



Research
Animal Disease Research—Article

2014—2016 年食品动物源 RE-cmeABC 阳性弯曲菌流行与耐药性现状

刘德俊, 刘蔚雯, 李星, 姚红, 沈张奇, 汪洋, 沈建忠*

Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 March 2019

Revised 30 August 2019

Accepted 10 October 2019

Available online 1 November 2019

关键词

RE-cmeABC

弯曲菌

环丙沙星

氟苯尼考

摘要

弯曲菌是引起人类胃肠炎的一类重要食源性致病菌。RE-CmeABC是近年来弯曲菌中新发现的一种增强型耐药外排泵,可介导对兽医和人医临床治疗弯曲菌感染的重要药物,如氟喹诺酮类、酰胺醇类、大环内酯类及四环素类等药物的高水平耐药,而目前尚未有对该外排泵的大范围流行病学调查。因此,本研究调查了2014—2016年连续三年间我国山东、上海和广东等三个重点养殖区食品动物源RE-cmeABC阳性弯曲菌的流行与耐药性现状。结果显示,在1088株弯曲菌(931株结肠弯曲菌与157株空肠弯曲菌)中共检测出122株(11.2%)RE-cmeABC阳性菌株,包括111株(70.7%)空肠弯曲菌与11株(1.2%)结肠弯曲菌,空肠弯曲菌中RE-cmeABC的阳性率显著高于结肠弯曲菌。111株RE-cmeABC阳性空肠弯曲菌与46株RE-cmeABC阴性空肠弯曲菌相比在氟苯尼考、克林霉素和红霉素的耐药率上具有显著差异($P < 0.05$),而在环丙沙星、四环素和庆大霉素的耐药率上无显著差异。然而,携带RE-cmeABC的菌株可以使环丙沙星与四环素对弯曲菌的MIC值分布趋于更高水平范围。脉冲场凝胶电泳分型(PFGE)结果显示RE-cmeABC阳性菌株在上海和广东地区以水平传播为主,在山东地区以克隆传播为主;三株分离于上海和广东的阳性菌为同一克隆型,4株分离于上海和山东的阳性菌为同一克隆型。本研究表明RE-cmeABC已在我国食品动物源弯曲菌中广泛流行,对公共卫生安全具有潜在威胁。

© 2019 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 综述

弯曲菌是一种嗜热型的革兰氏阴性菌,是全球引起弯曲菌病这一食源性疾病的主要病原[1,2]。空肠弯曲菌和结肠弯曲菌是弯曲菌属中引起人类胃肠炎最主要的种[3]。此外,空肠弯曲菌还是引起格林巴利综合征(GBS)与米勒费雪症候群(MFS)的主要诱因[2]。家禽、被污染的水、生牛奶都是其常见的感染源[4],由于鸡的肠道是弯曲菌最适宜生存的环境,因此,鸡是弯曲菌最

主要的宿主,并在其感染人类的过程中扮演非常重要的角色[5]。

通常,弯曲菌感染具有自限性,不需要临床治疗,只需补充营养物质保证水和电解质的平衡即可[6]。而对于有获得性免疫缺陷综合征(AIDS)、症状严重或者发生肠道外感染的病患则需进行抗菌药物治疗[6]。氟喹诺酮类药物和大环内酯类药物是治疗弯曲菌感染的首选药物[7],四环素和庆大霉素则通常治疗弯曲菌引起的全身性感染[7]。然而,由于抗菌药物的广泛使用,

* Corresponding author.

E-mail address: sjz@cau.edu.cn (J. Shen).

弯曲菌的耐药性问题（如环丙沙星和阿奇霉素耐药性）已成为人医和兽医临床上的重要挑战。2017年欧盟细菌耐药性与人畜共患病报告结果显示，57.7%的空肠弯曲菌与63.5%的结肠弯曲菌已对环丙沙星产生耐药[8]。美国国家肠道细菌耐药性监测系统（NARMS）结果显示，人源结肠弯曲菌对环丙沙星的耐药率由2012年的34%上升至2015年的40%，鸡源空肠弯曲菌对环丙沙星的耐药率也维持在22%~28%（2012—2015年）[9]。因此，2013年美国疾病预防控制中心已将耐药弯曲菌列为危害公共卫生安全的重要威胁[10]。世界卫生组织也将氟喹诺酮耐药弯曲菌列为病原优先级2级（高度威胁）[11]。

与美国和欧洲不同的是，我国仍旧缺乏一个完善的弯曲菌耐药性监测网络。研究表明，部分地区分离的弯曲菌对环丙沙星的耐药率已达到较高水平，如江苏（85.2%）[12]、北京（87.5%）[13]、深圳（89.7%）[14]以及上海（97.4%）[15]。此外，一项对2008—2014年五个省市的弯曲菌耐药性调查研究表明，肉鸡与生猪中分离的弯曲菌对环丙沙星的耐药率已达到100%，表明环丙沙星在这些地区已无法用于弯曲菌的治疗[16]。

弯曲菌对氟喹诺酮类药物的耐药机制主要包括DNA促旋酶A亚基GyrA中氟喹诺酮耐药决定区的位点突变以及由三部分组成的多重耐药外排泵CmeABC [17,18]。CmeABC属于耐药结节化细胞分化家族（RND），包括一个胞质融合蛋白（CmeA）、一个内膜药物转运蛋白（CmeB）以及一个外膜蛋白（CmeC）[19]。作为弯曲菌的一种重要的外排泵，CmeABC可以泵出对细菌有害的各种物质，其中包括多种类型的抗生素，如氟喹诺酮类、酰胺醇类、大环内酯类、四环素类等[20]。近期，有研究发现了一种新型的CmeABC变异体，命名为RE-CmeABC [21]，通过基于局部比对算法的搜索工具（BLAST）发现，该变异体中的CmeB与野生型的CmeB只有80.5%~81.2%的氨基酸同源性，功能性研究发现其可以提高多种药物的耐药水平。尤为重要的是，RE-CmeABC不仅可以在药物压力下提高弯曲菌中GyrA中氟喹诺酮耐药决定区位点的突变频率，还可与gyrA突变协同介导对环丙沙星的高水平耐药[最小抑菌浓度（MIC） $\geq 128 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$] [21]。

自2014年首次发现RE-*cmeABC*以来，尚未有对其大范围的流行病学调查报道。因此本研究调查了2014—2016年连续三年间我国的山东、上海和广东等三个重点养殖区养殖场与屠宰场分离的RE-*cmeABC*阳性弯曲菌的流行与耐药性现状。

2. 材料与方法

2.1. RE-*cmeABC* 阳性弯曲菌的分离鉴定、基因与耐药突变筛选

本研究调查了2014—2016年连续三年间我国山东、上海和广东等三个重点养殖区食品动物源RE-*cmeABC*阳性弯曲菌的流行趋势。我们复苏了1088株弯曲菌（931株结肠弯曲菌与157株空肠弯曲菌），其中，2014年的部分菌株先前已经报道[21]。这些菌株由本实验室年度的动物源细菌耐药性监测计划采集，主要来源于猪和鸡的肠内容物、粪便和肉。首先，所有菌株划线接种于MH（Sigma-Aldrich, Inc., USA）平板上，置于42℃微需氧条件下（5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂）生长18~24 h。随后使用RE-*cmeBF*（5'-CGTATTGCACGAT-TATTTG GAC-3'）和RE-*cmeBR*（5'-ATCGTTATCAAAC-CCTCTAT GTGCC-3'）引物检测RE-*cmeB*基因的存在。为了验证环丙沙星高水平耐药是否与DNA解旋酶基因gyrA点突变和RE-*cmeABC*相关，运用多重错配扩增突变试验聚合酶链反应（multiplexmismatch amplification mutation assay-polymerase chain reaction, MAMA-PCR）以检测gyrA单位点突变的流行情况（C-257 to T）[22]。

2.2. 药物敏感性测试

对所有弯曲菌按照临床试验标准研究所（CLSI）M45（2016）推荐的琼脂稀释法测定其对临床常用抗菌药物的敏感性，受试药物如下：庆大霉素、红霉素、环丙沙星、四环素和克林霉素[23]。CLSI未设定弯曲菌在琼脂稀释法测定中氟苯尼考的耐药折点，因此在本研究中选择参照NARMS推荐的标准展开试验[24]。空肠弯曲菌ATCC 33560作为质控菌株。

2.3. 分子分型

97株携带RE-*cmeABC*的代表性菌株用于脉冲场凝胶电泳分型（PFGE），仪器型号为CHEF-DR III，试验方法参考弯曲菌PFGE标准方法进行[25]。弯曲菌的总DNA经SmaI酶切，沙门菌H9812作为Marker，经XbaI酶切。凝胶电泳结果分析软件为InfoQuest FP 4.5（Bio-Rad Laboratories, Inc., USA）。

2.4. 数据收集与统计学分析

流行病学数据整理与分析（包括95%置信区间计算）由Excel 2016（Microsoft, USA）完成。RE-*cmeABC*、弯曲

菌及MIC耐药水平的单变量分析由Prism 7.0 (GraphPad Software, USA)完成, 以 $P \leq 0.05$ 为差异显著。用比值比 (OR) 检验RE-*cmeABC*阳性菌株数与各变量之间的相关性。用 χ^2 或Fisher精确检验以判定上述比率之间的差异。

3. 结果与讨论

3.1. 弯曲菌中 RE-*cmeABC* 的流行

1088株弯曲菌中共筛选到122株 (11.2%, 95% CI: 9.4~13.2) RE-*cmeABC*阳性菌株, 所有菌株均分离自鸡。122株阳性菌株包括111株 (111/157, 70.7%, 95% CI: 62.9~77.7) 空肠弯曲菌与11株 (11/931, 1.2%, 95% CI: 0.6~2.1) 结肠弯曲菌。RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌的流行率显著高于RE-*cmeABC*阳性结肠弯曲菌 (70.7% vs. 1.2%, $P < 0.0001$) [图1 (a)], 与2012—2014年报道的趋势相似[21]。另外, RE-*cmeABC*在空肠弯曲菌中的阳性率由2012—2014年的34.7% (189/544) 上升至2014—2016年的70.7% (111/157) ($P < 0.0001$), 而结肠弯曲菌中的阳性率则由3.2% (47/1458) 降至1.2% (11/931) ($P < 0.0001$)。上述结果表明RE-*cmeABC*的主要宿主已逐渐集中于空肠弯曲菌, 空肠弯曲菌已成为RE-*cmeABC*的最主要携带种属。由于家禽是空肠弯曲菌的主要宿主, 这也在一定程度上解释了RE-*cmeABC*为何均分离自鸡[26]。由于RE-*cmeABC*阳性结肠弯曲菌数量较少, 无法得到较为可信的统计学结果, 因此我们重点比较不同年份间三地区RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌的流行与耐药特征。

图1 (a) 显示了RE-*cmeABC*阳性弯曲菌每年在三地

区的整体流行情况。RE-*cmeABC*阳性菌株维持了一个较高的流行率, 且在三年中并无显著性变化 ($P > 0.05$)。广东与上海地区的RE-*cmeABC*阳性菌株在三年间有略微上升[图1 (b)]; 山东地区在2014年与2015年一直维持在较低的流行水平, 2016年却突然增加至76.1% (35/46, 95% CI: 61.2~87.4) [图1 (b)]。上述结果表明RE-*cmeABC*阳性菌株已在这些地区的畜禽中出现了较高的流行率, 对公共卫生带来了潜在威胁。

3.2. 耐药表型

药物敏感性测试结果表明所有RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌均对环丙沙星耐药, 其次为四环素 (99.1%)、氟苯尼考 (74.8%)、庆大霉素 (45.9%)、克林霉素 (13.5%) 和红霉素 (11.7%) (表1)。为进一步验证RE-*cmeABC*在空肠弯曲菌中的耐药功能, 我们补充了RE-*cmeABC*阴性弯曲菌的MIC结果以整合分析。RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌与RE-*cmeABC*阴性空肠弯曲菌对氟苯尼考、克林霉素和红霉素的耐药率有显著差异 ($P < 0.05$), 而对环丙沙星、四环素和庆大霉素的耐药率无显著差异 (表1)。RE-*cmeABC*阳性菌株对氟苯尼考的耐药率显著高于RE-*cmeABC*阴性菌株 (74.8% vs. 39.1%, $P < 0.0001$)。RE-*cmeABC*阳性菌株对氟苯尼考的相关性 (OR = 4.61) 显著高于RE-*cmeABC*阴性菌株 (表1)。酰胺醇类的氟苯尼考未被批准用于临床, 而在兽医临床则被广泛用于治疗食品动物疾病[27]。因此, 在畜禽养殖过程中, 氟苯尼考对RE-*cmeABC*阳性菌株的筛选可能具有重要作用。与氟苯尼考耐药情况不同的是, RE-*cmeABC*阳性菌对克林霉素和红霉素耐药率的相关性则显著低于RE-*cmeABC*

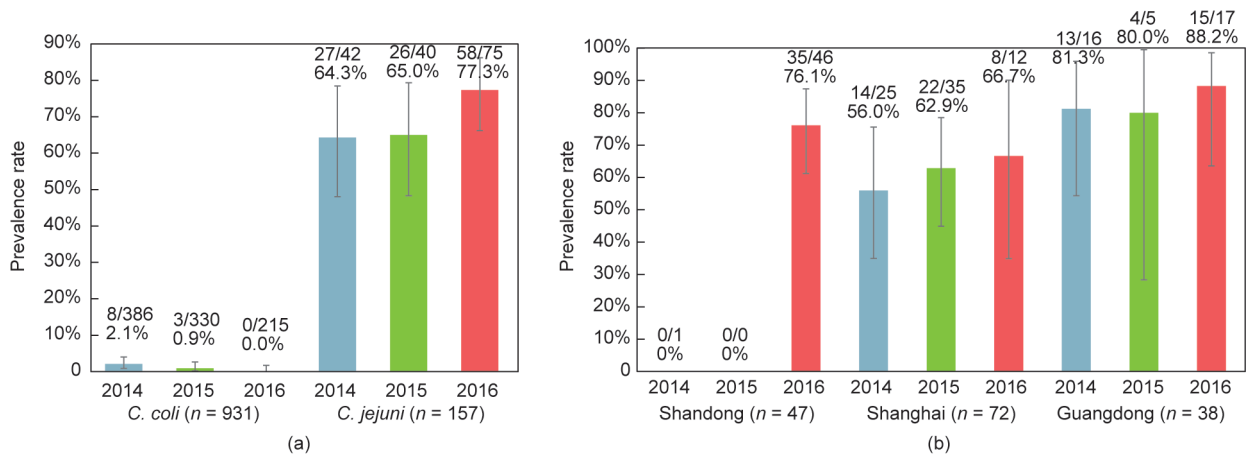


图1. 不同年份间三地区RE-*cmeABC*阳性菌株的流行率。(a) 不同年份间三地区结肠弯曲菌与空肠弯曲菌中RE-*cmeABC*的流行率比较;(b) 不同年份间三地区RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌的流行率。误差条代表95%置信区间 (95% CI)。

阴性菌性 (OR = 0.32和0.34) (表1)。尽管RE-*cmeABC*可以将菌株对红霉素的耐药水平提高四倍, 但若没有23S rRNA点突变存在的情况, 仍不足以达到耐药水平[28]。这表明RE-*cmeABC*不是空肠弯曲菌中对克林霉素和红霉素的主要耐药机制。

与野生型*cmeABC*相比, RE-*cmeABC*已被证明具有更强的泵出功能, 可将氟喹诺酮类、酰胺醇类、大环内酯类、四环素类等药物泵出细胞[21]。尽管有无RE-*cmeABC*对环丙沙星、四环素和庆大霉素的耐药率无显著差异, 然而, 携带RE-*cmeABC*的菌株可以使环丙沙星与四环素对弯曲菌的MIC值分布趋于更高水平范围 (图2), 与此前的研究结果一致[21]。有趣的是, 对环丙沙星与四环素高水平耐药 (≥ 16 倍MIC折点) 的RE-*cmeABC*阳性菌株数显著高于RE-*cmeABC*阴性菌株数 ($P < 0.0001$ 和 $P = 0.0004$)。上述结果同样表明RE-*cmeABC*可以提高弯曲菌对抗生素的整体耐药水平[21]。为了验证对环丙沙星的高水平耐药机制, 我们检测了*gyrA*基因的单位点核苷酸突变 (C-257 to T)。然而, 所有的RE-*cmeABC*阳性菌株均存在C257T突变, 佐证了RE-*cmeABC*可以促进*gyrA*的突变频率。目前尚未阐明的是药物MIC水平是否与RE-*cmeABC*的表达水平有关, RE-*cmeABC*受其上游调控基因*cmeR*的负反馈调

控, 而*cmeR*则位于RE-*cmeABC*的启动子区域, 是一种转录抑制因子[29], RE-*cmeABC*引起菌株对抗生素高水平耐药的机制仍需进一步研究。

3.3. 分子分型

本研究选取了97株RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌代表株 (上海37株、广东25株和山东35株) 用于PFGE分型分析。以80%的相似度划分PFGE克隆亚型, RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌共分为30个PFGE克隆型, 包括13个独特型和17个克隆簇 (图3)。上海地区克隆型最多, 包括8个克隆簇和7个独特型; 其次为广东地区, 包括11个克隆簇和6个独特型; 最后为山东, 包括5个克隆簇。上海和广东地区菌株除了A型 (27.0%, 10/37) 和W型 (20%, 5/25) 外无其他流行克隆, 表明上海及广东地区的RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌仍以水平扩散为主。相反, B型 (65.7%, 23/35) 是山东地区流行的最主要克隆, 表明该地区主要以B型的克隆扩散为主。另外, 有三株R型菌株同时在上海和广东被分离到, 有3株U型菌株同时在广东和山东被分离到。同时, 分离自上海和广东的3株菌表现出100%的同源性; 而分离自上海和山东的4株L型菌株也表现出100%的同源性。上述结果表明, 某些具有相同PFGE谱型的RE-*cmeABC*阳性空肠弯

表1 RE-*cmeABC*阳性与阴性空肠弯曲菌的MIC特征

Antimicrobial agents	Number of resistance isolate (resistance rates, 95% CI)		OR	P value
	RE- <i>cmeABC</i> -positive (n = 111)	RE- <i>cmeABC</i> -negative (n = 46)		
CIP	111 (100.0%)	46 (100.0%)	—	—
TET	110 (99.1%, 95.1%–99.97%)	44 (95.7%, 85.2%–99.5%)	5.00	0.206
FFC	83 (74.8%, 65.6%–82.5%)	18 (39.1%, 25.1%–54.6%)	4.61	< 0.0001
GEN	51 (45.9%, 36.4%–55.7%)	21 (45.7%, 30.1%–61.0%)	1.01	0.973
CLI	15 (13.5%, 7.8%–21.3%)	15 (32.6%, 19.5%–48.0%)	0.32	0.006
ERY	13 (11.7%, 6.4%–19.2%)	13 (28.3%, 16.0%–43.5%)	0.34	0.011

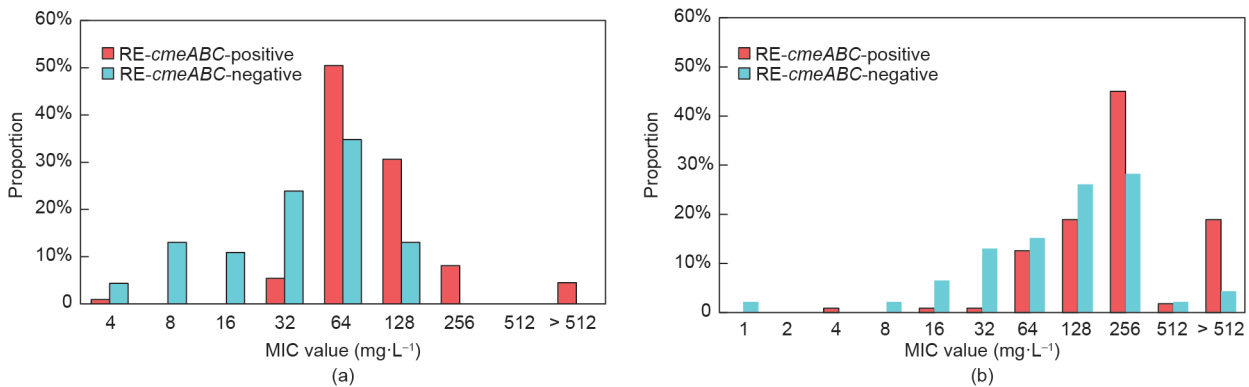


图2. RE-*cmeABC* 阳性菌株与阴性菌株对环丙沙星与四环素的MIC分布比较。(a) 空肠弯曲菌对环丙沙星的MIC分布;(b) 空肠弯曲菌对四环素的MIC分布。

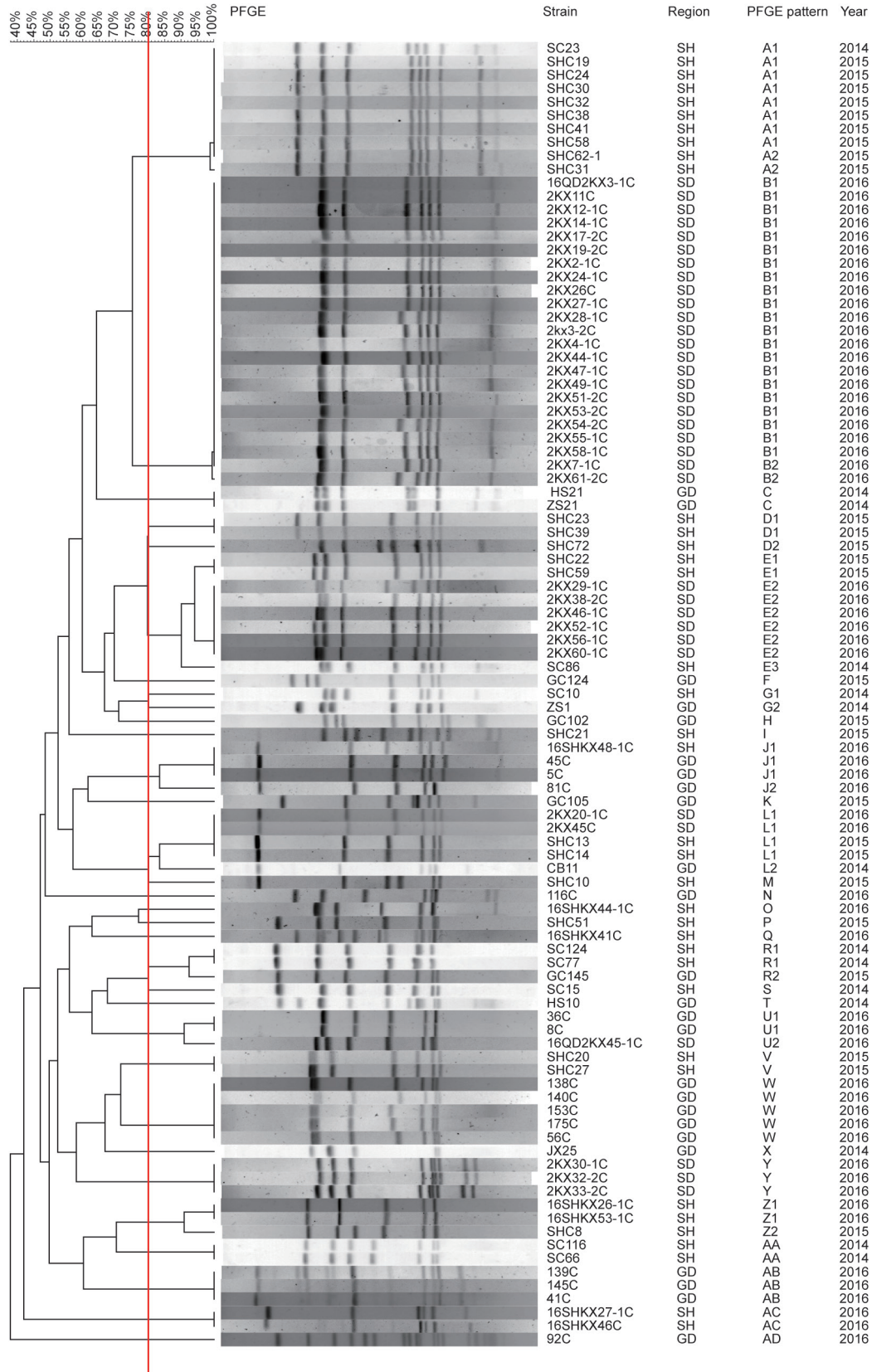


图3. 2014—2016年97株RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌代表株的PFGE分型。菌株经由SmaI酶切。地区包括山东（SD）、上海（SH）与广东（GD）。

曲菌已在不同地区开始流行，且具有稳定的水平传播与适应能力。

4. 结论

本研究调查了2014—2016年连续三年间我国山东、上海和广东等三个重点养殖区食品动物源RE-*cmeABC*阳性弯曲菌的流行与耐药性现状。与2012—2014年的数据相比，鸡源的RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌逐渐超过结肠弯曲菌成为主要菌种。RE-*cmeABC*阳性菌株对氟苯尼考的耐药率显著高于RE-*cmeABC*阴性菌株，对环丙沙星与四环素的耐药率则无显著性差异。然而，携带RE-*cmeABC*的菌株可以使环丙沙星和四环素对弯曲菌的MIC值分布趋于更高水平范围。另外，在上海与广东及广东与山东还分离到了相同PFGE谱型的RE-*cmeABC*阳性空肠弯曲菌。这些发现表明RE-*cmeABC*已在我国食品动物源弯曲菌中广泛流行，对公共卫生安全具有重要威胁。

致谢

本研究得到国家重点研发计划（2017YFC1601501）、中国博士后科学基金（2018M631638）与国家自然科学基金项目（31802247）资助。

Compliance with ethics guidelines

Dejun Liu, Weiwen Liu, Xing Li, Hong Yao, Zhangqi Shen, Yang Wang, and Jianzhong Shen declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

Reference

- [1] Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, et al. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerg Infect Dis* 2011;17:7–15.
- [2] Kaakoush NO, Castano-Rodriguez N, Mitchell HM, Man SM. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin Microbiol Rev* 2015;28:687–720.
- [3] Man SM. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011;8:669–85.
- [4] Taylor EV, Herman KM, Ailes EC, Fitzgerald C, Yoder JS, Mahon BE, et al. Common source outbreaks of *Campylobacter* infection in the USA, 1997–2008. *Epidemiol Infect* 2013;141:987–96.
- [5] Adak GK, Cowden JM, Nicholas S, Evans HS. The Public Health Laboratory Service national case-control study of primary indigenous sporadic cases of *Campylobacter* infection. *Epidemiol Infect* 1995;115:15–22.
- [6] Allos BM. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis* 2001;32:1201–6.
- [7] Luangtongkum T, Jeon B, Han J, Plummer P, Logue CM, Zhang Q. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiol* 2009;4:189–200.
- [8] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA J* 2019;17(2):e05598.
- [9] US Food and Drug Administration. The National Antimicrobial Resistance Monitoring System: NARMS integrated report, 2015. Report. Washington, DC: US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration; 2015.
- [10] US Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013 (AR threats report). Report. Washington, DC: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention; 2013.
- [11] World Health Organization. Prioritization of pathogens to guide research and development of new antibiotics. Report. Geneva: World Health Organization; 2017.
- [12] Zeng D, Zhang X, Xue F, Wang Y, Jiang L, Jiang Y. Phenotypic characters and molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* in East China. *J Food Sci* 2016;81:M106–13.
- [13] Li Y, Zhang S, He M, Zhang Y, Fu Y, Liang H, et al. Prevalence and molecular characterization of *Campylobacter* spp. isolated from patients with diarrhea in Shunyi, Beijing. *Front Microbiol* 2018;9:52.
- [14] Ju CY, Zhang MJ, Ma YP, Lu JR, Yu MH, Chen H, et al. Genetic and antibiotic resistance characteristics of *Campylobacter jejuni* isolated from diarrheal patients, poultry and cattle in Shenzhen. *Biomed Environ Sci* 2018;31:579–85.
- [15] Du Y, Wang C, Ye Y, Liu Y, Wang A, Li Y, et al. Molecular identification of multidrug-resistant *Campylobacter* species from diarrheal patients and poultry meat in Shanghai, China. *Front Microbiol* 2018;9:1642.
- [16] Wang Y, Dong Y, Deng F, Liu D, Yao H, Zhang Q, et al. Species shift and multidrug resistance of *Campylobacter* from chicken and swine, China, 2008–14. *J Antimicrob Chemother* 2016;71:666–9.
- [17] Payot S, Bolla JM, Corcoran D, Fanning S, Megraud F, Zhang Q. Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. *Microbes Infect* 2006;8:1967–71.
- [18] Luo N, Sahin O, Lin J, Michel LO, Zhang Q. In vivo selection of *Campylobacter* isolates with high levels of fluoroquinolone resistance associated with *gyrA* mutations and the function of the CmeABC efflux pump. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:390–4.
- [19] Lin J, Michel LO, Zhang Q. CmeABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:2124–31.
- [20] Pumbwe L, Piddock LJ. Identification and molecular characterisation of CmeB, a *Campylobacter jejuni* multidrug efflux pump. *FEMS Microbiol Lett* 2002;206:185–9.
- [21] Yao H, Shen Z, Wang Y, Deng F, Liu D, Naren G, et al. Emergence of a potent multidrug efflux pump variant that enhances *Campylobacter* resistance to multiple antibiotics. *mBio* 2016;7(5):e01543–16.
- [22] Cui M, Wu C, Zhang P, Wu C. Development of multiplex-mismatch amplification mutation-PCR assay for simultaneous detection of *Campylobacter jejuni* and mutation in *gyrA* gene related to fluoroquinolone resistance. *Foodborne Pathog Dis* 2016;13:642–5.
- [23] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated and fastidious bacteria, 3rd edition. Document. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016. Document No.: CLSI document M45.
- [24] US Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotics tested by NARMS [Internet]. Washington, DC: US Centers for Disease Control and Prevention [updated 2019 Mar 15; cited 2019 Aug 30]. Available from: <https://www.cdc.gov/narms/antibiotics-tested.html/>.
- [25] Ribot EM, Fitzgerald C, Kubota K, Swaminathan B, Barrett TJ. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Campylobacter jejuni*. *J Clin Microbiol* 2001;39:1889–94.
- [26] Luangtongkum T, Morishita TY, Ison AJ, Huang S, McDermott PF, Zhang Q. Effect of conventional and organic production practices on the prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. in poultry. *Appl Environ Microbiol* 2006;72:3600–7.
- [27] Schwarz S, Kehrenberg C, Doublet B, Cloeckaert A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiol Rev* 2004;28:519–42.
- [28] Cagliero C, Mouline C, Payot S, Cloeckaert A. Involvement of the CmeABC efflux pump in the macrolide resistance of *Campylobacter coli*. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:948–50.
- [29] Lin J, Akiba M, Sahin O, Zhang QJ. CmeR functions as a transcriptional repressor for the multidrug efflux pump CmeABC in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:1067–75.