

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.01.14

喹诺酮类药物的抗菌和抗性机制

卞佳豪¹, 奉竹¹, 林颖峥², 李思思¹, 李树清², 王恒安^{1*}, 陈志飞^{2*}

(1. 上海交通大学农业与生物学院, 上海市兽医生物技术重点实验室, 上海 200240; 2. 中华人民共和国上海海关, 上海 200002)

[收稿日期] 2019-10-16 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 01-0080-06 [中图分类号] S859.796

[摘要] 喹诺酮类药物是广泛使用的一类抗菌药物, 日趋严峻的细菌耐药性已严重威胁其临床应用。介绍喹诺酮类药物的发展过程, 其靶向细菌 DNA 促旋酶 (DNA gyrase) 和拓扑异构酶 IV (topoisomerase IV) 抑制 DNA 复制的抗菌机制, 并进一步探讨了细菌对喹诺酮类药物的抗性机制, 包括染色体编码药物靶酶 DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV 的点突变, 染色体编码的调节蛋白突变所引发的药物输入蛋白下调或药物输出蛋白上调, 以及质粒编码的可阻断药物与靶酶的相互作用、增加药物输出和改变药物代谢等抗性蛋白。研究喹诺酮的抗菌原理及细菌对喹诺酮的抗性机制, 将有助于筛查和防控喹诺酮耐药菌。

[关键词] 喹诺酮; 抗菌机制; 细菌; 抗性机制

Antibacterial and Resistant Mechanisms of Quinolones

BIAN Jia-hao¹, FENG Zhu¹, LIN Ying-zheng², LI Si-si¹,LI Shu-qing², WANG Heng-an^{1*}, CHEN Zhi-fei^{2*}

(1. Shanghai Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China;

2. Shanghai Customs District, P. R. China, Shanghai 200002, China)

Corresponding author: WANG Heng-an, E-mail: hawang@sjtu.edu.cn; CHEN Zhi-fei, E-mail: chenzf@shciq.gov.cn

Abstract: Quinolones are one of the most commonly used classes of antibacterials in the world, and the rise of quinolones resistance threatens the clinical utility of this important class drugs. This review describes the development of the quinolones, the mechanism of quinolones for inhibiting DNA replication by targeting bacterial gyrase and topoisomerase IV, and further discusses the mechanisms of bacterial resistance against quinolones as followed, the mutations in chromosome-encoded DNA gyrase and topoisomerase IV, the under-expression of influx proteins or the over-expression of efflux pumps due to the mutations in chromosome-encoded upstream regulators, several kinds of plasmid-encoded resistance proteins which can disrupt interactions between quinolones and its target enzymes, increase quinolone efflux, or alter drug metabolism, respectively. Thoroughly

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目 (G2018-02-08-00-10-F01548)

作者简介: 卞佳豪, 硕士生, 从事微生物代谢研究。

通讯作者: 王恒安, E-mail: hawang@sjtu.edu.cn; 陈志飞, E-mail: chenzf@shciq.gov.cn

understanding of quinolone action and resistance mechanisms will significantly help to monitor, prevent and control drug-resistant bacteria in clinic.

Key words: quinolones; antibacterial mechanisms; bacteria; resistance mechanisms

喹诺酮类(quinolones)药物是一类含有 4-喹诺酮母核的人工合成药物的总称,具有生物利用度好、体内代谢稳定、抗菌谱广和抑菌高效等优点,广泛应用于细菌性疾病的预防与治疗,但随之而来的是细菌对该类药物的耐药性日趋严重,已严重影响其临床的有效使用。本文将从喹诺酮类药物的分类和抑菌机制及细菌的耐药机制和耐药基因等方面作一系统梳理。

1 喹诺酮类药物的分子结构

1.1 第一代喹诺酮类药物 以萘啶酸(nalidixic acid)为代表。萘啶酸可以说是 Leshner 等在合成抗疟疾药物-氯喹(7-氯-1-乙基-1,4-二氢-4-氧代喹啉-3-羧酸)(图 1)过程中的意外收获^[1]。萘啶酸是合成氯喹过程中的中间产物,两者的分子结构具有一定相似性,区别在于氯喹和萘啶酸的 C-7 位分别引入了 Cl 和 Me、氯喹的 8-C 对应于萘啶酸的 8-N(图 1)。由于萘啶酸为第一代喹诺酮药物,其抗菌谱较窄,只对部分革兰氏阴性细菌有一定抑制作用,临床疗效不够理想,且萘啶酸具有一定的毒副作用,因此,未能在临床广泛应用。但其独特的抗菌机制引起诸多研究者的关注,经不断修饰和完善,截至目前已发展到第四代喹诺酮类药物。

1.2 第二代喹诺酮类药物 以氟甲喹和吡哌酸为代表。氟甲喹(flumequine)是第一个在母核 C-6

位引入氟原子的喹诺酮药物,吡哌酸(pipemidic acid)是第一个在 C-7 位引入哌嗪基(碱性含氮六元杂环基团)的喹诺酮药物(图 1)。母核 C-6 位和 C-7 的基团修饰为喹诺酮类药物的后续开发提供了新的思路。与萘啶酸相比,这些修饰显著增强了药物对 DNA 促旋酶活性的抑制,提高了抗菌活性,并拓展了抗菌谱,例如对铜绿假单胞菌等表现抗菌活性,第二代喹诺酮药物主要应用于临床泌尿和消化道细菌性感染的治疗。

1.3 第三代喹诺酮类药物 以诺氟沙星为代表。诺氟沙星(图 1)的合成结合了氟甲喹与吡哌酸的结构特征,是第一个具有 6-氟-7-哌嗪基结构的喹诺酮药物,这种修饰进一步增强了抗菌活性,并拓宽了抗菌谱,不仅对革兰氏阴性细菌,而且还对金黄色葡萄球菌和链球菌等革兰氏阳性细菌,以及衣原体和支原体等病原体具有很好的抑制作用,广泛应用于临床的消化道、呼吸道、泌尿生殖道和创伤性细菌感染治疗。

1.4 第四代喹诺酮类药物 以莫西沙星为代表。莫西沙星(图 1)保留了第三代 C-6 位的氟原子和 C-7 位的 3-氨基吡咯烷基结构,并增加了 C-8 位的甲氧基结构。其毒性更低、抗菌活性更强、抗菌谱更广,且对厌氧菌有较好的抗菌活性,被称为超广谱抗菌药物。

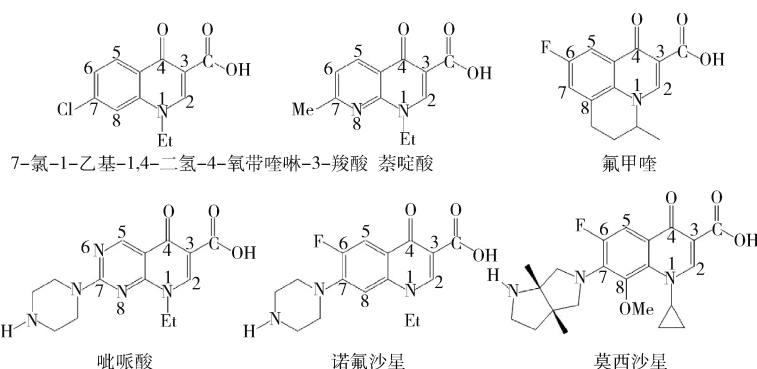


图 1 氯喹及部分喹诺酮类药物分子结构图

Fig 1 Molecular structural formulas of chloroquine and several quinolones

2 喹诺酮类药物抗菌机制

2.1 拓扑异构酶 II 的功能 在细菌 DNA 复制过程中,拓扑异构酶 II 对于调节 DNA 拓扑结构至关重要,细菌拓扑异构酶 II 包括 DNA 促旋酶(gyrase)和拓扑异构酶 IV(topoisomerase IV),绝大多数细菌都同时拥有这两个酶,但有少数细菌例外,如分枝杆菌仅有 DNA 促旋酶^[2]。DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV 都是 A₂B₂ 型的异源四聚体,革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的 DNA 促旋酶均为 GyrA₂GyrB₂,革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的拓扑异构酶 IV 分别为 ParC₂ParE₂ 和 GrlA₂GrlB₂^[3-4]。DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV 与 DNA 结合,使双链 DNA 断裂,从而引入负超螺旋,解除超螺旋 DNA 拓扑张力及复制叉前端超螺旋 DNA 的扭力,随后的基于复制叉的 DNA 半保留不连续复制才能顺利进行,此时,拓扑异构酶 II 的酪氨酸残基与 DNA 断裂形成的 5'末端共价结合,形成酶-断裂 DNA 的共价复合物,DNA 复制完成后,拓扑异构酶 II 再将断裂的双链 DNA 重新连接起来,并在拓扑异构酶 IV 作用下,分配到新生子代细菌细胞中^[5-7]。

2.2 抗菌机制 喹诺酮类药物正是通过抑制拓扑异构酶 II 型的功能,进而阻断 DNA 复制,发挥抑菌作用,DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV 分别于 1977 年和 1990 年确认为喹诺酮类药物的靶酶^[8-9]。

Wohlkonig 等^[10]通过制备并解析莫西沙星-鲍曼不动杆菌拓扑异构酶 IV-断裂 DNA 复合物的晶体结构(图 2),发现药物的 C-3/C-4 酮酸基螯合了非催化金属离子(Mg²⁺),非催化金属离子(Mg²⁺)与 4 个水分子配位,水分子与拓扑异构酶 IV 关键位点氨基酸(Ser84 和 Glu88)形成氢键。通过水-金属离子桥介导,莫西沙星与拓扑异构酶 IV 结合,阻碍酶的正常功能,导致 DNA 无法复制。环丙沙星的作用机制与此相似^[11]。此外,喹诺酮类药物还可以非共价结合于 DNA 促旋酶或拓扑异构酶 IV-断裂 DNA 的缺口处,阻断后续的 DNA 再连接,导致 DNA 永久性断裂^[12]。

3 细菌对喹诺酮类药物的抗性机制

随着喹诺酮类药物的广泛使用,细菌已演化出

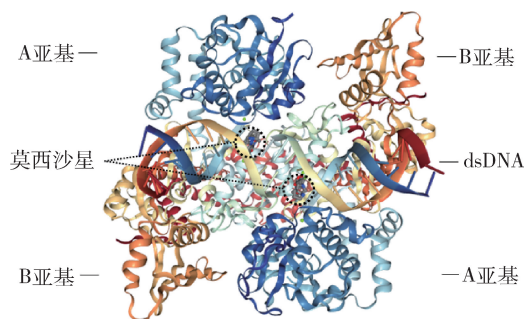


图 2 莫西沙星-鲍曼不动杆菌拓扑异构酶 IV-断裂 DNA 复合物的晶体结构(PBD: 2XKK)
Fig 2 Crystal structure of moxifloxacin in complex with *Acinetobacter baumannii* topoisomerase IV at the DNA cleavage site

针对该类药物的耐药性,其抗性机制主要有基因突变、保护、抗生素修饰等,相应的抗性基因位于染色体或质粒上。

3.1 染色体靶酶的编码基因突变 DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV 最常见的突变位点为锚定水-金属离子桥的丝氨酸和酸性氨基酸残基,突变导致药物与靶酶的结合能力大幅度下降,但不影响靶酶的功能。大肠杆菌 GyrA 的大多数突变都发生在氨基末端区域(Ala67-Gln106),故该区域又被称为 GyrA 的喹诺酮抗性决定区(Determining Region of Quinolone Resistance, QRDR),且最常见的突变位点为 Ser83,其次为 Asp87;其他种类细菌的 GyrA 和 ParC 都有一个等效的丝氨酸和酸性残基,其喹诺酮耐药菌株也常是这些位点发生突变^[13-14]。GyrB 和 ParE 特定区域的氨基酸突变也会导致细菌的喹诺酮耐药,但临床耐药分离株的 GyrB 和 ParE 的突变比 GyrA 和 ParC 的突变少得多^[15]。

3.2 染色体调节蛋白编码基因突变 通过调节蛋白编码基因突变,调节下游抗性基因的转录和表达。

3.2.1 上调下游主动外排系统 主动外排系统是耐药菌中比较常见的耐药机制之一,是细菌细胞内膜上的能量依赖性外排泵蛋白。通过主动外排作用,降低胞内药物浓度,达到减弱或消除药物对细菌细胞的抑制及致死作用。这种类型的抗性机制是通过上游调节蛋白的突变,上调下游主动外排系

统的转录和表达,但外排泵蛋白及其编码基因本身并不发生突变,如调节蛋白 AcrR 的突变上调外排泵 AcrA/AcrB 的表达^[16]。

3.2.2 下调细菌膜孔蛋白表达,降低通透性 细菌以降低细菌膜通透性的方式增强其对抗生素渗透障碍的作用。通过改变跨膜通道孔蛋白(OMP)和脂多糖(LPS)的结构或者数量,阻碍药物进入,对药物产生耐药。例如,NorB、NorC、NfxC、NfxB 和 CfxB 等的突变,下调外膜孔蛋白 OmpF 表达,阻碍药物进入细菌细胞^[17]。

3.3 质粒介导的喹诺酮抗性基因 与染色体抗性基因碱基突变相比,质粒介导的喹诺酮抗性(Plasmid - Mediated Quinolone Resistance, PMQR)水平相对较低,但质粒的水平传播能力强,此外,临床发现喹诺酮抗性质粒上常常会携带其他药物的抗性基因,如广谱 β - 内酰胺酶(Extended Spectrum Beta - Lactamases, ESBL)基因,这可能会导致喹诺酮类药物的使用间接筛选并促进 ESBL 基因传播。截至目前,PMQR 基因大体可分为 3 类。

3.3.1 编码重复五肽家族蛋白的 *qnr* 基因 目前已发现相关的抗性基因有 6 种,即 *qnrA*、*qnrS*、*qnrB*、*qnrC*、*qnrD* 和 *qnrVC*。

qnrA。Martínez 等^[18] 1994 年从阿拉巴马大学一名患者尿液标本中分离到多重耐药菌肺炎克雷伯菌,该菌携带抗性质粒(pMG252),从中克隆到一个长度为 657 bp 的喹诺酮抗性基因,蛋白命名为 QnrA1。

qnrS。2003 年 10 月,日本爱知县发生由福氏志贺菌 2b 引发的食源性肠炎感染事件,2005 年 Hata 等^[19] 从当时收集的临床样本中分离到一株环丙沙星耐药菌株,并从该分离株中分离到一个独特的接合型抗性质粒,该质粒上携带一个编码 218 个氨基酸的环丙沙星抗性蛋白,该蛋白与 QnrA1 仅有 59% 的氨基酸一致性,命名为 QnrS。

qnrB。Jacoby 等^[20] 在调查印度肺炎克雷伯菌耐药性时,发现其中几个分离株所携带质粒能够水平转移低水平的喹诺酮类药物抗性,并从这些质粒中发现一个抗性基因,该抗性基因编码一个由 214

个氨基酸组成的多肽,该多肽与 QnrA 和 QnrS 分别仅有 43% 和 44% 的氨基酸一致性,并命名该基因为 *qnrB*。

qnrC。王明华等^[21] 在研究分离自中国上海的奇异变形杆菌临床分离菌株时,分离到可水平转移低水平喹诺酮抗性的质粒(pHS9),该质粒携带有一个 666 bp 的喹诺酮抗性基因,命名为 *qnrC*。QnrC 分别与 QnrA1、QnrB1、QnrS1 和 QnrD 有 64%、41%、59% 和 43% 的氨基酸序列一致性。

qnrD。Cavaco 等^[22] 从中国河南省的人源肠炎沙门菌分离株中分离到一个小型质粒,该质粒可使大肠杆菌的环丙沙星 MIC 增加 32 倍,且携带一个编码 214 个氨基酸的五肽重复蛋白的基因,命名为 *qnrD*。

qnrVC。Fonseca 等^[23] 于 2008 年首次在霍乱弧菌整合子中发现的一个编码五肽重复多肽的基因,且在其他细菌的整合子或质粒上也有存在。

除了上述首次发现的 *qnr* 抗性基因,后续研究发现它们或多或少都还存在变异体。由这些 *qnr* 基因编码的 Qnr 蛋白主要发挥保护功能,一方面,通过与细菌中游离靶酶结合,减少基因组 DNA 上的结合靶酶数目,从而降低喹诺酮类药物经靶酶与 DNA 的结合几率,保护细菌细胞;另一方面,通过与 DNA 上的靶酶结合,抑制喹诺酮类药物进入靶酶 - 断裂 DNA 复合物,防止 DNA 永久性断裂的发生^[15]。

3.3.2 外排泵蛋白编码基因 *qepA*。Yamane 等从住院患者尿液中的大肠杆菌分离株中,分离到多重耐药质粒 pHPA,该质粒携带一个 511 个氨基酸多肽的编码基因,命名为 *qepA*,QepA 有 14 个跨膜结构域,能使大肠杆菌对萘啶酸、环丙沙星和诺氟沙星的 MIC 值分别增加 2 倍、32 倍和 64 倍^[24]。

oqxAB。Hansen 等从猪粪便样品大肠杆菌分离株中,分离到一个质粒 pOLA52,该质粒上的 *oqxAB* 基因编码一个多药物外排泵,此两个基因通常共转录,提供萘啶酸、环丙沙星、氯霉素等多种药物抗性^[25]。

3.3.3 *aac(6') - Ib* 的突变体 *aac(6') - Ib - cr*

这是一个很有意思的喹诺酮类药物抗性基因, *aac* (6') - *Ib* 是一个氨基糖苷类抗生素的抗性基因, 所编码抗性蛋白 AAC(6') - *Ib* 具氨基糖苷乙酰转移酶功能。 *aac* (6') - *Ib* - *cr* (ciprofloxacin resistance) 本质上是 *aac* (6') - *Ib* 的一个突变体, 其编码区 5' 端增加了 12 个碱基, 编码一个 172 个氨基酸的多肽, 与 AAC(6') - *Ib* 相比, AAC(6') - *Ib* - *cr* 发生了 Trp102Arg 和 Asp179Tyr 两个氨基酸位点的突变, 野生型和突变体的氨基糖苷乙酰转移酶功能均正常, 但是, 突变体 AAC(6') - *Ib* - *cr* 对喹诺酮类药物中的诺氟沙星和环丙沙星具有抗性, 进一步的研究发现, 该突变体酶的作用机制是对哌嗪环上的亚氨基进行乙酰化修饰, 而现有喹诺酮类药物中, 只有诺氟沙星和环丙沙星有此结构^[26]。

喹诺酮类药物是人工合成的抗菌药, 广泛应用于医学临床和畜牧业生产, 细菌必然会演化各种抗性机制, 并通过抗性基因编码的抗性蛋白呈现对喹诺酮类药物的抗性表型, 而抗性基因具垂直和水平传播特性, 因此, 发现并研究新的抗性机制和抗性基因将有助于防控喹诺酮耐药菌。首先, 新的抗性机制的发现往往伴随新的抗性基因的发现, 例如, AAC(6') - *Ib* - *cr* 的发现, 在 Robicsek 等^[26] 发现 AAC(6') - *Ib* - *cr* 的喹诺酮抗性之前, AAC(6') - *Ib* - *cr* 长期被误认为只是氨基糖苷类抗生素的抗性蛋白, 但实际上 AAC(6') - *Ib* - *cr* 可对临床广泛使用的诺氟沙星和环丙沙星进行分子修饰, 降低药效, 表现抗性。其次, 发现新的抗性基因或已有抗性基因的突变体, 将有助于研究这些抗性基因在医学临床、动物生产、食品生产和环境等领域的分布和丰度, 同时结合抗性基因在基因组上的定位, 在染色体上, 还是在质粒上, 将有助于研究相关抗性基因的传播机制, 评估其健康危害和风险。最后, 根据抗性基因的核苷酸序列, 可以利用现代分子生物学手段, 定向破坏抗性基因, 消除特定抗性使其致敏, 并阻断抗性基因的传播, 达到防控耐药菌的目的, 例如, 利用 CRISPR 基因编辑技术, Bikard 等^[27] 靶向破坏金黄色葡萄球菌质粒上的甲氧西林抗性基因 *mecA*, Citorik 等^[28] 靶向破坏肠出血性大

肠杆菌携带的碳青霉烯类抗生素抗性基因 *bla*_{NDM-1}, 国内吉林大学 Dong 等^[29] 靶向破坏大肠杆菌携带的质粒介导的粘菌素抗性基因 *mcr* - 1。抗性基因的溯源、传播机制、风险评估和阻断策略是目前我国防控耐药细菌的几个需要重点关注和研究的问题。

参考文献:

- [1] Leshner G Y, Froelich E J. 1,8 - Naphthyridine Derivatives. A New Class of Chemotherapeutic Agents [J]. J med pharm chem, 1962, 5 (91): 1063 - 1065.
- [2] Gutierrez A, Stokes J M Matic I. Our Evolving Understanding of the Mechanism of Quinolones [J]. Antibiotics, 2018, 7(32): 1 - 8.
- [3] Champoux J J. DNA topoisomerases: Structure, function, and mechanism [J]. Annu Rev Biochem, 2001, 70: 369 - 413.
- [4] Pommier Y, Leo E, Zhang H, et al. DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs [J]. Chem Biol, 2010, 17(5): 421 - 433.
- [5] Tretter E M, Berger J M. Mechanisms for defining supercoiling set point of DNA gyrase orthologs: I. A nonconserved acidic C - terminal tail modulates *Escherichia coli* gyrase activity [J]. J Biol Chem, 2012, 287(22): 18636 - 18644.
- [6] Tretter E M, Berger J M. Mechanisms for defining supercoiling set point of DNA gyrase orthologs: II. The shape of the GyrA subunit C - terminal domain (CTD) is not a sole determinant for controlling supercoiling efficiency [J]. J Biol Chem, 2012, 287(22): 18645 - 18654.
- [7] Schmidt B H, Burgin A B, Dewese J E, et al. A novel and unified two - metal mechanism for DNA cleavage by type II and IA topoisomerases [J]. Nature, 2010, 465(7298): 641 - 644.
- [8] Sugino A, Peebles C L, Kreuzer K N, et al. Mechanism of action of nalidixic acid; Purification of *Escherichia coli* *nalA* gene product and its relationship to DNA gyrase and a novel nicking - closing enzyme [J]. Proc Natl Acad Sci U. S. A, 1977, 74(11): 4767 - 4771.
- [9] Khodursky A B, Zechiedrich E L, Cozzarelli N R. Topoisomerase IV is a target of quinolones in *Escherichia coli* [J]. Proc Natl Acad Sci U. S. A, 1995, 92(25): 11801 - 11805.
- [10] Wohlkonig A, Chan P F, Fosberry A P, et al. Structural basis of quinolone inhibition of type IIA topoisomerases and target - mediated resistance [J]. Nat Struct Mol Biol, 2010, 17(9): 1152 - 1153.

- [11] Aldred K J, McPherson S A, Turnbough C L, *et al.* Topoisomerase IV – quinolone interactions are mediated through a water – metal ion bridge; Mechanistic basis of quinolone resistance [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(8): 4628 – 4639.
- [12] Pohlhaus J R, Kreuzer K N. Norfloxacin – induced DNA gyrase cleavage complexes block *Escherichia coli* replication forks, causing double – stranded breaks *in vivo* [J]. *Mol Microbiol*, 2010, 56 (6): 1416 – 1429.
- [13] Barnard F M, Maxwell A. Interaction between DNA gyrase and quinolones; Effects of alanine mutations at GyrA subunit residues Ser(83) and Asp (87) [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(7): 1994 – 2000.
- [14] Hiasa H. The Glu – 84 of the ParC subunit plays critical roles in both topoisomerase IV – quinolone and topoisomerase IV – DNA interactions [J]. *Biochemistry*, 2002, 41(39): 11779 – 11785.
- [15] Hooper D C, Jacoby G A. Mechanisms of drug resistance; quinolone resistance [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2015, 1354 (1): 12 – 31.
- [16] Poole K. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms [J]. *Ann Med*, 2007, 39(3): 162 – 176.
- [17] Hooper D C. Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance [J]. *Emerg Infect Dis*, 2001, 7(2): 337 – 341.
- [18] Martínez M L, Pascual A, Jacoby G A. Quinolone resistance from a transferable plasmid [J]. *Lancet*, 1998, 351 (9105): 797 – 799.
- [19] 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.
- [20] Jacoby G A, Walsh K E, Mills D M, *et al.* *qnrB*, another plasmid – mediated gene for quinolone resistance [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50 (4): 1178 – 1182.
- [21] Wang M, Guo Q, Xu X, *et al.* New plasmid – mediated quinolone resistance gene, *qnrC*, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53 (5): 1892 – 1897.
- [22] Cavaco L M, Hasman H, Xia S, *et al.* *qnrD*, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53 (2): 603 – 608.
- [23] Fonseca E L, Fernanda D S F. New *qnr* gene cassettes associated with superintegron repeats in *Vibrio cholerae* O1 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14 (7): 1129 – 1131.
- [24] Yamane K, Wachino J, Suzuki S, *et al.* New plasmid – mediated fluoroquinolone efflux pump, *QepA*, found in an *Escherichia coli* clinical isolate [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51 (9): 3354 – 3360.
- [25] Hansen L H, Jensen L B, Sørensen H I, *et al.* Substrate specificity of the *OqxAB* multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60 (1): 145 – 147.
- [26] Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby G A, *et al.* Fluoroquinolone – modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase [J]. *Nature Medicine*, 2006, 12 (1): 83 – 88.
- [27] Bikard D, Euler C, Jiang W Y, *et al.* Development of sequence – specific antimicrobials based on programmable CRISPR – Cas nucleases [J]. *Nat Biotechnology*, 2014, 32 (11): 1146 – 1150.
- [28] Citorik R J, Mimee M, Lu T K, *et al.* Sequence – specific antimicrobials using efficiently delivered RNA – guided nucleases [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(11): 1141 – 1145.
- [29] Dong H S, Xiang H, Mu D, *et al.* Exploiting a conjugative CRISPR/Cas9 system to eliminate plasmid harbouring the *mcr – 1* gene from *Escherichia coli* [J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2019, 53: 1 – 8.

(编辑:侯向辉)