

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2017.7.04

# 2014~2016 年广州市屠宰场分离沙门氏菌血清学鉴定和耐药性分析

吴荔琴,刘佩怡,伍宏凯,方秋华,肖田安\*,梁祺琦,何滢

(广东省兽药饲料质量检验所,广州 510230)

[收稿日期] 2017-03-23 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 07-0015-06 [中图分类号] S852.61

**[摘要]** 2014~2016 年从广州市屠宰场分离沙门氏菌 151 株,鉴定出 12 种血清型,前 3 位优势血清型分别为德尔卑沙门氏菌、罗森氏沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌。采用微量肉汤稀释法测定分离菌株对 13 种抗菌药物的敏感性。结果显示,沙门氏菌对四环素、多西环素、磺胺异恶唑、氨苄西林、大观霉素的耐药率都在 60% 以上,对奥格门丁、恩诺沙星、氧氟沙星、头孢噻呋、多粘菌素 E 敏感(耐药率 $\leq 16\%$ ),多重耐药率为 79.20%。研究表明,沙门氏菌对部分药物耐药性较严重,亟需加强养殖业抗菌药物的合理应用以控制耐药性的发展。

**[关键词]** 沙门氏菌;血清型;耐药性;屠宰场

## Identification Serotype and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* from the Slaughter Houses in Guangzhou from 2014 to 2016

WU Li-qin, LIU Pei-yi, WU Hong-kai, FANG Qiu-hua, XIAO Tian-an\*, LIANG Qi-qi, HE Ying

(Guangdong Institute of Veterinary Drug and Feedstuffs Control, Guangzhou 510230, China)

Corresponding author: XIAO Tian-an, E-mail: xta@gdivdc.com

**Abstract:** A total of 151 *Salmonella* strains were isolated from the slaughter houses in Guangzhou from 2014 to 2016, and 12 serotypes were identified. Among the strains, *S. derby*, *S. rissen* and *S. typhimurium* were top 3 serotypes. Antimicrobial susceptibility among *Salmonella* isolates against 13 antimicrobial drugs was performed using microdilution method. The results showed that percents of resistance among the strains were more than 60% for tetracycline, doxycycline, sulfazazole, ampicilin, and spectinomycin, The strains were sensitive to amoxycilin/elavulanic acid, enrofloxacin, ofloxacin, ceftiofur, and polymyxin E (resistance rates were lower than 16% for these drugs). The multidrug-resistance rate was 79.20%. The researches show that *Salmonella* strains were seriously resistant to some drugs. It is urgent that the domestic industry should reasonably use antimicrobials to control the development of antimicrobial resistance.

**Key words:** *Salmonella*; serotype; antimicrobial resistance; slaughter house

作者简介: 吴荔琴, 兽医师, 从事细菌耐药性和兽药残留检测研究。

通讯作者: 肖田安。E-mail: xta@gdivdc.com

沙门氏菌(*Salmonella*)是一种常见的人畜共患病原菌,对人和动物的危害极大。2015 年国家食品药品监督管理总局发布的《食品安全风险解析》,指出沙门氏菌居我国食源性疾病致病菌首位。2006~2010 年间我国报告的病因明确的细菌性食源性疾病暴发事件中,70%~80%由沙门氏菌导致。美国食源性疾病主动监测网运用所建立的模型评估认为,美国每年有 140 万非伤寒沙门菌病例,导致 16.8 万人次就诊,1.5 万人次住院和 400 人死亡。同样,在欧盟所有病因明确的食源性暴发事件中,由沙门氏菌引起的占比较高。该病原菌对人类健康影响风险较高、造成的经济损失和社会负担较大。沙门氏菌在人和动物中具有广泛的宿主,很容易在动物与动物、动物与人、人与人之间通过直接或间接的途径进行传播。猪是沙门氏菌病原体的主要储存宿主,在屠宰的时候,猪胴体可能会被肠道中的沙门氏菌污染,从而引起人沙门氏菌感染,对公共卫生构成潜在威胁。随着中国养猪业的迅速发展和饲养的高度集约化,沙门氏菌已成为危害养猪业的重要细菌性疾病;抗生素的不合理使用导致沙门氏菌产生耐药性,耐药范围逐渐扩大,耐药程度也在逐渐增加<sup>[1-2]</sup>。因此,应实时监测畜禽产品中沙门氏菌耐药趋势的变化。本文拟调查 2014~2016 年广州市生猪屠宰场分离沙门氏菌的血清型及其耐药情况,以期有效控制沙门氏菌的感染提供科学依据,保障公共卫生安全。

## 1 材料

1.1 样品来源 2014~2016 年从广州市生猪屠宰场进行每年一次的样品采集,样品为猪盲肠拭子,并分离、鉴定沙门氏菌。

1.2 培养基和药品 沙门氏菌显色培养基,法国科玛嘉公司;Amies 运送培养基、营养琼脂、SC 增菌液和 TTB 增菌液,均购自青岛海博公司;沙门氏菌核酸检测试剂盒,中山大学达安基因股份有限公司;药敏检测板,天津金章科技发展有限公司;沙门氏菌诊断血清,泰国 S&A 公司。

1.3 仪器设备 离心机,德国 Eppendorf 公司;荧

光定量 PCR 仪,美国 BIO-RAD 公司;水浴锅,华普达教学仪器有限公司;灭菌器,日本 Hirayama 公司;涡旋振荡器,德国 IKA 公司。

1.4 质控菌株 鼠伤寒沙门氏菌 CVCC 541,由中国兽医药品监察所提供。

## 2 方法

2.1 菌株分离 对健康猪屠宰后的盲肠,剪一小口,将无菌拭子插入,粘取盲肠内容物,装入 Amies 运送培养基,8 h 内分别接种到 SC 增菌液和 TTB 增菌液中,分别在 36 ℃培养 18~24 h 和在 42 ℃培养 22~24 h,用接种环取增菌液划线接种于沙门氏菌显色培养基,将可疑菌落接种另一个沙门氏菌显色培养基进行纯化,将纯化的菌落接种于营养琼脂做进一步鉴定。

### 2.2 菌株鉴定

2.2.1 DNA 模板的制备 取 1 mL 无菌水加入 2 mL 离心管中,用 10 μL 接种环将可疑沙门氏菌适量挑入离心管中,涡旋震荡,12000 r/min 离心 5 min,去除上清液,加入 0.5 mL 无菌水,涡旋震荡,沸水浴 10 min,冰浴 10 min,离心 5 min,取上清液作模板。同时阴性菌株和沙门阳性菌株均参与提取,并作为 PCR 检测试剂的质控。

2.2.2 PCR-荧光探针法测定 取适量 PCR 反应管,按照沙门氏菌核酸检测试剂盒说明书进行操作。

2.3 血清型鉴定 确定的沙门菌属,用沙门氏菌诊断血清进行分型。按照 GB 4789.4-2010 操作方法进行。

2.4 药敏试验 根据美国临床实验室标准化委员会(CLSI)的标准,用微量肉汤稀释法测定沙门氏菌的药物敏感性,结果判定参照 CLSI 文件标准。操作参照药敏检测板说明书;对供试菌的最小抑菌浓度(MIC)进行判断和数据读取。测定药物共 9 类 13 种,包括:氧氟沙星、恩诺沙星、四环素、多西环素、庆大霉素、大观霉素、头孢噻吩、磺胺异恶唑、复方新诺明、氨苄西林、氟苯尼考、奥格门丁、多粘菌素 E。同时做质控样品,质控菌株为鼠伤寒沙门氏菌 CVCC 541。

### 3 结果与分析

3.1 菌落特征 沙门氏菌在显色培养基上形成淡紫色的圆形菌落。

3.2 PCR 鉴定 根据沙门氏菌核酸检测试剂盒说明书判定,在阴性质控的扩增曲线无明显对数增长长期或 Ct 值空白,阳性质控的扩增曲线有明显对数增长长期或 Ct 值 ≤ 32 的前提下,若样品的扩增曲线有明显对数增长长期或 Ct 值 ≤ 36,则判样品为沙门氏菌。共分离沙门氏菌 151 株,其中 2014 年 65 株,2015 年 49 株,2016 年 37 株。

3.3 血清型 分离的 151 株沙门氏菌除 12 株不能分型以外,剩下的 139 株共鉴定出 12 种血清型。占主导的前 5 种血清型分别是:德尔卑沙门氏菌 (49 株, 32.45%)、罗森氏沙门氏菌 (29 株, 19.21%)、鼠伤寒沙门氏菌 (28 株, 18.54%)、伦敦沙门氏菌 (11 株, 7.28%)、斯坦利沙门氏菌 (9 株, 5.96%)。每年鉴定出的主导血清型基本一致;但所占比例存在变化,少见或罕见血清型差异较大。2014~2016 年沙门氏菌的血清型分布见表 1。

表 1 2014~2016 年沙门氏菌的血清型分布

Tab 1 Serotype distribution among *Salmonella*, 2014~2016

血清型 Serotypes	菌株数(血清型百分比/%) Number of strains (percent of serotypes distribution / %)			
	总计 Total(n=151)	2014 年(n=65)	2015 年(n=49)	2016 年(n=37)
德尔卑沙门氏菌	49 (32.45)	21 (32.31)	19 (38.78)	9 (24.32)
罗森氏沙门氏菌	29 (19.21)	10 (15.38)	9 (18.37)	10 (27.03)
鼠伤寒沙门氏菌	28 (18.54)	14 (21.54)	6 (12.24)	8 (21.62)
伦敦沙门氏菌	11 (7.28)	1 (1.54)	3 (6.12)	7 (18.92)
斯坦利沙门氏菌	9 (5.96)	6 (9.23)	1 (2.04)	2 (5.41)
里定沙门氏菌	3 (1.99)	0 (0.00)	3 (6.12)	0 (0.00)
韦太夫雷登沙门氏菌	4 (2.65)	0 (0.00)	4 (8.16)	0 (0.00)
乙型副伤寒沙门氏菌	2 (1.32)	0 (0.00)	2 (4.08)	0 (0.00)
雷根特沙门氏菌	1 (0.66)	0 (0.00)	1 (2.04)	0 (0.00)
汤卜逊沙门氏菌	1 (0.66)	1 (1.54)	0 (0.00)	0 (0.00)
山夫登堡沙门氏菌	1 (0.66)	1 (1.54)	0 (0.00)	0 (0.00)
格洛斯特鲁普氏沙门氏菌	1 (0.66)	1 (1.54)	0 (0.00)	0 (0.00)
其他	12 (7.95)	10 (15.38)	1 (2.04)	1 (2.70)

3.4 药敏结果 对151株沙门氏菌进行了9类13种抗菌药物的敏感性试验。从总体上来看,沙门氏菌对四环素(80.13%)、多西环素(77.48%)、磺胺异恶唑(71.52%)、氨苄西林(62.25%)、大观霉素(60.93%)的耐药率都在60%以上;其次是复方新诺明(48.34%)、氟苯尼考(37.75%)、庆大霉素(35.10%)的耐药率在40%左右;对奥格门丁(15.23%)、恩诺沙星(14.57%)、氧氟沙星(9.93%)较低;个别菌株对头

孢噻唑(0.66%)耐药,无菌株对多粘菌素 E 耐药。连续 3 年耐药率下降的药物有氧氟沙星,连续 3 年耐药率上升的药物有庆大霉素、氨苄西林、氟苯尼考。151 株沙门氏菌对 9 类 13 种抗菌药物的耐药性结果见表 2。

3.5 多重耐药 151 株沙门氏菌对 9 类药物的多重耐药率(耐药重数 ≥ 3)为 79.20%,且有逐年上升的趋势;最高为 7 耐(3.97%)。其中,2014 年以 4

耐(18.46%)和6耐(16.92%)为主,2015年以5耐(35.90%)和4耐(28.21%)为主。2014~2016年沙(18.37%)和3耐(16.92%)为主,2016年以5耐门氏菌多重耐药结果见表3。

表2 2014~2016年沙门氏菌耐药性情况

Tab 2 Antimicrobial resistance among *Salmonella*, 2014~2016

抗菌药物 Antimicrobials	菌株数(耐药百分比/%) Number of strains (percent of antimicrobial resistance/%)			
	总计 Total(n=151)	2014(n=65)	2015(n=49)	2016(n=37)
氧氟沙星 OFL	15 (9.93)	11 (16.92)	4 (8.16)	0 (0.00)
恩诺沙星 ENR	22 (14.57)	11 (16.92)	9 (18.37)	2 (5.41)
四环素 TET	121 (80.13)	49 (75.38)	42 (85.71)	30 (81.08)
多西环素 DOX	117 (77.48)	50 (76.92)	42 (85.71)	25 (67.57)
庆大霉素 GEN	53 (35.10)	16 (24.62)	18 (36.73)	19 (51.35)
大观霉素 SPE	92 (60.93)	41 (63.08)	27 (55.10)	24 (64.86)
头孢噻唑 CEF	1 (0.66)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (2.70)
磺胺异恶唑 SIZ	108 (71.52)	45 (69.23)	31 (63.27)	32 (86.49)
复方新诺明 SXT	73 (48.34)	24 (36.92)	18 (36.73)	31 (83.78)
氨苄西林 AMP	94 (62.25)	36 (55.38)	30 (61.22)	28 (75.68)
氟苯尼考 FFC	57 (37.75)	18 (27.69)	20 (40.82)	19 (51.35)
奥格门丁 A/C	23 (15.23)	17 (26.15)	2 (4.08)	4 (10.81)
多粘菌素 E PME	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

表3 2014~2016年沙门氏菌多重耐药情况

Tab 3 Multidrug resistance among *Salmonella*, 2014~2016

耐药重数 Number of resistant drugs	菌株数(多重耐药百分比/%) Number of strains (percent of multidrug resistance/%)			
	总计 Total (n=151)	2014(n=65)	2015(n=49)	2016(n=37)
≤2	45 (29.80)	23 (35.38)	17 (34.69)	5 (12.82)
3	17 (11.26)	7 (10.77)	8 (16.33)	2 (5.13)
4	30 (19.87)	12 (18.46)	7 (14.29)	11 (28.21)
5	30 (19.87)	7 (10.77)	9 (18.37)	14 (35.90)
6	23 (15.23)	11 (16.92)	7 (14.29)	5 (12.82)
7	6 (3.97)	5 (7.69)	1 (2.04)	0 (0.00)
8	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
9	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

#### 4 讨论与小结

本次研究分离到的菌株中占主导的前5种血清型分别是:德尔卑沙门氏菌(32.45%)、罗森氏沙

门氏菌(19.21%)、鼠伤寒沙门氏菌(18.54%)、伦敦沙门氏菌(7.28%)、斯坦利沙门氏菌(5.96%)。该前3种优势血清型结果与岳秀英等<sup>[2]</sup>调查四川省

猪源沙门氏菌的主导血清型基本一致,但所占比例存在差异。四川省以德尔卑沙门氏菌为主,所占比例为 60.26%;其次是鼠伤寒沙门氏菌(16.56%)和罗森氏沙门氏菌(6.6%)。黄照清<sup>[3]</sup>等在调查肉品中沙门氏菌血清型时,发现占主导是德尔卑沙门氏菌,比例高达 82%。加春生<sup>[4]</sup>等对哈尔滨地区健康猪场直肠采样分离沙门氏菌,经鉴定以猪霍乱沙门氏菌(71.4%)为主,其次是猪伤寒沙门氏菌(22.9%)和鼠伤寒沙门氏菌(5.7%)。黄裕<sup>[5]</sup>等在调查深圳市畜禽产品中沙门氏菌血清型时发现,猪肉中的优势血清是伦敦沙门氏菌(19.51%)和德尔卑沙门氏菌(14.63%)。说明不同地区占主导的猪源沙门氏菌血清型有所交叉,也存在差异。根据张霆<sup>[6]</sup>等调查东莞地区引起腹泻最常见的血清型主要是鼠伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌和斯坦利沙门氏菌等。曾健君<sup>[7]</sup>等在调查惠州市腹泻患者感染沙门氏菌血清型中发现,引起腹泻常见的血清型为鼠伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌。本研究调查屠宰场流行的血清型如鼠伤寒沙门氏菌、斯坦利沙门氏菌等对公共卫生安全存在潜在威胁。

本研究中发现沙门氏菌对四环素、多西环素、磺胺异恶唑、氨苄西林、大观霉素的耐药率都在 60%以上,其次是复方新诺明、氟苯尼考、庆大霉素的耐药率在 40%左右,对奥格门丁、恩诺沙星、氧氟沙星的耐药率较低,在 9%~16%之间,个别菌株对头孢噻唑(0.66%)耐药,无菌株对多粘菌素 E 耐药。与四川省猪源沙门氏菌<sup>[2]</sup>相比,本研究分离的沙门氏菌对多种药物的耐药水平显著较低。黄福标<sup>[8]</sup>等分离南宁市猪肠道中沙门氏菌,对氨苄西林(55.56%)、庆大霉素(20%)、氧氟沙星(6.67%)的耐药率较低,但对复方新诺明(80%)的耐药率较高。不同省份猪源沙门氏菌也呈现出了各自的耐药特点<sup>[9]</sup>,与兽医临床用药情况相关。同时,本研究发现,分离菌株对氧氟沙星的耐药率逐年下降,这可能与农业部 2292 号公告停止在食品动物中使用氧氟沙星存在相关性;且国家每年实施“氟喹诺酮类药物残留监测”计划,促使养殖场对该类药物

的使用更加规范。但在连续 3 年监测中发现,对庆大霉素、氨苄西林、氟苯尼考等药物的耐药率一直在上升,耐药水平的上升可能与这三种药物在兽医临床使用广泛密切相关。

在 151 株沙门氏菌中有 106 株菌对 3 类及 3 类以上的药物存在耐药性,多重耐药率为 79.20%;显著低于四川省猪源沙门氏菌(94%)<sup>[2]</sup>;与广西南宁市猪肠道中沙门氏菌多重耐药率(80%)<sup>[8]</sup>一致。但多重耐药率从 2014 年的 74.62%上升到 87.18%。

屠宰场是畜禽产品受沙门氏菌感染的一个重要场所,多重耐药沙门氏菌可能通过食物链传递给人类导致抗生素治疗的失败,对公共卫生的风险不可忽视。鉴于本研究的结果,亟需加强养猪业抗菌药物的合理使用,实时动态监测,有效遏制沙门氏菌耐药性发展,保障猪肉及猪肉制品的安全,进而保障消费者健康。

## 参考文献:

- [1] 杨保伟,曲东,申进玲,等.陕西食源性沙门氏菌耐药及相关基因[J].微生物学报,2010,50(6):788-796.  
Yang B W, Qu D, Shen J J, et al. Antimicrobial Susceptibility and Related Genes of *Salmonella* Serovars from Retail Food in Shanxi Province [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(6): 788-796.
- [2] 岳秀英,葛荣,汪开毓,等.四川省猪源沙门氏菌及耐药性变迁调查[J].四川动物,2015,34(5):707-713.  
Yue X Y, Ge R, Wang K Y, et al. Prevalence of Antimicrobial Resistance in *Salmonella* from Pig in Sichuan Province [J]. Sichuan Journal of Zoology, 2015, 34(5): 707-713.
- [3] 黄照清,黄祖华,黄裕,等.肉菜超市销售肉品沙门氏菌污染状况及血清型分析[J].肉品卫生,2016,7(6):34-35.  
Huang Z Q, Huang Z H, Huang Y, et al. Analysis on the pollution and Serotypes of *Salmonella* from Sale Meat in Supermarket [J]. Meat Hygiene, 2016, 7(6): 34-35.
- [4] 加春生,毛泽明,王晓楠,等.猪沙门氏菌的分离鉴定及其耐药性分析[J].东北农业大学学报,2014,45(8):49-54.  
Jia C S, Mao Z M, Wang X N, et al. Identification and Resistance of *Salmonella* Isolated from Pigs [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2014, 45(8): 49-54.

- [5] 黄裕, 阚式绂, 汪青, 等. 深圳市畜禽产品中沙门氏菌血清型与耐药性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2003, (8): 2252-2257.  
Huang Y, Kan S F, Wang Q, *et al.* Serotype and Drug Resistance of *Salmonella* from Livestock and Poultry Products in Shenzhen[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2003, (8): 2252-2257.
- [6] 张霆, 郭志勤, 王凤平, 等. 72 株沙门菌血清型分布及药敏试验结果分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(6): 532-534.  
Zhang T, Guo Z Q, Wang F P, *et al.* Serotype Distribution and Antimicrobial Susceptibility of 72 Strains of *Salmonella*[J]. Chin J Infect Chemother, 2014, 14(6): 532-534.
- [7] 曾健君, 罗泽燕, 徐励琴, 等. 惠州市腹泻患者非伤寒沙门氏菌监测结果分析[J]. 国际医药卫生导报, 2011, (19): 2451-2454.  
Zeng J J, Luo Z Y, Xu L Q, *et al.* An Analysis on Results of Monitoring Nontyphoidal *Salmonella* in Diarrhea Patients in Huizhou [J]. IMHGN, 2011, (19): 2451-2454.
- [8] 黄福标, 卢冰霞, 刘磊, 等. 屠宰场猪肠道沙门氏菌的分离鉴定、耐药性分析及致病性试验[J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(1): 172-177.  
Huang F B, Lu B X, Liu L, *et al.* Isolation, Identification, Drug Resistance Analysis and Pathogenicity Tests of *Salmonella* Isolates from Slaughter Pigs Intestine [J]. China Animal Husbandry & veterinary medicine, 2012, 39(1): 172-177.
- [9] 李郁, 焦新安, 魏建忠, 等. 屠宰生猪沙门氏菌分离株的血清型分布及耐药性谱的研究[J]. 应用预防医学, 2008, 8(3): 137-139.  
Li Y, Jiao X A, Wei J Z, *et al.* Analysis on the Serotypes and Drug-susceptibility of *Salmonella* Isolates from Pig Carcass [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2008, 8(3): 137-139.

(编辑:侯向辉)