

唐惠玲,尹鸿萍. 食品中抗生素耐药基因研究进展[J]. 江苏农业科学,2016,44(10):34-37.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.10.008

食品中抗生素耐药基因研究进展

唐惠玲^{1,2}, 尹鸿萍¹

(1. 中国药科大学生命科学院, 江苏南京 210009; 2. 江苏食品药品职业技术学院, 江苏淮安 223005)

摘要:随着养殖业进入规模化阶段, 抗生素在养殖业中被广泛使用。尽管抗生素本身在动物体内积累量很低, 但由抗生素诱导产生的耐药基因会残留在肉制品等食品中, 并通过食物链转移到人体。结合最新文献, 对食品中抗生素耐药基因的产生和转移进行综述, 阐明抗生素耐药基因古已有之, 大致可分为固有耐药基因和获得性耐药基因, 固有耐药基因一般通过代际遗传在同一种属细菌间传递, 具有较小的传播风险; 而获得性耐药基因的传播与抗生素或环境压力有关, 可以在不同种属细菌间传播, 推定其是食品中抗生素耐药基因转移和传播的主要原因; 还介绍了食品中抗生素耐药基因的检验方法和原理, 提出建立食品中残留抗生素耐药基因检测规范体系的必要性。

关键词:食品; 抗生素耐药基因; 转移; 检测

中图分类号: S853.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)10-0034-04

抗生素耐药已经成为威胁人类健康的全球性公共卫生问题。随着新型抗生素的研发进入瓶颈期, 从临床范围以外降低抗生素耐药性的研究越来越受到重视。随着世界养殖业进入规模化和集约化发展阶段, 抗生素使用量和使用范围不断扩大, 不仅用于治疗感染性疾病, 还被广泛用作饲料添加剂以加快畜禽生长速度和提高饲料转化效率^[1-2]。欧洲国家对抗生素滥用的危害认识相对较早, 并对此作出了严格的管控。2006 年 1 月 1 日起, 欧盟全面禁止在饲料中添加以保健或促进生长为目的的抗生素类添加剂^[3]。中国的抗生素滥用问题极为

严重, 各类抗生素原料药产量约 21 万 t, 其中 46.1% 用于养殖业, 达美国养殖业使用量的 4 倍之多^[4]。据 2014 年 WHO 报道, 欧洲每年由抗生素耐药导致的死亡人数多达 2.5 万人, 直接经济损失达 150 亿欧元; 美国 CDC 估计, 美国每年至少有 200 万人受耐药致病菌感染, 并导致至少 2.3 万人死亡^[5]。抗生素耐药基因作为一种环境污染物, 已受到科学界的重视, 它对动植物和人体健康的潜在生态风险也逐渐被揭示^[6]。

1 抗生素耐药基因概述

1.1 食品中抗生素耐药性的分布

抗生素在养殖业中的滥用, 是耐药性广泛扩散的主要原因之一。被摄入动物体内的抗生素只有小部分被吸收, 残留在动物体各组织或器官中; 大部分抗生素以原药的形式直接排泄。郝宏珊等对 576 份白条鸡样品中分离出的 390 株沙门氏菌(*Salmonella*) 进行研究, 发现在 248 株蔡啉酮酸耐药菌中, *aac*(6')-Ib-cr、*qnrA*、*qnrB*、*qnrS* 基因检出率分别为

收稿日期: 2015-08-15

基金项目: 江苏省淮安市科技局科技支撑计划(工业)(编号: HAG2013045)。

作者简介: 唐惠玲(1985—), 女, 江苏张家港人, 博士研究生, 讲师, 主要从事生物药物研究。E-mail: tanghuiyingyaya@126.com。

通信作者: 尹鸿萍, 博士, 副教授, 主要从事生物药物研究。E-mail: yinhongping@cpu.edu.cn。

[10] Hemetsberger C, Herrberger C, Zechmann B, et al. The ustilago maydis effector pep1 suppresses plant immunity by inhibition of host peroxidase activity[J]. PLoS Pathogens, 2012, 8(5): e1002684.

[11] Djamei A, Schipper K, Rabe F, et al. Metabolic priming by a secreted fungal effector[J]. Nature, 2011, 478(7369): 395-398.

[12] Manning V A, Hardison L K, Ciuffetti L M. Ptr ToxA interacts with a chloroplast-localized protein[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2007, 20(2): 168-177.

[13] Weiberg A, Wang M, Bellinger M, et al. Small RNAs: a new paradigm in plant-microbe interactions[J]. Annu Rev Phytopathol, 2014, 52: 495-516.

[14] 高明君, 何祖华. 水稻免疫机制研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2013, 43(12): 1016-1029.

[15] Yoshino K, Irieda H, Sugimoto F, et al. Cell death of *Nicotiana benthamiana* is induced by secreted protein NIS1 of *Colletotrichum orbiculare* and is suppressed by a homologue of CgDN3[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2012, 25(5): 625-636.

[16] Plett J M, Khachane A, Ouassou M, et al. Ethylene and jasmonic acid act as negative modulators during mutualistic symbiosis between *Laccaria bicolor* and *Populus* roots[J]. New Phytologist, 2014, 202(1): 270-286.

[17] Godfrey D, Bohlenius H, Pedersen C, et al. Powdery mildew fungal effector candidates share N-terminal Y/F/WxC-motif[J]. BMC Genomics, 2010, 11: 317.

[18] 韩长志. 植物病原卵菌 *RxLR* 效应基因功能研究进展[J]. 北方园艺, 2014(5): 188-193.

[19] Kleemann J, Rincon-Rivera L J, Takahara H A, et al. Sequential delivery of host-induced virulence effectors by appressoria and intracellular hyphae of the phytopathogen *Colletotrichum higginsianum*[J]. PLOS Pathogens, 2012, 8(4): e1002643.

[20] Müller O, Schreier P H, Uhrig J F. Identification and characterization of secreted and pathogenesis-related proteins in *Ustilago maydis*[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2008, 279(1): 27-39.

20.16%、10.89%、10.08%、1.61%；在83株环丙沙星耐药菌株中，共检出199个 *gyrA* 和 *parC* 基因突变点^[7]。

部分抗生素经代谢后的产物也可能具有生物活性，在自然环境中亦可转化为原药^[4]。在农业生产中，人们不加区别地使用含有抗生素残留的动物粪便来增强土壤肥力，这使得环境和农产品中残留的抗生素分布更趋广泛。抗生素进入环境中无可避免带来一系列负面影响，它们破坏土壤的原有微生态环境，使土壤中产生耐药菌群，并通过地表和地下水转移到其他地方^[8]。Yang等2010年3月至2011年2月间对中国河南省新乡市周边11所养鸡场以及使用这些养鸡场鸡粪作为肥料的大棚蔬菜进行研究，发现在使用抗生素的养鸡场中，堆肥鸡粪中细菌出现耐药性和多药耐药的比例分别为20.91%~65.9%和8.24%~20.63%；而在使用中药材的养鸡场中，堆肥鸡粪出现耐药性和多药耐药的比例分别仅为0.64%~26.87%和0.02%~4.13%^[9]。在使用抗生素的养鸡场所产鸡粪为肥料的大棚蔬菜中，白菜、芹菜和黄瓜内生菌都具有较强的氨苄西林耐药性。这揭示了环境中导致耐药性的因素有可能会通过某些途径转移到农作物的内生菌中。

抗生素耐药基因的快速进化导致食品中正常菌群或条件致病菌也出现普遍的耐药性，对人类健康产生了重大而复杂的威胁。发酵食品中的重要原料乳酸杆菌(*Lactobacillus*)、链球菌(*Streptococcus*)、双歧杆菌(*Bifidobacterium*)等都有耐药性或耐药基因检出。Devirgiliis等总结了近年来对乳酸杆菌和乳酸乳球菌的耐药性研究，发现这2类乳酸菌均可以作为抗生素耐药基因“集散地”，借此将耐药基因转移到其他细菌体内；绝大部分的乳酸杆菌和乳酸乳球菌具有四环素和红霉素耐药性，并携带耐药基因 *tet*(M) 和 *erm*(B)，也有部分携带耐药基因 *tet*(S)、(W)、(K)、(L)、(O)，以及 *erm*(C) 和 *msr*(C)^[10]。

1.2 抗生素耐药基因溯源

抗生素耐药性的产生虽属自然现象，但也有证据表明，人类的某些行为加快了抗生素耐药性的出现和蔓延。抗生素耐药机制是医学研究的重点领域，大致可分为以下类型：(1)产生抗生素灭活酶；(2)修改或保护抗生素作用靶标蛋白；(3)改变细胞膜或革兰氏阴性菌细胞壁外膜通透性；(4)通过外排泵将抗生素排出细胞外^[11]。随着研究进一步深入，抗生素耐药机制研究仍不断有新突破^[12-14]。在自然选择过程中，细菌基因结构的可塑性与复杂性使其能够进化出相应的耐药机制以适应环境中出现的各类抗生素。

WHO报告指出，抗生素耐药性是多个互相关联因素共同造成的复杂问题，单一、孤立的干预措施难以取得理想效果^[15]。Wright课题组将宏基因组(metagenomics)的研究思路引入抗生素耐药基因研究，提出用耐药基因组(resistome)这一新概念来描述多样化的耐药基因^[16]。耐药基因组是病原菌、抗生素产生菌以及环境微生物中一切抗生素耐药基因的集合。耐药性由编码“管家”或代谢蛋白的前体基因转化而来，虽然这些前体基因本来与耐药性并无太大关系，但广义的耐药基因组也应该包括这些“前体耐药基因”。此外，从细菌的整体水平来看，机体接触毒性分子会引发自身的某些基因与其表达产物之间的相互作用，导致机体对抗生素产生耐药性。因此，耐药基因组还应该包含那些能令细菌耐受抗生素杀伤作用的与生俱来的基因系统^[17-18]。

对一系列采集于抗生素发明以前细菌的研究表明，抗生素耐药基因先于抗生素药物存在^[19]。Wright课题组分别从人迹罕至的加拿大Yukon地区3万年前的永冻土以及美国Carlsbad洞穴、Lechuguilla洞穴中距今400万~700万年的地质断层中获取了多株细菌，并发现这些从未与人类或抗生素接触过的细菌大多都具有多种耐药基因^[20-21]。土壤中细菌的存活必须以能够耐受土壤微生物产生的抗菌物质为前提，因此，土壤微生物也天然地具有多重耐药性，土壤微生物是抗生素耐药基因库。不过在没有抗生素选择压力的情况下，土壤细菌的耐药基因不会那么容易转移到致病菌中，Forsberg等采集美国明尼苏达州和密歇根州的18个农牧业土壤样本，发现土壤细菌的抗生素耐药基因与特定细菌种属密切相关，不同种属间的耐药基因转移很少发生^[22]。

1.3 耐药基因在抗生素压力下的选择与进化

李显志将抗生素产生后70多年间耐药性的产生与传播称为“抗生素耐药性的现代进化”^[23]。在无抗生素时代，细菌的抗生素耐药基因组就已存在；不过抗生素药物的出现与泛滥加快了耐药基因的进化。耐药性在细菌间转移可以通过水平基因转移(HTG)，越来越多细菌具有的超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)编码基因便是通过水平转运基因实现的。在青霉素类和头孢菌素类抗生素的选择性压力下，超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)编码基因在细菌间快速且广泛传播，给全世界医疗保健带来前所未有的严重问题^[24]。从生物进化论的角度看，在抗生素环境中，敏感细菌被杀灭，通过突变或转移等手段获得耐药基因的细菌才能存活下来。

细菌暴露在抗生素压力下有不同的自然进化方式，但结果都是产生耐药性。Zhang等通过对含环丙沙星环境中的野生型和GASP突变型大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌群的基因组测序发现，不同方式的基因变异可以产生相似的耐药性^[25]。

2 食物链中抗生素耐药性的遗传学基础

抗生素耐药性可分为固有耐药性(intrinsic resistance)和获得性耐药性(acquired resistance)^[26]，普遍认为后者是抗生素耐药基因在环境和食物链中转移和传播的主要原因。

2.1 食品中细菌固有耐药基因的代际遗传

固有耐药性指细菌自身染色体上天然耐药基因的代际遗传。固有耐药性特定于某1种(属)的细菌，因此，在确定固有耐药性时首先应将该细菌鉴定到种(属)水平。若该种(属)中一些具有代表性的菌株均显示对某一类抗生素表现耐药性，可认为该种(属)细菌对这一类抗生素具有固有耐药性。固有耐药性不是在抗生素选择性压力下产生的，与是否接触过抗生素无关，一般只针对一类抗生素耐药^[27]。

副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)是一种常见的食源性致病菌，它几乎对除青霉素类以外的所有抗生素都敏感。Chiou等研究表明，副溶血弧菌的青霉素耐药性源于新发现的 β -内酰胺酶编码基因 *blaCARB-17*，在GenBank中的293株以及从食品中分离出的91株副溶血弧菌基因序列中都有该基因存在，故推断青霉素耐药性为其固有耐药性^[28]。

欧洲食品安全局(EFSA)有系统的食品及饲料工业细菌耐药性评价体系，该体系是国际上细菌耐药性评价的参考标准^[29-30]。EFSA认为，固有耐药性的耐药基因传播风险最小，所

以携带固有耐药基因的细菌菌株可用作食品或饲料添加剂^[31]。

2.2 食物链中细菌获得性耐药基因的种属间转移

获得性耐药性多由质粒、转座子或整合子介导,亦可由染色体介导,是通过基因转移而获得的耐药基因表型^[32]。染色体介导的获得性耐药基因多是在抗生素或某种外界条件压力下产生,细菌改变自身代谢途径,避免被抑制或杀灭。在自然条件下,细菌染色体发生抗生素耐药突变比例不高,发生耐药突变的细菌生长繁殖速度较慢,染色体突变型耐药菌在自然界属于“少数派”^[33]。EFSA 认为,染色体突变引起的获得性耐药基因同样具有很低的耐药基因传播风险,该类菌株也可作为食品或饲料添加剂。但是,由质粒、转座子、整合子、基因盒以及插入序列共同区 (ISCR) 介导,通过转入外源性基因引起的获得性耐药性具有较高的耐药基因传播风险,该类菌株不能用作食品或饲料添加剂。可以说,除染色体介导以外的各种获得性耐药性是食物链中抗生素耐药基因广泛传播并带来公共卫生危害的主要原因。

药物流行病学研究显示,抗生素可以同时增加病原菌和共生菌的耐药性。在某些条件下,共生菌作为抗生素的耐药基因库和转移中介,通过食物链将抗生素耐药基因传递至人类肠道内,从而实现耐药基因在食品和人体之间的转移^[34]。随着研究的深入,肠道微生物菌群与人类健康的关系不断被揭示,医学界已经普遍认识到,肠道菌群的获得性耐药基因可能是人体通过食物链获得抗生素耐药性的关键节点。

有学者对丹麦、西班牙和中国健康人群肠道细菌基因组中的耐药基因进行了研究,从 162 名健康人的肠道细菌采集约 400 万个基因,建立基因数据库;从中鉴别出 1 093 个耐药基因。通过与其他不同环境中细菌基因组比较发现,人体肠道细菌中耐药基因比例最高,而且更趋于集中在某些特定的细菌种属。根据这些耐药基因序列和耐受抗生素种类的差别,这 1 093 个耐药基因可进一步分成 149 种。结果显示中国人、丹麦人和西班牙人肠道中的耐药基因分别为 70 种、45 种和 49 种。丹麦人和西班牙人的耐药基因型比较相似,中国人耐药基因型与上述两国人群差别较大。这种差异一方面是由于肠道菌群差异,另一方面则源于抗生素使用的差异^[35]。

在抗生素滥用未真正受到严格管控前,自然环境中不断富集的抗生素残留必将诱导产生各种新类型耐药基因,这些耐药基因也将不可避免地通过食物链、水源等途径进入人体肠道。抗生素耐药细菌的进化和选择受到细菌群落所处环境营养状况的影响,人体肠道中的高代谢活性和高细胞密度可以促进细菌群落进化,因此,人体肠道是抗生素耐药基因发生水平基因转移的天然最佳场所^[36-37]。

3 食品中抗生素耐药基因的检测方法

3.1 聚合酶链反应 (PCR) 及其衍生技术^[38]

耐药基因的检测方法不仅应该有良好的敏感性和特异性,还应有较快的速度,PCR 技术可以良好地满足上述需求。通过琼脂糖电泳、探针杂交技术或 DNA 序列测定确定扩增片段,PCR 技术可以对细菌耐药基因进行筛查和验证;用限制性内切酶将 DNA 进行酶切消化,由于碱基不同会产生不同长度的酶切片段,经琼脂糖电泳分离即可与已知耐药基因序列进行比对分析;经 PCR 扩增后的 DNA 单链,进行聚丙烯酰胺

凝胶电泳分离,根据单链核苷酸因序列突变或单个碱基变化导致电泳速率差异可判断是否有耐药基因突变存在。

3.2 基因芯片技术

基因芯片技术又称基因微阵列,将基因探针固定在芯片表面,用荧光标记的靶分子与芯片上的探针分子杂交,检测荧光信号强弱,可以对杂交结果进行量化分析。

3.3 核酸杂交法

提取细菌质粒通过电泳、转膜后用特异性耐药基因探针杂交,根据质粒在电泳图谱上是否存在杂交信号可判断质粒上是否存在耐药基因。Sunde 等用 9 种抗生素耐药基因特异性探针对 10 头健康猪的正常肠道菌群进行了分析,测定出猪肠道中的大肠埃希菌中具有 *sulI*、*sulII*、*dfiI*、*dfiIIb*、*dfiIX*、*strA* - *strB* 等耐药基因^[39]。

3.4 酶切克隆法

酶切克隆法可用于检测不确定的耐药基因。从具有抗生素耐药性的细菌中选择酶切片段接入载体,通过抗生素筛选重组子获得携带耐药基因的质粒,对该质粒测序就可确定耐药基因信息。

3.5 全基因组测序技术

随着测序技术的发展,应用全基因组测序进行细菌耐药性研究已经取得良好效果,掌握耐药菌株的全基因序列可以深入了解耐药基因的进化和转移机制。Köser 等利用全基因组测序技术认定耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 菌株是某医院新生儿重症监护病房院内感染发生的主要原因^[40]。当前的实验技术往往无法快速鉴别 MRSA 菌株,全基因组测序恰好可在短时间内提供精确信息,为耐药机制研究提供了强大的工具。

4 结语

我国对抗生素耐药性的研究重点主要在临床医学和兽医学领域,对食品中抗生素耐药性的研究起步较晚。在畜禽和水产养殖业中滥用抗生素已经给人类健康带来诸多不利影响,人通过食物链获得的抗生素耐药性使得感染类疾病的病程明显延长,菌血症感染率和死亡率均有上升趋势^[41]。丹麦的经验表明,在禁止使用预防性抗生素一段时间后,畜禽动物种群体内细菌的抗生素耐药性会明显下降^[42]。

我国已经将部分食品中抗生素残留和耐药性试验纳入强制检测项目,但是对食品中种类繁多的抗生素耐药基因尚未作系统性强制性检测要求。面对食品中残留抗生素耐药基因可能带来的食品安全和公共卫生挑战,需要更多的科研工作投入食品中耐药基因转移的研究,推动我国食品中残留抗生素耐药基因评价体系的规范化。

参考文献:

- [1] Dibner J J, Richards J D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action[J]. Poultry Science, 2005, 84(4): 634 - 643.
- [2] van Boeckel T P, Brower C, Gilbert M, et al. Global trends in antimicrobial use in food animals[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(18): 5649 - 5654.
- [3] 杨晓洪, 王娜, 叶波平. 畜禽养殖中的抗生素残留以及耐药菌和抗性基因研究进展[J]. 药物生物技术, 2014, 21(6): 583 - 588.
- [4] 程安春, 潘康成, 倪学勤. 对我国动物微生态制剂产业发展的战

- 略思考[J]. 中国家禽,2008,30(14):37-39.
- [5] Gualano M R, Gili R, Scaioni G, et al. General population's knowledge and attitudes about antibiotics: a systematic review and meta-analysis [J]. Pharmacoeconomics and Drug Safety, 2015, 24(1): 2-10.
 - [6] Pruden A, Larsson D G, Amézquita A, et al. Management options for reducing the release of antibiotics and antibiotic resistance genes to the environment [J]. Environmental Health Perspectives, 2013, 121(8): 878-885.
 - [7] 郝宏珊, 杨保伟, 师俊玲, 等. 鸡肉源沙门氏菌对喹诺酮和氟喹诺酮类抗生素耐药状况及相关基因[J]. 微生物学报, 2011, 51(10): 1413-1420.
 - [8] Pei R, Kim S C, Carlson K H, et al. Effect of river landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG) [J]. Water Research, 2006, 40(12): 2427-2435.
 - [9] Yang Q, Ren S, Niu T, et al. Distribution of antibiotic-resistant bacteria in chicken manure and manure-fertilized vegetables [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2014, 21(2): 1231-1241.
 - [10] Devirgiliis C, Zinno P, Perozzi G. Update on antibiotic resistance in foodborne *Lactobacillus* and *Lactococcus* species [J]. Frontiers in Microbiology, 2013, 4: 301.
 - [11] 李显志, 张丽. 细菌抗生素耐药性: 耐药机制与控制策略[J]. 泸州医学院学报, 2011, 34(5): 445-455.
 - [12] Lin M F, Lan C Y. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: from bench to bedside [J]. World J Clin Cases, 2014, 2(12): 787-814.
 - [13] Ni W T, Shao X D, Di X Z, et al. *In vitro* synergy of polymyxins with other antibiotics for *Acinetobacter baumannii*: a systematic review and meta-analysis [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2015, 45(1): 8-18.
 - [14] 李显志, 凌保东. 2006年细菌对抗菌药物耐药机制研究进展回顾[J]. 中国抗生素杂志, 2007, 32(4): 193-202, 224.
 - [15] 世界卫生组织. 抗微生物药物耐药性 [EB/OL]. [2015-08-01]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/zh/>.
 - [16] D'costa V M, McGrann K M, Hughes D W, et al. Sampling the antibiotic resistome [J]. Science, 2006, 311(5759): 374-377.
 - [17] Wright G D. The antibiotic resistome [J]. Expert Opinion on Drug Discovery, 2010, 5(8): 779-788.
 - [18] Wright G D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity [J]. Nature Reviews Microbiology, 2007, 5(3): 175-186.
 - [19] Allen H K, Donato J, Wang H H, et al. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments [J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(4): 251-259.
 - [20] D'costa V M, King C E, Kalan L, et al. Antibiotic resistance is ancient [J]. Nature, 2011, 477(7365): 457-461.
 - [21] Bhullar K, Wagelchner N, Pawlowski A, et al. Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome [J]. PLoS One, 2012, 7(4): e34953.
 - [22] Forsberg K J, Patel S, Gibson M K, et al. Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats [J]. Nature, 2014, 509(752): 612-616.
 - [23] 李显志. 抗生素耐药基因古老起源与现代进化及其警示[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(2): 81-89.
 - [24] Högberg L D, Heddini A, Cars O. The global need for effective antibiotics: challenges and recent advances [J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2010, 31(11): 509-515.
 - [25] Zhang Q, Bos J, Tarnopolskiy G, et al. You cannot tell a book by looking at the cover: cryptic complexity in bacterial evolution [J]. Biomicrofluidics, 2014, 8(5): 052004.
 - [26] Alekshun M N, Levy S B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance [J]. Cell, 2007, 128(6): 1037-1050.
 - [27] Leclercq R, Courvalin P. Intrinsic and unusual resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics in bacteria [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1991, 35(7): 1273-1276.
 - [28] Chiou J, Li R, Chen S. CARB-17 family of β -lactamases mediates intrinsic resistance to penicillins in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015, 59(6): 3593-3595.
 - [29] EFSA. Panel on additives and products or substances used in animal feed. Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance [J]. EFSA Journal, 2012, 10(6): 2740.
 - [30] EFSA. Panel on additives and products or substances used in animal feed. Guidance for the preparation of dossiers for zootechnical additives [J]. EFSA Journal, 2012, 10(1): 2536.
 - [31] EFSA. Panel on biological hazards. Scientific opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed [J]. EFSA Journal, 2013, 11(11): 3449.
 - [32] Olaitan A O, Morand S, Rolain J M. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria [J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5(5): 643.
 - [33] Hollenbeck B L, Rice L B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus [J]. Virulence, 2012, 3(5): 421-569.
 - [34] 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.
 - [35] Hu Y, Yang X, Qin J, et al. Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota [J]. Nature Communications, 2013, 4: 2151.
 - [36] Verraes C, van Boxtael S, van Meervenne E, et al. Antimicrobial resistance in the food chain: a review [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2013, 10(7): 2643-2669.
 - [37] Rolain J M. Food and human gut as reservoirs of transferable antibiotic resistance encoding genes [J]. Frontiers in Microbiology, 2013, 4(5): 573-580.
 - [38] 李永丽. 鲍曼不动杆菌多重耐药机制及耐药基因检测研究进展 [J]. 检验医学, 2012, 27(11): 963-968.
 - [39] Sunde M, Fossum K, Solberg A, et al. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* of the normal intestinal flora of swine [J]. Microbial Drug Resistance - Mechanisms Epidemiology and Disease, 1998, 4(4): 289-299.
 - [40] Köser C U, Holden M T, Ellington M J, et al. Rapid whole-genome sequencing for investigation of a neonatal MRSA outbreak [J]. The New England Journal of Medicine, 2012, 366(24): 2267-2275.
 - [41] Tollefson L, Karp B E. Human health impact from antimicrobial use in food animals [J]. Médecine et Maladies Infectieuses, 2004, 34(11): 514-521.
 - [42] Aarestrup F M, Seyfarth A M, Emborg H D, et al. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2001, 45(7): 2054-2059.