCTTCCGGGTAGTGT		
<i>gyrA</i>	gyrA F	TGCGATGTCGGTCATTGTT	499	NZ_HF572917.1
	gyrA R	GACTTCCGTCAGGTTGTGC		
<i>parC</i>	parC F	CGGAAAACGCCTACTTAAACTA	466	NZ_CP009084.2
	parC R	GTGCCGTTAAGCAAAATGT		
<i>sul1</i>	sul1 F	GTATTGCGCCGCTCTTAGACG	498	NC_002134.1
	sul1 R	TCGCTGGACCCAGATCCTTTA		
<i>sul2</i>	sul2 F	GCGGATGAAGTCAGCTCCACCT	503	LN794248.1
	sul2 R	TTCCCGTCTCGCTCGACAGTTAT		
<i>sul3</i>	sul3 F	AGATTTATTCAAGCTTGGC	346	NC_025141.1
	sul3 R	CGAGATTTACATCGGTTC		
<i>tetA</i>	tetA F	TTTCGGGTTCGGGATGGTC	466	KJ850490.1
	tetA R	AAGCAGGATGTAGCCTGTGCC		
<i>tet</i>	tet F	TCGCTCAAGCCTTCGTCCTG	343	EU751613
	tet R	GCGCCTACAATCCATGCCAAC		
<i>tetH</i>	tetH F	AGTGATGTGACTCCCCTAAA	560	KJ909292
	tetH R	GCTGGTAAGATGACCCAAACG		
<i>tetM</i>	tetM F	AATCCGCACCCTCTACTACAA	469	NZ_CP007499.1
	tetM R	AGTCCGTCACATTCCAACC		
<i>cat1</i>	cat1 F	GGCAATGAAAGACGGTGAGC	360	CP010781.1
	cat1 R	ACGGCATGATGAACCTGAAT		
<i>cmlA</i>	cmlA F	CTTGGGTGGCGGGCTATCTTT	538	CP009414
	cmlA R	CCGTGACCGTTCCAGCAACAT		
<i>flor</i>	flor F	CCTGAACACGACGCCGCTAT	755	NG_041720.1
	flor R	ACAGGACCGCTCCGCAAAACAA		
<i>ermA</i>	ermA F	AGTGACTAAAGAAGCGGTAA	312	AB983237
	ermA R	TCTACACTTGGCTTAGGATG		
<i>ermB</i>	ermB F	AACGACGAAACTGGCTAA	413	NZ_CP009860.1
	ermB R	CTGTGGTATGGCGGGTAA		
<i>ermC</i>	ermC F	GGCCATTTTACCCTTGAA	308	AB982225
	ermC R	AATGCCAATGAGCGTTTT		

3 结果与分析

3.1 菌株药敏试验结果

所有菌株对头孢曲松、头孢替坦、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、左旋氧氟沙星、氨曲南、丁胺卡那霉素、厄他培南 9 种供试抗菌药物均敏感。manE291、DT、ET-0711059、L49231 对复方新诺明耐药, ET-0711059 对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、庆大霉素、妥布霉素、呋喃妥因、头孢唑啉、头孢他啶、复方新诺明 8 种抗生素物耐药; 对环丙沙星处于中介值耐药。

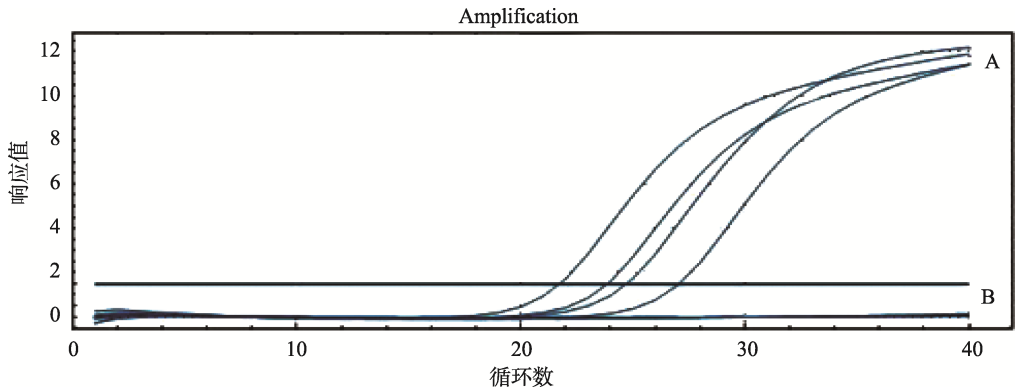
3.2 抗性基因检测结果

利用实时荧光 PCR 法检测 23 株迟缓爱德华氏菌携带抗性基因情况, 结果显示耐药菌株均来源于鱼源 Et。其中 manE291、DT、ET-0711059、L49231 检出氨基糖苷类 *ant(3'')*-I 抗性基因及磺胺类 *sul1* 抗性基因; GD-091027、ET-080729、080813-2、EIB202 检出磺胺类 *sul2* 抗性基因, 以上比例均为 16%; 10 株 Et 菌株: GD-091027、manE291、ET-080729、DT、080813-2、EIB202、ET-0711059、ET081126R、L49231、

TJ090818 检测出四环素 *tetA* 抗性基因, 比例为 40%。这些菌株的宿主分别为多宝鱼、斑点叉尾鲷、花鲢及红慈鲷; 来源地分布于广东、山东、辽宁、福建及上海等地。部分扩增的抗性基因实时荧光 PCR 结果见图 1~3。

3.3 抗性基因扩增效率

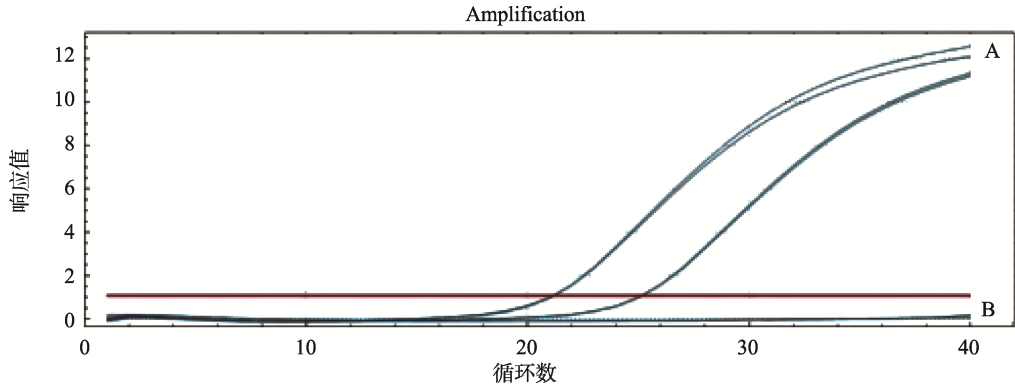
将构建的含 *ant(3'')*-I、*sul1*、*tetA* 抗性基因的标准品进行 10 倍梯度稀释, 使起始浓度均为 10^7 拷贝数/ μL , 终浓度均为 10^0 拷贝数/ μL (10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2 、 10^1 、 10^0)。以上一系列稀释的标准品作为模板, 按照反应体系进行实时荧光定量 PCR 反应。并以稀释倍数的 lg 值作为横坐标, 扩增的 Cq 值为纵坐标制作标准曲线, 根据曲线参数来评价实验结果的可信度。3 个基因在 $10^7 \sim 10^0$ 拷贝数/ μL 浓度范围内, 随着模板量的减少, 其对应的 Cq 值相应增大, 标准曲线的线性关系较好, r^2 均能达到 0.996 及以上。扩增效率分别为 *ant(3'')*-I 基因 102.4%, *sul1* 基因 101.5%, *tetA* 基因 97.4%, 标准曲线斜率分别为 *ant(3'')*-I 基因 -3.266, *sul1* 基因 -3.286, *tetA* 基因 -3.386。线性、扩增效率、斜率均落在可靠 ($r^2 > 0.98$, 效率 90%~110%, 斜率 -3.6~-3.1) 数据范围内。*ant(3'')*-I 基因定量标准扩增曲线和标准曲线见图 4。



注: A: 扩增曲线; B: 空白对照。

图 1 *sul1* 基因实时荧光 PCR 扩增检测图

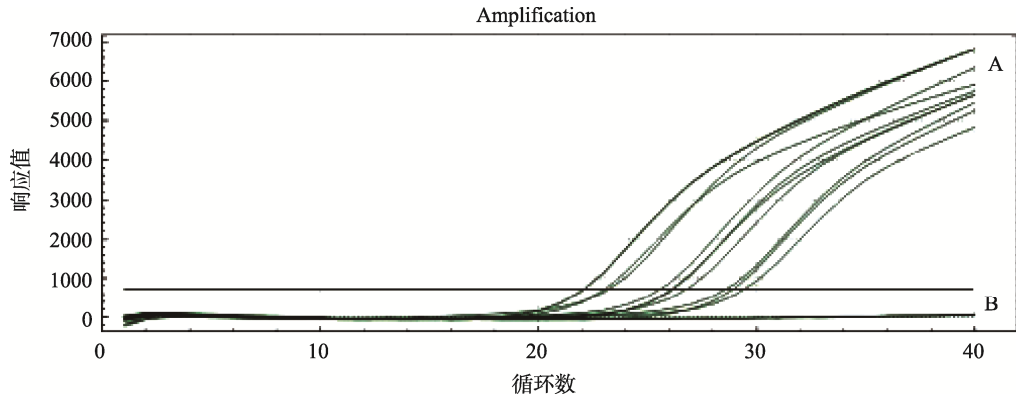
Fig.1 Detection diagram of real-time fluorescence PCR amplification of *sul1* gene



注: A: 扩增曲线; B: 空白对照。

图 2 *ant(3'')*-I 实时荧光 PCR 扩增检测图

Fig.2 Detection diagram of real-time fluorescence PCR amplification of *ant(3'')*-I gene



注: A: 扩增曲线; B: 空白对照。

图 3 *tetA* 实时荧光 PCR 扩增检测图

Fig.3 Detection diagram of real-time fluorescence PCR amplification of *tetA* gene

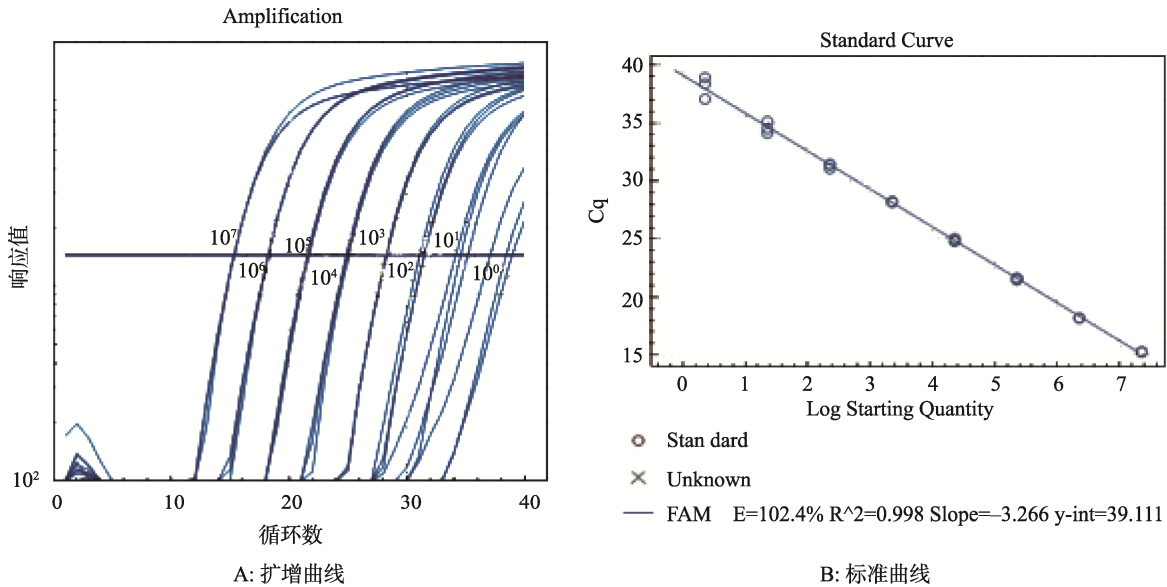


图 4 *ant(3'')-I* 基因定量标准扩增曲线和标准曲线

Fig.4 Quantitative standard amplification curve and standard curve of *ant(3'')-I* gene

4 结论与讨论

水产养殖业是我国发展速度最快的行业之一, FAO 的调查数据显示, 全球三分之二的水产品都由中国出口^[10], 但目前渔用抗菌药物使用范围和剂量日益增大, 养殖水体病原菌耐药性问题日趋严重。

有学者分析从广东地区水产品中分离的 505 株多重耐药菌, 其中约 25% 含有抗磺胺药的 *sul1* 基因、15% 含有 *sul2* 基因、5% 含抗四环素的 *tetE* 基因, 红霉素的抗性基因 *ermB* 及 *ermC* 分布率则分别为 1.3% 和 0.3%^[11]。本研究中抗氨基糖胺类耐药基因 *ant(3'')* 及抗磺胺类抗性基因 *sul1* 及 *sul2* 分别为 16%, 抗四环素抗性基因 *tetA* 为 40%; 没有检测出其余类型的抗性基因, 且相应的菌株均为鱼源株, 来源于人的 ET-1、ET-11、ET-13、ET-0605、ET-89602、

ATCC15947、ATCC23692 等 6 株 Et 没有检测出耐药。磺胺、四环素等抗生素在水产养殖中被广泛使用, 因而也和抗性基因的存在及传播紧密相关。

细菌耐药机制复杂, 耐药基因 *ant(3'')-I* 编码的氨基糖苷核苷转移酶^[12], 作用于抗菌药物上, 改变、消除了抗菌药物与核糖体亚基结合的能力, 导致了耐药性的出现。新二氢叶酸合成酶是磺胺类药物出现耐药性的主要机制, *sul1*、*sul2* 基因都能引起新二氢叶酸合成酶高水平表达^[13]。以 *tetA* 为代表的外排系统基因在革兰氏阳性和阴性细菌均有被检出的报道^[14-16], Lyu 等^[16] 对 127 株临床分离 Et 用多重 PCR 方法进行了 6 种外排系统基因检测, 发现 *tetA* 是外排系统中最常见的, 这与本次的实验结果相一致。Yu 等^[3] 发现高度耐药的 Et CK41 有一个大小为 70 kb 的大质粒, 经过验证表明质粒上含有多种抗性基因。而细菌的耐药表

型在某些时候与抗性基因有吻合, 也会存在某些差异。例如 manE291、DT、ET-0711059、L49231 在表型上对复方新诺明磺胺类药物耐药, 这些菌株同时也含有磺胺类 *su1* 抗性基因, 当然这些抗性基因的存在并不一定是导致对复方新诺明的耐药, 一般还需要有对 TMP 耐药的基因存在; 且这 4 株含有氨基糖苷类 *ant(3'')*-I 抗性基因的 Et, 仅仅 ET-0711059 对庆大霉素、妥布霉素耐药, 说明某些抗性基因并不一定有效呈现耐药。

目前我国水产养殖中允许使用的抗生素药物共有 28 种, 几乎包含了所有抗生素类药物, 水产养殖中药物使用存在乱用滥用现象, 药物残留及药物选择压力致使细菌产生多重耐药性的现状, 以及迟缓爱德华氏菌对我国水产养殖业的巨大危害, 应进一步加强对迟缓爱德华氏菌耐药性检测及耐药机制研究, 严格水产养殖饲料行业中抗生素使用的管理, 加大对水产品生产、加工过程环节的卫生监督, 规范迟缓爱德华氏菌感染病例的抗生素治疗, 预防及控制迟缓爱德华氏菌对抗生素耐药性的产生, 从而促进水产养殖产业的健康发展和在源头上保障食品安全。

参考文献

- [1] Mohanty BR, Sahoo PK. *Edwardsiella* in fish: A brief review [J]. J Biosci, 2007, 32(7): 1331–1344.
- [2] Wang YM, Wang QY, Xiao JF, *et al.* Genetic relationships of *Edwardsiella* strains isolated in China aquaculture revealed by rep-PCR genomic fingerprinting and investigation of *Edwardsiella* virulence genes [J]. J Appl Microbiol, 2011, 111(6): 1337–1348.
- [3] Yu JE, Cho MY, Kim JW, *et al.* Large antibiotic-resistance plasmid of *Edwardsiella tarda* contributes to virulence in fish [J]. Microb Pathog, 2012, 52(5): 259–266.
- [4] 吴勇亮, 苗鹏飞, 于辉, 等. 鳊鱼致病性迟缓爱德华氏菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 南方农业学报, 2018, 49(4): 794–799.
Wu YL, Miao PF, Yu H, *et al.* Isolation, identification and drug susceptibility test of pathogenic *Edwardsiella tarda* in *Siniperca chuatsi* [J]. J Southern Agric, 2018, 49(4): 794–799.
- [5] 陈茂金, 黄海玲, 付党华, 等. 圈养虎迟缓爱德华氏菌的分离鉴定及药敏分析[J]. 野生动物学报, 2018, 39(1): 110–114.
Chen MJ, Huang HL, Fu DH, *et al.* The identification and drug sensitivity analysis of *Edwardsiella tarda* in captive tiger [J]. Chin J Wildlife, 2018, 39(1): 110–114.
- [6] Lee SW, Wendy W. Antibiotic and heavy metal resistance of *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella tarda* isolated from red hybrid tilapia (*Oreochromis* spp.) coinfecting with motile *aeromonas* septicemia and *edwardsiella* [J]. Vet World, 2017, 10(7): 803–807.
- [7] Allcock S, Young EH, Holmes M, *et al.* Antimicrobial resistance in human populations: challenges and opportunities [J]. Global Health, Epidemiol Genom, 2017, 2(2): 135–137.
- [8] Landers TF, Cohen B, Wittum TE, *et al.* A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential [J]. Public Health Report, 2012, 127(1): 4–22.
- [9] Rinaldi A. Tackling animal diseases to protect human health [J]. Embo Report, 2013, 14(1): 31–35.
- [10] 瞿婷婷, 杜小幸, 陈亚岗, 等. 氨基糖苷类高水平耐药肠球菌的耐药性及修饰酶基因分布[J]. 中国感染与化疗杂志, 2006, 3: 163–167.
Qu TT, Du XX, Chen YG, *et al.* The resistance and aminoglycoside-modifying enzyme genotypes of high-level amino-glycoside resistant *Enterococcus* [J]. Chin J Infect Chemotherapy, 2006, 3: 163–167.
- [11] FAO. Aquaculture in China and Asia [R]. <http://www.fao.org/newsroom/common/ecg/1000565/en/factsheet.pdf>, 2007.
- [12] Ye L, Lu Z, Li X, *et al.* Antibiotic-resistant bacteria associated with retail aquaculture products from Guangzhou, China [J]. J Food Prot, 2013, 76(2): 295–301.
- [13] Li S, Peng Y, Rui Y. Multiplex real-time PCR assays to detect *Stenotrophomonas maltophilia* carrying *su1*, *su2*, and *su3* genes [J]. J Microbiol Methods, 2019, 156: 52–59.
- [14] Li P, Liu D, Zhang X, *et al.* characterization of plasmid-mediated quinolone resistance in gram-negative bacterial strains from animals and Humans in China [J]. Microb Drug Resist, 2019, 22. doi: 10.1089/mdr.2018.0405.
- [15] Riedel S, Boire N, Carson KA, *et al.* A survey of antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae isolated from the Chesapeake Bay and adjacent upper tributaries [J]. Microbiologyopen, 2019, 4: e839.
- [16] Lyu JJ, Joon BJ, Min-Do H. Detection of tetracycline-resistance determinants by multiplex polymerase chain reaction in *Edwardsiella tarda* isolated from fish farms in Korea [J]. Aquaculture, 2004, 240: 89–100.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



黄新新, 博士, 副研究员, 主要研究方向为分子生物学及食品安全检测。
E-mail: 1967209925@qq.com