

新疆部分地区食源性大肠杆菌耐药性的研究

罗娟, 姬华, 王庆玲, 周红, 程绪林, 党亚杰, 刘文生

(石河子大学食品学院, 新疆石河子 832000)

摘要: 本研究对新疆乌鲁木齐、石河子、奎屯农贸市场以及超市的肉品、蔬菜、乳制品和即食食品中的大肠杆菌进行检测, 从198份样品中分离出63株大肠杆菌。采用K-B法, 对63株大肠杆菌进行17种抗生素敏感试验; 采用PCR技术检测9种耐药基因。药敏结果表明, 63株大肠杆菌对四环素(44.44%)、氨苄西林(39.68%)和萘啶酮酸(38.10%)耐药率较高, 所有受试菌株对亚胺培南(0.00%)敏感性最强; 肉品、蔬菜分离株对四环素(57.14%、52.94%)耐药性最强, 乳源性分离株对氨苄西林(26.67%)耐药性最强, 即食食品分离株对17种抗生素敏感; 乌鲁木齐、奎屯、石河子分离株对四环素(65.00%、40.00%、32.14%)耐药率最高。PCR结果表明, 耐药菌株中, *sul2* 耐药基因检出率最高(75.00%), *aadB* 耐药基因的检出率最低(19.23%)。1重以上耐药菌株占总菌数的63.49%, 3重以上耐药菌株占总菌数的39.68%。新疆地区食源性大肠杆菌多重耐药性比较严重。

关键词: 食品; 大肠杆菌; K-B法; 耐药性

文章编号: 1673-9078(2016)8-271-277

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.8.041

Drug Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Different Foods in Xinjiang

LUO Juan, JI Hua, WANG Qing-ling, ZHOU Hong, CHENG Xu-lin, DANG Ya-jie, LIU Wen-sheng

(Food College, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

Abstract: *Escherichia coli* strains were isolated from meat products, vegetables, dairy products, and instant foods in farmers markets and supermarkets of Urumqi city, Shihezi city, and Kuitun city of Xinjiang, and 63 *E. coli* strains were isolated from 198 food samples. Drug resistances to 17 antibiotics in 63 *E. coli* strains were determined using the Kirby-Bauer (K-B) method, and polymerase chain reaction (PCR) was used to measure nine drug-resistance genes. The results indicated that 63 *E. coli* strains showed high resistance to tetracycline (44.44%), ampicillin (39.68%), and nalidixic acid (38.10%), and all test isolates showed the highest susceptibility to imipenem (0.00%). Isolates from meat products and vegetables showed the highest drug resistance to tetracycline (57.14% and 52.94%, respectively), isolates from dairy products showed the highest drug resistance to ampicillin (26.67%), and isolates from instant foods were susceptible to 17 antibiotics. The isolates from Urumqi, Shihezi, and Kuitun exhibited the highest resistance to tetracycline (65.00%, 40.00%, and 32.14%, respectively). PCR results showed that among the resistant strains, the detection rate for the *sul2* gene was the highest (75.00%), and the detection rate for the *aadB* gene was lowest (19.23%). The multiple-antibiotic-resistant and triple-antibiotic isolates accounted for 63.49% and 39.68% of the total isolates, respectively. Foodborne *E. coli* in Xinjiang showed a high level of resistance to common antibiotics.

Key words: *Escherichia coli*; drug resistance; food; Kirby-Bauer method

大肠杆菌 (*Escherichia coli*), 革兰氏阴性无芽孢杆菌, 周生鞭毛和菌毛, 是人和动物肠道的共生菌, 也是水源和食品粪便污染指示菌。大肠杆菌是一种“条件致病菌”, 部分大肠杆菌能产生肠毒素, 引起幼畜及婴儿的严重腹泻。大肠杆菌已被证明可与其它

收稿日期: 2015-06-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(31301469); 石河子大学高层次人才启动项目(RCZX201225); 石河子大学青年骨干教师项目(3152SPXY02033)

作者简介: 罗娟(1991-), 女, 硕士生, 研究方向: 食品质量与安全

通讯作者: 姬华(1980-), 女, 副教授, 研究方向: 食品质量与安全; 王庆玲(1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品质量与安全

细菌之间进行遗传物质交换, 而且易通过食物链和水在不同的生态系统间传播^[1-4]。大肠杆菌可作为耐药基因贮藏库, 通过食物链或接触的方式将其携带的耐药基因进行传播和扩散。大肠杆菌不仅可以通过外源捕获耐药基因和自身基因突变产生耐药性, 还可将耐药因子(包括转座子、质粒、整合子和其他基因元件)进行垂直和水平传播, 成为动物体内潜在的耐药基因库^[5-7]。

因病原微生物的感染导致的疾病使社会财富和人的健康受到极大的损害, 有研究指出食品是耐药性细菌传播的一个重要载体, 食物的消费是人类感染致病

菌的重要途径。抗菌药物是目前动物生产和疫病防治重要的有力武器,但是由于抗菌药物的不科学使用与广泛应用,细菌的耐药现象日趋严重。大肠杆菌是耐药基因的重要传播介体,大肠杆菌对药物产生的选择压力更为敏感,同时也更适合携带可移动基因完成传染,由大肠杆菌耐药菌株引起感染的现象日益严重,同时也有研究表明抗生素在动物中的使用有潜在影响,耐药菌可能通过食物链感染人和动物^[8-11]。

目前,新疆对食源性大肠杆菌耐药性的研究较少。本文通过对北疆地区(乌鲁木齐市、奎屯市、石河子市)零售肉品、果蔬、乳制品和即食食品中大肠杆菌的耐药性进行分析,以及对不同食品来源的菌株耐药性进行监测,较全面的了解北疆部分地区大肠杆菌耐药性发展和流行状况,为临床用药和控制大肠杆菌疾病的流行提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

198份肉品、蔬菜、乳制品和即食食品采集于北疆地区(石河子市、奎屯市、乌鲁木齐市)各大超市和农贸市场,分离得到63份大肠杆菌阳性样品。

1.1.2 药敏纸片与培养基

氨基糖苷类:庆大霉素、链霉素、阿米卡星;四环素类:四环素;氯霉素类:氯霉素;喹诺酮类:环丙沙星、萘啶酮酸、左氧氟沙星;磺胺类:复方新诺明; β -内酰胺类:氨苄西林、头孢噻肟、头孢他啶、亚胺培南、哌拉西林、阿莫西林;大环内酯类:红霉素;多粘菌素类:多粘菌素B。抗生素药敏纸片购买于杭州天和微生物试剂有限公司。LST培养基、EC培养基、EMB培养基、MH琼脂培养基、LB琼脂培养基(青岛海博生物技术有限公司)。

1.1.3 仪器与设备

净化工作台(SW-CJ型,苏州安泰空气技术有限公司);自动高压灭菌锅(Lab Tech,上海弘芯电子科技有限公司);生化培养箱(SPX-250B-Z型,上海博讯实业有限公司医疗设备厂);低温冷藏箱(BCD-268E型,上海领德仪器有限公司);电热培养箱(HPX-9272MBE型,上海博讯实业有限公司医疗设备厂);电泳仪(DYY-BC型,北京市六一仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 菌株分离

取25g样品放入225mL 0.85%生理盐水中均质后,移液枪吸取1mL均质液于LST肉汤管中,37℃培养48h,挑出产气的LST管,吸取100μL菌液于EC肉汤管中,44℃培养48h。产气EC管中挑取菌液,于EMB培养基中划线培养,37℃,18~24h,挑出具有金属光泽的单一菌落^[12]。

1.2.2 生化试验和PCR检测

1.2.2.1 生化试验

大肠杆菌的生化鉴定最常用的是IMVIC试验,IMVIC试验是吲哚、甲基红、VP、枸橼酸盐四种试验的合称。大肠杆菌对这四种试验的结果是“+、+、-、-”或者“-、+、-、-”^[8]。

1.2.2.2 PCR检测

以大肠杆菌ATCC 25922作为阳性对照菌株,由石河子大学动科学院微生物学院实验室惠赠。采用PCR技术检测所挑选出的菌株是否携带*uidA*。*uidA*基因上下游引物序列分别为:5'-CGATTCCGTTTCAGGGTT-3'、5'-TTTCTGATAGGACCGAGCAT-3'。扩增片段194bp。PCR扩增反应体系(25μL):引物F,1μL;引物R,1μL;10×buffer,2.5μL;dNTP,2μL;Taq酶,0.5μL;去离子水,17μL;*E.coli* DNA模板,1μL。PCR扩增条件:94℃预变性10min,然后94℃变性1min,60℃退火1min,72℃延伸1min,35个循环,最后72℃延伸10min^[8,13]。

1.2.3 药敏试验

将稀释好的菌液用灭菌棉签铺满整个平板,待平板干后,用无菌镊子取各种药片贴于平板上,每个平板3张药片,将贴好药片的平板置于37℃培养箱中,18~20h。以大肠杆菌ATCC 25922为质控菌株。按照世界卫生组织(WHO)推荐的K-B法进行药物敏感实验。以是否有抑菌环及环的大小来判定实验菌对某一抗生素或抗菌药物是否敏感及敏感程度,根据CLSI标准判定大肠杆菌是否对抗菌药耐药。

1.2.4 耐药基因检测

按照文献报道对分离株的*bla*_{TEM}、*tetA*、*tetB*、*floR*、*strA*、*strB*、*sul2*、*aadA*、*aadB*等9种耐药基因进行PCR鉴定。根据文献和GenBank上公布的序列进行基因比对,设计9种耐药基因相关引物^[14-18](见表1)。

2 结果与分析

2.1 食品中大肠杆菌阳性率

从198份样品中分离得到63份大肠杆菌阳性样品,总体样品阳性率为31.82%(63/198),肉品阳性

率为 63.64%(28/44),蔬菜阳性率为 16.50%(17/103), 33.33% (3/9)。图 1 为 *UidA* 基因扩增结果。乳制品阳性率为 35.71% (15/42), 即食食品阳性率为

表 1 耐药基因的 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for the PCR amplification of drug-resistance genes			
基因	上游引物	下游引物	扩增片/bp
<i>bla_{TEM}</i>	5'-TTGGGTGCACGACTGGGT-3'	5'-TAATTGTTGCCGGAAGC-3'	503
<i>tetA</i>	5'-GCTACATCCTGCTTGCCCTTC-3'	5'-CATAGATCGCCGTGAAGAGG-3'	210
<i>tetB</i>	5'-TTGGTTAGGGGCAAGTTTGTG-3'	5'-GTAATGGGCCAATAACACCG-3'	659
<i>floR</i>	5'-CACGTTGAGCCTCTATAT-3'	5'-ATGCAGAAGTAGAACGCG-3'	868
<i>strA</i>	5'-CCTGGTGATAACGGCAATTC-3'	5'-CCAATCGCAGATAGAAGGC-3'	546
<i>strB</i>	5'-ATCGTCAAGGGATTGAAACC-3'	5'-GGATCGTAGAACATATTGGC-3'	509
<i>sul2</i>	5'-GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3'	5'-GCGTTTGATACCGGCACCCGT-3'	285
<i>aadA1a</i>	5'-AACGACCTTTTGAAACTTCGG-3'	5'-TTCGCTCATCGCCAGCCAG-3'	352
<i>aadB</i>	5'-GGGCGCGTCATGGAGGAGTT-3'	5'-TATCGCGACCTGAAAGCGGC-3'	329

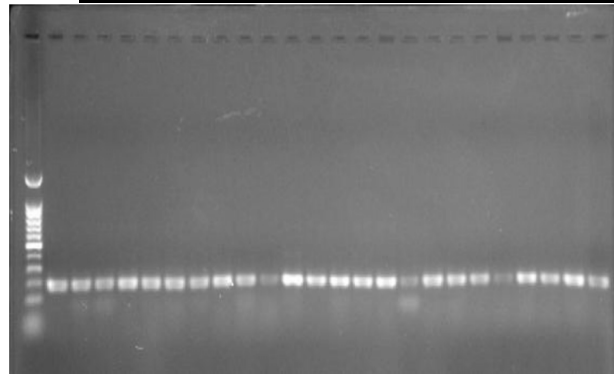


图 1 目的片段 *uidA* 基因 PCR 扩增结果

Fig.1 Gel electrophoresis results showing the *uidA* gene amplified by PCR

2.2 大肠杆菌对 17 种抗生素的药敏性

采用 K-B 法进行 17 种抗生素的药敏试验，结果见由表 2、表 3。63 株食源性大肠杆菌对四环素耐药率(44.44%)最高，所有受试菌株对头孢他啶(0.00%)和亚胺培南(0.00%)敏感性最强。肉品分离株对四环素

(57.14%)耐药率最高，对头孢噻肟(0.00%)、头孢他啶(0.00%)和亚胺培南(0.00%)敏感。蔬菜分离株对四环素(52.94%)耐药率最高，受试菌对头孢他啶(0.00%)、亚胺培南(0.00%)、左氧氟沙星(0.00%)耐药率最低。乳源性分离株对氨苄西林(4/15，26.67%)耐药率最高，受试菌对头孢他啶、亚胺培南、阿米卡星、多粘菌素 B 敏感。即食食品分离的 3 株大肠杆菌没有出现耐药菌株。从新疆不同地区采集的食物样品中分离得到的大肠杆菌的耐药率见表 6。不同地区供试菌对四环素耐药率较高，对亚胺培南、头孢他啶没有抗性。乌鲁木齐分离株对四环素耐药率高达 65.00%，对头孢噻肟、头孢他啶(0/15，0.00%)、亚胺培南、阿米卡星、红霉素、环丙沙星耐药率最低；奎屯分离株对四环素(40.00%)耐药率最高，对头孢噻肟(0.00%)、头孢他啶(0.00%)、亚胺培南(0.00%)、阿米卡星(0.00%)、红霉素(0.00%)、环丙沙星(0.00%)耐药率最低；石河子分离株对四环素耐药率(32.14%)最高、对头孢他啶(0.00%)、亚胺培南(0.00%)耐药率最低。

表 2 不同来源大肠杆菌耐药率

Table 2 Resistance rates of <i>E. coli</i> strains isolated from different foods										
抗生素	总数		肉		蔬菜		乳制品		即食食品	
	R	I	R	I	R	I	R	I	R	I
庆大霉素	8(12.70)	0(0.00)	3(10.71)	0(0.00)	3(17.65)	0(0.00)	2(13.33)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
链霉素	18(28.57)	3(4.76)	11(39.29)	1(3.57)	5(29.41)	1(5.88)	2(13.33)	0(0.00)	0(0.00)	1(33.33)
阿米卡星	5(7.94)	4(6.35)	4(14.29)	3(10.71)	1(5.88)	1(5.88)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
四环素	28(44.44)	5(7.94)	16(57.14)	1(3.57)	9(52.94)	3(17.65)	3(20.00)	1(6.67)	0(0.00)	0(0.00)
氯霉素	14(22.22)	3(4.76)	8(28.57)	2(7.14)	5(29.41)	1(5.88)	1(6.67)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
环丙沙星	11(17.46)	2(3.17)	7(25.00)	1(3.57)	1(5.88)	1(5.88)	3(20.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
茶淀酮酸	24(38.10)	4(6.35)	13(46.43)	3(10.71)	8(47.06)	0(0.00)	3(20.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(33.33)
左氧氟沙星	9(14.29)	3(4.76)	7(25.00)	1(3.57)	0(0.00)	1(5.88)	2(13.33)	1(6.67)	0(0.00)	0(0.00)

转下页

接上页

复方新诺明	16(25.4)	3(4.76)	10(35.71)	0(0.00)	3(17.65)	2(11.76)	3(20.00)	1(6.67)	0(0.00)	0(0.00)
氨苄西林	25(39.68)	2(3.17)	13(46.43)	1(3.57)	8(47.06)	0(0.00)	4(26.67)	0(0.00)	0(0.00)	1(33.33)
头孢噻肟	3(4.76)	7(11.11)	0(0.00)	6(21.43)	1(5.88)	1(5.88)	2(13.33)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
头孢他啶	0(0.00)	7(11.11)	0(0.00)	6(21.43)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(6.67)	0(0.00)	0(0.00)
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
哌拉西林	13(20.63)	10(15.87)	8(28.57)	6(21.43)	3(17.65)	3(17.65)	2(13.33)	1(6.67)	0(0.00)	0(0.00)
阿莫西林	16(25.40)	16(25.40)	7(25.00)	8(28.57)	6(35.29)	7(41.18)	3(20.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(33.33)
红霉素	7(11.11)	36(57.14)	3(10.71)	15(53.57)	3(17.65)	9(52.94)	1(6.67)	10(66.67)	0(0.00)	2(66.67)
多粘菌素 B	2(3.17)	26(41.27)	1(3.57)	13(46.43)	1(5.88)	7(41.18)	0(0.00)	4(26.67)	0(0.00)	2(66.67)

注: 括号内数字为耐药率。

表 3 不同地区大肠杆菌耐药性

Table 3 Drug-resistance characteristics of *E. coli* isolated from different regions

抗生素	乌鲁木齐分离株		奎屯分离株		石河子分离株	
	R/%	I/%	R/%	I/%	R/%	I/%
庆大霉素	3(5.00)	0(0.00)	2(13.33)	0(0.00)	3(10.71)	0(0.00)
链霉素	10(50.00)	1(5.00)	3(20.00)	1(6.67)	5(17.86)	1(3.57)
阿米卡星	4(20.00)	3(15.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(3.57)	1(3.57)
四环素	13(5.00)	0(0.00)	6(40.00)	1(6.67)	9(32.14)	4(14.29)
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
氯霉素	6(0.00)	2(10.00)	5(33.33)	0(0.00)	3(10.71)	1(3.57)
环丙沙星	6(0.00)	1(5.00)	1(6.67)	0(0.00)	4(14.28)	1(3.57)
萘啶酮酸	11(55.00)	4(20.00)	5(33.33)	0(0.00)	8(28.57)	0(0.00)
左氧氟沙星	6(0.00)	1(5.00)	1(6.67)	0(0.00)	2(7.14)	2(7.14)
复方新诺明	9(45.00)	0(0.00)	2(13.33)	0(0.00)	5(17.86)	3(10.71)
氨苄西林	12(60.00)	2(10.00)	4(26.67)	0(0.00)	9(32.14)	0(0.00)
头孢噻肟	0(0.00)	6(30.00)	0(0.00)	0(0.00)	3(10.71)	1(3.57)
头孢他啶	0(0.00)	6(30.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(3.57)
哌拉西林	8(40.00)	2(10.00)	2(13.33)	5(33.33)	3(10.71)	3(10.71)
阿莫西林	6(30.00)	2(10.00)	3(20.00)	8(53.33)	7(25.00)	6(21.43)
红霉素	4(20.00)	10(50.00)	0(0.00)	9(60.00)	3(10.71)	17(60.71)
多粘菌素 B	1(5.00)	9(45.00)	0(0.00)	6(40.00)	1(3.57)	11(39.29)

注: 括号内数字为耐药率。

2.3 大肠杆菌的多重耐药

表 4 不同来源大肠杆菌的多重耐药菌株

Table 4 Multi-drug resistant *E. coli* strains isolated from different foods

	耐受药物数量												总计
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	≥12	
肉品	5	5	1	2	2	1	3	1	2	0	2	0	24
蔬菜	3	1	0	3	1	1	0	0	2	0	1	0	12
乳制品	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	4
即食食品	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
总计	8	7	1	5	3	2	3	1	5	2	3	0	40

耐药种类分析表明, 63 株大肠杆菌中有 23 株菌对 17 种抗生素敏感, 其余至少耐受 1 种药物, 不同来源的大肠杆菌可耐受的抗生素种数不同。肉品中大肠杆菌耐受药物种数主要为 1(5/24)、2(5/24)、7(3/24)种, 最多可耐受 11 种药物。蔬菜中分离株耐受药物种数主要为 1(3/12)、4(3/12)种, 最多可耐受 11 种药物。乳制品分离株耐受药物种数主要为 10(2/4)种, 最多可耐受 10 种药物。即食食品分离株没有出现耐药菌株(见表 4)。

2.4 PCR 检测结果

表 5 63 株食源性大肠杆菌耐药基因的检出情况

Table 5 Detection of drug-resistant genes for 63 *E. coli* strains isolated from foods

抗生素种类	阳性菌株数	耐药基因	含耐药基因的菌株数	检出率
β -内酰胺类	24	<i>bla_{TEM}</i>	7	29.17% (7/24)
四环素类	28	<i>tetA</i>	13	46.43% (13/28)
		<i>tetB</i>	14	50.00% (14/28)
氯霉素类	14	<i>floR</i>	9	64.29% (9/14)
喹诺酮类	26	<i>strA</i>	10	38.46% (10/26)
		<i>strB</i>	12	46.15% (12/26)
磺胺类	16	<i>sul2</i>	12	75.00% (12/16)
氨基糖苷类	26	<i>aadAla</i>	11	42.31% (11/26)
		<i>aadB</i>	5	19.23% (5/26)

由表 5 可知, *bla_{TEM}*、*tetA*、*tetB*、*floR*、*strA*、*strB*、*sul2*、*aadAla*、*aadB* 耐药基因检出率分别为 29.17%、46.43%、50.00%、64.29%、38.46%、46.15%、75.00%、42.31%、19.23%。磺胺类耐耐药基因 *sul2* 检出率最高, β -内酰胺类耐药基因 *addB* 检出率最低。其他耐药菌株耐药基因的检出率在 25%~65% 之间。

3 结论

(1) 从 198 份食品样品中分离得到 63 份大肠杆菌阳性样品, 不同来源样品阳性率由高到低为肉品、乳制品、即食食品、蔬菜。

(2) 63 株受试大肠杆菌对四环素、氨苄西林、萘啶酮酸、链霉素的耐药率较高, 其中, 分离株对四环素耐药性最强。

(3) 来自不同食品 and 不同地区的大肠杆菌耐药性存在一定差异。肉品和蔬菜分离株对四环素耐药率最高, 乳源性分离株对氨苄西林耐药率最高; 乌鲁木齐、奎屯、石河子分离株对四环素耐性最强, 但是耐药率不同。

(4) 63 株受试大肠杆菌中 23 株菌对 17 种抗生

素敏感, 其余至少耐受 1 种药物, 最多可耐受 11 种药物, 耐受 8 种药物的菌株所占比例最大。

(5) 通过 PCR 技术对耐药菌株进行检测, 耐药基因 *sul2* 符合率最高, 耐药基因 *addB* 符合率最低。

4 讨论

4.1 本实验发现 63 株受试大肠杆菌对四环素的耐药率达 44.4%, 此结果低于只帅^[13]、林居纯^[19]、刘渠^[20]、Arslan^[21]、Wang^[22]、Meyer^[23]等大肠杆菌对四环素的耐药率, 却与 Apun^[24]、Da Costa^[25]等大肠杆菌对四环素耐药率近似, 结果高于 Li^[26]等野牛源大肠杆菌对四环素耐药率。但是在本试验中, 所有受试菌株对四环素的耐药率最高, 这跟四环素在中国使用时间早、使用领域广有关^[27]。

4.2 不同来源大肠杆菌耐药性也存在差异。肉品分离株和蔬菜分离株耐药现象比乳源性分离株和即食食品分离株严重。肉品分离株对四环素和氨苄西林耐药性最强, 此结果与 Van^[3]等肉源大肠杆菌对四环素、氨苄西抗性较为常见相似, 也与 Meyer^[23]等动物和动物食品源大肠杆菌对四环素和氨苄西林耐药率相近。果蔬分离株对四环素的耐药率最高, 乳制品分离株对氨苄西林的耐药率最高, 即食食品分离株只有 3 株, 还需进一步对即食食品中的大肠杆菌耐药性进行研究。

4.3 不同地区食源大肠杆菌对抗菌药的耐药率存在差异。不同地区供试菌对四环素耐药率最高, 对亚胺培南和头孢他啶敏感。本实验中食源性大肠杆菌对四环素、氨苄西林、链霉素和萘啶酮酸耐药性强, 这结果与只帅^[27]食源性大肠杆菌耐药性研究结果相似。所有受试菌多头孢他啶和亚胺培南没有抗性, 与 Arslan^[21]等食源性大肠杆菌对头孢他啶和亚胺培南敏感相似。

4.4 随着抗生素的广泛使用, 多重耐药大肠杆菌分离率越来越高, 而且大肠杆菌菌出现多重耐药现象, 正在快速增加的大肠杆菌耐药性给食品安全生产、畜牧业生产和公共卫生安全造成了极大的危害。本实验 1 重或者多重耐药菌株所占百分率为 63.49%, 3 重以上耐药菌株所占百分率为 39.68%。此研究结果低于 Arslan^[21]等食源性大肠杆菌一重或多重耐药菌株所占百分率(94.4%)和 3 重及以上耐药菌株所占比例(56.9%)。在新疆地区食源性大肠杆菌的多重耐药现象比较严重, 其中肉源大肠杆菌多重耐药率最高。

4.5 本研究通过 PCR 方法检测耐药菌株中耐药基因的携带情况, 磺胺类耐耐药基因 *sul2* 检出率最高(75.00%), β -内酰胺类耐药基因 *aadB* 检出率最低(19.23%)。韦庆兰^[28]报道的广东地区水禽源大肠杆

菌 $sul2$ 耐药基因的检出率为74.6%，与本研究结果相似。杨鑫^[29]报道的大肠杆菌 $flor$ 耐药基因的检出率为51.4%，低于本研究结果。张济培^[30]报道的水禽源大肠杆菌耐药菌株中 bla_{TEM} 耐药基因检出率(67.21%~88.52%)和张玲^[31]报道的禽源大肠杆菌 bla_{TEM} 耐药基因检出率(73.5%)，高于本研究结果。四环素耐药性主要由 $tetB$ 和 $tetA$ 基因编码，这一发现已经在分离自畜牧业生产和食用动物的大肠杆菌中被证实。本研究耐四环素菌株 $tetA$ 和 $tetB$ 耐药基因携带率与武瑞兵^[32]报道的牛肉源大肠杆菌耐药基因携带率相似。本研究耐药基因检出率低于金文杰^[33]等报道的216株禽致病性大肠杆菌氨基糖苷钝化酶耐药基因中 $strA$ (56%)和 $strB$ (65.7%)检出率。

4.6 大肠杆菌是很好的耐药指示菌，对食物中大肠杆菌研究可用于完善食品微生物风险评估，从而控制有害大肠杆菌的数量。收集大肠杆菌的流行病学以及药敏特性数据，建立食源性大肠杆菌溯源分析数据库，为了解耐药性的流行规律，预测耐药性的发展趋势提供科学依据。

参考文献

- [1] 姬华,张玫,卢士玲,等.食源性大肠杆菌耐药性与毒力特性的研究进展[J].食品工业科技,2014,7:364-367
JI Hua, ZHANG Mei, LU Shi-ling, et al. Review on drug resistance and virulence characterization of foodborne *Escherichia coli* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 7: 364-367
- [2] Sunde M, Sorum H. Self-transmissible multidrug resistance plasmids in *Escherichia coli* of the normal intestinal flora of healthy swine [J]. Microb. Drug Resist, 2001, 7(2): 191-196
- [3] Van den Bogaard A E, Stobberingh E E. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2000, 14(4): 327-335
- [4] Alexander T W, Inglis G D, Yanke L J, et al. Farm-to-fork characterization of *Escherichia coli* associated with feedlot cattle with a known history of antimicrobial use [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 137(1): 40-48
- [5] Marshall B M, Levy S B. Food animal and antimicrobial: impacts on human health [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2011, 24(4): 718-733
- [6] Hart W S, Heuzenroeder M W. A study of the transfer of tetracycline resistance genes between *Escherichia coli* in the intestinal tract of a mouse and a chicken model [J]. Journal of Veterinary Medicine B, 2006, 53(7): 333-340
- [7] Beovic B. The issue of antimicrobial resistance in human medicine [J]. Canadian Veterinary Journal, 2003, 44(9): 723-728
- [8] 只帅.陕西部分地区零售肉及凉拌菜中大肠杆菌的特性研究[D].陕西:西北农林科技大学,2010
ZHI Shuai. Characterization of *Escherichia coli* from retail meat and ready to eat food in some districts of Shaanxi Province [D]. Shanxi: North West Agriculture and Forestry University, 2010
- [9] 杨泽晓,庞歌,王印,等.四川省部分地区大肠杆菌的耐药性监测[J].畜牧与兽医,2011,43(2):84-87
YANG Zhe-xiao, PANG Ge, WANG Yin, et al. Inspection of antibiotic resistance of *Escherichia coli* in parts of sichuan province [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2011, 43(2): 84-87
- [10] 刘书亮,张晓利,韩新锋.动物性食品源大肠杆菌耐药性研究[J].中国食品学报,2011,11(7):163-168
LIU Shu-liang, ZHANG Xiao-li, HAN Xin-feng. Drug resistance of *Escherichia Coli* strains isolated from animal food [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(7): 163-168
- [11] Ramos S, Silva N, Canic M, et al. High prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from animals at slaughter: a food safety risk [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012, 93(3): 517-526
- [12] 李赫.辽宁省盘锦地区动物病原性大肠杆菌的分离鉴定及其耐药性研究[D].长春:吉林农业大学,2013
LI He. Isolation and identification of enteropathogenic *E.coli* from animals in Panjin city of Liaoning province and its drug resistance [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013
- [13] 只帅,席美丽,刘攻关,等.陕西部分地区不同食源性大肠杆菌耐药性检测[J].中国食品学报,2011,11(1):196-201
ZHI Shuai, XI Mei-li, LIU Gong-guan, et al. Drug resistance detection of *Escherichia Coli* from different food origins in some districts of Shanxi Province [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(1): 196-201
- [14] Guerra B, Junker E, Schroeter A, et al. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry [J]. J. Antimicrob. Chemother., 2003, 52(3): 489-492
- [15] Kern M B, Klemmensen T, Frimodt-Moller N, et al. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from

- urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of sul genes conferring sulphonamide resistance [J]. J. Antimicrob. Chemother., 2002, 50(4): 513-516
- [16] Saenz Y, Brinas L, Dominguez E, et al. Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains of human, animal, and food origins [J]. Antimicrob. Agents Chemother., 2004, 48(10): 3996-4001
- [17] Leigh B, Rosengren, Cheryl L, Waldner, Richard J, Reid-Smith. Associations between antimicrobial resistance phenotypes, antimicrobial resistance genes, and virulence genes of fecal *Escherichia coli* isolates from healthy grow-finish pigs [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(5): 1373-1380
- [18] Ng L K, Martin I, Alfa M, et al. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes [J]. Mol. Cell. Probes, 2001, 15(4): 209-215
- [19] 林居纯,卓家珍,蒋红霞,等.不同地区猪源和禽源大肠杆菌耐药性监测[J].华南农业大学学报,2009,30(1):86-88
LIN Ju-chun, ZHUO Jia-zhen, JIANG Hong-xia, et al. Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia Coli* isolate from swine and poultry in different regions [J]. Journal of South China Agricultural University, 2009, 30(1): 86-88
- [20] 刘渠,刘衡川,李灶平.食品中大肠埃希菌的耐药性与质粒图谱研究[J].预防医学情报杂志,2004,20(4):257-261
LIU Qu, LIU Heng-chuan, LI Zhao-ping. Antibiotic-resistance and plasmids of *Escherichia Coli* in food [J]. J. Prev. Med. Inf., 2004, 20(4): 257-261
- [21] Arslan S, Eyi A. Antimicrobial resistance and esbl prevalence in *Escherichia coli* from retail meats [J]. Journal of Food Safety, 2011, 31(2): 262-267
- [22] Wang X M, Jiang H X, Liao X P. Antimicrobial resistance, virulence genes, and phylogenetic background in *Escherichia coli* isolates from diseased pigs [J]. FEMS. Microbiol. Letters, 2010, 306(1): 15-21
- [23] Meyer E, Lunke C M, Schwab F, et al. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from food, animals and humans in Germany [J]. Infection, 2008, 36(1): 59-61
- [24] Apun K, Chong Y L, Abdullah M T, et al. Antimicrobial susceptibilities of *Escherichia coli* isolates from food animals and wildlife animals in Sarawak [J]. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 2008, 3(6): 409-416
- [25] Da Costa P M, Vaz-Pires P, Oliveria M, et al. Antimicrobial resistance in *Enterococcus spp.* and *Escherichia coli* isolated from poultry feed and feed ingredients [J]. Vet. Microbiol., 2007, 120(1-2): 122-131
- [26] Li Q, Sherwood J S, Logue C M. Characterization of antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from processed bison carcasses [J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 103(6): 2361-2369
- [27] 只帅,席美丽,申进玲,等.食源性大肠杆菌耐药性检测[J].西北农业学报,2009,18(6):377-381
ZHI Shuai, XI Mei-li, SHEN Jin-ling, et al. The antibiotic resistance of food-borne *Escherichia coli* [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2009, 18(6): 377-381
- [28] 韦庆兰,张济培,谭华龙,等.广东地区水禽源大肠杆菌耐药性和磺胺类耐药基因检测[J].中国家禽,2015,37(3):24-56
WEI Qing-lan, ZHANG Ji-bei, TAN Hua-long, et al. Detection of resistance and resistance genes of *Escherichia coli* to sulfa antimicrobial agents isolated from waterfowl in Guangdong Province [J]. China Poultry, 2015, 37(3): 24-56
- [29] 杨鑫,王红宁,张安云,等.大肠杆菌氯霉素类耐药基因三重PCR 检测试剂盒的研究与应用[J].中国兽医杂志,2009, 45(2):11-13
YANG Xin, WANG Hong-ning, ZHANG An-yun, et al. Development of multiplex PCR detecting kit and its application to the detection of chloramphenicol resistant genes in *Escherichia coli* [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2009, 45(2): 11-13
- [30] 张济培,谭华龙,韦庆兰,等.广东地区水禽源大肠杆菌对 β -内酰胺类药物的耐药性及耐药基因检测[J].中国畜牧兽医,2015,42(9):2487-2492
ZHANG Ji-bei, TAN Hua-long, WEI Qing-lan, et al. Detection of resistance and resistance genes of *Escherichia coli* to β -lactams antimicrobial agents isolated from waterfowl in Guangdong province [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2015, 42(9): 2487-2492

(下转第 321 页)

本试验采用电子舌技术、感官评价结合多元统计分析方法对5种不同的食用菌鲜味进行分析研究。电子舌技术结合PCA方法可以识别不同的食用菌风味特征,进而将不同食用菌区分出来,并且进行鲜味强度大小的排序。感官评价结果表明这5种食用菌的鲜味强度具有显著差异,姬松茸的鲜味强度最高,灰树花的鲜味强度最低,与电子舌的鲜味响应结果相一致。应用PLS法研究电子舌鲜味响应值和感官鲜味评分的相关性结果表明电子舌在一定程度上能够预测食用菌感官评分值,而且仪器测试具有较高的灵敏度、精确度、重复性和区分性,可以实现对食用菌鲜味的初步量化,为食用菌的风味化研究奠定基础。

参考文献

- [1] Sadler M. Nutritional properties of edible fungi [J]. Nutrition Bulletin, 2003, 28: 305-308
- [2] Zhang Y, Venkitasamy C, Pan Z, et al. Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms-A reviewer [J]. Trend in Food Science & Technology, 2013, 33(2): 78-92
- [3] Li W, Gu Z, Yang Y, et al. Non-volatile taste components of several cultivated mushrooms [J]. Food Chemistry, 2014, 143: 427-431
- [4] Escuder-Gilabert L, Peris M. Review: Highlights in recent applications of electronic tongues in food analysis [J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 665: 15-25
- [5] Liu M, Wang J, Li D, et al. Electronic tongue coupled with physicochemical analysis for the recognition of orange beverages [J]. Journal of Food Quality, 2012, 35: 429-441
- [6] Cetó X, Gutiérrez J M, Gutiérrez M, et al. Determination of total polyphenol index in wines employing a voltammetric electronic tongue [J]. Analytica Chimica Acta, 2012, 732: 172-179
- [7] Sipos L, Kovács Z, Sági-Kiss V, et al. Discrimination of mineral waters by electronic tongue, sensory evaluation and chemical analysis [J]. Food Chemistry, 2012, 135: 2947-2953
- [8] Tahara Y, Toko K. Electronic Tongues-A Review [J]. Sensors Journal, 2013, 13: 3001-3011
- [9] Escuder-Gilabert L, Peris M. Review: Highlights in recent applications of electronic tongues in food analysis [J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 665, 15-25
- [10] García-Segovia P, Andrés-Bello A, Martínez-Monzó J. Rehydration of air-dried shiitake mushroom (*lentinus edodes*) caps: Comparison of conventional and vacuum water immersion processes [J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44: 480-488
- [11] Ciosek P, Wróblewski W. Sensor arrays for liquid sensing electronic tongue systems [J]. Analyst, 2007, 132: 963-978
- [12] QIN Zi-han, PANG Xue-li, CHEN Dong, et al. Evaluation of Chinese tea by the electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry: Correlation with sensory properties and classification according to grade level [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 864-874
- [13] Yang Y, Chen Q, Shen C, et al. Evaluation of monosodium glutamate, disodium inosinate and guanylate umami taste by an electronic tongue [J]. Journal of Food Engineering, 2013, 116: 627-632
- [14] 谷镇,杨炎.食用菌呈香呈味物质研究进展[J].食品工业科技,2013,34(5):363-367
- GU Zhen, YANG Yan. Research progress in flavor components of edible fungus [J]. Food Industry and Technology, 2013, 34(5): 363-367
- (上接第 277 页)
- [31] 张玲,许薇,李丽,等.禽源大肠杆菌 β -内酰胺类耐药基因检测与耐药相关性分析[J].中国家禽,2014,36(24):4951
- ZHANG Ling, XU Wei, LI Li, et al. Detection of resistance genes and analysis of drug-resistant correlation of *Escherichia coli* to β -lactams antimicrobial agents isolated from Poultry [J]. China Poultry, 2014, 36(24): 4951
- [32] 武瑞兵,高玉敏,王鹏翔,等.牛肉源大肠杆菌的耐药性检测及相关耐药基因分布[J].中国畜牧兽医,2015,42(2):452-458
- WU Rui-bing, GAO Yu-min, WANG Peng-xiang, et al. Detection of antibiotic resistance and distribution of resistance determinants in *Escherichia coli* isolated from beef [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2015, 42(2): 452-458
- [33] 金文杰,秦爱建,郑志明,等.禽致病性大肠杆菌中四种抗氨基糖苷类药物耐药基因的分子流行病学调查[J].中国预防兽医学报,2007,29(5):401-404
- JIN Wen-jie, QIN Ai-jian, ZHENG Zhi-ming, et al. Molecular epidemiology of aminoglycoside resistant genes in avian pathogenicity *E.coli* [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2007, 29(5): 401-404