

吉 星, 李 俊, 王 冉, 等. 常见益生菌耐药性研究进展[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(6): 1722-1728.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.06.032

常见益生菌耐药性研究进展

吉 星, 李 俊, 王 冉, 何 涛

(江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所/省部共建国家重点实验室培育基地——江苏省食品质量安全重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘要: 益生菌被定义为一种活的微生物, 当摄入足够的量时, 可在营养、新陈代谢和免疫功能等方面为宿主带来健康益处。益生菌目前被广泛应用在食品加工, 医疗保健和畜禽养殖业, 且市场正在扩大。益生菌的广泛使用可能带来新的风险, 如成为耐药基因储存库并参与耐药基因的转移和扩散。基于公共卫生和食品安全的要求, 本文对常用益生菌的种类、耐药表型测试方法、耐药特征及耐药基因转移情况进行了综述, 为未来益生菌的安全规范管理和使用提供理论依据。

关键词: 益生菌; 耐药性; 耐药基因转移

中图分类号: Q939.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)06-1722-07

Research progress on drug resistance of common probiotics

Ji Xing, Li Jun, Wang Ran, He Tao

(*Jiangsu Key Laboratory for Food Quality and Safety-State Key Laboratory Cultivation Base of Ministry of Science and Technology/Institute of Food Safety and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China*)

Abstract: Probiotics are defined as living micro-organisms that can bring health benefits to the host in terms of nutrition, metabolism and immune function when ingested in sufficient quantities. Probiotics are widely used in food processing, health care and livestock breeding, and the market is expanding. The widespread use of probiotics may bring new risks, such as becoming a reservoir of resistance genes and participating in the transfer and diffusion of drug resistance genes. Based on the requirements of public health and food safety, this paper reviewed the types, drug-resistance test methods, drug resistance characteristics, and drug-resistance gene transfer of commonly used probiotics, so as to provide a theoretical basis for the safe and standardized management and use of probiotics in the future.

Key words: probiotics; antibiotic resistance; drug resistance gene transfer

益生菌是一种具有活性的微生物, 当摄入适当的量时, 可对人体产生有益的效果^[1]。目前已有大

量的益生菌资源被挖掘, 如乳杆菌, 芽孢杆菌, 双歧杆菌和肠球菌等。益生菌通常应用在奶、肉等食品发酵、日常饮食补充或配合抗生素给药治疗等^[2]。还有一些研究结果证明益生菌对一些慢性疾病具有治疗或预防作用, 如肥胖、糖尿病、心血管疾病和慢性肠炎等^[3]。除此之外, 随着世界各国对养殖及饲料产业“减抗、禁抗和替抗”的政策要求, 益生菌作为热门的抗生素替代产品, 也越来越多地出现在饲料添加剂中。

收稿日期: 2022-05-16

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK20220746、BK20200056);
江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(22)3003]

作者简介: 吉 星 (1993-), 男, 河南驻马店人, 博士, 助理研究员, 主要从事人畜共患微生物耐药和致病机制研究。(E-mail) jixing@jaas.ac.cn

通讯作者: 何 涛, (E-mail) vethetao@163.com

尽管传统上常用的益生菌被证实对人类无害,但从监管角度来看,并非所有的益生菌都可以被称为“公认安全”状态(Generally Recognized As Safe, GRAS)。近年来,由于抗生素的过度使用及超级耐药病原菌的出现,越来越多的人担心细菌耐药性将对全球公共健康产生威胁。益生菌作为在自然环境和人体内大量存在的常驻菌群,可能成为潜在的耐药基因储存库,并存在传播和扩散耐药基因的风险^[4]。在全球关注公共卫生和食品安全的背景下,益生菌的耐药性及其耐药基因转移性的研究具有重要的科学意义。本综述旨在归纳和讨论从发酵食品、益生菌产品中分离的常见益生菌对抗生素的耐药情况和耐药基因转移风险,以期对益生菌的安全规范管理和使用提供理论依据。

1 中国允许使用的益生菌种属

中国通常以菌种名单列表和行政许可公告的形式发布允许使用的益生菌菌种。目前,国家卫生健康委员会发布了《可用于食品的菌种名单》、《可用于婴幼儿食品的菌种名单》和《可用于保健食品的益生菌菌种名单》,规定了人类使用的益生菌主要为双歧杆菌和乳杆菌。此外,农业农村部还针对养殖业使用的微生物菌种发布了《饲料添加剂品种目录》,其中除常见的乳杆菌和双歧杆菌外,还包括肠球菌和芽孢杆菌等。

乳杆菌最早在 20 世纪初由 Elie Metchnikoff 于保加利亚发酵乳中分离,并由此提出了最早的“益生菌”概念^[5]。乳杆菌为厚壁菌门厌氧或兼性厌氧的革兰氏阳性杆菌,不产生孢子,主要包括嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、植物乳杆菌和罗伊氏乳杆菌等。双歧杆菌最早于 1900 年健康婴儿粪便中分离,为放线菌门严格厌氧的革兰氏阳性杆菌,不产孢子,主要包括长双歧杆菌、两歧双歧杆菌、动物双歧杆菌、青春双歧杆菌和婴儿双歧杆菌等^[6]。芽孢杆菌也是最常见的益生菌之一,已被广泛使用了 60 多年。芽孢杆菌为厚壁菌门需氧革兰氏阳性杆菌,可产芽孢,主要包括枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌等^[7]。肠球菌为厚壁菌门需氧或兼性厌氧革兰氏阳性菌,不产芽孢,主要包括粪肠球菌和屎肠球菌等^[8]。

2 益生菌的药物敏感性评价标准和方法

根据各国益生菌使用基本准则和微生物耐药性

防控的要求,益生菌在使用前需要进行抗菌药物敏感性试验,但药敏试验结果会受测试菌属、培养基组成、培养条件及培养时间的影响。目前关于益生菌的抗生素敏感性评价尚未有统一的标准。

根据益生菌菌种不同,常参考美国临床实验室标准协会(CLSI)、欧洲食品安全局(EFSA)和国际标准化组织/国际乳制品联合会(ISO/IDF)推荐的微量肉汤稀释法或琼脂稀释法进行抗菌药物敏感性测试。例如,对于乳杆菌属益生菌的抗菌药物最小抑菌浓度(MIC)测试可结合 CLSI M45、ISO/IDF-10932 标准和 EFSA 发布的《细菌对人类和兽医重要抗菌药物的敏感性评估指南》进行;双歧杆菌属益生菌可参考 CLSI M11 和 ISO/IDF-10932 等标准。除了以上这些参考标准和方法,也可使用纸片扩散法和抗生素浓度梯度法(E-test 法)对益生菌进行药物敏感性测试。有报道称纸片扩散法和 E-test 法得到的嗜酸乳杆菌 MIC 结果与标准的微量肉汤稀释法结果具有一致性^[9]。尽管这些方法都可以得到有效的益生菌药敏数据,但实验室内不同批次同种属的细菌应使用同一种方法,才能保证数据的可重复性和可比较性。

3 常见益生菌的耐药性

与很多致病菌一样,益生菌也会表现出对多种抗菌药物的耐药性(表 1),包括固有耐药性和获得性耐药性两种类型。固有耐药性主要是益生菌染色体基因编码的,例如 DNA 位点的自发突变、药物外排泵的存在、抗生素降解酶的分泌和细胞外膜结构药物靶点的缺乏等^[10]。而获得性耐药性是指细菌通过接合、转化和转导等方式获得外源的基因片段而获得耐药性,这些耐药基因通常位于可移动元件上,如质粒、整合子、转座子和噬菌体等^[11]。一般来讲,益生菌的固有耐药性不具有水平转移扩散风险,而获得性耐药性具有转移到其他致病菌的风险,应引起高度重视。

3.1 益生菌的固有耐药性

3.1.1 乳杆菌 大多数乳杆菌对头孢菌素、氨基糖苷类药物、磺胺类药物和硝基咪唑类药物具有天然耐药性,这可能和细胞壁的低渗透性和某些基因的自发突变有关,其具体机制有待进一步阐明^[11-12]。有结果表明乳杆菌中染色体基因的突变会产生抗生素抗性,如鼠李糖乳杆菌菌株 23S rRNA 基因中的单一位点突变降低了红霉素对核糖体的亲和力,赋

予了其大环内酯类药物的抗性^[13]。值得注意的是,几乎所有的乳杆菌对万古霉素具有天然耐药性,这可能是由于乳杆菌的肽聚糖 D-丙氨酸残基被 D-乳酸或 D-丝氨酸取代,从而阻止了万古霉素和乳杆菌的结合,维持了细胞壁的正常合成^[14]。

3.1.2 肠球菌 部分肠球菌对 β -内酰胺类药物具有一定程度的天然耐药性,是由于这些肠球菌表达的青霉素结合蛋白 PBP (如屎肠球菌编码的 PBP5 和粪肠球菌编码的 PBP4) 与 β -内酰胺类抗生素结合能力较弱,从而使药物不能作用于肠球菌细胞壁^[15]。此外,粪肠球菌对氨基糖苷类药物也具有一定的固有耐药性,这可能是位于染色体的保守基因 *aac* (6')-II 编码的氨基糖苷 6'-N-乙酰转移酶和 *efmM* 基因编码的甲基转移酶导致核糖体靶位变化有关^[16-17]。同时,肠球菌的固有耐药性也和一些 ATP 结合盒超家族外排泵有关,如 *lsa* 基因可介导粪肠球菌或屎肠球菌对大环内酯类-林可霉素-链阳性菌素类抗生素 (MLS) 的抗性^[18]。此外,肠球菌还具有从环境中直接吸收叶酸的能力,这导致甲氧苄啶-磺胺甲噁唑不能竞争抑制细菌的四氢叶酸合成途径而产生了固有抗性^[19]。

3.1.3 双歧杆菌 双歧杆菌对莫匹罗星具有天然抗性,其机制是一种特殊的异亮氨酰-tRNA 合成酶基因 (*ileS*) 的表达导致了莫匹罗星的竞争抑制作用丧失,从而恢复了细菌的蛋白质合成能力^[20]。此外,大多数双歧杆菌对氨基糖苷类药物不敏感,其原因可能是由于其缺乏细胞色素介导的药物转运功能^[21]。还有部分短双歧杆菌中编码核糖体亚单位蛋白 S12 的 *rpsL* 基因突变可导致其对链霉素的高水平抗性^[22]。

3.1.4 芽孢杆菌 芽孢杆菌对大多数的抗生素是敏感的,其固有耐药性研究较少。目前有相关报道称 *bcrA* 编码的 ABC 转运蛋白可介导地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌等对杆菌肽的固有抗性^[23]。此外,位于染色体的 *erm* (D) 和 *erm* (K) 基因可介导副地衣芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌对大环内酯、林可酰胺和链阳菌素-B 类抗生素的耐药性^[24-25]。

3.2 益生菌的获得性耐药性特征

3.2.1 乳杆菌 乳杆菌最常见的获得性耐药基因因为四环素类耐药基因。迄今为止,已在罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和发酵乳杆菌等多种乳杆菌中检测到位于质粒或转座子上的四环素类抗性基因,包

括编码核糖体保护蛋白的基因 *tet* (W)、*tet* (M)、*tet* (S)、*tet* (O) 和 *tet* (Z) 和外排泵编码基因 *tet* (K) 和 *tet* (L)^[26-27]。此外,乳杆菌属益生菌还可携带其他常用药物的耐药基因,如 *cat* 基因可介导嗜酸乳杆菌、德氏乳杆菌等对氯霉素的耐药性^[28], *erm* (A)、*erm* (B) 和 *erm* (C) 基因可介导多种乳杆菌对红霉素等大环内酯类药物的耐药性^[29], *lnu* (A) 基因可介导罗伊氏乳杆菌对林可酰胺类药物抗性^[30], *aac* (6')-aph (2'')、*ant* (6) 和 *aph* (3')-IIIa 可介导植物乳杆菌对氨基糖苷类抗生素的抗性^[31]。值得注意的是,除了植物乳杆菌中常见的 *blaZ* 基因,少数乳杆菌还携带 β -内酰胺抗性相关基因 *bla*_{TEM} 和碳青霉烯类耐药基因 *bla*_{OXA}-48^[32-34]。

3.2.2 肠球菌 肠球菌也具备获得多种外源性耐药基因的能力,如从奶制品中分离的屎肠球菌或粪肠球菌被检测出多种抗性基因,如四环素耐药基因 *tet* (K)、*tet* (L)、*tet* (M) 和 *tet* (S),氯霉素耐药基因 *cat*,氨基糖苷类耐药基因 *aadE*、*aph* (3')-IIIa 和 *ant* (6')-Ia,红霉素抗性基因 *erm* (B)^[35-36]。以上耐药基因通常是由质粒和转座子介导转移的,例如 Inc18 质粒、pAM β 1 质粒、Tn917 和 Tn916 等^[37]。粪肠球菌还可获得 ABC 转运蛋白基因 *lsa* (E) 从而对林可酰胺、截短侧耳素和链阳菌素 A 类药物产生联合耐药性^[38]。除了常见的药物外,少数屎肠球菌因对一线药物产生耐药性而备受关注,如 Tn3 家族转座子携带的 *vanA*、*vanB*、*vanC* 和 *vanM* 可编码 D-乳酸取代细胞壁五肽前体中的末端 D-丙氨酸而介导肠球菌的万古霉素抗性^[39]。质粒携带的 *optrA*、*poxtA* 和 *cfr* 基因可通过编码 ATP 结合盒超家族外排泵或改变细菌 23S rRNA 的方式介导肠球菌对利奈唑胺等恶唑烷酮类药物的抗性^[40]。

3.2.3 双歧杆菌 有关双歧杆菌所携带耐药基因的报道相对较少,主要为四环素类和大环内酯类耐药基因。在嗜热双歧杆菌和动物双歧杆菌中位于转座子 Tn5432 上的编码核糖体保护蛋白的基因 *erm* (X) 可介导其对大环内酯类药物的耐受性^[41]。*tet* (W)、*tet* (M) 和 *tet* (O) 等四环素耐药基因也在长双歧杆菌、短双歧杆菌、动物双歧杆菌和嗜热双歧杆菌等双歧杆菌中检测到,其中以 *tet* (W) 最为普遍^[42-43]。也有报道称,尽管双歧杆菌中的 *tet* (W) 基因整合在染色体中,但该基因的侧翼通常是转座酶靶序列或转座酶编码序列,在适当的条件下可能发

生转移^[43-44]。

3.2.4 芽孢杆菌 目前,芽孢杆菌中报道的耐药基因主要位于可移动元件上,例如枯草芽孢杆菌 pIM13 质粒携带了大环内酯类抗性基因 *erm* (C)^[45]、四环素类耐药基因 *tet* (L) 和接合转座子 Tn5397 中的 *tet* (M) 基因^[46-47]。克劳氏芽孢杆菌中

发现了对氨基糖苷类、大环内酯类、 β -内酰胺类和氯霉素具有抗性的基因^[48]。值得注意的是,在一些新型芽孢杆菌中还存在氯霉素抗性基因 *fexA* 和噁唑烷酮、林可酰胺、截短侧耳素耐药基因 *cfr*,但这一现象较为罕见^[49]。

表 1 益生菌菌种中鉴定的耐药基因及其相关特征

Table 1 Drug resistance genes identified in probiotic strains and their characteristics

菌种	耐药类别	耐药基因	耐药机制	位置	参考文献
乳杆菌	β 内酰胺类	<i>blaZ</i> 、 <i>bla</i> _{OXA} 、 <i>bla</i> _{TEM}	抗生素水解	转座子、染色体	[32]~[34]
	氯霉素	<i>cat</i>	抗生素乙酰化	染色体	[28]
	大环内酯类	<i>lnu</i> (A)	酶修饰	质粒	[30]
	氨基糖苷类	<i>aac</i> (6')- <i>aph</i> (2'')、 <i>ant</i> (6)、 <i>aph</i> (3')-IIIa	酶修饰	转座子	[31]
	大环内酯类	<i>erm</i> (A)、 <i>erm</i> (B)、 <i>erm</i> (C)	核糖体甲基化	质粒、转座子、染色体	[29]、[31]
	四环素	<i>tet</i> (W)、 <i>tet</i> (M)、 <i>tet</i> (S)、 <i>tet</i> (O)、 <i>tet</i> (K)、 <i>tet</i> (L)	核糖体保护蛋白/外排泵	质粒、转座子、染色体	[26]、[27]
双歧杆菌	MLS 类	<i>erm</i> (X)	核糖体甲基化	转座子	[41]
	四环素	<i>tet</i> (W)、 <i>tet</i> (M)、 <i>tet</i> (O)、 <i>tet</i> (L)	核糖体保护蛋白/外排泵	转座子、质粒	[42]、[43]
芽孢杆菌	氨基糖苷类	<i>aadD2</i>	抗生素腺苷酸	染色体	[48]
	大环内酯类	<i>erm34</i> 、 <i>erm</i> (C)	核糖体保护蛋白	染色体、质粒	[45]、[48]
	β 内酰胺类	<i>bla</i>	抗生素水解	染色体	[48]
	氯霉素	<i>cat</i> 、 <i>fexA</i>	抗生素乙酰化作用	染色体、质粒	[48]、[49]
	四环素	<i>tet</i> (L)、 <i>tet</i> (M)	核糖体保护蛋白/外排泵	转座子、质粒	[46]、[47]
	噁唑烷酮	<i>cfr</i>	核糖体甲基化	转座子	[49]
肠球菌	四环素	<i>tet</i> (S)、 <i>tet</i> (M)、 <i>tet</i> (K)、 <i>tet</i> (L)	核糖体保护蛋白	质粒、转座子	[35]、[36]
	氨基糖苷类	<i>aadE</i> 、 <i>aph</i> (3')-IIIa、 <i>ant</i> (6')-Ia	酶修饰	染色体、转座子	[35]、[36]
	大环内酯类	<i>erm</i> (B)	核糖体甲基化酶	转座子	[35]、[36]
	MLS 类	<i>lsa</i> (E)	ABC 转运蛋白	染色体	[38]
	糖肽类	<i>vanA</i> 、 <i>vanB</i> 、 <i>vanC</i> 、 <i>vanM</i>	替代细胞壁合成	转座子	[39]
	噁唑烷酮类	<i>optrA</i> 、 <i>poxA</i> 、 <i>cfr</i>	核糖体甲基、ABC 转运蛋白	质粒、转座子	[40]

4 益生菌耐药基因的可转移性

益生菌大多数是革兰氏阳性菌,外源性的耐药基因主要通过接合性质粒、转座子和整合性接合元件等获得或传播到其他共生细菌中。目前益生菌中耐药基因转移报道较多的为四环素和大环内酯类耐药基因,例如发酵乳杆菌、唾液乳杆菌携带的 *erm* (B) 和植物乳杆菌、短乳杆菌携带的 *tet* (M) 可在体外条件下以 0.29×10^{-5} CFU 至 1.39×10^{-5} CFU (供体菌) 的频率水平转移至粪肠球菌中^[50]。唾液乳杆菌和罗伊氏乳杆菌携带的 *erm* (B)、*tet* (M)、*tet* (W) 和

tet (L) 基因不仅可在体外转移至粪肠球菌中,也可在体内环境下转移至其他肠道共生菌中,转移频率为 2×10^{-3} CFU (供体菌) 左右^[51]。除此之外,植物乳杆菌携带的 *tet* (M) 和 *erm* (B) 阳性质粒也可在体外和动物体内环境转移到乳酸乳球菌和粪肠球菌中^[52-54]。

除乳杆菌外,芽孢杆菌和双歧杆菌的四环素耐药基因也具有可转移性。如 Tn916 家族介导的 *tet* (M) 基因和质粒携带的 *tet* (K) 基因可通过接合转移的方式在芽孢杆菌、大肠杆菌、肠球菌和金黄色葡萄球菌中转移^[55-56]。双歧杆菌和粪肠球菌的 *tet* (M)

基因的遗传规律高度一致,表明相互间曾发生了水平基因转移^[42]。在体外条件下,*tet*(*W*)基因及上游区域的转座酶基因,可低频率地在长双歧杆菌和青春期双歧杆菌之间转移^[57]。值得注意的是,除四环素和大环内酯类耐药基因外,万古霉素耐药基因*vanA*可在肠球菌不同菌种间转移,并可向嗜酸乳杆菌转移^[58-59]。以上研究结果表明肠球菌不仅可与本菌属其他菌种也可与其他共生细菌进行耐药基因的交换,因此在益生菌的耐药基因转移过程中扮演重要角色(图1)。

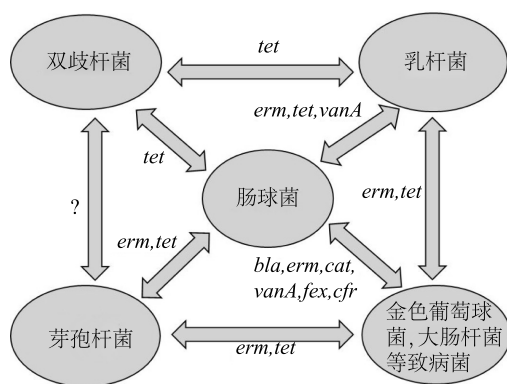


图1 耐药基因在益生菌及致病菌间的水平转移

Fig.1 Horizontal transfer of drug resistance genes between probiotics and pathogenic bacteria

5 结论与建议

总体来说,益生菌产品作为人体内细菌的补充,可能成为耐药基因的储库,同时具有传播耐药基因的风险。益生菌中的耐药基因像一把“双刃剑”,在提高益生菌抵抗不良环境能力的同时,还可能通过水平转移的方式传播到共生菌和其他病原菌中,从而引起严重的健康问题。

中国人用和畜禽养殖用益生菌行业正在快速扩张^[60-62],但目前仍缺乏完善的益生菌产品安全使用管理规范,特别是对于益生菌的耐药性问题尚未形成完善有效的评价标准。在未来的益生菌生产和使用中,亟需制定完善益生菌产品中使用菌种的安全性评估体系,严格做好益生菌产品中菌种的质量控制,同时需要对益生菌的耐药基因和可移动元件进行全面检测,从分子水平上评估益生菌耐药基因的转移风险,并采取适当的措施防止益生菌耐药基因在使用过程中通过日常饮食、临床治疗以及畜禽养

殖等过程的转移和扩散,严格管控携带可移动耐药基因和具有传播风险的益生菌菌株。

参考文献:

- [1] ARAYA M, MORELLI L, REID G, et al. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report[R]. London Ontario, Canada, 2002; 1-11.
- [2] AZAD M A K, SARKER M, LI T, et al. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: An overview[J]. BioMed Research International, 2018, 2018; 9478630.
- [3] MOROVIC W, BUDINOFF C R. Epigenetics: A new frontier in probiotic research[J]. Trends in Microbiology, 2021, 29(2): 117-126.
- [4] GUEIMONDE M, SÁNCHEZ B, G DE LOS REYES-GAVILÁN C, et al. Antibiotic resistance in probiotic bacteria[J]. Frontiers in Microbiology, 2013, 4: 202.
- [5] MACKOWIAK P A. Recycling metchnikoff: Probiotics, the intestinal microbiome and the quest for long life[J]. Frontiers in Public Health, 2013, 1: 52.
- [6] TURRONI F, DURANTI S, MILANI C, et al. Bifidobacterium bifidum: A key member of the early human gut microbiota[J]. Microorganisms, 2019, 7(11): 544.
- [7] EZEWSKA-FRACKOWIAK J, SEROCZYNSKA K, BANASZCZYK J, et al. The promises and risks of probiotic *Bacillus* species[J]. Acta Biochimica Polonica, 2018, 65(4): 509-519.
- [8] BEN BRAÏEK O, SMAOUI S. Enterococci: Between emerging pathogens and potential probiotics[J]. BioMed Research International, 2019, 2019; 5938210.
- [9] MAYRHOFFER S, DOMIG K J, MAIR C, et al. Comparison of broth microdilution, Etest, and agar disk diffusion methods for antimicrobial susceptibility testing of *Lactobacillus acidophilus* group members[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(12): 3745-3748.
- [10] MUNITA J M, ARIAS C A. Mechanisms of antibiotic resistance[J]. Microbiology Spectrum, 2016, 4(2): 1-24.
- [11] BLAIR J M A, WEBBER M A, BAYLAY A J, et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance[J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, 13(1): 42-51.
- [12] AMMOR M S, FLÓREZ A B, MAYO B. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and *Bifidobacteria*[J]. Food Microbiology, 2007, 24(6): 559-570.
- [13] FLÓREZ A, LADERO V, ALVAREZ-MARTÍN P, et al. Acquired macrolide resistance in the human intestinal strain *Lactobacillus rhamnosus* E41 associated with a transition mutation in 23S rRNA genes[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2007, 30(4): 341-344.
- [14] DELCOUR J, FERAIN T, DEGHORAIN M, et al. The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria[J]. An-

- tonie van Leeuwenhoek, 1999, 76: 159-184.
- [15] FONTANA R, ALDEGHERI M, LIGOZZI M, et al. Overproduction of a low-affinity penicillin-binding protein and high-level ampicillin resistance in *Enterococcus faecium* [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1994, 38: 1980-1983.
- [16] COSTA Y, GALIMAND M, LECLERCQ R, et al. Characterization of the chromosomal *aac*(6')-II gene specific for *Enterococcus faecium* [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1993, 37(9): 1896-1903.
- [17] GALIMAND M, SCHMITT E, PANVERT M, et al. Intrinsic resistance to aminoglycosides in *Enterococcus faecium* is conferred by the 16S rRNA m5C1404-specific methyltransferase EfmM [J]. RNA, 2011, 17(2): 251-262.
- [18] SINGH K V, WEINSTOCK G M, MURRAY B E. An *Enterococcus faecalis* ABC homologue (Lsa) is required for the resistance of this species to clindamycin and quinupristin-dalfopristin [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2002, 46(6): 1845-1850.
- [19] ZERVOS M J, SCHABERG D R. Reversal of the *in vitro* susceptibility of *Enterococci* to trimethoprim-sulfamethoxazole by folinic acid [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1985, 28(3): 446-448.
- [20] SERAFINI F, BOTTACINI F, VIAPPIANI A, et al. Insights into physiological and genetic mupirocin susceptibility in *Bifidobacteria* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(9): 3141-3146.
- [21] MAYRHOFER S, MAIR C, KNEIFEL W, et al. Susceptibility of *Bifidobacteria* of animal origin to selected antimicrobial agents [J]. Chemotherapy Research and Practice, 2011, 2011: 989520.
- [22] KIWAKI M, SATO T. Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium breve* strains and genetic analysis of streptomycin resistance of probiotic *B. Breve* strain Yakult [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 134(3): 211-215.
- [23] ADIMPONG D B, SORESENSEN K I, THORSEN L, et al. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus* strains isolated from primary starters for African traditional bread production and characterization of the bacitracin operon and bacitracin biosynthesis [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(22): 7903-7914.
- [24] KWAK J H, CHOI E C, WEISBLUM B. Transcriptional attenuation control of *ermK*, a macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinant from *Bacillus licheniformis* [J]. Journal of Bacteriology, 1991, 173(15): 4725-4735.
- [25] AGERSO Y, BJERRE K, BROCKMANN E, et al. Putative antibiotic resistance genes present in extant *Bacillus licheniformis* and *Bacillus paralicheniformis* strains are probably intrinsic and part of the ancient resistome [J]. PLoS One, 2019, 14(1): e210363.
- [26] GUO H, PAN L, LI L, et al. Characterization of antibiotic resistance genes from *Lactobacillus* isolated from traditional dairy products [J]. Journal of Food Science, 2017, 82(3): 724-730.
- [27] GEVERS D, HUYS G, SWINGS J. *In vitro* conjugal transfer of tetracycline resistance from *Lactobacillus* isolates to other Gram-positive bacteria [J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, 225(1): 125-130.
- [28] CAMPEDELLI I, MATHUR H, SALVETTI E, et al. Genus-wide assessment of antibiotic resistance in *Lactobacillus* spp [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2019, 85(1): e01738-18.
- [29] COLAUTTI A, ARNOLDI M, COMI G, et al. Antibiotic resistance and virulence factors in *lactobacilli*: Something to carefully consider [J]. Food Microbiology, 2022, 103: 103934.
- [30] KASTNER S, PERRETEN V, BLEULER H, et al. Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2006, 29(2): 145-155.
- [31] JAIMEE G, HALAMI P M. High level aminoglycoside resistance in *Enterococcus*, *Pediococcus* and *Lactobacillus* species from farm animals and commercial meat products [J]. Annals of Microbiology, 2016, 66(1): 101-110.
- [32] ANISIMOVA E A, YARULLINA D R. Antibiotic resistance of *Lactobacillus* strains [J]. Current Microbiology, 2019, 76(12): 1407-1416.
- [33] HAZIROLAN G, GÜNDOĞDU A, NIGİZ S, et al. Presence of OXA-48 gene in a clinical isolate of *Lactobacillus rhamnosus* [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2019, 16(12): 840-843.
- [34] AQUILANTI L, GAROFALO C, OSIMANI A, et al. Isolation and molecular characterization of antibiotic-resistant lactic acid bacteria from poultry and swine meat products [J]. Journal of Food Protection, 2007, 70(3): 557-565.
- [35] DAPKEVICIUS M D L E, SGARDIOLI B, CÂMARA S P A, et al. Current trends of *Enterococci* in dairy products: A comprehensive review of their multiple roles [J]. Foods, 2021, 10(4): 821.
- [36] MILLER W R, MUNITA J M, ARIAS C A. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci [J]. Expert Review of Anti-infective Therapy, 2014, 12(10): 1221-1236.
- [37] PALMER K L, KOS V N, GILMORE M S. Horizontal gene transfer and the genomics of enterococcal antibiotic resistance [J]. Current Opinion in Microbiology, 2010, 13(5): 632-639.
- [38] WENDLANDT S, LOZANO C, KADLEC K, et al. The enterococcal ABC transporter gene *lsa* (*E*) confers combined resistance to lincosamides, pleuromutilins and streptogramin A antibiotics in methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2013, 68(2): 473-475.
- [39] MILLER W R, MURRAY B E, RICE L B, et al. Resistance in Vancomycin-Resistant *Enterococci* [J]. Infectious Disease Clinics of North America, 2020, 34(4): 751-771.
- [40] LIU B, YUAN X, HE D, et al. Research progress on the oxazolidinone drug linezolid resistance [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2020, 24(18): 9274-9281.
- [41] VAN HOEK A H A M, MAYRHOFER S, DOMIG K J, et al. Resistance determinant *erm* (*X*) is borne by transposon Tn5432 in *Bifidobacterium thermophilum* and *Bifidobacterium animalis* subsp.

- Lactis*[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2008, 31(6): 544-548.
- [42] AIRES J, DOUCET-POPULAIRE F, BUTEL M J. Tetracycline resistance mediated by *tet(W)*, *tet(M)*, and *tet(O)* genes of *Bifidobacterium* isolates from humans[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(8): 2751-2754.
- [43] GUEIMONDE M, FLÓREZ A B, VAN HOEK A H A M, et al. Genetic basis of tetracycline resistance in *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(10): 3364-3369.
- [44] AMMOR M S, FLÓREZ A B, ALVAREZ-MARTÍN P, et al. Analysis of tetracycline resistance *tet(W)* genes and their flanking sequences in intestinal *Bifidobacterium* species[J]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2008, 62(4): 688-693.
- [45] MONOD M, DENOYA C, DUBNAU D. Sequence and properties of pIM13, a macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance plasmid from *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Bacteriology, 1986, 167(1): 138-147.
- [46] PHELAN R W, CLARKE C, MORRISSEY J P, et al. Tetracycline resistance-encoding plasmid from *Bacillus* sp. Strain, isolated from the marine sponge *Haliclona simulans*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(1): 327-329.
- [47] ROBERTS A P, PRATTEN J, WILSON M, et al. Transfer of a conjugative transposon, Tn5397 in a model oral biofilm[J]. FEMS Microbiology Letters, 1999, 177(1): 63-66.
- [48] MINGMONGKOLCHAI S, PANBANGRED W. Bacillus probiotics: An alternative to antibiotics for livestock production[J]. Journal of Applied Microbiology, 2018, 124(6): 1334-1346.
- [49] DAI L, WU C, WANG M, et al. First report of the multidrug resistance gene *cfr* and the phenicol resistance gene *fexA* in a *Bacillus* strain from swine feces[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2010, 54(9): 3953-3955.
- [50] NAWAZ M, WANG J, ZHOU A, et al. Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products[J]. Current Microbiology, 2011, 62(3): 1081-1089.
- [51] THUMU S C R, HALAMI P M. Conjugal transfer of *erm(B)* and multiple *tet* genes from *Lactobacillus* spp. to bacterial pathogens in animal gut, *in vitro* and during food fermentation[J]. Food Research International, 2019, 116: 1066-1075.
- [52] TOOMEY N, BOLTON D, FANNING S. Characterisation and transferability of antibiotic resistance genes from lactic acid bacteria isolated from Irish pork and beef abattoirs[J]. Research in Microbiology, 2010, 161(2): 127-135.
- [53] JACOBSEN L, WILCKS A, HAMMER K, et al. Horizontal transfer of *tet(M)* and *erm(B)* resistance plasmids from food strains of *Lactobacillus plantarum* to *Enterococcus faecalis* JH2-2 in the gastrointestinal tract of gnotobiotic rats[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2007, 59(1): 158-166.
- [54] GEVERS D, HUYS G, SWINGS J. *In vitro* conjugal transfer of tetracycline resistance from *Lactobacillus* isolates to other Gram-positive bacteria[J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, 225(1): 125-130.
- [55] HUYS G, D'HAENE K, COLLARD J, et al. Prevalence and molecular characterization of tetracycline resistance in *Enterococcus* isolates from food[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(3): 1555-1562.
- [56] DAI M, LU J, WANG Y, et al. *In vitro* development and transfer of resistance to chlortetracycline in *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Microbiology, 2012, 50(5): 807-812.
- [57] KAZIMIERCZAK K A, FLINT H J, SCOTT K P. Comparative analysis of sequences flanking *tet(W)* resistance genes in multiple species of gut bacteria[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006, 50(8): 2632-2639.
- [58] MATER D D G, LANGELLA P, CORTIER G, et al. A probiotic *Lactobacillus* strain can acquire vancomycin resistance during digestive transit in mice[J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2008, 14: 123-127.
- [59] BOURGEOIS-NICOLAOS N, MOUBARECK C, MANGENEY N, et al. Comparative study of *vanA* gene transfer from *Enterococcus faecium* to *Enterococcus faecalis* and to *Enterococcus faecium* in the intestine of mice[J]. FEMS Microbiology Letters, 2006, 254(1): 27-33.
- [60] 刘韶娜,郭飞,张斌,等. 复合益生菌对超早期断奶杜藏乳仔猪肠道微生物群落结构的影响[J]. 南方农业学报, 2021, 52(3): 547-558.
- [61] 崔莉,李莹,冯进,等. 热激联合牛蒡抗热保护剂对益生菌奶粉中益生菌喷雾干燥活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(10): 166-169.
- [62] 申远航,黄晓灵,高利伟,等. 益生菌对断奶仔猪小肠形态影响的 Meta 分析[J]. 南方农业学报, 2020, 51(10): 2546-2556.

(责任编辑:石春林)