

研究报告

江苏省部分地区畜禽源弯曲菌耐药基因、毒力基因及遗传多样性分析

唐梦君, 周倩, 张小燕, 唐修君, 陆俊贤, 陈薇, 高玉时*

江苏省家禽科学研究所, 江苏 扬州 225125

唐梦君, 周倩, 张小燕, 唐修君, 陆俊贤, 陈薇, 高玉时. 江苏省部分地区畜禽源弯曲菌耐药基因、毒力基因及遗传多样性分析[J]. 微生物学通报, 2025, 52(4): 1710-1723.

TANG Mengjun, ZHOU Qian, ZHANG Xiaoyan, TANG Xiujun, LU Junxian, CHEN Wei, GAO Yushi. Antimicrobial resistance genes, virulence genes, and genetic diversity of *Campylobacter* isolated from chicken and swine farms in Jiangsu Province[J]. Microbiology China, 2025, 52(4): 1710-1723.

摘要:【背景】弯曲菌(*Campylobacter*)是引起食源性疾病的主要病原菌之一, 家禽和猪是其常见和重要宿主, 畜禽在屠宰加工过程中易污染胴体导致人类感染, 对食品安全和公共健康造成巨大威胁。【目的】通过应用全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)分析 52 株畜禽来源弯曲菌的耐药基因、毒力基因及遗传多样性。【方法】采用琼脂稀释法对其最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)进行测定, 通过二代测序平台进行全基因组测序, 应用基因组流行病学数据平台 ResFinder 数据库分析其耐药基因, 通过毒力因子数据库(virulence factor database, VFDB)筛选毒力基因, 应用 PubMLST 数据库分析菌株序列型(sequence type, ST)和克隆复合体(clonal complex, CC)。【结果】52 株弯曲菌对环丙沙星、四环素、茶啶酸耐药明显, 对氟苯尼考敏感, 多重耐药率为 57.69%。WGS 分析发现 52 株弯曲菌共有 6 大类 16 种获得性耐药基因及与喹诺酮类耐药相关的 *gyrA* 基因点突变和与大环内酯类耐药相关的 23S rRNA 点突变。除检出常见的氨基糖苷类、 β -内酰胺类、四环素类(*tetO*)耐药基因外, 还发现 *ermB*、*ermA*、*fexA*、*optrA*、*tetL* 和 *lnuC* 等在弯曲菌新流行的耐药基因; 52 株弯曲菌携带 120 种毒力相关基因, 其中细菌黏附、荚膜合成、侵袭、鞭毛及趋化蛋白等相关基因携带率较高, 空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)携带毒力基因的数量普遍多于结肠弯曲菌(*Campylobacter coli*); 多位点序列分析(multilocus sequencing typing, MLST)结果显示共得到 28 个 ST 型和 14 个 CCs (包括 4 个已知的 CCs 和 10 个未知 CCs, 以 CC-828 克隆复合体为主), 分离株之间具有较高的遗传多样性。【结论】江苏畜禽源弯曲菌多重耐药现象严重, 耐药基因复杂多样, 毒力基因分布广泛, 以克隆复合体 CC-828 为主, 具有较高的遗传多样性。该研究结

资助项目: 国家自然科学基金(31700005); 江苏现代农业产业技术体系建设专项资金(JATS[2023]363)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31700005) and the Earmarked Fund for Jiangsu Agricultural Industry Technology System (JATS[2023]363).

*Corresponding author. E-mail: gaoy100@sina.com

Received: 2024-07-14; Accepted: 2024-08-20; Published online: 2024-09-14

果为我国动物源性弯曲菌耐药性监测提供了基础数据。

关键词：弯曲菌；全基因组测序；多重耐药；耐药基因；毒力基因

Antimicrobial resistance genes, virulence genes, and genetic diversity of *Campylobacter* isolated from chicken and swine farms in Jiangsu Province

TANG Mengjun, ZHOU Qian, ZHANG Xiaoyan, TANG Xiujun, LU Junxian, CHEN Wei, GAO Yushi*

Jiangsu Institute of Poultry Science, Yangzhou 225125, Jiangsu, China

Abstract: [Background] *Campylobacter* spp. are a genus of the main pathogens causing foodborne diseases. They colonize the caeca of broilers and swine and can contaminate carcasses after slaughter during the processing, posing a risk of exposure to consumers and a serious threat to food safety and public health. [Objective] To investigate the antimicrobial resistance genes, virulence genes, and genetic diversity of 52 *Campylobacter* strains isolated from chicken and swine farms in Jiangsu Province by whole genome sequencing (WGS). [Methods] The agar dilution method was used to determine the minimal inhibitory concentrations (MICs) of *Campylobacter* isolates against eight antimicrobial agents. WGS was performed for the 52 *Campylobacter* strains. ResFinder of the Center for Genomic Epidemiology (CGE) was used to analyze the antimicrobial resistance genes. Virulence genes were identified from the core sequences downloaded from the virulence factor database (VFDB). Sequence type (ST) was determined in silico from the WGS data and isolates were assigned into clonal complex (CC) in PubMLST. [Results] Fifty-two *Campylobacter* strains were significantly resistant to ciprofloxacin, tetracycline, and nalidixic acid and sensitive to florfenicol, with the multidrug resistance rate of 57.69%. Sixteen acquired resistance genes belonging to six major categories were detected among with *gyrA* mutation associated with quinolones resistance and 23S rRNA gene mutation associated with macrolides resistance. In addition to the previously reported resistance genes to aminoglycosides, β -lactams, and tetracyclines (*tetO*), several new antimicrobial resistance genes emerging in *Campylobacter* in recent years were detected in this study, including *ermB*, *ermA*, *fexA*, *optrA*, *tetL*, and *lnuC*. A total of 120 virulence genes were detected in 52 strains of *Campylobacter*, among which the genes involved in adhesion, capsule synthesis, invasion, flagella, and chemotactic proteins had higher carrying rates. *Campylobacter jejuni* exhibited higher abundance of virulence genes than *C. coli*. MLST assigned 28 STs and 14 CCs (including 4 known CCs and 10 unknown CCs, among which CC-828 was the main one), indicating high genetic diversity among the isolates. [Conclusion] The *Campylobacter* isolated from chicken and swine farms in Jiangsu Province presented severe multidrug resistance. The resistance and virulence genes were complex, diverse, and widely distributed in *Campylobacter* strains. CC-828 was the main clonal complex,

and the *Campylobacter* strains exhibited high genetic diversity. The results provide basic data for the monitoring of antimicrobial resistance of animal-derived *Campylobacter* in China.

Keywords: *Campylobacter*; whole-genome sequencing; multidrug resistance; antimicrobial resistance gene; virulence gene

弯曲菌(*Campylobacter*)是发达和发展中国家最常引起细菌性腹泻的病原菌之一,自2005年以来,在欧盟,弯曲菌感染引起的细菌性腹泻已超过沙门氏菌(*Salmonella*),并引起世界广泛关注^[1]。弯曲菌属包括31个种、10个亚种,感染主要由空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)和结肠弯曲菌(*Campylobacter coli*)引起^[2],人类感染弯曲菌主要是散发性和自限性的,但也可引起严重疾病,如人类急性肠炎、食物中毒和神经系统疾病格林-巴利综合征(Guillain-Barre syndrome, GBS)等,喹诺酮类、大环内酯类和四环素类是其治疗的首选药物^[3]。随着时间的推移,抗生素的大量使用,弯曲菌对抗生素的耐药性不断增加^[4-5],对公共卫生造成了不利影响。鉴于弯曲菌对喹诺酮类严峻的耐药形势^[6],世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将该菌列入最具耐药性、最能威胁人类健康的“超级细菌”列表^[7]。

弯曲菌主要通过运动、黏附、定殖、侵袭、产毒素等对宿主造成致病性,是多个毒力基因共同作用的结果^[8]。弯曲菌通过鞭毛运动及趋化性运动定殖到肠道上皮细胞,通过细胞致死性膨胀毒素(cytolethal distending toxin, CDT)等毒素诱导细胞周期停滞,增强了细菌的致病性^[9]。研究发现弯曲菌的毒力与荚膜多糖(capsular polysaccharide, CPS)、脂寡糖(lipooligosaccharide, LOS)合成区域密切相关^[10-11]。弯曲菌致病基因复杂多样,复杂的毒力因子组合凸显了弯曲杆菌致病机制的复杂性。随着全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)的发展^[12-13],弯曲菌毒力基因多样性的神秘面纱逐渐被揭

开,对阐明弯曲菌的致病机制至关重要。

鸡是弯曲菌的主要宿主,每克粪便可携带弯曲菌多达 10^8 个CFU^[14],并通过环境从一个鸡群水平传到另外一个鸡群^[15]。猪感染弯曲菌尤其是结肠弯曲菌主要呈亚临床症状。因此,在畜禽屠宰加工过程中粪便污染胴体或产品后^[16-19],人类食用受污染的产品而容易被感染,进而引起食品安全事件。由于鸡、猪来源的弯曲菌与人类感染密切相关,有必要对其耐药及毒力基因进行深入研究。因此,本研究对江苏省部分畜禽养殖场弯曲菌分离株进行耐药分析,并采用WGS全面分析其耐药基因、毒力基因及遗传进化关系,以期为我国动物源性弯曲菌的耐药监测提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 样品

选取了52株本实验室在2018年从江苏省部分畜禽养殖场分离的弯曲菌作为实验对象,其中猪源结肠弯曲菌9株,鸡源结肠弯曲菌17株,鸡源空肠弯曲菌26株,ATCC 33560作为药敏试验质控菌株。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

弯曲菌改良CCDA培养基和哥伦比亚培养基, Oxoid公司;脱纤维绵羊血,青岛海博生物技术有限公司;细菌基因组DNA提取试剂盒,北京天根生物科技有限公司;混合气(5% O₂、10% CO₂和85% N₂),南京特种气体厂有限公司;弯曲菌耐药性药敏检测板,青岛中创生物技术有限公司。

厌氧罐, MGC公司;高速冷冻离心机,

HITACHI 公司;生化培养箱,太仓市华美生化仪器厂;电泳仪,北京市六一生物科技有限公司;凝胶成像系统,基因有限公司;NanoDrop 1000 超微量分光光度计, Thermo Scientific 公司。

1.3 最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)的检测

采用琼脂稀释法测定氟喹诺酮类[环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)和萘啶酸(nalidixic acid, NAI)、大环内酯类[红霉素(erythromycin, ERY)和阿奇霉素(azithromycin, AZI)、氨基糖苷类[庆大霉素(gentamicin, GEN)、四环素类[四环素(tetracycline, TET)、林可胺类[克林霉素(clindamycin, CLI)和酰胺醇类[氟苯尼考(florfenicol, FFN)]共6类8种抗生素的药物敏感性,药敏试验操作步骤按照说明书进行。MIC值为24 h后以在平板上完全抑制细菌生长的最低药物浓度,根据美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)和美国国家抗生素耐药监测系统(National Antimicrobial Resistance Monitoring System, NARMS) (<https://www.cdc.gov/narms/antibiotics-tested.html>)推荐标准进行耐药判定。环丙沙星、萘啶酸、红霉素、阿奇霉素、庆大霉素、四环素、克林霉素和氟苯尼考的耐药折点分别为 ≥ 4 、32、32、32、16、16、8和8 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.4 细菌基因组的提取及定量

细菌基因组 DNA 提取按照试剂盒说明书进行操作,使用超微量分光光度计测定基因组 DNA 的纯度及浓度,将所提取基因组 DNA 送至美吉生物公司进行测序。

1.5 全基因组测序和序列拼接

菌株基因组 DNA 的浓度、完整性及纯度经美吉生物信息科技有限公司检测合格后,通过Illumina HiSeq×10 平台进行 PE150 (pair-end)测序,利用短序列组装软件 SOAPdenovo2 对二代测序后的优化序列进行多个 K-mer 参数的拼

接,得到最优的 contigs 组装结果,然后把 reads 比对到 contig 上,根据 reads 的 paired-end 和 overlap 关系,对组装结果进行局部组装和优化,形成 scaffolds。

1.6 耐药基因分析和毒力基因分析

通过基因组流行病学数据平台 ResFinder 数据库(<https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder>)进行耐药基因及点突变分析;通过比对毒力因子数据库(virulence factor database, VFDB),获得毒力因子注释概况并进行统计,采用 chiplot 网站(www.chipLOT.org)的 Heatmap 对耐药基因和毒力基因分布绘制热图。

1.7 多位点序列分析 (Multilocus sequencing typing, MLST)

将序列上传至网站(<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST>)进行分析,获取各菌株所对应的等位基因值,再将等位基因值上传到 PubMLST 数据库(<http://pubmlst.org/campylobacter>)从而确定其序列型(sequence type, ST)和克隆复合体(clonal complex, CC)。

2 结果与分析

2.1 耐药结果分析

52 株弯曲菌分离株对 8 种抗菌素耐药结果如表 1 所示。弯曲菌对环丙沙星、四环素和萘啶酸的耐药率较高,分别为 80.77%、67.31%和 63.46%,对氟苯尼考比较敏感,其耐药率仅为 7.69%。鸡源结肠弯曲菌对克林霉素、庆大霉素、红霉素和阿奇霉素的耐药率高于鸡源空肠弯曲菌。猪源结肠弯曲菌对红霉素和阿奇霉素耐药率较高,分别为 66.67%和 55.56%。30 株弯曲菌对 3 种及 3 种以上抗生素产生耐药性,其多重耐药率为 57.69%,其中猪源结肠弯曲菌多重耐药率为 33.33%,鸡源结肠弯曲菌和鸡源空肠弯曲菌的多重耐药率分别为 76.47%和 53.85% (图 1)。

表 1 52 株弯曲菌耐药性结果

Table 1 Resistance results of 52 *Campylobacter* isolates against eight antimicrobial agents

抗生素类别	抗生素名称	结肠弯曲菌耐药菌株数/耐药率		空肠弯曲菌耐药菌株数/耐药率	合计
Antimicrobial class	Antibiotic agent	Number of resistant strains of <i>Campylobacter coli</i> /Resistant rate (%)		Number of resistant strains of <i>Campylobacter jejuni</i> /Resistant rate (%)	Total number of resistant strains (n=52)/Total resistant rate (%)
		鸡源	猪源	鸡源	
		Chicken (n=17)	Swine (n=9)	Chicken (n=26)	
喹诺酮类 Quinolones	环丙沙星 Ciprofloxacin	15/88.24	4/44.44	23/88.46	42/80.77
	萘啶酸 Nalidixic acid	10/58.82	4/44.44	19/73.08	33/63.46
	氨基糖苷类 Aminoglycosides	庆大霉素 Gentamicin	10/58.82	3/33.33	11/42.31
大环内酯类 Macrolides	阿奇霉素 Azithromycin	7/41.18	5/55.56	6/23.08	18/34.62
	红霉素 Erythromycin	9/52.94	6/66.67	4/15.38	19/36.54
	四环素类 Tetracyclines	四环素 Tetracycline	12/70.59	4/44.44	19/73.08
酰胺醇类 Amphenicols	氟苯尼考 Florfenicol	3/17.65	0/0.00	1/3.85	4/7.69
林可酰胺类 Lincosamides	克林霉素 Clindamycin	11/64.71	1/11.11	12/46.15	24/46.15

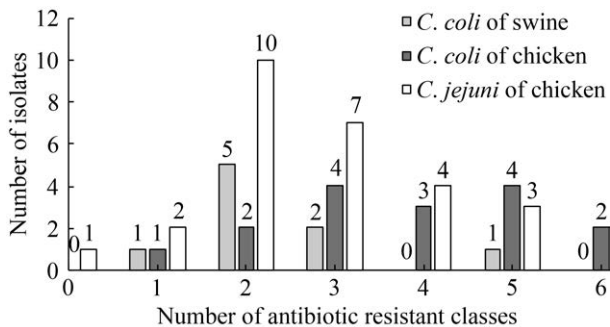


图 1 52 株弯曲菌分离株的多重耐药分布 横坐标数字表示耐药数量。

Figure 1 Multidrug resistance of 52 *Campylobacter* strains. The horizontal axis represents the number of drug resistance.

2.2 耐药基因分析结果

通过与 ResFinder 数据库比对,注释耐药基因。52 株弯曲菌共发现 16 种获得性耐药基因(包括氨基糖苷类、林可酰胺类、大环内酯类、

酰胺醇类、四环素类、β-内酰胺类)和 2 个耐药相关的点突变(图 2 和表 2)。四环素类耐药基因以 *tetO* 和 *tetL* 为主, *tetO* 耐药基因携带率最高为 71.15% (37/52), 5 株弯曲菌分离株携带 *tetL* 耐药基因。52 株分离株中检出 5 种氨基糖苷类耐药基因, 包括 *aph(3')-III*、*aac(6')-aph(2'')_1*、*aph(2'')-If_2*、*aadE* 和 *sat4* 耐药基因。*aph(3')-III* 耐药基因与卡那霉素、阿米卡星、新霉素耐药相关, 27 株弯曲菌携带此耐药基因。双功能耐药基因 *aac(6')-aph(2'')_1* 与庆大霉素、妥布霉素、卡拉霉素、阿米卡星和链霉素耐药相关, 18 株弯曲菌携带此耐药基因。15 株弯曲菌携带庆大霉素耐药基因 *aph(2'')-If_2*, 其携带率为 28.85%。链霉素耐药基因 *aadE* 有 22 株弯曲菌检出。检出 3 种 β-内酰胺类耐药基因, 包括 *bla_{OXA-61}*、*bla_{OXA-489}* 和 *bla_{OXA-193}*, 其中 *bla_{OXA-489}*

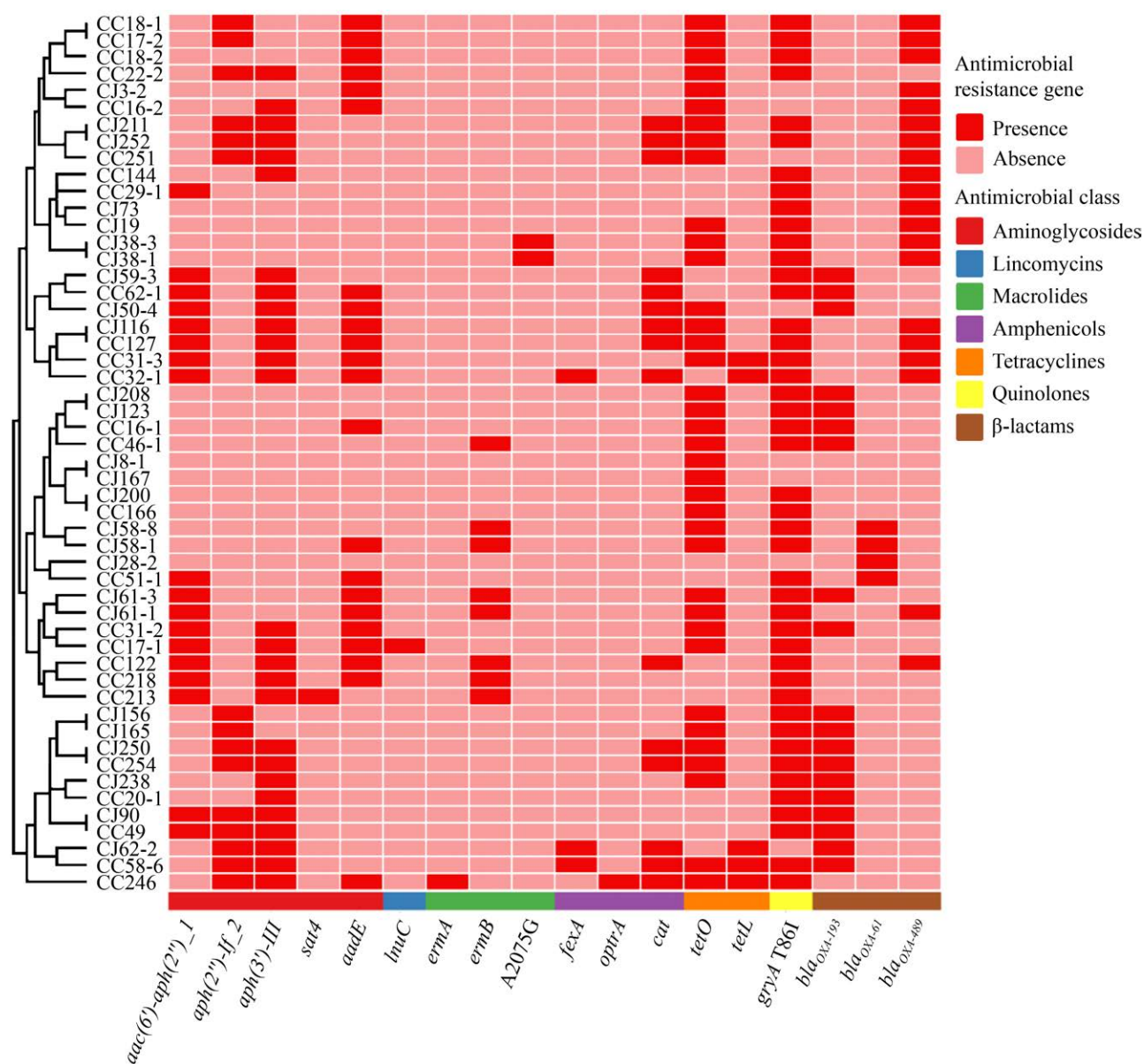


图 2 52 株弯曲菌耐药基因分布热图

Figure 2 Heatmap of the presence of antimicrobial resistance genes amongst 52 *Campylobacter* isolates.

携带率最高,其携带率为 38.46% (20/52), β -内酰胺类耐药基因总携带率为 82.69%。*ermB* 与大环内酯类和林可酰胺类等耐药相关,8 株弯曲菌携带此耐药基因。*ermA* 耐药基因与大环内酯类红霉素耐药相关,1 株弯曲菌携带此耐药基因,并且该菌株同时携带 *optrA* 及多种耐药基因。酰胺醇类耐药基因 *cat*、*fexA* 和 *optrA*,其携带率分别为

28.85%、5.77%和 1.92%。1 株弯曲菌携带林可酰胺类耐药基因 *lnuC*。在 52 株弯曲菌分离株中,84.62% (44/52)的弯曲菌检测到了与喹诺酮类耐药性相关的 *gryA* T86I 突变。检测到 2 株与大环内酯类相关的 23S rRNA A2075G 突变。

2.3 毒力基因分析结果

经 VFDB 数据库比对,52 株弯曲菌共筛查

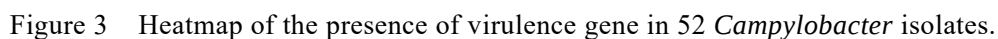
表 2 52 株弯曲菌携带耐药基因情况

Table 2 Antibiotic resistance genes of 52 *Campylobacter* isolates

抗生素类别 Antimicrobial class	耐药基因名称/ 点突变 Genetic AMR determinant/ Point mutation	弯曲菌携带基因菌株数/耐药率 Number of positive <i>Campylobacter</i> isolates/Resistant rate (%)			总计菌株数/总 耐药率 Total number/Total Resistant rate (%)
		猪源结肠弯曲菌 <i>C. coli</i> of swine	鸡源结肠弯曲菌 <i>C. coli</i> of chicken	鸡源空肠弯曲菌 <i>C. jejuni</i> of chicken	
氟喹诺酮类 Quinolones	<i>gryA</i> T86I	8/88.88	16/94.12	20/76.92	44/84.62
氨基糖苷类 Aminoglycosides	<i>aac(6')-aph(2'')_1</i>	2/22.22	10/58.82	6/23.07	18/34.62
	<i>aph(2'')-If_2</i>	3/33.33	5/29.41	7/26.92	15/28.85
	<i>aph(3')-III</i>	4/44.44	14/82.35	9/34.62	27/51.92
	<i>sat4</i>	0/0.00	1/5.88	0/0.00	1/1.92
	<i>aadE</i>	7/77.78	9/52.94	6/23.08	22/42.31
四环素类 Tetracyclines	<i>tetO</i>	7/77.78	9/52.94	21/80.77	37/71.15
β-内酰胺类 β-lactams	<i>tetL</i>	0/0.00	4/23.53	1/3.85	5/9.62
	<i>bla_{OXA-61}</i>	0/0.00	1/5.77	3/11.54	4/7.69
	<i>bla_{OXA-489}</i>	5/55.56	6/35.29	9/34.62	20/38.46
大环内酯类 Macrolides	<i>bla_{OXA-193}</i>	2/22.22	6/35.29	11/42.31	19/36.54
	<i>ermB</i>	0/0.00	4/23.53	4/15.38	8/15.38
	<i>ermA</i>	0/0.00	1/5.88	0/0.00	1/1.92
酰胺醇类 Amphenicols	23S rRNA A2075G	0/0.00	0/0.00	2/7.69	2/3.85
	<i>cat</i>	0/0.00	8/47.06	7/26.92	15/28.85
	<i>fexA</i>	0/0.00	2/11.76	1/3.85	3/5.77
林可酰胺类 Lincosamides	<i>optrA</i>	0/0.00	1/5.88	0/0.00	1/1.92
	<i>lnuC</i>	1/11.11	0/0.00	0/0.00	1/1.92

到120种毒力相关基因(图3)。黏附相关基因(5种)、IV型分泌系统相关基因(5种)、荚膜合成相关基因(26种)、脂寡糖基因簇(17种)、侵袭相关毒力基因(2种)、鞭毛相关基因(57种)、趋化蛋白(4种)、生物膜(1种)和细胞毒性相关基因(3种)。有18种毒力基因(*cadF*, *kpsD*, *kpsT*, *ciaC*, *flaD*, *flgB*, *flgS*, *flhA*, *fliA*, *fliM*, *flip*, *fliS*, *pseF*, *pseI*, *cheY*, *cheW*, *cheA*, *cheV*)检出率最高,为100%,主要涉及细菌黏附、荚膜合成、侵袭、鞭毛以及趋化蛋白等相关基因。有15种毒力基因包括IV型分泌系统相关基因(*virB11*, *virB4*, *virD4*, *virB8*, *virB9*)、荚膜合成相关基因(*kfiD*, *cj1426c*, *cj1427c*, *cj1432c*, *cj1435c*, *cj1436c*, *cj1437c*, *cj1440c*, *glf*, *fcl*)均只有1株检出,其检出率为

1.92%, IV型分泌系统相关基因仅在1株猪源结肠弯曲菌中检出,而荚膜合成相关基因仅在鸡源空肠弯曲菌中检出。与GBS相关的*wlaN*和*cstIII*基因仅在鸡源空肠弯曲菌中检出,其中有2株菌同时携带有*wlaN*和*cstIII*毒力基因。空肠弯曲菌携带毒力基因的数量普遍多于结肠弯曲菌,并且发现空肠弯曲菌分离株携带毒力基因的数量差异较大,其中1株空肠弯曲菌携带了105种毒力基因,1株携带了102种,2株携带了101种,还有2株空肠弯曲菌分离株携带的毒力基因较少,仅只有62种。结肠弯曲菌分离株携带的毒力基因数量差异不大,最少携带65种,最多为79种毒力基因。



2.4 弯曲菌 MLST 分析

52 株弯曲菌经 MLST 分型共得到 28 个 ST 型(表 3), 已知序列型 26 种, 其中 ST-860 最多, 占比 9.62% (5/52), 其次为 ST-3018 和 ST-5507, 占比均为 7.69% (4/52)。26 种已知序列型归属于 4 个已知的克隆复合体(CC-828, CC-21, CC-464, CC-1150)和 8 个新的克隆复合体, 其中克隆复合体 CC-828 占比最多, 57.69% (30/52), 其次

为 CC-21, 有 4 株, CC-1150 和 CC-464, 分别为 2 株和 1 株, 2 株分离株未确定出 ST 型。9 株猪源结肠弯曲菌被识别为 8 个序列型, 均属于 CC-828 克隆复合体。17 株鸡源结肠弯曲菌被识别为 12 个序列型, 其中 1 个为新的序列型, 11 个已知序列型被分配为 6 个克隆复合体, 其中 10 株菌属于 CC-828 克隆复合体, 另外 6 株菌在 PubMLST 数据库中未被识别到克隆复合体。

表 3 52 株弯曲菌分离株序列型和克隆复合体分析

Table 3 The clonal complex and sequence type of 52 *Campylobacters* isolates

克隆复合体 Clonal complex	序列型 Sequence type	猪源结肠弯曲菌 <i>C. coli</i> of swine	鸡源结肠弯曲菌 <i>C. coli</i> of chicken	鸡源空肠弯曲菌 <i>C. jejuni</i> of chicken	合计 Total
CC-828	854	1	0	0	1
	1058U	1	0	0	1
	828	1	0	0	1
	832	0	1	0	1
	872	0	2	1	3
	3018	1	0	3	4
	860	0	4	1	5
	1586	1	0	1	2
	1579	1	1	0	2
	1055	2	0	0	2
	5507	1	1	2	4
	1145	0	0	2	2
	5511	0	0	1	1
	6184	0	1	0	1
	760	0	0	3	3
	10075	0	0	1	1
CC-464	5268	0	0	1	1
CC-1150	2637	0	0	2	2
New-1	11139	0	1	0	1
New-2	10062	0	2	1	3
New-3	9440	0	1	1	2
New-4	5695	0	1	1	2
New-5	9035	0	1	1	2
New-6	9690	0	0	1	1
New-7	6606	0	0	1	1
New-8	2328	0	0	1	1
Unassigned	Novel-1	0	1	0	1
	Novel-2	0	0	1	1
Total		9	17	26	52

26 株鸡源空肠弯曲菌被识别为 18 个已知序列型和 1 个新的序列型, 鸡源空肠弯曲菌的克隆复合体比鸡源结肠弯曲菌丰富, 除 CC-828 克隆复合体外, 还有 CC-21、CC-1150、CC-464 和 7 个新的克隆复合体。

3 讨论

弯曲菌是全世界细菌性腹泻疾病最常见的病原菌之一, 可通过受污染的食品和水源等途径传播给人, 对公共卫生安全造成严重威胁。大多数弯曲菌感染是自限性的, 但如儿童、老人和免疫系统受损的人群, 则应使用抗生素治疗^[20-21]。多项研究显示弯曲菌的耐药现象日益严重^[22-23], 在人类感染中过度使用以及在畜牧业中滥用抗菌药物来预防和控制动物疾病, 是导致弯曲菌耐药率上升的主要原因^[24]。本研究中畜禽源弯曲菌对环丙沙星、萘啶酸及四环素耐药率较高, 该结果与其他报道一致^[25]。弯曲菌的耐药水平因来源不同而有所差异, 在本研究中猪源结肠弯曲菌多重耐药水平低于鸡源弯曲菌。同一来源的鸡源结肠弯曲菌多重耐药水平高于鸡源空肠弯曲菌, 从本研究的实验结果可以看出鸡源结肠弯曲菌的耐药现象更加严重, 该结果与多项研究报道^[26-27]一致。

弯曲菌耐药机制主要由抗生素作用靶点的染色体突变^[28]和耐药基因水平转移^[29]引起。本研究中 52 株弯曲菌通过 WGS 共鉴定出 16 种耐药基因和 2 种点突变, 46 株弯曲菌含有 3 种及 3 种以上耐药基因或点突变。王长炜等^[30]通过全基因组测序对 38 株来源于我国 20 个省份的禽源弯曲菌的耐药基因进行了分析, 共发现 7 类 23 种获得性耐药基因和 2 种点突变; 王小龙等^[31]对来自苏州市 53 株人源空肠弯曲菌和 8 株禽源空肠弯曲菌耐药基因分析发现 5 类 18 种耐药基

因。本研究中获得性耐药基因较文献报道的少, 主要是 β -内酰胺类耐药基因 *bla_{OXA}* 及其变体种类检出较少, 仅检出 3 种变体(*bla_{OXA-61}*、*bla_{OXA-489}* 和 *bla_{OXA-193}*), 而以上文献中分别检出了 8 种^[30]和 9 种变体^[31]。

本研究中有 44 株弯曲菌的 *gryA* 基因发生了 T86I 突变, 该突变能引起弯曲菌对环丙沙星和萘啶酸的高水平耐药^[32]。另一个是 23S rRNA 基因 V 区的 A2075G 点突变, 该突变是弯曲菌对大环内酯类药物高水平耐药的主要作用机制^[33]。本研究发现 2 株鸡源空肠弯曲菌发生了该点突变, 并且这 2 株菌对红霉素和阿奇霉素菌高度耐药。*erm* 是核糖体 rRNA 甲基化酶的编码基因, 可介导对大环内酯类、林可酰胺类(lincosamides)和链阳菌素类(streptogramins)抗生素的耐药^[34], 在本研究中发现 8 株弯曲菌携带 *ermB* 和 1 株弯曲菌携带 *ermA* 基因, 均对大环内酯类药物耐药, 该结果表明在本研究中弯曲菌对大环内酯类耐药主要是由 *ermB* 耐药基因的流行引起。携带 *ermA* 耐药基因的菌株同时还携带 *optrA* 基因, 该菌呈现对氟苯尼考、红霉素和克林霉素等抗生素的多重耐药。*optrA* (oxazolidinone phenicol transferable resistance, *optrA*) 基因属于 ABC 转运蛋白, 可介导酰胺醇类和噁唑烷酮类抗菌素的多重耐药^[35]。Liu 等^[36]首次在鸭源弯曲菌中发现 *ermA*-like 耐药基因, 并且与 *optrA* 耐药基因共同存在一个菌中。在本研究中还检测到另外一种耐氟苯尼考的耐药基因 *fexA*, 其携带率为 5.77% (3/52), Tang 等^[37]报道在浙江省分离的禽源空肠弯曲菌中 *fexA* 的携带率为 9% (9/100), Huang 等^[38]报道在中国华东地区分离的不同来源弯曲菌中 *fexA* 携带率为 2.54% (69/2721), 其中鸡源弯曲菌的携带率为 3.57% (57/1595)。四环素耐药基因主要以 *tetO*

和 *tetL* 为主, *tetO* 高流行率与以往的研究报道一致^[27-28,39]。Yao 等^[39]研究报道 *tetL* 与 *fexA* 基因共同位于染色体基因组的基因岛上, MLST 和自然转化试验证实可发生克隆扩散和水平传播, 在本研究中发现 3 株弯曲菌同时携带 *tetL* 与 *fexA* 耐药基因, 但其是否能水平传播还有待进一步验证。本研究在 1 株弯曲菌中还发现了 *lnuC* 基因, 该基因编码修饰林可酰胺类抗菌药物的腺苷化酶, Li 等^[40]研究证实 *lnuC* 可介导弯曲菌对林可酰胺类抗菌药物耐药, 并且可在弯曲菌中发生水平传播。

本研究中 52 株弯曲菌(包括 9 株猪源结肠弯曲菌、17 株鸡源结肠弯曲菌和 26 株鸡源空肠弯曲菌)共筛选到 120 种毒力相关基因, 但不同弯曲菌株毒力基因分布情况各不相同, 其携带毒力基因的数量范围为 62–105 种。Xiao 等^[41]从我国中部地区鸡场分离的 17 株鸡源结肠弯曲菌和 13 株空肠弯曲菌中筛选到 126 种毒力相关基因。王长炜等^[30]从我国 20 个省份分离的 38 株禽肉源弯曲菌基因组中共发现 7 类 133 个毒力基因。在本研究中还发现空肠弯曲菌毒力基因数量普遍多于结肠弯曲菌, 与以前的研究报道^[42-43]一致。通过基因组测序发现弯曲菌携带有较多的毒力基因序列, 但其毒力基因是否表达从而引起致病, 还需要进一步研究, 但毒力基因的存在是引起弯曲菌致病的潜在风险因子, 因此不应忽视其毒力基因的流行。

弯曲菌的致病机制尚未完全清楚, 但多项研究证实弯曲菌引起人和动物疾病与细菌的黏附、定殖、侵袭、鞭毛活动以及产毒素、IV 型分泌系统、LOS、CPS 生物合成相关等毒力因子有关, 多种毒力因子在感染致病过程中发挥作用。在本研究中, 与黏附相关的毒力基因(*porA*, *jlpA*)、LPS 合成相关基因(*kfiD*, *kpsE*,

hddC, *cysC*, *cj1416c*, *cj1426c*, *cj1427c*, *cj1432c*, *cj1435c*, *cj1436c*, *cj1437c*, *cj1440c*, *glf*, *fcl*)、LOS 合成相关基因(*nueA1*, *cstIII*, *wlaN*, *cj1136*, *htrB*)、鞭毛相关基因(*flgA*, *fliH*, *motB*)、细胞毒性基因(*cdtA*, *cdtB*, *cdtC*)等只在鸡源空肠弯曲菌中发现。Xiao 等^[41]对 13 株鸡源空肠弯曲菌和 17 株鸡源结肠弯曲菌全基因组测序发现, 黏附相关基因(*porA*, *jlpA*)以及细胞毒性基因(*cdtA*, *cdtB*, *cdtC*)只在鸡源空肠弯曲菌中, 与本研究结果一致。Panzenhagen 等^[44]发现 CPS 合成相关基因(*cj1421c*, *cj1422c*, *cj1426c*, *cj1432c*, *cj1434c*, *cj1435c*, *cj1436c*, *cj1437c*, *cj1438c*, *cj1440c*, *glf*, *kfiD*)为空肠弯曲菌的携带率普遍偏低。本研究中发现的 CPS 合成基因(*kfiD*, *kpsE*, *hddC*, *cysC*, *cj1416c*, *cj1426c*, *cj1427c*, *cj1432c*, *cj1435c*, *cj1436c*, *cj1437c*, *cj1440c*, *glf*, *fcl*)携带率低, 大部分基因只有 1 株分离株携带。研究表明 *cst-III*^[45]、*wlaN*^[24]与格林-巴利综合征的发生相关, 在本实验菌株中分别发现 2 株空肠弯曲菌携带 *cst-III* 和 3 株空肠弯曲菌携带 *wlaN* 毒力基因, 其携带率分别为 3.85% 和 5.77%, 与本研究团队在 2020 年文献报道中 *cst-III* 和 *wlaN* 在畜禽源弯曲菌中的携带率相当^[46]。Panzenhagen 等^[44]报道 *cst-III* 在亚洲地区分离株中普遍偏低, 仅为 4.79%。*wlaN* 在不同的研究报道中其流行率存在差异, *wlaN* 在日本、爱尔兰的弯曲菌分离株中流行率较低^[47-48], 但在韩国的一项研究报道中人和动物源弯曲菌分离株中 *wlaN* 的流行率较高, 分别为 100% 和 78.6%^[49]。

本研究对 52 株畜禽源弯曲菌进行 MLST 分析, 得到了 28 种 ST 型, 呈多样性, CC-828 为优势克隆复合体, 在鸡源和猪源弯曲菌中均有流行。CC-828 克隆复合体为全世界范围广泛流行的克隆群^[26-27], 在人源弯曲菌分离株也广泛流行, 张代涛等^[50]报道北京地区人源结肠弯曲

菌以 CC-828 克隆复合体为主。在本研究中克隆复合体 CC-21、CC-464 和 CC-1150 只有在鸡源空肠弯曲菌中发现, Zhang 等^[24]报道 CC-464 在人源、鸡源和鸭源弯曲菌中均有发现, 而 CC-21 仅在鸡源和人源弯曲菌中流行, 张代涛等^[50]在人源弯曲菌中发现一株 CC-1150 克隆复合株, 以上结果表明鸡源空肠弯曲菌与人源弯曲菌流行的复合克隆型相似, 说明鸡源空肠弯曲菌与人感染弯曲菌病有非常密切的联系, 应加强对鸡源空肠弯曲菌的动态监测。

4 结论

本研究通过全基因组测序对江苏省部分畜禽养殖场分离的 52 株弯曲菌进行了分析, 分离株对环丙沙星、四环素和萘啶酸耐药明显, 耐药基因复杂多样, 携带有在弯曲菌中新流行的耐药基因(*ermB*, *ermA*, *fexA*, *optrA*, *tetL*, *lnuC*), 耐药形势严峻, 毒力基因分布广泛。本研究结果为江苏地区动物源弯曲菌的流行病学研究提供了基础数据。

REFERENCES

- [1] EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014[J]. EFSA Journal, 2014, 12(2): 3547.
- [2] MAN SM. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2011, 8(12): 669-685.
- [3] SIFRÉ E, SALHA BA, DUCOURNAU A, FLOCH P, CHARDON H, MÉGRAUD F, LEHOURS P. EUCAST recommendations for antimicrobial susceptibility testing applied to the three main *Campylobacter* species isolated in humans[J]. Journal of Microbiological Methods, 2015, 119: 206-213.
- [4] DAI L, SAHIN O, GROVER M, ZHANG QJ. New and alternative strategies for the prevention, control, and treatment of antibiotic-resistant *Campylobacter*[J]. Translational Research, 2020, 223: 76-88.
- [5] DU YJ, WANG CQ, YE YL, LIU Y, WANG AM, LI Y, ZHOU XY, PAN HJ, ZHANG JM, XU XB. Molecular identification of multidrug-resistant *Campylobacter* species from diarrheal patients and poultry meat in Shanghai, China[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1642.
- [6] KAAKOUSH NO, CASTAÑO-RODRÍGUEZ N, MITCHELL HM, MAN SM. Global epidemiology of *Campylobacter* infection[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2015, 28(3): 687-720.
- [7] TACCONELLI E, CARRARA E, SAVOLDI A, HARBARTH S, MENDELSON M, MONNET DL, PULCINI C, KAHLMEIER G, KLUYTMANS J, CARMELI Y, OUELLETTE M, OUTTERSON K, PATEL J, CAVALERI M, COX EM, HOUCHEMS CR, LINDSAY GRAYSON M, HANSEN P, SINGH N, THEURETZBACHER U, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2018, 18(3): 318-327.
- [8] BUNDURU\U0219 IA, BALTA I, U0218TEF L, AHMADI M, PE\U021B I, McCLEERY D, CORCIONIVOSCHI N. Overview of virulence and antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. livestock isolates[J]. Antibiotics, 2023, 12(2): 402.
- [9] KEMPER L, HENSEL A. *Campylobacter jejuni*: targeting host cells, adhesion, invasion, and survival[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(9): 2725-2754.
- [10] KARLYSHEV AV, CHAMPION OL, CHURCHER C, BRISSON JR, JARRELL HC, GILBERT M, BROCHU D, ST MICHAEL F, LI JJ, WAKARCHUK WW, GOODHEAD I, SANDERS M, STEVENS K, WHITE B, PARKHILL J, WREN BW, SZYMANSKI CM. Analysis of *Campylobacter jejuni* capsular loci reveals multiple mechanisms for the generation of structural diversity and the ability to form complex heptoses[J]. Molecular Microbiology, 2005, 55(1): 90-103.
- [11] RICHARDS VP, LEFEBURE T, PAVINSKI BITAR PD, STANHOPE MJ. Comparative characterization of the virulence gene clusters (lipooligosaccharide [LOS] and capsular polysaccharide [CPS]) for *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* and related *Campylobacter* species[J]. Infection, Genetics and Evolution, 2013, 14: 200-213.
- [12] BROWN E, DESSAI U, McGARRY S, GERNER-SMIDT P. Use of whole-genome sequencing for food safety and public health in the United States[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2019, 16(7): 441-450.
- [13] LLARENA AK, TABOADA E, ROSSI M. Whole-genome sequencing in epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2017, 55(5): 1269-1275.
- [14] FACCIOLO A, RISO R, AVVENTUROSO E, VISALLI G, DELIA SA, LAGANÀ P. *Campylobacter*: from microbiology to prevention[J]. Journal of Preventive Medicine and Hygiene, 2017, 58(2): E79-E92.
- [15] MEUNIER M, GUYARD-NICODÈME M, DORY D, CHEMALY M. Control strategies against *Campylobacter* at the poultry production level: biosecurity measures, feed additives and vaccination[J]. Journal of Applied Microbiology, 2016, 120(5): 1139-1173.
- [16] STELLA S, SONCINI G, ZIINO G, PANEBIANCO A, PEDONESE F, NUVOLONI R, Di GIANNATALE E,

- COLAVITA G, ALBERGHINI L, GIACCONE V. Prevalence and quantification of thermophilic *Campylobacter* spp. in Italian retail poultry meat: analysis of influencing factors[J]. Food Microbiology, 2017, 62: 232-238.
- [17] Di DONATO G, MAROTTA F, NUVOLONI R, ZILLI K, NERI D, Di SABATINO D, CALISTRI P, Di GIANNATALE E. Prevalence, population diversity and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* isolated in Italian swine at slaughterhouse[J]. Microorganisms, 2020, 8(2): 222.
- [18] RIEDEL C, FÖRSTNER KU, PÜNING C, ALTER T, SHARMA CM, GÖLZ G. Differences in the transcriptomic response of *Campylobacter coli* and *Campylobacter lari* to heat stress[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 523.
- [19] NISAR M, AHMAD MUD, MUSHTAQ MH, SHEHZAD W, HUSSAIN A, NASAR M, NAGARAJA KV, GOYAL SM. Occurrence of *Campylobacter* in retail meat in Lahore, Pakistan[J]. Acta Tropica, 2018, 185: 42-45.
- [20] LUANGTONGKUM T, JEON B, HAN J, PLUMMER P, LOGUE CM, ZHANG QJ. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence[J]. Future Microbiology, 2009, 4(2): 189-200.
- [21] WIECZOREK K, OSEK J. Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*[J]. BioMed Research International, 2013, 2013: 340605.
- [22] DRAMÉ O, LECLAIR D, JANE PARMLEY E, DECKERT A, OUATTARA B, DAIGNAULT D, RAVEL A. Antimicrobial resistance of *Campylobacter* in broiler chicken along the food chain in Canada[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2020, 17(8): 512-520.
- [23] CONESA A, GAROFOLO G, Di PASQUALE A, CAMMÀ C. Monitoring AMR in *Campylobacter jejuni* from Italy in the last 10 years (2011–2021): microbiological and WGS data risk assessment[J]. EFSA Journal, 2022, 20(Suppl 1): e200406.
- [24] RAEISI M, KHOSHBAKHT R, GHAEMI EA, BAYANI M, HASHEMI M, SEYEDGHASEMI NS, SHIRZAD-ASKI H. Antimicrobial resistance and virulence-associated genes of *Campylobacter* spp. isolated from raw milk, fish, poultry, and red meat[J]. Microbial Drug Resistance, 2017, 23(7): 925-933.
- [25] GIACOMELLI M, SALATA C, MARTINI M, MONTESISSA C, PICCIRILLO A. Antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from poultry in Italy[J]. Microbial Drug Resistance, 2014, 20(2): 181-188.
- [26] ZHANG LY, LI Y, SHAO YQ, HU YQ, LOU HH, CHEN XN, WU YJ, MEI LL, ZHOU B, ZHANG XB, YAO WW, FANG L, ZHANG YJ. Molecular characterization and antibiotic resistant profiles of *Campylobacter* species isolated from poultry and diarrheal patients in southeastern China 2017–2019[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1244.
- [27] QUINO W, CARO-CASTRO J, HURTADO V, FLORES-LEÓN D, GONZALEZ-ESCALONA N, GAVILAN RG. Genomic analysis and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Peru[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12: 802404.
- [28] IOVINE NM. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*[J]. Virulence, 2013, 4(3): 230-240.
- [29] AKSOMAITIENE J, NOVOSLAVSKIJ A, KUDIRKIENE E, GABINAITIENE A, MALAKAUSKAS M. Whole genome sequence-based prediction of resistance determinants in high-level multidrug-resistant *Campylobacter jejuni* isolates in Lithuania[J]. Microorganisms, 2020, 9(1): 66.
- [30] 王长伟, 白瑶, 李少艇, 彭子欣, 杨大进, 董银苹, 肖晶, 王伟, 李凤琴. 2020年我国20个省份禽肉来源弯曲菌的耐药性及基因组特征分析[J]. 中华预防医学杂志, 2023, 57(12): 2086-2094.
- WANG CW, BAI Y, LI ST, PENG ZX, YANG DJ, DONG YP, XIAO J, WANG W, LI FQ. Antimicrobial resistance and genomic characterization of *Campylobacter* isolates recovered from retail poultry meat samples in 20 provinces of China in 2020[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2023, 57(12): 2086-2094 (in Chinese).
- [31] 王小龙, 张梦寒, 汤全英, 邹文燕. 苏州市空肠弯曲菌耐药与分子特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2024, 40(2): 116-122.
- WANG XL, ZHANG MH, TANG QY, ZOU WY. Analysis of drug resistance and molecular characteristics of *Campylobacter jejuni* in Suzhou City[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2024, 40(2): 116-122 (in Chinese).
- [32] WANG LP, ZHANG YS, ZHANG YH, YAOJIE, LI YX. Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones against *Campylobacter jejuni* isolated from chicken[J]. Veterinary Microbiology, 2010, 144(3/4): 409-414.
- [33] GIBREEL A, TAYLOR DE. Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*[J]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006, 58(2): 243-255.
- [34] LECLERCQ R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications[J]. Clinical Infectious Diseases, 2002, 34(4): 482-492.
- [35] WANG Y, LV Y, CAI JC, SCHWARZ S, CUI LQ, HU ZD, ZHANG R, LI J, ZHAO Q, HE T, WANG DC, WANG Z, SHEN YB, LI Y, FEßLER AT, WU CM, YU H, DENG XM, XIA X, SHEN JZ. A novel gene, *optrA*, that confers transferable resistance to oxazolidinones and phenicols and its presence in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* of human and animal origin[J]. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2015, 70(8): 2182-2190.
- [36] LIU DJ, YANG DW, LIU X, LI X, FEßLER AT, SHEN ZQ, SHEN JZ, SCHWARZ S, WANG Y. Detection of the enterococcal oxazolidinone/phenicol resistance gene *optrA* in *Campylobacter coli*[J]. Veterinary Microbiology, 2020, 246: 108731.
- [37] TANG B, TANG YZ, ZHANG L, LIU X, CHANG J, XIA XD, YANG H, SHEN ZQ. Emergence of *fexA* in mediating resistance to florfenicols in *Campylobacter*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2020, 64(7): e00260-20.
- [38] HUANG PY, CHEN C, ZANG XQ, JIANG QY, LV YL, LV HY, QIN YY, JIAO XN, HUANG JL. The *fexA* gene in *Campylobacter*: whether the spread has

- occurred among various hosts in Eastern China[J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2024, 36: 293-300.
- [39] YAO H, JIAO D, ZHAO WB, LI AJ, LI RC, DU XD. Emergence of a novel *tet(L)* variant in *Campylobacter* spp. of chicken origin in China[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2020, 65(1): e01622-20.
- [40] LI WJ, JIAO D, KANG J, YU RH, ZHAO WB, XU CY, LI RC, DU XD, YAO H. Emergence of *lnu(C)* variant conferring lincomycin resistance in *Campylobacter coli* of chicken origin[J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 388: 110098.
- [41] XIAO J, CHENG YL, ZHANG WT, LU Q, GUO YQ, HU Q, WEN GY, SHAO HB, LUO QP, ZHANG TF. Genetic characteristics, antimicrobial susceptibility, and virulence genes distribution of *Campylobacter* isolated from local dual-purpose chickens in Central China[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2023, 13: 1236777.
- [42] BRAVO V, KATZ A, PORTE L, WEITZEL T, VARELA C, GONZALEZ-ESCALONA N, BLONDEL CJ. Genomic analysis of the diversity, antimicrobial resistance and virulence potential of clinical *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from Chile[J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2021, 15(2): e0009207.
- [43] HULL DM, HARREL E, HARDEN L, THAKUR S. Detection of resistance and virulence plasmids in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolated from North Carolina food animal production, 2018–2019[J]. Food Microbiology, 2023, 116: 104348.
- [44] PANZENHAGEN P, PORTES AB, dos SANTOS AMP, DUQUE SDS, CONTE JUNIOR CA. The distribution of *Campylobacter jejuni* virulence genes in genomes worldwide derived from the NCBI pathogen detection database[J]. Genes, 2021, 12(10): 1538.
- [45] PARKER CT, HORN ST, GILBERT M, MILLER WG, WOODWARD DL, MANDRELL RE. Comparison of *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide biosynthesis loci from a variety of sources[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2005, 43(6): 2771-2781.
- [46] 唐梦君, 周倩, 张小燕, 张静, 唐修君, 陆俊贤, 周生, 蒲俊华, 高玉时. 江苏部分地区鸡源与猪源弯曲菌耐药性分析与毒力基因检测[J]. 畜牧兽医学报, 2020, 51(9): 2284-2292.
- TANG MJ, ZHOU Q, ZHANG XY, ZHANG J, TANG XJ, LU JX, ZHOU S, PU JH, GAO YS. Antimicrobial resistance and virulence genes of *Campylobacter* spp. isolated from chicken and swine farms in Jiangsu Province[J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2020, 51(9): 2284-2292 (in Chinese).
- [47] KOOLMAN L, WHYTE P, BURGESS C, BOLTON D. Distribution of virulence-associated genes in a selection of *Campylobacter* isolates[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2015, 12(5): 424-432.
- [48] SIERRA-ARGUELLO YM, PERDONCINI G, RODRIGUES LB, RUSCHEL dos SANTOS L, APELLANIS BORGES K, QUEDI FURIAN T, PIPPI SALLE CT, de SOUZA MORAES HL, PEREIRA GOMES MJ, PINHEIRO DO NASCIMENTO V. Identification of pathogenic genes in *Campylobacter jejuni* isolated from broiler carcasses and broiler slaughterhouses[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 4588.
- [49] KIM JS, LEE MY, KIM SJ, JEON SE, CHA I, HONG S, CHUNG GT, HUH MJ, KANG YH, YOO CK, KIM J. High-level ciprofloxacin-resistant *Campylobacter jejuni* isolates circulating in humans and animals in incheon, republic of Korea[J]. Zoonoses and Public Health, 2016, 63(7): 545-554.
- [50] 张代涛, 张新, 黄瑛, 吕冰, 田祎, 林长缨, 王宇, 曲梅. 全基因组测序分析北京地区人源结肠弯曲菌基因组特征和耐药性[J]. 中国人兽共患病学报, 2023, 39(7): 682-687, 694.
- ZHANG DT, ZHANG X, HUANG Y, LÜ B, TIAN Y, LIN CY, WANG Y, QU M. Analysis of genomic characteristics and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* from humans in Beijing through whole genome sequencing[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2023, 39(7): 682-687, 694 (in Chinese).