

食源性疾病

赣州市食源性腹泻患者分离沙门菌耐药性和分子分型特征研究

方欢,王洁莲,唐满妹,王珏鑫,苏俊枝,胡晓军,廖勇,雷琼
(赣州市疾病预防控制中心,江西赣州 341000)

摘要:目的 了解赣州市食源性沙门菌耐药性和分子分型特征,建立赣州市食源性沙门菌耐药性和分子指纹图谱数据库,为临床合理用药和食源性沙门菌病的暴发溯源提供科学依据。方法 对赣州市 2020—2022 年食源性疾病主动监测中分离的 136 株沙门菌进行血清分型、药物敏感性试验、全基因组测序(WGS)和脉冲场凝胶电泳(PFGE),并进行耐药基因注释和图谱聚类分析。结果 赣州市食源性沙门菌对 STR 耐药率最高(83.09%),其次为 TET(78.68%)和 AMP(76.47%);多重耐药菌株占 76.47%,耐药谱型广泛,主要流行耐药谱型为 AMP-TET-CHL-STR-SXT;WGS 预测出 7 种类别共 61 种耐药基因,以氨基糖苷类耐药基因携带率(99.19%)最高,大环内酯类(8.87%)最低;136 株沙门菌以鼠伤寒变种和鼠伤寒为优势血清型,经 PFGE 分子分型分为 98 种带型。结论 赣州市食源性沙门菌耐药状况严重,耐药基因携带率高且基因型多样,PFGE 分子型别呈多态性,优势血清型别可能引起暴发流行,应加强监测和研究。

关键词:沙门菌;耐药性;全基因组测序;耐药基因;脉冲场凝胶电泳;分子分型;食源性疾病;食源性致病菌

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)04-0471-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.04.017

Drug resistance and molecular typing of *Salmonella* isolated from foodborne diseases in Ganzhou City

FANG Huan, WANG Jielian, TANG Manmei, WANG Juexin, SU Junzhi,
HU Xiaojun, LIAO Yong, LEI Qiong

(Ganzhou Center for Disease Control and Prevention, Jiangxi Ganzhou 341000, China)

Abstract: Objective To provide scientific basis for rational clinical use and traceability of outbreaks of foodborne Salmonellosis, the drug resistance and molecular typing characteristics of foodborne *Salmonella* in Ganzhou City was understood, and a database of drug resistance and molecular fingerprinting of foodborne *Salmonella* in Ganzhou City was established. **Methods** Serotyping, drug susceptibility testing, whole genome sequencing (WGS) and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) were performed on 136 strains of *Salmonella* isolated from the active surveillance of foodborne diseases in Ganzhou City from 2020 to 2022. And drug resistance gene annotation and graphical clustering analysis were performed. **Results** The highest rate of foodborne *Salmonella* in Ganzhou City was found for STR resistance (83.09%), followed by TET (78.68%) and AMP (76.47%). Multi-drug resistant strains accounted for 76.47%, with a wide range of resistance spectrum types, and the main prevalent resistance spectrum type was AMP-TET-CHL-STR-SXT. WGS predicted a total of 61 resistance genes in 7 categories, with the highest rate of aminoglycoside resistance genes (99.19%) and the lowest rate of macrolides (8.87%). 136 strains of *Salmonella* with *S. typhimurium* variant and *S. typhimurium* as the dominant serotype were classified into 98 band types by PFGE molecular typing. **Conclusion** Foodborne *Salmonella* in Ganzhou City has a serious drug resistance status, with a high rate of drug resistance gene carriage and diverse genotypes. The PFGE molecular type is polymorphic. The dominant serotype may cause outbreaks and epidemics, and surveillance and research should be strengthened.

Key words: *Salmonella*; drug resistance; whole genome sequencing; drug resistance gene; pulsed field gel electrophoresis; serotyping; foodborne diseases; foodborne pathogenic

收稿日期:2023-03-23

基金项目:江西省卫生健康委科技计划课题(202212374)

作者简介:方欢 女 主管技师 研究方向为病原微生物

E-mail:asterfh@163.com

通信作者:雷琼 女 副主任技师 研究方向为理化检测

E-mail:leiyoan@qq.com

沙门菌被公认为是导致食源性疾病的主要致病菌,据报道^[1],全球每年有 9 380 万人患病是由沙门菌感染引起,其中 15.5 万人死亡。在我国,每年有 987 万人因沙门菌感染引起胃肠炎^[2]。随着抗生素的广泛使用及滥用,细菌耐药率不断上升,多重耐药沙门菌增多,严重影响沙门菌感染疾病的治疗。

疗。在中国部分地区不同来源的沙门菌中,多重耐药沙门菌占比 63.27%^[3-4]。在欧洲,每年因多重耐药细菌感染死亡的人数约 2.5 万人^[5]。2017 年 WHO 公布耐药性沙门菌在全球十二大耐药性细菌排名中位列第八,属于高度耐药^[6]。沙门菌耐药问题严重,已成为全球食品安全和人类健康的巨大威胁^[7-8]。本研究通过对 2020—2022 年赣州市食源性疾病主动监测中腹泻病人分离的沙门菌进行血清分型和药物敏感性试验,并应用全基因组测序(Whole genome sequencing, WGS)和脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)技术进行耐药基因和同源性分析,掌握我市食源性沙门菌的耐药性和分子分型特征,建立我市食源性沙门菌耐药性数据库和分子指纹图谱数据库,为临床治疗和预防食源性沙门菌病的暴发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

2020 年 1 月~2022 年 12 月赣州市开展食源性疾病主动监测的 2 家国家级哨点医院送检的腹泻患者粪便或肛拭子标本中分离的沙门菌 136 株。

1.1.2 主要仪器与试剂

Microflex LT/SH Smart 质谱仪(布鲁克);MGISEQ-200 测序仪(华大);CHEF Mapper 电泳仪(Bio-Rod);Gel Doc 凝胶成像仪(Bio-Rad)。

沙门菌属诊断血清(宁波天润);革兰氏阴性需氧菌药敏检测板(上海星佰);QIAamp DNA Mini Kit(德国 QIAGEN);酶切 DNA 文库制备试剂套装(华大);内切酶 *Xba* I (TaKaRa);所有试剂均在有效期内。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定及血清分型

参照国家食源性疾病主动监测工作手册和 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》进行沙门菌的分离培养与鉴定,可疑菌株用布鲁克质谱仪器进行鉴定。沙门菌属血清诊断采用玻片凝集试验,同时用生理盐水作为对照。根据血清凝集试验结果,依据 Kauffman-White 抗原表确定血清型别。

1.2.2 药敏试验

使用上海星佰的革兰氏阴性需氧菌药敏检测板,采用微量肉汤稀释法对沙门菌进行药敏试验,测定菌株对氨苄西林(Ampicillin, AMP)、氨苄西林-舒巴坦(Ampicillin-Sulbactam, AMS)、四环素(Tetracycline, TET)、美罗培南(Meropenem, MEM)、多黏菌素 E

(Polymyxin E, CT)、头孢噻肟(Cefotaxime, CTX)、头孢他啶(Ceftazidime, CAZ)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)、阿奇霉素(Azithromycin, AZI)、氯霉素(Chloramphenicol, CHL)、链霉素(Streptomycin, STR)、复方新诺明(Sulfamethoxazole-trimethoprim, SXT)、阿米卡星(Amikacin, AMK)共 13 种药物的最低抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)。参照美国临床与实验室标准协会发布标准 CLSI 进行耐药结果的判定,每次试验均使用大肠埃希菌 ATCC 25922 进行质控。

1.2.3 全基因组测序及分析

使用德国 QIAGEN 的 QIAamp DNA Mini Kit 试剂盒,提取菌株 DNA, Qubit 核酸测定仪测定 DNA 浓度(≥ 7.2 ng/ μ L)后,用华大智造酶切 DNA 文库制备试剂套装,通过酶切打断、末端修复&添加 dA 尾、接头连接、PCR 扩增、变性、单链环化、酶切消化等进行 WGS 文库的构建,利用华大智造 MGISEQ-200 高通量测序平台完成菌株的全基因组序列,测序方案 PE100。测序完成后用微生物基因组分析系统(Microbial genome annotation package, MGAP)对测序数据进行过滤、整理和组装。得到的基因组序列上传至 Center for Genomic Epidemiology,通过与 ResFinder 数据库比对,获得菌株的抗生素耐药基因。

1.2.4 PFGE 分子分型

参照国家致病菌识别网技术手册—非伤寒沙门菌标准操作程序进行沙门菌的 PFGE 分子分型。分子质量标准使用沙门菌 H9812 标准株,内切酶使用 *Xba* I, 37 °C 酶切 3 h,电泳参数设置:分子量 30~700 kb,初始转换时间 2.16 s,终末转换时间 63.8 s,电泳时间 18.5 h。电泳结束后用 GelRed 染色 30 min,用纯水漂洗脱色后拍照,电泳图谱上传至国家致病菌识别网进行条带分析。

1.2.5 统计学分析

采用 Excel 表整理数据,SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计数资料使用率或构成比[$n(\%)$]表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药敏试验结果

136 株沙门菌对 AMK 和 MEM 全部敏感,对 CAZ、AZI 和 CTX 也有较高的敏感性,敏感率依次为 88.97%、88.24% 和 82.35%。对 STR 耐药率最高,为 83.09% (113/136),其次为 TET (78.68%, 107/136)和 AMP (76.47%, 104/136),详见表 1。

表1 136株赣州市食源性腹泻患者分离沙门菌药敏试验结果

Table 1 Drug sensitivity test 136 *Salmonella* strains from diarrhea patients in Ganzhou City

| 抗生素种类 | 抗菌药物 | 耐药 | | 敏感 | | 中介 | |
|-------|------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | | 菌株数/株 | 耐药率/% | 菌株数/株 | 敏感率/% | 菌株数/株 | 耐药率/% |
| β内酰胺类 | AMP | 104 | 76.47 | 31 | 22.79 | 1 | 0.74 |
| | AMS | 58 | 42.65 | 33 | 24.26 | 45 | 33.09 |
| | CTX | 22 | 16.18 | 112 | 82.35 | 2 | 1.47 |
| | CAZ | 11 | 8.09 | 121 | 88.97 | 4 | 2.94 |
| 碳青霉烯类 | MEM | 0 | 0 | 136 | 100.00 | 0 | 0 |
| 喹诺酮类 | CIP | 21 | 15.44 | 63 | 46.32 | 52 | 38.24 |
| 磺胺类 | SXT | 66 | 48.53 | 70 | 51.47 | 0 | 0 |
| 氯霉素类 | CHL | 68 | 50.00 | 68 | 50.00 | 0 | 0 |
| 氨基糖苷类 | STR | 113 | 83.09 | 3 | 2.21 | 20 | 14.71 |
| | AMK | 0 | 0 | 136 | 100.00 | 0 | 0 |
| 大环内酯类 | AZI | 16 | 11.76 | 120 | 88.24 | 0 | 0 |
| 四环素类 | TET | 107 | 78.68 | 28 | 20.59 | 1 | 0.74 |
| 多黏菌素 | CT | 11 | 8.09 | 0 | 0 | 125 | 91.91 |

2.2 沙门菌多重耐药情况和耐药谱型

有9株菌对13种测试药物全部敏感,占6.62%。耐3种及3种以上抗生素的多重耐药菌株占76.47%(104/136),对5种抗生素耐药的最多,占30.15%,最高为7重耐药菌株,占5.88%。2020—2022年共出现56种耐药谱型,2020年多重耐药谱型14种,2021年20种,2022年28种,耐药谱型广泛且逐年增多。其中有5种共同耐药谱,分别是STR、TET-STR、AMP-AMS-TET-STR、AMP-TET-CHL-STR-SXT、AMP-AMS-TET-CHL-STR-SXT; AMP-TET-CHL-STR-SXT为主要流行耐药谱,共17株,占12.50%。沙门菌多重耐药情况和主要流行的耐药谱型(耐药菌株3株以上),详见图1和表2。

2.3 沙门菌耐药基因型

136株沙门菌有124株获得全基因组序列(其中有12株未开展WGS),通过与ResFinder数据库比对,预测出7种类别共61种耐药基因。124株沙门菌携带的耐药基因型详见表3。以氨基糖苷类(99.19%)耐药基因携带率最高;其次为四环素类

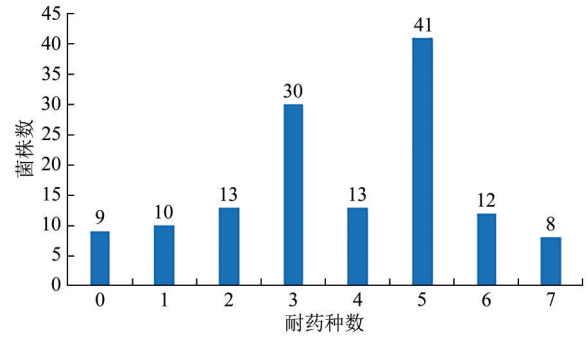


图1 136株赣州市食源性腹泻患者分离沙门菌多重耐药情况

Figure 1 Multi-drug resistance of 136 *Salmonella* strains from diarrhea patients in Ganzhou City

表2 主要流行耐药谱型

Table 2 Main prevalent drug resistance spectrum types

| 耐药谱型 | 菌株数/株 | 构成比/% |
|---------------------------------|-------|-------|
| STR | 7 | 5.15 |
| TET-STR | 7 | 5.15 |
| AMP-TET-STR | 5 | 3.68 |
| AMP-AMS-TET-STR | 9 | 6.62 |
| AMP-TET-CHL-SXT-STR | 17 | 12.50 |
| AMP-AMS-TET-CT-STR | 3 | 2.21 |
| AMP-AMS-TET-CHL-SXT-STR | 11 | 8.09 |
| AMP-AMS-TET-CIP-AZI-CHL-STR-SXT | 3 | 2.21 |

(79.03%)、磺胺类(73.39%)和β内酰胺类(68.55%),大环内酯类耐药基因携带率(8.87%)最低。

β内酰胺类耐药基因型种类最多达22种,主要的基因型为 bla_{TEM-1B} (57.26%, 71/124),有1株AMP耐药沙门菌携带 bla_{TEM-34} 、 bla_{TEM-36} 、 $bla_{TEM-122}$ 、 $bla_{TEM-163}$ 、 bla_{TEM-33} 、 $bla_{TEM-206}$ 、 bla_{TEM-2} 、 $bla_{TEM-164}$ 、 bla_{TEM-35} 、 $bla_{TEM-141}$ 和 bla_{TEM-1B} 共11种耐药基因。其次为氨基糖苷类耐药基因型13种,主要基因型为 $aac(6')-Iaa$ (97.58%, 121/124);磺胺类耐药基因型10种,主要基因型为 $sul2$ (61.29%, 76/124);四环素类耐药基因型3种,主要基因型为 $tet(A)$ (40.32%, 50/124);氯霉素类耐药基因型8种,主要基因型为 $floR$ (37.10%, 46/124);喹诺酮类耐药基因型8种,主要

表3 124株沙门菌耐药基因携带情况

Table 3 Carried status of *Salmonella* drug-resistant genes of 124 strains

| 抗生素种类 | 耐药基因 | 携带耐药基因种类/种 | 携带耐药基因菌株数/株 | 携带率/% |
|-------|--|--|-------------|-------|
| β内酰胺类 | bla_{TEM-34} 、 bla_{TEM-36} 、 $bla_{TEM-122}$ 、 $bla_{TEM-163}$ 、 bla_{TEM-33} 、 $bla_{TEM-206}$ 、 bla_{TEM-2} 、 $bla_{TEM-164}$ 、 bla_{TEM-35} 、 $bla_{TEM-141}$ 、 bla_{TEM-1B} 、 $bla_{CTX-M-55}$ 、 $bla_{CTX-M-14}$ 、 $bla_{OXA-235}$ 、 bla_{OXA-10} 、 bla_{OXA-1} 、 bla_{OXA-16} 、 $bla_{CTX-M-65}$ 、 bla_{LAP-2} 、 bla_{DHA-1} 、 $bla_{CTX-M-64}$ 、 bla_{CMY-2} | 22 | 85 | 68.55 |
| | 喹诺酮类 | $gyrA$ 、 $qnrS1$ 、 $qnrS2$ 、 $qnrB4$ 、 $qnrB6$ 、 $OqxA$ 、 $OqxB$ 、 $aac(6')-Ib-cr$ | 8 | 62 |
| 磺胺类 | $sul1$ 、 $sul2$ 、 $sul3$ 、 $dfrA12$ 、 $dfrA14$ 、 $dfrA17$ 、 $dfrA27$ 、 $OqxA$ 、 $OqxB$ 、 $gyrA$ | 10 | 91 | 73.39 |
| 氯霉素类 | $OqxA$ 、 $OqxB$ 、 $floR$ 、 cml 、 $cmlA1$ 、 $catA2$ 、 $catB3$ 、 bla_{CMY-2} | 8 | 63 | 50.81 |
| 氨基糖苷类 | $aadA1$ 、 $aadA2$ 、 $aadA2b$ 、 $aadA3$ 、 $aadA5$ 、 $aadA8$ 、 $aadA8b$ 、 $aadA16$ 、 $aadA22$ 、 $aph(6)-Id$ 、 $aph(3'')-Ib$ 、 $aac(6')-Ib-cr$ 、 $aac(6')-Iaa$ | 13 | 123 | 99.19 |
| 大环内酯类 | $mph(A)$ 、 $msr(E)$ | 2 | 11 | 8.87 |
| 四环素类 | $tet(A)$ 、 $tet(B)$ 、 $tet(M)$ | 3 | 98 | 79.03 |

基因型为 *qnrS1* (28.22%, 35/124); 大环内酯类耐药基因型 2 种, 主要基因型为 *mph* (A) (7.26%, 9/124)。

2.4 沙门菌耐药表型和耐药基因的相关性

将 WGS 注释的耐药基因与相应抗生素的药敏

试验结果进行比较, 发现不同抗生素的耐药基因和耐药表型一致性存在差异, 详见表 4。其中 MEM 的耐药表型与耐药基因完全相符, CAZ、TET、CHL 的灵敏度和特异性均大于 90%, CT 的灵敏度最低, AMK 的特异性最低。

表 4 124 株沙门菌耐药表型和耐药基因相关性分析

Table 4 Correlation analysis between drug-resistant phenotypes and drug-resistant genotypes of 124 *Salmonella* strains

| 抗生素 | 表型耐药 | | 灵敏度/% | 表型敏感 | | 特异性/% |
|-----|---------|---------|--------|---------|---------|--------|
| | 基因型耐药/株 | 基因型敏感/株 | | 基因型耐药/株 | 基因型敏感/株 | |
| CAZ | 11 | 0 | 100.00 | 6 | 103 | 94.50 |
| CTX | 16 | 5 | 76.19 | 1 | 100 | 99.01 |
| AMP | 84 | 15 | 84.85 | 1 | 23 | 95.83 |
| MEM | 0 | 0 | 100.00 | 0 | 124 | 100.00 |
| CIP | 15 | 4 | 78.95 | 9 | 49 | 84.48 |
| SXT | 55 | 6 | 90.16 | 36 | 27 | 42.86 |
| CHL | 58 | 5 | 92.06 | 5 | 56 | 91.80 |
| STR | 88 | 17 | 83.81 | 0 | 3 | 100.00 |
| AMK | 0 | 0 | 100.00 | 122 | 2 | 1.61 |
| AZI | 9 | 6 | 60.00 | 0 | 109 | 100.00 |
| TET | 93 | 7 | 93.00 | 3 | 19 | 86.36 |
| CT | 0 | 10 | 0 | — | — | — |

注:—表示该药物无敏感折点判断标准。灵敏度=表型耐药且基因型耐药菌株数/表型耐药菌株数, 特异性=表型敏感且基因型敏感菌株数/表型敏感菌株数

2.5 沙门菌血清型分布及多重耐药情况

136 株沙门菌共分为 21 种血清型, 鼠伤寒变种和鼠伤寒为优势血清型, 分别占 46.32% 和 25.76%; 里森沙门菌的 MDR 率最高(100%), 其次为鼠伤寒(97.14%), 不同血清型沙门菌多重耐药率差异有统计学意义($\chi^2=24.499, P<0.001$)。沙门菌血清型分布和多重耐药情况详见表 5。

表 5 多重耐药沙门菌的血清型分布

Table 5 Serotype distribution of multi-drug resistant *Salmonella*

| 血清型 | 菌株数/株 | 构成比/% | MDR 菌/株 | MDR 率/% |
|-------|-------|-------|---------|---------|
| 鼠伤寒 | 35 | 25.76 | 34 | 97.14 |
| 鼠伤寒变种 | 63 | 46.32 | 50 | 79.37 |
| 肠炎 | 7 | 5.15 | 6 | 85.71 |
| 里森 | 4 | 2.94 | 4 | 100.00 |
| 其他 | 27 | 19.85 | 12 | 44.44 |

注:其他包括德尔卑 2 株、斯坦利 2 株、伦敦 2 株、黄金海岸 2 株、利奇菲尔德 2 株、病牛 1 株、维尔肖 1 株、纽波特 2 株、婴儿 1 株、乙型副伤寒 1 株、蒙得维的亚 1 株、海法 2 株、圣保罗 1 株、汤卜逊 1 株、印第安纳 1 株、长湾泥 1 株、未分型 4 株

2.6 沙门菌 PFGE 分子分型结果

136 株沙门菌进行 PFGE 分子分型获得的电泳图谱上传至国家致病菌识别网信息系统进行分析并聚类, 得到 125 条有效条带(有 11 株 DNA 降解), 分为 98 种带型, 每种带型包含 1~4 株菌, 相似度在 4.11%~100% 之间, 未发现绝对优势带型。有 1 株以上菌株的带型有 18 种, 涉及 4 种血清型共 45 株菌, 分别为鼠伤寒变种的 9 种带型 24 株菌、鼠伤寒 7 种带型 17 株菌、肠炎和利奇菲尔德各 1 种带型各 2 株菌。除红色框选中的 4 株鼠伤寒分离

自一起暴发食物中毒事件外, 其他带型一致菌株均分离自散发病例, 见图 2。

3 讨论

由于抗菌药物在人和畜牧养殖业中的大量使用, 沙门菌对抗菌药物的耐药性增加, 耐药谱拓宽, 导致耐药基因的广泛传播和多重耐药沙门菌株的出现, 给人类健康和临床治疗带来严峻挑战。本研究结果显示, 赣州市食源性疾病分离沙门菌对 STR 的耐药率(83.09%)最高, 对临床常用抗生素 TET(78.68%)和 AMP(76.47%)也有较高的耐药率, 与黄会金等^[9]的研究相比, 赣州地区 TET、AMP、CHL 和 SXT 的耐药率较全省更高, 耐药水平与 2016 年中国 26 省市食品中分离沙门菌耐药性基本一致^[10]。多重耐药形势严峻, 多重耐药菌株占 76.47%, 低于 2010—2018 年马鞍山市^[11](82.6%), 高于 2017—2020 年济南市^[12](67.5%)的报道。耐药谱型广泛, 且呈逐年增多趋势。主要流行的耐药谱型 AMP-TET-CHL-STR-SXT(ACSSuT), 是沙门菌最常见的 2 个多重耐药谱型之一^[13]。

沙门菌对抗菌药物的耐药性与其所携带的耐药基因高度相关。沙门菌全基因组序列通过与 ResFinder 数据库比对预测的耐药基因分析结果显示, 我市食源性沙门菌耐药基因携带率高, 且基因型多样, 耐药基因携带率最高的是氨基糖苷类(99.19%), 最低的是大环内酯类(8.87%), 和游兴勇等^[14]与李月婷等^[15]的研究存在相似和不同

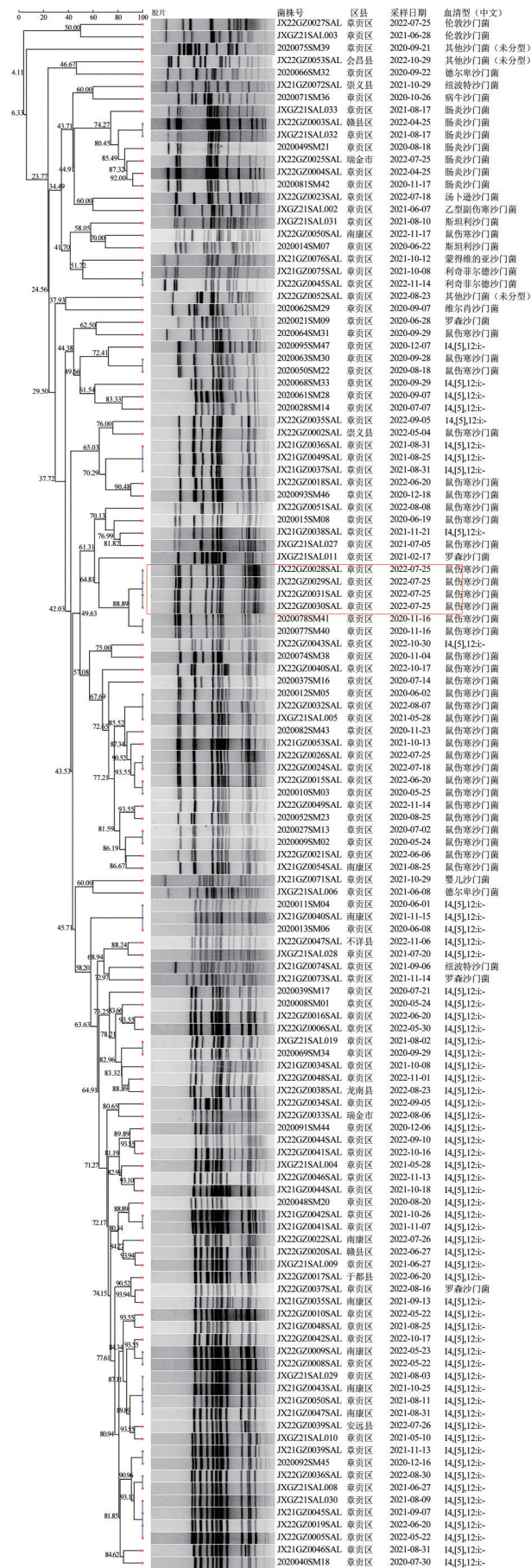


图2 125株沙门菌PFGE聚类分析结果(内切酶Xba I)

Figure 2 Results of PFGE clustering analysis of 125 *Salmonella* strains (endonuclease *Xba* I)

之处,除氯霉素类 *floR* 和四环素类 *tet(A)* 主要携带耐药基因不同外,其他 5 类药物主要携带耐药基因均与其研究一致,但主要耐药基因携带率和携带的耐药基因型有差异。 β 内酰胺类主要携带耐药基因,与王辉等^[16] 的研究不同。

沙门菌耐药表型和携带的耐药基因进行比较后发现,有部分菌株存在两种结果差异较大的情况。尤其突出的是,有 122 株 AMK 表型敏感的沙门菌均携带有耐药基因,10 株 CT 表型耐药的沙门菌却不携带耐药基因。沙门菌耐药机制非常复杂,可能原因是某些耐药基因表达水平低或不表达;耐药基因所在位置、遗传结构和几种耐药基因的协同交互作用;以及其他未知相关耐药性基因和耐药机制等因素,耐药表型难以与耐药基因型遵循严格的一致性。并且菌株来源、血清型、菌株数量等都会对研究结果产生影响。

从沙门菌血清型分布及多重耐药情况看,赣州市食源性沙门菌血清型分布具有多样性,优势血清型为鼠伤寒变种和鼠伤寒,不同血清型沙门菌多重耐药率差异有统计学意义,多重耐药率最高的是里森沙门菌(100%),其次为鼠伤寒(97.14%)。与青岛市^[17] 和杭州市^[18] 的研究结果不同,说明存在地域性差异。

PFGE 重复性好、分辨率强、特异性高,可分析菌株间的亲缘关系,已成为细菌分子分型的“金标准”,广泛应用于细菌性传染病监测、暴发调查和溯源中^[19]。本研究 PFGE 结果显示,赣州市食源性沙门菌 PFGE 带型呈散在多态性。除鼠伤寒变种、鼠伤寒、肠炎和利奇菲尔德 4 种血清型存在 PFGE 带型 100% 一致现象,其他血清型沙门菌未出现带型一致,且 4 种存在带型一致现象的血清型有跨地区、跨年度、跨时间存在的同一带型菌株,表明可能存在某些相同的食品污染源,且污染食品在市面持续流通。鼠伤寒变种和鼠伤寒沙门菌作为本市优势血清型,其 PFGE 带型成簇多、型别分散,但大部分同源性 >85%,表明可能来源于同一祖先克隆株^[20],可能会引起赣州市食源性疾病的暴发和流行,提示应及时追踪查找相关污染食品来源并消除,做好防控措施,有效预防食源性疾病的暴发和流行。

综上所述,赣州市食源性沙门菌耐药情况严重,多重耐药形势严峻,耐药基因携带率高且基因型多样,PFGE 分子型别呈散在多态性,优势血清型别可能会引起暴发和流行,应持续加强食源性沙门菌的耐药性和分子型别监测,制订科学的防控策略,控制食源性沙门菌多重耐药菌的产生和食源性

沙门菌病的暴发流行。随着科学技术的发展,WGS和PFGE已逐渐成为细菌耐药性和同源性分析的重要检测技术^[19,21],本研究系首次采用WGS和PFGE技术对赣州市食源性沙门菌进行耐药基因和分子分型的研究,丰富了本市沙门菌耐药监测数据库和分子分型数据库,为沙门菌耐药基因水平的研究及食源性沙门菌病的治疗和暴发溯源提供科学依据。

参考文献

- [1] SHANNON E M, JENNIE M, ELAINE S, et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis [J]. *Food Safety*, 2010, 50(6): 882-889.
- [2] WEI X Y, YOU L, WANG D, et al. Antimicrobial resistance and molecular genotyping of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis clinical isolates from Guizhou Province of Southwestern China [J]. *PLoS One*, 2019, 14(9): e0221492.
- [3] CHAO G, WANG C, WU T, et al. Molecular epidemiology and antibiotic resistance phenotypes and genotypes of *Salmonellae* from food supply chains in China [J]. *Food Control*, 2017, 77: 32-40.
- [4] 侯雪娇, 吴科敏, 莫国东, 等. 食源性沙门氏菌耐药表型与耐药基因的研究 [J]. *食品科学*, 2016, 37(19): 166-170.
HOU X J, WU K M, MO G D, et al. Evaluation of drug-resistant phenotypes and genes in Foodborne *Salmonella* isolates [J]. *Food Science*, 2016, 37(19): 166-170.
- [5] DAVIES S C, FOWLER T, WATSON J, et al. Annual report of the chief medical officer: Infection and the rise of antimicrobial resistance [J]. *The Lancet*, 2013, 381(9878): 1606-1609.
- [6] 黄晓黎, 陈晓, 王若南, 等. 耐三代头孢菌素沙门菌的耐药基因分析 [J]. *临床检验杂志*, 2021, 39(2): 105-109.
HUANG X L, CHEN X, WANG R N, et al. Analysis for drug resistance genes of *Salmonella* resistant to third-generation cephalosporins [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2021, 39(2): 105-109.
- [7] 武运, 吴浩天, 宋生建, 等. 肠炎沙门菌和哈瓦那沙门菌的耐药性及耐药基因分析 [J]. *现代食品科技*, 2017, 33(10): 37-44.
WU Y, WU H T, SONG S J, et al. Analysis of antibiotic resistance and related genes of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella havana* [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(10): 37-44.
- [8] 张丽华, 朱学海, 郭主声, 等. 市售活鸡和腹泻患者中非伤寒沙门菌分子特征和耐药性研究 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2014, 26(6): 605-609.
ZHANG L H, ZHU X H, GUO Z S, et al. Investigation on the molecular characteristics and drug resistance of nontyphoidal *Salmonella* isolates from commercial chickens and diarrhea patients [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2014, 26(6): 605-609.
- [9] 黄会金, 彭思露, 周厚德, 等. 2016—2018年江西省食源性腹泻患者沙门氏菌感染状况和耐药性分析 [J]. *现代预防医学*, 2020, 47(24): 4452-4455.
HUANG H J, PENG S L, ZHOU H D, et al. Prevalence and drug resistance of *Salmonella* isolated from diarrhea patients in Jiangxi Province in 2016-2018 [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2020, 47(24): 4452-4455.
- [10] 胡豫杰, 刘畅, 王美美, 等. 2016年中国26个省市食源性沙门菌耐药性特征分析 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2018, 30(5): 456-461.
HU Y J, LIU C, WANG M M, et al. Resistance characteristic analysis for foodborne *Salmonella* isolates from China, 2016 [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2018, 30(5): 456-461.
- [11] 洪颖, 王利, 陈谨, 等. 2010—2018年安徽省马鞍山市腹泻患者中非伤寒沙门菌的分子分型与耐药性研究 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2020, 36(8): 646-653.
HONG Y, WANG L, CHEN J, et al. Molecular typing and drug resistance of Non-typhoid *Salmonella* in diarrhea patients from 2010 to 2018 in Ma'anshan, Anhui Province, China [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2020, 36(8): 646-653.
- [12] 李娜, 刘辉, 李健, 等. 济南市腹泻患者沙门氏菌PFGE分子分型及耐药特征研究 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2021, 37(10): 893-897.
LI N, LIU H, LI J, et al. PFGE molecular typing and antimicrobial resistance testing of *Salmonella* from patients with diarrhea in Jinan, China [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2021, 37(10): 893-897.
- [13] PROROGA Y T R, CAPUANO F, CAPPARELLI R, et al. Characterization of non-typhoidal *Salmonella enterica* strains of human origin in central and southern Italy [J]. *Italian Journal of Food Safety*, 2018, 7(1): 6888.
- [14] 游兴勇, 彭思露, 周厚德, 等. 全基因组测序分析2018年江西省临床分离非伤寒沙门菌耐药性研究 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2020, 32(5): 493-498.
YOU X Y, PENG S L, ZHOU H D, et al. Analysis of nontyphoidal *Salmonella* clinical isolates antibiotic resistance based on whole genome sequencing in Jiangxi Province in 2018 [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2020, 32(5): 493-498.
- [15] 李月婷, 孙炳欣, 龚云伟, 等. 长春市沙门菌耐药特性及相关分子特征的分析 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2023, 33(6): 641-647.
LI Y T, SUN B X, GONG Y W, et al. Analysis of drug resistance characteristics and related molecular characteristics of *Salmonella* in Changchun city [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2023, 33(6): 641-647.
- [16] 王辉, 侯轩, 张微, 等. 79株沙门菌血清型分布及产超广谱 β -内酰胺酶耐药基因分析 [J]. *中国消毒学杂志*, 2022, 39(6): 423-426.
WANG H, HOU X, ZHANG W, et al. Distribution of 79 *Salmonella* serotypes and analysis of extended-spectrum β -lactamase resistance genes [J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2022, 39(6): 423-426.
- [17] 郭凯, 刘晓琳, 王伟栋, 等. 2014—2018年山东省青岛市腹泻病例中沙门菌分子分型及耐药分析 [J]. *疾病监测*, 2020, 35(4): 345-349.
GUO K, LIU X L, WANG W D, et al. Molecular typing and drug resistance of *Salmonella* in diarrhea cases in Qingdao, Shandong, 2014-2018 [J]. *Disease Surveillance*, 2020, 35(4):

- 345-349.
- [18] 郑之北, 郑伟, 汪皓秋, 等. 杭州地区多重耐药沙门氏菌的耐药特征[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 536-544.
ZHENG Z B, ZHENG W, WANG H Q, et al. Characteristics and molecular subtyping of multidrug resistant *Salmonella* in Hangzhou[J]. Microbiology China, 2021, 48(2): 536-544.
- [19] 王丽丽, 徐建国. 脉冲场凝胶电泳技术(PFGE)在分子分型中的应用现状[J]. 疾病监测, 2006, 21(5): 276-279.
WANG L L, XU J G. Application of pulsed field gel electrophoresis (PFGE) in molecular typing [J]. Disease Surveillance, 2006, 21(5): 276-279.
- [20] TENOVER F C, ARBEIT R D, GOERING R V, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1995, 33(9): 2233-2239.
- [21] 沈应博, 史晓敏, 沈建忠, 等. 全基因组测序与生物信息学分析在细菌耐药性研究中的应用[J]. 生物工程学报, 2019, 35(4): 541-557.
SHEN Y B, SHI X M, SHEN J Z, et al. Application of whole genome sequencing technology and bioinformatics analysis in antimicrobial resistance researches [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2019, 35(4): 541-557.