

动物源性食品中病原菌的耐药性研究进展

谈笑^{1,2}, 王 娉¹, 李 睿², 陈 颖^{1,*}

(1. 中国检验检疫科学研究院农产品安全研究中心, 北京 100176;

2. 武汉轻工大学生物与制药工程学院, 湖北 武汉 430023)

摘 要: 动物源性食品中病原菌的耐药性给人类健康带来了巨大威胁。本文对动物源性食品中病原菌的耐药现状进行了阐述, 系统地分析了动物源性食品中耐药病原菌产生机制及因素。同时, 探讨了动物源性食品中耐药病原菌预防和监控的新方法或技术。

关键词: 动物源性食品; 病原菌; 耐药性; 预防; 监控

Recent Advances in Understanding Antibiotic Resistance of Pathogens in Animal-Derived Foods

TAN Xiao^{1,2}, WANG Ping¹, LI Rui², CHEN Ying^{1,*}

(1. Agro-Product Safety Research Center, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China;

2. College of Biological and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract: The antibiotic resistance of pathogens in animal foods poses a tremendous threat to human health. In this review, we elaborate the present status of understanding of the antibiotic resistance of pathogens in animal-derived foods. A systematic analysis of the mechanism and factors influencing the antibiotic resistance acquisition of pathogens in animal-derived foods is given. Meanwhile, we review the current methods and technologies used to prevent and monitor the emergence of antibiotic-resistant pathogens in animal-derived foods.

Key words: animal-derived foods; pathogens; antibiotic resistance; prevention; monitoring

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201719045

中图分类号: R155.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 19-0285-09

引文格式:

谈笑, 王娉, 李睿, 等. 动物源性食品中病原菌的耐药性研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(19): 285-293. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201719045. <http://www.spkx.net.cn>

TAN Xiao, WANG Ping, LI Rui, et al. Recent advances in understanding antibiotic resistance of pathogens in animal-derived foods[J]. Food Science, 2017, 38(19): 285-293. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201719045. <http://www.spkx.net.cn>

动物源性食品又称动物性食品, 是指来源于畜禽及水产类动物的肉、乳、蛋等可食性组织以及以这些为原料加工而成的副产品。其优质蛋白质以及鲜美味道使其在国民饮食结构中占有重要地位^[1]。随着经济的发展、生活水平的提高, 对动物源性食品数量和质量的需求值也在不断提升。2015年我国肉类总产量为8 706.74万 t, 水产总量为6 690万 t, 比30年前分别增加4.7倍和13.9倍^[2]。但在畜牧业和渔业飞速发展的背后, 伴随着抗生素的大量使用, 甚至滥用。仅2013年, 我国用于畜牧业的抗生素就有8.1万 t, 占国内抗生素使用量52%^[3]。因此, 利用抗生素防治动物性疾病取得巨大利益的同时, 耐药性问

题也随之而来。

目前, 细菌的耐药性已经成为全球性的公共卫生问题, 耐药菌甚至是多重耐药菌正以前所未有的速度在全球传播^[4]。耐药菌易导致严重的疾病甚至是死亡, 仅在美国每年就有200万人感染耐药菌, 其中2.3万人直接死于这些感染^[5]。而因食源性耐药病原菌引发的食品安全问题也日趋严重。2007—2009年, 猪源性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌在美欧流行, 引起多人感染^[6-7]。2011年, 火鸡肉中耐药沙门氏菌的感染疫情席卷了美国34个州, 共136人被感染, 感染时间从2011年2月一直持续到同年11月, 分离到的菌株对氨苄青霉素、链霉素、四环素、庆

收稿日期: 2016-08-31

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2014BAD04B03-4); 中国检验检疫科学研究院院所基金项目(2016JK006)

作者简介: 谈笑(1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品质量安全检测与控制。E-mail: 18771124059@163.com

*通信作者: 陈颖(1972—), 女, 研究员, 博士, 研究方向为食品质量安全与控制。E-mail: chenyingcaiq@163.com

大霉素等常见抗生素均有抗性^[8]。此外，动物源性食品中的耐药菌还可以通过食物链或周围环境将耐药基因转移给人类^[9-10]，并在人群中相互传播，这在增加医疗成本的同时也使得相关疾病的治疗更加困难^[11]。因此，动物源性食品中耐药菌的问题越来越受各国关注。

1 动物源性食品中病原菌的耐药现状

因为食源性动物饲养生长的环境不一、食品的加工工艺不同，导致不同的动物源性食品中的耐药病原菌有所差异，不同来源的动物源性食品中病原菌耐药现状见表1。目前水产品中常报道的耐药致病微生物主要是厌氧或兼性厌氧的杆菌，包括气单胞菌（*Aeromonas*）、弧菌（*Vibrio*）、单增李斯特菌（*Listeria monocytogenes*）和沙门氏菌（*Salmonella* spp.）等^[12-18]。在禽畜肉类中报

道的耐药致病菌以球菌、杆菌居多，主要是金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）、肠球菌（*Enterococcus* spp.）、空肠弯曲杆菌（*Campylobacter* spp.）、沙门氏菌和大肠杆菌（*Escherichia coli*）等^[19-30]。在原乳中分离出的耐药致病菌以单增李斯特菌、肠球菌为主，这些肠球菌往往对四环素、红霉素和氯霉素显示出较高的耐药率^[31-32]，少数原料乳中分离出了产超广谱 β -内酰胺酶的大肠埃希菌^[19]。在乳粉中分离的耐药菌则主要是葡萄球菌属（*Staphylococcus* spp.）、肠球菌属及链球菌属（*Streptococcus* spp.）的细菌^[33-35]。

近十几年来随着抗生素的大量使用及新型抗生素的应用，动物源性食品中微生物的耐药性及种类发生变化，耐药率逐年上升，并出现新的耐药表型。以气单胞菌为例，1995年，Wang Chinling等^[13]在叉尾鲷中分离出气单胞菌，主要对金霉素、土霉素、四环素、甲氧/磺胺甲

表 1 动物源性食品中病原菌耐药现状
Table 1 Antibiotic-resistance pathogens in animal-derived foods

类别	样品名称	样品来源	发现年份	耐药菌	耐药表型或耐药基因	参考文献
水产类	叉尾鲷	美国密西西比	1995	<i>Aeromonas</i> spp.	敏感	[13]
	鱼、对虾	印度南部	2002	<i>Aeromonas hydrophila</i>	B、N	[14]
	鱼	印度	2010	<i>Aeromonas hydrophila</i>	AMP、B、SXT、OT	[15]
	鲢鱼	越南湄公河	2014	<i>Aeromonas</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp.	AMP、SXT、NA、C、F	[16]
	鱼、虾	伊朗	2011—2012	<i>Listeria monocytogenes</i>	AMP、CIP、CRO、E、CN、P、RD、TE、VA	[17]
	牡蛎、鱼	墨西哥河口	2006	<i>Listeria monocytogenes</i>	AMP、CRO、E、CN、P、TE	[18]
	海鲜	中国	2013—2014	<i>Campylobacter jejuni</i>	AMP、TE、CIP、CN、S、E、VA、DA、NA	[27]
	海鲜	东南亚	2015	<i>Enterobacter</i> spp.	AMC、AMP、TE、CIP、CRO、SXT； <i>bla</i> _{NDM-1} 、 <i>bla</i> _{TEM} 等	[38]
	猪肉、牛肉、羊肉及鸡肉	瑞士	2010—2011	<i>Escherichia coli</i>	NA、S、SXT、TE、CIP、CN、C； <i>bla</i> _{SHV} 、 <i>bla</i> _{TEM} 、 <i>bla</i> _{CTX-M}	[19]
	猪肉、牛肉、羊肉及鸡肉	中国陕西	2007—2008	<i>Salmonella</i> spp.	RL、SXT、TE、NA、CIP、CRO、CFP	[20]
禽畜类	牛肉、猪肉、家禽	意大利佛罗伦萨	2009	<i>Listeria</i> spp.	AMP、KZ、DA、E、P、OX、CN、MEZ	[21]
	羊肉	土耳其	2012	MRSA	TE、OX、E、C、CIP、CN、SXT、MEZ等	[23]
	野猪肉	印度	2014	MRSA	K、CIP、E、PNV、FOX	[24]
	鸡肉、火鸡	伊朗	2015	VRSA	VA； <i>vanA</i>	[25]
	牛肉、猪肉、鸡肉	希腊	2015	VRE	AMP、CIP、E、PNV、TE、VA； <i>vanA</i> 、 <i>vanB</i>	[26]
	牛肉、猪肉、鸡、鸭和鸽子	中国	2013—2014	<i>Campylobacter jejuni</i>	AMP、TE、CIP、CN、S、E、VA、DA、NA	[27]
	鸡肉、鸭肉	韩国	2014	<i>Campylobacter</i> spp.	TE、CIP、NA、LEV、AMP、CN	[28]
	鸡肉	巴西	2013	<i>Campylobacter</i> spp. <i>Salmonella</i> spp.	CIP、ENR	[29]
	鸡肉	伊朗		<i>Campylobacter</i> spp.	CIP、LEV、TE等	[30]
	鸡肉	埃及		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>bla</i> _{NDM-1} 、 <i>bla</i> _{OXA} 、 <i>bla</i> _{KPC}	[39]
	猪肉、鸡肉	中国	2015	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>mcr-1</i>	[40]
	鸡肉	丹麦	2015	<i>Escherichia coli</i>	<i>mcr-1</i> 、 <i>bla</i> _{CMF-2} 、 <i>bla</i> _{TEM} 、 <i>dfpA1</i> 、 <i>strA</i> 、 <i>strB</i> 、 <i>sul1</i> 、 <i>tet(B)</i> 等	[43]
	原乳	伊朗德黑兰	2008—2010	<i>Listeria monocytogenes</i>	TE、E、P、C、AMC	[31]
	原乳	西班牙农场	2013	<i>Enterococcus</i> spp.	TE、S、E、C、QD	[32]
	原乳	瑞士	2010—2011	<i>Escherichia coli</i>	C、CN、NA S、SXT、TE等； <i>bla</i> _{TEM-1} 、 <i>bla</i> _{CTX-M}	[19]
乳类	乳粉	美国威斯康星	1994—2001	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp.	SXT、TE、E、CN、AMP、PNV、MY	[33]
	乳粉、原乳	埃及曼苏拉	2012	MRSA	TE、C、S、P、CN、OB、RD、VA等	[34]
	羊乳	意大利	2015	MRSA	AMC、CTX、FOX、DA、DO、E、K、OX、P、TE	[35]

注：AMC.阿莫西林/克拉维酸；AMP.氨苄西林；B.杆菌肽；C.氯霉素；CFP.头孢哌酮；CIP.环丙沙星；CN.庆大霉素；CRO.头孢曲松；CTX.头孢噻肟；DA.克林霉素；E.红霉素；ENR.恩诺沙星；F.呋喃妥因；FOX.头孢西丁；K.卡那霉素；KZ.头孢唑啉；LEV.左氧氟沙星；MEZ.美洛西林；MRSA.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌；MY.林可霉素；N.新霉素；NA.萘啶酸；OB.氯唑西林；OT.土霉素；OX.苯唑西林；P.青霉素G；PNV.新生霉素；QD.奎奴普汀；RD.利福平；RL.新诺明；S.链霉素；SXT.复方新诺明；TE.四环素；VA.万古霉素；VRE.耐万古霉素肠球菌；VRSA.耐万古霉素金黄色葡萄球菌。

噁唑、新霉素和氯霉素等抗生素菌敏感。而于2002年在印度南部市售鱼类中分离到的气单胞菌,对杆菌肽和新霉素产生部分抗性,但所有分离株均对氯霉素敏感^[14]。到2010年,印度鱼类中的气单胞菌分离株,对氨基青霉素和杆菌肽均有抗性,对复方新诺明和土霉素的耐药率分别为66.2%和50%,但仍对环丙沙星、氯霉素、庆大霉素、呋喃妥因、萘啶酸等抗生素敏感^[15]。2014年,从水产中分离的气单胞菌对氨基青霉素、复方新诺明、萘啶酸、氯霉素和呋喃妥因等均有较高水平的抗性^[16]。与此同时,耐药分离株的耐药表型也变得更为复杂,由单一耐药转变为多重耐药(对至少3类抗生素有抗性)。美国食品药品监督管理局有数据表明,多耐药大肠杆菌由1950年的7.2%上升到了2000年的63.6%^[36]。越南水产中气单胞菌的多耐药率达到61.9%^[16],中国陕西的市售禽畜肉中分离的沙门氏菌多耐药率高达67%^[20]。多耐药菌在食品中频现,增大了这类食品食用的风险,也严重影响了感染后的治疗用药。

不仅如此,目前还在动物源性食品中发现了对一线治疗药物产生了抗性的致病菌。例如,感染了单增李斯特菌后,很容易使免疫力低下的人引发严重的病发症,甚至危及生命。现阶段治疗感染单增李斯特菌患者的首选药物是青霉素,或是将青霉素配合庆大霉素联合用药^[21]。但随着抗生素的使用,单增李斯特菌的抗性发生了变化。目前,已有研究者从动物源性食品中检测分离出了对青霉素有抗性的单增李斯特菌^[17-18]。这一发现预示着未来在治疗食源性致病菌感染时,传统的药物可能不再有效,相应的治疗成本也会上升。

更为严峻的是,在动物源性食品中还分离出以前仅存于临床上的“超级细菌”,如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA)。MRSA是英国的Jevons在1961年首次发现的,对甲氧西林及所有与甲氧西林有相同结构的 β -内酰胺类和头孢类抗生素均有抗性,易引起感染,导致流行性疾病爆发,危害极大^[37]。但近几年在羊肉、猪肉、牛肉、家禽及乳制品中均有MRSA检出^[22-24,34-35]。此外,像耐万古霉素肠球菌(vancomycin-resistant *Enterococcus*, VRE)和耐万古霉素金黄色葡萄球菌(vancomycin-resistant *S. aureus*, VRSA)的出现更是冲破了对付耐药阳性菌的最后一道防线,给临床治疗带来了极大的压力^[27]。然而,最近几年,VRE和VRSA均被从食品中发现:Amini等^[25]在印度的鸡肉中分离出VRSA;在欧洲,Gousia等^[26]在600份牛肉、猪肉、鸡肉和蛋中分离出141株肠球菌,34.1%的分离株对万古霉素有抗性,且这些分离株对氨基青霉素、环丙沙星、红霉素、青霉素、四环素等其他类型的抗生素也有很高的耐药率。

与此同时,一些近几年发现的新型“超级耐药基因”如 bla_{NDM-1} 、 bla_{KPC} 、 $mcr-1$ 等也开始在动物源性食品中开始传播^[38-40]。产新德里金属 β -内酰胺酶-1(new delhi metallo- β -lactamase-1, NDM-1)的耐药菌是于2009年在印度临床上首次发现的^[41],到2011年,在全球就有20多个国家出现了 bla_{NDM-1} 的报道,携带了 bla_{NDM-1} 基因的革兰氏阴性菌会对包括碳青霉烯类在内的多种临床常用抗生素产生超强的耐药性,它的出现和流行引起了世界范围内的恐慌^[42]。2015年,在东南亚进口到加拿大的海鲜中就检出多个包括 bla_{NDM-1} 在内的超广谱 β -内酰胺酶基因^[38]。2015年11月,中国首次报道了在人体和动物源性食品中发现了 $mcr-1$ 耐药基因,随后欧盟、美国、加拿大也相继发现该耐药基因^[40,43]。携带了 $mcr-1$ 的大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯菌会对多黏菌素产生很强的抗性,这表明一直被视作革兰氏阴性菌的“最后一道防线”也岌岌可危。这些新的临床上的“超级细菌”和“超级耐药基因”不仅在全球范围内散播,而且逐渐蔓延并出现在食品中,必须要引起足够重视,采取有效措施来阻止它们通过食物链和食物网传播,保障食品安全。

此外,还发现微生物的耐药表型在相同的动物源性食品中会呈现出一定的聚集性,在不同的动物源性食品中,又往往有所差异。例如,在中国、韩国、巴西、伊朗等国家的鸡鸭肉中分离的空肠弯曲杆菌大都对环丙沙星和氧氟沙星这类喹诺酮类药物有很高抗性,耐药率高达70.0%~88.5%,对红霉素和四环素也有较高的耐药率^[27-30]。Fallah等^[17]在伊朗的水产品中分离出的单增李斯特菌对青霉素、氨基青霉素、四环素和万古霉素具有较高的抗性。Rodas-Suárez等^[18]在墨西哥的水产品中也分离到了对氨基青霉素和青霉素有抗性的单增李斯特菌。然而,目前还未在畜禽类食品中分离出对青霉素和万古霉素有抗性的单增李斯特菌,在禽畜肉中分离的单增李斯特菌则对呋喃妥因、四环素、氯霉素、环丙沙星的耐药率较高。这个差异可能是不同的饲养环境所使用的抗生素不同造成的。

2 动物源性食品中耐药菌的产生

2.1 细菌耐药性产生和传播的分子机制

细菌耐药性产生的分子机制主要分为2类,一类是天然性耐药,一类是获得性耐药。天然性耐药是指自然界中某些种属的菌株由于其独特的结构或代谢途径,对某些抗生素天然不敏感。如铜绿假单胞菌因为其细胞壁上的孔道蛋白对抗生素等小分子物质的渗透速率仅为典型孔蛋白通道的1/100,所以,对四环素、氯霉素、喹诺酮及 β -内酰胺类抗生素的抗性较强^[37]。获得性耐药则是细菌在抗生素的选择压力下,经基因

突变或基因水平转移获得环境中的耐药基因而产生耐药性。

2.1.1 基因突变

细菌对新药物的抗性往往通过基因突变产生,大多数抗生素与其靶位有很高的亲和性,它们通过与靶位的结合,阻断细菌的正常生化活动。当编码抗生素靶位的基因发生突变时,靶位的结构发生改变,抗生素无法与其结合,正常的代谢途径不会阻断,细菌便可获得对抗生素的耐药性。例如,利奈唑胺可以与革兰氏阳性菌23S rRNA核糖体亚基上的靶位点结合,临床上常用它治疗肺炎链球菌引起的感染,当肺炎链球菌编码23S rRNA核糖体的基因发生G2576T突变后,敏感菌株就能获得对利奈唑胺的抗性^[44-45]。最近有研究表明,如果环境中存在抗生素的压力,耐药菌的演化速度将会因基因突变而加快。在Baym等^[46]设计的“微生物演化与成长板”上,大肠杆菌从敏感菌株突变为抗性极强耐药株,仅需12 d。平板上大多数的耐药菌*dnaQ*基因都出现了变异,*dnaQ*基因可编码有校对功能的DNA聚合酶III,DNA聚合酶III的失活意味着细菌在DNA的复制过程中将获得高频的突变率,加速细菌耐药性的产生。还有些研究^[47-48]则显示在细菌抗性突变模式中突变的位置和数量具有一定的组织原则。例如,细菌多个位点突变会比单一位点突变后获得更高的抗性强度。喹诺酮类抗生素的靶位拓扑异构酶的突变是引发大肠埃希菌对这类抗生素产生耐药性的主要原因。在茆海丰等^[47]的研究中发现,S83L和D87N两个位点均发生突变的菌株对喹诺酮类药物的抗性要高于单一位点发生突变的菌株。此外,在对抗性大小和突变位点强度的量化研究中也发现,当两个位点均进行最适突变时,细菌获得的抗性最大,随着突变位点的增加,抗性收益将逐渐减少,且高效突变产生抗性收益要大于低效突变^[48]。

2.1.2 耐药基因水平转移

在耐药性传播的过程中,耐药基因水平转移扮演着重要角色。通常耐药基因水平转移有整合子介导、转座子介导及质粒介导等多种方式。通过耐药基因变异、转移、传播和扩散,极易形成高度耐药菌株或是多耐药菌株。

整合子(integrations, Is)能够编码整合酶来捕获细胞外的游离基因,并将其整合到基因盒子(gene cassettes, GCs)中,为游离的基因提供启动子,使其在宿主细胞内表达,可存在于细菌的染色体或是质粒和转座子这样的可移动元件上,促进耐药基因在不同的细菌间传播^[49]。Is上有不同数目的GCs,编码抗性决定因子,参与抗生素抗性的基因几乎都可以整合在GCs上,包括 β -内酰胺类、磺胺类、大环内酯类、氨基糖苷类、喹诺酮类等抗生素抗性基因。此外,编码抑菌剂QACs蛋白质的*qac*基因也在Is上被发现^[50-51]。另外,还有研究显示,在有抗生素压

力存在的情况下,GCs会自行重组,获得对抗生素的抗性,增加细菌在不利环境下的生存能力^[52]。

转座子(transposons, Tn)是一类可以在不同基因间移动的遗传因子,有些转座子会携带耐药基因,在基因间跃迁的过程中将其插入到另一个位点上。例如,在日本广泛传播的转座子Tn1545、Tn5252携带了红霉素、四环素等多个抗生素基因^[53]。Tn6026和Tn6029则常携带氨基青霉素、链霉素、磺胺类等抗生素的抗性基因,并通过Is26元件将抗生素基因进行整合。它广泛地存在于大肠杆菌和沙门氏菌这样的食源性致病菌的质粒上^[54-55]。一些含有Tn6026和Tn6029转座子的基因岛(genomic island, GEI)往往还携带毒力基因,形成一个新组合^[56],这意味着食源性致病菌有可能对抗生素具有更多抵抗力,给食源性致病菌的治疗和防控带来新的挑战。

耐药性质粒又称R质粒,主要由耐药性转移因子和耐药性决定因子2个单元组成。前者控制质粒的自我复制和转移,后者则赋予细菌对某些抗生素的耐药性。在耐药基因的传播中R质粒扮演举足轻重的“角色”,R质粒能通过携带的转座子收集环境中的抗性基因,实现耐药基因的累积,使得多个耐药基因共同传播^[57]。近期有不少研究表明,一些新的“超级耐药基因”也出现在R质粒上,与其他耐药基因一起形成新的多耐药组合,如*mcr-1*与产超广谱 β -内酰胺酶的基因或*sul*、*tet*等同在一个质粒上^[58-59],所以,携带了R质粒的细菌往往会成为多耐药菌株甚至是泛耐药菌株。

在传代的过程中,R质粒很稳定,它通常携带有能准确区分细胞中复制子的基因,所以很难在宿主细胞扩增时被丢失。不仅如此,R质粒在细胞中的转移效率也很高,在很多情况下接近100%^[60],而携带有*mcr-1*的pHNSHP45质粒还能在大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯和铜绿假单胞菌等不同属的细菌间自由转移^[40]。这些重要的特征都使得R质粒能够更加便利地介导耐药基因在环境中传播和扩散,形成新的更复杂的耐药菌,威胁到人类健康。

还有一些新的水平转移元件,如整合性结合元件(integrative and conjugative element, ICE)、GEI等也在耐药基因的水平转移中发挥着重要作用。ICE可以将耐药基因整合进宿主染色体或是将其从染色体上剪切下来,以往认为ICE主要介导对磺胺甲恶唑和甲氧苄啶的抗性基因的转移,现在发现ICE还能介导*ermB*、*tetO*、*bla_{CM}*等多种耐药基因的转移^[61-62]。GEI是较大的相对独立的基因片段,岛两侧一般有重复序列,岛内有整合子等可移动元件及多个编码耐药性的基因。Hall^[63]在沙门氏菌的一个GEI上发现了编码氨基青霉素、氯霉素、四环素、链霉素等7种抗生素的耐药基因。还有些GEI同时携带抗性基因和毒力基因,给宿主菌提供选择优势^[54]。

2.1.3 细菌耐药“网络”

近几年随着组学技术的兴起,在对耐药机制的进一步研究中,逐渐认识到细菌是一个生命整体,仅凭天然性耐药和获得性耐药这些靶向耐药机制,还不足以进一步解释细菌耐药性的产生和传播。研究者们开始更多地从“代谢网络”和“基因网络”的层面去探寻。目前,研究最多的是DNA损伤诱导反应(bacterial DNA damage induction reaction, SOS)介导的遗传网络调节细菌耐药性。例如,喹诺酮类抗生素会与DNA促旋酶、DNA拓扑异构酶结合,使DNA在复制过程中子代DNA无法形成双链结构,这时RecA蛋白会被激活,促使LexA蛋白的自我剪切,引发一系列SOS,修复受损的DNA,解除抗生素对细菌的威胁。Baharoglu等^[64]则发现霍乱弧菌在氨基糖苷类抗生素的压力下,具有碱基切除修复系统功能的MutY蛋白会大量表达,激活SOS反应,翻译RpoS蛋白,阻止氨基糖苷类抗生素产生的活性氧簇对细菌DNA的进一步损伤。还有研究显示抗生素诱导的SOS不仅能使细菌自我修复损伤,对抗生素产生一定的耐受性,还可促使整合酶基因表达介导耐药基因水平转移。当环境中存在抗生素压力并导致DNA损伤时,转录阻遏蛋白LexA便会促进整合酶基因表达,引导抗性基因转录翻译,使宿主菌获得对环境中抗生素的抵抗力^[65]。

此外,随着生物信息学的进一步发展,基因聚类分析、功能富集分析、基因相互作用网络构建等分析方法也会逐渐应用到细菌耐药性分析中。Anitha等^[66]通过基因网络,将参与金黄色葡萄球菌抗生素耐药性的重要蛋白进行集群,分析它们的互作关系。这些方法能帮助研究者更好地从宏观上去理解细菌的耐药模式和相应的分子机制,发现更多有价值的探索方向。

2.2 动物源性食品中细菌耐药性产生的原因

历来公认,在养殖业和农业中使用抗生素是耐药菌和耐药基因向食源性动物和人类传播的主要途径之一。为了追求高额的利润,缓解高密度养殖带来的压力,大量抗生素被添加在动物饲料或是投放到养殖水体中,用于促进生长和预防疾病。当动物食用了拌有抗生素的饲料,或是被注射了抗生素后,体内的敏感细菌死亡,有抗性的细菌则继续存活并不断地生长繁殖,产生具有同样耐药性的后代,进行垂直传播。在抗生素的压力下,这些耐药菌还能通过基因转移这种水平传播方式向环境中的其他菌株甚至是不同种属的细菌“散播”抗性基因。在我国,每年有8.7万t的抗生素被添加到动物饲料中,占兽用抗生素用量的90%^[3]。有研究表明,大部分抗生素都不能被动物机体吸收,有高达85%以上抗生素以原形或代谢物形式经禽粪便排到环境中,污染环境。加之医用抗生素的污染及生产过程中抗生素废水的肆意排放,使得不少抗生素残留在土壤和水源中。在我国畜

禽饲养场及蔬菜基地的土壤中均检测到大量残留的抗生素,相似的结果也出现在其他国家中^[67]。在欧洲、美洲、非洲的一些河流中同样检测出残留的四环素、土霉素、红霉素、氧氟沙星、磺胺嘧啶、强力霉素等抗生素^[68-69],在黄浦江、珠江及香港的一些河流中也存在类似的情况^[70-72]。

在环境中抗生素的压力下,细菌通过整合子、ICE、Tn、质粒等各种方式获取环境中的抗性基因,抵抗外界压力,抗性基因复制频率和水平转移的频率增高。不仅如此,细菌还将抗生素抗性基因固定在基因组中,形成含有多种抗性基因的抗性岛,导致多耐药菌株产生^[73]。某些特殊的环境已经成为了耐药菌库和抗性基因库。国内外均有不少文献报道在畜禽养殖场和渔场河流中存在大量种类丰富的抗生素抗性基因和耐药菌,其中以红霉素抗性基因、四环素抗性基因和磺胺类抗性基因的检出频率最多^[74-76]。另外,整合酶基因等介导抗性基因传播的关键因子也在这些环境中被检测出^[74-76],这侧面证实了抗性基因在这些环境中具有较高的转移频率。

除了通过快速“收购”环境中的耐药基因,耐药菌还可以通过食品加工链在动物源性食品中迅速产生传播。残存在动物体内的耐药菌在动物屠宰加工时,通过生物膜吸附在肉类及加工器具表面,造成污染。在生物膜的保护下,吸附在食品和加工器具表面的耐药菌并不容易被常规的清洗和普通的除菌剂清除^[77-78],残存食品中的耐药菌利用食品基质中丰富的营养进行繁殖扩散,而吸附在加工器具表面的耐药菌也在“伺机”寻找着新的污染目标。通过这样的交叉污染,耐药菌在不同的动物源性食品中相互传播。

另外,还有研究报道,动物源性食品中有些耐药菌来源于人类,尤其是大肠杆菌、沙门氏菌和弯曲杆菌等人畜共患的致病菌^[79]。Ahlem等^[80]从动物源性食品中分离的大肠杆菌有26%产超广谱 β -内酰胺酶,然而在这些动物样本的粪便中分离的大肠杆菌却无一产超广谱 β -内酰胺酶,这表明这些食品中被检测出的耐药菌很可能来自于人体。

3 动物源性食品中耐药菌的预防与监控

3.1 兽用抗生素的合理使用

虽然现在已经有许多证据表明,在畜牧业和养殖业中使用抗生素会造成耐药菌的产生和传播,感染人体,威胁到人类的健康^[81]。然而抗生素能减少动物的疾病和痛苦,减少农牧业上不必要的损失。我们不能盲目禁止抗生素在农牧业中的使用,但需要合理控制,减少其对人类健康的威胁。

根据兽用抗生素的用药安全、药物残留和药物抑制机制等,将兽用抗生素分为治疗抗生素和饲料抗生素2类。各国对抗生素的使用控制措施有所不同。欧盟采取的是比较严厉的“预防原则”,从2006年就开始禁止将兽用抗生素作促生长剂添加到动物饲料中。美国食品药品监督管理局则规定新批的抗生素不能用作动物饲料的添加剂,只能作为兽用处方药使用。近几年美国对兽用抗生素管理也逐步变得更为严格,从2010年开始将医用抗生素和兽用抗生素分开,逐步禁止有重要医学用途的抗生素在养殖业中使用,从2014年起禁止在动物饲料中添加预防性抗生素,并执行严格的监督计划。中国也制定了《兽药管理条例》、《兽药生产质量管理规范》、《兽药经营质量管理规范》等文件来规范兽用抗生素的生产、销售和使用,并将逐步采取举措来防止抗生素耐药性在食物链中的产生和传播^[82]。2016年8月我国颁布了《遏制细菌耐药国家行动计划(2016—2020年)》,提出将加强兽用抗菌药物的监督管理,实施分类管理制度;加强兽药饲料添加剂的管理,减少预防性用药,禁止重要的医用抗菌药物在养殖业中使用;制定医用、兽用抗菌药物分类表,人兽共用抗菌药物或易产生交叉耐药性的抗菌药物将逐步退出使用,使动物源性食品中主要耐药菌的增长得到有效控制^[83]。

3.2 兽用抗生素的风险评估

合理使用抗生素,能减少动物源性食品中耐药菌的产生概率,保障食品安全。这不仅需要出台相关法律进行约束,而且需要提供相关的风险评估作为依据,需要对目前正在使用的兽用抗生素以及新开发抗生素进行抗性风险评估。评估方法主要是检测最低预防浓度下连续传代细菌的突变率。然而这种方法还有所不足,并不能为新药的开发和使用提供令人信服的数据支持,新的评估方式还有待开发和完善。例如,确定在各种宏基因组中是否已经预先存在了各种抗性基因,这些抗性基因是否可以转移到相关病原体中稳定存在或是继续转移等^[84-85]。此外,研究基因突变使耐药菌对抗生素抗性加强的机制和相关系数也十分重要。通过这些数据再结合饲养环境及动物宿主体内细菌种群分布等信息,可以更好地预测微生物对抗生素的抗性,开发和使用更有针对性的药物。

3.3 耐药菌和基因的检测 and 监控

掌握耐药菌在动物源性食品中产生和传播情况,进行有效的阻断,对动物源性食品中的耐药菌和基因的监控十分必要。完整的动物源性耐药菌监控体系应该涉及动物源性食品及其加工过程。根据实际情况,各国对动物源性食品中耐药菌的监测上有所侧重。美国主要是对零售的猪、牛、鸡肉中的耐药沙门氏菌、耐药弯曲杆菌、耐药肠球菌进行监测,欧洲则主要对猪、牛、禽肉

中的大肠杆菌、葡萄球菌、肠球菌和沙门氏菌等进行耐药性监测。目前,我国动物源性食品中耐药菌监测体系尚不完全,但在2016—2020年间,依托现有机构,将逐步建立健全全国兽用抗菌药物应用和动物源性食品中细菌耐药监测网络,监测范围将覆盖养殖场和动物源性食品流通市场。在获取动物源性食品中细菌耐药流行病学数据的同时,建立细菌耐药参比实验室和标本库,完善检测技术^[83]。

目前耐药菌的检测主要采用微生物分离鉴定和聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)等技术。然而耐药菌传播迅速,多耐药性菌株层出不穷,传统的微生物学研究方法和技术已有些显得捉襟见肘,新的技术和方法需要被开发应用。英国剑桥大学的Claudio和英国临床微生物实验室的Ellington指出下一代测序技术(next generation sequencing, NGS)有望在细菌耐药性的研究及控制方面取得重大进展^[86]。NGS的优势之一是能以前所未有的分辨率来“洞察”抗生素耐药性的产生和传播^[87]。Bryant等^[88]用NGS的方式证明了多重耐药的脓肿分枝杆菌的耐药基因的转移机制。研究发现,脓肿分枝杆菌的耐药基因不仅能在患者间转移,并且还能转移到别的病原体中,例如铜绿假单胞菌。此外,对耐药基因在人与动物源性食品间传播的研究,NGS也显示了其独有的优势。在比较了从苏格兰当地人体内分离的鼠伤寒沙门氏菌和当地动物体内分离的伤寒沙门氏菌的耐药基因后,得出了与以往研究不同的结论,即耐药基因并非由当地动物传播,而是来源于进口的动物源性食品^[89]。虽然,目前NGS在动物源性食品耐药菌的监控上,成本显得太过高昂,但随着大数据思潮的深入,检测技术的提升,NGS将有望在对耐药性的检测和控制中得到大规模的应用。并且,随着对耐药机理的深入研究和新药的研发验证,测序技术在细菌耐药性研究和风险控制方面的优势将会显得越来越明显。

4 结 语

加强食品中耐药菌的检测和监控,强化动物源性食品中耐药菌流行规律的研究,建立与耐药菌的遗传特征、传播速度与传播规律等相关的预测模型,将有助于完善科学的公共卫生政策,制定有效的干预策略,落实食品生产的关键控制点,从而确保我国的食品安全。

参考文献:

- [1] 陆昌华, 胡肄农, 甘泉, 等. 动物食品质量安全风险因素分析及防控对策[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(3): 685-690. DOI:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.03.035.
- [2] 国家统计局. 2015年国民经济和社会发展统计公报[EB/OL]. (2016-02-29) [2016-08-31]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/201602/t20160229_1323991.html.

- [3] 胡燕, 白继庚, 胡先明, 等. 我国抗生素滥用现状、原因及对策探讨[J]. 中国社会医学杂志, 2013, 30(2): 128-130. DOI:10.3969/j.issn.1673-5625.2013.02.021.
- [4] THEURETZBACHER U. Global antibacterial resistance: the never-ending story[J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2013, 1(2): 63-69. DOI:10.1016/j.jgar.2013.03.010.
- [5] FAUCI A S, MARSTON H D. The perpetual challenge of antimicrobial resistance[J]. The Journal of the American Medical Association, 2014, 311(18): 1853-1854. DOI:10.1001/jama.2014.2465.
- [6] WITTE W, STROMMINGER B, STANEK C, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, central Europe[J]. Emerging Infectious Diseases, 2007, 13(2): 255-258. DOI:10.3201/eid1302.060924.
- [7] SMITH T C, MALE M J, HARPER A L, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain ST398 is present in midwestern U.S. swine and swine workers[J]. PLoS ONE, 2009, 4(1): e4258. DOI:10.1371/journal.pone.0004258.
- [8] Center for Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of Human *Salmonella* heidelberg infections linked to ground turkey (final update)[EB/OL]. (2011-11-10) [2016-08-31]. <http://www.cdc.gov/salmonella/2011/ground-turkey-11-10-2011.html>.
- [9] WIELINGA P R, JENSEN V F, AARESTRUP F M, et al. Evidence-based policy for controlling antimicrobial resistance in the food chain in Denmark[J]. Food Control, 2014, 40(1): 185-192. DOI:10.1016/j.foodcont.2013.11.047.
- [10] WOODFORD N, WAREHAM D W, GUERRA B, et al. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* and non-*Enterobacteriaceae* from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making?[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2014, 69(2): 287-291. DOI:10.1093/jac/dkt392.
- [11] BARRIERE S L. Clinical, economic and societal impact of antibiotic resistance[J]. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2015, 16(2): 151-153. DOI:10.1517/14656566.2015.983077.
- [12] MIZAN M F R, JAHID I K, HA S. Microbial biofilms in seafood: a food-hygiene challenge[J]. Food Microbiology, 2015, 49: 41-55. DOI:10.1016/j.fm.2015.01.009.
- [13] WANG Chinling, SILVA J L. Prevalence and characteristics of *Aeromonas* species isolated from processed channel catfish[J]. Journal of Food Protection, 1999, 62(1): 30-34. DOI:10.1016/j.lwt.2013.10.012.
- [14] VIVEKANANDHAN G, SAVITHAMANI K, HATHA A A M, et al. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of south India[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 76(1): 165-168. DOI:10.1016/S0168-1605(02)00009-0.
- [15] KASKHEDIKAR M, CHHABRA D. Multiple drug resistance in *Aeromonas hydrophila* isolates of fish[J]. Veterinary World, 2010, 3(2): 76-77.
- [16] NGUYEN H N K, VAN T T H, NGUYEN H T, et al. Molecular characterization of antibiotic resistance in *Pseudomonas* and *Aeromonas* isolates from catfish of the Mekong Delta, Vietnam[J]. Veterinary Microbiology, 2014, 171(34): 397-405. DOI:10.1016/j.vetmic.2014.01.028.
- [17] FALLAH A A, SAEI-DEHKORDI S S, MAHZOUNIEH M. Occurrence and antibiotic resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood products and market and processing environments in Iran[J]. Food Control, 2013, 34(2): 630-636. DOI:10.1016/j.foodcont.2013.06.015.
- [18] RODAS-SUÁREZ O, FLORES-PEDROCHE F J, BETANCOURT-RULE J, et al. Occurrence and antibiotic sensitivity of *Listeria monocytogenes* strains isolated from oysters, fish, and estuarine water[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(11): 7410-7412. DOI:10.1128/AEM.00956-06.
- [19] GESER N, STEPHAN R, HÄCHLER H. Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* in food producing animals, minced meat and raw milk[J]. BMC Veterinary Research, 2012, 8(1): 1-9. DOI:10.1186/1746-6148-8-21.
- [20] YANG B W, QU D, ZHANG X L, et al. Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China[J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 141(1/2): 63-72. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.015.
- [21] PESAVENTO G, DUCCI B, NIERI D, et al. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Listeria* spp. isolated from raw meat and retail foods[J]. Food Control, 2010, 21(5): 708-713. DOI:10.1016/j.foodcont.2009.10.012.
- [22] SPOHR M, RAU J, FRIEDRICH A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in three dairy herds in southwest Germany[J]. Zoonoses and Public Health, 2011, 58(4): 252-261. DOI:10.1111/j.1863-2378.2010.01344.x.
- [23] RICHTER A, STING R, POPP C, et al. Prevalence of types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in turkey flocks and personnel attending the animals[J]. Epidemiology and Infection, 2012, 140(12): 2223-2232. DOI:10.1017/S095026881200009x.
- [24] KRAUSHAAR B, FETSCH A. First description of PVL-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in wild boar meat[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 186(1): 68-73. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.018.
- [25] AMINI M, DOUST S A H, MOBAREZ A M. Prevalence of *vanA* Gene in vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) isolated from chicken and turkey meat in Tehran, Iran[J]. Medical Laboratory Journal, 2015, 8(5): 64-69.
- [26] GOUSIA P, ECONOMOU V, BOZIDIS P, et al. Vancomycin-resistance phenotypes, vancomycin-resistance genes, and resistance to antibiotics of *Enterococci* isolated from food of animal origin[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2015, 12(3): 214-220. DOI:10.1089/fpd.2014.1832.
- [27] ZHONG X, WU Q, ZHANG J, et al. Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* isolated from retail food in China[J]. Food Control, 2016, 62: 10-15. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.09.032.
- [28] WEI B, CHA S Y, YOON R H, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from retail chicken and duck meat in South Korea[J]. Food Control, 2016, 62: 63-68. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.10.013.
- [29] PANZENHAGEN P H N, AGUIAR W S, FRASAO B D S, et al. Prevalence and fluoroquinolones resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* isolates from poultry carcasses in Rio de Janeiro, Brazil[J]. Food Control, 2016, 61: 243-247. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.10.002.
- [30] ZENDEHBAD B, KHAYATZADEH J, ALIPOUR A. Prevalence, seasonality and antibiotic susceptibility of *Campylobacter* spp. isolates of retail broiler meat in Iran[J]. Food Control, 2015, 53: 41-45. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.01.008.
- [31] JAMALI H, RADMEHR B, THONG K L. Prevalence, characterisation, and antimicrobial resistance of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk in farm bulk tanks[J]. Food Control, 2013, 34(1): 121-125. DOI:10.1016/j.foodcont.2013.04.023.

- [32] JIMÉNEZ E, LADERO V, CHICO I, et al. Antibiotic resistance, virulence determinants and production of biogenic amines among *Enterococci* from ovine, feline, canine, porcine and human milk[J]. BMC Microbiology, 2013, 13(1): 288. DOI:10.1186/1471-2180-13-288.
- [33] MAKOVEC J A, RUEGG D P L. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8 905 samples (1994-2001)[J]. Journal of the American Veterinary Medical Association, 2003, 222(11): 1582-1589. DOI:10.2460/javma.2003.222.1582.
- [34] AL-ASHMAWY M A, SALLAM K I, ABD-ELGHANY S M, et al. Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2016, 13(3): 156-162. DOI:10.1089/fpd.2015.2038.
- [35] CARUSO M, LATORRE L, SANTAGADA G, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in sheep and goat bulk tank milk from southern Italy[J]. Small Ruminant Research, 2016, 135: 26-31. DOI:10.1016/j.smallrumres.2015.12.023.
- [36] TADESSE D A, ZHAO S, TONG E, et al. Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002[J]. Emerging Infectious Diseases, 2012, 18(5): 741-749. DOI:10.3201/eid1805.111153.
- [37] 郑璇, 郑育洪. 国内外超级细菌的研究进展及防控措施[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2012, 28(1): 69-75.
- [38] JANECKO N, MARTZ S L, AVERY B P, et al. Carbapenem-resistant *Enterobacter* spp. in retail seafood imported from southeast Asia to Canada[J]. Emerging Infectious Diseases, 2016, 22(9): 1675. DOI:10.3201/eid2209.160305.
- [39] HAMZA E, DORGHAM S M, HAMZA D A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in broiler poultry farming in Egypt[J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2016, 7: 8-10. DOI:10.1016/j.jgar.2016.06.004.
- [40] LIU Y Y, WANG Y, WALSH T R, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study[J]. Lancet Infectious Diseases, 2015, 16(2): 161-168. DOI:10.1016/S1473-3099(15)00424-7.
- [41] KUMARASAMY K K, TOLEMAN M A, WALSH T R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2010, 10(9): 597-602. DOI:10.1016/S1473-3099(10)70143-2.
- [42] NORDMANN P, POIREL L, TOLEMAN M A, et al. Does broad-spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria?[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2011, 66(4): 689-692. DOI:10.1093/jac/dkq520.
- [43] HASMAN H, HAMMERUM A M, HANSEN F, et al. Detection of *mcr-1* encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015[J]. Eurosurveillance, 2015, 20(49): 305-308. DOI:10.2807/1560-7917.ES.2015.20.49.30085.
- [44] BILLAL D S, FENG J, LEPROHON P, et al. Whole genome analysis of linezolid resistance in *Streptococcus pneumoniae* reveals resistance and compensatory mutations[J]. BMC Genomics, 2011, 12(1): 1-10. DOI:10.1186/1471-2164-12-512.
- [45] NIJHUIS R H, SEEVERS T T, VAN DER BEGT D S, et al. High levels of macrolide resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* warrant antibiotic susceptibility-guided treatment[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2015, 70(9): 2515-2518. DOI:10.1093/jac/dkv136.
- [46] BAYM M, LIEBERMAN T D, KELSIC E D, et al. Spatiotemporal microbial evolution on antibiotic landscapes[J]. Science, 2016, 353(6304): 1147-1151. DOI:10.1126/science.aag0822.
- [47] 茆海丰, 刘洪书, 赵勇, 等. 大肠埃希菌对喹诺酮类抗菌药物耐药机制研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(15): 3375-3377. DOI:10.11816/cn.ni.2015-140520.
- [48] SCHENK M F, SZENDRO I G, SALVERDA M L M, et al. Patterns of epistasis between beneficial mutations in an antibiotic resistance gene[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(8): 1779-1787. DOI:10.1093/molbev/mst096.
- [49] CAMBRAY G, GUEROUT A M, MAZEL D. Integrins[J]. Annual Review of Genetics, 2010, 44(1): 141-166. DOI:10.1146/annurev-genet-102209-163504.
- [50] BARLOW R S, FEGAN N, GOBIUS K S. Integron-containing bacteria in faeces of cattle from different production systems at slaughter[J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 107(2): 540-545. DOI:10.1111/j.1365-2672.2009.04240.x.
- [51] KRISTTANSSON E, FICK J, JANZON A, et al. Pyrosequencing of antibiotic-contaminated river sediments reveals high levels of resistance and gene transfer elements[J]. PLoS ONE, 2011, 6(2): e17038. DOI:10.1371/journal.pone.0017038.
- [52] DIDEIER H, CATHERINE L, MICHELLE T, et al. Evidence for induction of integron-based antibiotic resistance by the SOS response in a clinical setting[J]. Plos Pathogens, 2012, 8(6): e1002778. DOI:10.1371/journal.ppat.1002778.
- [53] SHIOJIMA T, FUJIKI Y, SAGAI H, et al. Prevalence of *Streptococcus pneumoniae* isolates bearing macrolide resistance genes in association with integrase genes of conjugative transposons in Japan[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2005, 11(10): 808-813. DOI:10.1111/j.1469-0691.2005.01232.x.
- [54] DENG H, SUN J, MA J, et al. Identification of the multi-resistance gene *cfr* in *Escherichia coli* isolates of animal origin[J]. PLoS ONE, 2014, 9(7): e102378. DOI:10.1371/journal.pone.0102378.
- [55] CAIN A K, LIU X L, DJORDJEVIC S P, et al. Transposons related to Tn1696 in IncH12 plasmids in multiply antibiotic resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from Australian animals[J]. Microbial Drug Resistance, 2010, 16(3): 197-202. DOI:10.1089/mdr.2010.0042.
- [56] ANONYMOUS. Correction: arole for Tn6029 in the evolution of the complex antibiotic resistance gene loci in genomic island 3 in enteroaggregative hemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4[J]. PLoS ONE, 2015, 10(4): e0126197. DOI:10.1371/journal.pone.0126197.
- [57] NIKAIDO H. Multidrug resistance in bacteria[J]. Annual Review of Biochemistry, 2009, 78: 119-146. DOI:10.1146/annurev-biochem.78.082907.145923.
- [58] HAENNI M, POIREL L, KIEFFER N, et al. Co-occurrence of extended spectrum β -lactamase and MCR-1 encoding genes on plasmids[J]. Lancet Infectious Diseases, 2016, 16(3): 281-282. DOI:10.1016/S1473-3099(16)00007-4.
- [59] MALHOTRA-KUMAR S, XAVIER B B, DAS A J, et al. Colistin resistance gene *mcr-1*, harboured on a multidrug resistant plasmid[J]. Lancet Infectious Diseases, 2016, 16(3): 283-284. DOI:10.1016/S1473-3099(16)00012-8.
- [60] HUANG K, SONG Y, ZHANG Q, et al. Characterisation of a novel integrative and conjugative element ICESsD9 carrying *erm*(B) and *tet*(O) resistance determinants in *Streptococcus suis*, and the distribution of ICESsD9-like elements in clinical isolates[J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2016, 7: 13-18. DOI:10.1016/j.jgar.2016.05.008.

- [61] ABERKANE S, COMPAIN F, DECREÉ D, et al. High prevalence of SXT/R391-related integrative and conjugative elements carrying *bla_{CM2}* in *Proteus mirabilis* from gull isolates in the south of France[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015, 40(3): 307-316. DOI:10.1128/AAC.01654-15.
- [62] SCHRÖDER G, LANKA E. The mating pair formation system of conjugative plasmids: a versatile secretion machinery for transfer of proteins and DNA[J]. Plasmid, 2005, 54(1): 1-25. DOI:10.1016/j.plasmid.2005.02.001.
- [63] HALL R M. *Salmonella* genomic islands and antibiotic resistance in *Salmonella enterica*[J]. Future Microbiology, 2010, 5(10): 1525-1538. DOI:10.2217/fmb.10.122.
- [64] BAHAROGLU Z, KRIN E, MAZEL D. RpoS plays a central role in the SOS induction by sub-lethal aminoglycoside concentrations in *Vibrio cholerae*[J]. Plos Genet, 2013, 9(4): e1003421. DOI:10.1371/journal.pgen.1003421.
- [65] CAMBRAY G, SANCHEZ-ALBEROLA N, CAMPOY S, et al. Prevalence of SOS-mediated control of integron integrase expression as an adaptive trait of chromosomal and mobile integrons[J]. Mobile DNA, 2011, 2(1): 1-15. DOI:10.1186/1759-8753-2-6.
- [66] ANITHA P, ANBARASU A, RAMAIAH S. Gene network analysis reveals the association of important functional partners involved in antibiotic resistance: a report on an important pathogenic bacterium *Staphylococcus aureus*[J]. Gene, 2016, 575(2): 253-263. DOI:10.1016/j.gene.2015.08.068.
- [67] 王敏, 唐景春. 土壤中的抗生素污染及其生态毒性研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(增刊1): 261-266.
- [68] JOHNSON A C, KELLER V, DUMONT E, et al. Assessing the concentrations and risks of toxicity from the antibiotics ciprofloxacin, sulfamethoxazole, trimethoprim and erythromycin in European rivers[J]. Science of the Total Environment, 2015, 511(1): 747-755. DOI:10.1016/j.scitotenv.2014.12.055.
- [69] NGUMBA E, GACHANJA A, TUHKANEN T. Occurrence of selected antibiotics and antiretroviral drugs in Nairobi River Basin, Kenya[J]. Science of the Total Environment, 2016, 539(1): 206-213. DOI:10.1016/j.scitotenv.2015.08.139.
- [70] DENG W, LI N, ZHENG H, et al. Occurrence and risk assessment of antibiotics in river water in Hong Kong[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2016, 125: 121-127. DOI:10.1016/j.ecoenv.2015.12.002.
- [71] CHEN K, ZHOU J L. Occurrence and behavior of antibiotics in water and sediments from the Huangpu River, Shanghai, China[J]. Chemosphere, 2014, 95(1): 604-612. DOI:10.1016/j.chemosphere.2013.09.119.
- [72] LIANG X M, CHEN B W, NIE X P, et al. The distribution and partitioning of common antibiotics in water and sediment of the Pearl River Estuary, South China[J]. Chemosphere, 2013, 92(11): 1410-1416. DOI:10.1016/j.chemosphere.2013.03.044.
- [73] GILLINGS M R, STOKES H W. Are humans increasing bacterial evolvability?[J]. Trends in Ecology & Evolution, 2012, 27(6): 346-352. DOI:10.1016/j.tree.2012.02.006.
- [74] SUN M, YE M, WU J, et al. Positive relationship detected between soil bioaccessible organic pollutants and antibiotic resistance genes at dairy farms in Nanjing, Eastern China[J]. Environmental Pollution, 2015, 206: 421-428. DOI:10.1016/j.envpol.2015.07.022.
- [75] HARNISZ M, KORZENIEWSKA E, GOŁAŚ I. The impact of a freshwater fish farm on the community of tetracycline-resistant bacteria and the structure of tetracycline resistance genes in river water[J]. Chemosphere, 2015, 128: 134-141. DOI:10.1016/j.chemosphere.2015.01.035.
- [76] MOORE J E, HUANG J, YU P, et al. High diversity of bacterial pathogens and antibiotic resistance in salmonid fish farm pond water as determined by molecular identification employing 16S rDNA PCR, gene sequencing and total antibiotic susceptibility techniques[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014, 108: 281-286. DOI:10.1016/j.ecoenv.2014.05.022.
- [77] GIAOURIS E, HEIR E, HÉBRAUD M, et al. Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods[J]. Meat Science, 2014, 97(3): 298-309. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.05.023.
- [78] HOUDT R V, MICHIELS C W. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 109(4): 1117-1131. DOI:10.1111/j.1365-2672.2010.04756.x.
- [79] KIRBIS A, KRIZMAN M. Spread of antibiotic resistant bacteria from food of animal origin to humans and *vice versa*[J]. Procedia Food Science, 2015, 5: 148-151. DOI:10.1016/j.profoo.2015.09.043.
- [80] JOUINI A, VINUÉ L, SLAMA K B, et al. Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum beta-lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunisia[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2007, 60(5): 1137-1141. DOI:10.1093/jac/dkm316.
- [81] CHANTZIARAS I, BOYEN F, CALLENS B, et al. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2014, 69(3): 827-834. DOI:10.1093/jac/dkt443.
- [82] WALSH T R, WU Y. China bans colistin as a feed additive for animals[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2016, 16(10): 1102-1103. DOI:10.1016/S1473-3099(16)30329-2.
- [83] 国家卫生和计划生育委员会. 遏制细菌耐药国家行动计划(2016—2020年)[EB/OL]. (2016-08-25) [2016-08-31]. <http://www.nhfp.gov.cn/yzygj/s3593/201608/f1ed26a0c8774e1c8fc89dd481ec84d7.shtml>.
- [84] ANDERSSON D I. Improving predictions of the risk of resistance development against new and old antibiotics[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2015, 21(10): 894-898. DOI:10.1016/j.cmi.2015.05.012.
- [85] ASHBOLT N J, AMÉZQUITA A, BACKHAUS T, et al. Human health risk assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance[J]. Environmental Health Perspectives, 2013, 121(9): 993-1001. DOI:10.1016/j.scitotenv.2013.01.032.
- [86] GRAD Y H, KIRKCALDY R D, TREES D, et al. Genomic epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced susceptibility to cefixime in the USA: a retrospective observational study[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2014, 14(3): 220-226. DOI:10.1016/S1473-3099(13)70693-5.
- [87] KÖSER C U, ELLINGTON M J, PEACOCK S J. Whole-genome sequencing to control antimicrobial resistance[J]. Trends in Genetics, 2014, 30(9): 401-407. DOI:10.1016/j.tig.2014.07.003.
- [88] BRYANT J M, GROGONO D M, GREAVES D, et al. Whole-genome sequencing to identify transmission of *Mycobacterium abscessus* between patients with cystic fibrosis: a retrospective cohort study[J]. The Lancet, 2013, 381(9877): 1551-1560. DOI:10.1016/S0140-6736(13)60632-7.
- [89] MATHER A E, REID S W J, MASKELL D J, et al. Distinguishable epidemics of multidrug-resistant *Salmonella Typhimurium* DT104 in different hosts[J]. Science, 2013, 341(6153): 1514-1517. DOI:10.1126/science.1240578.