

南京地区猪肉源中沙门氏菌分子分型及耐药性分析

吴海晶, 程逸宇, 沈威, 冯秋实, 刘延, 刘新梅*

(南京市食品药品监督检验院, 江苏省市场监管重点实验室-食源性致病菌检测及溯源技术, 江苏南京 211198)

摘要: 沙门氏菌是造成我国食源性疾病的常见细菌之一, 也是肉类消费过程中密切监测的重点对象。在 2018 年~2021 年期间, 共计采集了南京市 545 份猪肉源食品样本, 利用选择性培养法分离得到 44 株沙门氏菌, 采用血清学方法和分子生物学方法 (MLST) 对其进行分型鉴定, 并分析其耐药性。结果表明, 市售样本中共计检出 44 株沙门氏菌, 平均检出率为 8.07%, 其中内脏样本检出率相对最高(检出率为 30.49%); 血清型分析表明, 检出的菌株中以鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)、罗森氏沙门氏菌(*Salmonella rissen*)、德尔卑沙门氏菌(*Salmonella derby*)和伦敦沙门氏菌(*Salmonella london*) 4 种血清型沙门氏菌最为常见; 基因分型表明, ST19 型为猪肉源中优势沙门氏菌株, 占比为 20.45%; 检出的沙门氏菌中, 38 株菌株对四环素具有明显耐药性, 占全部检出菌株的 86.36%, 而对头孢他啶、头孢噻肟和头孢西丁的耐药不超过 10%。此外, 对检出的 1 株多重耐药性沙门氏菌耐药基因分析发现, 共筛查出了包括 7 大类抗生素及与耐药相关的基因。该实验详细分析了南京市场猪肉源食品中沙门氏菌污染状况, 也为后期沙门氏菌的综合防治提供了理论依据。

关键词: 猪肉源; 沙门氏菌; 分型; 耐药性

文章编号: 1673-9078(2023)10-307-314

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.10.1362

Analysis of the Strains and Drug Resistance of *Salmonella* spp. Isolated from Pork and Pork Products in Nanjing

WU Haijing, CHENG Yiyu, SHEN Wei, FENG Qiushi, LIU Yan, LIU Xinmei*

(Nanjing Institute for Food and Drug Control, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Market Supervision-Detection and Traceability of Food Borne Pathogens, Nanjing 211198, China)

Abstract: *Salmonella* is a common bacterial pathogen causing foodborne diseases in China; therefore, it is crucial to closely monitor its presence in relation to meat consumption. From 2018 to 2021, a total of 545 pork and pork products in Nanjing were collected for this study. The selective culture method was utilized to isolate *Salmonella*, and the strains were identified via serological and molecular biological methods, such as multilocus sequence typing (MLST). Finally, the antibiotic susceptibility test was utilized to analyze the drug resistance of the isolated strains. The results show that a total of 44 *Salmonella* strains were identified in the samples available in the market, with an average detection rate of 8.07%. In particular, pig viscera exhibited the highest detection rate at 30.49%. Serotype analysis revealed the four most commonly isolated *Salmonella* species in the pork products: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica* serovar Rissen, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Derby, and *Salmonella enterica* serovar London. Genotyping results further suggested that the ST19 was the dominant *Salmonella* strain in contaminated pork samples, accounting for nearly 20.45% of all isolated strains. Among the detected *Salmonella*, 38 strains exhibited obvious resistance to tetracycline, accounting for 86.36% of the total. Meanwhile, the resistance of all strains to ceftazidime, cefotaxime, and cefoxitin was <10%. Additionally, one multidrug resistant *Salmonella* strain was isolated. The presence of resistance-related genes and a total of seven

引文格式:

吴海晶,程逸宇,沈威,等.南京地区猪肉源中沙门氏菌分子分型及耐药性分析[J].现代食品科技,2023,39(10):307-314

WU Haijing, CHENG Yiyu, SHEN Wei, et al. Analysis of the strains and drug resistance of *Salmonella* spp. isolated from pork and pork products in Nanjing [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(10): 307-314

收稿日期: 2022-10-27

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFF1101003); 南京市市场监督管理局重点科技项目(Kj2021046; Kj2020043); 江苏省市场监督管理局科技计划项目(KJ207544)

作者简介: 吴海晶(1991-),女,硕士,工程师,研究方向:微生物分子生物学检测, E-mail: 469356934@qq.com

通讯作者: 刘新梅(1979-),女,硕士,正高级工程师,研究方向:食品微生物与生物技术, E-mail: 1787090250@qq.com

categories of antibiotics associated were successfully identified. Collectively, this study provides detailed data analysis for *Salmonella* contamination in pork and pork products in Nanjing, Jiangsu, establishing a theoretical foundation for the comprehensive control of *Salmonella* in meat products.

Key words: pork and pork products; *Salmonella* spp.; sequence types; drug resistance

沙门氏菌 (*Salmonella*) 作为国际公认的食品卫生和耐药性监测的重要指示菌, 大多数患者感染后会 出现腹泻、发烧和胃痉挛等症状, 是造成我国食源性 疾病爆发的重要元凶之一。据 2019 年国内食源性疾 病监测数据统计, 我国食源性疾病发病人数 12 738 例, 有超过 3 600 案例是由沙门氏菌造成, 占发病总数的 28.44%^[1], 该菌株的污染给食品安全、公共卫生以及 养殖产业造成了极大的安全隐患。因此, 深入了解沙 门氏菌污染状况和来源, 对控制疾病的发生和发展具 有重要意义。

沙门氏菌的物种类型多样, 其血清种类繁多且复 杂, 现已鉴定出超过 2 600 多种血清型, 具有典型的 地域分布特点^[2,3], 这给卫生管理部门准确且及时的 监测工作带来了严重挑战。目前, 沙门氏菌对食物的 污染主要集中在动物源食品中, 在屠宰加工和运输销 售等环节均存在污染可能性^[4]。由于各地消杀政策和 环境卫生的管控力度的不同, 不同地区对应的沙门氏 菌检出率和流行类型呈现地区差异性, 席昭雁等^[5]对 陕西省 2 960 份食品进行了抽样检测, 其中 230 份检 出沙门氏菌, 检出率为 7.77%; 侯海燕等^[6]分析 2010~ 2016 年淮安市肉及肉制品中沙门氏菌总检出率为 7.37%, 其中 53 株沙门氏菌多重耐药率高达 64.7%; 孙景昱等^[7]分析 2011~2018 年吉林省沙门氏菌污染状 况, 13 507 份样品总检出率仅为 0.56%, 呈现明显区 域特征。菌株分型方面, 国外发达国家在该方面研究 较为详细^[8,9], 爱尔兰库克大学 (<http://www.pubmlst.org>)、 牛津大学 (<http://mlst.ucc.ie>) 和 Warwick 大学医学院 (<http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/>) 构建的多位点序列分 型 (multilocus sequence typing, MLST) 数据库已被 广泛应用。因此, 要做好地区食源性疾病的预防与控 制, 不仅要针对开展区域食源性致病微生物的分析检 测, 也需要对危害流行的类型进行掌握。

为了防止沙门氏菌对食品产业的危害, 抗生素成 了对预防和控制养殖产业中沙门氏菌感染的重要防控 手段, 但抗生素滥用也引发了严重的耐药性问题^[10,11]。 杨若璇等^[12]分析 700 份牛乳样本发现, 检出的 16 株 沙门氏菌均呈现多重耐药特性, 迫切需要加强监督管 理牛乳生产链中抗生素的使用。对此, 部分国家已经 开始对畜禽养殖产业的抗生素使用进行限制, 例如加 拿大养鸡行业自愿取消头孢噻吩等抗菌药物的使

用^[13]。WHO 提出^[14]的“Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance in Foodborne Bacteria” (食源 性细菌耐药性综合监测) 详细指出了可以通过耐药、 中间和易感分离株的百分比评估沙门氏菌血清型的耐 药性。Nghiem^[15]等对鸡肉和牛肉中的沙门氏菌血清型 进行了分析, 研究表明 12 株肯塔基沙门氏菌 (ST 198) 中有 11 株具有多重耐药性。开展食源性致病菌耐药深 入分析可以为地区规范使用抗生素提供重要参考依据。

本研究对南京市场收集的 545 份猪肉源样本进行 了沙门氏菌的检测与分型, 分析南京地区猪肉源食品 中沙门氏菌污染风险和菌株的具体分型, 研究其抗生素 耐药性状况, 为南京食品安全风险评估提出科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品及试剂

2018~2021 年期间, 在南京市开展高风险食品类 型中食源性致病菌监测采样, 采集猪肉及猪肉源制品 共计 545 份, 每份约 100 g, 其中生猪内脏样本计 82 份, 生鲜猪肉样本 103 份, 冷冻猪肉样本 180 份, 加工肉糜样本 160 份, 餐饮自制水饺及馄饨样本 20 份。样品采集时采用密封袋独立包装, 置于加入冰 袋的泡沫保温箱内保存, 12 h 内运回理化实验室。并 依据《食品卫生微生物学检验总则 (GB 4789.1-2016)》 对样本进行预处理, 采用无菌均质袋密封均质匀浆后, 取 10 g 加入装有 90 mL 灭菌的增菌液离心管中, 混匀 10 min 并在 37 °C 培养 18 h, 备用。

主要试剂包括: LB 营养琼脂、RVS 沙门氏富集 肉汤培养基、普通型营养琼脂、TSB 培养基、TSA 培 养基、沙门氏菌显色培养基、MAC 培养基, 购自广 东环凯生物科技有限公司; 沙门氏菌生化鉴定试剂盒, 购自广东环凯生物科技有限公司; 沙门氏菌鉴定血清, 购自宁波天润生物医药有限公司; 四环素、氨苄西林、 氯霉素、复方新诺明、萘啶酸、头孢唑林、氨苄西林 舒巴坦、环丙沙星、庆大霉素、头孢他啶、头孢噻吩、 头孢西丁、亚胺培南等抗生素药敏片, 均购自于珠海 美华医疗科技有限公司; VITEK2 细菌鉴定试条, 购 自法国 biomérieux 公司; Invitrogen 细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 购自赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; 其他化学试剂包括氯化钠、蛋白胨、一次性灭菌培养

皿等, 购自南京慧杰诚生物科技有限公司。

1.2 沙门氏菌的分离与鉴定

沙门氏菌菌株的分离及鉴定参考 Cui 等^[16]和张华等^[17]的方法。将采集的样本置于灭菌的缓冲蛋白胨水中 37 °C 恒温培养 18 h 后, 转移至 RVS 培养基中, 42 °C 培养 24 h, 进行选择性的增菌。采用 MAC 培养基三区划线操作将增菌后的培养物转移至沙门显色培养基中, 37 °C 恒温培养 24 h 纯化待鉴定的沙门氏菌, 并将纯化后的菌落转移至 LB 液体培养基中, 振荡培养 24 h, 用以后期生化鉴定。

参照 GB 4789.4-2016 血清凝集法^[18]进行沙门氏菌血清分析, 对照沙门氏菌抗原表进行血清型鉴定。

1.3 沙门氏菌 MLST 分型

参照文献^[19]对分离出的沙门氏菌菌株进行 MLST 分型, 采用 Invitrogen 细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取菌株 DNA, 根据文献中的引物序列和 PCR 反应条件进行扩增, 并基于 Sanger 法对纯化的 DNA 样本进行测序^[20]。将测序得到的基因序列上传至牛津大学沙门氏菌 MLST 数据库 (<http://www.pubmlst.org>) 进行比对分析。选择沙门氏菌基因组上 7 个相对保守的管家基因 (Housekeeping Gene), 具体包括 *hisD*、*hemD*、*thrA*、*sucA*、*aroC*、*dnaN* 和 *purE*, 利用 DNA 测序获取等位基因位点信息, 基于 Warwick 大学医学院 MLST 数据库, 以 7 个管家基因组合类型, 完成最终 ST 分型分析。

1.4 药物敏感性测定

参照文献^[21,22]报道, 采用 CLSI 琼脂稀释法测定, 选取 13 种常用抗生素, 以大肠埃希菌 ATCC25922 作为质控菌株, 分析供试抗生素对沙门氏菌的最小抑制浓度进行测定, 参照 CLSI 标准判定药敏结果并确定耐药程度。由珠海美华医疗科技有限公司定制细菌药物 MIC 测试板, 在抗菌药物 MIC 测试孔中加入细菌药敏培养基, 经 35~37 °C 孵育 18~24 h, 抗菌药物 MIC 测定实验根据是否出现浑浊 (沉淀), 确定是否有细菌生长, 从而确定抗菌药物的 MIC 值。

1.5 耐药基因筛查

参照文献^[23]报道, 对药敏试验筛选出的一株多重耐药菌株送上海昂普生物科技有限公司进行全基因组测序。样本通过 IlluminaMiseq 平台进行测序, 获得的原始测序数据经 Trimmonmati 质控进行分析和统计,

剪切质量偏低数据, 并评估基因组的测序质量。基于测序所得的 reads 序列, 选取高质量测序区域, 评估基因组大小。

利用 Glimmer 软件对基因组中的编码进行预测, 通过 KEGG、GO、Pfam 和 EggNOG 平台数据库对比, 将得到的基因进行功能注释, 根据数据库注释的基因功能描述, 检索抗性基因, 并同时联合 CGE Server 在线网站的分析软件 ResFinders 3.2 对抗生素耐药基因和基因突变位点引起的抗性基因进行预测, 确保筛查的耐药基因数量及类型完整, 结合 COG 对耐药基因的分类注释, 筛选所属耐药基因类别。

1.6 数据分析

实验数据采用 SPSS 19.0 软件和 Excel 2016 软件进行汇总和整理分析。

2 结果与分析

2.1 猪肉源中沙门氏菌检出率分析

表 1 为所有样本沙门氏菌检出率的具体分析。在市售的 545 份猪肉源食品中共计检出沙门氏菌 44 株, 平均检出率为 8.07%。检测结果表明, 不同来源样本均存在沙门氏菌污染风险, 检出率在 0.56%~30.49% 之间。其中, 82 份内脏中共计 25 份检出沙门氏菌, 检出率高达 30.49%; 冷冻猪肉样本共计 180 份, 仅检出 1 例沙门氏菌, 检出率最低, 仅为 0.56%。

表 1 545 批次样本沙门氏菌检出率分析

Table 1 Analysis of *Salmonella* spp. detection rate of 545

batches of samples			
样品来源	批次数	检出沙门氏菌/株	检出率/%
内脏	82	25	30.49
生鲜猪肉	103	13	12.62
冷冻猪肉	180	1	0.56
加工肉糜	160	4	2.50
餐饮自制水饺及馄饨	20	1	5.00
合计	545	44	8.07

结合抽样结果分析可知, 内脏受沙门氏菌污染的风险率相对最高, 检出率是生鲜猪肉的 3 倍。而以冷冻猪肉为代表的冻藏肉制品, 低温环境下沙门氏菌污染风险率相对最低, 仅为 0.56%, 显著低于平均检出率。郭辉等^[24]对 118 份肉制品食源性致病菌监测与分析也得出类似结论, 不同类型的肉制品食源性微生物检测率差异明显, 抽检的生肉制品食源性微生物检出率可达 24.58%, 需要加强对致病菌检测与预防工作。

表 2 44 株沙门氏菌血清型分析结果

Table 2 Serotype analysis of 44 *Salmonella* spp. strains

血清型	菌株数	内脏分离率	生鲜猪肉分离率	冷冻猪肉分离率	加工肉糜分离率	餐饮自制水饺及馄饨分离率
鼠伤寒沙门氏菌 (<i>S. typhimurium</i>)	9	55.60% (5/9)	33.33% (3/9)	11.11% (1/9)	0	0
罗森氏沙门氏菌 (<i>S. rissen</i>)	8	50.00% (4/8)	37.50% (3/8)	0	12.50% (1/8)	0
德尔卑沙门氏菌 (<i>S. derby</i>)	6	50.00% (3/6)	33.33% (2/6)	0	16.67% (1/6)	0
伦敦沙门氏菌 (<i>S. london</i>)	6	66.67% (4/6)	33.33% (2/6)	0	0	0
汤普森沙门氏菌 (<i>S. thompsons</i>)	5	60.00% (3/5)	20.00% (1/5)	0	20.00% (1/5)	0
肠炎沙门氏菌 (<i>S. enteritidis</i>)	3	66.67% (2/3)	33.33% (1/3)	0	0	0
肯塔基沙门氏菌 (<i>S. kentucky</i>)	3	33.33% (1/3)	0	0	33.33% (1/3)	33.33% (1/3)
印第安纳沙门氏菌 (<i>S. indiana</i>)	2	50% (1/2)	50% (1/2)	0	0	0
俄亥俄沙门氏菌 (<i>S. ohio</i>)	1	100% (1/1)	0	0	0	0
阿贡纳沙门氏菌 (<i>S. agona</i>)	1	100% (1/1)	0	0	0	0
合计	44	56.82% (25/44)	29.55% (13/44)	2.27% (1/44)	9.09% (4/44)	2.27% (1/44)

2.2 沙门氏菌的血清型分析

此次所有检出的 44 株沙门氏菌血清型分析结果如表 2 所示。此次实验共计鉴定出 10 种血清型,以鼠伤寒沙门氏菌 (*S. typhimurium*)、罗森氏沙门氏菌 (*S. rissen*)、德尔卑沙门氏菌 (*S. derby*) 和伦敦沙门氏菌 (*S. london*) 等 4 种血清型沙门氏菌最为常见,检出率在 1.10%~1.65% 之间。汤普森沙门氏菌和肠炎沙门氏菌共计 6 株,检出率在 0.55%。不常见的血清型有印第安纳沙门氏菌 (*S. indiana*)、俄亥俄沙门氏菌 (*S. ohio*) 和阿贡纳沙门氏菌 (*S. agona*),各检出 1 株,检出率仅为 0.18%。

本次实验中共分离出 44 株沙门氏菌,其中内脏分离出的菌株类型最多,10 种血清型菌株均有检出,其中鼠伤寒沙门氏菌、罗森氏沙门氏菌、伦敦沙门氏菌最为常见。参照文献报道^[25,26]的屠宰场和肉类分析研究中表明,与肉禽相关的血清型主要包括鼠伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌,与本次实验结果相对一致。侯海燕等^[6]研究也证实了肠炎沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌均为淮安地区肉类及肉制品的流行血清型,也是江苏省常见的导致食物中毒的沙门氏菌血清型。然而,上海地区鸡肉源中沙门氏菌检出率和分型显著不同,对应的印第安纳沙门氏菌最为流行(占比 26.83%)^[27],本实验中印第安纳沙门氏菌仅检出 2 例,这表明了畜禽产品中沙门氏菌的危害分型存在典型地区差异和样品特异性。因此,在加强对生鲜肉品的生物安全防控的同时,要注重沙门氏菌地区污染与流行特征,才能更好的制定卫生管理与监管力度。

2.3 沙门氏菌 MLST 分型结果

选择沙门氏菌基因组上 7 个相对保守管家基因,具体包括 *hisD*、*hemD*、*thrA*、*sucA*、*aroC*、*dnaN* 和 *purE* 进行检测分型,共计产生 10 种不同 ST 分型,详见表 3。优势 ST 分型为 ST19,共计检出 9 株,占 20.45% (9/44)。其次,ST469 型共计检出 8 株,占 18.18%。其中 ST19 型与 ST34 型的 7 个管家基因中 5 个管家基因完全相同,亲缘关系较近。而 ST198 型与 ST19 型的 7 个管家基因没有相同管家基因,亲缘关系相对最远。

不同样本来源的 ST 分型结果差异明显。内脏中沙门氏菌检出的主要类型为 ST19,共计 7 株,占比 28.00% (7/25),对应的血清型分别为鼠伤寒沙门氏菌 6 株和印第安纳沙门氏菌 1 株;而 ST17 型、ST155 型和 ST329 型分别仅有 1 株,占比 4.00% (1/25),血清型分别为印第安纳沙门氏菌、伦敦沙门氏菌和俄亥俄沙门氏菌;生鲜猪肉中 ST155 型检出率最高,共计 4 株,占比 30.77% (4/13),对应的血清型为伦敦沙门氏菌 3 株和罗森沙门氏菌 1 株。结果表明了沙门氏菌 ST 型与血清型存在关联性。Zhou^[28]对淮安猪屠宰场的沙门氏菌多样性分析表明,636 个样本中共区分了 10 个不同的 ST 型,其中 ST40 被确定为最突出的 ST 型;类似,刘慧玲等^[29]对进出口食品中 2 种不同血清型沙门氏菌分析共计检出 4 种不同 ST 型,进一步证实了 MLST 分型在替代、补充血清型分型方面具有潜在优势。赵建梅等^[30]研究也证实了,沙门氏菌的 ST 型和血清型存在统计学相关性,对应的优势比值(OD 值) 1.289。上述结果表明了不同地区的禽源沙门氏菌有一定的同源性。

表 3 44 株沙门氏菌 MLST 分型结果

Table 3 MLST analysis of 44 *Salmonella* spp. strains

菌株来源	ST 分型	菌株总数	<i>hisD</i>	<i>hemD</i>	<i>thrA</i>	<i>sucA</i>	<i>aroC</i>	<i>dnaN</i>	<i>purE</i>
内脏	11	3	7	3	11	6	5	2	6
	17	1	11	11	15	11	8	8	5
	19	7	9	12	2	9	10	7	5
	34	2	9	12	2	9	10	19	5
	40	3	20	3	22	22	19	20	5
	155	1	66	58	16	65	10	60	6
	198	3	77	3	67	64	76	14	64
	329	1	12	26	70	78	82	38	115
	469	4	156	79	87	151	92	107	64
生鲜猪肉	19	2	9	12	2	9	10	7	5
	34	1	9	12	2	9	10	19	5
	40	3	20	3	22	22	19	20	5
	155	4	66	58	16	65	10	60	6
	469	3	156	79	87	151	92	107	64
冷冻猪肉 加工肉糜	155	1	66	58	16	65	10	60	6
	13	1	4	7	7	3	3	3	3
	34	1	9	12	2	9	10	19	5
	155	1	66	58	16	65	10	60	6
餐饮自制水饺及馄饨	469	1	156	79	87	151	92	107	64
餐饮自制水饺及馄饨	40	1	20	3	22	22	19	20	5

表 4 44 株沙门氏菌耐药性分析

Table 4 Drug resistance of 44 *Salmonella* spp. strains

抗生素名称	耐药% (n/n)	中间% (n/n)	敏感% (n/n)
四环素	86.36% (38/44)	0.00% (0/44)	13.64% (6/44)
氨苄西林	68.18% (30/44)	0.00% (0/44)	31.82% (14/44)
氯霉素	54.55% (24/44)	2.27% (1/44)	43.18% (19/44)
复方新诺明	52.27% (23/44)	0.00% (0/44)	47.73% (21/44)
茶啶酸	25.00% (11/44)	0.00% (0/44)	75.00% (33/44)
头孢唑林	15.91% (7/44)	38.64% (17/44)	45.45% (20/44)
氨苄西林舒巴坦	13.64% (6/44)	50.00% (22/44)	36.36% (16/44)
环丙沙星	13.64% (6/44)	38.64% (17/44)	47.73% (21/44)
庆大霉素	11.36% (5/44)	2.27% (1/44)	86.36% (38/44)
头孢他啶	9.09% (4/44)	0.00% (0/44)	90.91% (40/44)
头孢噻肟	6.82% (3/44)	2.27% (1/44)	90.91% (40/44)
头孢西丁	2.27% (1/44)	6.82% (3/44)	90.91% (40/44)
亚胺培南	0.00% (0/44)	0.00% (0/44)	100% (44/44)

2.4 耐药性分析

进一步采用 11 种不同的抗生素对 44 株沙门氏菌进行耐药性分析, 结果如表 4 所示。沙门氏菌对不同抗生素的耐药性具有明显差异, 其中共有 38 株沙门氏菌表现对四环素具有耐药性, 耐药率高达

86.36%。其次氨苄西林、氯霉素、复方新诺明的耐药率均超过 50%, 分别为 68.18%、54.55% 和 52.27%。值得注意, 分别有 17 株和 22 株沙门氏菌对头孢唑林和氨苄西林舒巴坦药敏呈现中间程度耐药。所有菌株均表现对头孢他啶、头孢噻肟和头孢西丁的耐药性相对较低, 耐药率在 2.27%~9.09% 之间, 对亚

胺培南均呈现无耐药性。从猪内脏中分离得到的沙门菌株 (No.7) (血清型: 肯塔基沙门氏菌, ST 型: ST198) 对 6 种抗生素 (四环素、氨苄西林、氯霉素、复方新诺明、氨苄西林舒巴坦和头孢唑林) 耐药, 耐药表型与其他菌株存在显著差异, 为典型的多重耐药菌株。沈赟等^[31]对江苏部分地区儿童食源性腹泻分离的沙门氏菌耐药分析表明, 分离的菌株对红霉素几乎全部耐药, 对氨苄西林、氨苄西林舒巴坦和萘啶酸的耐药率已超过 50%; 类似, 侯海燕等^[6]对淮安市 2010~2016 年肉及肉制品分离的 53 株沙门氏菌耐药性分析表明, 多重耐药率高达 64.7%, 对红霉素、氨苄西林、萘啶酸耐药性较高。对比本文研究成果表明, 虽然江苏省不同地区分离的沙门氏菌多重耐药的耐药谱略有区别, 但主要多重耐药的抗生素类型存在相似。

2.5 多重耐药菌株的耐药基因分析

对多重耐药菌株 (No.7 菌株) 进行全基因组测序, 通过生物信息学方法分析, 发现该菌株携带多种类型的抗生素耐药基因, 具体包括 7 大类抗生素及与耐药相关的基因, 其中 β -内酰胺类及合成类 (喹诺酮类) 耐药基因数量较多, 结果如表 5 所示。

沙门氏菌的耐药性除了遗传因素外, 与流通消费等环节的环境因素密切相关。物理因素 (冷链运输)^[4]、化学因素 (消毒熏蒸)^[22]等均可导致沙门氏菌优势菌型及耐药基因的迁移和突变发生变化。申永秀等^[32]研究也进一步证实了多重耐药沙门氏菌的出现和耐药基因的传播是沙门氏菌耐药性发生改变的直接原因, 这不仅受到地域性差异的影响, 也反映出沙门氏菌移动遗传元件间的耐药基因传递。

表 5 多重耐药沙门氏菌耐药基因分析

Table 5 Drug resistance of the multi drug resistance *Salmonella* spp. strain

耐药表型	耐药基因
碳青霉烯	<i>marA</i> , <i>golS</i> , <i>mdsA</i> , <i>mdsB</i> , <i>mdsC</i> , <i>ramA</i>
青霉素	<i>marA</i> , <i>golS</i> , <i>mdsA</i> , <i>mdsB</i> , <i>mdsC</i> , <i>ramA</i>
青霉素	<i>ramA</i> , <i>acrE</i> , <i>ramR</i> , <i>mdsA</i> , <i>mdsB</i> , <i>mdsC</i> , <i>golS</i> , <i>acrB</i> , <i>marR</i> , <i>marA</i> , <i>CRP</i> , <i>sdiA</i> , <i>H-NS</i>
氨基香豆素类抗生素	<i>baeR</i> , <i>mdtC</i> , <i>mdtB</i> , <i>cpxA</i> , <i>gyrB</i>
β -内酰胺类	
头孢菌素	<i>CTX-M-55</i> , <i>ramA</i> , <i>marR</i> , <i>acrE</i> , <i>ramR</i> , <i>mdsC</i> , <i>marA</i> , <i>sdiA</i> , <i>H-NS</i> , <i>acrB</i> , <i>golS</i> , <i>mdsA</i> , <i>mdsB</i>
头霉素	<i>marA</i> , <i>H-NS</i> , <i>golS</i> , <i>mdsA</i> , <i>mdsB</i> , <i>mdsC</i> , <i>acrE</i>
单巴坦	<i>marA</i> , <i>golS</i> , <i>mdsA</i> , <i>mdsB</i> , <i>mdsC</i> , <i>ramA</i>
磺胺类抗生素	<i>folP</i> , <i>sulI</i>
砒类抗生素	<i>folP</i> , <i>sulI</i>
合成类	
氟喹诺酮类抗生素	<i>ramA</i> , <i>gyrB</i> , <i>gyrA</i> , <i>acrE</i> , <i>emrRemrB</i> , <i>ramR</i> , <i>acrB</i> , <i>H-NS</i> , <i>parC</i> , <i>parE</i> , <i>patA</i> , <i>marR</i> , <i>marA</i> , <i>mdtH</i> , <i>CRP</i> , <i>mdtK</i> , <i>sdiA</i>
硝基咪唑抗生素	<i>msbA</i>
氨基糖苷类耐药	
氨基糖苷类抗生素	<i>APH(3')-Ia</i> , <i>aadA17</i> , <i>AAC(3)-Iia</i> , <i>AAC(3)-Id</i> , <i>aadA7</i> , <i>cpxA</i> , <i>baeR</i> , <i>AAC(6')-Iaa</i> , <i>acrD</i> , <i>kdpE</i>
磷霉素	<i>murA</i> , <i>mdtG</i> , <i>UhpT</i> , <i>GlpT</i>
多肽类耐药	
肽类抗生素	<i>bacA</i> , <i>PhoP</i> , <i>YojI</i>
大环内酯类耐药	
大环内酯类抗生素	<i>PhoP</i> , <i>CRP</i> , <i>H-NS</i> , <i>mphA</i> , <i>Mrx</i>
四环素类抗生素	<i>ramA</i> , <i>marR</i> , <i>marA</i> , <i>sdiA</i> , <i>H-NS</i> , <i>acrB</i> , <i>RamA</i>
甘氨酸环素	<i>marA</i> , <i>sdiA</i> , <i>acrB</i> , <i>ramR</i> , <i>marR</i>
其他	
氟苯尼考	<i>marR</i> , <i>marA</i> , <i>sdiA</i> , <i>acrB</i> , <i>golS</i> , <i>mdsA</i> , <i>mdsB</i> , <i>mdsC</i> , <i>ramR</i> , <i>ramA</i>
利福霉素抗生素	<i>marR</i> , <i>marA</i> , <i>sdiA</i> , <i>acrB</i> , <i>ramR</i> , <i>rpoB</i> , <i>ramA</i>
尼博霉素	<i>gyrA</i>
林可霉素类耐药	
林可酰胺抗生素	<i>linG</i>

3 结论

研究对 545 份猪肉源样本进行了沙门氏菌检测分离与分型分析, 共计检出 44 株沙门氏菌, 其中 25 份

内脏样品中检出沙门氏菌, 检出率高达 30.49%。血清型分析表明共计 10 种类型, 以鼠伤寒沙门氏菌 (*S. typhimurium*)、罗森氏沙门氏菌 (*S. rissen*)、德尔卑沙门氏菌 (*S. derby*) 和伦敦沙门氏菌 (*S. london*)

等4种血清型沙门氏菌最为常见。MLST分型表明,ST19型为常见优势沙门氏菌株,占比为20.45%,而生鲜猪肉中ST155型检出相对最高,共计检出4株,检出率为9.09%(4/44)。

此外,药敏性结果表明,44株沙门氏菌对不同抗生素耐药情况具有明显差异性,共计有38株沙门氏菌对四环素具有明显耐药性,占全部检出菌株的86.36%。对头孢他啶、头孢噻肟和头孢西丁的耐药低于10%。此外,本研究中检出的1株多重耐药性沙门氏菌,对应筛查出了7大类抗生素及与耐药相关的基因。综上,本文研究的相关猪源中沙门氏菌污染情况及耐药特征,可以为当地有关部门制定有针对性预防控制措施提供参考,也为保障地区公共卫生健康发展提供基础数据。

参考文献

- [1] 李红秋,郭云昌,宋壮志,等.2019年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J].中国食品卫生杂志,2021,33(6):650-656.
- [2] 王嘉炜,肖英平,杨华,等.鸡肉源沙门氏菌血清型、药敏性及部分耐药基因研究[J].食品科学,2017,38(15):140-146.
- [3] 王骁,赵处敏,康青,等.天津地区鸡源沙门氏菌的基因分型研究[J].食品安全质量检测学报,2022,13(14):4487-4493.
- [4] 闵学良.山东省部分地区集约化肉鸭养殖场沙门氏菌的耐药性分析[D].泰安:山东农业大学,2022:9-10
- [5] 席昭雁,张阿峰,吴荣,等.陕西省食品中沙门氏菌监测研究[J].中华疾病控制杂志,2011,15(8):671-673.
- [6] 侯海燕,刘靓,李兵兵,等.淮南市2010-2016年肉及肉制品中沙门氏菌污染状况及耐药性分析[J].食品安全质量检测学报,2018,9(3):659-663.
- [7] 孙景昱,刘思洁,赵薇,等.2011-2018年吉林省食品中沙门氏菌的污染监测及血清型别分布[J].食品安全质量检测学报,2020,11(24):9377-9382.
- [8] Ibrahim G M, Morin P M. *Salmonella* serotyping using whole genome sequencing [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2993.
- [9] Ksibi B, Ktari S, Othman H, et al. Comparison of conventional molecular and whole-genome sequencing methods for subtyping *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* strains from Tunisia [J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2021, 40(3): 597-606.
- [10] Jin H, Jawale C, Lee J H. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review [J]. *Food Research International*, 2012, 45(2): 819-830.
- [11] 吴春敏,叶素贞,胡凤清,等.2018-2020年福建省南平市沙门氏菌分子分型及耐药性分析[J].疾病监测,2023,38(1):17-22.
- [12] 杨若璇,唐凯伟,朱成林,等.奶牛场沙门氏菌分离株的流行特征及抗性分析[J].现代食品科技,2022,38(10):261-271.
- [13] Rincón-Gamboa S M, Poutou-Piñales R A, Carrascal-Camacho A K. Antimicrobial resistance of *Non-Typhoid Salmonella* in meat and meat products [J]. *Foods*, 2021, 10(8): 1731.
- [14] World Health Organization. Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance in Foodborne Bacteria: Application of a One Health Approach: Guidance from the WHO advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR) [M]. World Health Organization, 2017: 1-76.
- [15] Nghiem M N, Nguyen V T, Jeung E, et al. Alternate antimicrobial resistance genes in multidrug resistant *Salmonella* spp. isolated from retail meats in Vietnam using RNA: Equencing analysis [J]. *Journal of Food Safety*, 2019, 39(12): e12707.
- [16] Cui S, Zheng J, Meng J. An improved method for rapid isolation of *Salmonella* from chicken carcasses [J]. *Journal of Food Safety*, 2006, 26(1): 49-61.
- [17] 张华.食品中沙门氏菌快速检测技术方法对比结果分析[J].现代食品,2022,28(9):170-172.
- [18] GB/T 4789.4-2016,血清凝集法[S].
- [19] Gunel E, Kilic G P, Bulut E, et al. *Salmonella* surveillance on fresh produce in retail in Turkey [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2015, 199: 72-77.
- [20] 陈玲,张菊梅,杨小鹏,等.沙门氏菌分型研究进展[J].微生物学通报,2016,43(3):648-654.
- [21] 林本夫,潘婧淇,梁梦诗,等.广东省广州市猪禽屠宰场环境沙门氏菌血清分型与耐药性分析[J].中国动物检疫,2021,38(4):44-50.
- [22] 郭莉娟.动物性食品源沙门氏菌对抗生素和消毒剂的耐药性研究[D].成都:四川农业大学,2015.
- [23] 卢洁元,赵康,赵巍巍,等.基于沙门氏菌全基因组的耐药基因与耐药质粒筛查[J].武汉轻工大学学报,2020,39(4):20-25.
- [24] 郭辉,王峰,吴美平,等.118份肉制品食源性致病菌监测与分析[J].疾病监测与控制,2022,16(1):15-18.
- [25] Adzitey F, Huda N, Ali G R R. Prevalence and antibiotic resistance of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *L.monocytogenes* in ducks: A review [J]. *Foodborne Pathogens & Disease*, 2012, 9(6): 498-505.
- [26] Cha S Y, Kang M, Yoon R H, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates in Pekin ducks from South Korea [J]. *Comparative Immunology*

- Microbiology & Infectious Diseases, 2013, 36(5): 473-479.
- [27] 阎彦霏,苏秀敏,杨秋萍,等.广东、广西、福建省和上海市零售鸡肉源沙门氏菌的血清型和基因型[J].中国食品学报, 2022,22(6):276-288.
- [28] Zhou Z, Li J, Zheng H, et al. Diversity of salmonella isolates and their distribution in a pig slaughterhouse in Huaian, China [J]. Food Control, 2017, 78: 238-246.
- [29] 刘慧玲,万志刚,洪小柳,等.进出口食品中不同血清型沙门氏菌 PFGE 和 MLST 分型比较研究[J].食品安全质量检测学报,2014,5(11):3454-3461.
- [30] 赵建梅,李月华,张青青,等.2008-2017 年我国部分地区禽源沙门氏菌流行状况及耐药分析[J].中国动物检疫,2019,36(8):27-35.
- [31] 沈贇,秦思,霍翔.2019 年江苏省部分地区儿童腹泻沙门氏菌的感染率及耐药状况研究[J].食品安全质量检测学报, 2020,11(15):5150-5155.
- [32] 申永秀,周丽萍,王艳,等.不同来源沙门氏菌耐药性及相关性研究[J].食品安全质量检测学报,2018,9(7):1513-1517.