

# 江苏省鸡肉产品中弯曲菌耐药特征及 I 型整合子分析

唐梦君, 周倩, 张小燕, 张静, 唐修君, 陆俊贤, 周生, 黄胜海, 杨星星, 高玉时  
(江苏省家禽科学研究所, 江苏扬州 225125)

**摘要:** 为探讨鸡肉产品中弯曲菌的耐药特征, 本研究以 2016~2017 年分离于江苏省市售鸡肉中弯曲菌分离株为研究对象, 采用 K-B 纸片扩散法测定分离株对 9 大类 21 种抗生素的敏感性, 同时应用 PCR 法检测 I 型整合子的整合酶基因、3'-CS 以及可变区耐药基因。研究显示: 弯曲菌分离株对环丙沙星、头孢噻肟、氧氟沙星、卡那霉素、氨苄西林耐药率较高, 分别为 83.16%、80.0%、68.0%、65.0%和 64.2%。47.3% (45/95) 的菌株为 I 型整合酶基因阳性, 10 株分离株具有 3'-CS 端, 其中 5 株分离株为可变区阳性, 其耐药基因盒为 *aadA1*。结论: 鸡肉产品中分离到的弯曲菌多重耐药现象严重, 整合子介导的多重耐药在江苏地区并不是主导的耐药机制, 但其携带的耐药基因可在不同细菌间传递从而通过食物链传递给人类, 应严格监测鸡肉产品中弯曲菌的耐药特征及 I 型整合子的流行情况。

**关键词:** 鸡肉; 弯曲菌; I 型整合子; 耐药

文章编号: 1673-9078(2018)02-117-122

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.2.019

## Antimicrobial Resistance Characteristics and Epidemiology of Class I Integron of *Campylobacter* Isolated from Chicken Meat in Jiangsu Province

TANG Meng-jun, ZHOU Qian, ZHANG Xiao-yan, ZHANG Jing, TANG Xiu-jun, LU Jun-xian, ZHOU Sheng, HUANG Sheng-hai, YANG Xing-xing, GAO Yu-shi  
(Jiangsu Institute of Poultry Science, Yangzhou 225125, China)

**Abstract:** *Campylobacter* isolated from chicken meat in Jiangsu province during 2016-2017 were used as the study subject to investigate the antimicrobial resistance characteristics of *campylobacter* in chicken meat. K-B method was used to examine for antimicrobial susceptibility to 21 antibiotics in 9 categories, the class I integrase gene (*int1*) and 3'-CS region, and the gene cassette of class I integron were amplified by PCR. The results revealed that the resistance of *campylobacter* isolated strains to ciprofloxacin, cefotaxime, loxacin, kanamycin and ampicillin were 83.16%, 80.0%, 68.0%, 65.0% and 64.2%, respectively. *Int1* was detected in 47.3% (45/95) of the *Campylobacter* isolates and 10 stains contained 3'-CS region, of which 5 strains were positive for gene cassette detected by PCR. The sequencing analysis demonstrated that the *addA1* gene cassette encoded resistance to streptomycin was identified. The results suggested that the multiple resistance of the *Campylobacter* isolated from chicken meat were serious. The mechanism of multidrug resistance mediated by integrons might not represent a significant mechanism for the dissemination of antimicrobial resistance determinants in *Campylobacter* in Jiangsu province. However, the drug resistance gene in class I integrons could be transmitted to human through different bacteria via the food-chains. The multiple resistance and prevalence of class I integrons in chicken meat should be concerned strictly.

**Key words:** chicken meat; *Campylobacter*; class I integron; antimicrobial resistance

收稿日期: 2017-10-11

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31700005); 江苏现代农业 (肉鸡) 产业技术体系质量控制创新团队 (SXGC[2017]256); 江苏省农业科技自主创新资金 (GX(16)1006、1008); 扬州市家禽质量安全科技服务平台建设 (yz2015162)

作者简介: 唐梦君 (1980-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 食源性病原菌耐药性

通讯作者: 高玉时 (1967-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 家禽产品质量安全控制及禽类产品风险评估

弯曲菌 (*Campylobacter*) 是全球范围内主要的人兽共患、细菌性肠道病原菌, 导致人致病的弯曲菌中 85% 以上是空肠弯曲菌 (*Campylobacter jejuni*, *C. jejuni*), 其次是结肠弯曲菌 (*Campylobacter coli*, *C. coli*)<sup>[1,2]</sup>, 主要引起人的胃肠炎, 临床症状从水样腹泻到血便, 同时伴有头疼、腹痛、发热, 偶有呕吐<sup>[3,4]</sup>。据美国国家食品网监测, 弯曲菌引起的人类肠道感染仅次于沙门氏菌, 每年都有大量的发病率和死亡病例<sup>[5,6]</sup>。

由于弯曲菌能够在家禽肠道内大量定植, 家禽感染后不表现出任何临床症状, 但可持续向外界排菌且终生带菌<sup>[7]</sup>。在屠宰加工的过程中如果肠道破裂, 很容易污染屠宰场地、设施和水, 从而污染禽肉产品<sup>[8,9]</sup>。世界流行疾病研究指出弯曲菌主要由食品传染, 禽肉产品是主要的传染源<sup>[10]</sup>。

近年来, 抗生素在食品源动物生产上的不合理使用, 导致弯曲菌的耐药性逐步增强, 耐药谱逐渐加宽。整合子作为介导细菌耐药性播撒的可转移遗传元件之一, 能够捕获外源耐药基因并将其水平传播, 从而使耐药现象更加严重<sup>[11,12]</sup>。整合子结构主要包括 5' 保守区 (5'-conserved segment, 5'-CS)、3' 保守区 (3'-conserved segment, 3'-CS) 以及中间的可变区 (variable region, VR)。国内外学者研究表明, 在革兰氏阴性菌中整合子的存在与多重耐药有密切的关系, 弯曲菌也有报道检测出 I 型整合子<sup>[13]</sup>。由于食品源耐药菌和耐药基因可以通过食物链传播给人类, 因此, 给人类健康和食品安全构成潜在威胁。

本研究以江苏省鸡肉产品中分离的 95 株弯曲菌

为研究对象, 对其耐药表型、I 型整合酶基因 (*int1*)、3'-CS 及携带的基因盒进行检测, 以便更好地了解弯曲菌耐药性的产生和传播途径, 为控制耐药性细菌的产生和传播提供科学参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株

2016 年 6 月~2017 年 4 月, 从江苏省扬州、徐州、宿迁和盐城等各市县的农贸市场和超市采取鸡肉样共 270 份, 分离鉴定出空肠弯曲菌 (*C. jejuni*) 70 株, 结肠弯曲菌 (*C. coli*) 25 株, 其弯曲菌分离鉴定方法见文献<sup>[14,15]</sup>。空肠弯曲菌标准菌株 (NCTC11168)、结肠弯曲菌标准菌株 (ATCC33559) 由本室保存, 大肠埃希氏菌 ATCC25922 由扬州大学兽医学院惠赠。

#### 1.1.2 培养基与试剂

培养基: Cary-Blair 运送培养基、CCDA 培养基、MH 培养基、BHI 培养基均购自于英国 OXOID 公司; 弯曲菌分离用抗生素三甲氧苄氨嘧啶、头孢哌酮、多粘菌素 B、两性霉素 B、利福平和放线菌酮等购自 WAKO 公司; 脱纤维绵羊血购买于青岛海博生物技术有限公司; 厌氧罐购自日本 MGC 公司; 混合气 (5%O<sub>2</sub>、10%CO<sub>2</sub> 和 85%N<sub>2</sub>) 购于南京特种气体厂有限公司; 试剂: Ex Taq premix、DL2000 Marker 均购自大连宝生物; 细菌 DNA 提取试剂盒购自上海生工; 其它均为试验常规试剂。

表 1 PCR 检测 I 类整合子所用引物

Table 1 Primers for amplification of class I integron detected by PCR

目的基因	引物序列 (5'-3')	扩增产物/bp	退火温度/°C
<i>int1</i>	F: ATCATCGTCGTAGAGACGTCGG	892	55
	R: GTCAAGGTTCTGGACCAGTTGC		
3'-CS	F: CATCCCTGTCGGTGTGCTT	642	60
	R: GAAGAACCGCACAAATCTCGTC		
可变区	F: CCGAACGCAGCGGTGGTAAC R: TGCGGATGTTGCGATTACTTC	unknown	59

#### 1.1.3 药敏纸片

共选择 9 大类抗生素中的 21 种常规药敏纸片, 包括  $\beta$ -内酰胺类的氨苄西林 (Ampicillin, AMP, 10  $\mu$ g)、阿莫西林 (Amoxicillin, AML, 10  $\mu$ g)、第三代头孢中的头孢噻肟 (Cefotaxime, CTX, 30  $\mu$ g); 碳青霉烯类亚胺培南 (Imipenem, IPM, 10  $\mu$ g) 和美罗培南 (Meropenem, MEM, 10  $\mu$ g); 氨基糖苷类有链霉素 (Streptomycin, S, 10  $\mu$ g)、庆大霉素 (Gentamicin,

CN, 10  $\mu$ g)、阿米卡星 (Amikacin, AK, 30  $\mu$ g)、妥布霉素 (Tobramycin, TOB, 10  $\mu$ g) 和卡那霉素 (Kanamycin, K, 30  $\mu$ g); 喹诺酮类有萘啶酸 (Nalidixic acid, N, 30  $\mu$ g)、环丙沙星 (Ciprofloxacin, CIP, 5  $\mu$ g)、氧氟沙星 (Ofloxacin, LEV, 5  $\mu$ g) 和恩诺沙星 (Enrofloxacin, ENR, 5  $\mu$ g); 大环内酯类有红霉素 (Erythromycin, E, 15  $\mu$ g) 和阿奇霉素 (Azithromycin, AZM, 15  $\mu$ g); 四环素类有四环素 (Tetracycline, TE,

30 μg); 洁霉素类有克林霉素(Clindamycin, DA, 2 μg); 酰胺醇类有氟苯尼考(Florfenicol, FF, 30 μg)和氯霉素(Chloramphenicol, C, 30 μg); 多磷类有磷霉素(Fosfomycin, FOS, 10 μg), 以上药敏纸片均购买于英国 OXOID 公司。

#### 1.1.4 PCR 扩增引物

I 型整合酶基因 (*int1*)、3'-CS 以及可变区扩增引物, 根据 GenBank 上登录的基因序列(KC493654), 利用 Primer Premier 5.0 软件自行设计。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成(表 1)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 弯曲菌耐药性表型检测

采用 WHO 推荐使用的 Kirby-Bauer 法(纸片琼脂扩散法)检测 95 株分离株对 21 种抗生素的敏感性。其操作步骤如下: 用无菌棉签从 MH 平板上刮取纯化培养的细菌至 500 μL PBS 缓冲液中, 将菌液稀释至 0.5 麦氏浊度, 取 100 μL 稀释后的菌液均匀涂布于 MH 平板, 用无菌镊子贴上药敏纸片, 于 42 °C 微需氧培养 36~48 h 后取出, 用直尺测定抑菌圈直径(mm), 结果判定参照美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, 2015)的标准, 以抑菌圈直径大小判断耐药(resistant)、中敏(intermediate)和敏感(susceptible)。数据采用 Excel 2015 整理分析。

### 1.2.2 细菌 DNA 模板的制备

将 MH 血平板纯化培养的细菌用无菌棉签刮下洗入 PBS 缓冲溶液, 离心后去除上层液体, 采用试剂盒提取基因组 DNA。

### 1.2.3 I 型整合酶基因 (*int1*) 及 3'-CS 的检测

采用 25 μL PCR 反应体系: Ex Taq premix 12.5 μL, 上下游引物(10 μM/L)各 1 μL, 无菌去离子水 9.5 μL, 模板 DNA 1 μL。

PCR 反应条件为: 95 °C 预变性 1 min; 95 °C 变性 30 s, 根据不同引物选择相应的退火温度, 72 °C 延伸 1 min, 共 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳成像。选取 PCR 阳性样品送上海生工生物工程技术有限公司进行序列测定, 测序结果在 NCBI 上进行 BLAST 分析。

### 1.2.4 I 型整合子可变区的检测

采用 50 μL PCR 反应体系: SpeedSTAR HS DNA Polymerase (5 units/μL) 0.25 μL, 上下游引物(10 μM/L)各 2 μL, 10×Fast Buffer I 或 II 5 μL, 模板 DNA

2 μL, 无菌去离子水 38.75 μL。PCR 循环参数: 95 °C 预变性 1 min; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳成像。对 PCR 扩增阳性片段参照 TakaRa MiniBEST DNA Fragment Purification Kit Ver.4.0 进行纯化, 将纯化产物 3 μL、pMD20-T 载体 1 μL、连接 Buffer 5 μL、T4 DNA Ligase 1 μL, 混匀后于 16 °C 反应过夜; 将连接产物转化 DH5α 感受态细胞, 上海生工生物工程技术有限公司进行序列测定, 测序结果在 GenBank 数据库中采用 BLAST 软件进行同源性分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 95 株弯曲杆菌分离株耐药表型测定结果

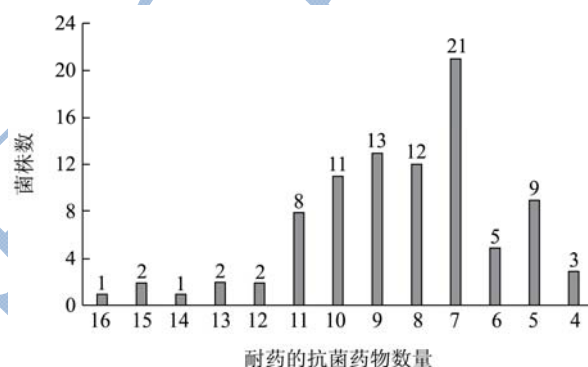


图 1 弯曲菌分离株对 21 种抗生素的多重耐药谱

Fig.1 Multi-drug resistance profiles of *Campylobacter* isolates to 21 antimicrobial agents

药敏试验结果显示, 从鸡肉产品中分离的弯曲菌普遍对环丙沙星、头孢噻肟、氧氟沙星、卡那霉素、氨苄西林、四环素、萘啶酸、阿莫西林、恩诺沙星、链霉素、妥普霉素和克林霉素等有一定的耐药性(表 2), 特别是对环丙沙星、头孢噻肟、卡那霉素、氨苄西林和氧氟沙星的耐药率达到 60% 以上, 但对磷霉素、氯霉素、美罗培南敏感。

其中, 空肠弯曲菌对环丙沙星、氧氟沙星、头孢噻肟、氨苄西林高度耐药, 其耐药率达到 70% 以上。而结肠弯曲菌对头孢噻肟、卡那霉素、链霉素、环丙沙星、妥布霉素高度耐药, 其耐药率达 70% 以上。91 株弯曲菌分离株至少耐 4 种以上抗生素, 95.78% 的分离株为多重耐药菌株(耐 3 种以上抗生素), 最严重可耐 16 种抗生素, 大部分菌株耐 7~11 种抗生素(见图 1), 分离菌株表现出耐药谱型的多样性, 相同耐药谱型较少。

表2 弯曲菌分离株对抗生素的耐药性

Table 2 Results of antimicrobial resistance testing of *Campylobacter* isolated from chicken meat

抗生素种类	空肠弯曲杆菌 ( <i>C. jejuni</i> ) /%			结肠弯曲杆菌 ( <i>C. coli</i> ) /%		
	R	I	S	R	I	S
<b>β-内酰胺类</b>						
氨苄西林 (AMP)	70.00 (58/70)	11.43 (8/70)	18.57 (13/70)	44.00 (11/25)	20.00 (5/25)	36.00 (9/25)
阿莫西林 (AML)	61.43 (43/70)	10.00(7/70)	28.57 (20/70)	40.00 (10/25)	20.00 (5/25)	40.00 (10/25)
头孢噻肟 (CTX)	78.57 (55/70)	12.86 (9/70)	8.57 (6/70)	84.00 (21/25)	16.00 (4/25)	0.00 (0/25)
<b>碳青霉烯类</b>						
亚胺培南 (IPM)	15.71(11/70)	1.43 (1/70)	82.86 (58/70)	12.00 (3/25)	4.00 (1/25)	84.00 (21/25)
美罗培南(MEM)	4.29 (3/70)	4.29 (3/70)	91.43 (64/70)	0.00 (0/25)	8.00 (2/25)	92.00 (23/25)
<b>氨基糖苷类</b>						
链霉素(S)	30.00 (21/70)	2.86 (2/70)	67.14 (47/70)	84.00 (21/25)	4.00 (1/25)	12.00 (3/25)
庆大霉素(CN)	12.86 (9/70)	1.43 (1/70)	85.71 (60/70)	68.00 (17/25)	0.00 (0/25)	32.00 (8/25)
卡那霉素 (K)	57.14 (40/70)	4.29 (3/70)	38.57 (27/70)	88.00 (22/25)	4.00 (1/25)	8.00 (2/25)
阿米卡星(AK)	8.57 (6/70)	2.86 (2/70)	88.57 (62/70)	40.00 (10/25)	20.00 (5/25)	30.00 (10/25)
妥布霉素(TOB)	24.29 (17/70)	0 (0/70)	75.71 (53/70)	76.00 (19/25)	0.00 (0/25)	24.00 (6/25)
<b>喹诺酮类</b>						
环丙沙星(CIP)	82.86 (58/70)	7.14 (5/70)	10.00 (7/70)	84.00 (21/25)	8.00 (2/25)	8.00 (2/25)
氧氟沙星(LEV)	77.14 (54/70)	4.29 (3/70)	18.57 (13/70)	44.00 (11/25)	36.00 (9/25)	20.00 (5/25)
萘啶酸(NA)	57.78 (40/70)	8.89(6/70)	33.33(24/70)	59.09 (15/25)	27.27 (7/25)	13.64 (3/25)
恩诺沙星(ENR)	64.29 (45/70)	7.14 (5/70)	28.57 (20/70)	36.00 (9/25)	28.00 (7/25)	36.00 (9/25)
<b>大环内酯类</b>						
红霉素 (E)	20.00 (14/70)	5.71 (4/70)	74.29 (52/70)	24.00 (6/25)	8.00 (2/25)	68.00 (17/25)
阿奇霉素(AZM)	14.29 (10/70)	11.43 (8/70)	74.29 (52/70)	28.00 (7/25)	16.00 (4/25)	56.00 (14/25)
<b>四环素类</b>						
四环素(TE)	62.86 (44/70)	11.43 (8/70)	25.71 (18/70)	68.00 (17/25)	20.00 (5/25)	12.00 (3/25)
<b>洁霉素类</b>						
克林霉素(DA)	28.57 (20/70)	38.57 (27/70)	32.86 (23/70)	52.00 (13/25)	16.00 (4/25)	32.00 (8/25)
<b>酰胺醇类</b>						
氯霉素(C)	7.14 (5/70)	5.71 (4/70)	87.14 (61/70)	16.00 (4/25)	20.00 (5/25)	64.00 (16/25)
氟苯尼考 (FF)	12.24 (8/70)	2.04(2/70)	85.71 (60/70)	9.09 (3/25)	4.55 (1/25)	86.36 (21/25)
<b>多磷类</b>						
磷霉素(FOS)	1.43 (1/70)	10.00 (7/70)	88.57 (62/70)	0.00 (0/25)	8.00 (1/25)	92.00 (24/25)

注: R 为 Resistant (抗性); I 为 Intermediate (中敏); S 为 Susceptible (敏感)。

## 2.2 I 型整合子检测

### 2.2.1 I 型整合酶基因 (*int1*) 及 3'端的检测结果

对 95 株弯曲菌进行 PCR 扩增 I 型整合酶基因 (*int1*), 检测到预期条带大小为 892 bp (见图 2)。将 PCR 阳性产物进行测序比对, 与 GenBank 中收录的参考序列相同 (核酸序列一致性为 100%), 测序结果鉴定为 I 型整合酶基因, 共有 45 株弯曲菌含有 I 型整合酶基因, 其检出率为 47.0%, 其中含有 I 型整合酶基

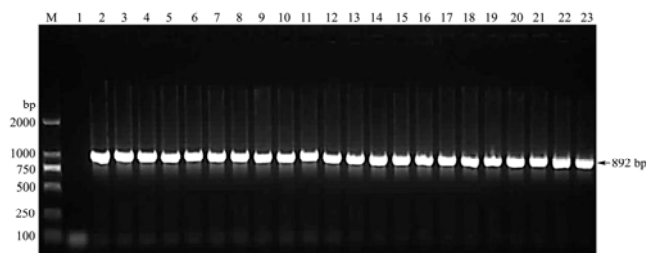


图2 部分菌株 I 型整合酶基因 PCR 产物电泳结果

Fig.2 PCR amplification electrophoresis of class I integrase gene in *Campylobacter* isolates

注: M 表示 DL2000 Marker; 1 表示阴性对照; 2~23 表示部分分离株的 PCR 结果。

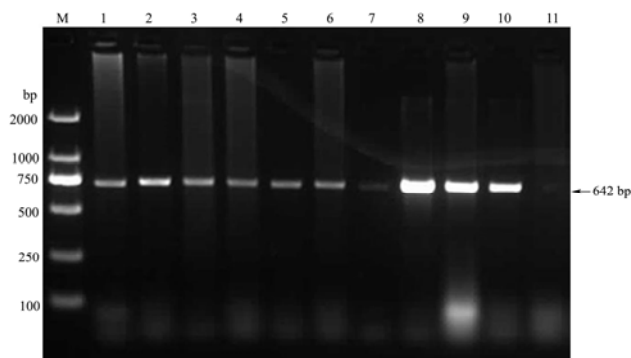


图3 弯曲菌分离株 I 型整合子 3'-CS 端 PCR 扩增结果

Fig.3 PCR amplification of class I integron 3'-CS region in *Campylobacter* isolates

注: M 表示 DL2000 Marker; 1~10 表示 10 株弯曲杆菌分离株 PCR 扩增结果; 11 表示阴性对照。

因的空肠弯曲杆菌有 37 株, 结肠弯曲杆菌有 8 株。对 95 株弯曲菌进行 PCR 扩增 3'-CS 端, 其中有 10 株弯曲菌检测出了预期条带, 大小为 642 bp, 测序结果鉴定为目的片段 (见图 3)。

### 2.2.2 I 型整合子可变区的检测结果

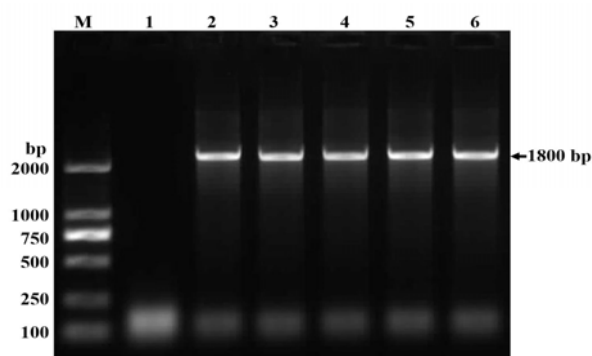


图4 弯曲菌分离株 I 型整合子可变区扩增结果

Fig.4 PCR amplification of class I integron gene cassette in *Campylobacter* isolates

注: M 表示 DL2000 Marker; 1 表示阴性对照; 2~6 表示 5 株弯曲杆菌分离株可变区 PCR 扩增结果。

进一步对同时具有 I 型整合酶基因和 3'-CS 端的 10 株弯曲菌进行可变区基因盒扩增, 共有 5 株为基因盒阳性菌株, 电泳结果见图 4, 基因盒大小约为 1800 bp, 与 GenBank 中 GQ214171.1 序列的核酸序列一致性为 99%, 为链霉素耐药的基因盒 *aadA1*, 该 5 株菌药敏结果显示对链霉素均具有耐药性。

弯曲菌是一种人畜共患病原菌, 可引起动物和人类发生多种疾病。常见症状为腹泻性肠炎, 通常为自限性无需抗生素治疗。但对于病情严重、自身免疫力低下等情况, 喹诺酮类和大环内酯类常被作为临床治

疗用药<sup>[16,17]</sup>, 氨基糖苷类及四环素类也可用做弯曲菌病的替代药物。而在畜禽的生产过程中, 抗生素的广泛应用促使了耐药菌的产生, 这些耐药菌通过食物链传递给人类可导致治疗失败。

本研究中弯曲菌的多重耐药率为 95.78%, 表明在江苏地区鸡源弯曲菌的多重耐药已经相当普遍。在受测试的抗菌药物中, 分离株对环丙沙星具有较高的耐药率 (83.16%), 其原因在于环丙沙星常用于预防和治疗家禽腹泻有关的疾病, 导致了耐环丙沙星弯曲菌的产生。研究显示不同国家弯曲菌对环丙沙星的耐药水平并不相同 (8%~97.9%)<sup>[18,19]</sup>, 发展中国家较为严重, 而发达国家的耐药率则较低。

在加拿大, Claudia Narvaez-Bravo 等<sup>[20]</sup>对从鸡肉产品中分离的弯曲菌进行耐药性检测, 其弯曲菌对环丙沙星的耐药率为 5.5%。韩国 Lim SK 等<sup>[21]</sup>对从鸡胴体中分离的弯曲菌进行耐药性检测, 弯曲菌对环丙沙星、萘啶酸都具有较高的耐药水平。在本研究中, 弯曲菌对氟苯尼考和磷霉素的耐药率分别为 0.08% 和 0.011%, 具有很高的敏感性, 与国内外研究报道弯曲菌对氟苯尼考耐药率普遍较低的结果一致<sup>[22,18]</sup>。Aguilar-Company J 研究报道磷霉素可以有效治疗耐大环内脂类和氟喹诺酮类弯曲菌引起的肠道疾病<sup>[23]</sup>。

细菌耐药基因的水平传播 (Horizontal gene transfer, HGT) 使得耐药基因在同种甚至不同菌株间水平转移, 加速了多重耐药菌株的产生。整合子能捕获和整合细菌的耐药基因, 是细菌多重耐药性形成和广泛传播的重要机制。近年来, 国内外学者在多种耐药细菌中均发现了整合子的存在<sup>[22,24,25]</sup>, 包括弯曲菌。弯曲菌中 I 型整合子的检出率因地区差异而不同, O'Halloran F 等在爱尔兰分离到的弯曲菌中, 具有完整整合子结构的菌株检出率为 16.4% (62/378)<sup>[13]</sup>, 而 Alessandra Piccirillo 等从意大利家禽分离的弯曲菌中未检出 I 型和 II 型整合子<sup>[26]</sup>。I 型整合子中把 *int1* 阳性、可变区阳性及 3'-CS 阳性的称之为典型 I 型整合子, 只有 *int1* 阳性的称之为非典型 I 类整合子。本研究对 95 株弯曲菌进行 I 型整合子的 PCR 检测, 典型 I 型整合子检测出 10 株, 非典型 I 型整合子 35 株。对典型 I 型整合子的可变区进行基因扩增, 有 5 株分离株扩增出大小相同的条带, 测序鉴定为对氨基糖苷类耐药的基因盒 *aadA1*, 该基因盒也存在于大肠杆菌、沙门氏菌等细菌的整合子中<sup>[27,28]</sup>, 说明该基因盒可以在不同细菌间传播, 有可能通过食品源动物传递给人类, 造成耐药性增加。

### 3 结论

本试验显示分离株呈现多重耐药性, 耐药谱宽, 而检出的耐药基因盒比较单一只有氨基糖苷类耐药基因盒, 说明在江苏地区 I 型整合子存在于鸡肉产品弯曲菌中, 但并不是弯曲菌产生多重耐药的主要因素, 很有可能存在其他途径造成耐药, 如携带耐药基因的质粒、转座子以及基因岛等。

### 参考文献

- [1] Gillespie I A, O'Brien S J, Frost J A, et al. A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: a tool for generating hypotheses [J]. Emerg. Infect. Dis., 2002, 8(9): 937-942
- [2] Scallan E, Hoekstra R M, Angulo F J, et al. Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens [J]. Emerg. Infect. Dis., 2011, 17(1): 7-15
- [3] Snelling W J, Matsuda M, Moore J E, et al. *Campylobacter jejuni* [J]. Lett. Appl. Microbiol., 2005, 41(4): 297-302
- [4] Black R E, Levine M M, Clements M L, et al. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans [J]. J Infect. Dis., 1988, 157(3): 472-479
- [5] CDC. Foodborne disease active surveillance network (FoodNet): foodnet surveillance report for 2014 (Final Report) . U.S. Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, Georgia. 2016
- [6] Nyachuba D G. Foodborne illness: is it on the rise? [J]. Nutr. Rev., 2010, 68: 257-269
- [7] Lin J. Novel approaches for *Campylobacter* control in poultry [J]. Foodborne Pathog. Dis., 2009, 6(7): 755-765
- [8] Gripp E, Hlahla D, Didelot X, et al. Closely related *Campylobacter jejuni* strains from different sources reveal a generalist rather than a specialist lifestyle [J]. BMC Genomics, 2011, 12: 584
- [9] Rasschaert G, Houf K, Van Hende J, et al. *Campylobacter* contamination during poultry slaughter in Belgium [J]. J Food Prot, 2006, 69(1): 27-33
- [10] Hermans D, Pasmans F, Messens W, et al. Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni* [J]. Vector Borne Zoonotic Dis, 2012, 12(2): 89-98
- [11] Chen B, Liang X, Nie X, et al. The role of class I integrons in the dissemination of sulfonamide resistance genes in the Pearl River and Pearl River Estuary, South China [J]. J Hazard Mater, 2015, 282(5): 61-67
- [12] Rao S, Maddox C W, Hoiem-Dalen P, et al. Diagnostic accuracy of class I integron PCR method in detection of antibiotic resistance in *Salmonella* isolates from swine production systems [J]. J Clin. Microbiol., 2008, 46(3): 916-920
- [13] O'Halloran F, Lucey B, Cryan B, et al. Molecular characterization of class 1 integrons from *Irish thermophilic Campylobacter* spp [J]. J Antimicrob Chemother, 2004, 53(6): 952-957
- [14] 周倩,唐梦君,张小燕,等.江苏省禽源空肠弯曲杆菌的分离鉴定及耐药性研究[J].中国人兽共患病学报,2017, 33(6):495-500  
ZHOU Qian, TANG Meng-jun, ZHANG Xiao-yan, et al. Isolation, identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter Jejuni* isolates from poultry in jiangsu province [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2017, 33(6): 495-500
- [15] 唐梦君,周倩,张小燕,等.鸡源结肠弯曲菌耐药性分析[J].动物医学进展,2017,38(9):18-22  
TANG Meng-jun, ZHOU Qian, ZHANG Xiao-yan, et al. Antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* isolated from chickens [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2017, 38(9): 18-22
- [16] Allos B M. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends [J]. Clin Infect Dis, 2001, 32: 1201-1206
- [17] Engberg J, Aarestrup F M, Taylor D E, et al. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C.coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates [J]. Emerg. Infect. Dis., 2001, 7: 24-34
- [18] Kos V N, Keelan M, Taylor D E, et al. Antimicrobial susceptibilities of *campylobacter jejuni* isolates from poultry from Alberta, Canada [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(2): 778-780
- [19] Sierra-Arguello Y M, Perdoncini G, Morgan R B, et al. Fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* isolated from broiler slaughterhouse in southern Brazil [J]. Avian Pathol, 2016, 45: 66-72
- [20] Claudia N B, Eduardo N T, Steven K, et al. Epidemiology of antimicrobial resistant *Campylobacter spp.* isolated from retail meats in Canada [J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 253: 43-47
- [21] Lim S K, Moon D C, Chae M H, et al. Macrolide resistance mechanisms and virulence factors in erythromycin-resistant *Campylobacter* species isolated from chicken and swine feces and carcasses [J]. J Vet. Med. Sci., 2017, 78(12): 1791-1795
- [22] 胡欣洁,韩新锋,朱冬梅,等.肉鸡源多重耐药空肠、结肠弯曲

- 菌的耐药分子特征[J]. 中国人兽共患病学报, 2015, 31(8): 694-699
- HU Xin-jie, HAN Xin-feng, ZHU Dong-mei, et al. Molecular characteristics of multidrug resistant *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from broilers [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2015, 31(8): 694-699
- [23] Auilar-Company J, Los-Arcos I, Pigrau C, et al. Potential use of fosfomycin-tromethamine for treatment of recurrent campylobacter species enteritis [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(7): 4398-4400
- [24] Meng X, Zhang Z, Wang Y, et al. Antibiotic susceptibility and molecular screening of class I integron in *Salmonella* isolated recovered from retail raw chicken carcasses in china [J]. Microb. Drug Resist., 2017, 23(2): 230-235
- [25] Oliveira-Pinto C, Diamantiano C, Oliveria P L, et al. Occurrence and characterization of class 1 integrons in *Escherichia coli* from healthy individuals and those with urinary infection [J]. J Med. Microbiol., 2017, 66(5): 577-583
- [26] Alessandra Piccirillo, Giorgia Dotto, Cristiano Salata, et al. Absence of class I and class II integrons among *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from poultry in Italy [J]. J Antimicrob Chemother, 2013, 68(11): 2683-2685
- [27] Kheiri R, Akhtari L. Antimicrobial resistance and integron gene cassette arrays in commensal *Escherichia coli* from human and animal sources in IRI [J]. Gut Pathog, 2016, 8(1): 40-44
- [28] Canal N, Meneghetti K L, De Almeida C P, et al. Characterization of the variable region in the class 1 integron of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from surface water [J]. Braz. J Microbiol., 2016, 47(2): 337-344