DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240327009

动物源食品中革兰氏阴性菌耐药性研究进展

李永强, 解廷宸, 赵仕杰, 高媛婷, 罗智晟, 杨钰昆*, 杨志强*

(山西大学生命科学学院, 生物医学研究院, 太原 030006)

摘 要: 多重耐药(multidrug-resistant, MDR)革兰氏阴性病原菌感染面临无药可用的局面, 正日益成为全球性公共卫生危害。畜禽被认为是耐药病原菌的重要携带者, 是动物源食品中多重耐药菌传播的源头之一。MDR 病原菌可以通过“养殖场-屠宰场-加工厂-市场”这一链条传播给人类, 对人类健康造成严重危害。MDR 菌株的高流行率以及耐药基因在不同细菌种属之间的传播, 使得多重耐药特征在不同细菌间快速扩散。新型耐药基因接合质粒、辅助接合质粒加速了食源性细菌中耐药基因的水平转移, 进而加剧 MDR 病原菌对人类健康的威胁。本文通过综述常见造成动物源食品污染的革兰氏阴性菌的分子流行特征和耐药机制, 以期为预防和控制食源性耐药病原菌提供一定理论依据。

关键词: 动物源食品; 革兰氏阴性菌; 耐药性; 耐药基因

Research progress on antibiotic resistance of Gram-negative bacterium in animal derived food

LI Yong-Qiang, XIE Ting-Chen, ZHAO Shi-Jie, GAO Yuan-Ting, LUO Zhi-Sheng, YANG Yu-Kun*, YANG Zhi-Qiang*

(*School of Life Science*, *Institutes of Biomedical Sciences*, *Shanxi University, Taiyuan* 030006, *China*)

ABSTRACT: Multidrug-resistant (MDR) Gram-negative pathogens are facing a situation where no drug is available, posing an increasingly global public health threat. Livestock and poultry are considered important carriers of drug-resistant pathogens and are one of the sources of transmission of multidrug-resistant bacteria in animal derived foods. MDR pathogens can be transmitted to humans through the chain of “farms-slaughterhouses-processing plants-markets”, posing a serious threat to human health. The high prevalence of MDR strains and the transmission of resistance genes between different bacterial species contribute to the rapid spread of multidrug resistance characteristics among different bacteria. The conjugative plasmids of novel resistance genes and conjugative helper plasmids accelerate the horizontal transfer of resistance genes in foodborne bacteria, further exacerbating the threat of

基金项目: 山西省基础研究计划青年项目基金项目(20210302124146)、国家自然科学基金项目(32072301)、山西大学第二十一期大学生创新训练项目(X202210108297)

Fund: Supported by the Natural Science Foundation of Shanxi Province (20210302124146), the National Natural Science Foundation of China (32072301), and the 21st College Students' Innovative Entrepreneurial Training Plan Program of Shanxi University (X202210108297)

***通信作者:** 杨钰昆, 博士, 副教授, 主要研究方向为基于先进功能材料制备、纳米增效、信号传导等技术的光电化学传感检测技术的构建与应用开发。E-mail: yangyukun@sxu.edu.cn

杨志强, 博士, 讲师, 主要研究方向为耐药细菌微进化与细菌耐药性逆转。E-mail: yzq2021@sxu.edu.cn

***Corresponding author:** YANG Yu-Kun, Ph.D, Associate Professor, Shanxi University, No.92, Wucheng Road, Xiaodian District, Taiyuan 030006, China. E-mail: yangyukun@sxu.edu.cn

YANG Zhi-Qiang, Ph.D, Lecturer, Shanxi University, No.92, Wucheng Road, Xiaodian District, Taiyuan 030006, China. E-mail: yzq2021@sxu.edu.cn

MDR pathogens to human health. This article reviewed the molecular epidemiological characteristics and mechanisms of antibiotic resistance of common Gram-negative bacteria causing contamination in animal-derived foods, with the aim of providing a theoretical basis for the prevention and control of foodborne drug-resistant pathogens.

KEY WORDS: animal derived food; Gram-negative bacteria; antibiotic resistance; antibiotic-resistant genes

0 引 言

抗微生物药物耐药性(antimicrobial resistance, AMR)被世界卫生组织(World Health Organization, WHO)列为人类面临的十大全球公共卫生威胁之一。据不完全统计, 2019 年抗菌药物耐药性直接导致全球 127 万人死亡, 是 495 万人死亡的诱因之一, 如果不进行干预, 到 2050 年, 多重耐药(multidrug-resistant, MDR)细菌每年将可能导致 1000 万人死亡[1]。动物源食品是指全部可食用的动物组织以及蛋和奶, 包括肉类及其制品(含动物脏器)、水生动物产品等, 主要为人体提供蛋白质、脂肪、矿物质、维生素, 是人类不可或缺的重要营养来源。动物源食品的生产涉及养殖、屠宰、加工、销售等环节, 上述环节的不规范作业导致其容易受到食源性致病菌的污染, 进而作为食源性细菌的“储存库”贮存和传播病原菌。近 30 年, 随着抗菌药物在畜禽养殖中的大规模使用, 动物源食品中 MDR 细菌的分离率有升高趋势, 直接或间接威胁着动物和人的健康[2]。

常见造成动物源食品污染的致病菌包括大肠杆菌(*Escherichia coli*)、沙门氏菌(*Salmonella*)、金黄色葡萄球菌(*Staphyloccocus aureus*)、单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)、弯曲杆菌(*Campylobacter*)、蜡样芽胞杆菌(*Bacillus cereus*)、志贺氏菌(*Shigellosis*)、弧菌(*Vibrio*)等, 其中金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌、蜡样芽胞杆菌为革兰氏阳性菌, 大肠杆菌、沙门氏菌、弯曲杆菌、志贺氏菌、弧菌为革兰氏阴性菌[3]。革兰氏阴性菌具有独特的双层膜结构, 其细胞外膜可以阻碍大于 600 Da 的化合物进入细胞内, 对红霉素、利福平等药物天然耐药, 可用抗菌药物数量有限, 且相对于革兰氏阳性菌更容易获得耐药性[4]。2017 年, WHO 公布迫切需要新型抗生素的细菌清单, 优先级分为非常急迫、急迫和中度急迫, 以促进新型抗生素的研究和开发。优先级为非常急迫的细菌全部是革兰氏阴性菌, 所有 12 种(类)急迫需要新型抗菌药物的细菌中, 革兰氏阴性菌就占 9 种(类)[5]。随着国内外对食品致病微生物危害的日益重视, 动物源食品中多耐药菌和泛耐药菌的分离率呈升高趋势, 临床危害性极高的碳青霉烯耐药肠杆菌也时有出现[6−7]。此外, 动物源食品中革兰氏阴性菌携带多种耐药基因决定簇的接合质粒、辅助接合质粒、整合子等移动遗传元件介导的横向基因转移, 导致耐药基因在不同革兰氏阴性菌中的扩散, 造成公共卫生危害[8−9]。

人类健康的首要决定因素无疑是安全的食品, 了解动物源食品中病原菌的主要耐药机制, 明确不同革兰氏阴性菌的耐药特征, 对于有针对性地预防和控制耐药病原菌在食品链和食品网的进一步蔓延传播有重要意义。动物源食品中病原菌的耐药机制主要为药物摄取减少、药物靶点改变、药物失活和药物外排泵激活等[10]。值得注意的是, 聚焦于革兰氏阴性菌中, 不同耐药病原菌针对同一类抗菌药物, 其主要的耐药机制不同, 因此明确动物源食品中不同革兰氏阴性菌的耐药特点具有非常重要的意义。本文综述了常见造成动物源食品污染的革兰氏阴性菌的分子流行特征和耐药机制, 以期为预防和控制食源性耐药病原菌提供参考依据。

1 主要动物源食品革兰氏阴性耐药病原菌概述

随着抗菌药物在畜禽养殖业的超量使用以及加工、运输、销售环节过程中的不合规, 动物源食品中革兰氏阴性菌分离株的耐药表型变得十分复杂, 由单一耐药变为多重耐药, 多重耐药菌的检出率急剧升高[3]。据报道肉类来源的大肠杆菌通常表现出多重耐药性, 加纳海岸角 SAUD 等[11]在鸡肉和水牛肉来源的大肠杆菌分离株中观察到 52.5%的菌株表现为多重耐药性; 在韩国[12], 检测到鸡肉样本中 87.9%的大肠杆菌具有多重耐药性; 在墨西哥塔毛利帕斯州, MARTÍNEZ-VÁZQUEZ 等[13]检测到零售肉类中大肠杆菌多重耐药比率高达 92.4%; 沙门氏菌的耐药性情况同样不容乐观, 在中国, 不同地区零售猪肉中沙门氏菌的检出率从 4%到 73.1%不等, 且在分离株中约 80%为多重耐药菌株[14]; 动物源食品中分离的肺炎克雷伯菌耐药性近年来也受到公众与研究人员的关注, 数据显示在 2013—2014 年石家庄生鸡肉中分离出的肺炎克雷伯菌比例达 13.8%, 且其中 MDR 占 50%[15−16]。

更为严峻的是, 从动物源食品中分离的革兰氏阴性菌有向“超级细菌”发展的趋势。大肠杆菌具有从环境其他生物中获取、维持、传递抗性基因和传播抗生素耐药性的能力, 表现出对喹诺酮类、磺胺类、氨基糖苷类、多磷类、四环素类等抗生素的泛耐药性[17−18]; 副溶血性弧菌由于能够摄取和染色体整合来自多重耐药共生肠道细菌和其他来源的外源 DNA, 对全球公共卫生构成了威胁[19]。迄今为止, 全球已经报道了副溶血性弧菌对氨苄西林、链霉素、青霉素、阿米卡星、卡那霉素、四环素、氯霉素、头

孢他啶、环丙沙星和粘菌素具有耐药性, 并且耐药范围在不断扩大[20]。

此外, 临床危害性强的革兰氏阴性菌特有耐药基因, 如碳青霉烯类耐药基因 bla_{KPC}、bla_{NDM}、多粘菌素耐药基因 *mcr-1* 和替加环素耐药基因 *tet(X4)*从动物源食品或肉用动物中分离出来[3,21]。其中携带 bla_{NDM} 的革兰氏阴性菌对包括碳青霉烯类在内的多种抗生素表现出高度耐药性, 2015 年从东南亚出口到加拿大海鲜的革兰氏阴性菌中检出包括 $bla_{\text{NDM-1}}$ 在内的超广谱 *β*-内酰胺酶基因[22–23]。自粘菌素抗性基因 *mcr-1* 在中国首次发现以来, 研究人员警告后抗生素时代的开始[24]。携带 *mcr-1* 基因的大肠杆菌、沙门氏菌和肺炎克雷伯菌对多粘菌素产生抗性, 使得革兰氏阴性菌的“最后一道防线”的多粘菌素岌岌可危, 更加令人绝望是碳青霉烯耐药兼并多粘菌素与替加环素的耐药菌株的出现, 将导致耐药革兰氏阴性菌造成的感染面临无药可用的严峻形势[3,25]。这些新型临床上的“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, 将给消费者带来潜在风险。

2　动物源食品中革兰氏阴性菌的主要耐药机制

人和动物临床治疗与预防革兰氏阴性菌感染的最常用药物主要有 *β*-内酰胺类、喹诺酮类抗生素、多肽类、四环素类等抗菌药物, 本文将根据上述药物分类对动物源食品中革兰氏阴性菌的耐药机制进行综述。

2.1　对 *β*-内酰胺类药物的耐药机制

革兰氏阴性菌对 *β*-内酰胺类抗生素的耐药机制包括产生水解 *β*-内酰胺类抗生素的酶、OmpF、OmpC 和 OmpD 等孔蛋白改变细胞膜的通透性, 阻止抗生素进入细胞以及 AcrD 和 ABC 等外排系统将药物外排等, 其中 *β*-内酰胺酶编码基因的额外获取和自我突变是革兰氏阴性菌对 *β*-内酰胺类抗生素产生耐药性的主要机制[16,26-27]。

β-内酰胺酶主要包括水解 *β*-内酰胺类抗生素的超广谱 *β*-内酰胺酶(extended-spectrum *β*-lactamases, ESBL)、质粒介导的 AmpC 型 *β*-内酰胺酶以及新德里金属-*β*-内酰胺酶(new delhi metallo-lactamase-1, NDM), 其中最流行的为 ESBL[28]。革兰氏阴性菌中产 ESBL 的基因包括 bla_{TEM}、bla_{SHV}、bla_{CTX-M}、bla_{PSE} 和 bla_{CMY-2} 等。在大肠杆菌中 $bla_{\text{CTX-M}}$ 是其中最主要的基因, 对于沙门氏菌 bla_{TEM} 是主要的抗性基因[18,29]。产 ESBL 的肺炎克雷伯菌可携带 bla_{CTX-M}、bla_{TEM}、bla_{SHV}、bla_{KPC} 和 bla_{NDM} 等基因。据报道[15], 从鸡肉分离的肺炎克雷伯菌携带有 bla_{CTX-M1} 和 bla_{CTX-15} 耐药基因。近年来, 从虾等海产品中分离出来的副溶血性弧菌也携带有编码 ESBL 的基因, 包括 bla_{CMY-2}、bla_{PER-1}、bla_{VEB-2} 和 bla_{VEB-18} 等[20,30]。产 ESBL 的基因位于质粒上, 可以通过结合、转化、转导的方式实现细菌耐药基因的水平传播[31]。这些质粒上携带多重耐药基因, 使得耐药菌, 特别是大肠杆菌和沙门氏菌对多种抗生素(主要包括喹诺酮类、磺胺类、氨基糖苷类、多磷类、四环素类)表现出泛耐药性[18]。有研究表明[32], 由于上述药物的耐药基因在同一质粒上, 使用上述非 *β*-内酰胺类抗菌药物会对产 ESBL 的抗性基因施加选择性压力, 促进该基因在革兰氏阴性菌中的传播。

质粒介导产生 AmpC 型 *β*-内酰胺酶的革兰氏阴性菌耐药情况也十分严重。数据显示[33], 我国生肉源大肠杆菌中产 AmpC 型 *β*-内酰胺酶的耐药基因的富集和变迁高于其他国家, 在北京市市售鸡肉中 *ampC1*, *ampC2* 耐药基因的检出率分别为 93.10%、98.28%。*β*-内酰胺类抗生素头孢曲松作为治疗沙门氏菌感染的首选药物, 近年来由于沙门氏菌中 AmpC 型 *β*-内酰胺酶(bla_{CMY-2})基因的出现, 使其治疗效果急剧减弱, 据报道沙门氏菌对头孢曲松的耐药性正在缓慢增加, 达到了 3%~4%且保持稳定[9,34]。

为治疗产 ESBL 和质粒介导 AmpC 型 *β*-内酰胺酶革兰氏阴性菌造成的感染, 碳青霉烯类药物被引入临床, 然而不幸的是, 产 NDM 酶基因(bla_{NDM})的出现对这类抗生素发起了挑战[35]。研究显示[36], 动物源食品样本(猪肉, 牛肉, 虾)分离的大肠杆菌中 bla_{NDM} 的检出率从 2015 年的 0.3%急剧上升到 2017 年的 17%, 此外, 携带 bla_{NDM} 的 IncX3 接合质粒加速了耐碳青霉烯类药物基因在肠杆菌科细菌中水平转移进程, lncX3 质粒已被动物菌株获得并广泛传播到不同食品中, 这突出了防范此类风险的必要性。

2.2　对喹诺酮类抗生素的耐药机制

喹诺酮类抗生素是广谱抗菌药物, 包括氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星等, 在畜禽与水产养殖中常作为治疗与预防用药使用, 其作用靶点为细菌 DNA 回旋酶[37]。有研究显示[38], 喹诺酮类药物在食用动物的使用量与零售肉类中耐喹诺酮类革兰氏阴性菌的流行率成正相关, 2013—2018 年, 食用动物喹诺酮类药物的消费增长了 54.65%, 零售肉类非伤寒沙门氏菌对喹诺酮类抗生素萘啶酸的耐药检出率从 2009 年的 0.62%增加到 2018 年的 12.75%。

革兰氏阴性菌对喹诺酮类药物的耐药机制主要包括具有质粒介导的喹诺酮耐药性(plasmid-mediated quinolone resistance, PMQR)的决定簇、以编码 DNA 旋转酶(*gyrA* 和 *gyrB*)和 DNA 拓扑异构酶 IV (*parC* 和 *parE*)基因为主的喹诺酮类耐药决定区(quinolone resistance-determining region, QRDR)的染色体突变以及局部和全局转录调节因子 *AcrR* 和 *MarA* 的相互作用控制的 *AcrAB-ToIC* 为代表的外排泵基因表达, 其中具有 PMQR 决定簇为最常见的耐药机制[39–40]。目前已报道了 3 种类型 PMQR 元件: (i) Qnr类型, 它们是五肽重复蛋白, 通过模拟双链DNA与DNA回旋酶结合, 阻止喹诺酮类药物与DNA回旋酶的结合,

(ii) *aac(6')-Ib-cr*, 一种水解喹诺酮类药物的修饰氨基糖苷类乙酰转移酶, 以及(iii)外排泵 *QepA* 和 *OqxAB*, PMQR 基因 *oqxAB* 可以和 *aac(6')-Ib-cr* 共存在同一菌株中, 二者共同促进了喹诺酮类药物耐药的发展[9]。

沙门氏菌对喹诺酮类药物的耐药性形势严峻, 在中国及邻近地区从食品中分离的沙门氏菌对环丙沙星耐药性发生率急剧上升[41]。数据显示[42], 在 2015 年到 2016 年从中国新鲜水产品中分离的沙门氏菌 22.2%的分离株对环丙沙星耐药。沙门氏菌对环丙沙星的耐药性是包括由质粒介导的包括 *qnr*、*aac(6')-Ib-cr*、*oqxAB* 和 *qepA* 基因在内的 PMQR 决定簇所导致, 其中携带 *qnrS1* 基因的 IncX1 型和携带 *oqxAB-qnrS* 基因的 IncH1 质粒是沙门氏菌对环丙沙星耐药的决定簇。这些非接合质粒可以与新型的 Incl1 接合辅助质粒融合, 将 PMQR 耐药基因的非偶联质粒转化为共轭的环丙沙星耐药编码质粒, 并且已证明该质粒可以从沙门氏菌转移到大肠杆菌[8]。此外, 在沙门氏菌中又报道了一种携带编码头孢曲松和环丙沙星耐药性的接合质粒, 并与两个子质粒在沙门氏菌中以动态形式存在[9]。如果这类接合质粒与接合辅助质粒进行融合, 将进一步导致沙门氏菌的多重耐药性发展及水平转移。

弧菌是 *qnr* 喹诺酮类耐药决定簇的可能来源, 在弧菌属中报道了 *qnrA*、*qnrs*、*aac(6')-Ib-cr* 和一种新型弧菌起源的 *qnr* 基因 *qnrVC* 型(*qnrVC1* 至 *qnrVC9*), 其中 *qnrVC* 基因被认为是导致弧菌属喹诺酮类耐药性发生的主要 PMQR 元件[43–45]。有研究表明[46], 2015 年到 2017 年从中国深圳收集的食源性弧菌菌株中 69.7%的菌株携带 *qnrVC* 基因。近年来, 从动物源食品中分离出的副溶血性弧菌中出现了携带多重耐药基因的接合质粒, 如携带 *qnrS2* 基因的接合质粒能够介导对环丙沙星和头孢菌素耐药[39]。另外从华南地区虾等食品样品中发现其他抗性基因如编码 *sul1* 的磺胺抗性基因, 以及编码氨基糖苷类抗性、甲氧苄啶抗性和 D 类 *β*-内酰胺酶的基因, 在 *qnrVC* 基因的上游或下游, 这将导致细菌抗生素耐药性危机的加剧[46]。

2.3 对四环素类药物的耐药机制

四环素类抗生素具有广谱抗菌活性, 包括四环素、金霉素、土霉素和替加环素等药物。由于成本低、副作用少等诸多优点, 这类抗生素被大量用于治疗动物和人类感染, 2020 年前在我国作为肉用动物的促生长剂, 导致动物源食品中革兰氏阴性菌对四环素类药物耐药率急剧增加, 在 2018 年中国河北省零售肉类 89.6%的沙门氏菌分离株对四环素耐药, 值得注意的是, 近年来在动物源食品中检测出了用来治疗碳青霉烯类耐药细菌的新型四环素替加环素的耐药菌株[21,47–48]。

革兰氏阴性菌对四环素类药物的耐药机制主要包括核糖体保护和外排药物等类型。核糖体保护机制是指通过阻止 tRNA 与 30S 核糖体亚基的 A 位点结合, 从而使肽链延长受到抑制, 抑制蛋白质合成而起作用[49]。在肺炎克雷伯菌中, 编码四环素靶向核糖体 S10 蛋白的 *rpsJ* 基因突变赋予了其对四环素类药物的耐药性[50]。弯曲杆菌对四环素类药物的耐药性主要跟位于 pTet 质粒上的编码核糖体保护蛋白 *tet(O)*的 *tet(O)*基因相关[51]。

外排药物通常涉及外排泵, 其任务是将药物泵出细胞质, 在革兰氏阴性菌中编码外排四环素类药物系统的基因包括 *tet(A)*、*tet(B)*、*tet(C)*、*tet(D)*、*tet(E)*、*tet(X)* 和 *tet(Y)* 等, 其中 *tet(A)*基因在动物源性大肠杆菌和沙门氏菌中分离率最高[33,48]; 肺炎克雷伯菌对替加环素耐药是由转录调节基因(*ramR* 和 *acrR*)突变导致编码 RND (resistance-nodulation-cell division)家族外排泵的 *AcrAB* 和 *OqxAB* 基因过表达、质粒携带的 RND 家族多药外排泵基因簇 *tmexCD1-toprJ1* 以及由质粒传播的四环素外排泵基因 *tet(X4)*突变造成, 质粒携带的 RND 家族多药外排泵基因簇 *tmexCD1-toprJ1* 在零售肉类肺炎克雷伯菌分离株中常见(3.4%), 其不仅对多种药物具有耐药性, 而且能与抗性基因(包括粘菌素抗性基因 *mcr-8*)共转移, 使得 *tmexCD1-toprJ1* 广泛存在于食用动物的肺炎克雷伯菌分离株中[50]。此外, 从猪肉样本分离出的肺炎克雷伯菌中发现了质粒介导的替加环素耐药基因 *tet(X4)*, 携带 *tet(X4)*的 *IncFII(pCRY)*质粒有可能扩散到大肠杆菌和 ST11 型高毒力肺炎克雷伯菌(hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKp), 这将导致 ST11 型 *tet(X4)*阳性 hvKp 的出现与 *tet(X4)*基因在不同细菌种属间扩散[21]。

2.4 对多肽类药物的耐药机制

多粘菌素是多肽类药物的主要代表之一, 是临床治疗耐碳青霉烯类肠杆菌(carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, CRE)感染最后一道防线的重要组成部分[25], 曾作为促生长剂广泛应用于畜禽养殖过程中。目前, 革兰氏阴性菌对多粘菌素的耐药机制可分为两大类, 一类是由染色体双组分调节系统(two-component regulatory systems, TCSs)介导, 另一类是由质粒上磷酸乙醇胺编码基因(*mcr-1*)介导。

染色体双组分调节系统介导的多粘菌素耐药是由多粘菌素与细胞膜结合减少造成, 革兰氏阴性菌的 PhoPQ 和 PmrAB 双组分调节系统在抑制蛋白 MgrB 的调控下处于关闭状态, 当所处环境发生变化时(如低 Ca^{2+}浓度、低 Mg^{2+}浓度和低 pH 环境将导致 PhoPQ 激活), PhoPQ 和 PmrAB 被激活, 分别在脂多糖的脂质 A 上添加 4-氨基-4-脱氧-L-阿拉伯糖和磷酸乙醇胺, 降低多粘菌素对细菌细胞的亲和力[51–52]。不同的是肺炎克雷伯菌对多粘菌素耐药是编码组氨酸蛋白激酶 PhoQ 的负调节分子 *mgrB* 基因失活导致; 沙门氏菌主要通过 PmrAB 或 PhoPQ 双组分系统的传感器激

酶或反应调节分子突变获得多粘菌素耐药性; 在大肠杆菌中, PmrAB 系统中 *pmrB* 基因的修饰是赋予多粘菌素耐药性的主要原因[53]。

另一种是质粒上磷酸乙醇胺编码基因(*mcr-1*)导致的耐药性, 可转移粘菌素耐药基因 *mcr-1* 首次于 2015 年猪源大肠杆菌中发现, 其编码的磷酸乙醇胺转移酶 MCR-1 通过修饰磷酸乙醇胺部分导致细菌脂质 A 的改变[24]。随后, *mcr-2*、*mcr-3*、*mcr-4*、*mcr-5* 和 *mcr-9* 等基因也相继被发现[54]。*mcr-1* 的传播最为广泛, 该基因已在全球六大洲四十多国家中流行, 回顾性研究数据显示, 携带 *mcr-1* 基因的鸡肉源阳性大肠杆菌比例从 2009 年的 5.2%增加到了 2014 年的 30%[55], 另外从 2015 年到 2017 年深圳收集的食物样本(包括猪肉、鸡肉、牛肉和虾)中分离出的大肠杆菌中 *mcr-1* 基因从 26%显著增加到 46%[36]。*mcr-1* 的转移与质粒、转座子、插入序列等可移动元件密切相关, 携带 *mcr-1* 的质粒类型包括 IncI2、IncX4、IncP、IncFII、IncHI2、IncI1 等, 其中 IncX4 以及 IncHI2 是食源性沙门氏菌中粘菌素耐药性增加的原因[56]。这些携带 *mcr-1* 的质粒不仅能在没有粘菌素选择压力的情况下稳定存在, 而且能跨种属快速传播, 并且通常同时携带有人医临床常见的 *β*-内酰胺酶、氨基糖苷类、喹诺酮类、磷霉素类、磺胺类和四环素类, 甚至是碳青霉烯类耐药基因, 将对人类健康产生威胁[54,57]。

3　结束语

泛耐药革兰氏阴性菌造成的感染面临无药可用的局面, 近年来动物源食品中分离到的革兰氏阴性菌耐药表型丰富多样, 碳青霉烯耐药大肠杆菌、替加环素耐药高毒力肺炎克雷伯菌、喹诺酮耐药弧菌等临床感染关切耐药菌株的出现, 提示分析动物源食品中革兰氏阴性菌的耐药机制、传播规律, 揭示污染源与传播链对于保障消费者健康与食品工业的可持续发展具有重要意义。近年来, 相关研究主要基于高通量测序技术对集中于不同地区某一种细菌的耐药性进行分子流行病学调查, 解析耐药基因的遗传环境, 明确是否具有可转移性, 以及与临床菌株的亲缘关系, 但缺乏总览性的工作。因此, 应用“One health”理念对动物源食品生产全链条分离到的菌株进行耐药特征、基因型、质粒型、基因环境以及进化关系分析, 有助于明确耐药菌株的具体污染源, 对其造成的危害进行风险评估, 进而有针对性地对生产过程中耐药菌的污染进行防控, 最终实现减少或规避耐药病原菌对消费者健康威胁的愿景。

参考文献

[1] SILVA-BEA S, ROMERO M, PARGA A, *et al*. Comparative analysis of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains of food and human origin reveals overlapping populations [J]. Int J Food Microbiol, 2024, 413: 110605.

[2] 唐雪林, 佟盼盼, 张萌萌, 等. 乌鲁木齐市售畜禽肉源大肠杆菌的耐药性分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49(10): 15–23.
TANG XL, TONG PP, ZHANG MM, *et al*. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from retail livestock and chicken meat in Urumqi [J]. J Northwest Agric Forest Univ (Nat Sci Ed), 2021, 49(10): 15–23.

[3] 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.
TAN X, WANG P, LI R, *et al*. Research progress on antimicrobial resistance of pathogenic bacteria in foods of animal origin [J]. Food Sci, 2017, 38(19): 285–293.

[4] IMAI Y, MEYER KJ, LINISHI A, *et al.* A new antibiotic selectively kills Gram-negative pathogens [J]. Nature, 2019, 576(7787): 459–464.

[5] SERNA C, GONZALEZ-ZORN B. Antimicrobial resistance and one health [J]. Socied Español Quimiot, 2022, 35(s3): 37–40.

[6] 唐艳红, 罗双群, 杨梦冉, 等. 动物源性食品中抗生素残留、耐药细菌的分布及耐药基因的水平传播[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(20): 227–235.
TANG YH, LUO SQ, YANG MR, *et al*. Antibiotic residue, distribution of antibiotic resistant isolates and horizontal transfer of resistance genes in foods of animal origin [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(20): 227–235.

[7] ZHU Y, ZHANG W, SCHWARZ S, *et al.* Characterization of a blaIMP-4-carrying plasmid from *Enterobacter cloacae* of swine origin [J]. J Animicrob Chemoth, 2019, 74(7): 1799–1806.

[8] CHEN K, DONG N, CHAN EWC, *et al*. Transmission of ciprofloxacin resistance in *Salmonella* mediated by a novel type of conjugative helper plasmids [J]. Emerg Microbes Inf, 2019, 8(1): 857–65.

[9] CHEN K, WAI CCE, CHEN S. Evolution and transmission of a conjugative plasmid encoding both ciprofloxacin and ceftriaxone resistance in *Salmonella* [J]. Emerg Microbes Inf, 2019, 8(1): 396–403.

[10] MANCUSO G, MIDIRI A, GERACE E, *et al*. Bacterial antibiotic resistance: The most critical pathogens [J]. Pathogens, 2021, 10(10): 1310.

[11] SAUD B, PAUDEL G, KHICHAJU S, *et al.* Multidrug-resistant bacteria from raw meat of buffalo and chicken, Nepal [J]. Veter Med Int, 2019, 2019: 1–7.

[12] KIM S, KIM H, KIM Y, *et al*. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from retail poultry meats in Korea [J]. J Food Protect, 2020, 83(10): 1673–1678.

[13] MARTÍNEZ-VÁZQUEZ AV, RIVERA-SÁNCHEZ G, LIRA-MÉNDEZ K, *et al.* Prevance, antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolated from retail meat in Tamaulipas, Mexico [J]. J Glob Antimicrob Re, 2018, 14: 266–272.

[14] LI Y, LI K, PENG K, *et al*. Distribution, antimicrobial resistance and genomic characterization of *Salmonella* along the pork production chain in Jiangsu, China [J]. LWT-Food Sci Technol, 2022, 163: 113516.

[15] OVERDEVEST ITMA, HECK M, VANDER-ZWALUW K, *et al*. Extended-spectrum *β*-lactamase producing *Klebsiella* spp. in chicken meat and humans: A comparison of typing methods [J]. Clin Microbiol Inf, 2014, 20(3): 251–255.

[16] GALDIERO M, GUO Y, ZHOU H, *et al*. Frequency, antimicrobial resistance and genetic diversity of *Klebsiella pneumoniae* in food samples [J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0153561

[17] WU Q, XI M, LV X, *et al*. Presence and antimicrobial susceptibility of

Escherichia coli recovered from retail chicken in China [J]. J Food Prot, 2014, 77(10): 1773–1777.

[18] PARVIN MS, TALUKDER S, ALI MY, *et al*. Antimicrobial resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from frozen chicken meat in Bangladesh [J]. Pathogens, 2020, 9(6): 420.

[19] DUTTA D, KAUSHIK A, KUMAR D, *et al*. Foodborne pathogenic *Vibrios*: Antimicrobial resistance [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 638331.

[20] LEI T, ZHANG J, JIANG F, *et al*. Characterization of class 1 integrons harboring blaVEB-1 in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from ready-to-eat foods in China [J]. Int J Food Microbiol, 2020, 318: 108473.

[21] LI Y, WANG Z, DONG H, *et al*. Emergence of tet(X4)-positive hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* of food origin in China [J]. LWT-Food Sci Technol, 2023, 173: 114280.

[22] NORDMANN P, POIREL L, TOLEMAN MA, *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]. J Antimicrob Chemoth, 2011, 66(4): 689–692.

[23] JANECKO N, MARTZ SL, AVERY BP, *et al*. Carbapenem-resistant *Enterobacter spp.* in retail seafood imported from southeast Asia to Canada [J]. Emerg Infect Dis, 2016, 22(9): 1675.

[24] LIU YY, WANG Y, WALSH TR, *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 Infect Dis, 2016, 16(2): 161–168.

[25] LI W, YAN Y, CHEN J, *et al*. Genomic characterization of conjugative plasmids carrying the mcr-1 gene in foodborne and clinical strains of *Salmonella* and *Escherichia coli* [J]. Food Control, 2021, 125: 108032.

[26] HU WS, CHEN HW, ZHANG PY, *et al*. The expression levels of outer membrane proteins STM1530 and OmpD, which are influenced by the CpxAR and BaeSR two-component systems, play important roles in the ceftriaxone resistance of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* [J]. Antimicrob Agents Ch, 2011, 55(8): 3829–3837.

[27] GE HW, WANG YZ, ZHAO XH. Research on the drug resistance mechanism of foodborne pathogens [J]. Microb Pathogenesis, 2022, 162: 105306.

[28] VANHOEK AHAM, MEVIUS D, GUERRA B, *et al*. Acquired antibiotic resistance genes: An overview [J]. Front Microbiol, 2011, 2: 203.

[29] GUO L, XIAO T, WU L, *et al*. Comprehensive profiling of serotypes, antimicrobial resistance and virulence of *Salmonella* isolates from food animals in China, 2015–2021 [J]. Front Microbiol, 2023, 14: 1133241.

[30] ZHENG Z, LI R, YE L, *et al*. Genetic characterization of blaCTX-M-55-bearing plasmids harbored by food-borne cephalosporin-resistant *Vibrio parahaemolyticus* strains in China [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1338.

[31] 张铭琰, 耿英芝, 于淼, 等. 产超广谱*β*-内酰胺酶沙门氏菌的分布与基因型研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(1): 170–174.
ZHANG MY, GENG YZ, YU M, *et al*. Distribution and genotype of extended-spectrum *β*-lactamase- producing *Salmonella* [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(1): 170–174.

[32] XI M, WU Q, WANG X, *et al*. Characterization of extended-spectrum *β*-lactamase–producing *Escherichia coli* strains isolated from retail foods in Shaanxi Province, China [J]. J Food Protect, 2015, 78(5): 1018–1023.

[33] 吴萱, 杨璐, 刘艳超, 等. 北京市售鸡肉和猪肉中大肠杆菌污染情况及耐药特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(2): 211–216.
WU X, YANG L, LIU YC, *et al*. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* in raw chicken and pork from Beijing [J]. Chin J Food Hyg, 2022, 34(2): 211–216.

[34] CHEN S, ZHAO S, WHITE DG, *et al*. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella serovars* isolated from retail meats [J]. Appl Environ Microb, 2004, 70(1): 1–7.

[35] LIU X, LI R, CHAN EWC, *et al*. Plasmid-mediated ciprofloxacin, carbapenem and colistin resistance of a foodborne *Escherichia coli* isolate [J]. Food Control, 2022, 137: 108937.

[36] LIU X, GENG S, CHAN EW, *et al*. Increased prevalence of *Escherichia coli* strains from food carrying bla (NDM) and *mcr-1*-bearing plasmids that structurally resemble those of clinical strains, China, 2015 to 2017 [J]. Euro Surveill, 2019, 24(13): 1800113.

[37] HIGGINS PG, FLUIT AC, SCHMITZ FJ. Fluoroquinolones: Structure and target sites [J]. Curr Drug Targets, 2003, 4(2): 181–190.

[38] YIN X, DUDLEY EG, PINTO CN, *et al.* Fluoroquinolone sales in food animals and quinolone resistance in non-typhoidal *Salmonela* from retail meats: United States, 2009-2018 [J]. J Glob Antimicrob Re, 2022, 29: 163–167.

[39] XU Y, ZHENG Z, YE L, *et al*. Identification and genetic characterization of conjugative plasmids encoding coresistance to ciprofloxacin and cephalosporin in foodborne *Vibrio spp* [J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(4): e0103223.

[40] WESTON N, SHARMA P, PICCI V, *et al*. Regulation of the AcrAB-TOIC efflux pump in *Enterobacteriaceae* [J]. Res Microbiol, 2018, 167(7-8): 425–431.

[41] WONG MH, YAN M, CHAN EW, *et al*. Emergence of clinical *Salmonella* enterica serovar Typhimurium isolates with concurrent resistance to ciprofloxacin, ceftriaxone, and azithromycin [J]. Antimicrob Agents Ch, 2014, 58: 3752–3756.

[42] YANG X, HUANG J, SU Y, *et al*. Incidence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serovars in fresh retail aquatic products from China [J]. LWT-Food Sci Technol, 2022, 171: 114123.

[43] LIU M, WONG MHY, CHEN S. Molecular characterisation of a multidrug resistance conjugative plasmid from *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Int J Antimicrob Ag, 2013, 42(6): 575–579.

[44] ZHANG Y, ZHENG Z, CHAN EW, *et al*. Molecular characterization of qnrVC Genes and their novel alleles in *Vibrio* spp. isolated from food products in China [J]. Antimicrob Agents Ch, 2018, 62(7): e00529–18.

[45] PO KHL, WONG MHY, CHEN S. Identification and characterisation of a novel plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrVC7, in *Vibrio cholerae* of seafood origin [J]. Int J Antimicrob Ag, 2015, 45(6): 667–668.

[46] XU Y, ZHENG Z, YE L, *et al*. High prevalence of qnrVC variants in *Vibrio* spp. isolated from food samples in South China [J]. Microbiol Res, 2023, 267: 127261.

[47] JAHANTIGH M, SAMADI K, DIZAJI RE, *et al.* Antimicrobial resistance and prevalence of tetracycline resistance genes in *Escherichia coli* isolated from lesions of colibacillosis in broiler chickens in Sistan, Iran [J]. Bmc Vet Res, 2020, 16(1): 267.

[48] WANG Z, ZHANG J, LIU S, *et al.* Prevalence, antimicrobial resistance, and genotype diversity of *Salmonella* isolates recovered from retail meat in Hebei Province, China [J]. Int J Food Microbiol, 2022, 364: 109515.

[49] JUAN CH, HUANG YW, LIN YT, *et al*. Risk factors, outcomes, and mechanisms of tigecycline-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* bacteremia [J]. Antimicrob Agents Ch, 2016, 60(12): 7357–7363.

[50] LV L, WAN M, WANG C, *et al*. Emergence of a plasmid-encoded resistance-nodulation-division efflux pump conferring resistance to multiple drugs, including tigecycline, in *Klebsiella pneumoniae* [J]. mBio, 2020, 11(2): e02930–19.

[51] URBAN-CHMIEL R, MAREK A, STĘPIEŃ-PYŚNIAK D, *et al*. Antibiotic resistance in bacteria—A review [J]. Antibiotics-Basel, 2022, 11(8): 1079.

[52] 翁蕊，辜依海，张微. 食源性沙门菌流行趋势及耐药性研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(9): 3542–3549.
WENG R, GU YH, ZHANG W. Research progress on epidemic trend and antimicrobial resistance research of foodborne *Salmonella* [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(9): 3542–3549.

[53] CHEN AI, ALBICORO FJ, ZHU J, *et al*. Effects of regulatory network organization and environment on PmrD connector activity and polymyxin resistance in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* [J]. Antimicrob Agents Ch, 2021, 65(3): e00889–20.

[54] 孙坚，刘雅红，冯友军. 动物源细菌耐药性研究现状与对策[J]. 生物工程学报, 2018, 34(8): 1246–1258.
SUN J, LIU YH, FENG YJ. Towards understanding antibiotic resistance in animals-borne bacterial pathogens [J]. Chin J Biotech, 2018, 34(8): 1246–1258.

[55] SHEN Z, WANG Y, SHEN Y, *et al*. Early emergence of *mcr-1* in *Escherichia coli* from food-producing animals [J]. Lancet Infect Dis, 2016, 16(3): 293.

[56] CUI M, ZHANG J, ZHANG C, *et al*. Distinct mechanisms of acquisition of mcr-1-bearing plasmid by *Salmonella* strains recovered from animals and food samples [J]. Sci Rep-Uk, 2017, 7(1): 13199.

[57] YAO X, DOI Y, ZENG L, *et al*. Carbapenem-resistant and colistin-resistant *Escherichia coli* co-producing NDM-9 and MCR-1 [J]. Lancet Infect Dis, 2016, 16(3): 288–289.

(责任编辑：韩晓红　张晓寒)

作者简介

李永强，主要研究方向为动物源细菌耐药性。
E-mail: 18703516584@139.com

杨钰昆，博士，副教授，主要研究方向为基于先进功能材料制备、纳米增效、信号传导等技术的光电化学传感检测技术的构建与应用开发。
E-mail: yangyukun@sxu.edu.cn

杨志强，博士，讲师，主要研究方向为耐药细菌微进化与细菌耐药性逆转。
E-mail: yzq2021@sxu.edu.cn