

食源性细菌耐药性检测方法的研究进展

Research progress on detection methods of food-borne bacteria resistant against drugs

张可欣¹ 李忠海^{1,2} 任佳丽^{1,2}

ZHANG Ke-xin¹ LI Zhong-hai^{1,2} REN Jia-li^{1,2}

(1. 中南林业科技大学食品科学与工程学院, 湖南 长沙 410004;

2. 稻谷及副产品深加工国家工程实验室, 湖南 长沙 410004)

(1. College of Food Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China; 2. National Engineering Laboratory for Rice and By-product Deep Processing, Changsha, Hunan 410004, China)

摘要:文章综述常用的扩散法、稀释法和 Etest 法,以及一些新兴的分子生物学和电化学药敏试验方法,对其原理、特点和局限性进行了简要分析,展望了食源性细菌药敏试验方法的未来发展方向和研究趋势,旨在为新型药敏试验方法的开发提供参考。

关键词:食源性细菌;耐药性;药物敏感性

Abstract: The current commonly used drug sensitivity test method such as diffusion method, dilution method and Etest method, as well as new methods including molecular biology and electrochemical method were summarized in this article. We briefly analyzed the principles, characteristics and limitations of the above methods. Future development direction and research trend of food-borne bacterial susceptibility testing methods had also been presented, which provided a reference for the development of new antimicrobial susceptibility test method.

Keywords: Food-borne bacterial; drug resistance; antimicrobial susceptibility

随着临床、畜牧业和养殖业对抗生素的滥用,导致世界范围内细菌对抗生素耐药问题日益严峻^[1]。这些食源性耐药细菌有可能通过食物链将耐药性基因传递给人类,从而引起人类的感染。中国动物性食品源细菌耐药情况已很严重^[2-4]。在中国,每年因食源性细菌感染发病人数可达

9 411.7 万人次,病死人数 8 564 人,病死率 0.009 1%^[5]。为了从源头阻止污染耐药性细菌的食品流入市场,感染人类,快速测定食源性细菌的耐药性显得尤为重要。目前常用的药敏试验方法有扩散法和微量法等,但传统方法得到准确报告所需的时间太长,随着分子生物学和电化学技术等学科的发展,一些新型的快速药敏试验方法得到了发展。本文拟对目前常用的药敏试验方法和快速药敏试验方法的研究进展进行阐述。

1 常规药敏试验方法

1.1 扩散法

扩散法是利用待测药物在含菌平板上球形扩散的原理,离纸片(牛津杯或者孔)越近,抗生素浓度越高,越远抗生素浓度越低,随着抗生素浓度的降低,有一条最低抑菌浓度带,过夜培养后细菌不能生长,形成抑菌圈。纸片扩散法是通过测量抑菌圈的大小并根据 CLSI (Clinical and laboratory standards institute) 制定的“抗微生物药物敏感性试验执行标准”来判断细菌对该种抗生素的敏感程度。扩散法包括纸片法、牛津杯法和打孔法^[6]。由于牛津杯法和打孔法的操作性和稳定性较差,且难以实现标准化,所以目前大多数实验室和临床药敏试验都采用纸片扩散法来获得定性的结果。梁丽红等^[7]使用纸片扩散法调查食用卤制品中伦敦沙门菌的药敏;王萍等^[8]使用纸片扩散法了解急性腹泻患者副溶血性弧菌的耐药情况。开发新的药敏试验方法中,也常与纸片扩散法的结果作对照,来保证新方法的准确有效性,如廖诗英等^[9]在研究鸡大肠杆菌 TTC 快速药敏试验方法过程中,选用纸片扩散法作为标准对照方法。

这种方法具有操作简便,成本低廉等优点,但至少需要 16~18 h 的培养时间才能得到结果,且因为试验结果容易受

基金项目:湖南省自然科学基金(编号:2017JJ3523);粮油深加工与品质控制湖南省 2011 协同创新项目(编号:湘教通[2013] 448 号)

作者简介:张可欣,女,中南林业科技大学在读硕士研究生。

通信作者:任佳丽(1977—),女,中南林业科技大学教授,博士。

E-mail: rjl_cl@163.com

收稿日期:2017-09-25

到诸多因素,例如 pH、平板厚度等的影响,所以必须严格按照 CLSI 的操作章程试验,同时使用质控菌株进行平行试验。

1.2 稀释法

稀释法判断细菌药物敏感性的原理是根据细菌在一系列含有二倍稀释浓度抗生素的培养物中的生长情况,肉眼观察无明显细菌生长的培养器中所含药物的最低浓度就是最低抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)。MIC 值越小,说明细菌对该种抗生素越敏感。根据培养物的不同分为肉汤稀释法和琼脂稀释法,根据培养物量的不同,又分为常量法和微量法^[10]。稀释法可以得到对临床用药有指导意义的 MIC 值,可以在定性的同时又定量。李月婷等^[11]使用微量肉汤稀释法对食源性沙门菌进行药敏试验,结果表明 27 株受试沙门菌全部对头孢西丁敏感;肖丹等^[12]和李顺姬等^[13]使用微量肉汤稀释法分别研究了沙门氏菌和致泻大肠杆菌的耐药性,结果表明 66 株沙门菌和 41 株致泻大肠杆菌对测试的 8 种抗生素均有不同程度的耐药, MIC 值为 4~608 $\mu\text{g/mL}$ 不等。

稀释法可以同时试验多种菌,对抗生素的选择也比较自由,是临床中常用的药敏试验方法,但该方法同纸片扩散法一样,也需要将试验菌和质控菌进行平行试验,当质控菌的结果符合标准,试验菌的结果才可靠,且该方法至少需要 16~20 h 才能得到结果,且 MIC 值的准确判断对操作人员的要求较高。

1.3 Etest 法

Etest 法是浓度梯度琼脂扩散试验,既结合了扩散法和稀释法的特点和原理,又弥补了二者的不足^[14]。E 试条一面固定有不同浓度的药物,另一面标有药物浓度的刻度,将 E 试条含有药物的一面置于含菌平板上过夜培养后,在试条周围可见明显的椭圆抑菌圈,通过读取圈边缘与 E 试条相交的刻度可以得到抗菌药物抑制细菌的最小抑菌浓度。沈赞等^[15]同时使用微量肉汤稀释法和 Etest 法判断食源致病菌的 MIC 值,结果表明 2 种方法重复性好;秦思等^[16]使用 Etest 法对江苏地区食源性致病菌进行耐药分析,结果表明 63 株金黄色葡萄球菌对红霉素耐药率最高,为 33.3%,多重耐药率为 3.2%;Cantón 等^[17]同时使用微量肉汤稀释法和 Etest 法对金黄色葡萄球菌进行药敏试验,结果表明 2 种方法具有良好的重复性。

Etest 法继承了纸片扩散法优点的同时,也具有定量的优点,与微量肉汤法相比, MIC 值易判读。以上 3 种传统药敏试验方法都是基于细菌生长的原理,需过夜培养,获得试验结果所需时间较长。

2 快速药敏检测系统

目前有 3 种常用的药敏自动检测系统,分别是德国西门子的 MicroScan WalkAway 系统、法国梅里埃的 Vitek 系统和美国 BD 公司的 Phoenix 系列自动化仪器^[18]。3 种检测系统都是基于微量肉汤稀释法的原理,集成了标准浓度细菌悬液的配制、接种、培养、菌株生长情况测定及报告 MIC 值 5 个步骤于一体,具有快速、便携的优点^[6]。

孙宏莉等^[19]调查中国 425 所使用 Vitek-2 药敏检测系统的医院微生物实验室的测试准确率,结果表明中国 Vitek-2 细菌药敏检测系统中氨苄西林/舒巴坦、头孢替坦、头孢曲松、美罗培南和头孢吡肟的药敏检测结果一致性和准确性较低,其他抗菌药物的药敏结果均具有很好的一致性和较高的准确性;魏丹丹等^[20]将临床分离的可疑耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)124 株随机分别用 Vitek-2 COMPACT 和 MicroScan WalkAway 40 SI 全自动微生物鉴定仪进行细菌鉴定及药敏分析,同时用 PCR 方法对照,评价 2 台细菌分析仪检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的灵敏度、特异度和符合率,结果表明 2 台全自动微生物分析仪与 PCR 方法检测得到的结果一致;Erika 等^[21]用 MicroScan 方法测定了柬埔寨人血液中沙门氏菌对阿奇霉素和环丙沙星的耐药性。

药敏自动检测系统的优点是在药敏结果的数据报告、分析及传递方面的便捷性及准确性,减少了人力,缺点是仪器体积庞大不便携,且购买仪器所需的费用昂贵,加上维修成本高导致使用成本高。

3 辅以显色剂的药敏试验方法

具有代谢活性的细菌能产生 ATP、水解酶以及氧化还原酶,创造出利于还原的环境,能够直接或者间接地还原显色剂,显色剂颜色或者荧光的改变代表了细菌的活性^[22]。细菌与抗生素以及反映代谢活性的显色剂(如亚甲基蓝和刃天青)一同培养,耐药细菌会持续繁殖、代谢显色剂导致颜色变化,而敏感细菌则不会,以此来判断细菌的药物敏感性。林丽英等^[23]研究亚甲基蓝还原法测定结核分枝杆菌的药物敏感性,并将结果与传统的绝对浓度法进行比较,2 种方法测得 MIC 值的相同率较高;孙怀昌等^[24-26]研制出一种以刃天青为指示剂的微量板,能够快速诊断奶牛乳腺炎葡萄球菌、链球菌和大肠杆菌的药敏试验,在 12 h 内获得与纸片扩散法一致的药敏试验结果;Deiss 等^[27]研制出一种以刃天青为指示剂的便携式大肠杆菌药敏试验纸板,具有与纸片扩散法类似的性能、重复性和预测性;Kadlec 等^[28]基于手机摄像头将其改造成微光度计,研制出一种以水溶性四唑盐(WST-8)为指示剂的快速便携药敏试验方法,通过调整细菌与 WST-8 的作用时间可以直接测定初始浓度 $10^1 \sim 10^6$ CFU/mL 的细菌,省略了菌液的前处理步骤,将抗生素预涂于容器表面,也解决了有限资源下快速药敏试验的问题。

这种基于指示剂颜色变化来判断细菌药物敏感性的方法不仅可以肉眼观察进行定性检测,也可以使用分光光度计进行定量检测,具有直观、操作简单的优点,可以缩短药敏试验的时间,但人工肉眼判别具有一定的主观性,而分光光度计又不便于携带。

4 电化学方法

近年来,在细菌的电化学超灵敏检测中已有了最新进展^[29-31],但只有学者研究抗生素敏感性的直接电化学检测。电化学方法检测细菌药物敏感性的原理是:细菌的呼吸作用主要依靠呼吸链的电子传递,巧妙引入氧化还原探针介入细

菌呼吸链,呼吸链活动产生的电化学变化可以用电化学的方法快速而可靠地检测到。

国外已有此类研究。Ertl等^[32-33]利用铁氰化钾作为氧化还原探针,将大肠杆菌与抗生素作用15 min后,与铁氰化钾的溶液混合,用计时电量法测定电信号,结果与传统纸片扩散法完全一致,这种方法能在少于25 min的时间内提供报告,但用电化学方法测得的 IC_{50} 值比标准浊度法得到的结果要高100倍,且试验过程中发现电极对抗生素有吸附作用,影响试验结果;Chotinantakul等^[34]在Ertl等的基础上,改进了试验方案:大肠杆菌与细菌作用后离心除去抗生素,之后重悬于含有铁氰化钾的测试液中,该方法能在3~6 h给出药敏试验结果。

以上的研究均基于大电极系统,随着微机加工技术的发展,电极尺寸可微缩至微米乃至纳米级别,为便携式耐药细菌快速检测系统的研制提供了技术支撑。Besant等^[22]将菌液体积限制在2.75 nL的容器中,通过使用电化学检测刃天青的还原来检测细菌代谢活性,提出了一种快速电化学药敏试验方法能够在1 h内报告细菌的药物敏感性;Choi等^[35]使用了一种微流体琼脂糖系统(MAC),通过琼脂糖固定单个细胞后,使用显微镜观察在不同抗生素存在时的生长情况,只需3~4 h就能给出与CLSI相匹配的MIC值。中国的何佳芮^[36]研究构建了一种集细菌快速检测和快速药敏分析为一体的微流控芯片,能够在30 min内完成对1 μ L样本中*E. coli* O157:H7的检测,检测限为 $10^1 \sim 10^5$ CFU/ μ L,并在4~8 h完成对不同浓度下,3种抗生素的药敏试验。

电化学方法具有快速、灵敏、低能耗和低成本的优点,在开发快速便携的药敏试验方法方面具有广阔前景。

5 分子生物学技术

分子生物学技术包括PCR技术、基因芯片法、全基因组测序等^[37]。运用分子生物学技术进行药敏试验,主要是从基因层面对耐药基因进行的检测。

5.1 PCR技术

PCR技术包括普通PCR和实时荧光定量PCR(Real-time PCR)^[38],可以用于鉴定和定量分析临床标本中的病原菌,以及检测病原菌中的耐药基因,具有灵活、快速的优点^[39]。目前,已经可以通过PCR技术检测*mecA*和(或)*mecC*基因来鉴定耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)^[40];还有人^[41-42]运用PCR技术通过检测与万古霉素耐药基因相关的*vanA*和*vanB*基因来快速检测肠球菌的耐药性。李坚等^[43]设计并合成荧光定量PCR引物,绘制荧光定量PCR标准曲线,以荧光定量PCR方法测定细菌在抗生素作用下生长不同时间基因组DNA含量,并与纸片(K-B)法进行比较,建立了葡萄球菌快速药敏试验方法,结果与纸片扩散法一致。

5.2 基因芯片技术

基因芯片的测序原理是杂交测序法,即未知序列通过与一组已知序列的核酸探针杂交进行核酸序列测定的方法,具有快速、特异、高通量的特点,运用该技术检测细菌耐药性,

可以在1个工作日内提供报告^[37-38]。欧维正等^[44]通过比较基因芯片法和比例法在检测结核分枝杆菌对利福平和异烟肼的药物敏感性试验中的符合率,发现基因芯片较比例法有更高的敏感性和特异性,对多重耐药性结核杆菌的快速诊断具有重要临床价值;Naas等^[45-46]的研究表明,在最新的升级版芯片中可一次性检测3种超广谱 β 内酰胺类耐药基因,6种质粒介导的头孢菌素类耐药基因和5种碳青霉烯类耐药基因,经临床菌株验证显示,敏感性和特异性均为100%。

5.3 全基因组测序

全基因组测序可以得到样品的完整序列,可获得大量信息。朱健铭等^[47]运用全基因组测序法分析肺炎克雷伯菌JM45株对喹诺酮类药物耐药基因;王登峰^[48]基于Hiseq 2000和PacBio SMRT技术的测序数据,使用de novo拼接方法获得多重耐药MRSA菌株Z35和Z43的全基因组序列并进行SCCmec特征分析,结果显示Z35为ST9-SCCmec VII,携带重组酶基因复合体*ccrC2*;Z43为ST97-SCCmec IV,含有多重耐药基因。

分子生物学方法与传统药敏试验法不同,传统药敏试验方法是对菌株耐药表型的检测,而分子生物学方法是基因层面对耐药基因进行的检测^[6]。PCR技术检测耐药基因具有快速灵敏度高特点,但一次检测的耐药基因有限,且容易出现假阴性结果;基因芯片法能一次检测多种耐药基因,具有快速、灵敏度高和特异性高的特点,但在检测新的或不典型的耐药基因时具有局限性,且价格昂贵;全基因组测序能够发现尽可能多的耐药机制,是细菌耐药机制研究的重要手段,但不适合临床和耐药性检测、监测中的推广应用^[49]。以上3种分子生物学方法都不能对临床治疗提供有指导意义的MIC值^[37]。

6 展望

以快速、灵敏和便携的耐药细菌鉴定技术可有效避免污染食品的进一步流通,是研究的方向和热点。传统药敏试验方法作为“金标准”,具有完善的标准体系,但所需时间长(通常24~48 h);快速药敏检测系统减少了人工操作,但仪器庞大且成本较高,难以做到便携;分子生物学技术具有高通量、快速和特异性高的特点,但在检测新的和不典型耐药基因时具有局限性;基于电化学方法的微流控技术具有快速、灵敏、微型的特点,如能突破稳定性和可回复性因素的影响,将是未来生物检验发展的方向。

参考文献

- [1] 高海涛, 韩俊丽, 关道明. 大肠杆菌耐药现状的严峻性[J]. 生命科学, 2017(5): 514-520.
- [2] 刘书亮, 张晓利, 韩新峰, 等. 动物性食品源大肠杆菌耐药性研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(7): 163-168.
- [3] 姜晓冰, 于涛, 孟赫诚, 等. 广州市售散装熟肉制品中细菌的耐药性及耐药基因研究[J]. 现代食品科技, 2014(7): 63-68.
- [4] 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(6): 251-251.
- [5] 毛雪丹, 胡俊峰, 刘秀梅. 我国细菌性食源性疾病疾病负担的初

- 步研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23(2): 132-136.
- [6] 刁菁, 杨秀生, 李天保, 等. 病原微生物药敏检测方法的研究进展[J]. 中国农学通报, 2013, 29(8): 1-5.
- [7] 梁丽红, 王建全, 李艳红, 等. 一起伦敦沙门菌引起的食源性疾病调查及病原分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2016(7): 1 046-1 047, 1 056.
- [8] 王萍, 强鑫华, 周丽华. 湖州地区食源性腹泻患者副溶血性弧菌病原学特征分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2017(12): 1 706-1 708.
- [9] 廖诗英, 金亚东, 郭亚男. 鸡大肠杆菌 TTC 快速药敏试验方法研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2013(22): 90-91.
- [10] 李少博, 贺雅非, 李洪军, 等. 食源性沙门氏菌耐药机制及药敏性检测方法研究现状[J]. 食品与发酵工业, 2016(9): 257-262.
- [11] 李月婷, 龚云伟, 刘桂华. 食源性沙门菌和致泻性大肠杆菌的耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2016(22): 3 335-3 337.
- [12] 肖丹, 刘桂华, 曲莉, 等. 肉汤稀释法 MIC 药敏试剂盒对沙门菌检测结果分析[J]. 中国卫生工程学, 2014(4): 314-315, 319.
- [13] 李顺姬, 王树东, 曹铁红, 等. 41 株致泻大肠埃希菌的药敏试验检测及结果分析[J]. 中国卫生工程学, 2016(2): 127-129.
- [14] 侯金丽. 国内外 E-test 法万古霉素药敏条临床研究[J]. 生物技术世界, 2015(5): 110-111.
- [15] 沈赞, 秦思, 马恺, 等. 不同方法对食源性致病菌耐药性监测研究[J]. 江苏预防医学, 2015(4): 9-11.
- [16] 秦思, 沈赞, 马恺, 等. 2012 年江苏省食源性致病菌耐药监测分析[J]. 江苏预防医学, 2014(1): 28-30.
- [17] CANTÓN R, LIVERMORE D M, MOROSINI M I, et al. E-test® versus broth microdilution for ceftaroline MIC determination with *Staphylococcus aureus*: results from PREMIUM, a European multicentre study[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2017, 72(2): 431.
- [18] BARENFANGER J, DRAKE C, KACICH G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing[J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37(5): 1 415-1 418.
- [19] 孙宏莉, 胡继红, 罗燕萍, 等. 2015 年全国 VITEK-2 细菌药敏检测系统药敏试验结果准确性调查研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016(10): 2 161-2 165.
- [20] 魏丹丹, 刘洋, 万腊根. Vitek 2 Compact 和 MicroScan Walk-Away 40 SI 检测 MRSA 的性能评价[J]. 实验与检验医学, 2014(5): 505-507.
- [21] VLIEGHE E R, PHE T, DE SMET B, et al. Azithromycin and ciprofloxacin resistance in *Salmonella* bloodstream infections in Cambodian adults[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2012, 6(12): 1 933.
- [22] BESANT J D, SARGENT E H, KELLEY S O. Rapid electrochemical phenotypic profiling of antibiotic-resistant bacteria[J]. *Lab on a Chip*, 2015, 15(13): 2 799-2 807.
- [23] 林丽英, 朱中元, 王超, 等. 美蓝还原法快速测定结核分枝杆菌药物敏感性[J]. 中国热带医学, 2014(1): 73-75, 124.
- [24] 王娟, 李洋洋, 徐光宇, 等. 奶牛乳房炎大肠杆菌刃天青微量板快速诊断及药敏试验[J]. 中国畜牧兽医, 2016(2): 535-541.
- [25] 李洋洋, 李光亚, 包利平, 等. 奶牛乳房炎链球菌的刃天青微量板快速诊断与药敏试验[J]. 中国奶牛, 2016(1): 26-31.
- [26] 史蕾, 卢会鹏, 李洋洋, 等. 奶牛乳腺炎葡萄球菌刃天青微量板快速诊断方法的建立与应用[J]. 中国兽医科学, 2015(12): 1 307-1 312.
- [27] DEISS F, FUNES-HUACCA M E, BAL J, et al. Antimicrobial susceptibility assays in paper-based portable culture devices[J]. *Lab on a Chip*, 2014, 14(1): 167-171.
- [28] KADLEC M W, YOU D, LIAO J C, et al. A cell phone-based microphotometric system for rapid antimicrobial susceptibility testing[J]. *Journal of Laboratory Automation*, 2014, 19(3): 258-266.
- [29] PATTERSON A S, HSIEH K, SOH H T, et al. Electrochemical real-time nucleic acid amplification: towards point-of-care quantification of pathogens[J]. *Trends in Biotechnology*, 2013, 31(12): 704-712.
- [30] SOLEYMANI L, FANG Zhi-chao, LAM B, et al. Hierarchical nanotextured microelectrodes overcome the molecular transport barrier to achieve rapid, direct bacterial detection[J]. *ACS Nano*, 2011, 5(4): 3 360-3 366.
- [31] HSIEH K, PATTERSON A S, FERGUSON B S, et al. Rapid, sensitive, and quantitative detection of pathogenic DNA at the point of care through microfluidic electrochemical quantitative loop-mediated isothermal amplification[J]. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 2012, 51(20): 4 896-4 900.
- [32] ERTL P, UNTERLADSTAETTER B, BAYER K, et al. Ferricyanide reduction by *Escherichia coli*: kinetics, mechanism, and application to the optimization of recombinant fermentations[J]. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(20): 4 949-4 956.
- [33] ERTL P, WAGNER M, CORTON E, et al. Rapid identification of viable *Escherichia coli* subspecies with an electrochemical screen-printed biosensor array[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2003, 18(7): 907-916.
- [34] CHOTINANTAKUL K, SUGINTA W, SCHULTE A. Advanced Amperometric Respiration Assay for Antimicrobial Susceptibility Testing[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(20): 10 315-10 322.
- [35] CHOI J, JUNG Y-G, KIM J, et al. Rapid antibiotic susceptibility testing by tracking single cell growth in a microfluidic agarose channel system[J]. *Lab on a Chip*, 2013, 13(2): 280-287.
- [36] 何佳芮. 基于集成微流控芯片的细菌快速检测及药敏分析[D]. 大连: 大连医科大学, 2014: 16-18.
- [37] 李珍, 李从荣. 细菌快速药敏试验方法研究进展[J]. 检验医学与临床, 2016(8): 1 142-1 144.
- [38] 马秀清, 陈良安. 细菌耐药性检测方法的研究进展[J]. 解放军医学院学报, 2015(4): 404-407.
- [39] MAURIN M. Real-time PCR as a diagnostic tool for bacterial diseases[J]. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2012, 12(7): 731-754.
- [40] LEPAINTEUR M, DELATTRE S, COZZA S, et al. Comparative evaluation of two PCR-based methods for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Xpert MRSA Gen 3 and BD-Max MRSA XT[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015, 53(6): 1 955-1 958.

(上接第 184 页)

- [41] GAZIN M, LAMMENS C, GOOSSENS H, et al. Evaluation of GeneOhm VanR and Xpert vanA/vanB molecular assays for the rapid detection of vancomycin-resistant enterococci[J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology, 2012, 31(3): 273-276.
- [42] CEKIN Y, ERMAN DALOGLU A, OGÜNC D, et al. Evaluation of vancomycin resistance 3 multiplexed PCR assay for detection of vancomycin-resistant enterococci from rectal swabs[J]. Annals of Laboratory Medicine, 2013, 33(5): 326-330.
- [43] 李坚, 王艾琳, 徐蕾. 葡萄球菌快速药敏试验方法的建立[J]. 现代预防医学, 2012(14): 3 617-3 619, 3 626.
- [44] 欧维正, 骆科文, 王燕, 等. 基因芯片和比例法药物敏感性试验检测结核分枝杆菌对利福平和异烟肼耐药性的比较研究[J]. 检验医学, 2013(5): 404-407.
- [45] NAAS T, CUZON G, BOGAERTS P, et al. Evaluation of a DNA microarray (Check-MDR CT102) for rapid detection of

TEM, SHV, and CTX-M extended-spectrum β -lactamases and of KPC, OXA-48, VIM, IMP, and NDM-1 carbapenemases[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2011, 49(4): 1 608-1 613.

- [46] BOGAERTS P, CUZON G, EVRARD S, et al. Evaluation of a DNA microarray for rapid detection of the most prevalent extended-spectrum β -lactamases, plasmid-mediated cephalosporinases and carbapenemases in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2016, 48(2): 189-193.
- [47] 朱健铭, 姜如金, 吴康乐, 等. 全基因组测序法分析肺炎克雷伯菌 JM45 株对喹诺酮类药物耐药基因[J]. 中华医院感染学杂志, 2014(10): 2 341-2 344.
- [48] 王登峰. 奶牛乳腺炎性金黄色葡萄球菌耐药基因检测、分子分型和耐甲氧西林菌株全基因组测序[D]. 北京: 中国农业大学, 2016: 49-58.
- [49] 车洁, 陈霞, 李娟, 等. 细菌耐药性检测技术方法及其应用[J]. 疾病监测, 2017(9): 757-763.

(上接第 199 页)

本试验在乳糖水解中生成了大量的还原性单糖,其羰基与蛋白质在灭菌过程中会发生美拉德反应,导致低乳糖奶产生非酶褐变,故需对低乳糖奶的褐变及其抑制进行后续研究。

参考文献

- [1] 顾瑞霞. 乳与乳制品的生理功能特性[M]. 北京: 中国轻工出版社, 2000: 1-60.
- [2] 李凤林, 崔福顺. 乳及发酵乳制品工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 18-21.
- [3] 赵显峰, 蒯士安. 乳糖不耐受以及解决方法的研究动态[J]. 中国学校卫生, 2007, 28(12): 1 151-1 153.
- [4] 龚广予, 李明. 低乳糖牛乳的研制[J]. 乳业科学与技术, 1999(3): 43-46.
- [5] 马夫侠, 张晓东, 秦翠霞. 低乳糖牛奶的工艺参数研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(1): 51-52.
- [6] 秦立虎, 宗青山, 孙艳波, 等. 低乳糖牛奶的研制[J]. 食品与发酵科技, 2003(3): 72-74.
- [7] 常忠义, 王莉, 王海萍, 等. 低乳糖牛奶的研究开发[J]. 食品科

技, 2003(3): 60-62.

- [8] 王辉, 张秀玲. 低乳糖牛奶生产工艺参数的研究[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(1): 52-53.
- [9] 伍桃英, 李梦怡, 李亦蔚, 等. 3 种测定乳制品中乳糖含量方法的比较[J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 71-74.
- [10] 王子龙, 梅林, 王志耕. 低乳糖牛奶水解率的快速测定[C]// 中国奶业协会 2009 年会议论文集. 北京: 中国乳业, 2009: 153-154.
- [11] 甘宾宾, 蒋世琼. 高效液相色谱法测定乳糖酶水解产物中的糖类[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(12): 39-40.
- [12] 李亚娜, 林永成, 余志刚. 响应面分析法优化羊栖菜多糖的提取工艺[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2004, 32(11): 28-32.
- [13] 程云辉, 王璋, 许时婴. 酶解麦胚蛋白制备抗氧化肽的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 147-151.
- [14] 项丽丽, 季妮娜, 粘靖祺, 等. 响应面法对乳清中乳糖酶解工艺条件的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(2): 233-235.
- [15] 孙东跃, 陈历俊. 低乳糖奶的研究进展及应用[J]. 中国食品添加剂, 2012(4): 245-249.

信息窗

加拿大卫生部批准 2 种果胶酶

据加拿大卫生部消息, 近日加拿大卫生部发布通告, 更新《许可食品酶列表》, 批准两种果胶酶用于果汁、葡萄酒等商品。

本次新批准的 2 种果胶酶分别源自里氏木霉 RF6197、RF6201, 用于生产纯果汁、葡萄酒、果泥、蔬菜泥、果酱。

据了解, 在此之前, 加拿大卫生部已批准其他类型的

果胶酶用于纯果汁、葡萄酒的生产。

近日, 加拿大卫生部完成了对本次两种果胶酶的安全性评估。加拿大卫生部经过风险评估后认为, 这两种果胶酶用于纯果汁、葡萄酒等食品无安全风险。因此, 更新《许可食品酶列表》, 批准其使用。新规定自 2018 年 2 月 1 日起生效。

(来源: <http://news.foodmate.net>)