



研究报告

## 苏北地区白羽肉鸡父母代种鸡及其商品鸡中沙门氏菌的分离、鉴定与生物特性

傅宏庆 刘莉 姚志兰 王永娟\*

江苏农牧科技职业学院 江苏省兽用生物制药高新技术研究重点实验室 江苏 泰州 225300

**摘要:**【背景】沙门氏菌是一种重要的人兽共患食源性致病菌,控制沙门氏菌在动物中的感染和在食品生产链中的污染对于畜牧生产、公共卫生和食品安全具有重要意义。【目的】调查苏北地区某白羽肉鸡父母代种鸡及其商品鸡的沙门氏菌感染和流行情况,为其沙门氏菌防治提供参考依据。

【方法】于 2018–2019 年从江苏泰州、宿迁、盐城、徐州、连云港等地区分别采集某白羽肉鸡父母代种鸡场产蛋鸡及其商品鸡场 1–2 日龄弱雏和 10 日龄雏鸡的泄殖腔拭子样品共 360 份,进行沙门氏菌的分离与鉴定,用纸片法和 PCR 方法对菌株耐药表型及相关耐药基因进行检测,通过多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)技术对分离菌株的亲缘关系进行研究。【结果】从 120 份父母代产蛋鸡分离到 3 株沙门氏菌,从 120 份商品代 1–2 日龄弱雏分离到 25 株沙门氏菌,从 120 份商品代 10 日龄雏鸡分离到 82 株沙门氏菌。分离的沙门氏菌对多粘菌素 B、亚胺培南、多西环素、甲氧苄啶、替加环素、氟苯尼考、头孢噻肟、恩诺沙星表现为全部敏感,对呋喃妥因、青霉素、利福平、利奈唑胺、万古霉素均表现为全部耐药;对阿莫西林耐药的菌株有 30 株(占 27.27%),敏感的有 80 株(占 72.73%)。耐药基因的 PCR 检测结果显示:β 内酰胺类耐药基因 *bla*<sub>TEM</sub> 存在于所有沙门氏菌分离株中,但其他常见耐药基因在本研究的分离株中未发现。通过对分离菌 7 对管家基因进行 PCR 扩增、测序和 MLST 分型,发现所有沙门氏菌分离株的 ST 型均为 ST11,属于肠炎沙门氏菌。MLST 分型结果结合药敏试验结果表明,分离的沙门氏菌属于同一进化系统,具有相同或相似的来源。【结论】被调查商品鸡群的肠炎沙门氏菌感染很可能是其同一来源的父母代种鸡场垂直传播所致,这为该地区白羽肉鸡的沙门氏菌防治提供了参考。

**关键词:** 白羽肉鸡, 沙门氏菌, 分离鉴定, 生物特性

**Foundation item:** Jiangsu Agricultural Industry Technology System (layer) Quality Safety and Processing Innovation Team Construction Project

\*Corresponding author: Tel: 86-523-86158818; E-mail: yongjuanwang@jsahvc.edu.cn

Received: 21-06-2020; Accepted: 09-09-2020; Published online: 18-09-2020

基金项目: 江苏现代农业(蛋鸡)产业技术体系质量安全与加工创新团队建设项目

\*通信作者: Tel: 0523-86158818; E-mail: yongjuanwang@jsahvc.edu.cn

收稿日期: 2020-06-21; 接受日期: 2020-09-09; 网络首发日期: 2020-09-18

## Isolation, identification and characterization of *Salmonella* from a parental breeder farm of white broiler and its commercial chickens in northern Jiangsu

FU Hong-Qing LIU Li YAO Zhi-Lan WANG Yong-Juan\*

Jiangsu Key Laboratory of Veterinary Biopharmaceutical High Technology Research, Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou, Jiangsu 225300, China

**Abstract:** [Background] *Salmonella* is an important zoonotic foodborne pathogen. Therefore, controlling of *Salmonella* infection in animals and pollution in the food production chain has great significance for livestock production, public health and food safety. [Objective] Studying the infection and epidemic of *Salmonella* from a parental breeder farm of white broiler and its commercial chickens in northern Jiangsu will provide a reference for the prevention and control of *Salmonella*. [Methods] A total of 360 samples of cloaca swabs were collected from farms in Taizhou, Suqian, Yancheng and Lianyungang from 2018 to 2019, including 120 samples from parental breeders, their 1 or 2 days old weak commercial broilers and 10 days old commercial broilers, respectively. Then, the *Salmonellas* were isolated and identified, their drug resistance phenotypes and genotypes were characterized by Kirby-Bauer and PCR methods, and the genetic relationship of the isolates was analyzed by multilocus sequence typing (MLST). [Results] In total, 120 *Salmonella* strains were isolated, including 3 strains from the parental breeders, 25 strains from the 1 or 2 days old weak commercial broilers and 82 strains from the 10 days old commercial broilers. By using Kirby-Bauer test, all strains were found to be sensitive to antibiotics polymyxin B, imipenem, doxycycline, trimethoprim, tigecycline, florfenicol, cefotaxime and enrofloxacin, and resistant to macrodantin, penicillin, rifampicin, linezolid and vancomycin. Moreover, 80 isolates (72.73%) were sensitive to antibiotic amoxicillin while the other 30 strains (27.27%) were resistant to it. The drug-resistant genes analyzed by PCR showed that *blaTEM* existed in all isolates, but not other common resistance genes. The ST type of all *Salmonella* isolates in this study was identified as ST11 based on the MLST typing and sequencing results of 7 pairs of housekeeping genes. Collectively, out data demonstrate that the phylogenies of these *Salmonella* isolates are very similar. [Conclusion] *Salmonella* infections occurred in the commercial broilers seemed to be caused by vertical transmission from the same herds of parental breeders. This study provided a reference for the prevention and control of *Salmonella* in white broiler farms in this area.

**Keywords:** White broiler, *Salmonella*, Isolation and identification, Characterization

沙门氏菌(*Salmonella*)属于革兰氏阴性杆菌,是一种重要的人兽共患食源性致病菌,在食品卫生领域和国际贸易中倍受重视,其主要在人和动物的肠道内寄生。沙门氏菌主要通过污染的食品进行传播,造成人和多种动物感染,临床上表现为胃肠炎等一系列中毒症状<sup>[1]</sup>。自1885年首次从病畜体内分离到猪霍乱沙门氏菌,全世界范围内沙门氏菌血清型至今已有3000多种,部分血清型可以引起严重的沙门氏菌病,甚至造成人畜死亡<sup>[2]</sup>。全世界人沙门氏菌感染有逐渐上升的趋势,由沙门氏菌引起的细菌性疾病也在增加。鉴

于沙门氏菌对畜牧业发展和人类健康都造成了严重危害,因此,控制沙门氏菌在动物中的感染和在食品生产链中的污染对于兽医公共卫生和食品安全有着重要的意义。

鸡肉和鸡蛋等禽类制品是居民日常生活中的主要动物蛋白来源食品,也是沙门氏菌传播给人类的主要来源<sup>[3]</sup>,而且家禽中经常发现在人类流行的许多血清型菌株,如鼠伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌,该类沙门氏菌主要来自家禽养殖环节<sup>[4-5]</sup>。此外,禽沙门氏菌感染鸡群可造成幼雏大量死亡、产蛋下降、种蛋孵化率下降、弱雏率增

加, 而且该病具有水平传播和垂直传播特性<sup>[2]</sup>。因此, 在养殖场加强对鸡源沙门氏菌的防治, 对于提高养殖效益、保障食品安全和促进公共卫生健康等具有重要意义。

本研究通过从江苏泰州、宿迁、盐城、徐州、连云港等地区采集某白羽肉鸡父母代种鸡场产蛋鸡及其商品鸡场的泄殖腔拭子样品, 对沙门氏菌感染和流行情况进行跟踪研究, 包括菌株的分离、鉴定以及耐药表型与耐药基因分析和多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)研究等, 以期为该地区白羽肉鸡场的沙门氏菌防治提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

于 2018–2019 年从江苏泰州、宿迁、盐城、徐州、连云港等地区采集某白羽肉鸡父母代种鸡场产蛋鸡及其商品鸡场的泄殖腔拭子样品计 360 份, 其中第 1 组 120 份样品来自父母代产蛋鸡, 第 2 组 120 份样品来自第一组产蛋鸡的商品代 1–2 日龄弱雏; 第 3 组 120 份样品来自第 1 组产蛋鸡的商品代 10 日龄正常雏鸡。

### 1.2 培养基、主要试剂和仪器

HE 琼脂、BS 琼脂、BPW 肉汤、MKTTn 肉汤、TSB 液体培养基、MH 肉汤培养基和 MH 固体培养基, 青岛海博生物科技有限公司; 沙门氏菌显色培养基, 广州环凯生物科技有限公司; 药敏纸片, 杭州微生物试剂有限公司; 2×PCR Mixture, 广州东盛生物科技有限公司; DL2000 DNA Marker, TaKaRa 公司; DNA 提取试剂盒, 天根生化科技(北京)有限公司。恒温培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; PCR 仪, Bio-Rad 公司。

### 1.3 拭子样品的增菌培养及 PCR 检测

为了提高沙门氏菌的分离检出率, 对采集的拭子进行预增菌和选择性增菌后, 再进行 PCR 检测。将采集的拭子置于 5 mL BPW 肉汤中, 于 37 °C、200 r/min 恒温振荡培养 12–16 h 后取 0.5 mL, 加

入到 5 mL 煮沸过的沙门氏菌选择性增菌培养基 MKTTn 中混匀, 于 37 °C 条件下振荡培养 18–24 h。

细菌 DNA 的提取: 采用热裂解法提取 DNA, 吸取 1 mL MKTTn 二次增菌液置于 1.5 mL 无菌离心管中, 10 000 r/min 离心 5 min, 弃上清。用 200 μL 无菌水悬浮沉淀, 煮沸 10 min, 冰浴 5 min, 再 12 000 r/min 离心 5 min, 收集上清为 DNA 模板, -20 °C 保存备用。

根据文献[6]设计沙门氏菌肠毒素基因 *stn* 引物进行 PCR 扩增。引物为 *stn*-F (5'-CTTTGGTTCGT AAAATAAGGCG-3')和 *stn*-R (5'-TGCCCAAAGCA GAGAGATTC-3'), 预计 PCR 产物大小为 260 bp, 由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。

PCR 反应体系: 2×PCR Mix 8 μL, *stn*-R 引物 (10 nmol/L) 0.5 μL, *stn*-F 引物 (10 nmol/L) 0.5 μL, DNA 模板 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 15 μL。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 30 s, 35 个循环; 72 °C 5 min。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 在成像系统下观察结果。

### 1.4 沙门氏菌的分离纯化及鉴定

对经 PCR 扩增出 *stn* 基因和不能扩增出 *stn* 基因的样品均划线接种于沙门氏菌显色培养基平板, 培养 18–24 h, 然后根据沙门氏菌在显色培养基上的典型菌落形态, 挑取可疑菌落分别划线接种于 BS 琼脂板和 HE 琼脂板。挑取 2 个平板中的疑似菌落再次 PCR 鉴定, 结果呈阳性者被认定为沙门氏菌阳性菌株, 其对应样品为沙门氏菌感染, 对阳性菌株做好标记并保存。对 PCR 出现弱阳性和可疑条带的样品以及未有条带的样品, 分别划线接种沙门氏菌显色培养基平板、BS 琼脂和 HE 琼脂平板, 再次进行分离和鉴定, 如果还未出现疑似菌落, 则该样品判定为沙门氏菌阴性。

### 1.5 沙门氏菌分离株的药物敏感性试验

将最终确定的沙门氏菌按照临床实验室标准化委员会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的 Kirby-Bauer (K-B) 纸片扩散法进行

14种药物的药敏试验,以 *E. coli* ATCC25922 为质控菌株,根据 CLSI 标准,对药敏结果进行判定,确定菌株耐药表型。

### 1.6 沙门氏菌分离株的耐药基因检测

按文献[7]的方法,采用 PCR 的方法对分离菌株的β-内酰胺类耐药基因(*bla**TEM*、*bla**PSE*)、氨基糖苷类耐药基因[*aadA1*、*aadA2*、*aadB*、*aacC2*、*aac(3)-IV*、*aph(3')-II*、*armA*、*rmtB*]、喹诺酮物耐药基因[*qnrA*、*qnrB*、*qnrS*、*aac(6')-Ib-cr*、*qepA*]、四环素类耐药基因(*tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetG*)、氯霉素类耐药基因(*catA1*、*cmlA*、*floR*)、磺胺类耐药基因(*sul I*、*sul II*、*sul III*)和 1 类整合酶基因 *int1* 及 1 类整合子的耐药基因盒进行检测,引物由南京金斯瑞科技有限公司合成。

### 1.7 沙门氏菌分离株的多位点序列分型(MLST)

参考科克大学(University College Cork, <http://mlst.ucc.ie>)提供的 7 对沙门菌属管家基因 *aroC*、*dnaN*、*hemD*、*hisD*、*purE*、*sucA* 和 *thrA* 的 PCR 扩增引物和对应的测序引物(表 1)对沙门菌分离株进行 MLST 分型,引物由南京金斯瑞科技有限公司合成。

以经 PCR 鉴定为沙门氏菌阳性的基因组 DNA 为模板,采用表 1 中 7 对管家基因相应的扩增引物分别进行 PCR 扩增。将 PCR 产物纯化回收后,由

南京金斯瑞生物技术有限公司双向测序。测序序列利用 MEGA 6.0 与沙门氏菌 MLST 分型的参考序列进行比对剪切整齐后,提交至科克大学网站(University College Cork, <http://mlst.ucc.ie>)获得相应的等位基因编号,7 个管家基因共同构成该菌株的序列型(sequence type, ST)。

## 2 结果与分析

### 2.1 拭子样品增菌液的 PCR 扩增结果

提取 MKTTn 二次增菌液 DNA 进行 *stn* 基因的 PCR 扩增。结果显示,第 1 组样品有 3 个强阳性,其余为阴性;第 2 组有 24 个阳性样品和 8 个可疑样品;第 3 组有 82 个强阳性样品和 6 个可疑样品。PCR 结果初步表明:父母代产蛋鸡带菌率较低,来源于该种鸡场的商品代弱雏沙门氏菌的阳性率较高,而来源于该种鸡场的商品代雏鸡在养殖场饲养 10 d 后带菌率明显提高。该初步检测结果还需通过沙门氏菌的分离和 PCR 进一步鉴定确认。

### 2.2 沙门氏菌的分离与 PCR 鉴定结果

将所有样品均划线接种沙门氏菌显色培养基,经 PCR 检测为阳性的 109 份样品和第 2 组的一份可疑样品经培养后平板上呈现出品红色、扁平透明、边缘光滑的疑似沙门氏菌菌落;将疑似沙门氏菌菌落分别划线接种于 HE 琼脂固体培养基和 BS 固体培养基,结果在 HE 平板上出现了蓝色或蓝绿色,菌落中心呈现黑色或无黑色的菌落;在 BS 固体平板上出现了棕褐色菌落,并带有金属光泽,周围培养基呈棕色的菌落(图 1),这些菌落形态符合沙门氏菌的菌落形态特征。然而经 PCR 检测为阴性的样品以及其余可疑样品经上述过程培养后,未出现典型的符合沙门氏菌菌落形态的菌落。

对以上所有疑似沙门氏菌的菌落再进行沙门氏菌肠毒素基因 *stn* 的 PCR 检测(每个样品挑取 5 个单菌落分别进行 PCR 扩增),结果显示,在沙门氏菌显色培养基和 HE、BS 培养基上符合沙门氏菌菌落特征的 110 个样品均为阳性,PCR 产物片段约 260 bp,部分菌落的 PCR 扩增结果如图 2 所示。

表 1 沙门氏菌属 MLST 分子分型管家基因扩增引物  
Table 1 Primers used for *Salmonella* MLST

基因	引物	产物
Gene	Primers (5'→3')	Products (bp)
<i>aroC</i>	F: CCTGGCACCTCGCGCTATAC R: CCACACACGGATCGTGGCG	826
<i>dnaN</i>	F: ATGAAATTTACCGTTGAACGTGA R: AATTTCTATTGAGAGAGGATTGC	833
<i>hemD</i>	F: ATGAGTATTCTGATCACCCG R: ATCAGCGACCTTAATATCTTGCCA	666
<i>hisD</i>	F: GAAACGTTCCATTCCGCGCAGAC R: CTGAACGGTCATCCGTTTCTG	894
<i>purE</i>	F: ATGCTTCCCGCAATAATCC R: TCATAGCGTCCCCGCGGATC	510
<i>sucA</i>	F: AGCACCGAAGAGAAACGCTG R: GGTGTTGATAACGATACGTAC	643
<i>thrA</i>	F: GTCACGGTGATCGATCCGGT R: CACGATATTGATATTAGCCCC	852

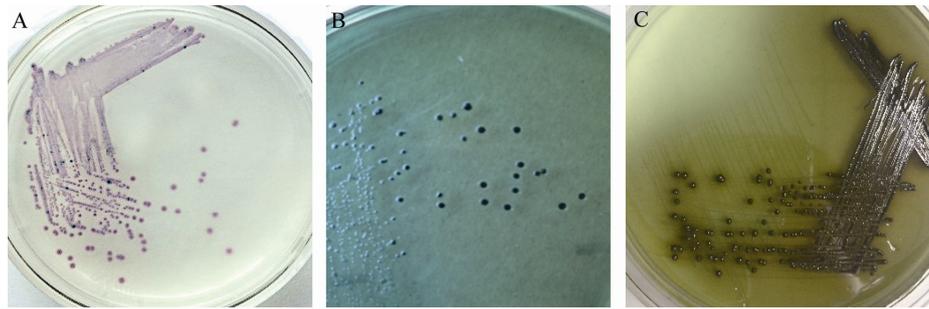


图 1 分离菌在沙门氏菌显色培养基(A)、HE 培养基(B)和 BS 培养基(C)上的菌落形态

Figure 1 Growth status of *Salmonella* on *Salmonella* chromogenic medium (A), HE medium (B), and BS medium (C)

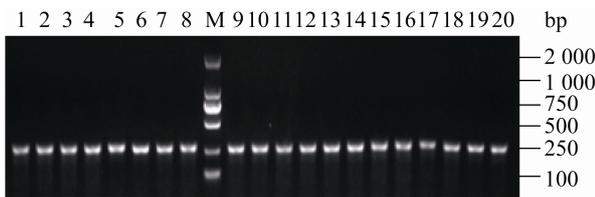


图 2 部分疑似沙门菌样品菌落的 *stn* 基因 PCR 鉴定结果

Figure 2 Identification of suspected colonies of *Salmonella* based on *stn* gene amplification by PCR

注: M: DL2000 DNA Marker; 1-20: 疑似沙门氏菌阳性样品。  
Note: M: DL2000 DNA Marker; 1-20: Suspected positive samples of *Salmonella*.

分离鉴定结果最终确认, 父母代产蛋鸡分离到 3 株沙门氏菌, 其商品代 1-2 日龄弱雏分离到 25 株沙门氏菌, 10 日龄雏鸡分离到 82 株沙门氏菌, 详见表 2。该结果表明, 对样品通过预增菌和选择性增菌后进行 *stn* 基因 PCR 检测, 其结果和细菌分离、鉴定的结果基本一致。

### 2.3 沙门氏菌分离株的药敏试验及耐药基因检测结果

对分离的 110 株沙门菌通过 KB 法测定了其 14 种抗生素的敏感性, 其中, 对多粘菌素 B、亚胺培南、多西环素、甲氧苄啶、替加环素、氟苯尼考、头孢噻肟、恩诺沙星表现为全部敏感, 对呋喃妥因、青霉素、利福平、利奈唑胺、万古霉素表现为全部耐药; 对阿莫西林耐药的菌株有 30 株(27.27%)、敏感的有 80 株(72.73%)。所分离的菌株对呋喃妥因、青霉素、利福平、利奈唑胺、万古霉素和/或阿莫西林呈现多重耐药, 多重

耐药率达到 100%。

对  $\beta$ -内酰胺类耐药基因 *bla*<sub>TEM</sub> 和 *bla*<sub>PSE</sub> 进行 PCR 检测, 结果显示所有菌株中均检测到  $\beta$ -内酰胺类耐药基因 *bla*<sub>TEM</sub>, 但 *bla*<sub>PSE</sub> 基因在所有菌株中均未检测到, 考虑到这些菌株在阿莫西林耐药性上存在的差异, 提示不同的阿莫西林耐药菌株或许还存在着其他  $\beta$ -内酰胺酶耐药基因。喹诺酮类药物耐药基因, 包括抗生素外排泵基因 (*qepA*) 和质粒介导的耐药基因 [*qnrA*、*qnrB*、*qnrS*、*aac(6')-Ib-cr*], 以及四环素类耐药基因主要包括外排泵基因 *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetG*, 在本次试验所分离的菌株中均未检测到。另外, 本试验所有分离株也均未检测到氨基糖苷类耐药基因 *aadA1*、*aadA2*、*aadB*、*aacC2*、*aac(3)-IV*、*aph(3')-II*、*armA*、*rmtB*, 氯霉素类耐药基因 *catA1*、*cmlA*、*floR*, 以及磺胺类耐药基因 *sul I*、*sul II*、*sul III*。本研究未对呋喃妥因、利福平、利奈唑胺、万古霉素的耐药基因进行检测。

### 2.4 沙门氏菌分离株的 MLST 分型结果

对分离到的 110 株沙门菌的 7 个管家基因进行 PCR 扩增, 获得了大小分别为 826、833、666、894、510、643 和 852 bp 的目的片段, 分别对应 *aroC*、*dnaN*、*hemD*、*hisD*、*purE*、*sucA* 和 *thrA* 这 7 个基因, 与预期结果一致(图 3)。将 110 株沙门氏菌分离株的 7 个管家基因测序后, 提交至科克大学沙门氏菌 MLST 分型数据库比对, 结果显示, 110 株沙门氏菌仅有 1 个序列型, 为 ST11 型。结果表明, 从不同鸡群分离到的沙门氏菌分

表 2 不同来源样品中沙门氏菌的分离结果

Table 2 Isolation of *Salmonellas* from different sources

鸡群种类	泰州	盐城	宿迁	连云港	合计
Types of chickens	Taizhou	Yancheng	Suqian	Lianyungang	Total
父母代种鸡	/	/	3	/	3
Parental breeders					
商品代 1-2 日龄弱雏	5	6	11	3	25
One or two days old weak commercial broilers					
商品代 10 日龄雏鸡	16	23	35	8	82
10 days old weak commercial broilers					

注：所有商品代雏鸡均来源于第 1 组的父母代种鸡场。/：未采样。

Note: All commercial broilers were from the same parental breeder farm of group 1. /: No sample was collected.

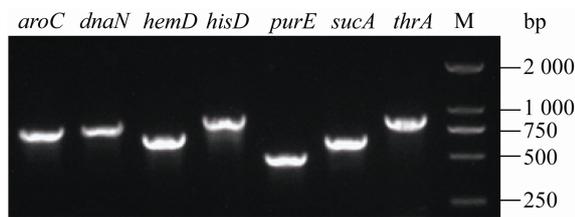


图 3 沙门氏菌分离株 7 个管家基因的 PCR 扩增结果

Figure 3 PCR amplification of 7 housekeeping genes of *Salmonella*

Note: M: DL2000 DNA Marker.

离株的序列型单一,其很有可能具有相同或相似的来源。

### 3 讨论与结论

沙门氏菌是一种重要的人兽共患病原菌,养殖过程中的动物带菌致使动物在屠宰时和商品流通时造成食品污染,引发人类食源性疾病感染<sup>[8]</sup>。在鸡中,沙门氏菌还可以通过垂直传播造成蛋的污染,使种蛋孵化率下降或雏鸡感染,造成严重的经济损失<sup>[2]</sup>。加强禽源食品生产链中沙门氏菌的监测和防控,对提高食品安全、加强公共卫生安全也具有重要意义。本研究通过对苏北地区某白羽肉鸡父母代种鸡和来源于该种鸡的雏鸡的泄殖腔拭子进行了沙门氏菌的分离与鉴定,结果显示此父母代种鸡的沙门氏菌分离率为 2.50% (3/120),来源于该种鸡场的商品代 1-2 日龄弱雏的分离率为 20.83% (25/120)、10 日龄雏鸡则为 68.33% (82/120)。

父母代种鸡的沙门氏菌分离率较低,其商品

代肉鸡的沙门氏菌分离率随日龄增加而快速提高,这表明父母代种鸡一旦发生沙门氏菌感染,其垂直传播可造成子代雏鸡沙门氏菌携带率较高,因此加强种鸡的沙门氏菌防治,尽量减少或净化沙门氏菌,对于降低垂直传播和减少商品代鸡群的阳性率非常重要。另外,商品代肉鸡饲养 10 d 后,沙门氏菌阳性率大幅度上升,可能与这些肉鸡都采用了地面平养的养殖模式有关。

罗薇等对国内某大型种鸡场采样 1 744 份,共分离到沙门氏菌 168 株,分离率为 9.63%<sup>[9]</sup>,另有研究报道,在 2015 年 6 月至 2017 年 3 月期间对国内 7 个种鸡场共采集样品 2 185 份,分离到沙门氏菌 326 株,总体分离率为 14.92%<sup>[10]</sup>,以及本研究中父母代肉鸡的沙门氏菌阳性,表明目前在我国的种鸡中存在着不同程度的沙门氏菌感染,对子代具有较高的垂直传播风险。

本研究表明,泄殖腔拭子经 BPW 肉汤预增菌和 MKTTn 选择性培养基二次增菌后,通过对二次增菌液采用 *stm* 基因进行 PCR 扩增与选择性培养基进行分离的结果比较,显示二次增菌后直接 PCR 扩增检测和分离纯化两种方法具有很高的符合率:细菌分离纯化确认为阳性的 110 份样品中,PCR 直接检测结果为 109 份阳性和 1 份可疑。因此,在大规模调查沙门氏菌感染率时,通过二次增菌后直接进行 PCR 检测可以显著提高检测效率,节约劳动强度和时间成本。

本研究中对 110 株沙门氏菌分离株进行药敏

试验的结果表明,所有沙门氏菌分离株的耐药谱比较接近,而且均为多重耐药菌株,提示这些分离株具有相同或相近来源。与已有研究报道的零售市场鸡肉中分离的沙门氏菌对磺胺异恶唑、四环素、氨苄西林、氧氟沙星和多粘菌素 B 呈现的多重耐药性<sup>[11]</sup>不同的是,本研究中的沙门氏菌分离株对多粘菌素 B、多西环素、甲氧苄啶、氟苯尼考、头孢噻肟、恩诺沙星等普遍使用的兽用抗生素(除青霉素和阿莫西林外)具有普遍的敏感性,而对呋喃妥因、利福平、利奈唑胺、万古霉素等人用抗生素具有较广泛的耐药性,预示其具有造成人类交叉感染的可能性。本研究的耐药基因检测结果表明,所有菌株中均仅检测到  $\beta$ -内酰胺类耐药基因 *bla*TEM,一方面表明这些分离株可能具有相同或相近来源,另一方面也可能是因为本研究对耐药基因的检测范围有限,导致某些耐药基因漏检。

MLST 技术可以对沙门氏菌分离株进行溯源分析,本研究结果显示所有沙门氏菌分离株均为 ST11 型,结合其较单一的多重耐药谱和耐药基因,表明本研究中的沙门氏菌分离株系统发育很相近,其来源单一。解放军总医院对 2015–2017 年收集的 78 株人感染沙门氏菌临床分离株进行 MLST 分析,结果以 ST11 型为主<sup>[12]</sup>;石家庄地区对 2011–2016 年导致食物中毒的沙门氏菌分离株进行 MLST 分型,其优势 ST 型为 ST11<sup>[13]</sup>;南京医科大学儿童医院对 2014 年 7 月至 2015 年 10 月腹泻患儿大便标本分离鉴定了沙门氏菌 43 株,MLST 分型显示,ST11 和 ST34 是优势 ST 型<sup>[14]</sup>。因此,ST11 型沙门氏菌是导致人感染沙门氏菌的主要分子型。有研究通过对 116 株动物源沙门氏菌进行 MLST 分析,结果显示鸡源沙门氏菌多为 ST11 型的肠炎沙门氏菌和 ST17 型的印第安那沙门氏菌<sup>[15]</sup>。沙门氏菌血清型与 MLST 分型一般存在着较好的对应关系,根据文献报道 ST11 分子型与肠炎沙门氏菌具有对应关系<sup>[12,14]</sup>,因此判定本研究

所分离的沙门氏菌血清型均为肠炎沙门氏菌。近年来,人感染沙门氏菌主要以 ST11 分子分型的肠炎沙门氏菌为主,提示禽源制品中的沙门氏菌污染很有可能是导致人感染沙门氏菌的部分原因,尤其是 ST11 型的菌株,因此,加强种鸡群的沙门氏菌净化和商品代鸡群的沙门氏菌预制,对于控制和切断禽源沙门氏菌传播到人类具有重要意义。

## REFERENCES

- [1] Pan XX, Zhu M, Mei LL, et al. Study on the contamination status and drug resistance of *Salmonella* in food[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2006, 16(9): 1103-1104 (in Chinese)  
潘雪霞, 朱敏, 梅玲玲, 等. 食品中沙门氏菌污染状况及耐药性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(9): 1103-1104
- [2] Jiao XA. Salmonellosis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015: 14-15 (in Chinese)  
焦新安. 沙门氏菌病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015: 14-15
- [3] Huang JL, Zong Q, Zhao F, et al. Quantitative surveys of *Salmonella* and *Campylobacter* on retail raw chicken in Yangzhou, China[J]. Food Control, 2016, 59: 68-73
- [4] Hou XJ, Wang HY, Wu KM, et al. The comparison of serotype and antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from the chicken meats and the diseased chickens[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2015, 51(9): 88-90 (in Chinese)  
侯雪娇, 王海源, 吴科敏, 等. 鸡肉源与病鸡源沙门氏菌血清型及耐药状况的比较[J]. 中国兽医杂志, 2015, 51(9): 88-90
- [5] Phagoo L, Neetoo H. Antibiotic resistance of *Salmonella* in poultry farms of Mauritius[J]. Journal of World's Poultry Research, 2015, 5(3): 42-47
- [6] Zha H, Shi HY, Ji ZY, et al. Analysis of distribution and serotype of avian *Salmonella* in Eastern China[J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2013, 44(2): 329-332 (in Chinese)  
查华, 石火英, 吉贞颖, 等. 华东地区禽源沙门氏菌的分布及血清型分析[J]. 畜牧兽医学报, 2013, 44(2): 329-332
- [7] Wang J. Influence of subinhibitory concentrations of antibiotics on biofilm formation in antimicrobial-resistant *Salmonella* of porcine origin[D]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong Agriculture University, 2012 (in Chinese)  
王军. 亚抑菌浓度抗生素对猪源耐药沙门氏菌生物膜形成的影响[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2012
- [8] Cai YQ. Phenotypic and genotypic correlation analysis of *Salmonella* isolates from slaughterhouse, retail markets and

- humans in Yangzhou[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2015 (in Chinese)
- 蔡银强. 扬州地区屠宰场、农贸市场以及人源沙门菌分离株表型和基因型相关性研究[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2015
- [9] Luo W, Huang CY, Wang Y, et al. Epidemiological investigation and drug resistance analysis of *Salmonella* in a large-scale chicken farm[J]. China Poultry, 2019, 41(2): 49-52 (in Chinese)
- 罗薇, 黄翠颖, 王洋, 等. 某规模化种鸡场沙门菌流行病学调查和耐药性分析[J]. 中国家禽, 2019, 41(2): 49-52
- [10] Fei X. Prevalence, antimicrobial resistance and molecular characterization of *Salmonella* isolates from breeder farms of China[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2017 (in Chinese)
- 费晓. 我国部分地区种鸡场沙门菌流行现状调查、耐药性分析及分子分型[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2017
- [11] Zhang L, Fu Y, Xiong ZY, et al. Highly prevalent multidrug-resistant *Salmonella* from chicken and pork meat at retail markets in Guangdong, China[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2104
- [12] Jing Y, Luo YP, Ye K, et al. Geno-typing and drug resistance gene analysis of *Salmonella* in Chinese PLA General Hospital from 2015 to 2017[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2019, 42(3): 209-213 (in Chinese)
- 荆颖, 罗燕萍, 叶坤, 等. 2015至2017年解放军总医院沙门菌分子分型和耐药基因特征分析[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(3): 209-213
- [13] Niu LY, Xu BH, Wang Y, et al. Multilocus sequence typing of *Salmonella* strains isolated from food poisoning in Shijiazhuang during 2011–2016[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2018, 28(9): 1060-1062,1066 (in Chinese)
- 牛莉娅, 徐保红, 王燕, 等. 2011年–2016年石家庄地区食物中毒株沙门菌的多位点序列分型[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(9): 1060-1062,1066
- [14] Xu F, Wang TT, Tan H, et al. The multilocus sequence typing and drug resistance characteristics of *Salmonella* in children with diarrhea[J]. Journal of Clinical Pediatrics, 2018, 36(7): 520-523 (in Chinese)
- 徐飞, 王庭庭, 谈华, 等. 腹泻儿童沙门菌多位点序列及耐药特征分析[J]. 临床儿科杂志, 2018, 36(7): 520-523
- [15] Qi XX, Chen JH, Zhang XR, et al. Epidemiologic characteristics and antibiotic resistance phenotypes and genotypes of *Salmonella* from food animals[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2018, 34(2): 150-157 (in Chinese)
- 岂晓鑫, 陈建皓, 张小荣, 等. 动物源沙门菌的耐药表型、基因型及流行特征研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2018, 34(2): 150-157