

## 肉鸡胴体中沙门氏菌的分离鉴定及多重耐药谱研究

吴云凤<sup>1</sup>,袁宝君<sup>2\*</sup>,乔 昕<sup>2</sup>,符晓梅<sup>2</sup>,沈 贇<sup>2</sup>,王燕梅<sup>2</sup>,马 恺<sup>2</sup>,倪云龙<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>东南大学公共卫生学院营养与食品卫生学系,江苏 南京 210009;<sup>2</sup>江苏省疾病预防控制中心食品安全与评价所,江苏 南京 210009)

**[摘要]** 目的:为了解肉鸡胴体中沙门氏菌的污染状况、多重耐药状况及耐药程度,对样品中的沙门氏菌进行分离鉴定和药敏试验研究。方法:根据 GB/T 4789—2008 对沙门氏菌进行分离鉴定,采用微量肉汤稀释法测定分离株的耐药性。结果:肉鸡胴体沙门氏菌的检出率高达 34.8%;样品中分离的沙门氏菌血清型主要为奥尔巴尼型(29.6%)和印第安纳型(50.7%);药敏试验显示,大多数沙门氏菌至少对 3 种以上的抗生素产生耐药,耐 3~7 种药物的有 24 株(33.8%),耐 8~12 种药物的有 19 株(26.8%),耐 13~16 种药物的有 26 株(36.6%);分离株对抗生素的耐药情况是:萘啶酸(100%)、磺胺嘧啶(98.6%)、氨苄青霉素(97.2%)、复方磺胺甲恶唑(85.9%)、四环素(85.9%)和阿莫西林/克拉维酸(84.5%)。结论:肉鸡胴体中沙门氏菌的污染现象严重,沙门氏菌耐药或多重耐药现象十分普遍,未来应加强对鸡胴体中沙门氏菌感染及耐药的监测。

**[关键词]** 鸡;沙门氏菌属;血清学鉴定;耐药性

**[中图分类号]** R117

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2012)01-125-04

## Separation and identification of multiple-antimicrobial-resistant of *Salmonella* on chicken carcass

WU Yun-feng<sup>1</sup>, YUAN Bao-jun<sup>2\*</sup>, QIAO Xin<sup>2</sup>, FU Xiao-mei<sup>2</sup>, SHEN Yun<sup>2</sup>, WANG Yan-mei<sup>2</sup>, MA Kai<sup>2</sup>, NI Yun-long<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Nutrition and Food Hygiene Department, School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009; <sup>2</sup>Institute of Food Safety and Evaluation, Jiangsu Provincial for Disease Prevention and Control, Nanjing 210009, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine prevalence and multiple-antimicrobial-resistant spectrum of *Salmonella* contamination on chicken carcasses. **Methods:** According to GB 4789-2008, *Salmonellas* were separated and identified, and drug resistance of the strains was analyzed using broth dilution method. **Results:** *Salmonella* was detected in 34.8% (71/204) of samples. Two *Salmonella* serovars were identified; predominant ones included Albany (29.6%) and Indiana (50.7%). Most of the *Salmonella* isolates tested, exhibited resistance to more than three antimicrobial agents used. Twenty-four strains (33.8%) were resistant to three to seven kinds, nineteen strains (26.8%) were resistant to eight to twelve, and twenty-six strains (36.6%) resistant to thirteen and sixteen antibiotics. Resistance to the following antibiotics was common among isolates: nalidixic acid (100%), sulphadiazine (98.6%), ampicillin (97.2%), sulfamethoxazole (85.9%), minocycline (85.9%) and amoxicillin/clavulanic acid (84.5%). **Conclusion:** High prevalence of *Salmonella* and the relatively high resistance among the bacteria suggested monitoring of the *Salmonella* infection and drug resistance on chicken carcass should be strengthened in the future.

**[Key words]** chicken carcass; *Salmonella*; serologic appraisal; drug resistance

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(1): 125-128]

沙门氏菌是世界上最重要的食源性致病菌,家禽及其制品是人类沙门氏菌疫情爆发的根源所在。近些年来,食品的微生物安全逐渐受到全世界范围

的关注,许多流行病学研究已把动物源性食品作为与疾病相关沙门氏菌、空肠弯曲菌、耶尔森氏菌等的传播媒介<sup>[1]</sup>。由沙门氏菌引起的疾病主要分为两大类:一类是伤寒和副伤寒;另一类是急性肠胃炎。沙门氏菌包括 2 600 多种不同的血清型,我国已发现 200 多个血清型,引起食物中毒最多的有鼠伤寒

**[基金项目]** 卫生部公益性行业科研专项基金(200902009)

\*通讯作者, E-mail: jscdecybj@yahoo.com.cn

沙门氏菌 (*S. typhimurium*)、猪霍乱沙门氏菌 (*S. Choleraesuis*)、肠炎沙门氏菌 (*S. enteritidis*)<sup>[2]</sup>。目前,在人类临床治疗和农业及畜牧业生产中,抗生素仍然是对付各种病原菌的首选药物。为了促进家禽生长、预防及治疗感染,抗生素被成功运用在家禽饲养方面;但是它的使用导致了多重耐药菌株的大量出现<sup>[3]</sup>,更为严重的是多重耐药 (multidrug-resistant, MDR) 菌可能会通过食用动物传递给人类<sup>[4-5]</sup>,故应引起食品生产企业及政府监管部门的高度重视,并应不断深入开展主动监测和风险评估工作。鉴于此,我们对苏北部分地区肉鸡加工厂的鸡胴体沙门氏菌进行了分离鉴定及药敏试验研究,为今后沙门氏菌的理论研究及疾病治疗奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选择江苏省苏北地区两个食品公司作为采样点,按照无菌操作采集生产加工阶段的鸡胴体,共 204 份。检测中所使用的增菌用干粉培养基购自北京陆桥技术有限责任公司;分离用显色培养基购自郑州博赛生物工程有限责任公司;沙门氏菌诊断血清、生化鉴定试剂盒等购自宁波天润生物药业有限公司;冻干型细菌定量药敏 (MIC) 测试盒含有 16 种抗菌药物,分别为复方磺胺甲恶唑 (SMZ)、四环素 (TET)、卡那霉素 (KAN)、庆大霉素 (GEN)、萘啶酸 (NAL)、环丙沙星 (CIP)、氯霉素 (CHL)、氨苄青霉素 (AMP)、头孢吡肟 (CEF)、阿米卡星 (AMI)、头孢噻肟/克拉维酸 (CTX/CLA)、阿莫西林/克拉维酸 (AMO/CLA)、头孢噻肟 (CTX)、头孢三嗪 (CTRX)、链霉素 (STR)、磺胺嘧啶 (SD),质控菌株为大肠埃希菌 (ATCC25922),均购于天津市金章科技发展有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 沙门氏菌的分离和鉴定

依照 GB/T 4789-2008<sup>[6]</sup>沙门氏菌的检测方法对样品进行增菌、分离、生化试验及血清鉴定。取 1 只鸡胴体放入无菌均质袋中,往胴体腹腔中加入 225 ml 缓冲蛋白胨水,往复式摇动来冲洗胴体的内外表面 1 min。将胴体淋洗液于 36℃ 培养 8~18 h,然后采用 SC 和 TTB 选择性前增菌,在 HE 和 CAS 琼脂平板上划线分离。选择可疑菌落进行生化试验,用 A~F 多价 O 血清做玻片凝集试验,观察结果。属于 A~F 各 O 群的菌型,依次用 H 因子血清检查第 1 相和第 2 相的 H 抗原。

#### 1.2.2 耐药性监测

直接从过夜培养的平板上挑取单个新鲜菌落,均匀悬浮于 1.5 ml 细菌稀释管中,再将该菌液调整到 0.5 麦氏比浊管的浓度。采用 MIC 微量肉汤稀释法对分离的沙门氏菌进行药敏试验。首先用无菌滴管从 40 ml 稀释液中吸取 3 滴稀释液加入到空白对照孔。用无菌滴管吸取已调节好浓度的菌液 1 滴加到细菌 MIC 稀释液瓶中混匀,将该瓶内菌液倒入接种池中,用 8 道移液器将 100 μl 菌液加到 96 孔药敏接种板中 (除空白对照孔),盖上无菌盖,接种过程完毕。耐药结果判定参照美国临床实验室标准协会 (clinical and laboratory standards institute, CLSI) 的标准<sup>[7]</sup>,分为敏感 (susceptible)、中介度 (intermediate susceptible) 和耐药 (resistant) 3 种。

## 2 结果

### 2.1 沙门氏菌的分离鉴定

204 份样品中共分离沙门氏菌 71 株,总检出率为 34.8%;样品中共鉴定出奥尔巴尼沙门氏菌 21 株 (29.6%)、印第安纳沙门氏菌 36 株 (50.7%)、未定型 14 株 (19.7%),见表 1。

表 1 鸡胴体沙门氏菌的血清鉴定结果

Table 1 Serological identification of salmonella on chicken carcass

血清鉴定	鉴定结论	菌株 (n)	构成 (%)
O8, O20, Hz4, Hz24	奥尔巴尼沙门氏菌	21	29.6
O4, O12, Hz, H1, H7	印第安纳沙门氏菌	36	50.7
OA~OF 多价	未定型	14	19.7

### 2.2 耐药性分析结果

对 71 株沙门氏菌进行药敏试验,结果显示:几乎所有的沙门氏菌都对 3 种以上的药物产生抗性,对 3~7 种药物耐药的有 24 株 (33.8%),对 8~12 种药物耐药的有 19 株 (26.8%),对 13~16 种药物耐药的有 26 株 (36.6%),结果见表 2。分离株对 16 种抗生素的耐药情况是:萘啶酸 (100%)、氨苄青霉素 (97.2%)、磺胺嘧啶 (98.6%)、复方磺胺甲恶唑 (85.9%)、四环素 (85.9%) 和阿莫西林/克拉维酸 (84.5%),见表 3。

## 3 讨论

样品中沙门氏菌的检出率高达 34.8%,说明生产加工环节肉鸡胴体表面沙门氏菌的污染严重,这可能成为人类沙门氏菌病感染的潜在来源。影响沙门氏菌检出率的因素有很多,例如加工环境的卫生

表 2 71 株沙门氏菌多重耐药性的测定结果

Table 2 Number of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella* strains isolated from Chicken carcass (n)

抗菌药物	耐药菌株数
NAL	1
NAL-CIP-TET	1
NAL-AMO/CLA-AMP-SD	5
NAL-AMO/CLA-AMP-CTX-SD	1
SMZ-NAL-TET-CHL-AMP	1
SMZ-NAL-TET-CHL-AMP-SD	4
SMZ-NAL-AMO/CLA-TET-CHL-AMP-SD	12
SMZ-NAL-AMO/CLA-TET-CHL-AMP-KAN-SD	1
SMZ-NAL-AMO/CLA-TET-CHL-AMP-CEF-SD	1
SMZ-NAL-AMO/CLA-TET-GEN-AMP-KAN-CIP-SD	3
SMZ-NAL-TET-GEN-CIP-CHL-AMP-CTX-CTR-SD	1
SMZ-NAL-AMO/CLA-TET-CHL-AMP-KAN-GEN-CTX-CIP-SD	3
SMZ-NAL-AMO/CLA-TET-CHL-AMP-KAN-GEN-CTX-CTR-SD	1
SMZ-NAL-AMO/CLA-TET-CHL-AMP-KAN-AMI-CTX-CTR-SD	1
NAL-AMI-CIP-TET-CHL-AMP-KAN-AMI-CTX-CTR-SD	1
NAL-AMO/CLA-CIP-TET-CHL-AMP-KAN-AMI-CTX-CTR-SD	1
SMZ-NAL-AMO/CLA-TET-CHL-AMP-KAN-GEN-CIP-CTX-CTR-SD	3
SMZ-NAL-AMI-TET-CHL-AMP-KAN-GEN-CIP-CTX-CTR-SD	2
SMZ-NAL-AMI-AMO/CLA-CHL-AMP-KAN-GEN-CIP-CTX-CTR-SD	1
SMZ-NAL-TET-AMO/CLA-CHL-AMP-KAN-GEN-CEF-CIP-CTX-CTR-SD	7
SMZ-NAL-TET-AMI-AMO/CLA-CHL-AMP-KAN-GEN-CIP-CTX-CTR-SD	5
SMZ-NAL-AMI-AMO/CLA-CHL-AMP-KAN-GEN-CEF-CIP-CTX-CTR-SD	2
SMZ-NAL-TET-AMI-CHL-AMP-KAN-GEN-CEF-CIP-CTX-CTR-SD	1
SMZ-NAL-TET-AMI-AMO/CLA-AMP-KAN-GEN-CEF-CIP-CTX-CTR-SD	1
SMZ-NAL-TET-AMO/CLA-AMP-CHL-KAN-GEN-CEF-CIP-CTX-CTR-STR	1
SMZ-NAL-AMI-AMO/CLA-TET-CHL-AMP-KAN-GEN-CEF-CIP-CTX-CTR-SD	9

表 3 16 种抗生素对沙门氏菌耐药率的监测结果

Table 3 Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from raw chicken carcasses [n(%)]

抗菌药物	S	I	R
SMZ	10(14.9)	0(0)	61(85.9)
TET	10(14.9)	0(0)	61(85.9)
KAN	28(39.4)	2(2.8)	41(57.7)
GEN	28(39.4)	1(1.4)	42(59.2)
NAL	0(0)	0(0)	71(100)
CIP	28(39.4)	2(2.8)	41(57.8)
CHL	11(15.5)	2(2.8)	41(57.8)
AMP	2(2.8)	0(0)	69(97.2)
CEF	37(52.1)	11(15.5)	23(32.4)
AMI	47(66.2)	0(0)	24(33.8)
CTX/CLA	-	-	-
AMO/CLA	6(8.5)	5(7.0)	60(84.5)
CTX	30(42.3)	1(1.4)	36(50.7)
CTR	34(47.9)	1(1.4)	36(50.7)
STR	-	-	-
SD	1(1.4)	0	70(98.6)

S, 实验结果为敏感;I, 实验结果为中介;R, 实验结果为耐药;-: 敏感判断标准待定。

条件、整个食品链不同阶段的交叉污染等<sup>[8]</sup>。沙门氏菌的交叉污染会发生在处理、加工、包装及分配各个环节中;鸡肉分割期间,工人对沙门氏菌的传播起着很大的作用<sup>[9]</sup>;取出内脏时,肠道破裂也可能发生交叉污染。本次研究中,样品分离的沙门氏菌血清型主要为印第安纳型(50.7%)和奥尔巴尼型(29.6%),提示它们可能是肉鸡携带的主要病原。为控制感染沙门氏菌的食品流入市场,应积极采取措施,加强食品采购、运输、销售、加工等环节的卫生管理,生熟分开以防交叉感染<sup>[10]</sup>。购买、储存、制作和食用加工鸡肉的过程中,控制时间和温度,也可降低感染沙门氏菌的风险,为此有学者提出以下降低鸡肉中沙门氏菌的建议<sup>[11]</sup>:我国生产者要加强鸡肉生产链的管理;对消费者尤其是婴幼儿等高危人群进行宣传教育。

由于临床和畜牧业抗菌药物的广泛应用甚至滥用,使得全球范围内沙门氏菌分离株的耐药性逐渐增强<sup>[12]</sup>。根据 CLSI 的药敏指南,我们选择了 16 种抗生素对沙门氏菌分离株进行药敏试验研究。本

次研究结果显示,大部分沙门氏菌至少对 3 种以上抗生素产生耐药,表现出多重耐药性;沙门氏菌对喹诺酮类如萘啶酸、青霉素类、磺胺类等药物的耐药性极高,而对头孢类抗生素的耐药性较低,这与郭云昌<sup>[13]</sup>、李郁等<sup>[14]</sup>的研究结果相似,但是沙门氏菌对各种药物的耐药性有明显的上升趋势,将给临床预防和治疗沙门氏菌感染带来很大挑战,表明江苏省苏北及周边地区畜禽养殖中抗生素的合理使用亟待加强。氟喹诺酮类和第三代头孢类药物是目前临床治疗沙门氏菌感染的一线药物<sup>[15]</sup>,本次结果显示,鸡源性沙门氏菌对氨基糖苷类阿米卡星、第三代头孢类头孢曲松、头孢噻肟十分敏感,但对氟喹诺酮类环丙沙星和第四代头孢类头孢吡肟出现了耐药和中介现象,表明随着其在临床及畜牧业的广泛持续应用,也会产生一定的耐药性,应引起高度重视。本次研究发现了 26 株沙门氏菌几乎对所有抗菌药物都产生耐受性,下一步应通过脉冲场凝胶电泳(PFGE)溯源结果,分析这些菌株是否同源,进而分析污染来源与途径。

#### [参考文献]

- [1] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of human Salmonella infections caused by contaminated dry dog food - United States, 2006 - 2007 [J]. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2008, 57 (19): 521-524
- [2] 王 军, 郑增忍, 王晶钰. 动物源性食品中沙门氏菌的风险评估[J]. *中国动物检疫*, 2007, 24(4): 23-25
- [3] Castanon, J. L. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds [J]. *Poult Sci*, 2007, 86(11): 2466-2471
- [4] Angulo F J, Baker NL, Olsen S J, et al. Antimicrobial use in agriculture: controlling the transfer of antimicrobial resistance to humans [J]. *Semin Pediatr Infect Dis*, 2004, 15(2): 78-85
- [5] Ricke SC, Kundinger MM, Miller DR, et al. Alternatives to antibiotics: chemical and physical antimicrobial interventions and foodborne pathogen response [J]. *Poult Sci*, 2005, 84(4): 667-675
- [6] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 4789-2008. 中华人民共和国国家标准食品卫生微生物学检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009
- [7] Clinical and laboratory Standards Institute. CLSI document M100-S20 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing, Twentieth Informational Supplement Pennsylvania [R]. Wayne, PA: Clinical and laboratory Standards Institute, 2010
- [8] Yeliz Yildirim, Zafer Gonulalan, Sebnem Pamuk, et al. Incidence and antibiotic resistance of Salmonella spp on raw chicken carcasses [J]. *Food Research International*, 2011, 44(3): 725-728
- [9] Uyttendaele MR, Debevere JM, Lips RM, et al. Prevalence of Salmonella in poultry carcasses and their products in Belgium [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1998, 40(1): 1-8
- [10] 黄玉柳. 食品中沙门氏菌污染状况及预防措施[J]. *广东农业科学*, 2010, 37(6): 225-226
- [11] 朱 玲, 许喜林, 周彦良, 等. 加工肉鸡中沙门氏菌风险评估[J]. *现代食品科技*, 2009, 25(7): 827-829
- [12] Rajashekara G, Haverly E, Halvorson DA, et al. Multidrug resistant Salmonella typhimurium DT104 in poultry [J]. *J Food Protect*, 2000, 63 (2): 155-161
- [13] 郭云昌, 刘秀梅. 市售鸡肉中沙门氏菌分离株多重耐药谱测定[J]. *中国食品卫生杂志*, 2005, 17(2): 100-102
- [14] 李 郁, 焦新安, 魏建忠, 等. 合肥市零售猪肉中沙门氏菌分离株多重耐药谱研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2007, 28(12): 1246
- [15] 周世明, 贾 杰. 耐药性伤寒的抗菌治疗新进展[J]. *中国热带医学*, 2003, 3(4): 514-515

[收稿日期] 2011-07-11