

# 蒙古国传统发酵乳制品中保加利亚乳杆菌耐药性的研究

李丽娜<sup>1,2</sup>, 郭慧玲<sup>1,2</sup>, 任彩霞<sup>1,2</sup>, 张和平<sup>\*1,2</sup>

(1. 内蒙古农业大学 乳品生物技术与工程教育部重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古农业大学, 奶制品加工农业部重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010018)

**摘要:** 保加利亚乳杆菌是发酵乳制品中的常用菌种之一, 因此对保加利亚乳杆菌安全性菌株的选育非常关键。以蒙古国传统发酵乳制品中的 5 株保加利亚乳杆菌为研究对象, 对其耐药性进行了初步研究。首先采用肉汤稀释法分析其耐药性, 其次利用聚合酶链式反应(PCR)技术对其耐药基因进行了检测。结果表明, 保加利亚乳杆菌对利奈唑胺、氨苄西林、克林霉素、利福平、万古霉素、甲氧苄啶及奎奴普丁/达福普汀全部敏感, 对四环素、卡那霉素、氯霉素、庆大霉素、链霉素、环丙沙星、红霉素及新霉素均表现出不同程度的耐药性。基于 PCR 技术在这些菌株中检测到 5 种不同的耐药基因(*erm(B)*、*vanX*、*aac(6′)-aph(2′′)*、*parC*、*rpoB*), 每株都携带 2 种或 2 种以上耐药基因。本研究结果可为后续的菌种选育提供参考。

**关键词:** 保加利亚乳杆菌; 抗生素耐药性; 耐药基因; 食品安全性评价

中图分类号: TS 201.3 文章编号: 1673-1689(2019)12-0052-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.12.008

## Antibiotic Resistance of *Lactobacillus bulgaricus* Isolated from Traditional Mongolian Fermented Dairy Products

LI Lina<sup>1,2</sup>, GUO Huiling<sup>1,2</sup>, REN Caixia<sup>1,2</sup>, ZHANG Heping<sup>\*1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China; 2. Key Laboratory of Dairy Products Processing, Ministry of Agriculture, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

**Abstract:** *Lactobacillus bulgaricus* is one of the commonly used strains in fermented dairy products, and it is very important for the breeding of the strains. The objective of this study was to evaluate the antibiotic resistance of five *Lactobacillus bulgaricus* strains isolated from traditional fermented dairy products in Mongolia. The antibiotic resistance was analyzed by broth dilution method, and the resistance genes were detected by polymerase chain reaction (PCR). The results showed that all tested strains were sensitive to linezolid, ampicillin, clindamycin, rifampicin,

收稿日期: 2017-06-20

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(31430066)。

\* 通信作者: 张和平(1965—), 男, 内蒙古四子王旗人, 博士, 教授, 博士研究生导师。主要从事乳品生物技术方面的研究。

E-mail: hepingsd@vip.sina.com

引用本文: 李丽娜, 郭慧玲, 任彩霞, 等. 蒙古国传统发酵乳制品中保加利亚乳杆菌耐药性的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(12): 52-58.

vancomycin, trimethoprim, and quinupristin/dalfopristin, while variably resistant to tetracycline, kanamycin, chloramphenicol, gentamicin, streptomycin, ciprofloxacin, erythromycin, and neomycin. Based on the PCR, five different antibiotic resistance genes, namely *erm* (B), *vanX*, *aac* (6')-*aph* (2''), *parC*, and *rpoB*, were detected in the tested strains; and each strain carried at least two resistance genes. These results serve as useful reference for strain selection for future studies.

**Keywords:** *Lactobacillus bulgaricus*, antibiotic resistance, resistance genes, food safety evaluation

乳酸菌是一类能够利用可发酵糖产生 50% 以上乳酸的革兰氏阳性细菌的通称。广泛地存在于自然界、动植物体、乳制品及发酵食品中,其中多为非致病菌且具有降血压、改善肠道菌群、降低血液胆固醇等诸多益生功效<sup>[1]</sup>。在现代医学中,抗生素是防御细菌感染的主要手段。虽然大多数乳酸菌被认为是安全的食用型菌种,广泛的应用于食品和药品等领域中。但因过度使用和滥用抗生素,致使一些乳酸菌出现抗生素耐药性,乳酸菌如果通过某种方式获得耐药基因,耐药基因可以与人群、动物、生态系统中的细菌互相传递,致使出现耐药致病菌,一旦将耐药性传递给人类,将会对继续使用抗生素来治疗细菌性疾病造成一定的威胁<sup>[2]</sup>。世界卫生组织(WHO)确定抗生素耐药性已经成为 21 世纪主要的健康性问题之一<sup>[3]</sup>。早期对细菌耐药性的研究主要集中在病原微生物上<sup>[4-5]</sup>,而近年来乳酸菌耐药性的研究逐步成为人们关注的焦点。

乳杆菌属是乳酸菌类群中最大的一个属,在肠道正常微生物体系中有不可或缺的地位,它能够通过重组肠道菌群平衡来使人类及某些动物宿主恢复并达到健康状态<sup>[6]</sup>。保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)又称为德氏乳杆菌保加利亚亚种(*lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*),具有抗癌抗肿瘤、提高机体免疫力、促进胃肠道蠕动等益生功能<sup>[7]</sup>。乳酸菌的耐药性主要包括两种:固有耐药性和获得耐药性。固有耐药性是其本身所具有的特性,一般不会发生转移,所以不必考虑其安全性,获得性耐药性是由基因突变或通过外源而获得的耐药基因。保加利亚乳杆菌是乳杆菌属在食品工业中常用的菌种之一,所以有必要在使用前对菌株的表型及基因型进行分析以确保其安全性。

本实验首先通过标准化的肉汤稀释法来测定分离自蒙古国传统发酵乳制品中 5 株保加利亚乳杆菌对 15 种抗生素的耐药性,同时利用 PCR 技术

来检测菌株中可能携带的耐药基因,以便于为以后菌种的选育及安全性评价提供重要的数据支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株来源

本实验选取的 5 株保加利亚乳杆菌 IMAU20289、IMAU20360、IMAU20427、IMAU20514、IMAU20635 全部由内蒙古农业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室菌种保藏库提供。所有菌株通过 16S rDNA 序列分析均已鉴定。根据 ISO10932/IDF223 标准,37 °C 培养的乳杆菌选取 *Lactobacillus paracasei* ATCC334 做质控菌<sup>®</sup>,是为了能够更好的控制药敏实验的准确度和精确度。

### 1.2 培养基与试剂

LSM 培养基(包含体积分数 90% 的 ISO-SENSITEST 和体积分数 10% 的 MRS Broth)、MRS 合成培养基(OXOID, CM0359)。

实验用抗生素:卡那霉素(KAN)、利奈唑胺(LINE),购买于 Chembase 公司;奎奴普丁/达福普汀(QVIDAL),购买于 Bioaustralis 公司,庆大霉素(GEN)、链霉素(STR)、新霉素(NEO)、四环素(TET)、红霉素(ERY)、克林霉素(CLI)、氯霉素(CHL)、氨苄西林(AMP)、万古霉素(VAN)、甲氧苄啶(VAN)、利福平(RIF)和环丙沙星(CIP),均购于 Sigma-Aldrich 公司。

试剂:1 g/dL 琼脂糖凝胶、5×TBE 电泳缓冲液、TE 缓冲液、10 g/dL SDS、0.5 mol/L EDTA、5 mol/L NaCl、3 mol/L NaAc、异丙醇、氯仿-异戊醇(24:1,体积比)、酚-氯仿-异戊醇(25:24:1,体积比)、dNTP、rTap 酶、蛋白酶 K、10×PCR Buffer、核酸染料等,以上实验试剂均购买于北京全是金生物工程有限公司及天根化学试剂公司,本实验所用的引物由上海桑尼生物科技有限公司设计并合成。

### 1.3 仪器与设备

试验所用仪器与设备见表 1。

表 1 仪器与设备

Table 1 Instrument and equipment

| 仪器名称       | 仪器型号     | 生产厂家             |
|------------|----------|------------------|
| 台式高速离心机    | TGL-16B  | 德国 Eppendorf 公司  |
| 微量紫外分光光度计  | ND-1000  | 美国 NanoDrop 公司   |
| 冷冻离心机      | 5810R    | 德国 Eppendorf 公司  |
| 恒温水浴锅      | HWS28    | 上海一恒科技有限公司       |
| 全自动高压蒸汽灭菌器 | HA-300M  | 日本 Hirayama 公司   |
| 电泳仪        | DYY-12   | 北京六一生物科技<br>有限公司 |
| 电热恒温培养箱    | DHP-9272 | 上海一恒科技有限公司       |
| UVP 凝胶成像仪  | GDS-8000 | 美国 Uvp 公司        |

## 1.4 实验方法

### 1.4.1 菌株耐药性表型分析

1) 菌株的活化与菌液的制备。将保藏于冻存管中的菌以体积分数 1% 的接种量接种于 MRS 液体培养基中进行活化, 37 °C, 培养 24 h。后在 MRS 固体培养基上划线, 37 °C 下培养 48 h, 挑取平板上单菌落于灭好菌的 5 mL 生理盐水中, 直至 OD<sub>625</sub> 值在 0.16~0.2<sup>[8]</sup> 之间(活菌数约为 3×10<sup>8</sup> CFU/mL), 用培养基稀释 500 倍和 900 倍后制成种子液备用。

2) 抗生素的制备。每种抗生素均用表 2 中的溶剂进行溶解, 滤菌器过滤, 于 -80 °C 冰箱中保存, 备用。用 LSM 稀释剂将水溶性和水不溶性抗生素溶液连续稀释至目标质量浓度的 2 倍和 10 倍。不同抗生素所需的溶解试剂及质量浓度测定范围如表 2 所示。

表 2 不同抗生素的质量浓度测定范围及所需溶剂

Table 2 Solvents and range of concentration for different antibiotics

| 抗生素        | 溶剂        | 质量浓度范围 (μg/mL) |          |
|------------|-----------|----------------|----------|
| 氨基糖苷类      | 庆大霉素      | LSM            | 0.5~256  |
|            | 卡那霉素      | LSM            | 2~1024   |
|            | 链霉素       | LSM            | 0.5~256  |
|            | 新霉素       | LSM            | 0.5~256  |
| 四环素类       | 四环素       | LSM            | 0.125~64 |
| 林可胺类       | 克林霉素      | LSM            | 0.032~16 |
| 青霉素类       | 氨苄西林      | LSM            | 0.032~16 |
| 糖肽类        | 万古霉素      | LSM            | 0.25~128 |
| 链阳菌素类      | 奎奴普丁/达福普汀 | LSM            | 0.016~8  |
| 恶唑烷酮类      | 利奈唑胺      | LSM            | 0.032~16 |
| 喹诺酮类       | 环丙沙星      | 0.05M HCL      | 0.25~128 |
| 大环内酯类      | 红霉素       | 95%乙醇          | 0.016~8  |
| 苯丙醇类       | 氯霉素       | 95%乙醇          | 0.125~64 |
| 叶酸代谢干扰抑制剂类 | 甲氧苄啶      | 冰乙酸            | 0.125~64 |
| 安莎霉素类      | 利福平       | 甲醇             | 0.125~4  |

3) 菌株 MIC 的测定。最小抑菌浓度 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 是指完全抑制菌株生长时的最小抗生素质量浓度<sup>[9]</sup>。本实验采用肉汤稀释法测定菌株的 MIC 值, 具体的操作步骤参照 ISO10932/IDF223<sup>[8]</sup> 标准。

4) 乳酸菌耐药性评价。将测定的 MIC 值与表 3 进行比较, 基于 EFSA 颁布的标准<sup>[10]</sup>, 如果 MIC 小于或等于临界值时定义为敏感 (S), MIC 大于临界值时定义为耐药 (R), MIC 临界值的评定标准是由欧盟食品安全局<sup>[10]</sup> (EFSA) 和欧盟委员会<sup>[11]</sup> 共同制定的。

表 3 保加利亚乳杆菌对 15 种抗生素耐药性的评定标准

Table 3 Evaluation criteria for the resistance of *Lactobacillus bulgaricus* against 15 antibiotics

(μg/mL)

| 抗生素       | 保加利亚乳杆菌         |
|-----------|-----------------|
| 庆大霉素      | 16 <sup>a</sup> |
| 卡那霉素      | 16 <sup>a</sup> |
| 链霉素       | 16 <sup>a</sup> |
| 新霉素       | 32 <sup>b</sup> |
| 四环素       | 4 <sup>a</sup>  |
| 克林霉素      | 1 <sup>a</sup>  |
| 氨苄西林      | 1 <sup>a</sup>  |
| 万古霉素      | 2 <sup>a</sup>  |
| 奎奴普丁/达福普汀 | 4 <sup>b</sup>  |
| 利奈唑胺      | 4 <sup>b</sup>  |
| 环丙沙星      | 4 <sup>a</sup>  |
| 红霉素       | 1 <sup>a</sup>  |
| 氯霉素       | 4 <sup>a</sup>  |
| 甲氧苄啶      | 32 <sup>b</sup> |
| 利福平       | 32 <sup>b</sup> |

注: a. 欧洲食品安全局的耐药转折点<sup>[10]</sup>; b. 欧盟委员会的耐药转折点<sup>[11]</sup>。

### 1.4.2 菌株耐药性基因型分析

1) 菌株 DNA 的提取。利用 CTAB 液氮冻融法<sup>[12]</sup> 提取所试菌株基因组的 DNA。

2) 菌株 DNA 纯度的检测。取 2 μL 的 DNA 用微量紫外分光光度计测其质量浓度及 OD<sub>260/280</sub> 值, 为了做后续聚合酶链式反应的模板测定的 OD 值应在 1.8~2.0 间。

3) 菌株耐药基因的检测。将上一步骤提取的基因组 DNA 作为模板, 50 μL 的反应体系如下: DNA 模板 2 μL、10×PCR Buffer 5 μL (含 Mg<sup>2+</sup>)、dNTP 4 μL、rTaq 酶 0.5 μL、Primer F、Primer R 各 1.5 μL、去离子水

35.5 μL。PCR 扩增程序为:预变性 94 °C 5 min,30 个循环:变性 94 °C 1 min、退火 1 min、延伸 72 °C 2 min,末端延伸 72 °C 10 min。但不同引物具有不同的退火温度,实验中聚合酶链式反应中具体所用的引物序列、目的片段长度及退火温度见参考文献<sup>[3]</sup>。

PCR 反应结束后,将 PCR 产物与 6×DNA Loading Buffer 以 1:1 体积比的比例均匀混合后,加样于 1 g/dL 琼脂糖凝胶点样孔中进行电泳,并用凝胶成像仪对胶体进行分析,如果有条带出现且 PCR

产物片段长度大小与已知目的片段长度相同则证明菌株中含有耐药基因,若无条带出现则证明菌株中不含有耐药基因。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株耐药性的表型分析

依据表 3 保加利亚乳杆菌对抗生素的评定标准可知,5 株保加利亚乳杆菌对 15 种不同抗生素的 MIC 值测定结果如表 4 所示。

表 4 5 株保加利亚乳杆菌对 15 种抗生素的 MIC 测定结果

Table 4 MIC determination results of 15 antibiotics for 5 *Lactobacillus bulgaricus* (μg/mL)

| 抗生素       | IMAU20289 | IMAU20360 | IMAU20427 | IMAU20514 | IMAU20635 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 庆大霉素      | 2S        | 32R       | 1S        | 1S        | 1S        |
| 卡那霉素      | 16S       | >1024R    | 16S       | 16S       | 16S       |
| 链霉素       | 8S        | 128R      | 2S        | 8S        | 8S        |
| 新霉素       | 4S        | 64R       | 1S        | 4S        | 4S        |
| 四环素       | 0.5S      | 0.25S     | 0.25S     | 32R       | 1S        |
| 克林霉素      | <0.032S   | 0.25S     | <0.032S   | <0.032S   | <0.032S   |
| 氨苄西林      | 0.064S    | 1S        | <0.032S   | 0.5S      | 0.064S    |
| 万古霉素      | <0.25S    | <0.25S    | <0.25S    | <0.25S    | <0.25S    |
| 奎奴普丁/达福普汀 | 0.25S     | 1S        | 0.5S      | 1S        | 0.5S      |
| 利奈唑胺      | 0.25S     | 1S        | 0.25S     | 1S        | 0.5S      |
| 环丙沙星      | 16R       | 2S        | 4S        | 16R       | 32R       |
| 红霉素       | <0.016S   | 8R        | <0.016S   | 0.064S    | 0.032S    |
| 氯霉素       | 2S        | 8R        | 2S        | 2S        | 4S        |
| 甲氧苄啶      | 16S       | 16S       | 16S       | 16S       | 16S       |
| 利福平       | <0.125S   | 4S        | <0.125S   | 0.5S      | 0.25S     |

由表 4 可知,对于不同的抗生素 5 株菌均表现为不同的药物敏感性。相较于其他抗生素,对环丙沙星的耐药率最高。5 株菌全部对利奈唑胺、氨苄西林、克林霉素、利福平、奎奴普丁/达福普汀、甲氧苄啶及万古霉素敏感,其中对万古霉素和甲氧苄啶的敏感性十分稳定,MIC 值相同且均为 <0.25 μg/mL 和 16 μg/mL。对四环素、卡那霉素、氯霉素、庆大霉素、链霉素、新霉素、红霉素的敏感性次之。特别的菌株 IMAU20360 对卡那霉素、链霉素、红霉素均耐药且卡那霉素(>1 024 μg/mL)、链霉素(128 μg/mL)和红霉素(8 μg/mL)的 MIC 值均达到了所检测质量浓度范围的最高值。

D'Aimmo<sup>[4]</sup>研究了乳杆菌对常见的不同抗生素的耐药性,结果显示所有菌株对青霉素、红霉素、氨苄西林、利福平及克林霉素等抗生素敏感,对多粘菌素 B 和卡那霉素等耐药,对链霉素、氯霉素、万古

霉素、四环素、新霉素和庆大霉素不同菌株分别表现出不同程度的耐药性。先前的研究同样也表明乳杆菌对氨苄西林和红霉素具有高度敏感性<sup>[15]</sup>。黄晓敏<sup>[16]</sup>利用琼脂稀释法测定了 57 株保加利亚乳杆菌的 MIC 值,其中对克林霉素的耐药率为 0,对红霉素、青霉素、阿莫西林的耐药率约为 3.5%~12.3%之间,对四环素、庆大霉素的耐药率为 21.1%~26.3%。周宁<sup>[17]</sup>的测定结果显示保加利亚乳杆菌对氨基糖苷类抗生素例如:庆大霉素、卡那霉素、链霉素完全耐药,且属于固有耐药性,而对大环内酯类抗生素中的红霉素完全敏感。Li 等<sup>[18]</sup>对 19 株乳酸菌的耐药性研究表明对环丙沙星的耐药率高达 68.4%,据相关研究报道因为 DNA 旋转酶上 gyrA 基因上的 A 亚基,环丙沙星通过作用于 A 亚基从而抑制 DNA 的合成和复制,最终致使细菌死亡。本实验与 D'Aimmo、黄晓敏、周宁、Li 的研究结果基本一致,但

也存在个别差异,例如我们观察到菌株 IMAU20360 对糖肽类、大环内酯类、苯丙醇类抗生素耐药,且在氨基糖苷类抗生素中对庆大霉素的耐药程度较弱,可能与庆大霉素能通过细胞膜相关,该结果与周宁等人研究的结果不一致。此外我们还发现菌株 IMAU20514 对四环素耐药,该发现与黄晓敏报道中的结果也存在差异。这种同种不同菌株间的差异可能是由于多药转运蛋白或存在缺陷细胞壁自溶系统等非特异性机制所引起的<sup>[19]</sup>。因 *vanX* 基因能够编码 D-ala-D-ala 二肽酶易使万古霉素不能与细菌结合,所以通常认为乳杆菌对糖肽类抗生素万古霉素为固有耐药性<sup>[20]</sup>。但也有人认为这并不代表是物种的固有特性,因为在德氏保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、约氏乳杆菌中可能存在可变性<sup>[21]</sup>。本研究发现所有的菌株对万古霉素完全敏感,此结果也充分证明了保加利亚乳杆菌对万古霉素并非固有耐药性。

## 2.2 菌株耐药性的基因型分析

根据耐药性分析结果,本实验利用 PCR 技术对 5 株保加利亚乳杆菌的耐药基因进行了检测,检测结果如表 5 所示。

表 5 5 株保加利亚乳杆菌中耐药基因的检测结果

Table 5 Determination of antimicrobial resistance genes from 5 *Lactobacillus bulgaricus*

| 菌株编号      | 耐药基因  |
|-----------|---|
| IMAU20289 | <i>erm(B), vanX</i>                         |
| IMAU20360 | <i>aac(6')-aph(2''), parC, erm(B), vanX</i> |
| IMAU20427 | <i>erm(B), vanX</i>                         |
| IMAU20514 | <i>erm(B), vanX, rpoB</i>                   |
| IMAU20635 | <i>erm(B), vanX</i>                         |

由表 5 所示,根据特异性引物利用 PCR 技术扩增后发现 5 株菌中均携带耐药基因,共检出 *erm(B), vanX*、*aac(6')-aph(2'')*、*parC*、*rpoB* 5 种不同的耐药基因,其中 *erm(B), vanX* 存在于每株菌中。本研究中,菌株的耐药表型与其基因型呈对应关系,如菌株 IMAU20360 对庆大霉素和红霉素耐药,且相对应的基因型检测结果发现其携带庆大霉素耐药基因 *aac(6')-aph(2'')* 和红霉素耐药基因 *erm(B)*。在李涛<sup>[22]</sup>的研究中也在保加利亚乳杆菌中检测到了庆大霉素耐药基因 *aac(6')-aph(2'')*,与本实验研究结果一致。*aac(6')-aph(2'')* 能够编码双功能修饰酶 AAC(6')-APH(2''),该酶具有磷酸转移酶和乙酰基转移酶两种活性,属于氨基糖苷类钝化酶之

一,同时影响了大部分氨基糖苷类抗生素使其具有较高的耐药性<sup>[23]</sup>。秦宇轩等<sup>[24]</sup>在对红霉素敏感的菌株中却检测到了红霉素耐药基因 *erm(B)*,此结果说明敏感的菌株中可能存在耐药基因。同样的本研究也在敏感菌株 IMAU20289、IMAU20427、IMAU20514 及 IMAU20635 中均检测到了红霉素耐药基因 *erm(B)* 和万古霉素耐药基因 *vanX*,在菌株 IMAU20360 和菌株 IMAU20514 中分别检测到针对环丙沙星的耐药基因 *parC* 和对利福平的耐药基因 *rpoB*,在 RNA 的水平上这可能是因为该耐药基因并未表达,或是因为调控基因表达的核苷酸序列发生了基因突变最终使开放阅读框不被表达<sup>[25]</sup>。值得注意的是本研究从 3 株耐环丙沙星的菌株中均未发现相对应的耐药基因,在对卡那霉素、四环素、新霉素、链霉素及氯霉素表现为耐药的菌株中并未检测到与其表型相对应的耐药基因。Toomey 等<sup>[26]</sup>发现在一些表型对链霉素存在耐药性的菌株中并未检测到如 *strA*, *strB*、*aadA* 和 *aadE* 等已知的链霉素的耐药基因。这充分表明了耐药基因的检出与耐药性之间并不存在直接关系,耐药菌株可能由其他相关耐药基因调控或存在其他的耐药机制,然而这些存在的耐药机制,相关的耐药基因是否会转移到不同种属的细菌甚至是致病菌中则需要进一步的深入研究。

## 3 结语

本实验对蒙古国传统发酵乳制品中 5 株保加利亚乳杆菌的耐药性进行了初步研究。结果表明,保加利亚乳杆菌对大多数的抗生素敏感,仅有菌株 IMAU20360 对庆大霉素、卡那霉素、链霉素、新霉素、红霉素及氯霉素表现为耐药,菌株 IMAU20289、IMAU20514、IMAU20635 对环丙沙星耐药。本实验中耐药表型与基因型存在一定的差异。所有菌株中共检测到了 5 种不同的耐药基因,在对红霉素和万古霉素敏感的菌株中均检测到了 *erm(B)* 和 *vanX* 的存在,且在部分耐药菌株中并未检测到与其表型相对应的耐药基因。本实验说明了乳酸菌可能会是耐药基因的潜在贮存库,这些耐药基因潜在的转移性可能会造成一定的食品安全隐患。所以有必要加强对乳酸菌的安全性评价并完善乳酸菌安全性评价体系,尤其是对在工业中常用的菌株,在使用前确保其安全性,为其在药品、食品等应用中的安全性提供理论基础。

## 参考文献:

- [1] BAO Qihua, LU Qiang, YU Jie, et al. Molecular identification of nine strains lactic acid bacteria isolated from yak milk and triton in Sichuan[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(4): 66-71. (in Chinese)
- [2] CHEN Yizi, HU Bin. Reasons & harm of animal medicine remainder to animal material food[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(2): 162-166. (in Chinese)
- [3] PATERSON I K, HOYLE A, OCHOA G, et al. Optimising antibiotic usage to treat bacterial infections[J]. **Scientific Reports**, 2016, 6: 37853.
- [4] DALLAL M M S, DOYLE M P, REZADEHBASHI M, et al. Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serotypes, *Campylobacter* and *Yersinia* spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran [J]. **Food Control**, 2010, 21(4): 388-392.
- [5] GOUSIA P, ECONOMOU V, SAKKAS H, et al. Antimicrobial resistance of major foodborne pathogens from major meat products[J]. **Foodborne Pathogens & Disease**, 2011, 8(1): 27-38.
- [6] YU Jie, SUN Zhihong, ZHANG Jiachao, et al. Identification of lactobacillus isolated from home-made fermented milk in Tibet by 16S rDNA-RFLP[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(6): 804-810. (in Chinese)
- [7] 张和平, 张列兵. 现代乳品工业手册[M]. 中国轻工业出版社, 2005.
- [8] ISO/IDF. Milk and milk products-Determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) of antibiotics applicable to bifidobacteria and non-enterococcal lactic acid bacteria (LAB)[S]. ISO10932/IDF223, 2010.
- [9] OLSSON-LILJEQUIST B, LARSSON P, WALDER M, et al. Antimicrobial susceptibility testing in Sweden. III. Methodology for susceptibility testing[J]. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases Supplementum**, 1997, 105(6): 13-23.
- [10] EFSA. EFSA panel on additives and products or substances used in animal feed (FEEDAP); guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance[J]. **The EFSA Journal**, 2012, 10(6): 2740-2750.
- [11] European Commission. Opinion of the scientific committee on animal nutrition on the criteria for assessing the safety of microorganism resistant to antibiotics of human clinical and veterinary importance [R]. Health & Consumer Protection Directorate-General, 2002: 1-20.
- [12] YU Jie, SUN Zhihong, LIU Wenjun, et al. Rapid identification of lactic acid bacteria isolated from home-made fermented milk in Tibet[J]. **Journal of General & Applied Microbiology**, 2009, 55(3): 181-190.
- [13] GUO H L, PAN L, LI L N, et al. Characterization of antibiotic resistance genes from lactobacillus isolated from traditional dairy products[J]. **Journal of Food Science**, 2017, 82(3): 724-730.
- [14] D'AIMMO M R, MODESTO M, BIAVATI B. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products[J]. **International Journal of Food Microbiology**, 2007, 115(1): 35-42.
- [15] KATLA A K, KRUSE H, JOHNSEN G, et al. Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products[J]. **International Journal of Food Microbiology**, 2001, 67(1-2): 147-152.
- [16] HUANG Xiaomin, KE Ye, ZENG Songrong, et al. Experimental research of drug resistance to *Lactobacillus bulgaricus* in yoghurt [J]. **China Dairy Industry**, 2004, 32(9): 20-22. (in Chinese)
- [17] ZHOU Ning, ZHANG Jianxin, FAN Mingtao, et al. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus bulgaricus* isolated from yoghurt[J]. **Food Science**, 2012, 33(21): 202-207. (in Chinese)
- [18] LI S Y, LI Z, WEI W, et al. Association of mutation patterns in GyrA and ParC genes with quinolone resistance levels in lactic acid bacteria[J]. **Journal of Antibiotics**, 2015, 68(2): 81-87.
- [19] FL REZ A B, DELGADO S, MAYO B. Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from a cheese environment[J]. **Canadian Journal of Microbiology**, 2005, 51(1): 51-58.
- [20] KLEIN G, HALLMANN C, CASAS I A, et al. Exclusion of vanA, vanB and vanC type glycopeptide resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods[J]. **Journal of Applied Microbiology**, 2000, 89(5): 815-824.
- [21] CHARTERIS W P, KELLY P M, MORELLI L, et al. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus species* [J]. **Journal of Food Protection**, 1998, 61(12): 1636-1643.
- [22] YU Tao, JIANG Xiaobing, LI Lei, et al. Antimicrobial resistance and resistance genes in lactic acid bacteria isolated from

- commercial yogurt[J]. **Food Science**, 2016, 37(11):131-136.(in Chinese)
- [23] WANG Chunxia, CHEN Junsheng, HAO Lei, et al. Cloning over expression and assay of the aminoglycoside bifunctional modifying enzyme AAC (6')-APH (2'') from MRSA clinical isolates [J]. **Journal of Shanghai Normal University (Natural Sciences)**, 2011, 40(3):301-305.(in Chinese)
- [24] QIN Yuxuan, LI Jing, WANG Qiuya, et al. Identification of lactic acid bacteria in commercial yogurt and their antibiotic resistance[J]. **Acta Microbiologica Sinica**, 2013, 53(8):889-897.(in Chinese)
- [25] HUMMEL A, HOLZAPFEL W H, FRANZ C M A P. Characterization and transfer of antibiotic resistance genes from enterococci isolated from food[J]. **Systematic & Applied Microbiology**, 2007, 30(1):1-7.
- [26] TOOMEY N, BOLTON D, FANNING S. Characterisation and transferability of antibiotic resistance genes from lactic acid bacteria isolated from Irish pork and beef abattoirs[J]. **Research in Microbiology**, 2010, 161(2):127-135.

## 会 议 消 息

会议名称:2020年第九届化学与加工工程国际会议(ICCPE 2020)

会议时间:2020年5月20日—22日

会议地点:俄罗斯,莫斯科——俄罗斯人民友谊大学

会议网址:www.iccpe.org

会议简介:2020年第九届化学与加工工程国际会议将于2020年5月20日-22日在俄罗斯,莫斯科——俄罗斯人民友谊大学召开。本届会议由俄罗斯人民友谊大学主办。

会议安排:

2020年5月20日——参会人员签到,领取会议物品

2020年5月21日——专家报告及作者报告

2020年5月22日——校园参观及半日游

联系人:李女士

联系电话:+86-28-87577778

电子邮箱:iccpe@cbees.org

会议名称:中国第五届国际及海峡两岸甲壳素研讨会暨第九届甲壳素科学技术会议

会议时间:2020年4月22日-4月26日

会议地点:山东省临沂市

主办单位:中国化学会甲壳素专业委员会

承办单位:临沂市国家高新技术产业开发区管委会、山东卫康生物集团

协办单位:武汉大学资源与环境科学学院、中国科学院海洋研究所、中国海洋大学医药学院

支持单位:中国农业国际合作促进会、生物刺激剂发展联盟

会议简介:中国第五届国际及海峡两岸甲壳素研讨会暨第九届甲壳素科学技术会议将于2020年4月22日至4月26日在山东省临沂市召开,诚挚邀请您参会。

2020年中国第五届国际及海峡两岸甲壳素研讨会暨第九届甲壳素科学技术会议(简称:中国国际甲壳素大会)是我国甲壳素学术与产业界的一次盛会,届时来自世界与全国各地的生物多糖甲壳素科学家、企业家和青年学者将汇聚一堂,还将特别邀请知名院士、专家以及美、加、英、法、俄、日、韩等国家和台湾、香港等地区的海内外教授和科技工作者,面向甲壳素学科前沿,聚焦国家重大需求和国计民生,报道甲壳素科技领域最新研发进展和成果,促进甲壳素科学与技术产业更好更快发展。