

研究报告

2020年绍兴市145株分离自食源性腹泻患者和生禽肉的沙门菌表型及基因组特征分析

张琴超,周梁康,陈吉铭,唐诗洁,何琴芬
(绍兴市疾病预防控制中心,浙江绍兴 312071)

摘要:目的 监测绍兴市临床分离株和食品分离株沙门菌的分子分型特征和耐药情况,分析部分临床分离株的基因组特征。方法 采用玻片凝集法鉴定血清型别,脉冲场凝胶电泳(PFGE)技术应用于分子分型,微量肉汤稀释法检测药物耐药性。开展全基因组测序,使用 BioNumerics V7.6 软件进行全基因组单核苷酸多态性(wgSNP)分型,采用 Pubmlst 确定 ST 型别,使用 ResFinder 4.1 抗性基因数据库和 VFDB 毒力基因数据库预测耐药基因和毒力基因。结果 135 株临床分离株和 10 株食品分离株沙门菌共检出 24 种血清型、109 种 PFGE 指纹图谱、80 种耐药表型,其中优势血清为鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌、伦敦沙门菌,其中食品分离株以伦敦沙门菌和乙型副伤寒沙门菌为主;主要耐氨苄西林、四环素、链霉素,且多重耐药率达 73.79%(107/145),其中食品分离株以耐氨苄西林、头孢唑啉、四环素和茶啉酸抗生素为主。30 株临床分离株沙门菌有 11 个 ST 型别,ST11 型的 4 株肠炎沙门菌属于同一进化枝,具有较近的遗传进化关系。共预测 31 种耐药基因,其中氨基糖苷类耐药基因 *aac(6')-Iaa* 携带率达 100%(30/30),其次为 β -内酰胺类耐药基因 *blaTEM-1B*(70%,21/30);预测出 224 种毒力基因,其中 107 种携带率达 100%(30/30)。结论 绍兴市沙门菌血清型、PFGE 图谱、耐药表型种类多样,多重耐药率较高,且选取的生禽肉不是导致绍兴市沙门菌感染的直接来源;部分临床分离株的耐药基因和毒力基因携带率较高。

关键词:沙门菌;血清型别;全基因组测序;耐药基因;毒力基因;食源性疾病患者

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)07-0774-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.07.002

Phenotypic and genomic characterization of 145 *Salmonella* strains from foodborne patients and raw poultry in Shaoxing City in 2020

ZHANG Qinchao, ZHOU Liangkang, CHEN Jiming, TANG Shijie, HE Qinfen
(Shaoxing Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Shaoxing 312071, China)

Abstract: Objective To monitor the molecular epidemiology and antimicrobial resistance pattern of *Salmonella* isolates recovered from the clinical and the food sources in Shaoxing City, the genomic characterization of some clinical strains were analyzed. **Methods** Slide agglutination method was used to determine the serovars. PFGE method was applied to study molecular classification. Broth microdilution method was performed to carry out drug resistance testing. Whole genome data were sequenced. Whole genome single nucleotide polymorphism (wgSNP) classification was performed by BioNumerics V7.6 software. The sequence types (ST), drug resistant genes and virulence genes were predicted with Pubmlst, ResFinder 4.1 and VFDB software, respectively. **Results** Twenty-four serotypes, 109 different PFGE fingerprints, 80 resistant patterns were detected in 135 clinical and the 10 food isolates of *Salmonella*. The predominant serovars were *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* and *Salmonella london*. The main serotypes in food were *Salmonella london* and *Salmonella paratyphi B*. *Salmonella* had high resistance to ampicillin, tetracycline and streptomycin. The multiple drug resistance rate reached 73.79% (107/145). The main drug resistance in food were ampicillin, cefazolin, tetracycline and nalidixic acid. A total of 11 diverse ST types were identified from the 30 clinical strains. Phylogenetic wgSNP comparisons demonstrated that four *Salmonella enteritidis* from ST11 types were genetically similar and clustered together. A total of 31 different antimicrobial resistance genes among these isolates were identified. The most common antimicrobial resistance genes were the aminoglycosides resistance

收稿日期:2023-03-07

基金项目:浙江省公共卫生应急检测关键技术重点实验室开放基金(2020-02);绍兴市科技计划项目基础公益类(2023A14019)

作者简介:张琴超 女 主管技师 研究方向为食源性疾病主动监测 E-mail:984114654@qq.com

通信作者:何琴芬 女 主管技师 研究方向为食品安全风险监测 E-mail:185449314@qq.com

gene *aac(6′)-Iaa* (100%, 30/30), the β -lactams resistance gene *blaTEM-1B* (70%, 21/30) and so on. A total of 224 virulence genes were also identified, and 107 of these existed among all isolates. **Conclusion** *Salmonella* in Shaoxing had a variety of serotypes and PFGE fingerprints, a complex resistant patterns, a high proportion of multiple drug resistance. The findings showed that selected raw poultry was not a direct source of local *Salmonella* infection. Part of the clinical strains had a high carrying rate of antimicrobial resistance genes and virulence genes.

Key words: *Salmonella*; serotype; whole genome sequencing; antimicrobial resistance gene; virulence gene; foodborne disease patient

沙门菌(*Salmonella*)可寄生于人类和动物的肠道。摄入未经彻底消毒和烹饪的受污染的水源和食品,会导致人类食物中毒。足够量沙门菌可分泌各种致病物质,克服机体相应的防护屏障,定植于小肠而引起各类临床症状^[1]。通过使用抗生素(如 β -内酰胺类干扰细菌细胞壁合成,氨基糖苷类干扰细菌蛋白质合成,喹诺酮类干扰细菌DNA复制、修复和重组等)可治疗沙门菌引起的疾病。但随着抗生素的不合理使用,耐药细菌和耐药基因加速产生和传播,耐药沙门菌正在挑战全球公众卫生健康^[2-4]。本研究对2020年分离于绍兴市腹泻患者粪便和部分生禽肉的沙门菌进行血清型、脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)分型、耐药情况研究,评估所选取的生禽肉对绍兴市公众健康的危害情况;了解部分临床分离株沙门菌的基因组生物学信息特征,为菌株潜在疫情暴发及耐药变异提供监测和预警。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

145株沙门菌中有135株分离于2020年绍兴市各县区食源性腹泻患者,10株分离于2020年流通和餐饮环节中的鸡肉、鸭肉等生禽肉。沙门菌标准菌株 Braenderup 血清型 H9812 由浙江省疾病预防控制中心提供。

1.1.2 主要仪器与试剂

VITEK-2 全自动细菌生化鉴定系统(法国 bioMérieux),比浊计(法国 bioMérieux Vitek),CHEF Mapper 型脉冲场凝胶电泳仪(美国 Bio-Rad),Gel XR 型凝胶成像仪(美国 Bio-Rad),Sensititre AIM 全自动菌液接种仪(美国 Thermo),Vizion 微生物药敏分析仪(美国 Thermo)。

沙门菌诊断血清试剂盒(丹麦 Statens Serum Institut),Seakem Gold(美国 Lonza),蛋白酶 K(北京 Solarbio),限制性内切酶 *Xba* I(美国 Promega),革兰阴性需氧菌药敏检测板(美国 Thermo),革兰氏阴性菌细菌鉴定卡(法国 bioMérieux)。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定及血清学分型

菌株鉴定按照 GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》^[5],血清学分型依据沙门菌诊断血清试剂盒结合《White-Kauffmann-Le Minor 抗原表(第9版)》指导书进行^[6]。

1.2.2 脉冲场凝胶电泳

参照《2020年国家食源性疾病预防工作手册》中沙门菌 PFGE 标准操作程序进行分子分型^[7];采用 Gel XR 型凝胶成像仪观察并拍摄图像,使用 BioNumerics V7.6 软件 UPGMA 方法进行聚类分析。

1.2.3 药敏试验

采用微量肉汤稀释法对145株沙门菌进行药敏试验,使用 Vizion 微生物药敏分析仪分析沙门菌对氨苄西林(Ampicillin, AMP)、氨苄西林/舒巴坦(Ampicillin/sulbactam, AMS)、四环素(Tetracycline, TET)、氯霉素(Chloramphenicol, CHL)、链霉素(Streptomycin, STR)、复方新诺明(Trimethoprim-sulfamethoxazole, SXT)、头孢唑啉(Cefazolin, CFZ)、头孢噻肟(Cefotaxime, CTX)、头孢他啶(Ceftazidime, CAZ)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)、头孢西丁(Cefoxitin, CFX)、亚胺培南(Imipenem, IMI)和美罗培南(Meropenem, MEM)等25种抗生素的敏感程度。

1.2.4 全基因组测序及生物信息学分析

将30株纯培养的临床分离株送公司(浙江天科)进行 Illumina NovaSeq 测序。使用 PATRIC 在线拼接软件进行全基因组组装。使用 BioNumerics V7.6 软件进行全基因组单核苷酸多态性(Whole genome single nucleotide polymorphism, wgSNP)分析及最大可能进化树构建。参考 Pubmlst 的沙门菌管家基因(*aroC*、*dnaN*、*hemD*、*hisD*、*purE*、*sucA*、*thrA*)库确定 ST 型^[8]。依据 ResFinder 4.1 抗性基因数据库和 VFDB 毒力基因数据库,对沙门菌的获得性耐药基因和毒力基因分别进行预测。

2 结果

2.1 血清型分布

2020年绍兴市各县区食源性腹泻患者和

生禽肉中分离的145株沙门菌可划分为24种血清型,主要血清型为鼠伤寒沙门菌(60株)、肠炎沙门菌(21株)、伦敦沙门菌(14株)、乙型副伤寒沙门菌(11株)、德尔卑沙门菌(7株)、里森沙门菌(6株)、

阿邦尼沙门菌(4株)、都柏林沙门菌(3株),其余血清型分别仅含1~2株。其中,食品分离株主要的血清型为伦敦沙门菌(2株)、乙型副伤寒沙门菌(2株),其余血清型各含1株(图1)。

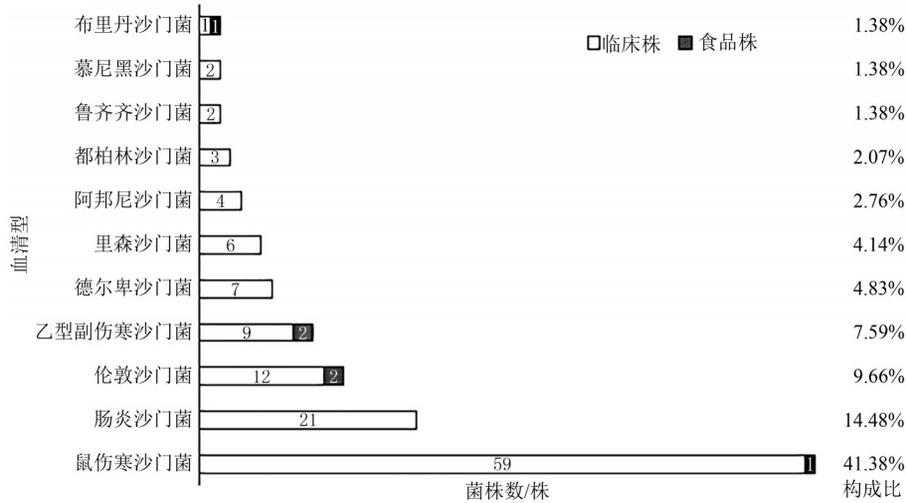


图1 2020年浙江省绍兴市145株分离自食源性腹泻患者和生禽肉沙门菌血清型分布

Figure 1 Serotype distribution of the 145 isolates of *Salmonella* from clinical and raw poultry in 2020, Zhejiang Province, Shaoxing City

2.2 PFGE 分子分型

145株沙门菌用 *Xba*I 酶切后,获得109种PFGE指纹图谱,分子量为20~1200 kb,条带间相似度为39.4%~100%(图2)。各带型包含1~8株菌,S101型含8株,S79型含7株,S30型含6株,S104型含4株,S102型含3株,剩余带型包含菌株均少于3株。其中,只有S21型和S80型中包含临床分离株和食品分离株,其余带型内不包含两类分离株。

2.3 药物敏感性分析

145株沙门菌对25种抗生素存在不同程度的耐药现象(耐药率0.00%~75.86%),有10株临床分离株和1株食品分离株对所有抗生素均不耐药。其中,AMP耐药率最高(75.86%),其次为TET(66.90%)和STR(61.38%),IMI和阿米卡星(AMI)无耐药现象,见表1。分离株对所有抗生素的敏感率在19.31%~100%,对AMI最敏感(100%),其次为IMI(99.31%)、MEM(99.31%)、CFX(97.24%),见图3。

2.4 多重耐药性分析

145株分离株耐药模式繁多,共有80种耐药谱型,125株临床分离株的主要耐药谱型为AMP-TET-MIN-STR($n=10$)、NAL($n=6$)、AMP-NAL-STR($n=6$)、AMP-AMS-TET-CFZ-NAL-CT-STR($n=6$);9株食品分离株的耐药谱均不相同,分别为AZM-LEV-KAN-STR、AMP-TET-CHL-SXT-CFZ、AMP-AMS-TET-CFZ-CTX-GEN-NAL-CIP、AMP-AMS-CFZ-NAL-AMC-CT-PB-KAN-STR、AMP-NAL-CT-PB、AMP-AMS-TET-CHL-

SXT-CFZ-GEN-AZI-STR、NAL、TET-CHL、AMP-AMS-TET-CHL-SXT-CFZ-CTX-CAZ-GEN-NAL-CIP-MIN-AZM-FEP-LEV-STR。共有107株对3类及以上抗生素耐药,多重耐药率为73.79%,主要耐 β -内酰胺类、四环素类及氨基糖苷类抗生素(表2)。

2.5 基因组分型特点

30株临床分离株沙门菌MLST分型共发现11个ST型别,其中ST11型有11株,ST34型有7株,ST155型有3株,ST19型和ST1499型各2株,剩余型别各1株。ST分型结果比较分散,仅ST19型和ST34型间有1个管家基因的差异。

在全基因组序列选择一定数量的SNP,将分离株分为25个进化枝,分离株之间存在0~200 SNPs差异。最大进化枝含4株ST11型肠炎沙门菌,其次为含2株ST34型鼠伤寒沙门菌和2株ST19型鼠伤寒沙门菌的进化枝,其余进化枝各1株(图4)。

2.6 耐药基因分布

依据ResFinder4.1抗性基因数据库,30株临床分离株沙门菌预测出31种耐药基因(图4)。其中*aac(6')*-Iaa基因检出率为100.00%,其次为*bla*TEM-1B基因(70.00%)、*aph(6)*-Id基因(56.67%)、*sul2*基因(53.33%)、*gyrA*基因(53.33%)、*aph(3'')*-Ib基因(50.00%)。*aac(3)*-IV和*aadA2b*基因只存在于SX2020-069,*aadA2*、*tet(M)*和*cml*基因只存在于SX2020-089,*catA2*基因只存在于SX2020-072,*aadA8b*基因只存在于SX2020-085。

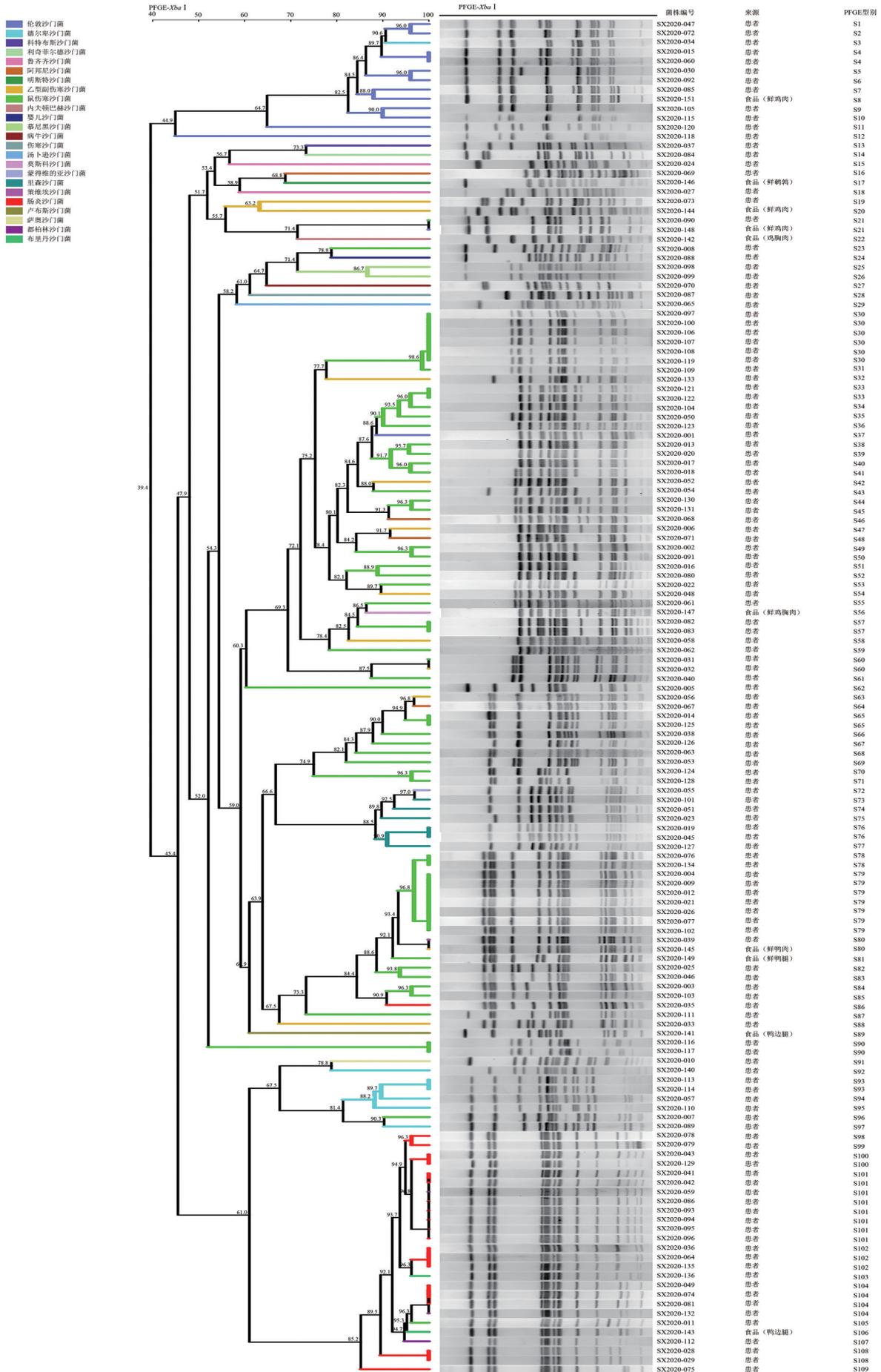


图2 2020年浙江省绍兴市各血清型沙门菌 PFGE 聚类分析图

Figure 2 PFGE cluster analysis of *Salmonella* serotypes in 2020 in Zhejiang Province, Shaoxing City

表1 2020年浙江省绍兴市分离自食源性腹泻患者和生禽肉的145株沙门菌的耐药性

Table 1 Antimicrobial resistance of the 145 isolates of *Salmonella* from clinical and raw poultry in 2020, Zhejiang Province, Shaoxing City

抗生素类别	抗生素种类	耐药率/[n(%)]		
		临床分类株(n=135)	食品分类株(n=10)	合计(n=145)
β-内酰胺类	AMP	104(77.04)	6(60.00)	110(75.86)
	AMS	49(36.30)	4(40.00)	53(36.55)
	CFZ	44(32.59)	5(50.00)	49(33.79)
	CTX	13(9.63)	2(20.00)	15(10.34)
	CAZ	6(4.44)	1(10.00)	7(4.83)
	CFX	2(1.48)	0(0.00)	2(1.38)
	IMI	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
	阿莫西林/克拉维酸(Amoxicillin-clavulanic acid, AMC)	7(5.19)	1(10.00)	8(5.52)
	氨曲南(Aztreonam, AZM)	12(8.89)	2(20.00)	14(9.66)
	头孢吡肟(Cefepime, FEP)	4(2.96)	1(10.00)	5(3.45)
	MEM	1(0.74)	0(0.00)	1(0.69)
	氨基糖苷类	庆大霉素(Gentamicin, GEN)	15(11.11)	3(30.00)
AMI		0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
卡那霉素(Kanamycin, KAN)		8(5.93)	2(20.00)	10(6.90)
四环素类	STR	85(62.96)	4(40.00)	89(61.38)
	TET	92(68.15)	5(50.00)	97(66.90)
氯霉素	米诺环素(Minocycline, MIN)	49(36.30)	1(10.00)	50(34.48)
	CHL	42(31.11)	4(40.00)	46(31.72)
大环内酯类	阿奇霉素(Azithromycin, AZI)	10(7.41)	1(10.00)	11(7.59)
	多黏菌素E(Polymyxin E, CT)	26(19.26)	2(20.00)	28(19.31)
多肽类	多黏菌素B(Polymyxin B, PB)	8(5.93)	2(20.00)	10(6.90)
	SXT	37(27.41)	3(30.00)	40(27.59)
磺胺类	萘啶酸(Nalidixic, NAL)	57(42.22)	5(50.00)	62(42.76)
	CIP	18(13.33)	2(20.00)	20(13.79)
喹诺酮类	左氧氟沙星(Levofloxacin, LEV)	3(2.22)	2(20.00)	5(3.45)

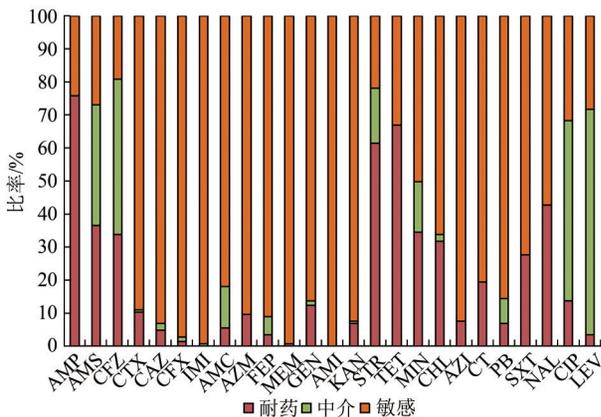


图3 2020年浙江省绍兴市分离自食源性腹泻患者和生禽肉的145株沙门菌药敏检测结果

Figure 3 Drug resistance testing of the 145 isolates of *Salmonella* from clinical and raw poultry in 2020, Zhejiang Province, Shaoxing City

2.7 毒力基因分布

依据 VFDB 毒力基因数据库, 30 株临床分离株沙门菌预测出 224 种毒力基因。图 5 展示了 107 种耐药基因, 以下基因未被展示: 伤寒沙门菌 SX2020-087 含除 *twiA* 基因外的 Vi 抗原(*twiA-E*、*vexA-E* 基因), 所有菌株均含 Agf/Csg 毒力因子(*csgA-B*、*csgD-G* 基因)、Bcf 毒力因子(*bcfA-G* 基因)、Fim 毒力因子(*fimA*、*fimC-D*、*fimH-I*、*fimZ* 基因)、Stb 毒力因子(*stbB*、*stbD-E* 基因)、Std 毒力因子(*stdA-C* 基因)、Sth 毒力因子(*sthA-E* 基因)、TTSS(SPI-1 编码)

毒力因子(*hila*、*hilC-D*、*iacP*、*iagB*、*invA*、*invC*、*invE-J*、*orgA-C*、*prgH-K*、*sicA*、*sicP*、*sipD*、*spaO-S*、*sprB* 基因)、TTSS(SPI-2 编码)毒力因子(*ssaC-E*、*ssaG-H*、*ssaJ-R*、*ssaT-V*、*sscA-B*、*sseB-E*、*ssrA-B* 基因)、依赖系统的 TTSS 传递效应物(*slrP*、*sspH1* 基因)、TTSS-1 传递效应物(*sipA-C*、*sopA*、*sopB/sigD*、*sopD*、*sopE2*、*sptP* 基因)、TTSS-2 传递效应物(*pipB2*、*pipB*、*sifA-B*、*sopD2*、*sseF*、*sseL* 基因)、巨噬细胞诱导基因 *Mig-14* (*mig-14* 基因)、Mg²⁺通道(*mgtB-C* 基因)、应激蛋白 *SodCI*(*sodCI* 基因)、PhoPQ(*phoP-Q* 基因)。*safA*、*sefA*、*sefB*、*sefD*、*stgC*、*tcfA*、*spvC*、*spvD* 基因不存在于所有菌株中, *staA*、*staE*、*sseA*、*spiC/ssaB* 基因只存在于 SX2020-089, *stgA*、*stgB*、*stgD*、*cdtB*、*pltA* 基因只存在于 SX2020-087, *ssaS* 基因只存在于 SX2020-085, *ipaH*、*rmlD*、*katG*、*hlyA*、*cysC1*、*orfH* 基因只存在于 SX2020-093。

3 讨论

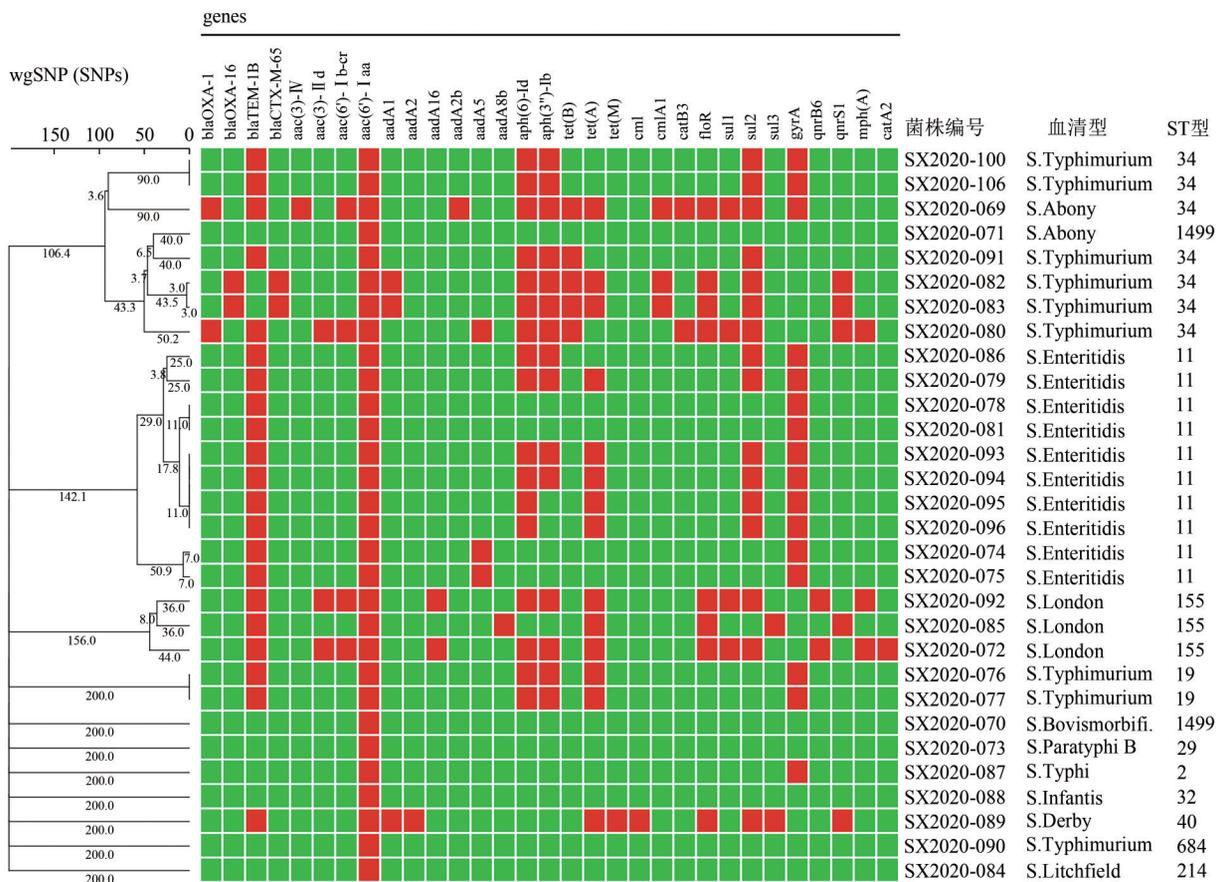
2020 年绍兴市沙门菌优势血清型为鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌和伦敦沙门菌, 与 2017—2019 年绍兴市监测结果保持一致^[9]; 多重耐药率为 73.79%, 主要耐 β-内酰胺类、四环素类及氨基糖苷类抗生素(AMP、TET 和 STR), 耐药情况基本处于稳定状态^[9]。相关部门将继续监测绍兴市沙门菌血清型和耐药情况的动态变化, 及时掌握流行动态, 为

表2 2020年浙江省绍兴市分离自食源性腹泻患者和生禽肉的145株沙门菌的多重耐药谱

Table 2 Multidrug resistance spectrum of the 145 isolates of *Salmonella* from clinical and raw poultry in 2020, Zhejiang Province, Shaoxing City

部分耐药谱	菌株数/株	来源	比例/%
AMP-TET-MIN-STR	10	临床分离株	6.90
AMP-NAL-STR	6	临床分离株	4.14
AMP-AMS-TET-CFZ-NAL-CT-STR	6	临床分离株	4.14
AMP-TET-CFZ-NAL-STR	4	临床分离株	2.76
AMP-TET-CHL-SXT-MIN	4	临床分离株	2.76
AMP-TET-NAL-STR	4	临床分离株	2.76
AMP-NAL-CT	4	临床分离株	2.76
AMP-AMS-TET-CHL-CFZ-CTX-MIN-AZM-STR	3	临床分离株	2.07
AMP-AMS-TET-MIN-STR	2	临床分离株	1.38
AMP-TET-SXT	2	临床分离株	1.38
AMP-AMS-CFZ-NAL-CT-STR	2	临床分离株	1.38
AMP-TET-CHL-SXT-MIN-STR	2	临床分离株	1.38
AMP-AMS-TET-SXT-STR	2	临床分离株	1.38
AMP-AMS-TET-CHL-SXT-GEN-AZI-CIP-STR	2	临床分离株	1.38
AMP-AMS-CFZ-NAL-STR	2	临床分离株	1.38
AMP-TET-CHL-SXT-GEN-AZI-CIP-STR	2	临床分离株	1.38
AMP-AMS-TET-CHL-SXT-CFZ-CTX-MIN-AZM-FEP-STR	2	临床分离株	1.38

注:表中仅展示菌株数量大于1的多重耐药谱



注:红色方块为阳性,绿色方块为阴性

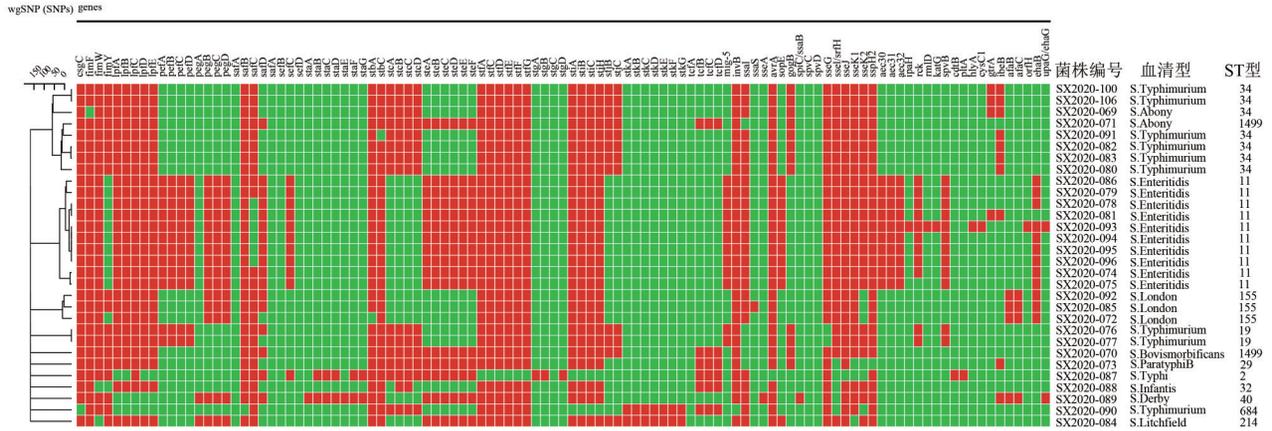
图4 wgSNP系统发育树及耐药基因分布

Figure 4 Phylogenetic tree of wgSNP and distribution of drug resistance genes

今后绍兴市沙门菌感染临床用药提供试验支持。

PFGE 分型结果显示,临床分离株与食品分离株图谱之间差异大,仅有 SX2020-090(患者)和 SX2020-148(食品)、SX2020-039(患者)和 SX2020-145(食品)的 PFGE 谱型相同;结合血清型结果显

示,血清型各不相同,分别为鼠伤寒沙门菌、伦敦沙门菌、策维埃沙门菌和乙型副伤寒沙门菌,提示血清型和 PFGE 谱型并非完全对应可能存在复杂的遗传克隆关系^[10];结合药敏结果显示,前两株沙门菌均不存在耐药现象,对所有药物敏感,而后两株沙



注:红色方块为阳性,绿色方块为阴性

图5 wgSNP系统发育树及毒力基因分布

Figure 5 Phylogenetic tree of wgSNP and distribution of virulence genes

门菌耐药谱型分别为 AMP-TET-NAL-STR 和 AMP-AMS-TET-CHL-SXT-CFZ-GEN-AZI-STR。血清型和药敏结果提示本次选取的生禽肉不是导致绍兴市沙门菌感染的直接来源,因此未选择食品株进行测序。随着全基因组测序的推广,碍于经费限制等因素,本研究根据药敏试验和 PFGE 分子分型等结果,选择了 30 株临床分离株进行测序,以了解绍兴市沙门菌的部分基因组特征。wgSNP 构建的系统发生树结果发现,属于最大进化枝的 4 株 ST11 型沙门菌,血清型一致(肠炎沙门菌),PFGE 图谱相同(S101 型),来自于同一县区,推测这 4 株菌之间可能存在较近的遗传进化关系。

β-内酰胺类药物耐药主要是由 β-内酰胺酶介导。本研究中,24 株临床分离株沙门菌对 β-内酰胺类耐药,其中 23 株耐药基因与耐药表型一致,仅 SX2020-071 不含该类耐药基因,推测可能存在未被抗性基因数据库收录的耐药基因。在氨基糖苷类耐药基因预测中,检测出众多氨基糖苷类耐药基因,所有菌株均携带 *aac(6′)-Iaa* 基因;有 10 株对该类药物不耐药,推测该基因可能需要协同其他机制才能发挥作用;剩余菌株的该类耐药基因和耐药表型有很高的一致性。四环素类耐药基因预测结果显示,16 株沙门携带该类耐药基因,耐药表型与基因一致;但 SX2020-071 和 SX2020-100 不含该类耐药基因却出现耐药现象,推测可能存在未被抗性基因数据库收录的耐药基因。喹诺酮类药物作为治疗沙门菌疾病的首选药物^[11],本研究沙门菌对 NAL 耐药高达 42.76%。有研究报道沙门菌基因组上喹诺酮耐药决定区发生突变,常介导 NAL 耐药;而携带质粒介导的喹诺酮耐药基因可能会产生耐药^[12-13]。在本研究中,19 株沙门菌对喹诺酮类耐药,其中 16 株沙门菌的 *gyrA* 基因发生突变,突变类

型有 Asp87Tyr (D87Y, 9/16)、Asp87Gly (D87G, 2/16)、Asp87Asn (D87N, 2/16)、Ser83Tyr (S83Y, 2/16)、Ser83Phe (S83F, 1/16),均表现为 NAL 耐药;7 株沙门菌分别携带 *qnrB6* 基因(2 株)和 *qnrS1* 基因(5 株),但不完全对喹诺酮类药物耐药,符合上述结论。

研究报道,沙门菌毒力基因与致病性呈正相关性^[14]。毒力基因预测结果显示,沙门菌毒力基因检出率高,107 种毒力基因在所有菌株中存在。这些毒力基因功能包括黏附性(Agf/Csg、Bcf、Fim 等)、分泌系统[TTSS(SPI-1 编码)、TTSS(SPI-2 编码)等]、抗菌肽耐药性(Mig-14)、镁吸收通道(Mgt)、应激蛋白(SodCI)、调控系统(PhoPQ),与临床症状结果一致。

本研究从血清型、PFGE 分型、耐药表型三方面对绍兴市腹泻患者分离株和所选取的生禽肉分离株进行研究,发现沙门菌血清型种类繁多,PFGE 图谱之间差异大,耐药谱广泛,多重耐药率较高,耐药趋势平稳,提示持续监测绍兴市沙门菌耐药特征,可为临床用药提供参考。对比发现所选取的生禽肉不是绍兴市沙门菌感染的直接来源,这可能与本研究所选取的生禽肉采样覆盖面不全等因素有关,提示今后的食品监测应拓宽监测范围及加大监测力度,以期找到绍兴市污染源进行有效控制。从表型和基因型研究发现,临床分离株的耐药基因和毒力基因携带率高,耐药基因与耐药表型并非完全遵循对应关系,这可能与某些耐药基因所在位置、遗传结构、是否表达、耐药基因之间的协同作用等因素有关。沙门菌耐药机制非常复杂,本研究样本量有限,有待扩大样本量或大批量菌株中筛选典型菌株深入研究,今后将继续通过全基因组测序预测沙门菌耐药基因变化,监测绍兴市耐药发展趋势。

参考文献

- [1] TSAI C N, COOMBES B K. The role of the host in driving phenotypic heterogeneity in *Salmonella* [J]. Trends in Microbiology, 2019, 27(6): 508-523.
- [2] ED-DRA A, FILALI F R, KARRAOUAN B, et al. Prevalence, molecular and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from sausages in Meknes, Morocco [J]. Microbial Pathogenesis, 2017, 105: 340-345.
- [3] THUNG T Y, RADU S, MAHYUDIN N A, et al. Prevalence, virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serovars from retail beef in Selangor, Malaysia [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 8: 2697.
- [4] MEDALLA F, GU W D, FRIEDMAN C R, et al. Increased incidence of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella* infections, United States, 2004—2016 [J]. Emerging Infectious Diseases, 2021, 27(6): 1662-1672.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 4789.4—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. National Health and Family Planning Commission of THE P. R. C., State Food and Drug Administration. GB 4789.4—2016 National standard for food safety: food microbiological inspection *Salmonella* detection [S]. Beijing: China Standards Press, 2016.
- [6] 朱超, 许学斌. 沙门氏菌属血清型诊断[M]. 上海: 同济大学出版社, 2009: 145-292. ZHU C, XU X B. Serological diagnosis of *Salmonella*-species [M]. Shanghai: Tongji University Press, 2009: 145-292.
- [7] 国家食品安全风险评估中心. 2020年国家食源性疾病监测工作手册[Z]. 2020. China National Center for Food Safety Risk Assessment. 2020 work manual of national foodborne illness surveillance[Z]. 2020.
- [8] JOLLEY K A, BRAY J E, MAIDEN M C J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications [J]. Wellcome Open Research, 2018, 3: 124.
- [9] 张琴超, 陈金堃, 陈吉铭, 等. 2017—2019年绍兴市沙门菌病人分离株的耐药性与分子分型分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(5): 542-548. ZHANG Q C, CHEN J K, CHEN J M, et al. Analysis of molecular type and antimicrobial resistance of clinical strains of *Salmonella* in Shaoxing, 2017—2019 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(5): 542-548.
- [10] 施怡茹, 赵锦江, 卢晓芸, 等. 沙门氏菌血清型多态性与 PFGE 分型及其相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(14): 2017-2019. SHI Y R, ZHAO J J, LU X Y, et al. Serotype polymorphism and PFGE typing of *Salmonella* and the study on their correlation [J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2020, 17(14): 2017-2019.
- [11] ZHAN Z Q, XU X B, GU Z, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of invasive non-typhoidal *Salmonella* in China, 2007—2016 [J]. Infection and Drug Resistance, 2019, 12: 2885-2897.
- [12] CHEN K C, YANG C, DONG N, et al. Evolution of ciprofloxacin resistance-encoding genetic elements in *Salmonella* [J]. mSystems, 2020, 5(6): e01234-e01220.
- [13] 曲梅, 黄瑛, 田祎, 等. 北京市2010—2020年多重耐药肯塔基沙门氏菌流行特征分析[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(7): 1252-1259. QU M, HUANG Y, TIAN Y, et al. Analysis on epidemiological characteristics of multidrug-resistant *Salmonella* Kentucky in Beijing, 2010—2020 [J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2021, 42(7): 1252-1259.
- [14] 包轶伦, 李辉, 李孟寒, 等. 2014—2015年北京市批发市场肉类食品中沙门氏菌表型和基因组特征分析[J]. 中华预防医学杂志, 2022, 56(6): 815-823. BAO Y L, LI H, LI M H, et al. Phenotypic and genomic characterization for *Salmonella* isolates recovered from meat products in Beijing wholesale markets, 2014—2015 [J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2022, 56(6): 815-823.