

## 研究报告

## 辽宁省婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌生物膜与耐药性分析

魏彤竹,孙婷婷,王伟杰,李雪

(辽宁省疾病预防控制中心,辽宁沈阳 110005)

**摘要:**目的 探究婴幼儿食品中的阪崎克罗诺杆菌在形成生物膜后对其耐药性表达的影响,并对该致病菌的耐药性监测提供建议。方法 本研究对2018—2021年辽宁省婴幼儿配方食品中分离出的58株阪崎克罗诺杆菌进行了15种抗生素的药物敏感性、生物膜成膜力检测和不同生物态下耐药性分析。结果 辽宁省婴幼儿食品中检出的阪崎克罗诺杆菌对头孢唑啉、头孢噻肟、复方磺胺、氯霉素、头孢西丁、茶啉酸、氨苄西林/舒巴坦存在不同程度耐药性,88%的受试菌株对多黏菌素的耐药性达到中介,并且存在多重耐药菌;婴幼儿奶粉源阪崎克罗诺杆菌的耐药性均高于婴幼儿谷物辅食源阪崎克罗诺杆菌;生物膜成膜率100%,中等黏附力菌株居多占61.02%;基于生物膜态对应受试菌的药敏试验结果分析,头孢唑啉、头孢噻肟、亚胺培南、四环素和氨苄西林的药物抗性均增加,复方磺胺的药物抗性消失。结论 辽宁省市售婴幼儿食品中阪崎克罗诺杆菌不仅对多种抗生素具有单一耐药性,且存在多重耐药株;不同生物态的阪崎克罗诺杆菌均对头孢类抗生素药物抗性较高,同时生物膜态可以改变其药物抗性,应持续对婴幼儿食品源中不同生物态的阪崎克罗诺杆菌进行耐药监测。

**关键词:**阪崎克罗诺杆菌;耐药性;抗生素;生物膜;食源性致病菌

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)03-0267-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.03.005

**Drug resistance analysis of *Cronobacter sakazakii* from infant food in Liaoning Province**

WEI Tongzhu, SUN Tingting, WANG Weijie, LI Xue

(Center for Disease Control and Prevention of Liaoning Province, Liaoning Shenyang 110005, China)

**Abstract: Objective** To investigate drug resistance of *Cronobacter sakazakii* in infant food after biofilms formation, and provided suggestion for drug resistance monitoring. **Methods** In this study, 58 strains of *Cronobacter sakazakii*, which were isolated from infant formula in Liaoning Province from 2018 to 2021, were tested to determine drug sensitivity, biofilm forming ability, and drug resistance under different biological states with 15 antibiotics. **Results** *Cronobacterium sakazaki* detected in infant food had different degrees of resistance to cefazolin, cefotaxime, compound sulfonamide, chloramphenicol, ceftiofur, naphthalic acid, and ampicillin. In fact, 88% of the tested strains exhibited resistance to polymyxin, with multiple resistant bacteria identified. The resistance of *Cronobacterium sakazaki* was higher in infant milk powder source than in infant and young children. The film forming rate of the biofilm was 100%, and most medium adhesion strains accounted for 61.02% of the rate. Based on the susceptibility test results of the biofilm state corresponding to the subjects, resistance to cefazolin, cefotaxime, imipenem, tetracycline, and ampicillin increased, while that to SXT disappeared. **Conclusion** *Cronobacter sakazakii* detected in infant food in Liaoning Province was resistant to cefazolin, cefotaxime, compound sulfonamide, chloramphenicol, ceftiofur, naphthalic acid, and ampicillin. Notably, 88% of the test strains exhibited intermediate resistance to polymyxin, and multidrug-resistant bacteria were identified. Owing to the resistance to different antibiotics in infant food in Liaoning Province, monitoring the resistance to *Cronobacter sakazakii* in infant food sources should be strengthened.

**Key words:** *Cronobacter sakazakii*; drug resistance; antibiotics; biofilms; foodborne pathogenic

克罗诺杆菌属是一类食源性致病菌,分为7个亚型。阪崎克罗诺杆菌是该菌属中在婴幼儿食品

中检出率最高的条件致病菌<sup>[1]</sup>。2022年2月的美国雅培奶粉事件显示阪崎克罗诺杆菌感染是患者死亡的促成因素,其感染能够导致脑膜炎,小肠结肠炎和败血症,致死率为40%~80%。流行病学的研究表明,大部分新生儿克罗诺杆菌感染与被污染的婴幼儿配方奶粉相关联<sup>[2]</sup>。与此同时,随着克罗

收稿日期:2022-09-22

作者简介:魏彤竹 女 副主任技师 研究方向为食品及环境中微生物检测 E-mail:76644380@qq.com

诺杆菌耐药性菌株增多,多重耐药性克罗诺杆菌监测应当纳入食品安全预警机制。细菌生物膜是近些年来临床感染和食品安全研究热点,其产生胞外聚合物通过复杂的理化过程黏附在固体介质表面以增强细菌对环境的适应能力,同时会改变游离态细菌的抗性<sup>[3-4]</sup>。很多研究表明细菌生物膜态带来的药物敏感性的改变值得探索<sup>[5-8]</sup>。

本研究对辽宁省2018—2021年市售婴儿配方食品中分离到的58株阪崎克罗诺杆菌进行15种抗生素的药物敏感性、生物膜成膜力检测和不同生物态下耐药性分析,可为辽宁省阪崎克罗诺杆菌食源性疾病预防防控工作提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验菌株

实验菌株:2018—2021年辽宁省省级及6个市级(沈阳市、鞍山市、阜新市、丹东市、朝阳市、盘锦市)实验室从市售婴幼儿配方食品样品中分离到的阪崎克罗诺杆菌58株,由本实验室鉴定并保存。试验菌株所涉及样品来源包括:婴幼儿奶粉(1~4段配方奶粉)共31份;婴幼儿谷物辅助食品(强化营养

素米粉)27份,均为零售流通环节的预包装食品。质控菌株:阪崎克罗诺杆菌 ATCC29544、大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC29213、铜绿假单胞菌 ATCC27853、粪肠球菌 ATCC29212 均购自广东环凯生物技术有限公司。

### 1.2 主要试剂与仪器

VITEK 2 生化鉴定仪购自法国生物梅里埃公司;DensiCHEK 比浊仪购自法国生物梅里埃公司;SX-500 高压蒸气灭菌器购自 TOMY;A5082 酶标仪购自 TECNA;150i 培养箱购自 Thermo。

缓冲蛋白胨水、改良月桂基胰蛋白胨肉汤(m1st-Vm)、结晶紫染色剂购自北京陆桥生物技术有限公司;胰大豆胨液体培养基购自广东环凯生物技术有限公司;甲醇试剂、冰乙酸购自国药集团西陇科学化工;磷酸盐缓冲液、15 mL 聚乙烯一次性试管购自青岛海博生物技术有限公司;阪崎显色分离培养基购自法国科玛嘉公司;VITEK 生化鉴定卡购自法国生物梅里埃公司;96 孔细胞培养板购自上海希言科学仪器有限公司;药敏肉汤培养液购自上海星佰生物技术有限公司,革兰氏阴性需氧药敏检测板购自上海星佰生物技术有限公司,具体分类见表1。

表1 药敏试验中抗生素列表

Table 1 List of antibiotics in susceptibility testing

抗生素名称	类别	浓度范围/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	
氨苄西林	Ampicillin(AMP)	青霉素类	2~64
头孢他啶	Ceftazidime(CAZ)	头孢类	1~32
氨苄西林/舒巴坦	Ampicillin/Sulbactam(AMS)	青霉素类	2/1~64/32
亚胺培南	Imipenem(IMP)	碳青霉烯类	0.25~8
四环素	Tetracycline(TET)	四环素类	1~32
萘啶酸	Nalidixic&nbsp;Acid(NAL)	喹诺酮类	2~64
多黏菌素	Colistin(CT)	多肽类	0.12~4
头孢西丁	Cefoxitin(CFX)	头孢类	2~64
氯霉素	Chloramphenicol(CHL)	氯霉素类	2~64
头孢噻肟	Cefotaxime(CTX)	头孢类	0.25~8
头孢唑啉	Cefazolin(CFZ)	头孢类	0.5~16
庆大霉素	Gentamicin (GEN)	氨基糖苷类	1~32
复方磺胺	Trimethoprim/Sulfamethoxazol(SXT)	磺胺类	0.25/4.75~8/152
阿奇霉素	Azithromycin (AZM)	大环内酯类	4~64
环丙沙星	Ciprofloxacin(CIP)	喹诺酮类	0.03~32

### 1.3 阪崎克罗诺杆菌结晶紫微孔板生物膜成膜力检测

制备麦氏浊度 0.5~0.6 的培养种子液,采用96孔微孔板法对58株阪崎克罗诺杆菌进行生物膜形成能力半定量分析<sup>[9-10]</sup>,阳性对照株 ATCC29544 具体操作如下:每微孔板孔板液体总体积为 180  $\mu\text{L}$ ,每孔加入 TSB 培养基 160  $\mu\text{L}$ /孔,再加入 20  $\mu\text{L}$  种子液,36  $^{\circ}\text{C}$  条件下培养 48 h。培养结束后,倒出菌液,加入磷酸盐缓冲液 PBS 清洗,重复洗 3 次,洗去杂质和浮游菌后,再加入 180  $\mu\text{L}$  甲醇固定 15 min,

弃去甲醇后,再用 180  $\mu\text{L}$ /孔 1% 的结晶紫溶液染色 8 min。染色结束后,用清水洗涤至无色水滴,彻底干燥后,每孔加入 180  $\mu\text{L}$  33%(V:V)的冰乙酸,溶解吸附的细胞和结晶紫,并测定 590 nm 处的吸光度数值。每个样品重复 3 次,采用 180  $\mu\text{L}$  的 TSB 培养基作为空白对照。判定结果<sup>[10]</sup>:把空白孔的 OD 平均值(AV)加上空白 OD 值的 3 倍标准差(SD)得到的数值记为临界值(ODC),即:  $AV_{\text{OD}}+3SD_{\text{OD}}=ODC$ 。根据样品 OD 值与 ODC 值之间的关系,对菌株生物膜成膜力黏附性进行分类,生物膜阴性:

OD≤ODC, 弱黏附: ODC<OD≤2ODC, 中等黏附: 2ODC<OD≤4ODC, 强黏附: OD>4ODC。

#### 1.4 阪崎克罗诺杆菌生物膜试管培养法

选取与微孔板同样材质的聚乙烯试管对实验菌株的生物膜进行培养。取麦氏浓度 0.5 的培养种子液以 1:10 的比例加入在装有 TSB 的聚乙烯试管中, 36 °C 培养。48 h 结束培养后倒出菌液, 用无菌生理盐水冲洗浮游菌体。每个试管加入适量 TSB, 超声波涡旋振荡备用。

#### 1.5 药敏试验

挑取菌落置灭菌生理盐水中, 配置 0.5 麦氏浓度的菌悬液, 取上述菌液 60 μL, 滴入无菌加样槽中, 加营养肉汤培养液混匀。用 8 通微量移液器, 吸取稀释菌液 100 μL, 加入除阴性对照孔以外的 95 孔微量药敏板, 阴性对照孔加无菌营养肉汤培养液 100 μL, 培养 36 °C 培养 24 h。判读结果: 粉色为阳性, 紫色为阴性, 依照产品说明书进行药物抗性结果判读。

#### 1.6 统计学分析

采用 SPASS 22.0 和 EXCEL 2021 对数据结果进行分析。采用  $\chi^2$  检验, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 阪崎克罗诺杆菌药敏鉴定结果

58 株辽宁省婴幼儿食品中检出的阪崎克罗诺杆菌对头孢唑啉、头孢噻肟、复方磺胺、氯霉素、头孢西丁、萘啶酸、氨苄西林和舒巴坦存在不同程度耐药性, 其中对头孢唑啉耐药率为 27.59%, 对头孢噻肟的耐药率为 15.52%, 对氯霉素的耐药率为 13.79%, 对萘啶酸的耐药率为 10.34%, 对头孢西丁耐药率为 8.62%, 对复方磺胺的耐药率为 6.90%, 对氨苄西林/舒巴坦的耐药率为 6.90%。87.93% 的受试菌株对多黏菌素的耐药性达到中介, 并且存在 6 株多重耐药菌。具体结果见表 1 和图 1。

### 2.2 不同婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌耐药性情况

药敏试验结果显示, 辽宁省婴幼儿食品中的阪崎克罗诺杆菌对头孢类抗生素的药物抗性较强, 其中头孢唑啉的药物敏感率仅为 51.72%, 抗性 MIC 值为 4~16 μg/mL; 头孢噻肟敏感率 79.31%/mL, 抗性 MIC 值为 2~8 μg/mL, 头孢西丁敏感率 87.93%, 抗性 MIC 值为 16~32 μg/mL。产生耐药性的 7 种抗生素中, 婴幼儿奶粉源中阪崎克罗诺杆菌的耐药率均高于婴幼儿谷物辅食源中的阪崎克罗诺杆菌。

表 2 辽宁省婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌游离态耐药结果

Table 2 Drug resistance results of *Coronella sakazaki* isolated from infant food in Liaoning Province

抗生素	耐药率/%	中介率/%	敏感率/%
氨苄西林	0.00(0/58)	0.00(0/58)	100.00(58/58)
头孢他啶	0.00(0/58)	0.00(0/58)	100.00(58/58)
氨苄西林/舒巴坦	6.90(4/58)	3.45(2/58)	89.66(52/58)
亚胺培南	0.00(0/58)	0.00(0/58)	100.00(58/58)
四环素	0.00(0/58)	0.00(0/58)	100.00(58/58)
萘啶酸	10.34(6/58)	0.00(0/58)	89.66(52/58)
多黏菌素	0.00(0/58)	87.93(51/58)	12.07(7/58)
头孢西丁	8.62(5/58)	3.45(2/58)	87.93(51/58)
氯霉素	13.79(8/58)	0.00(0/58)	86.21(50/58)
头孢噻肟	15.52(9/58)	5.17(3/58)	79.31(46/58)
头孢唑啉	27.59(16/58)	20.69(12/58)	51.72(30/58)
庆大霉素	0.00(0/58)	0.00(0/58)	100.00(58/58)
复方磺胺	6.90(4/58)	1.72(1/58)	91.39(53/58)
阿奇霉素	0.00(0/58)	0.00(0/58)	100.00(58/58)
环丙沙星	0.00(0/58)	0.00(0/58)	100.00(58/58)
$\chi^2$	90.000	75.000	105.000
P 值	0.307	0.320	0.296

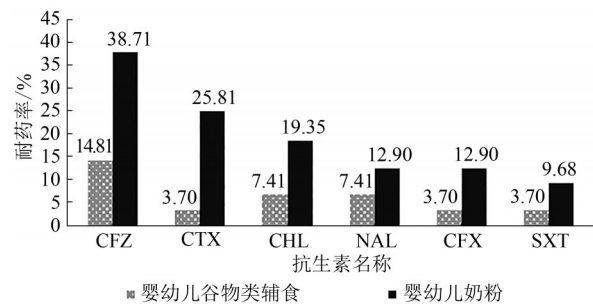


图 1 辽宁省不同婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌耐药情况

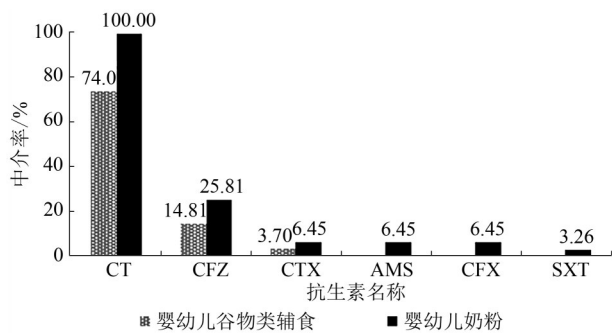
Figure 1 Drug resistance of different Infant foods source *Coronella sakazaki* in Liaoning Province

2018—2021 年辽宁省婴幼儿食品源中的阪崎克罗诺杆菌的抗生素药物抗性变化, 如图 1: 中介率最高的为多黏菌素, 婴幼儿奶粉源阪崎克罗诺杆菌对其中介率为 100%(31/31), 婴幼儿谷物辅食源的阪崎克罗诺杆菌对其中介率为 74.07%(20/27), 其抗性 MIC 值为 0.12~0.25 μg/mL; 其次为头孢唑啉, 婴幼儿奶粉源和谷物类辅食中的阪崎克罗诺杆菌对其中介率分为 25.81%(8/31) 和 14.81%(4/27), 其抗性 MIC 值为 4 μg/mL。其余 4 种抗生素中婴幼儿奶粉源中的阪崎克罗诺杆菌对头孢噻肟、头孢西丁、氨苄舒和复方磺胺均有不同程度中介耐药性, 其中介率为 6.45%(2/31)~3.23%(1/31), 婴幼儿谷物辅食源的阪崎克罗诺杆菌只对头孢噻肟存在中介耐药性, 中介率为 3.70%(1/27), 如图 2。

### 2.3 阪崎克罗诺杆菌生物膜成膜力分析

59 株阪崎克罗诺杆菌包含阳性菌株, 培养 48 h, 生物膜呈膜率(59/59)100% 阳性, 弱黏附力菌株占 35.59%(21/59), 中等黏附力菌株占 61.02%(36/





注:CT:多黏菌素;CFZ:头孢唑啉;CTX:头孢噻肟;AMS:氨苄西林/舒巴坦;CFX:头孢西丁;SXT:复方磺胺

图2 辽宁省不同婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌药物中介情况

Figure 2 Drug mediation of different infant food sources *Coronella sakazaki* in Liaoning Province

59), 强黏附力菌株占 3.39% (2/59)。具体结果见图 3。

### 2.4 生物膜态菌株药敏鉴定结果

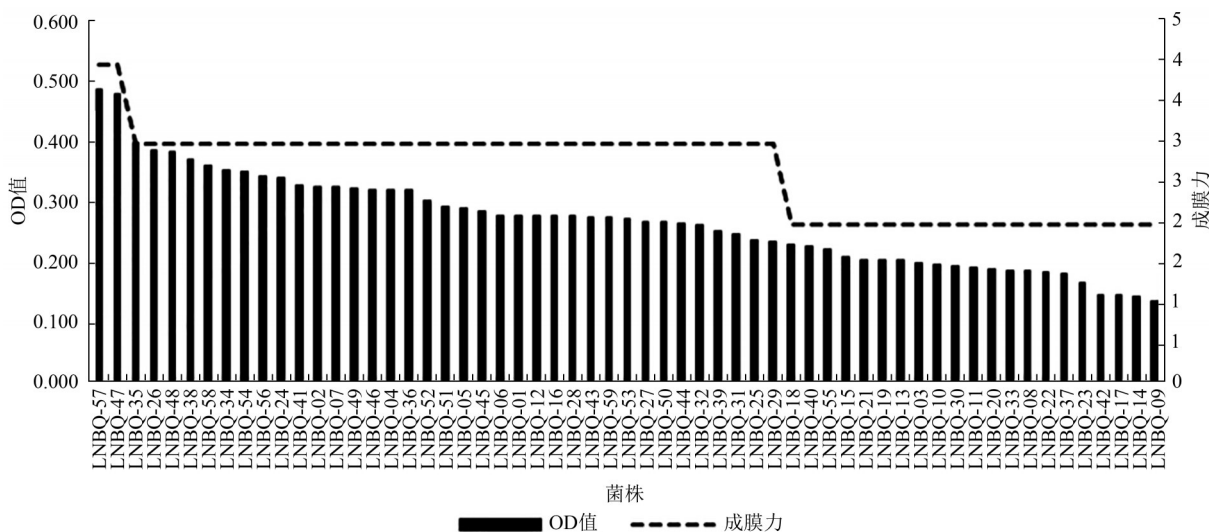
基于试管生物膜培养法将麦氏浊度 0.5 的生物膜混合液接种于药敏板,培养 24 h 后,58 株婴幼儿食品源的阪崎克罗诺杆菌对 15 种抗生素的抗性发生了变化,其中 41.38% (24/58) 的阪崎克罗诺杆菌对四环素类的四环素药物敏感性达到中介;青霉素类的氨苄西林和氨苄西林/舒巴坦的药物敏感性增强,其中氨苄西林中 31.03% (18/58) 的药物抗性 MIC 值达到中介,氨苄西林/舒巴坦药物抗性的耐药率由 6.90% 提高到 10.35%,中介率由 3.45% 提高到 37.93%;头孢类的头孢噻肟和头孢唑啉的药物抗性增强,其中头孢噻肟药物抗性的耐药率由

15.52% 提高到 18.97%,中介率由 5.17% 提高到 8.62%,头孢唑啉药物抗性的耐药率由 27.59% 提高到 39.65%,中介率由 20.69% 提高到 24.14%;亚胺培南药物抗性增强,药物抗性的耐药率由 0 提高到 5.17%,中介率由 0 提高到 32.76%;四环素类的四环素中介率由 0 提高到 41.38%;而对磺胺类的复方磺胺药物敏感率则达到 100%,其药物抗性的耐药率和中介率均降低到 0。具体结果见表 3 和图 4。实验中检测得到 6 株多重耐药菌在不同生态下,耐药谱发生改变,结果见表 4。

表3 辽宁省婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌生物膜态耐药结果

Table 3 Results of biofilm-based resistance of *Coronella sakazaki* from infant and young child food source in Liaoning Province

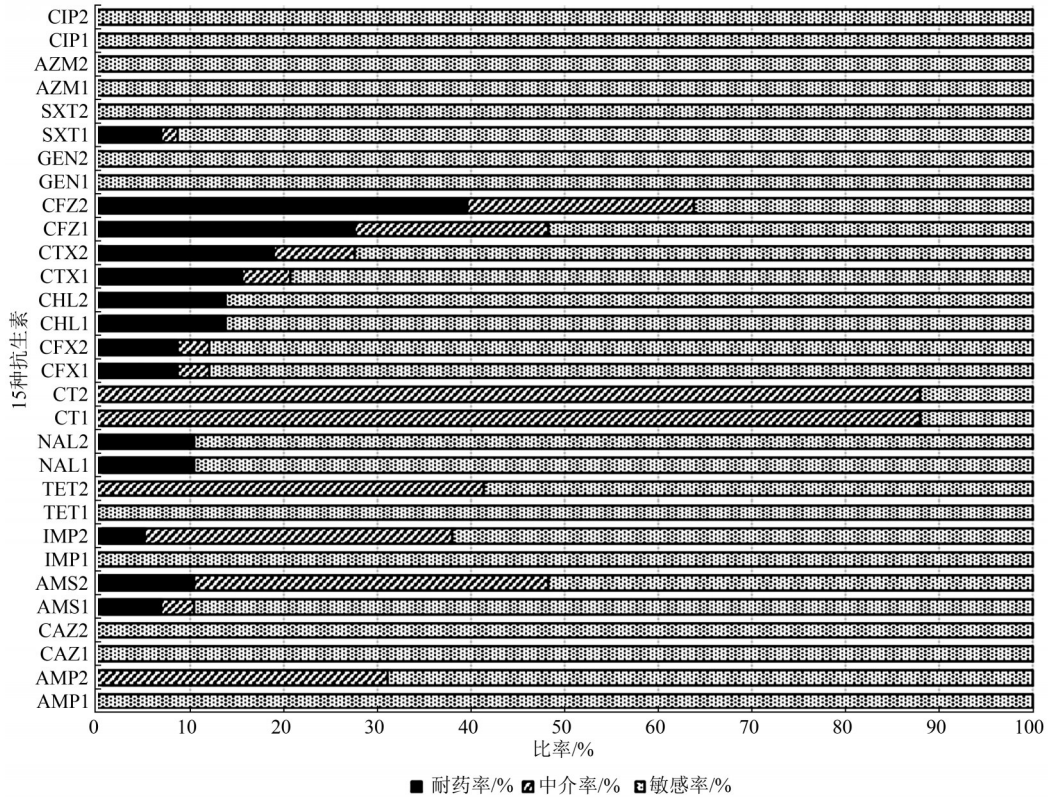
抗生素	耐药率/%	中介率/%	敏感率/%
氨苄西林	0 (0/58)	31.03 (18/58)	68.97 (40/58)
头孢他啶	0 (0/58)	0 (0/58)	100 (58/58)
氨苄西林/舒巴坦	10.35 (6/58)	37.93 (22/58)	51.72 (30/58)
亚胺培南	5.17 (3/58)	32.76 (19/58)	62.07 (36/58)
四环素	0 (0/58)	41.38 (24/58)	58.62 (34/58)
萘啶酸	10.34 (6/58)	0 (0/58)	89.66 (52/58)
多黏菌素	0 (0/58)	87.93 (51/58)	12.07 (7/58)
头孢西丁	8.62 (5/58)	3.45 (2/58)	87.93 (51/58)
氯霉素	13.79 (8/58)	0 (0/58)	86.21 (50/58)
头孢噻肟	18.97 (11/58)	8.62 (5/58)	72.41 (42/58)
头孢唑啉	39.65 (23/58)	24.14 (14/58)	36.21 (21/58)
庆大霉素	0 (0/58)	0 (0/58)	100 (58/58)
复方磺胺	0 (0/58)	0 (0/58)	100 (58/58)
阿奇霉素	0 (0/58)	0 (0/58)	100 (58/58)
环丙沙星	0 (0/58)	0 (0/58)	100 (58/58)
$\chi^2$	840.000	960.000	120.000
P 值	0.127	0.000	0.000



注:成膜力阴性菌株赋值为1,弱黏附菌株赋值为2,中等黏附菌株赋值为3,强黏附菌株赋值为4。当成膜力总值=3时,为阴性;当成膜力总值>3时,生物膜成膜力为阳性;赋值越大成膜力越强

图3 辽宁省婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌生物膜成膜力图谱

Figure 3 Biofilm forming force map of *Cronobacillus sakazaki* from infant food sources in Liaoning Province



注:1:阪崎克罗诺杆菌游离态;2:阪崎克罗诺杆菌生物膜态  
图4 辽宁省婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌不同生物态药物敏感性图谱

Figure 4 Sensitivity map of different biomorphic drugs of *Coronella sakazaki* food source in Liaoning Province

表4 辽宁省婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌不同生物态耐药谱分析

Table 4 Spectroscopy analysis of different biological states of *Coronella sakazaki* from infant food in Liaoning Province

菌株编号	多重耐药菌耐药谱	多重耐药菌生物膜态耐药谱
LNBQ-03	-----CHL--CFZ--SXT---	-----CHL--CFZ----
LNBQ-08	--AMS---NAL--CFX-CHL- CTX-----	--AMS---NAL--CFX- CHL-CTX-----
LNBQ-12	-----CTX-CFZ-----	---IMP-----CTX- CFZ----
LNBQ-19	--AMS-----CFZ--SXT---	--AMS-----CFZ----
LNBQ-46	-----CHL--CFZ-----	-----CHL--CFZ-----
LNBQ-51	----NAL---CHL-CTX-----	----NAL---CHL- CTX-----

### 3 讨论

辽宁省婴幼儿食品中检出的阪崎克罗诺杆菌对氨卡西林、头孢他啶、亚胺培南、四环素、庆大霉素、阿奇霉素和环丙沙星均 100% 敏感。对头孢唑啉、头孢噻肟、复方磺胺、氯霉素、头孢西丁、萘啶酸、氨苄西林/舒巴坦存在不同程度耐药性,88% 的受试菌株对多黏菌素的耐药性达到中介,并且存在多重耐药菌。对青霉素类的氨苄西林/舒巴坦和喹诺酮类萘啶酸的药物敏感率为 89.66%,磺胺类的复方磺胺药物敏感率 91.39%,氯霉素类氯霉素的药物敏感率为 86.21%。另外,受试菌株对第一代

头孢类抗生素头孢唑啉、第三代头孢类抗生素头孢噻肟和第二代头孢类抗生素头孢西丁均具有不同程度的耐药性,头孢唑啉的耐药率最高,达到 27.59%,头孢噻肟的耐药率为 15.52%,头孢西丁的耐药率为 8.62%。基于辽宁省不同种类婴幼儿食品中阪崎克罗诺杆菌的耐药监测数据分析,无论是抗生素的药物耐药率还是药物中介率,婴儿奶粉中检出的均高于婴幼儿谷物辅食中检出的阪崎克罗诺杆菌。婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌中多重耐药菌的出现应得到重视并持续监测。

阪崎克罗诺杆菌的生物膜形成与黏附介质和细菌环境(包括温度、湿度、pH 值、营养因子等)多种因素有关<sup>[2,4]</sup>。聚乙烯作为预包装食品的包装原料广泛使用<sup>[11]</sup>,选择其作为黏附介质更具有实际科学参考意义。本实验采用结晶紫半定量法将所检阪崎克罗诺杆菌加入 96 孔聚乙烯微孔板在最适生长的 36℃,培养 48 h 后测得数据并分析。实验反映出辽宁省婴幼儿食品中检出的阪崎克罗诺杆菌在聚乙烯介质上形成生物膜的黏附力。58 株受试菌生物膜成膜率达 100%,因此在适宜的环境条件下,均有形成生物膜的能力。一旦生物膜形成将很难去除<sup>[4,9]</sup>,并增加了阪崎克罗诺杆菌食源性疾病爆发的风险。

基于生物膜态对应受试菌的药敏试验结果分



析, 头孢唑啉、头孢噻肟、亚胺培南、四环素和氨苄西林的耐药性均增加, 复方磺胺的耐药性消失。其中头孢唑啉、头孢噻肟和亚胺培南的耐药率和中介率均不同程度提高, 四环素和氨苄西林的中介率提高。阪崎克罗诺杆菌在形成生物膜后, 药敏试验结果显示复方磺胺由 100% 敏感产生了耐药菌, 41.38% 和 31.03% 的受试菌分别对四环素和氨苄西林由原来的 100% 敏感产生了一定的耐药性。因此, 细菌生物膜的形成不仅可以增强抗生素的药物抗性, 也可降低细菌对某些抗生素的抗性甚至消失, 这也与国内外的相关报道一致<sup>[6,8]</sup>。基于多重耐药菌在生成生物膜后实验结果分析, 主要是复方磺胺的耐药性消失和亚胺培南产生了耐药性使两株的耐药谱发生改变, 但增加了新的多重耐药株。6 株多重耐药阪崎克罗诺杆菌的黏附性为中等黏附和弱黏附, 2 株强黏附力菌株只是单一耐药菌株。本实验结果显示, 辽宁省婴幼儿食品源阪崎克罗诺杆菌形成生物膜后可使部分抗生素的耐药性发生改变, 但与细菌生物膜的黏附力无明显相关性。

细菌产生耐药性的因素复杂多变<sup>[3,8,11]</sup>, 目前相关研究普遍认为细菌的耐药机制为基因固有耐药、染色体突变介导耐药和质粒介导耐药 3 类, 其中基因耐药具有种属特异性, 染色体突变介导使细菌产生针对抗生素的耐药因子, 而细菌中普遍存在的耐药质粒通过转化、转导、接合、转座等变化也会改变耐药性<sup>[7,12]</sup>。本实验中两种微生态下, 部分菌株均对头孢类的大部分抗生素产生耐药性但耐药率为 5%~40%, 因此其对头孢类抗生素具有基因耐药的可能性需要探究。但生物膜的形成, 会改变细胞膜的通透性, 对以渗透性耐药机制为主的抗生素形成屏障<sup>[7-8]</sup>, 同时吸收作用的减少会使外膜蛋白发生改变, 从而改变细菌的药物敏感性<sup>[13]</sup>。本实验中受试菌株在形成生物膜后对复方磺胺的耐药性消失, 表明细胞膜通透性改变后, 复方磺胺对阪崎克罗诺杆菌的耐药机制与外基质的渗透不相关, 需要更进一步对基于耐药基因在不同生物态的表达进行探讨<sup>[6]</sup>。因此, 阪崎克罗诺杆菌游离态的耐药机制由多种因素作用, 每种抗生素针对不同细菌的耐药机制也不能依据单因素判别, 而生物膜的生成会使其耐药机制和用药种类及用量带来更多不可预见的改变。

现阶段研究表明在适宜条件下, 阪崎克罗诺杆菌生物膜可在不锈钢、硅胶和玻璃等材质表面形成<sup>[14-15]</sup>, 提高了人们对婴幼儿食品在生产和储存环境交叉污染的认识, 以及病原菌的溯源方向。目前对细菌生物膜和生物膜态药物敏感性的检测没有

统一标准, 因此对其生物膜成膜能力及其对抗生素耐药性的研究更应该得到关注与探索, 为食品安全提供科学的防控依据。

## 参考文献

- [1] 曹晨阳, 孟令缘, 王嘉炜, 等. 婴幼儿乳粉和米粉中阪崎克罗诺杆菌的耐受性研究[J]. 中国食品学报, 2019, 19(9): 45-52.  
CAO C Y, MENG L Y, WANG J W, et al. Studies on tolerance of *Cronobacter sakazakii* isolated from infant milk powder and rice cereal[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(9): 45-52.
- [2] HENRY M, FOULADKHAH A. Outbreak history, biofilm formation, and preventive measures for control of *Cronobacter sakazakii* in infant formula and infant care settings[J]. Microorganisms, 2019, 7(3): 77.
- [3] 黄玉兰, 雷高鹏, 张林, 等. 2010—2014年及2016年四川省婴幼儿食品及临床分离克罗诺杆菌耐药分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(3): 299-301.  
HUANG Y L, LEI G P, ZHANG L, et al. Drug susceptibility of *Cronobacter* spp. isolated from infant food and clinical cases in Sichuan Province[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2017, 29(3): 299-301.
- [4] 林迪, 孙长贵. 生物膜研究相关进展[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(4): 241-245.  
LIN D, SUN C G. Progress in biofilm research [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2017, 35(4): 241-245.
- [5] 张青, 马慧娜. 大肠埃希菌生物膜形成与耐药机制的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(5): 497-501.  
ZHANG Q, MA H N. Advances in research on *Escherichia coli* biofilm formation and antimicrobial resistance mechanisms [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2018, 43(5): 497-501.
- [6] 罗锐军, 陆春, 李纪兵. 生物膜耐药机制研究进展[J]. 微生物学杂志, 2014, 34(1): 92-95.  
LUO R J, LU C, LI J B. Advanced in drug resistance mechanism of bio-membrane [J]. Journal of Microbiology, 2014, 34(1): 92-95.
- [7] 魏建全, 钱军, 苏秦柳晔, 等. 细菌生物膜引起致病菌耐药机制及抗菌肽 LL-37 对生物膜作用的研究进展[J]. 河西学院学报, 2020, 36(5): 38-43.  
WEI J T, QIAN J, SU Q L Y, et al. Mechanisms of resistance to pathogenic bacteria induced by bacterial biofilms and progress in the study of the effect of antimicrobial peptide LL-37 on biofilms [J]. Journal of Hexi University, 2020, 36(5): 38-43.
- [8] 史巧, 王红宁, 刘立. 细菌生物膜与耐药性相关性研究进展 [J]. 微生物学通报, 2008, 35(10): 1633-1637.  
SHI Q, WANG H N, LIU L. Progress on the relevance of bacteria biofilm to antibiotic resistance [J]. Microbiology, 2008, 35(10): 1633-1637.
- [9] 唐俊妮, 康名松, 陈焕春, 等. 葡萄球菌核酸酶对金黄色葡萄球菌和其它细菌生物被膜形成的抑制作用 [J]. 中国科学: 生命科学, 2011, 41(7): 586-592.  
TANG J N, KANG M S, CHEN H C, et al. Inhibition effect of *Staphylococcus* nuclease on biofilm formation of *Staphylococcus*

- aureus* and other bacteria[J]. *Scientia Sinica (Vitae)*, 2011, 41(7): 586-592.
- [10] 杜玄, 贺苏皖, 田万帆, 等. 培养条件对阪崎克罗诺杆菌食品分离菌株生物被膜形成的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(4): 699-705.
- DU X, HE S W, TIAN W F, et al. Effects of culture conditions on the biofilm formation of *Cronobacter sakazakii* strains isolated from food[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2018, 9(4): 699-705.
- [11] 伍换, 蒋小良, 李轩, 等. 食品包装高分子材料的种类及安全性[J]. *当代化工研究*, 2022(17): 10-12.
- WU H, JIANG X L, LI X, et al. Type and safety of food packaging polymer materials [J]. *Modern Chemical Research*, 2022, (17): 10-12.
- [12] 朱超. 阪崎肠杆菌耐药性分析、超广谱 $\beta$ -内酰胺酶检测及耐药机制研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2011.
- ZHU C. Drug resistance analysis, esbles detection and mechanisms about drug resistance against *Cronobacter sakazakii* strains [D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2011.
- [13] 宋丹丹, 陈海伦. 细菌生物膜的耐药与治疗[J]. *中国全科医学*, 2006(22): 1878-1880.
- SONG D D, CHEN H L. Drug resistance and treatment of bacterial biofilm [J]. *Chinese General Practice*, 2006(22): 1878-1880.
- [14] 景春娥, 李萍, 杜欣军, 等. 硅胶表面阪崎克罗诺杆菌生物膜的形态观察[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(14): 144-148.
- JING C E, LI P, DU X J, et al. Morphological observation of *Cronobacter sakazakii* biofilm on the surfaces of silicone [J]. *Food Research and Development*, 2016, 37(14): 144-148.
- [15] HUANG Y X, PEI Q W, DENG R S, et al. Inactivation efficacy of 405 nm LED against *Cronobacter sakazakii* biofilm [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 610077.

## 《中国食品卫生杂志》2024年征稿征订启事

《中国食品卫生杂志》创刊于1989年,由中华人民共和国国家卫生健康委员会主管,中华预防医学会、中国卫生信息与健康医疗大数据学会共同主办,刊号:ISSN 1004-8456/CN 11-3156/R,邮发代号:82-450,月刊,国内公开发行。本刊是2008、2011、2017、2020、2023版中文核心期刊,中国科学引文数据库核心刊(C刊),中国科技核心期刊,中国精品科技期刊。中国知网(CNKI)全文收录。2020年版影响因子1.553,在预防医学领域影响力指数排名第8(8/86)。曾连续多年获得中华预防医学会优秀期刊一等奖。

**刊登范围:**食品卫生领域的科研方法及成果,检验检测技术(包括化学分析技术、微生物检验技术、毒理学方法),有毒有害物质的监测、评估、标准的研究,监督管理措施及方法,应用营养等。

**主要栏目:**专家述评、论著、研究报告、实验技术与方法、监督管理、调查研究、食品安全标准及监督管理、风险监测、风险评估、应用营养、食源性疾病、综述及国际标准动态。

**刊发周期:**审稿通过后一般在2个月左右刊出。对具有创新性的优秀论文开通绿色通道,加急审稿、优先发表。

### 欢迎投稿 欢迎订阅

投稿网址: <http://www.zgspws.com>

订 阅: 2024年《中国食品卫生杂志》。每期定价40元,全年480元。

订阅方式可以通过以下:

- 1、杂志官方网站订阅(详情见官网 [www.zgspws.com](http://www.zgspws.com)、可咨询购买过刊)。
- 2、通过邮局订阅,邮发代号82-450。
- 3、通过杂志淘宝店,微信公众号线上购买(详情请扫描以下二维码关注)。

地 址: 北京市朝阳区广渠路37号院2号楼802室

《中国食品卫生杂志》编辑部

电 话: 010-52165596 邮政编码: 100021 E-mail: [spws462@163.com](mailto:spws462@163.com)



杂志公众号



杂志淘宝店



杂志微店