

# 生猪肉加工厂食品接触面四环素耐药菌及其耐药基因的分布

孟赫诚<sup>1</sup>, 魏思羽<sup>1</sup>, 李丽丽<sup>2</sup>

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

(2. 暨南大学食品安全与营养研究院, 广东广州 510632)

**摘要:** 耐药菌的传播会对食品安全与人类健康造成严重威胁。本研究通过对某大型生猪肉加工厂食品接触面污染微生物四环素耐药情况进行分析, 探讨其对生猪肉制品质量与安全的潜在危害。从生猪肉加工厂食品接触面共采集样品 100 份, 共分离到 168 株细菌。通过药敏试验, 发现 60.7% 的污染细菌对四环素具有耐药性, 包括 85.7% 的假单胞菌属、85.7% 的葡萄球菌属、86.7% 的沙雷氏菌属、80% 的乳球菌属、80% 的大肠杆菌、60.0% 的不动杆菌属和 55.0% 的气单胞菌属。通过对分离株进行 15 种四环素耐药基因的筛查, 发现生猪肉加工厂设备食品接触面存在 9 种四环素耐药基因, 包括 *tetL*、*tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetE*、*tetM*、*tetS*、*tetK* 和 *tetX*, 其检出率分别为 7.7%、6.0%、4.8%、4.8%、3.6%、3.6%、3.6%、1.2% 和 0.6%。本研究结果表明, 生猪肉加工厂食品接触面四环素耐药菌污染严重, 可能交叉污染生猪肉制品, 其携带的四环素耐药基因可能向不同细菌种属间转移, 进而由食物链向人类传播, 对人类健康造成潜在的威胁。

**关键词:** 四环素耐药; 耐药基因; 生猪肉加工厂

文章篇号: 1673-9078(2019)04-30-35

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.4.005

## Tetracycline-resistant Bacteria on Food Contact Surfaces in a Raw Pork Processing Plant and Distributions of Their Tetracycline Resistance Genes

MENG He-cheng<sup>1</sup>, WEI Si-yu<sup>1</sup>, LI Li-li<sup>2</sup>

(1. College of Food Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Institute of Food Safety and Nutrition Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** The spread of drug-resistant bacteria poses a serious threat to food safety and human health. In this study, the tetracycline resistance of the contaminated microorganisms on the food-contact surfaces in a large raw pork processing plant was analyzed, and the potential quality and safety hazards in raw pork products. A total of 168 strains were isolated in the 100 samples collected from the food contact surfaces in the plant. Drug sensitivity tests revealed that 60.7% of the contaminating bacteria were resistant to tetracycline, including *Pseudomonas* sp., 85.7%; *Staphylococcus* sp., 85.7%; *Serratia* sp., 86.7%; *Lactococcus* sp., 80%; *Escherichia coli*, 80%; *Acinetobacter* sp., 60.0%; *Aeromonas* sp., 55.0%. Through screening 15 tetracycline resistance genes in the isolated strains, nine tetracycline resistance genes with different detection rates were found (including *tetL*, 7.7%; *tetA*, 6.0%; *tetB*, 4.8%; *tetC*, 4.8%; *tetE*, 3.6%; *tetM*, 3.6%; *tetS*, 3.6%; *tetK*, 1.2%; *tetX*, 0.6%). These results indicated the high prevalence and cross contamination of tetracycline-resistant bacteria on food-contact surfaces in the plant and in raw pork products, and the possible spread of tetracycline resistance genes among different bacterial species and along the food chain to humans, which will pose a potential threat to human health.

**Key words:** tetracycline resistant bacteria; tetracycline resistance gene; raw pork processing plant

我国是抗生素最大的生产国和使用国, 其中有一半被用于畜禽养殖业<sup>[1]</sup>。抗生素的大量使用造成了大

收稿日期: 2018-07-27

基金项目: 国家重点研发计划重点专项 (2016YFD0500600); 中央高校基金项目 (2017MS104; 21618309); 广东省科技计划项目 (2017B020207004)

作者简介: 孟赫诚 (1984-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 细菌耐药性研究

通讯作者: 李丽丽 (1985-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 细菌耐药性研究

量耐药细菌的产生。由此造成畜禽产品成为耐药细菌的重要储存库。畜禽产品中耐药细菌可通过食物链传播给人, 其携带的耐药基因可通过基因水平转移等方式传播给人的致病菌, 对生命健康造成严重威胁<sup>[2]</sup>。因此, 我国作为肉类生产第一大国, 加强畜禽产品及其加工环节中耐药菌的分布和传播研究对保障肉制品质量与安全具有重要意义。

四环素是一种广谱抗菌药物,对革兰氏阴性需氧菌和厌氧菌、立克次体、螺旋体、支原体、衣原体及某些原虫等都有抗菌作用<sup>[3]</sup>。由于其药效高、低毒性、价格低廉和可以口服给药的特点,而广泛用于人类临床医学、畜禽养殖和农业中<sup>[3]</sup>。随着临床上四环素类抗生素耐药菌的大量产生及其对其不良反应的深入了解,目前大部分四环素类抗生素已从临床应用退出,但在畜禽养殖领域仍是最常用的抗生素之一。数据显示,四环素耐药性是许多国家食用动物来源的细菌中最常见的耐药性,且普遍呈增加的趋势<sup>[4]</sup>,且新的四环素耐药基因正不断被发现。因此,在细菌耐药性已成为全球性难题的背景下,动物来源细菌四环素耐药性仍然是需要重点监测的耐药性之一。

肉制品因其营养丰富,在加工过程中易受到微生物的污染,加工过程中设备食品接触面会粘附微生物,并形成具有一定空间结构的细菌聚集体,如生物被膜<sup>[5]</sup>。常规的杀菌消毒能清除设备表面大部分污染菌,但却难以彻底清除生物膜等污染源<sup>[5]</sup>。加工设备食品接触面的交叉污染已被公认为是造成食品污染的重要途径之一<sup>[5]</sup>。然而,肉制品加工过程中食品接触面上细菌的分布及其耐药性的研究报道十分少见。

本研究以生猪肉加工厂中食品接触面的分离菌为研究对象,研究其携带的四环素耐药基因,旨在为猪肉产品加工过程中的耐药微生物控制提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品采集

2013年于中国厦门某大型猪肉加工厂,用无菌棉签从食品接触面上的100 cm<sup>2</sup>表面采集样本100份,包括传送带、切片机、刀、工作台、塑料托盘、手套和围裙。

#### 1.1.2 主要试剂

四环素药敏纸片(30 μg/片),Sigma公司;脑心浸出液营养肉汤(BHI)、琼脂糖,广东环凯生物科技有限公司;引物,生工生物工程(上海)股份有限公司;

细菌基因组DNA快速提取试剂盒,北京Biomed公司;溶菌酶,Sigma公司;5×Loading Buffer、DL2000 DNA marker、琼脂糖,艾迪生物科技有限公司;Taq DNA聚合酶、dNTP、10×PCR反应缓冲液、蛋白酶K(德国Sigma公司),美国Bio-Rad公司。

#### 1.1.2 主要仪器设备

ATS-031/032 摇床培养箱,上海堪鑫仪器设备有限公司;MLS-3020 高温高压灭菌锅,日本三洋公司;GeneAmp PCR system2700 PCR仪,美国Applied biosystems公司;Gel Doc EQ 凝胶成像分析系统,美国Bio-Rad公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 细菌分离及鉴定

将从食品接触面上采样的无菌棉签浸在10 mL 无菌BHI中,30℃培养24 h后,取100 μL 梯度稀释并涂布于BHI琼脂平板上,30℃培养48 h。之后,将形态不同的菌落划线接种到营养琼脂平板上,30℃培养18~24 h。利用16S rRNA基因测序,BLAST将序列与基因库数据比对,对分离的菌株进行鉴定。分离菌用15%甘油-80℃冰箱中保存备用。

### 1.2.2 药敏试验

对于分离的细菌参照美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, 2012)推荐的Kirby-Bauer纸片扩散法进行四环素敏感性试验<sup>[6]</sup>。质控菌为金黄色葡萄球菌ATCC25923和大肠杆菌ATCC 25922。

### 1.2.3 DNA提取

将菌株活化后,按照细菌基因组快速提取试剂盒说明书提取细菌DNA。

### 1.2.4 四环素耐药基因

用传统PCR扩增方法对所有菌株检测15种四环素耐药基因,包括7个外排泵基因*tetA*, *tetC*, *tetE*, *tetG*, *tetK*, *tetL*, *tetA/P*, 7个核糖体保护基因*tetM*, *tetO*, *tetQ*, *tetS*, *tetT*, *tetW*, *tetB*和1个钝化酶基因*tetX*,引物序列及条件如表1所示。

表1 PCR所用引物序列

Table 1 Primers used in PCR

基因	引物名称	引物序列(5'-3')	长度/bp	参考文献
<i>tetA</i>	tetA-F	GCTACATCCTGCTTGCCTTC	210	[7]
	tetA-R	CATAGATCGCCGTGAAGAGG		
<i>tetB</i>	tetB-F	GCCAGTCTTGCCAACGTTAT	975	[8]
	tetB-R	ATAACACCGGTTGCATTGGT		

转下页

接上页				
<i>tetC</i>	tetC-F	CTTGAGAGCCTTCAACCCAG	418	[7]
	tetC-R	ATGGTCGTCATCTACCTGCC		
<i>tetE</i>	tetE-F	GTTATTACGGGAGTTTGTGG	278	[7]
	tetE-R	AATACAACACCCACACTACGC		
<i>tetG</i>	tetG-F	GCTCGGTGGTATCTCTGCTC	468	[7]
	tetG-R	AGCAACAGAATCGGGAACAC		
<i>tetK</i>	tetK-F	TCGATAGGAACAGCAGTA	169	[7]
	tetK-R	CAGCAGATCCTACTCCTT		
<i>tetL</i>	tetL-F	TCGTTAGCGTGCTGCATTC	267	[7]
	tetL-R	GTATCCACCAATGTAGCCG		
<i>tetA/P</i>	tetA/P-F	CTTGGATTGCGGAAGAAGAG	676	[7]
	tetA/P-R	ATATGCCCAITTAACCACGC		
<i>tetM</i>	tetM-F	ACAGAAAGCTTATTATATAAC	171	[7]
	tetM-R	TGGCGTGTCTATGATGTTTAC		
<i>tetO</i>	tetO-F	AACTTAGGCATTCTGGCTCAC	515	[9]
	tetO-R	TCCCCTGTTCCATATCGTCA		
<i>tetQ</i>	tetQ-F	AGAACTGCTGTTTGCCAGTG	169	[7]
	tetQ-R	CGGAGTGTCAATGATATTGCA		
<i>tetS</i>	tetS-F	CATAGACAAGCCGTTGACC	667	[7]
	tetS-R	ATGTTTTTGGAAACGCCAGAG		
<i>tetW</i>	tetW-F	GAGAGCCTGCTATATGCCAGC	168	[7]
	tetW-R	GGGCGTATCCACAATGTAAAC		
<i>tetT</i>	tetT-F	AAGGTTTATTATATAAAAAGTG	169	[7]
	tetT-R	AAGGTTTATTATATAAAAAGTG		
<i>tetX</i>	tetX-F	CAATAATTGGTGGTGGACCC	468	[7]
	tetX-R	TTCTTACCTTGGACATCCCG		

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌株分离鉴定部分

本研究共分离出 168 株, 包括 10 个菌属, 其中假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 35 株, 不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.) 30 株, 气单胞菌属 (*Aeromonas* sp.) 20 株, 香味菌属 (*Myroides* sp.) 15 株, 沙雷氏菌属 (*Serratia* sp.) 15 株, 葡萄球菌属 (*Staphylococcus* sp.) 14 株, 肠杆菌属 (*Enterobacter* sp.) 11 株, 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 10 株, 乳球菌属 (*Lactococcus* sp.) 10 株, 克雷伯氏菌属 (*Klebsiella* sp.) 8 株(表 2)。本研究分离的大部分菌属都属于条件致病菌。

在本实验分离菌中, 假单胞菌属分离率最高, 其次为不动杆菌属和气单胞菌属等腐败菌, 这些细菌都属于嗜冷菌, 且为条件致病菌, 其存在可能会污染加工中生猪肉并对人类健康产生威胁<sup>[10]</sup>。据报道, 嗜冷菌如假单胞菌属在加工厂设备表面大量存在, 是生肉

制品加工过程中重要的污染菌<sup>[11]</sup>。另有研究结果显示, 嗜冷菌是市售冷却肉上常见的污染细菌<sup>[10]</sup>。因此, 加工厂设备表面上的假单胞菌等嗜冷菌可能是冷鲜肉等生肉制品微生物污染的重要途径。

香味菌属是广泛存在于外界环境的一种条件致病菌, 其致病性尚未有明确的定论。本研究发现加工厂设备表面上存在大量香味菌属。目前, 关于香味菌属的研究报道还比较少见, 零星的报道主要来自中国的临床数据。例如, 陈国晓等人<sup>[12]</sup>发现一个患者的尿细菌中存在香味菌。郭莉等人<sup>[13]</sup>在临床中从清洁中段尿、痰液中分离出该菌, 且发现该菌多重耐药现象严重, 临床可选的治疗药物有限。生肉及其加工环节中香味菌的污染还未见相关报道。由于食品接触面上存在的香味菌属可能会污染生肉制品, 进而感染人, 因而是需要引起重视的一种重要微生物污染源, 应加强食品接触面上存在的香味菌属及其耐药性相关研究。

另外, 本研究中还发现生猪肉加工厂设备表面存在克雷伯氏菌属、沙雷氏菌属和乳球菌属等重要的条

件致病菌。这些菌属广泛存在于临床样品、土壤、水和谷物中等，表明生猪肉加工环境存在多种污染源，会直接或间接对生肉质量与安全造成威胁。

## 2.2 四环素耐药性检测结果

在 168 株分离菌中,60.7%(102/168)的细菌表现出对四环素的耐药性,包括 86.7%(13/15)的沙雷氏菌属、85.7%(30/35)的假单胞菌属、85.7%(12/14)的葡萄球菌属、80%(8/10)的乳球菌属、80%(8/10)的大肠杆菌、60.0%(18/30)的不动杆菌属和 55.0%(11/20)的气单胞菌属。所有的肠杆菌属和克雷伯氏菌属都对四环素敏感(表 2)。

表 2 生猪肉加工过程中食品接触面的细菌分布

Table 2 Isolates from food contact surfaces in a meat processing plant

plant			
菌属	数量	TET <sup>Ra</sup>	耐药率/%
假单胞菌属	35	30	85.7
不动杆菌属	30	18	60.0
气单胞菌属	20	11	55.0
香味菌属	15	2	13.3
沙雷氏菌属	15	13	86.7
葡萄球菌属	14	12	85.7
肠杆菌属	11	0	0
大肠杆菌	10	8	80
乳球菌属	10	8	80
克雷伯氏菌属	8	0	0
总计	168	102	60.7

注: TET<sup>Ra</sup>, 四环素耐药菌。

四环素在我国抗生素生产中产量居首位, 曾被广

泛应用于人和动植物感染的防治和动物的促生长剂, 因而我国各种病原菌对四环素产生耐药性已相当普遍。因而, 本研究发现设备食品接触面的污染微生物大部分对四环素具有耐药性, 既包括革兰氏阴性菌如假单胞菌属、沙雷氏菌属、大肠杆菌、不动杆菌属和气单胞菌属, 也包括革兰氏阳性菌, 如葡萄球菌属和乳球菌属。四环素耐药基因常与转移质粒、转座子等可移动遗传元件相连, 这些可移动遗传元件能使四环素耐药基因在不同细菌种属间传递, 由此可能是造成四环素耐药性普遍的重要原因<sup>[14]</sup>。另一方面, 有研究结果显示在肉加工厂中消毒剂的不当使用会造成消毒剂残留而形成亚抑菌浓度环境, 进一步导致细菌产生耐药性和耐药基因的水平转移, 提示需加强加工厂卫生消毒方法规范, 以控制加工厂耐药菌滋生。

## 2.3 四环素耐药基因的分布

通过对 15 种四环素耐药基因的筛查, 发现生猪肉食品加工厂设备表面的污染微生物中存在 9 种四环素耐药基因, 其中 *tetL* 的检出率最高, 为 7.7%, 其次为 *tetA*(6.0%)、*tetB*(4.8%)、*tetC*(4.8%)、*tetE*(3.6%)、*tetM*(3.6%)、*tetS*(3.6%)、*tetK*(1.2%)和 *tetX*(0.6%)。所有的分离菌株中均未检测到 *tetG*、*tetA/P*、*tetO*、*tetQ*、*tetT* 和 *tetW*(图 1)。有 3 株分离菌同时携带 2 种 *tet* 基因, 1 株克雷伯氏菌属同时含有 *tetA* 和 *tetL*、1 株大肠杆菌同时含有 *tetA* 和 *tetC*、1 株气单胞菌属同时含有 *tetE* 和 *tetL*(表 3)。所有分离菌无论对四环素敏感还是耐药都携带 1 种或多种耐药基因(表 3)。在敏感菌株中同样发现 *tet* 基因, 表明 *tet* 基因在这些菌株中不表达, 在抗生素的诱导下有可能表达对四环素的耐药性。

表 3 生猪肉加工厂食品接触面中四环素耐药基因在各分离菌属中的分布

Table 3 Distribution of tetracycline resistance genes of representative bacteria from food contact surfaces in a meat processing plant

基因	菌株
<i>tetA</i>	气单胞菌属、大肠杆菌、克雷伯氏菌属、沙雷氏菌属
<i>tetB</i>	不动杆菌属、气单胞菌属、肠杆菌属、大肠杆菌、克雷伯氏菌属、沙雷氏菌属
<i>tetC</i>	肠杆菌科、大肠杆菌、沙雷氏菌属
<i>tetE</i>	气单胞菌属、肠杆菌科、乳球菌属
<i>tetL</i>	气单胞菌属、肠杆菌科、克雷伯氏菌属、香味菌属
<i>tetM</i>	不动杆菌属、气单胞菌属、大肠杆菌、克雷伯氏菌属、假单胞菌属、沙雷氏菌属
<i>tetS</i>	乳球菌属、沙雷氏菌属
<i>tetK</i>	葡萄球菌属
<i>tetX</i>	香味菌属
<i>tetA, tetC</i>	大肠杆菌属
<i>tetA, tetL</i>	克雷伯氏菌属
<i>tetE, tetL</i>	气单胞菌属

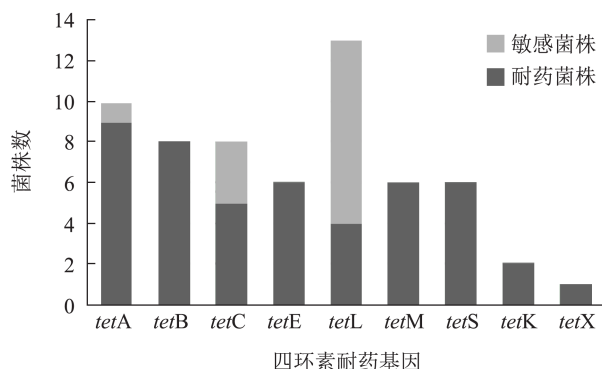


图1 生猪肉加工厂食品接触面上分离菌中四环素耐药基因的分布

Fig.1 Distribution of tetracycline resistance genes in bacteria isolated from food contact surfaces in a meat processing plant

细菌对四环素耐药的机制有多种,包括药物外排机制、核糖体保护机制、酶钝化机制等<sup>[15]</sup>。已有的研究报道显示, *tet* 基因广泛存在于即食食品、动物性食品、环境和人体菌群中等<sup>[16-18]</sup>。王珊珊<sup>[19]</sup>在厦门某屠宰场猪肉中的四环素耐药菌检测到四环素耐药基因,发现外排泵基因多与核糖体保护基因。王学君<sup>[20]</sup>等人于贵州省 8 个地区规模化养殖场分离的猪源大肠杆菌,发现其携带的四环素耐药基因的检出率为(41.50%~92.60%)。与前人研究结果类似,本研究中生猪肉加工厂设备表面污染细菌中 *tet* 基因中外排泵基因多与核糖体保护基因,但 *tet* 基因的检出率(0.6%~7.7%)较低<sup>[15-17]</sup>,四环素耐药基因种类较多,且携带这些基因的菌种范围较多(表3),表明生猪肉加工厂食品接触面上污染细菌可能作为四环素耐药基因储存库。

### 3 结论

3.1 本研究结果显示,生猪屠宰加工厂食物接触表面上存在大量污染细菌,包括假单胞菌属、不动杆菌属、气单胞菌属、香味菌属、沙雷氏菌属、克雷伯氏菌属,葡萄球菌属、肠球菌属等条件致病菌,其存在可能会污染加工中生猪肉并对人类健康产生威胁。

3.2 生猪屠宰加工厂食物接触表面上分离出的168株菌中,60.7%(102/168)的细菌表现出对四环素的耐药性。通过对15种四环素耐药基因的筛查,发现生猪肉食品加工厂设备表面的污染微生物中存在9种四环素耐药基因,这些耐药基因可能向不同种属细菌间转移,进而由食物链向人类传播,对人类健康造成潜在威胁。因而,肉制品加工厂食品接触面是导致肉制品污染耐药菌的重要因素,为保障消费者的饮食安全,避免食源性疾病的发生,应加强肉制品加工厂食品接触面耐药微生物的控制以保障肉制品质量与安全。

### 参考文献

- [1] 潘寻,韩哲,李浩.抗生素在畜禽养殖业中的应用、潜在危害及去除[J].农业资源与环境学报,2012,29(5):1-6  
PAN Xun, HAN Zhe, LI Hao. Application, potential hazards and removal of antibiotics in livestock and poultry breeding [J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2012, 29(5): 1-6
- [2] 陈铮.食源性细菌中的抗生素抗性成为持续发展的威胁[J].中国食品学报,2014,14(6):251-251  
CHEN Zheng. Antibiotic resistance in foodborne bacteria is a threat to continued development [J]. Chinese Journal of Food Science, 2014, 14(6): 251-251
- [3] 梁金玲,黄玉霞,何金兴.分子印迹固相萃取-高效液相色谱法检测鸡肉中的四环素类抗生素残留[J].现代食品科技,2018,34(7):1-6  
LIANG Jin-ling, HUANG Yu-xia, HE Jin-xing. Determination of tetracycline antibiotic residues in chicken by molecularly imprinted solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(7): 1-6
- [4] Vossenkühl B, Brandt J, Fetsch A, et al. Comparison of *spa* types, SCCmec types and antimicrobial resistance profiles of MRSA isolated from turkeys at farm, slaughter and from retail meat indicates transmission along the production chain [J]. Plos One, 2014, 9(5): e96308
- [5] Shi X, Zhu X. Biofilm formation and food safety in food industries [J]. Trends in Food Science and Technology, 2009, 20(9): 407-413
- [6] M100-S22, Clinical and Laboratory Standards Inst. 2012 [S]
- [7] Wu N, Qiao M, Zhang B, et al. Abundance and diversity of tetracycline resistance genes in soils adjacent to representative swine feedlots in China [J]. Environmental Science and Technology, 2010, 44(18): 6933-6939
- [8] Koo H J, Woo G J. Distribution and transferability of tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli* isolated from meat and meat products [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 145(2): 407-413
- [9] Ng L K, Martin I, Alfa M, et al. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes [J]. Molecular and Cellular Probes, 2001, 15(4): 209-215
- [10] Gill C O, Newton K G. The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures [J]. Journal of Applied Microbiology, 1977, 43(2): 189-195

- [11] Liu Z B, Zhang Z G, Yan H, et al. Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant *enterobacteriaceae* strains from pork and environmental samples in Xiamen, China [J]. Journal of Food Protection, 2015, 78(1): 78-88
- [12] 陈国晓,张祥生,丁德刚,等. 香味类香味菌尿路感染合并膀胱重度挛缩的诊治并文献复习[J]. 临床泌尿外科杂志, 2018, 33(6):486-490  
CHEN Guo-xiao, ZHANG Xiang-sheng, DING De-gang, et al. Diagnosis and treatment of urinary tract infection due to *Myroides odoratimimus* combined with bladder [J]. Journal of Clinical Urology, 2018, 33(6): 486-490
- [13] 郭莉,刘晓富. 从痰中分离出耐亚胺培南芳香黄杆菌1例[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(2):175-177  
GUO Li, LIU Xiao-fu. Isolation of a imipenem-resistant *Flavobacterium* from the sputum [J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2011, 8(2): 175-177
- [14] Zhu Y G, Johnson T A, Su J Q, et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(9): 3435-3440
- [15] 陈阳,杨涵超,刘生,等. 四环素类抗生素耐药机制研究进展[J]. 广东化工, 2018, 45(3):89-90  
CHEN Yang, YANG Han-chao, LIU Sheng, et al. Research progress in antibiotic resistance mechanism of tetracycline antibiotics [J]. Guangdong Chemical Industry, 2018, 45(3): 89-90
- [16] Liu Z B, Zhang Z G, Yan H, et al. Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* strains from pork and environmental samples in Xiamen, China [J]. Journal of Food Protection, 2015, 78(1): 78-88
- [17] Jiang X, Shi L, et al. Distribution of tetracycline and trimethoprim/sulfamethoxazole; resistance genes in aerobic bacteria isolated from cooked meat products in Guangzhou, China [J]. Food Control, 2013, 30(1): 30-34
- [18] Schwaiger K, Huther S, Hölzel C, et al. Prevalence of antibiotic-resistant *enterobacteriaceae* isolated from chicken and pork meat purchased at the slaughterhouse and at retail in Bavaria, Germany [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 154(3): 206-211
- [19] 王珊珊. 厦门某屠宰场猪肉中四环素耐药菌的分离鉴定及耐药基因的分布研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014  
WANG Shan-shan. Isolation and identification of tetracycline resistant bacteria and distribution of resistance genes from pork in abattoirs in Xiamen [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2014
- [20] 王学君,谭艾娟,吕世明,等. 贵州省猪源大肠杆菌对四环素类药物的耐药性及耐药基因检测[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(5):1367-1373  
WANG Xue-jun, TAN Ai-juan, LYU Shi-ming, et al. Detection of resistance and resistance genes of swine *Escherichiacoli* in Guizhou to tetracyclines [J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2018, 45(5): 1367-1373

---

(上接第 189 页)

- [40] Baranowska I, Bajkacz S. A new UHPLC-MS/MS method for the determination of flavonoids in supplements and DPPH-UHPLC-UV method for the evaluation of the radical scavenging activity of flavonoids [J]. Food Chemistry, 2018, 256: 333-341
- [41] MA L, CHEN H, ZHU W, et al. Effect of different drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides extracted from mushroom *Inonotus obliquus* [J]. Food Research International, 2013, 50(2): 633-640
- [42] LIU Y, WANG L, LIU F, et al. Effect of grinding methods on structural, physicochemical, and functional properties of insoluble dietary fiber from orange peel [J]. International Journal of Polymer Science, 2016, 2016: 1-7
- [43] ZHAO X, ZHU H, ZHANG G, et al. Effect of superfine grinding on the physicochemical properties and antioxidant activity of red grape pomace powders [J]. Powder Technology, 2015, 286: 838-844
- [44] ZHAO X, CHEN J, CHEN F, et al. Surface characterization of corn stalk superfine powder studied by FT-IR and XRD [J]. Colloids & Surfaces B Biointerfaces, 2013, 104(3): 207-212
- [45] ZHAO G, LIANG X, WANG C, et al. Effect of superfine pulverization on physicochemical and medicinal properties of qili powder [J]. Revista Brasileira De Farmacognosia, 2014, 24(5): 584-590