

临床分离志贺菌中质粒介导磷霉素耐药基因的检测

程 跃¹, 梅 清¹, 刘艳艳¹, 程 君¹, 熊自忠¹, 李家斌^{1,2}

摘要 目的 在磷霉素耐药志贺菌中检测质粒介导的磷霉素耐药基因 *fosA*、*fosA3* 和 *fosC2*, 并分析其传播方式。方法

琼脂倍比稀释法测定志贺菌对抗菌药物的最低抑菌浓度 (MIC)。在磷霉素耐药菌株中利用聚合酶链式反应 (PCR) 检测其质粒介导的磷霉素耐药基因 *fosA*、*fosA3* 和 *fosC2*。对阳性扩增产物进行测序分析并对阳性菌株进行接合试验, 采用琼脂倍比稀释法测定接合子对 12 种抗菌药物的 MIC 值, PCR 法检测接合子质粒介导磷霉素耐药基因, 肠杆菌科基因间的重复序列 PCR (ERIC-PCR) 法对阳性菌株进行同源性分析。结果 263 株志贺菌中磷霉素耐药 25 株、中介 7 株, 耐药率为 9.5%。PCR 结果显示 18 株磷霉素耐药志贺菌 *fosA3* 阳性 (基因登录号为 KJ716852), 阳性率为 6.8%, 未检出 *fosA* 和 *fosC2*。18 株 *fosA3* 阳性株中, 13 株结合成功, 与受体菌相比, 结合子对磷霉素的 MIC 值明显提高, ERIC-PCR 法证实部分 *fosA3* 阳性志贺菌具有同源性。结论 首次在临床分离的志贺菌中检测到质粒介导的磷霉素耐药基因 *fosA3*, 虽然目前检出率不高, 但其传播可造成磷霉素耐药性的扩散, 需要加强监测。

关键词 志贺菌; 磷霉素; 质粒; 基因

中图分类号 R 378.2+5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2015)04-0441-05

磷霉素是一种广谱杀菌药, 通过抑制细菌细胞壁合成的第一步而起到杀菌作用。国外磷霉素主要用于治疗非复杂性下尿路感染, 而在我国磷霉素还被用于治疗肠道感染^[1-2]。目前志贺菌对磷霉素保持着极高的敏感率, 但已有少量对磷霉素耐药的志贺菌在多地区出现^[3-4], 阐明这些细菌对磷霉素的耐药机制并及时采取有效措施对保护磷霉素的敏感性和预防耐药菌传播都具有重要意义。目前国内外均未见关于志贺菌对磷霉素耐药机制的研究报道, 志贺菌中由染色体介导的磷霉素耐药机制尚不明确, 但由于质粒介导的耐药基因可在不同细菌间相

互转移^[5], 因此, 同为肠杆菌科细菌的志贺菌可能从其他类型肠杆菌科细菌中 (如大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌等) 获得质粒介导的磷霉素耐药基因。该研究对临床分离的 263 株志贺菌进行耐药性分析, 在磷霉素耐药的志贺菌中检测质粒介导的磷霉素耐药基因, 明确耐药基因的种类以及分析其传播方式。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 收集安徽省细菌耐药监测中心 2011 年 9 月 ~ 2012 年 10 月临床标本中分离的非重复志贺菌 263 株。所有菌株由全自动微生物分析仪 (MicroScan Walk A Way-40) 和血清玻片凝集试验鉴定。质控菌株大肠埃希菌 ATCC25922, 转移接合试验受体菌大肠埃希菌 J53AZ^R 以及 *fosA*、*fosA3* 和 *fosC2* 基因阳性标准株均为安徽省细菌耐药监测中心保存菌株。

1.1.2 仪器 PCR 仪 (德国 Biometra 公司); 细菌比浊仪 (英国 Oxoid 公司); 多点接种仪 (英国 AQS-Manufacturing 公司); 小型离心机 (美国 Thermo 公司); 凝胶成像系统 (上海天能科技有限公司); 电泳仪和电泳槽 (北京市六一仪器厂)。

1.1.3 实验药物 哌拉西林/他唑巴坦 (惠氏制药有限公司); 头孢哌酮/舒巴坦 (辉瑞制药有限公司); 头孢噻肟、头孢他啶 (华北制药河北华民药业有限公司); 头孢曲松 (上海罗氏制药有限公司); 庆大霉素、阿米卡星 (上海中西制药有限公司); 环丙沙星 (广州南新制药有限公司); 左氧氟沙星 (扬子江药业集团有限公司); 磷霉素钠 (哈药集团三精制药股份有限公司); 氯霉素 (上海现代哈森商丘药业有限公司); 亚胺培南 (默沙东制药有限公司)。

1.1.4 试剂 Taq 酶、10 × 缓冲液、三磷酸脱氧核糖核苷、DNA Marker 均购自宝生物工程 (大连) 有限公司; M-H 琼脂购自英国 Oxoid 公司; 6-磷酸葡萄糖购自美国 Sigma 公司; 麦康凯琼脂购自杭州天和微生物试剂有限公司; 志贺菌鉴定多价血清购自兰州生物制品研究所。

1.2 方法

1.2.1 药敏试验 采用琼脂倍比稀释法测定 263

2014-12-10 接收

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金 (编号: KJ2011A180); 安徽省教育厅自然科学基金 (编号: KJ2012A177)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院感染病科, 合肥 230022

² 安徽省细菌耐药监测中心, 合肥 230022

作者简介: 程 跃, 男, 硕士研究生;

李家斌, 男, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: lijiaabin948@vip.sohu.com

株受试菌对上述 12 种抗菌药物的最低抑菌浓度 (the minimal inhibitory concentration, MIC), 测定磷霉素 MIC 时, 琼脂平板中加入 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 6-磷酸葡萄糖, 操作方法及药敏结果判读参照 2012 年 CLSI 标准^[4]。质控菌为 ATCC25922。

1.2.2 细菌 DNA 模板制备 挑取纯培养菌落于内置双蒸水 800 μl 的 1.5 ml 离心管中, 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 12 min, 离心 (12 000 r/min) 8 min, 取上清液, -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.2.3 PCR 检测耐药基因 参照文献^[5] 设计 fosA、fosA3 和 fosC2 的引物, 引物由上海生工生物工程有限公司合成。利用文献^[6] 报道的引物与反应条件在磷霉素耐药志贺菌中检测 fosA、fosA3 和 fosC2。PCR 阳性产物送上海生工生物工程有限公司进行 DNA 双向测序并拼接测序结果, 测序结果在 GenBank 中经 BLAST 程序分析比对。见表 1。

表 1 PCR 扩增引物序列

基因	引物序列(5'→3')	退火温度 ($^{\circ}\text{C}$)	片段长度 (bp)
fosA3	F: GCGTCAAGCCTGGCATTT	53.0	282
	R: GCCGTCAGGTCGAGAAA		
fosA	F: ATCTGTGGGCTGCGTGTCT	59.5	271
	R: ATGCCCGCATAGGCTTCT		
fosC2	F: TGGAGGCTACTTGGATTG	50.0	217
	R: AGGCTACCGCTATGGATT		

1.2.4 接合试验 以 fosA3 阳性志贺菌为供体菌, 大肠埃希菌 J53AZ^R 为受体菌。用含磷霉素 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 和叠氮钠 (200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 的麦康凯琼脂平板为选择平板进行接合试验, 选择平板上长出的红色细小菌落即为接合子。接合子在选择平板上传代 3 次后, 琼脂倍比稀释法测定结合子的 MIC, PCR 法检测质粒介导的磷霉素耐药基因。

1.2.5 同源性分析 参照文献^[7], 采用肠杆菌科基因间的重复序列 PCR (enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR, ERIC-PCR) 法对质粒介导的磷霉素耐药基因阳性志贺菌进行同源性分析, 利用软件 Quantity One 4.5 进行相似性分析得出菌株间相似性聚类图, 凡相似度值 > 85% 者为同一亚型^[8], 代表同一克隆株; < 85% 者为不同的基因型, 代表不同的克隆株。

2 结果

2.1 药敏分析 263 株志贺菌对磷霉素的耐药率为 9.5%, 中介率为 2.7%。在 12 种受试药物中氯

霉素的耐药率最高达到 87.8%, 亚胺培南的敏感率最高达到 100%, 哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦的敏感率分别为 99.2% 和 97.0%, 仅次于亚胺培南。头孢他啶、头孢噻肟、头孢曲松、左氧氟沙星和环丙沙星的敏感率分别为 72.2%、50.6%、52.5%、60.5% 和 64.3%, 氨基糖苷类抗菌药物中的阿米卡星和庆大霉素的敏感率较高分别是 95.0% 和 61.6%。见表 2。

表 2 263 株临床分离志贺菌属对 12 种抗菌药物的耐药率

抗菌药物	中介菌数 (n)	中介率 (%)	耐药菌数 (n)	耐药率 (%)
CSL	8	3.0	0	0
TZP	2	0.8	0	0
CAZ	46	17.5	27	10.3
CHL	4	1.5	223	84.8
CRO	20	7.6	105	39.9
CTX	25	9.5	105	39.9
LVX	63	23.9	41	15.6
CIP	14	5.3	80	30.4
GEN	11	4.2	90	34.2
AMK	1	0.4	12	4.5
IPM	0	0	0	0
FOM	7	2.7	25	9.5

TZP: 哌拉西林/他唑巴坦; CAZ: 头孢他啶; CHL: 氯霉素; CRO: 头孢曲松; LVX: 左氧氟沙星; CIP: 环丙沙星; GEN: 庆大霉素; CTX: 头孢噻肟; CSL: 头孢哌酮/舒巴坦; AMK: 阿米卡星; FOM: 磷霉素; IPM: 亚胺培南

2.2 磷霉素耐药基因检测 25 株磷霉素耐药志贺菌中的 18 株 PCR 扩增出大小为 282 bp 的基因片段。见图 1。经测序比对确定为 fosA3 (基因注册号为 KJ716852)。fosA3 在 263 株临床分离志贺菌的检出率为 6.8% (18/263), 磷霉素耐药菌株中 fosA3 检出率为 72% (18/25)。未检出 fosA 和 fosC2 基因。

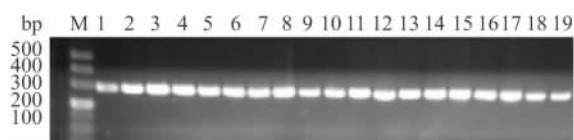


图 1 PCR 扩增 18 株临床分离志贺菌 fosA3 片段电泳图

M: DNA Marker DL500; 1~18: fosA3 扩增阳性菌株; 19: 阳性对照株

2.3 接合实验 18 株 fosA3 阳性志贺菌中 13 株与 J53AZ^R 接合成功, 接合子鉴定为大肠埃希菌, 经 PCR 扩增及测序证实 13 株接合子均携带 fosA3 基因。见图 2。接合子的磷霉素 MIC 值与受体菌

J53AZ^R 相比均有数千倍的提高,接合子的 MIC 均 >1 024 $\mu\text{g/ml}$ 。临床株、接合子和受体菌的 MIC 值。见表 3、4。

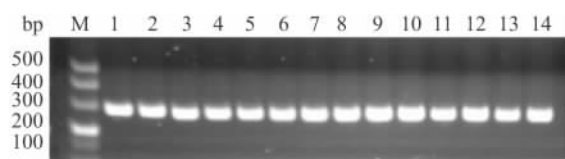


图2 PCR扩增13株结合子 fosA3 片段电泳图

M:DNA Marker DL1000;1~13:fosA3 扩增阳性结合子;14:阳性对照株

2.4 ERIC-PCR 分析 18 株 fosA3 阳性志贺菌经 ERIC-PCR 反应,得到清晰指纹图谱,其条带数最多为 12 条。见图 3。利用 Quantity One 4.5 进行相似性分析得到相似性类聚图。见图 4。可见 18 株 fosA3 阳性志贺菌中相似度值 >85% 的有 2164 与 22106、152 与 1175、1171 与 1117 以及 1120、1139 与 1189,所以 2164 和 22106 为同一克隆株、152 和 1175 为同一克隆株、1171 和 1117 为同一克隆株以及 1120、1139 和 1189 三者为同一克隆株,18 株 fosA3 阳性志贺菌可被分为 13 个克隆株。

表3 fosA3 阳性志贺菌对 12 种药物的 MIC 值($\mu\text{g/ml}$)

菌株编号	CHL	CRO	LVX	CIP	CAZ	CTX	GEN	FOM	AMK	CSL	TZP	IPM
1145	128	256	2	2	32	512	1	256	<2	8	8	0.50
1224	64	64	2	4	4	64	1	256	<2	<2	<4	<0.25
1139	32	64	2	4	8	64	8	256	<2	<2	8	<0.25
2164	32	128	2	2	16	128	1	>2 048	<2	8	8	<0.25
1171	64	64	2	2	<1	64	1	256	8	4	<4	<0.25
1201	64	64	2	2	8	128	>128	256	>512	<2	<4	<0.25
152	64	128	2	2	<1	128	16	256	32	8	8	0.50
2196	64	64	2	4	8	64	>128	512	64	8	8	0.50
2470	64	128	8	16	16	128	>128	512	128	16	16	<0.25
22150	64	256	0.5	2	16	256	64	256	128	4	8	<0.25
22106	64	256	2	8	16	256	128	512	64	16	8	<0.25
2176	64	32	2	2	<1	16	1	512	<2	4	8	<0.25
2169	64	128	2	4	8	64	2	512	<2	<2	<4	0.50
1120	64	64	2	2	4	128	1	256	<2	4	8	0.25
1183	64	64	2	2	4	128	1	256	<2	<2	<4	<0.25
1189	64	64	2	2	4	128	1	256	<2	4	<4	<0.25
1175	64	64	2	4	8	64	2	256	4	<2	8	<0.25
1171	64	64	2	2	<1	64	1	256	8	4	<4	0.50

TZP:哌拉西林/他唑巴坦;CAZ:头孢他啶;CHL:氯霉素;CRO:头孢曲松;LVX:左氧氟沙星;CIP:环丙沙星;GEN:庆大霉素;CTX:头孢噻肟;CSL:头孢哌酮/舒巴坦;AMK:阿米卡星;FOM:磷霉素;IPM:亚胺培南

表4 接合子和受体菌对 11 种药物的 MIC 值($\mu\text{g/ml}$)

菌株编号	CHL	CRO	LVX	CIP	CAZ	CTX	GEN	FOM	AMK	CSL	TZP	IPM
T1145	8	128	<0.25	<0.125	8	128	<0.5	1 024	<2	8	<4	<0.25
T1224	8	64	<0.25	<0.125	4	32	<0.5	2 048	<2	8	<4	<0.25
T1139	8	64	<0.25	<0.125	4	32	<0.5	>2 048	<2	<2	<4	<0.25
T2164	8	128	<0.25	<0.125	8	128	4	>2 048	<2	8	<4	<0.25
T1171	256	64	<0.25	<0.125	<1	64	<0.5	2 048	<2	8	<4	<0.25
T1201	256	64	<0.25	<0.125	4	64	64	>2 048	256	<2	<4	<0.25
T152	8	128	<0.25	<0.125	2	64	<0.5	1 024	<2	32	<4	<0.25
T2196	8	64	<0.25	<0.125	4	64	4	>2 048	<2	4	8	<0.25
T2470	≤ 4	128	<0.25	<0.125	16	256	4	1 024	<2	32	<4	<0.25
T22150	8	128	1	2	4	64	8	>2 048	<2	4	8	<0.25
T22106	8	128	2	2	4	128	8	2 048	<2	4	<4	<0.25
T2176	8	16	<0.25	<0.125	<1	16	<0.5	>2 048	<2	8	<4	<0.25
T2169	8	64	<0.25	<0.125	4	64	<0.5	1 024	<2	<2	<4	<0.25
J53AZ	2	<0.5	<0.125	<0.062 5	<1	1	0.5	<8	<2	<2	<4	<0.25

TZP:哌拉西林/他唑巴坦;CAZ:头孢他啶;CHL:氯霉素;CRO:头孢曲松;LVX:左氧氟沙星;CIP:环丙沙星;GEN:庆大霉素;CTX:头孢噻肟;CSL:头孢哌酮/舒巴坦;AMK:阿米卡星;FOM:磷霉素;IPM:亚胺培南

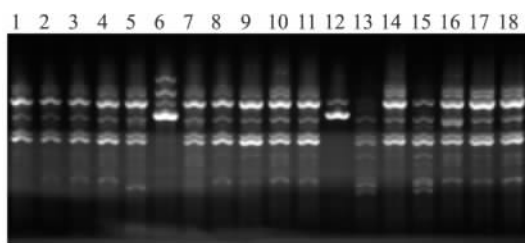


图3 fosA3 阳性志贺菌 ERIC-PCR 指纹图

1~18: 菌株 1120、152、1175、1201、1183、1224、1139、1171、1145、1189、1117、2196、2470、22150、2169、2176、2164、22106

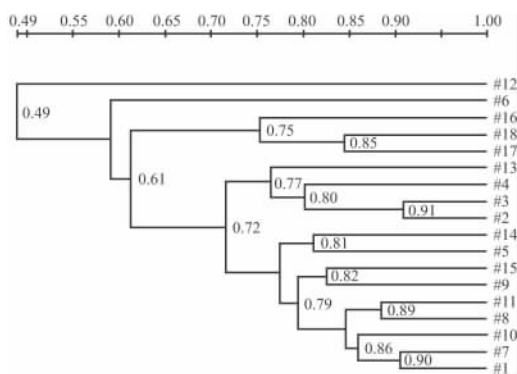


图4 18 株 fosA3 阳性志贺菌相似性类聚图

#1~#18: 菌株 1120、152、1175、1201、1183、1224、1139、1171、1145、1189、1117、2196、2470、22150、2169、2176、2164、22106

3 讨论

志贺菌引起的细菌性痢疾严重影响着人类的健康,有效的抗菌药物治疗是治疗的关键。喹诺酮类药物和三代头孢是治疗细菌性痢疾的首选,本组志贺菌对喹诺酮类药物和三代头孢的敏感率为 45.5%~72.2%,与安徽省 2005 年志贺菌耐药性监测^[9] 结果相似,可见喹诺酮类药物和三代头孢作为治疗志贺菌感染的首选药物正在逐渐失去优势;氨基糖苷类药物由于体内对志贺菌无效和较强的毒副作用,故并不适用于临床治疗细菌性痢疾;亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦和哌拉西林/他唑巴坦虽然对志贺菌敏感率极高,但昂贵的价格限制了这些药物在临床上的广泛应用。本研究药敏结果显示本组细菌对磷霉素的敏感率为 87.5%,高于三代头孢和喹诺酮类药物的敏感率。磷霉素还是一种价格低廉、毒副作用低的药物,因此磷霉素适合被广泛用于治疗细菌性痢疾,尤其是儿童痢疾患者。

本研究首次尝试在 25 株对磷霉素耐药志贺菌中检测其他肠杆菌科细菌中报道较多的质粒介导磷霉素耐药基因 *fosA*、*fosA3* 和 *fosC2*^[7,10]。结果显示 25 株磷霉素耐药志贺菌中的 18 株检测到 *fosA3*,未

检测到 *fosA* 和 *fosC2*。*fosA3* 基因是 2009 年由日本学者 Wachino et al^[11] 首次在大肠埃希菌中发现。*fosA3* 编码的磷霉素修饰酶 FosA3 是一种 Mn^{2+} 和 K^{+} 依赖的谷胱甘肽转移酶,通过催化谷胱甘肽与磷霉素形成复合物导致磷霉素失效,引起耐药^[12]。目前 *fosA3* 仅在大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中被发现^[13]。本研究首次在志贺菌中检测到 *fosA3* 基因,表明 *fosA3* 同样流行于志贺菌中,其流行范围在扩大,需要引起足够关注。本研究在磷霉素耐药志贺菌中仅检测到 *fosA3*,其阳性率达到 72%,提示 *fosA3* 可能是引起志贺菌对磷霉素耐药的主要机制。*fosA3* 阳性志贺菌的 MIC 值介于 256~2 048 $\mu\text{g/ml}$,而携带 *fosA3* 的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的 MIC 值也 > 256 $\mu\text{g/ml}$ ^[14],表明 *fosA3* 可以导致细菌对磷霉素高度耐药。

对 18 株 *fosA3* 阳性志贺菌进行了接合实验,其中的 13 株接合成功,接合成功率为 72.2%,提示 *fosA3* 极易随着质粒在细菌间传播。有报道^[13-14] 显示 *fosA3* 常与其他耐药基因(如 *bla*CTX-M、*rmtB*、*bla*TEM 等)位于同一质粒上共同传播引起细菌多重耐药。接合试验结果显示 12 株志贺菌同时将头孢噻肟、头孢曲松的耐药性水平转移给受体菌,提示志贺菌中 CTX-M 与 *fosA3* 可能位于一个质粒上共同传播;1 株志贺菌同时将氯霉素、磷霉素、头孢噻肟、头孢曲松、阿米卡星和庆大霉素的耐药性转移给受体菌,这些药物的耐药基因是否位于一个质粒上共同传播有待进一步研究。ERIC-PCR 法结果显示 18 株 *fosA3* 阳性志贺菌可被分成 13 个克隆株,部分菌株属于同一克隆株,提示在本地区可能存在 *fosA3* 阳性志贺菌克隆传播,因此加强传播源和传播途径的控制尤为重要。

本研究首次在志贺菌中检测到质粒介导的磷霉素耐药基因 *fosA3*,并证明其有水平传播和克隆传播的特性,需加强监测。本研究中 7 株志贺菌虽然对磷霉素耐药但其质粒介导的磷霉素耐药基因检测阴性,推测可能存在染色体介导的磷霉素耐药机制,对其耐药机制的研究将是下一步工作的重点。

参考文献

- [1] 邓 琴,邱瑞清. 磷霉素治疗小儿细菌性痢疾 168 例临床分析 [J]. 国际医药卫生导报,2006,12(4):72-3.
- [2] 俞信光. 磷霉素治疗急性细菌性痢疾 80 疗效观察 [J]. 中国抗生素杂志,1999,24(5):393-4.
- [3] 刘立明,曲 芬,崔恩博,等. 2005~2006 年北京地区肠道致病菌的分布及耐药状况 [J]. 中国抗生素杂志,2007,32(12):

- 745-7.
- [4] 朱德妹,汪复,胡付品,等. 2010年中国 CHINET 细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2011,9(5):321-9.
- [5] 胡立芬,程君,李家斌,等. 安徽省志贺菌属菌群分布及耐药性研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2007,17(2):218-20.
- [6] CLSI. (2012a). CLSI Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. Twenty second informational supplement M100-S22 2012,32(3).
- [7] Hou J, Huang X, Deng Y, et al. Dissemination of the fosfomycin resistance gene fosA3 with CTX-M β -lactamase genes and rmtB carried on IncFII plasmids among *Escherichia coli* isolates from pets in China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012,56(4):2135-8.
- [8] 王小妮,魏殿军,张坚磊,等. 天津地区志贺菌属产超广谱 β 内酰胺酶及其基因型的检测 [J]. 中华传染病杂志, 2012,30(2):71-5.
- [9] Kosek M, Yori P P, Gilman R H, et al. Facilitated molecular typing of shigella isolates using ERIC-PCR [J]. Am J Trop Med Hyg, 2012,86(6):1018-25.
- [10] Lee S Y, Park Y J, Yu J K, et al. Prevalence of acquired fosfomycin resistance among extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Korea and IS26-composite transposon surrounding fosA3 [J]. J Antimicrob Chemother, 2012,67(12):2843-7.
- [11] Wachino J, Yamane K, Suzuki S, et al. Prevalence of fosfomycin resistance among CTX-M-producing *Escherichia coli* clinical isolates in Japan and identification of novel plasmid-mediated fosfomycin modifying enzymes [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010,54(7):3061-4.
- [12] Arca P, Rico M, Braña A F, et al. Formation of an adduct between fosfomycin and glutathione: a new mechanism of antibiotic resistance in bacteria [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1988,32(10):1552-6.
- [13] He L, Partridge S R, Yang X, et al. Complete nucleotide sequence of pHN7A8, an F33A-B-type epidemic plasmid carrying blaCTX-M-65, fosA3 and rmtB from China [J]. J Antimicrob Chemother, 2013,68(1):46-50.
- [14] Sun H, Li S, Xie Z, et al. A novel multidrug resistance plasmid isolated from an *Escherichia coli* strain resistant to aminoglycosides [J]. J Antimicrob Chemother, 2012,67(7):1635-8.

Detection plasmid-mediated fosfomycin resistance genes in clinical isolated shigella

Cheng Yue, Mei Qing, Liu Yanyan, et al

(Dept of Infectious Disease, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate plasmid-mediated fosfomycin resistance genes fosA, fosA3 and fosC2 in fosfomycin resistance shigella and analyze its mode of transmission. **Methods** Antimicrobial susceptibility testing was performed by agar dilution method. Using polymerase chain reaction (PCR) to detect the plasmid-mediated fosfomycin resistance genes fosA, fosA3 and fosC2 in fosfomycin resistance strains. DNA sequencing of gene-positive strains were analyzed and the conjugation experiment was performed. The minimal inhibitory concentration (MIC) of recipient strains and transconjugants were tested by agar dilution method for fosfomycin and other antimicrobial agents. Plasmid-mediated fosfomycin resistance genes in transconjugants were determined by PCR, enterobacterial intergenic consensus PCR (ERIC-PCR) was employed to understand the molecular homology of the fosA3-positive isolates. **Results** In 263 strains of shigella, resistance to fosfomycin was 25, intermediate resistance to fosfomycin was 7, resistance rate was 9.5%. PCR results showed that 18 drug-resistant strains fosA3 positive (GenBank accession numbers of fosA3 is KJ716852), positive rate was 6.8%, no fosA and fosC2 gene was detected. The conjugation experiments were successfully carried out in 13 PCR-positive isolates. The MIC of transconjugants against fosfomycin increased differently compared to recipient strains. The homology of partly fosA3-positive isolates was confirmed by ERIC-PCR. **Conclusion** The plasmid-mediated fosfomycin resistance gene fosA3 is first detected in clinical isolates of shigella, although the plasmid-mediated fosfomycin resistance genes are lowly prevalent in clinical isolates of shigella, but these resistance genes can lead to the characteristic fosfomycin resistance transfer, which indicates that more attention should be paid to this phenomenon.

Key words shigella; fosfomycin; plasmid; genes