

研究报告

基于WGS对肠炎沙门菌进行遗传多样性及耐药分析

张林,雷高鹏,黄伟峰,吕虹,肖桃,梁倩,杨小蓉

(四川省疾病预防控制中心,四川 成都 610041)

摘要:目的 了解2020—2021年四川省食源性疾病主动监测肠炎沙门菌(SE)的遗传多样性及耐药特征,比较耐药预测表型与药敏检测结果的一致性,为基于全基因组测序(WGS)的暴发预警和耐药预测提供参考依据。方法 以2020—2021年四川省食源性疾病主动监测分离的222株SE为研究对象,开展全基因组测序分析,利用Snippy软件分析菌株单核苷酸多态性并构建系统发育树,利用ResFinder软件进行耐药基因注释和耐药表型预测。采用微量肉汤稀释法测定菌株对15种抗生素的最小抑菌浓度。结果 四川省222株SE中214株为Ⅱ群菌株,Ⅰ群和Ⅲ群菌株各4株。共识别26起疑似聚集性事件,主要为小型点源聚集事件。Ⅰ、Ⅲ群菌株对所有药物均敏感,Ⅱ群菌株对不同药物耐药情况不同,约78.5%为多重耐药菌。除多黏菌素E外,耐药表型预测结果与药敏检测结果有较强的一致性。结论 四川省食源性疾病主动监测SE主要为Ⅱ群菌株,Ⅱ群菌株被进一步分为SC-A和SC-B两个优势型及4个非优势型,具有较高的遗传多样性。基于WGS的单核苷酸多态性分型能从SE监测中发现病例的关联性和聚集性,为启动流行病学调查提供依据。大部分常用药物的耐药预测与表型检测结果的一致性较高,但对含两种以上抗生素的复方药物和CT的耐药预测还需进一步优化。

关键词:肠炎沙门菌;全基因组测序;耐药预测;分型

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2025)06-0513-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2025.06.002

Genetic diversity and antimicrobial resistance analysis of *Salmonella enterica* serovar enteritidis based on whole genome sequencingZHANG Lin, LEI Gaopeng, HUANG Weifeng, LYU Hong, XIAO Tao, LIANG Qian, YANG Xiaorong
(Sichuan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective To understand the genetic diversity and antimicrobial resistance characteristics of *Salmonella enterica* serovar enteritidis (SE) isolated from foodborne disease surveillance in Sichuan Province from 2020 to 2021, and to compare the consistency between the predicted phenotype of antimicrobial resistance and the results of antimicrobial susceptibility test, so as to provide reference for outbreak warning and antimicrobial resistance prediction based on (Whole genome sequencing, WGS). **Methods** A total of 222 strains of SE isolated from foodborne disease surveillance from 2020 to 2021 were analyzed by WGS, the single nucleotide polymorphism (SNP) of the strains were analyzed by snippy, and a phylogenetic tree was constructed. Using ResFinder to annotate determinants and predict antimicrobial resistance. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the strains against 15 antibiotics was determined with a micro broth dilution method. **Results** Two hundred and fourteen of 222 strains of SE were Group II, 4 strains each in Group I and Group III. A total of 26 suspected aggregation events were identified, mainly small point source aggregation events. Antimicrobial susceptibility tests showed that Group I and III of SE were susceptible to all antimicrobials tested. The Group II of SE had different resistance to 15 kinds of antibiotics, and about 78.5% were multi-drug resistant. The predicted results for some drugs are highly consistent with the phenotype, except polymyxin. **Conclusion** SE strains isolated from foodborne disease surveillance in Sichuan Province were mainly belonged to serogroup II strains, which were further divided into two dominant types, SC-A and SC-B, and four non-dominant types, with high genetic diversity. SNP typing based on WGS can detect the association and cluster of cases

收稿日期:2025-01-13

基金项目:国家疾控局高层次公共卫生技术人才建设项目培养计划;四川省“十四五”生命健康重大科技专项重大传染病监测预警与应对(2022ZDZX0017)

作者简介:张林 男 副主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail: jesse0110@126.com

通信作者:杨小蓉 女 主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail: yangyangxr@163.com

from SE monitoring, and provide a basis for initiating epidemiological investigations. The resistance prediction for most ordinary drug was highly consistent with the phenotype tests, but the resistance prediction of compound drugs containing more than two antibiotics and extraordinary drugs still needs to be optimized.

Key words: *Salmonella enterica* serovar enteritidis; whole genome sequencing; antimicrobial resistance prediction; subtyping

沙门菌是引起食源性疾病的重要病原菌之一,全球每年非伤寒沙门菌可引起近1亿食源性疾病病例和15.5万人死亡^[1]。肠炎沙门菌(*Salmonella enterica* serovar enteritidis, SE)是导致食源性疾病最常见的沙门菌血清型之一,其引起的感染病例数占全球沙门菌感染病例数的40%以上,在中国占30%以上^[2-3]。

基于全基因组测序(Whole genome sequencing, WGS)的分型方法,能够全面反映病原菌的遗传与变异特征,不仅对菌株系统发育和溯源分析具有更高的分辨率,还可同时获得毒力基因、耐药基因等重要遗传信息^[4-5],已在沙门菌监测及疾病暴发调查中得到广泛运用^[6-9]。SE遗传稳定性较高,传统的分子分型方法如脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)等在溯源分析中难以达到理想的分型效果,而WGS具有更高的分辨率和精度,可以有效识别SE菌株的聚集并溯源。在全球范围内,基于核心基因组单核苷酸多态性(Core genomic single nucleotide polymorphism, cgSNP)分析,SE被分为4个群^[10]。各群SE存在地域差异,I、III群菌株分别主要来源于欧美和非洲,IV群菌株主要来源于英国,II群菌株在全球均广泛分布,中国来源菌株主要为II A亚群。

沙门菌耐药已成为各国高度关注的公共卫生问题,WHO已将抗氟喹诺酮类药物的沙门菌列为对人类健康构成高风险的病原体之一^[11]。近年来,SE对临床常用抗生素不敏感性显著增加,有研究表明,国内来源SE耐药性日趋严重,菌株耐药基因携带率较高,多重耐药菌占比超过40%^[10,12]。

本研究基于WGS对2020—2021年四川省食源性主动监测中获得的SE开展遗传多样性和耐药表型预测;采用微量肉汤稀释法对分离株进行药物敏感试验,比较耐药表型预测结果与药敏检测结果的一致性,为基于WGS的暴发预警和耐药预测提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 菌株信息

2020—2021年四川省食源性主动监测中11个地市监测点分离上送的沙门菌,经本实验室生

化及血清凝集实验鉴定为SE的菌株,共222株。

1.2 DNA提取及WGS

取单克隆菌株按照Wizard®基因组DNA纯化试剂盒(Promega)说明书提取总DNA。WGS采用Next Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina(NEB)构建文库,HiSeq(Illumina)测序平台进行双端150 bp测序,测序深度100×。

1.3 耐药基因注释和耐药表型预测

将测序数据利用SPAdes(v3.13)软件进行拼接,获得全基因组序列。采用ResFinder(v4.1)将SE基因组序列与数据库进行耐药基因和耐药相关基因突变比对,同时获得ResFinder的耐药表型预测结果,阈值采用ResFinder默认参数(60%覆盖度及90%一致性)^[13]。

1.4 系统发育树构建

以SE P125109(NC_011294.1)为参考序列,利用Snippy(v4.4.5)软件获取222株四川来源SE及10株已分群国外菌株的单核苷酸多态性,通过IQ-TREE(v2.0.6)构建基于SNP的系统发育树并进行分群。将SNP差异数<10且发病时间间隔小于最大潜伏期(4 d)的菌株定义为疑似聚集性事件菌株^[9,14-17]。在包含疑似聚集性事件菌株的基因簇中,SNP差异数<10的菌株为同源菌株。

1.5 药物敏感试验

用微量肉汤稀释法测定222株SE对11类15种药物的最小抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC),包括青霉素类:氨苄西林(Ampicillin, AMP);β-内酰胺联合制剂类:氨苄西林/舒巴坦(Ampicillin/Sulbactam, AMS);头孢类:头孢唑啉(Cefazolin, CFZ)、头孢噻肟(Cefotaxime, CTX)、头孢他啶(Ceftazidime, CAZ)、头孢西丁(Cefoxitin, CFX);碳青霉烯类:亚胺培南(Imipenem, IPM);喹诺酮类:萘啶酸(Nalidixic acid, NAL)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP);叶酸途径抑制剂类:甲氧苄啶/磺胺甲恶唑(Trimethoprim/Sulfamethoxazole, SXT);氨基糖苷类:庆大霉素(Gentamicin, GEN);四环素类:四环素(Tetracycline, TET);苯丙醇类:氯霉素(Chloramphenicol, CHL);大环内酯类:阿奇霉素(Azithromycin, AZM);脂肽类:多黏菌素E(Colistin, CT)。所用药敏检测板为上海星佰科技有限责任公司定制,药物浓度见表1,实验

步骤及结果判读按说明书操作。实验采用大肠埃希氏菌 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 为质控菌株。判定依据参考美国临床和实验室标准协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 发布的抗微生物药物敏感性试验执行标准 CLSI M100-S34^[18]。

1.6 统计学分析

采用 Excel 2010 软件整理与汇总数据,分析描述所得数据数量、百分比。运用 SPSS 24.0 软件进行统计分析,采用 Kendall’s W 检验分析耐药表型预测结果与药敏检测结果的一致性,检验水准 $\alpha=0.01$,对于全部菌株均预测为敏感的药物,其表型预测结果与药敏检测结果的一致率采用 Excel 进行百分比计算(表型预测结果与检测结果一致的菌株数量/菌株总数)。

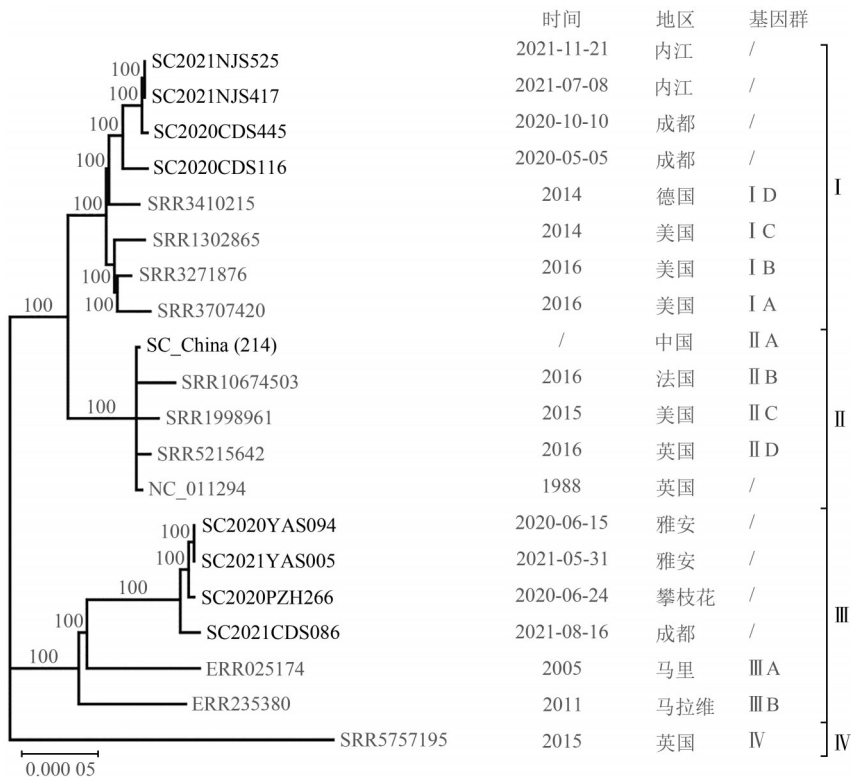
2 结果

2.1 WGS分析

2020—2021 年四川省食源性疾病主动监测中分离的 SE 属于 I、II、III 群,其中 I 和 III 群各 4 株,其余 214 株均为 II 群。四川省 I 群和 III 群菌株分离于 2020—2021 年 4 个地市(图 1),不存在时空关

联,且所有病例为 60 岁以上的老人和 6 岁以下的学龄前儿童,无跨国旅行史,与国外菌株存在较大差异,SNP 差异数为 179~245 个。214 株 II 群菌株标记为 SC_China,为我国优势群 II A 亚群(图 1),占菌株总数的 96.4%(214/222)。根据系统进化树分析,可将 SC_China 菌株进一步分为 SC-A(116 株)、SC-B(70 株)、SC-C(9 株)、SC-D(7 株)、SC-E(5 株) 5 个型及 7 株其他型别菌株(图 2)。其中 SC-A 和 SC-B 为优势型,分别占总分离数的 52.3%(116/222)和 31.5%(70/222)。

通过聚类分析,识别到 26 起疑似聚集性事件,分布在 24 个基因簇中,各基因簇的菌株均分离于单一地区(图 2)。基因簇 P 中依据发病时间包含 3 起疑似聚集性事件(6、7 和 9 月),但由于 SNP 差异数<10 标记为同一基因簇。各基因簇平均 SNP 差异数为 0~4.8,其中 23 个基因簇的 SNP 差异数<3,基因簇 A 中菌株差异较大,平均 SNP 差异数为 4.8。18 个基因簇没有同源菌株只包含疑似聚集性事件菌株,其余 6 个基因簇(A、C、D、K、P、U)中同源菌株日期间隔时间在 18-426 天,分别为 84、77、426、18、104 和 33 天。



注:四川省菌株以加粗标记

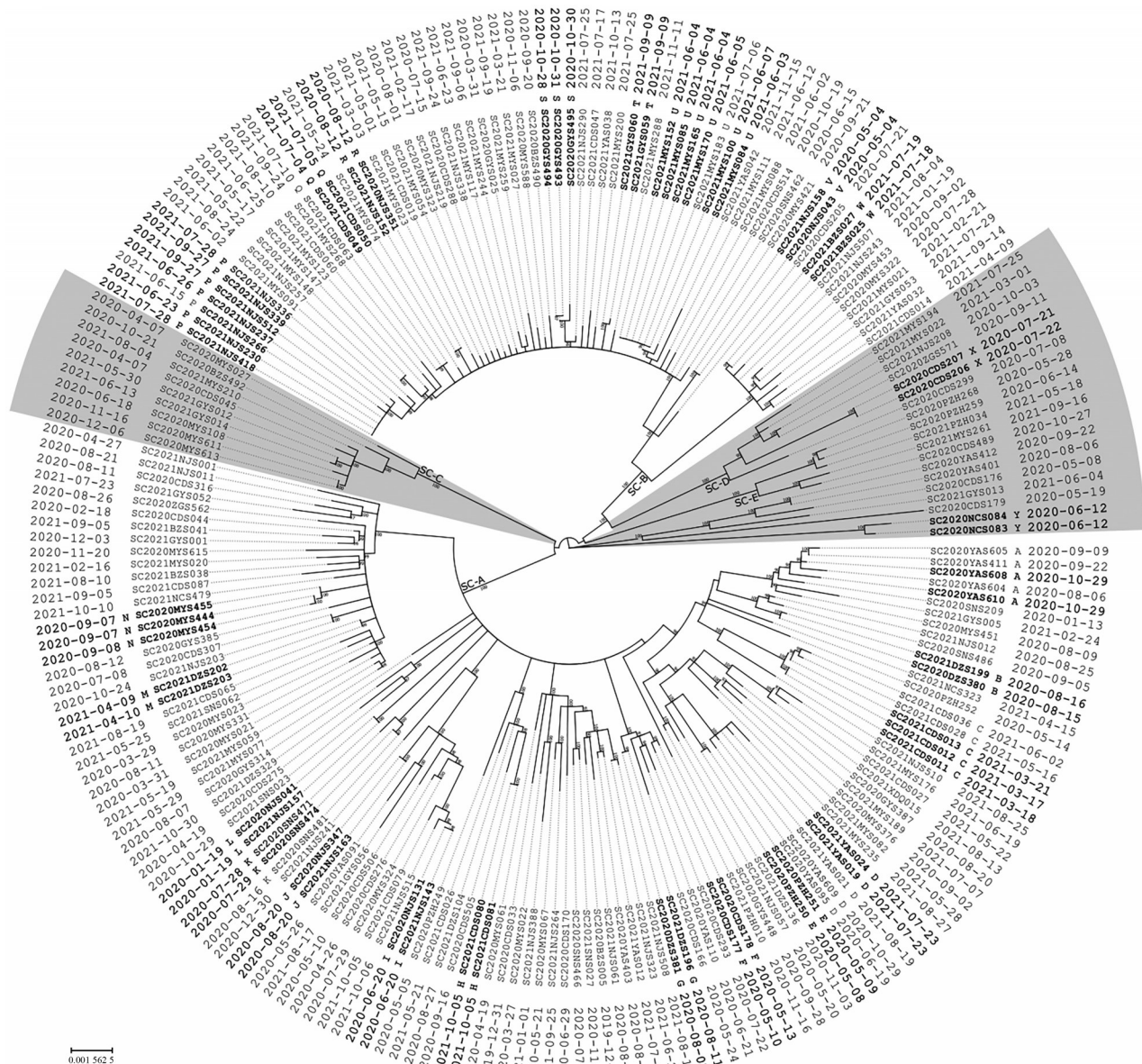
图 1 2020—2021 年四川省食源性疾病主动监测肠炎沙门菌及 10 株国外菌株系统发育树

Figure 1 Phylogenetic tree of SE from active surveillance of foodborne diseases in Sichuan Province from 2020 to 2021 and 10 foreign strains

2.2 药物敏感检测

2020—2021 年四川省食源性疾病主动监测 SE

分离株对 AMP、NAL 耐药率高达 80% 以上,50% 以上菌株耐受 CT,约三分之一的菌株耐受 AMS,近



注:疑似聚集性事件菌株以加粗标记,事件同源菌株用英文字母标记,非优势型(SC-C、SC-D、SC-E及其他型别菌株)所在分支用灰色标识

图2 2020—2021年四川省Ⅱ群肠炎沙门菌菌株系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of SE strains of group II in Sichuan Province from 2020 to 2021

30% 菌株耐受 CFZ 和 SXT, 15.3% 菌株耐受 TET, 分离株对其余药物耐药率均低于 10%。8 株四川省 I、Ⅲ群 SE 对所有药物均不耐药。214 株Ⅱ群 SE 对喹诺酮类药物耐药性较高, 99.1%(212/214) 的菌株对 NAL 耐药, 97.2%(208/214) 的菌株对 CIP 不敏感。优势型菌株 SC-A(116 株)和 SC-B(70 株)对多种 β -内酰胺类药物不敏感, 对 AMP 耐药率达到 100%(186/186), 97.3%(181/186) 对 AMS 不敏感, 91.9%(173/186) 对 CFZ 不敏感。而 92.9%(26/28) 的非优势菌株(SC-C、SC-D、SC-E 及其他型别菌株)对 AMP、AMS、CFZ 敏感。耐 TET 菌株以 SC-A 为主, 占耐 TET 菌株数的 94.1%(32/34); 耐 SXT 菌株以 SC-B 为主, 占耐 SXT 菌株数的 96.6%(57/59)。78.5%(168/214) Ⅱ群菌株为多重耐药菌(耐 3 类及以上药物), 其

中 98.8%(166/168) 为优势型 SC-A(105 株)和 SC-B(61 株)菌株。详见表 1。

2.3 耐药决定因子注释

通过 ResFinder 分析共得到 5 类药物 13 种耐药决定因子, 未检测到其他类别耐药决定因子。本研究所有菌株均携带氨基糖苷类耐药基因 *aac* (6')-*Iaa*。与 I、Ⅲ群菌株不同, SC_China 菌株 *gyrA* 基因均有突变。不同型 SC_China 菌株的 *gyrA* 基因突变也有差异, SC-A 和 SC-E 为 p. D87Y, SC-B 和 SC-D 为 p. D87G, SC-C 和其他型别菌株为 p. D87N。优势型 SC-A 和 SC-B 均携带 β -内酰胺类耐药基因 *bla*_{TEM-1B}。SC-A 以携带 *bla*_{TEM-1B}、*gyrA*、*aac* (6')-*Iaa*、*aph* (3'')-*Ib*、*aph* (6)-*Id*、*tet* (A)、*sul2* 为主, 而 SC-B 携带 *bla*_{TEM-1B}、*gyrA*、*aac* (6')-*Iaa*、*dfrA17*、

aadA5。1 株 SC-D 菌株携带 *bla*_{CTX-M-14}，同时携带 2 种以上 β-内酰胺类耐药基因的有 7 株,3 株 SC-A 菌株携带 *bla*_{CMY-2} 和 *bla*_{TEM-1B},4 株 SC-A 菌株携带 *bla*_{CTX-M-14} 和 *bla*_{TEM-1B}。详见表 2。

表 1 2020-2021 年四川省食源性疾病主动监测 II 群肠炎沙门菌药物敏感检测结果
Table 1 Results of antimicrobial susceptibility testing for SE Group II from active foodborne disease surveillance in Sichuan Province from 2020 to 2021

药物类别	药物	浓度/(μg/mL)	SC-A(n=116)		SC-B(n=70)		非优势型(n=28)		总计(n=214)		耐药率/%
			I	R	I	R	I	R	I	R	
青霉素类	AMP	2~64	0	116	0	70	0	2	0	188	87.9
β-内酰胺联合制剂	AMS	2/1~64/32	49	67	61	4	1	1	111	72	33.6
	CFZ	0.5~16	65	50	48	8	0	2	113	60	28.0
头孢类	CTX	0.25~8	0	8	0	1	0	2	0	11	5.1
	CAZ	1~32	2	2	1	0	0	0	3	2	0.9
	CFX	2~64	1	2	0	0	0	0	1	2	0.9
碳青霉烯类	IPM	0.25~8	0	0	0	0	1	0	1	0	0.0
喹诺酮类	NAL	2~64	0	114	0	70	0	28	0	212	99.1
	CIP	0.03~32	115	0	66	0	27	0	208	0	0.0
叶酸途径抑制剂类	SXT	0.25/4.75~8/152	0	2	0	57	0	0	0	59	27.6
氨基糖苷类	GEN	1~32	0	1	0	1	0	1	0	3	1.4
四环素类	TET	1~32	0	32	0	1	0	1	0	34	15.9
苯丙醇类	CHL	2~64	0	1	0	2	0	1	0	4	1.9
大环内酯类	AZM	4~64	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
脂肽类	CT	0.12~4	38	78	31	39	12	16	81	133	62.1

注:非优势型包括 SC-C、SC-D、SC-E 及其他型别菌株

表 2 2020—2021 年四川省食源性疾病主动监测肠炎沙门菌耐药决定因子注释结果
Table 2 Annotated results of resistance determinants in SE from active foodborne disease surveillance in Sichuan Province from 2020 to 2021

药物类别	耐药基因	SC-A(n=116)	SC-B(n=70)	非优势型(n=28)	I,Ⅲ(n=8)
β-内酰胺类	<i>bla</i> _{TEM-1B}	116	70	0	0
	<i>bla</i> _{CTX-M-14}	4	0	1	0
	<i>bla</i> _{CMY-2}	3	0	0	0
喹诺酮类	<i>gyrA</i> (p.D87G)	0	70	7	0
	<i>gyrA</i> (p.D87N)	0	0	16	0
	<i>gyrA</i> (p.D87Y)	116	0	5	0
叶酸途径抑制剂	<i>dfrA17</i>	0	70	0	0
	<i>sul2</i>	114	0	0	0
四环素类	<i>tet(A)</i>	30	0	0	0
	<i>aac(6′)-Iaa</i>	116	70	28	8
氨基糖苷类	<i>aph(3′′)-Ib</i>	114	0	0	0
	<i>aph(6)-Id</i>	114	0	0	0
	<i>aadA5</i>	0	70	0	0

注:非优势型包括 SC-C、SC-D、SC-E 以及其他型别菌株

2.4 基因预测表型与药敏检测表型一致性分析

ResFinder 对本研究 15 种药物中的两种复方药物 AMS、SXT 及一代头孢 CFZ 没有给出表型预测结果。同时,由于未检测到对 IPM、CHL、AZM、GEN 和 CT 等药物的耐药决定因子,ResFinder 对这 5 种药物的表型预测结果均为敏感表型。除 CT 外,4 种药物预测结果与药敏检测结果一致率高,达 98% 以上,分别为 IPM 99.5%(221/222)、CHL 98.2%(218/222)、AZM 100.0%(222/222)和 GEN 98.6%(219/222)。而对 CT 的预测均为敏感,但检测结果仅有 89 株中介,预测结果与检测结果完全相反,一致率为 0%(0/222)。采用 Kendall’s W 检验分析 AMP、CTX、CFX、NAL、TET、CAZ 和 CIP 7 种药物的预测结果与药敏检测结果的一致性。结果显示,AMP

(W=0.983, $P<0.001$)、CTX (W=0.919, $P<0.001$)、CFX (W=1.000, $P<0.001$)、NAL (W=0.943, $P<0.001$)、TET (W=0.964, $P<0.001$) 预测表型与药敏检测结果有极高的一致性。CAZ (W=0.723, $P<0.001$) 和 CIP (W=0.860, $P<0.001$) 一致性相对较低。5 株携带 *bla*_{CTX-M-14} 的菌株预测为 CAZ 耐药,但药敏检测为 CAZ 敏感。214 株 *gyrA* 突变株预测为 CIP 耐药,但其中仅有 208 株药敏检测为中介,未检测到耐药菌株。

3 讨论

沙门菌是导致食源性疾病暴发的重要病原之一。WGS 分析已在食源性疾病监测与暴发调查中得到广泛应用。与其他方法相比,WGS 分型分析更

加灵敏精准^[16-17]。本研究利用 WGS 技术对 2020—2021 年四川省食源性疾病主动监测分离的 SE 进行遗传多样性分析,共识别 26 起疑似聚集事件,平均达每年 13 起,远超过每年平均报告暴发事件的不到 3 起^[17]。识别的事件主要为小型点源聚集事件,20 起事件同源相关病例 3 人以下。与报道的点源暴发事件类似,该类事件的分离株 SNP 差异数多在 5 个以下^[9,16-17]。

在非点源暴发中,WGS 分析因在持续性单克隆暴发调查中具有显著优势而得到广泛应用^[4,7-8]。这类暴发虽然常有同一传染源,但病例发病地点分散,发病间隔时间长,难以通过传统方法识别。2017 年,WGS 分析应用于对多国单核增生李斯特菌暴发的协同调查中,通过基因组分析确认这些暴发有共同的传染源,是一起 2015—2018 年的持续性单克隆暴发^[6]。本文有 6 个基因簇(A、C、D、K、P、U)病例发病时间间隔较长,但分离菌株间差异小,提示病例间可能具有同源性,也提示这些基因簇菌株可能来源于持续性单克隆暴发事件,但仍需进一步的流行病学调查证实。对于菌株来源为同一地区,但病例发病时间间隔较长的基因簇(如基因簇 P),应给予高度关注,并及时启动流行病学调查,以便尽早发现潜在的持续性单克隆暴发,及时开展相关处置工作。

SE 主要通过食品在全球广泛传播,但各地区优势群存在差异^[10,19]。2020—2021 年四川省食源性疾病病例中 SE 优势群与中国其他地区分离株一致,均为 II A 亚群。此外,本研究中还检出了中国较少见的 I 群和 III 群菌株,这些菌株的来源还需要更进一步的流行病学调查。II 群菌株是通过食品传播的主要型别,在全球均有分布。值得关注的是,该群菌株携带 β -内酰胺类和喹诺酮类相关耐药基因的比例较高,且对 AMP、AMS、NAL 和 CIP 表现出极高的不敏感率,如本研究中的 SC-A 和 SC-B 型菌株,对上述药物的不敏感率达 80% 以上。

沙门菌通过耐药决定因子预测获得的表型结果对大多数药物均较准确,但部分药物基因预测表型与药敏检测结果仍存在差异^[5,8]。与上述研究结果相似,本研究中 9 种药物的预测表型与药敏检测结果均有较高的一致性,但对 CT 的预测完全相反。多黏菌素的耐药机制目前尚未完全阐明,染色体改变曾被认为是革兰氏阴性菌对多黏菌素耐药的主要原因,尤其是影响脂质 A 生物合成的基因和操纵子的突变^[20-21]。2015 年新发现的质粒介导的可移动多黏菌素耐药基因 *mcr*,其可以通过水平传播在各种革兰氏阴性菌中迅速传递,使菌株能够快速获

得对多黏菌素的耐药性,从而成为导致多黏菌素耐药的主要机制^[22]。此外,还有多黏菌素异质性耐药机制及其他耐药机制^[23]。本研究中未检测到相关多黏菌素耐药决定因子,预测所有菌株对 CT 均为敏感表型,可能与数据库中 CT 相关耐药决定因子数据不足^[13]及可能存在其他未知的耐药机制有关^[20],加之 CLSI 根据临床实际用药规定于 2020 年取消了 CT 敏感性折点,仅报告中介和耐药,无敏感表型,从而导致对 CT 耐药性预测不准确。

喹诺酮类药物耐药性主要由质粒介导的喹诺酮耐药(Plasmid-mediated quinolone resistance, PMQR)及染色体上的喹诺酮耐药决定区(Quinolone resistance-determining region, QRDR)突变介导^[24]。其中,携带质粒介导的 *qnr* 基因常导致细菌对多种氟喹诺酮药物敏感性降低,但对萘啶酸的敏感性影响较小^[25]。QRDR 最普遍的喹诺酮耐药突变是 *gyrA* 突变^[26-27],在沙门菌中,*gyrA* 突变足以介导对萘啶酸等非氟喹诺酮类药物的耐药性,并降低对环丙沙星的敏感性^[28]。但对环丙沙星的耐药性常需要多个 QRDR 位点联合突变,*gyrA* 突变与 *parC* 突变联合通常被认为是环丙沙星耐药的必要条件,单独的突变则会导致敏感性降低,而不是完全耐药^[29]。本研究中未检测到 *qnr* 基因,ResFinder 将 214 株 *gyrA* 单突变株均预测为环丙沙星耐药,与药敏检测结果差异较大,预测准确度不高,表明其预测模型对环丙沙星表型的预测还需进一步优化,以便提升其准确性。此外,还存在将携带 *bla*_{CTX-M-14} 的菌株均预测为 CAZ 耐药,以及对一代头孢 CFZ 和两种复方药物 AMS、SXT 无预测结果的情况,提示对部分药物耐药表型的预测还需要进一步研究。因此,分离株的表型确认对于验证耐药性仍然至关重要,同时能为表型预测提供更全面的数据支持。

参考文献

- [1] MAJOWICZ SE, MUSTO J, SCALLAN, et al. Food safety: The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis [J]. *Clinical Infectious Disease*, 2010, 50(6): 882-889.
- [2] JIANG M, ZHU F, YANG C, et al. Whole-Genome analysis of *Salmonella* enterica serovar enteritidis isolates in outbreak linked to online food delivery, Shenzhen, China, 2018 [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2020, 26(4): 789-792.
- [3] LIU B B, ZHANG X J, DING X Y, et al. The vertical transmission of *Salmonella* Enteritidis in a One-Health context [J]. *One Health*, 2023, 16: 100469.
- [4] KANAGARAJAH S, WALDRAM A, DOLAN G, et al. Whole genome sequencing reveals an outbreak of *Salmonella* Enteritidis associated with reptile feeder mice in the United Kingdom, 2012—2015 [J]. *Food Microbiology*, 2017, 71(5): 32-38.

- [5] HYEON JY, LI S, MANN DA, et al. Whole-Genome sequencing analysis of *Salmonella* Enterica serotype enteritidis isolated from poultry sources in South Korea, 2010—2017 [J]. *Pathogens*, 2021, 10(1): 45.
- [6] SARNO E, PEZZUTTO D, ROSSI M, et al. A review of significant european foodborne outbreaks in the last decade [J]. *Journal of Food Protection*, 2021, 84(12): 2059-2070.
- [7] GARCIA-SOTO S, LINDE J, METHNER U. Epidemiological analysis on the occurrence of *Salmonella* enterica subspecies enterica serovar Dublin in the German Federal State Schleswig-Holstein using whole-genome sequencing [J]. *Microorganisms*, 2023, 11(1): 122.
- [8] VILELA FP, RODRIGUES DDP, ALLARD MW, et al. Genomic characterization and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* enterica serovar Infantis isolated from food, humans and veterinary-related sources in Brazil [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(4): 3327-3342.
- [9] DENG Y, JIANG M, KWAN PSL, et al. Integrated Whole-Genome sequencing infrastructure for outbreak detection and source tracing of *Salmonella* enterica serotype enteritidis [J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2021, 18(8): 582-589.
- [10] CAO G, ZHAO S, KUANG D, et al. Geography shapes the genomics and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis isolated from humans [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 1331.
- [11] TACCONELLI E, CARRARA E, SAVOLDI A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis [J]. *Lancet Infectious Diseases*, 2018, 18(3): 318-327.
- [12] TANG B, ELBEDIWI M, NAMBIAR RB, et al. Genomic Characterization of antimicrobial-resistant *Salmonella* enterica in duck, chicken, and pig farms and retail markets in Eastern China [J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(5): e0125722.
- [13] BORTOLAIA V, KAAS RS, RUPPE E, et al. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(12), 3491-3500.
- [14] TAYLOR AJ, LAPPI V, WOLFGANG WJ, et al. Characterization of foodborne outbreaks of *Salmonella* enterica serovar enteritidis with whole-genome sequencing single nucleotide polymorphism-based analysis for surveillance and outbreak detection [J]. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015 Oct; 53(10): 3334-3340.
- [15] KSIBI B, KTARI S, OTHMAN H, et al. Comparison of conventional molecular and whole-genome sequencing methods for subtyping *Salmonella* enterica serovar Enteritidis strains from Tunisia [J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2021, 40(3): 597-606.
- [16] ROUNDS J M, TAYLOR A J, EIKMEIER D, et al. Prospective *Salmonella* enteritidis surveillance and outbreak detection using whole genome sequencing, Minnesota 2015—2017 [J]. *Epidemiology and Infection*, 2020, 148: e254.
- [17] 肖桃, 雷高鹏, 黄伟峰, 等. 2008—2018年四川省肠炎沙门菌暴发的分子分型比较 [J]. *疾病监测*, 2021, 36(11): 1172-1178.
- XIAO T, LEI G P, HUANG W F, et al. Comparison of subtyping methods for *Salmonella* enterica serotype Enteritidis strains isolated from outbreaks in Sichuan, 2008—2018 [J]. *Disease Surveillance*, 2021, 36(11): 1172-1178.
- [18] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement: M100-S34 [M]. United States, 2024.
- [19] LI S, HE Y, MANN D A, et al. Global spread of *Salmonella* Enteritidis via centralized sourcing and international trade of poultry breeding stocks [J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 5109.
- [20] MONDAL A H, KHARE K, SAXENA P, et al. A review on colistin resistance: an antibiotic of last resort [J]. *Microorganisms*, 2024, 12(4): 27.
- [21] POIREL L, JAYOL, AURÉLIE, NORDMANN P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2017, 30, 557-596.
- [22] LIU Y Y, WANG Y, WALSH TR, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study [J]. *Lancet Infectious Diseases*, 2015, 16(2): 161-168.
- [23] 李琰冰, 周梦兰, 徐英春. 多黏菌素异质性耐药机制研究进展 [J]. *协和医学杂志*, 2024, 16(1): 177-183.
- LI Y B, ZHOU M L, XU Y C. Progress in the Study of Polymyxin Heteroresistance Molecular Mechanisms [J]. *Medical Journal of Peking Union Medical College Hospital*, 2024, 16(1): 177-183.
- [24] PUNCHIHEWAGE-DON AJ, NILMINI RANAWEERA P, PARVEEN S. Defense mechanisms of *Salmonella* against antibiotics: a review [J]. *Frontiers in Antibiotics*, 2024.
- [25] HOOPER DC, JACOBY GA. Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2015, 1354(1): 12-31.
- [26] MAHFOUZ N, FERREIRA I, BEISKEN S, et al. Large-scale assessment of antimicrobial resistance marker databases for genetic phenotype prediction: a systematic review [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, 75(11): 3099-3108.
- [27] NEUERT S, NAIR S, DAY MR, et al. Prediction of phenotypic antimicrobial resistance profiles from whole genome sequences of non-typhoidal *Salmonella* enterica [J]. *Frontiers in Microbiology*. 2018, 27(9): 592.
- [28] LI J, HAO H, SAJID A, et al. Fluoroquinolone resistance in *Salmonella*: mechanisms, fitness, and virulence [M]. 2018
- [29] BUSH NG, DIEZ-SANTOS I, ABBOTT LR, et al. Quinolones: Mechanism, Lethality and their contributions to antibiotic resistance [J]. *Molecules*: 2020, 25(23): 5662.