



吴慧敏, 夏盼盼, 吴海潮, 陈万昭, 秦蕾, 徐琦琦, 刘泽鹏, 夏利宁. 新疆某规模化猪场“人-动物-环境”来源沙门菌耐药性分析[J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(07): 142-150.

WU Huimin, XIA Panpan, WU Haichao, CHEN Wanzhao, QIN Lei, XU Qiqi, LIU Zepeng, XIA Lining. Antimicrobial resistance analysis of *Salmonella* isolates of “human-animal-environment” origin from a large-scale pig farm in Xinjiang[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2023, 28(07): 142-150.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2023.07.13

## 新疆某规模化猪场“人-动物-环境”来源沙门菌耐药性分析

吴慧敏 夏盼盼 吴海潮 陈万昭 秦蕾 徐琦琦 刘泽鹏 夏利宁\*

(新疆农业大学 动物医学学院/新疆草食动物新药研究与创制重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

**摘要** 为了解新疆某规模化猪场人、动物和环境来源沙门菌的流行情况、耐药性及耐药基因的携带情况,本研究从该场采集养殖人员粪便和鞋底拭子、猪肛拭子和环境样品共 855 份进行沙门菌的分离鉴定,并对分离得到的沙门菌采用 CLSI 推荐的琼脂稀释法进行 11 种抗菌药物最小抑菌浓度的测定,通过 PCR 方法检测相关耐药基因。结果表明:1)共分离到沙门菌 288 株,3 种来源样品中沙门菌分离率从高到低依次为养殖人员样品(47.2%),猪肛拭子(33.9%)及环境样品(32.3%)。2)3 种来源沙门菌对四环素、氟苯尼考、多西环素和氨苄西林的耐药率均在 75.0%以上;环境源沙门菌耐药情况最严重,人与猪源沙门菌耐药情况相近。该场沙门菌对头孢噻唑和亚胺培南的敏感性较高,未检出对左氧氟沙星和阿米卡星耐药的菌株。分离株共有 30 种耐药谱型,3 耐及以上菌株占 81.3%,以 7 耐菌株为主,环境源沙门菌 7 耐菌株检出率(65.4%)高于猪源和人源沙门菌。3)分离株中检出 11 种相关耐药基因,bla<sub>TEM</sub> 基因的检出率为 100.0%,ant(3'')-Ia、aac(6')-Ib 和 floR 基因的携带率均高于 50.0%。猪源沙门菌中四环素类耐药基因 tetA 和 tetM 的检出率在 50.0%左右,高于环境源和人源沙门菌。此外,检出 2 株碳青霉烯类多药耐药基因 bla<sub>NDM</sub> 阳性菌株。综上,沙门菌在该猪场人源样品中检出率最高,环境源沙门菌的耐药情况最严重、多药耐药率最高、耐药谱最广、耐药基因携带率最高。3 种来源的沙门菌在流行情况、耐药情况及耐药基因携带率等方面存在差异,应从人-动物-环境健康的整体视角出发,结合沙门菌分离率和耐药性检测结果,规范消杀流程,合理使用抗菌药物。

**关键词** 沙门菌; 耐药性; 耐药基因; 人-动物-环境

中图分类号 S852.61

文章编号 1007-4333(2023)07-0142-09

文献标志码 A

## Antimicrobial resistance analysis of *Salmonella* isolates of “human-animal-environment” origin from a large-scale pig farm in Xinjiang

WU Huimin, XIA Panpan, WU Haichao, CHEN Wanzhao, QIN Lei, XU Qiqi, LIU Zepeng, XIA Lining\*

(College of Veterinary Medicine/Xinjiang Key Laboratory of New Drug Study and Creation for Herbivorous Animal,

Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

**Abstract** In order to understand the prevalence, antimicrobial resistance and carriage of resistance genes of *Salmonella* from human, animal and environment-origin in a large-scale pig farm in Xinjiang, in this study, a total of 855 samples, including fecal and sole swabs of farm workers, pig anal swabs and environmental swabs, were collected and subjected to isolation and identification of *Salmonella*. The minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined by the agar dilution method recommended by CLSI for the isolated *Salmonella*, and related drug resistance

收稿日期: 2022-10-20

基金项目: 国家自然科学基金-地区基金项目(31860714); 自治区重点学科和重点实验室开放课题(XJCDVM-HDRC-S202304)

第一作者: 吴慧敏(ORCID:0000-0002-9539-6399), 硕士研究生, E-mail: 1531279053@qq.com

通讯作者: 夏利宁(ORCID:0000-0003-0653-3839), 教授, 主要从事兽医药理与毒理学研究, E-mail: xln750530@163.com

genes were detected by PCR. The results showed that: 1) A total of 288 stains of *Salmonella* were isolated, and the isolation rate of *Salmonella* in the three source samples was from the highest to the lowest as follows: farm worker samples (47.2%), pig anal swabs (33.9%) and environmental swabs (32.3%). 2) MIC test showed that the drug resistance rates of the *Salmonella* from three sources to tetracycline, florfenicol, doxycycline and ampicillin were all above 75.0%; The drug resistance of environmental *Salmonella* was the most serious and the drug resistance situation of human and porcine *Salmonella* was similar. The *Salmonella* isolates in this farm was highly sensitive to cefotiofur and imipenem, no strains resistant to levofloxacin and amikacin were detected. There were 30 drug resistance patterns in total, of which 81.3% were resistant to 3 or more antimicrobials, 7 resistant strains are the main ones. The detection rate of 7 resistant strains of environmental *Salmonella* (65.4%) was higher than that of porcine and human *Salmonella*. 3) 11 related drug resistance genes could be detected in the isolates, the detection rate of *bla*<sub>TEM</sub> gene was 100.0%, the carrying rates of *ant*(3<sup>'</sup>)-*la*, *aac*(6<sup>'</sup>)-*lb* and *floR* genes were all higher than 50.0%. The detection rate of tetracycline-resistant genes *tetA* and *tetM* in *Salmonella* from swine was about 50.0%, which was higher than that of environmental and human *Salmonella*. In addition, two *Salmonella* strains carrying carbapenem multidrug resistance gene *bla*<sub>NDM</sub> were detected. To sum up, *Salmonella* has the highest detection rate in the human samples of the pig farm, and the drug resistance of environmental *Salmonella* was the most serious, the highest multidrug resistance rate, the widest drug resistance spectrum and the highest drug resistance gene carrier rate. There are differences in the prevalence, drug resistance and drug resistance gene carrying rate for *Salmonella* from three sources. We should standardize the disinfection and sterilization process and reasonably use antibiotics based on the overall perspective of human-animal-environmental health and the isolation rate and drug resistance status of *Salmonella*.

**Keywords** *Salmonella*; drug resistance; drug resistance gene; human-animal-environment

食源性疾病是威胁公共安全最重要的因素之一<sup>[1]</sup>,而沙门菌是一种广泛分布于自然界、人和动物肠道中常见的食源性致病菌<sup>[2]</sup>。我国每年约有三亿人因感染沙门菌而患病,占所有致病菌引起食源性疾病的70.0%~80.0%,其中由肉类造成沙门菌传播高达90.0%以上<sup>[3]</sup>。防治沙门菌病最有效且常用的手段是应用抗菌药物,但由于抗菌药物的滥用,沙门菌的耐药性逐渐增强,甚至产生了多药耐药菌株。日渐严重的耐药问题给畜牧业的良性发展和人类的身体健康带来了严重危害<sup>[4]</sup>。

猪是沙门菌的第二大宿主<sup>[5]</sup>,在猪只养殖过程中,沙门菌极易通过粪便、水、土壤、饲料和空气等传播给养殖人员<sup>[6]</sup>,尤其是在集中规模化的养殖方式下,畜禽数目庞大,养殖空间狭小,加剧了传播风险<sup>[5]</sup>。有研究表明,在养殖过程中抗菌药物的使用与人群中耐药菌株的增加有关联<sup>[7]</sup>。目前,我国沙门菌耐药性研究多局限于人或动物,较少综合性报道人、动物和环境中沙门菌的耐药情况。故本研究在新疆某规模化猪场中,将采集的人、动物和环境源样品中分离的沙门菌作为研究对象,了解其在猪场中的流行情况,比较3种来源沙门菌的耐药性和携带耐药基因的情况,并提供消杀和用药建议,降低沙门菌的传播和耐药菌产生的风险。同时,提示人们关注沙门菌等人畜共患病原菌在环境中存在的风险,

提高自我保护意识及建立抗菌药物正确使用意识。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株

2021年6月在新疆奇台县某规模化猪场采集人、动物和环境样品共855份,其中猪肛拭子407份(腹泻猪肛拭子75份、经产猪肛拭子272份、后备猪肛拭子60份)、环境样品412份(产房环境样品70份、保育环境样品150份、其他环境样品156份、养殖人员鞋底样品36份)及养殖人员粪便样品36份。大肠埃希标准质控菌(ATCC 25922)购自杭州天和微生物试剂有限公司。

#### 1.1.2 培养基、试剂及药品(抗菌药物)

MH(Mueller-Hinton)培养基、氯化镁孔雀绿增菌液(Rappaport-Vassiliadis Medium, MM)、SS琼脂培养基(*Salmonella* Shigella Agar)均购自奥博星生物技术有限公司(北京);甘油和50×TE缓冲液购自生工生物工程(上海)股份有限公司;DL 2 000 DNA Maker, 2×Taq PCR Master Mix, dd H<sub>2</sub>O、琼脂糖与核酸染料均购自天根生化科技(北京)有限公司;药敏试验用抗菌药物购自上海源叶生物技术有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 细菌分离鉴定

将采集的样品拭子放入装有灭菌 MH 肉汤的 EP 管中混匀,吸取 20  $\mu$ L MH 肉汤至 1 mL 灭菌 MM 增菌液中,于摇床 37  $^{\circ}$ C 培养 48 h 后用灭菌接种环在 SS 琼脂培养基上划线培养 18~24 h,培养基上的中间黑色周围透明的菌落,可初步鉴定为沙门菌,对疑似沙门菌的菌株进行持家基因 *invA* 的 PCR 扩增<sup>[8]</sup>。扩增产物经加核酸染料的 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测后,将目的片段进行胶回收并送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。测序结果经美国国家生物技术信息中心网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)比对,相似性 >96.0% 判定为沙门菌,20.0% 灭菌甘油 -80  $^{\circ}$ C 保存备用。

### 1.2.2 药物敏感性试验

采用琼脂稀释法对分离株进行 11 种抗菌药物最小抑菌浓度(Minimal inhibitory concentrations, MICs)的测定,测试药物包括养殖场常用抗菌药物以及部分备选抗菌药物:氨基糖苷类(阿米卡星、庆大霉素)、喹诺酮类(恩诺沙星、环丙沙星、左氧氟沙星)、 $\beta$ -内酰胺类(氨苄西林、头孢噻唑、亚胺培南)、四环素类(四环素、多西环素)和酰胺醇类(氟苯尼考),测试所用抗菌药物敏感性判断标准及具体试验操作按照美国临床实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)<sup>[9]</sup>推荐的动物源细菌抗菌药物敏感性试验执行标准进行。

### 1.2.3 耐药基因检测

对不同来源的沙门菌进行氨基糖苷类(*ant* ( $3'$ )-*Ia*、*aac* ( $6'$ )-*Ib*)、喹诺酮类(*oqx*A、*oqx*B、*qnr*S)、 $\beta$ -内酰胺类(*bla*<sub>CTX-M</sub>、*bla*<sub>TEM</sub>、*bla*<sub>NDM</sub>)、四环素类(*tet*A、*tet*M)和酰胺醇类(*flo*R)耐药基因进行检测。所用耐药基因的引物见文献<sup>[10-16]</sup>,由生工生物工程(上海)有限公司合成上述引物。

### 1.2.4 数据分析

采用 SPSS 19.0 软件对不同来源沙门菌分离率、耐药率与基因检出率进行差异性分析, $P < 0.05$  为差异显著, $P > 0.05$  为差异不显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 猪场中人、动物和环境源沙门菌的分离鉴定

该猪场母猪存栏量大约为 2 300 头,年产合格健仔数约为 67 000 头,养殖场常用四环素类、头孢菌素类、氨基糖苷类、青霉素类和酰胺醇类抗菌药物

作为防治性药物使用。本研究以 855 份新疆奇台县某规模化养猪场采集到的人、动物和环境源样本为研究对象,共分离得到 288 株沙门菌,分离率为 33.7%。人源沙门菌的分离率最高,为 47.2%(17/36),猪源沙门菌的分离率为 33.9%(138/407),环境源沙门菌的分离率最低,为 32.3%(133/412)。其中猪源样品中腹泻猪源和经产猪源沙门菌的分离率较高,分别为 42.7%(32/75)和 37.9%(103/272),而后各猪源沙门菌的分离率仅为 5.0%(3/60);环境源样品中产房环境源沙门菌的分离率高达 77.1%(54/70),工人粪源沙门菌(47.2%,17/36)与工人鞋底源沙门菌(41.7%,15/36)的分离率相近(表 1)。结果表明该猪场人-动物-环境源样品中均能检出沙门菌,且人源沙门菌的分离率最高,其次是猪源和养殖场中的环境源。

### 2.2 猪场中人、动物和环境源沙门菌耐药及多药耐药情况

猪场分离的 288 株沙门菌对四环素(86.1%,248/288)、多西环素(84.4%,243/288)、氟苯尼考(79.9%,230/288)和氨苄西林(78.5%,226/288)的耐药率较高,均在 75.0% 以上;未检出对左氧氟沙星和阿米卡星耐药的菌株,仅检出 4 株对头孢噻唑耐药的菌株和 6 株对亚胺培南耐药的菌株。

3 种来源沙门菌的耐药严重程度由高到低为:环境源沙门菌、人源沙门菌、猪源沙门菌。环境源沙门菌对氟苯尼考(92.5%,123/133)的耐药率显著高于猪源沙门菌的耐药率( $P < 0.05$ );环境源沙门菌对恩诺沙星(70.7%,94/133)的耐药率显著高于猪源沙门菌(9.4%,13/138)和人源沙门菌(11.8%,2/17)的耐药率( $P < 0.05$ );环境源和人源沙门菌对四环素、多西环素、氨苄西林、环丙沙星和庆大霉素的耐药率均在 52.0% 以上,显著高于猪源沙门菌的耐药率( $P < 0.05$ );该猪场沙门菌对亚胺培南和头孢噻唑的耐药率较低,均低于 3.0%,耐药菌株仅在猪源和环境源中检出(表 2)。

猪场分离的沙门菌多药耐药在 0~8 耐均有分布,共有 30 种耐药谱型,3 耐及 3 耐以上的菌株占 81.3%(234/288);多药耐药菌株以 7 耐为主(34.0%,98/288),其中 GEN-TET-DOX-CIP-ENO-FFC-AMP 谱型最多(33.0%,95/288);7 耐菌株主要从环境源沙门菌中检出,占 65.4%(87/133),仅从环境源沙门菌中检出 1 株 8 耐菌株;猪源沙门菌中以 4 耐菌株为主,检出率为 47.8%(66/138);

人源沙门菌中以 6 耐菌株为主,检出率为 41.2% 耐药情况严重,耐药谱广,耐药表型种类多,其中环  
(7/17)(表 3)。结果表明该猪场不同来源沙门菌的 境源沙门菌耐药情况最为严峻。

表 1 养猪场人-动物-环境来源的沙门菌分离情况

Table 1 Isolation rates of *Salmonella* from human-animal-environment in the pig farm

来源 Source	沙门菌分离率(分离数/采样数) <i>Salmonella</i> isolation rate (Number of isolates/Samples)	合计 Total
猪源 Pig	腹泻猪	42.7%(32/75)
	经产猪	37.9%(103/272)
	后备猪	5.0%(3/60)
环境源 Environment	产房环境	77.1%(54/70)
	工人鞋底	41.7%(15/36)
	保育猪环境	22.0%(33/150)
	其他环境	19.9%(31/156)
人源 Worker	人源粪便	47.2%(17/36)
		33.9%(138/407) a
		47.2%(17/36) ab
		32.3%(133/412) a

注:同一列数据不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),相同字母则表示差异不显著( $P > 0.05$ )。下同。

Note: Different letters in the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ), and the same letters indicate no significant differences ( $P > 0.05$ ). The same below.

表 2 不同来源沙门菌对 11 种抗菌药物的耐药率

Table 2 Resistance rate of *Salmonella* from different sources to 11 kinds of antibiotics

抗菌药物 Antibiotics	猪源(n=138) Pig	环境源(n=133) Environment	人源(n=17) Worker	总计(n=288) Total
四环素 TET	79.0 a	93.2 b	94.1 b	86.1
多西环素 DOX	76.8 a	91.7 b	88.2 b	84.4
氟苯尼考 FFC	65.9 a	92.5 b	82.3 ab	79.9
氨苄西林 AMP	68.8 a	87.2 b	88.2 b	78.5
环丙沙星 CIP	15.2 a	79.7 b	64.7 bc	48.3
庆大霉素 GEN	9.4 a	78.9 b	52.9 c	44.1
恩诺沙星 ENR	9.4 a	70.7 b	11.8 a	37.8
亚胺培南 IPM	3.6 a	0.8 a	0 a	2.1
头孢噻唑 CEF	2.2 a	0.8 a	0 a	1.4
左氧氟沙星 LEV	0 a	0 a	0 a	0
阿米卡星 AMK	0 a	0 a	0 a	0

表3 猪场人-动物-环境来源的沙门菌多药耐药率  
Table 3 Multidrug resistance rate of *Salmonella* from human-animal-environment sources

多药耐药数 Number of multidrug resistance	猪源( $n=138$ )	环境源( $n=133$ )	人源( $n=17$ )	总计( $n=288$ )
	Pig	Environment	Worker	Total
1耐 1-resistance	9.4	3.0	5.9	6.3
2耐 2-resistance	2.9	5.3	0	3.8
3耐 3-resistance	5.1	1.5	5.9	3.5
4耐 4-resistance	47.8	6.0	17.6	26.0
5耐 5-resistance	8.7	5.3	11.8	7.3
6耐 6-resistance	5.1	11.3	41.2	10.1
7耐 7-resistance	6.5	65.4	11.8	34.0
8耐 8-resistance	0	0.8	0	0.3

### 2.3 猪场中人、动物和环境源沙门菌的耐药基因检测

该猪场分离的沙门菌中 $\beta$ -内酰胺酶耐药基因 $bla_{TEM}$ 的检出率为100.0%，猪源和人粪源菌中分别检出7株(5.1%)和1株(6.3%) $bla_{CTX-M}$ 基因阳性菌，此外，2株猪源沙门菌中检出 $bla_{NDM}$ 基因；环境源和人源沙门菌中氨基糖苷类耐药基因 $ant(3'')-Ia$ 和 $aac(6')-Ib$ 的检出率均大于70.0%，高于猪源沙门菌；70株(50.7%)和68株(49.3%)猪源沙门菌

检出四环素类耐药基因 $tetA$ 和 $tetM$ ，检出率显著高于环境源和人源沙门菌( $P < 0.05$ )；喹诺酮类耐药基因 $oqxA$ 和 $oqxB$ 在环境源和人源沙门菌中检出情况相同，各检出104株(78.2%)和9株(52.9%)携带上述2种基因的沙门菌，且同时携带2种基因的菌株占阳性菌株的98.2%(111/113)；猪源沙门菌中共检出65株(47.1%) $qnrS$ 基因阳性菌株，显著高于环境源和人源沙门菌的检出率( $P < 0.05$ )(表4)。结果表明该猪场不同来源沙门菌中

表4 猪场人-动物-环境来源的沙门菌耐药基因检出率  
Table 4 Detection rate of drug resistance genes in *Salmonella* from human-animal-environment sources

基因类别 Gene category	基因 Gene	猪源( $n=138$ ) Pig	环境源( $n=133$ ) Environment	人源( $n=17$ ) Worker	总计( $n=288$ ) Total
$\beta$ -内酰胺酶 $\beta$ -Lactamase	$bla_{TEM}$	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0
	$bla_{CTX-M}$	5.1 a	0 a	5.9 a	2.8
	$bla_{NDM}$	1.4 a	0 a	0 a	0.7
氨基糖苷类 Aminoglycosides	$ant(3'')-Ia$	71.7 a	86.5 ab	82.4 ab	79.2
	$aac(6')-Ib$	20.2 a	82.0 b	70.6 b	51.7
酰胺醇类 Amphenicols	$floR$	67.4 a	89.5 b	82.4 ab	78.5
	$oqxA$	6.5 a	78.2 b	52.9 bc	42.4
	喹诺酮类 Quinolones	$oqxB$	5.8 a	78.2 b	52.9 bc
$qnrS$		47.1 a	7.5 b	5.9 b	26.4
四环素类 Tetracyclines	$tetA$	50.7 a	6.8 b	5.9 b	27.8
	$tetM$	49.3 a	4.5 b	5.9 b	26.0

携带的耐药基因种类多,以 *bla*<sub>TEM</sub>、*ant*(3′)-*Ia* 和 *floR* 基因的检出率较高,基因共存情况严重,环境源沙门菌的耐药基因检出率最高。

### 3 讨论

#### 3.1 猪场中人源沙门菌分离率高于养殖环境源和猪源

沙门菌是引起人畜共患病及食物中毒的主要食源性致病菌之一,没有中间宿主,在自然界中广泛分布,给畜牧养殖业和公共卫生安全造成了潜在危害<sup>[17]</sup>。本研究中沙门菌总分离率为 33.7%,以人源沙门菌分离率最高,达到 47.2%,高于新疆乌鲁木齐市人源沙门菌的检出率<sup>[18]</sup>。养殖业规模的快速发展,虽然减少了养殖场养殖人员的数量,但是养殖人员与带菌动物的接触却更加频繁了<sup>[19-20]</sup>。Su 等<sup>[21]</sup>研究表明,猪是沙门菌的主要动物宿主,沙门菌极易通过粪-口途径感染给其服务业工人。本研究中环境源沙门菌与猪源沙门菌的分离率(32.3%~33.9%)相近,但低于郭昱含<sup>[22]</sup>报道的我国不同地区饲料厂工人鞋底上沙门菌的检出率,远高于吉林省猪源沙门菌的分离率<sup>[23]</sup>。通过与该场工作人员交流,分析其原因可能是在样品采集时正逢怀孕母猪进入围产期,孕猪所在圈舍无法按时进行消杀,导致环境中及工人鞋底上沙门菌的检出率高。并且,本研究中有腹泻症状猪只的沙门菌分离率较高,其腹泻的原因可能是沙门菌的直接感染或继发感染。多项研究表明,疾病的传播过程会涉及人、动物和环境 3 个层面,当病原体存在于废水、土壤及其他环境中时,通过相关储存宿主或媒介,极易导致动物或人感染疾病<sup>[24]</sup>。此外,养殖人员鞋底与自身粪便的带菌情况有较密切的相关性,这可能与其出入场地沙门菌污染严重程度有关。根据本研究结果,应加强对腹泻猪只和经产猪只圈舍的消毒,适当增加消毒液中药物的有效浓度,增加消毒频率,在消毒过程中应加强对角落的消毒工作;产房应在一个围产期结束后对其环境进行全方位消毒,并且配怀舍也要加强消毒,改善待产母猪生活环境的卫生条件,降低待产母猪与沙门菌等病原菌的接触几率,从而降低待产母猪进入产房时的带菌率;同时工作人员要加强鞋底、手部等日常消毒。

#### 3.2 猪场中环境源沙门菌耐药情况较人源和猪源更严重

抗菌药物耐药性在人、动物和环境层面的流动

与循环,对人类、动物和环境的健康造成了巨大威胁<sup>[25]</sup>。本研究中 3 种来源沙门菌对四环素类和酰胺醇类药物的耐药率均在 65.0%以上,在对四环素和多西环素表现为不耐药的菌株中分别检出了 92.5%和 55.6%处于中介状态的菌株,暗示养殖场近期如果使用上述药物会造成耐药沙门菌数量的快速增加。不同来源的沙门菌对喹诺酮类药物耐药率差异较大,环境源沙门菌对环丙沙星和恩诺沙星的耐药率均显著高于猪源沙门菌,而人源沙门菌对环丙沙星(64.7%)的耐药率接近于环境源沙门菌的耐药率,对恩诺沙星(11.8%)的耐药率接近于猪源沙门菌的耐药率。分析原因可能是环境中耐环丙沙星的沙门菌主要来自于饲养员,尤其是工人流动相对频繁的产房环境和保育猪环境中环丙沙星耐药菌株检出率更高也间接的证明这点。值得注意的是,本研究中腹泻猪源沙门菌对环丙沙星和恩诺沙星的耐药率是健康猪源沙门菌耐药率的 6.5 倍以上,但是腹泻猪源沙门菌对上述 2 种药物的中介率低于健康猪源沙门菌,出现这种耐药性差异可能是因为养殖场仅对腹泻猪只进行隔离治疗,导致腹泻猪只携带的中介耐药沙门菌快速转变为耐药菌。此外,该场沙门菌对头孢噻唑和亚胺培南敏感性较高,未检出对左氧氟沙星和阿米卡星耐药的菌株,因此上述药物可以作为治疗细菌性疾病的备选药物,但是在使用时也应注意使用剂量和用药周期,避免出现新型耐药菌株。

多药耐药结果显示,该场的沙门菌多药耐药集中在 4 耐(26.0%)和 7 耐(34.0%),耐药谱型种类多达 30 种。由于健康状况和饲养环境的不同,腹泻猪源沙门菌多药耐药率(81.3%)高于健康猪源沙门菌多药耐药率(68.6%),与酒跃光等<sup>[26]</sup>报道的结果相似。在环境源沙门菌中,产房环境源和保育猪环境源沙门菌的多药耐药率均为 100.0%;通过对比发现,工人鞋底源、产房环境源和保育猪环境源沙门菌多药耐药谱种类较为单一,且均以 GEN-TET-DOX-CIP-ENO-FFC-AMP 7 耐谱型为主,分析可能是因为工人频繁进出产房和保育猪圈舍,加剧了耐药菌在二者之间的传播。

#### 3.3 猪场中环境源沙门菌耐药基因检出情况较人源和猪源更严重

细菌可以通过可移动元件的水平转移获得抗菌药物的耐药基因,并且会造成耐药基因在人、动物和环境中的流动循环<sup>[27-31]</sup>。本研究耐药基因结果显示,

该场分离的沙门菌  $bla_{TEM}$  基因的检出率高达 100.0%，说明  $bla_{TEM}$  基因是介导该场沙门菌对  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药的主要原因之一。本研究  $bla_{CTX-M}$  基因检出结果与杨丹<sup>[32]</sup> 和 Wang 等<sup>[33]</sup> 一致，在 7 株检出  $bla_{CTX-M}$  基因的猪源沙门菌中有 6 株来自腹泻猪粪样，并且其中 2 株还同时携带碳青霉烯类多药耐药基因  $bla_{NDM}$ 。 $bla_{NDM}$  基因阳性菌株可以通过人和动物传播到环境中，目前在河水、污水、养殖场周围环境中都有检出  $bla_{NDM}$  基因阳性菌株<sup>[34]</sup>，该基因已经成为中国第二流行的碳青霉烯酶，并且产 NDM 酶的菌株大多同时携带多种耐药基因<sup>[35]</sup>。 $qnrS$ 、 $oqxA$  和  $oqxB$  这 3 种质粒介导的喹诺酮类耐药基因在猪场不同来源沙门菌中的检出率有所差异，环境源和人源沙门菌以携带  $oqxA$  基因和  $oqxB$  基因为主，而猪源沙门菌以携带  $qnrS$  基因为主，耐药基因检测结果与耐药表型呈正相关。携带上述基因的细菌可以通过饲料、饮水、人员流动甚至空气进行传播，且在临床滥用药物的压力下，这些基因的表达可能会增强，菌株突变的频率会增大，导致敏感菌迅速发展为耐药菌，因此不容轻视<sup>[32, 36]</sup>。该场中 3 种来源沙门菌携带的氨基糖苷类和氟苯尼考耐药基因分别以  $ant(3'')-Ia$  基因和  $floR$  基因为主，与对应抗菌药物的耐药表型基本一致。猪源沙门菌携带的四环素类耐药基因以  $tetA$  基因 (50.7%) 和  $tetM$  基因 (49.3%) 为主，推测猪源沙门菌对四环素和多西环素耐药主要是由  $tetA$  基因和  $tetM$  基因介导，而另外两种来源的沙门菌对四环素的耐药率超过 85.0%，但  $tetA$  基因和  $tetM$  基因的检出率未超过 10.0%，耐药表型与耐药基因型不相符，分析可能存在其他介导四环素类药物耐药的基因 (如  $tetB$ 、 $tetC$  和  $tetO$  等) 或酶解蛋白<sup>[37]</sup>。由于耐药菌株和耐药基因会跨物种进行传播，所以，从人、动物和环境 3 个方面防控耐药菌株及耐药基因的流动尤为重要<sup>[34]</sup>。

我国大部分地区的养猪场都存在较为严重的耐药问题，细菌耐药监测是掌握细菌耐药性的重要措施，可以为临床使用抗菌药物提供数据支持，实验室与临床结合，遏制抗菌药物耐药，保护公共卫生安全。当前，我国正处于“减抗”时期，养猪场应该坚持饲喂生物饲料，多使用抗菌药物替代品防治疾病，如中兽药、生物兽药、微生态制剂和动物用免疫增强剂等，这些都可以有效控制动物源细菌耐药性，减少兽药残留，促进养猪业向好发展。同时，养猪场应该坚

持科学、规范做好圈舍和用具消杀工作，这样能有效抑制病原菌的传播和生长，结合定期打扫圈舍卫生，可以减少带菌或发病猪只数量的增加。

## 4 结论

新疆该猪场人源样品中沙门菌的检出率高于养殖环境和猪源样品中的检出率，环境源沙门菌的耐药情况和耐药基因检出情况较人源和猪源沙门菌更严重。在对猪只临床用药时推荐选取人、动物和环境 3 种来源沙门菌敏感性均比较高的药物治疗细菌性疾病，如头孢噻唑等。由于该猪场沙门菌多药耐药情况严重，耐药表型种类多，且耐药基因携带率高，为治疗和耐药菌防控增加难度，应从人-动物-环境健康的视角出发，结合沙门菌的分离和耐药性检测，同时规范消杀流程，合理使用抗菌药物，全面的对猪场中沙门菌进行持续监测，实验室与临床结合，共同促进人、动物和环境健康。

## 参考文献 References

- [1] Tao J, Liu W W, Ding W, Han R, Shen Q, Xia Y, Zhang Y H, Sun W P. A multiplex PCR assay with a common primer for the detection of eleven foodborne pathogens[J]. *Journal of Food Science*, 2020, 85(3): 744-754
- [2] 朱奇, 陆斌兴, 覃有泉, 樊秋云. 沙门氏菌生物学研究进展[J]. *疾病监测与控制*, 2015, 9(7): 474-478  
Zhu Q, Lu B X, Qin Y Q, Fan Q Y. Research progress on biological *Salmonella enteric*[J]. *Journal of Diseases Monitor & Control*, 2015, 9(7): 474-478 (in Chinese)
- [3] 谢建华, 周莉, 侯亚丽, 蔺露, 姚璐, 叶洁莹, 梁望旺, 杨泽林, 熊仲良. 重庆市畜禽产品中沙门氏菌污染状况调查分析[J]. *中国动物检疫*, 2016, 33(8): 27-30  
Xie J H, Zhou L, Hou Y L, Lin L, Yao L, Ye J Y, Liang W W, Yang Z L, Xiong Z L. Analysis on *Salmonella* contamination status of livestock and poultry products in Chongqing City[J]. *China Animal Health Inspection*, 2016, 33(8): 27-30 (in Chinese)
- [4] Bekele B, Ashenafi M. Distribution of drug resistance among *Enterococci* and *Salmonella* from poultry and cattle in Ethiopia[J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2010, 42(5): 857-864
- [5] 付亮剑. 饲料沙门氏菌污染的危害及控制[J]. *饲料广角*, 2008(20): 26-27, 38  
Fu L J. Harm and control of *Salmonella* pollution in feed[J]. *Feed China*, 2008(20): 26-27, 38 (in Chinese)
- [6] 巢国祥. 扬州市食源性致病菌流行现状、耐药特性和关键控制点研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2006  
Chao G X. Prevalence and antimicrobial susceptibility of selected foodborne pathogens and the critical control points of foodborne pathogens at Yangzhou[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2006 (in Chinese)
- [7] Gupta A, Nelson J M, Barrett T J, Tauxe R V, Rossiter S P, Friedman C R, Joyce K W, Smith K E, Jones T F, Hawkins M A, Shiferaw B, Beebe J L, Vugia D J, Rabatsky-Ehr T, Benson J A, Root T P, Angulo F J, Working Group N S. Antimicrobial resistance among campylobacter strains, United States, 1997-2001[J]. *Emerging infectious diseases*, 2004, 10(6): 1102-1109

- [8] 轩慧勇, 宋强强, 刘雪连, 宋超慧, 徐琦琦, 秦蕾, 夏利宁. 2015—2017年新疆动物源鼠伤寒沙门菌耐药性分析[J]. 中国农业大学学报, 2021, 26(2): 88-97  
Xuan H Y, Song Q Q, Liu X L, Song C H, Xu Q Q, Qin L, Xia L N. Drug resistance of *Salmonella* Typhimurium isolated from animals in Xinjiang, 2015—2017[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2021, 26(2): 88-97 (in Chinese)
- [9] M100-S23. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. Wayne, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013
- [10] 吴立婷. 扬州地区宠物源大肠杆菌耐药性分析及耐药基因检测[D]. 扬州: 扬州大学, 2017  
Wu L T. Detection and analysis of drug resistance genes among *Escherichia coli* isolated from companion animals in Yangzhou area[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2017 (in Chinese)
- [11] 杜伟伟. 河北省乳源金黄色葡萄球菌耐药性检测及耐药基因的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2015  
Du W W. Research on drug resistance and resistant genes of the *Staphylococcus aureus* from raw milk in Hebei Province[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- [12] Aminov R I, Garrigues-Jeanjean N, Mackie R I. Molecular ecology of tetracycline resistance: Development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(1): 22-32
- [13] 南海辰. 新疆不同动物源喹诺酮类耐药大肠杆菌 PMQR 因子流行性调查[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014  
Nan H C. Epidemic investigation of PMQR factor among quinolone-resistance *Escherichia coli* from different animal sources in Xinjiang[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [14] Gay K, Robicsek A, Strahilevitz J, Park C H, Jacoby G, Barrett T J, Medalla F, Chiller T M, Hooper D C. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-typhi serotypes of *Salmonella enterica* [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2016, 43(3): 297-304
- [15] Monstein H J, Osthalm-Balkhed A, Nilsson M V, Nilsson M, Dornbusch K, Nilsson L E. Multiplex PCR amplification assay for the detection of *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>* and *bla<sub>CTX-M</sub>* genes in *Enterobacteriaceae* [J]. *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, 2007, 115(12): 1400-1408
- [16] 陈静. 广州地区候鸟源产碳青霉烯酶大肠杆菌的耐药性初步研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2017  
Chen J. Preliminary study on drug resistance of carbapenemase-producing *Escherichia coli* from migratory birds in Guangzhou [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017 (in Chinese)
- [17] Proroga Y T R, Mancusi A, Peruzu M F, Carullo M R, Montone A M I, Fulgione A, Capuano F. Characterization of *Salmonella* Typhimurium and its monophasic variant 1, 4, [5], 12; i<sub>-</sub> isolated from different sources [J]. *Folia Microbiologica*, 2019, 64(6): 711-718
- [18] 马晓玉. 新疆不同动物及人源沙门氏菌生物学特性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2021  
Ma X Y. Biological characterization of *Salmonella* from different animal and human origins in Xinjiang, China [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2021 (in Chinese)
- [19] Graham J P, Leibler J H, Price L B, Otte J M, Pfeiffer D U, Tiensin T, Silbergeld E K. The animal-human interface and infectious disease in industrial food animal production; rethinking biosecurity and biocontainment [J]. *Public Health Reports*, 2008, 123(3): 282-299
- [20] Ramirez A, Capuano A W, Wellman D A, Leshner K A, Setterquist S F, Gray G C. Preventing zoonotic influenza virus infection [J]. *Emerg Infect Diseases*, 2006, 12(6): 996-1000
- [21] Su C P, de Perio M A, Fagan K, Smith M L, Salehi E, Levine S, Gruszynski K, Luckhaupt S E. Occupational distribution of campylobacteriosis and salmonellosis cases—Maryland, Ohio, and Virginia, 2014 [J]. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2017, 66(32): 850-853
- [22] 郭显含. 家禽沙门氏菌传播途径及防控措施 [J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2019, 39(8): 95-98  
Guo Y H. Transmission route and prevention and control measures of *Salmonella* in poultry [J]. *Animal Science Abroad (Pigs and Poultry)*, 2019, 39(8): 95-98 (in Chinese)
- [23] 李茂辉, 陈龙, 王好, 崔冰冰, 张贺亮, 钱爱东. 吉林省规模化猪场沙门菌携带情况调查 [J]. 吉林畜牧兽医, 2017, 38(6): 62, 64  
Li M H, Chen L, Wang H, Cui B B, Zhang H L, Qian A D. Investigation on *Salmonella carriage* in large-scale pig farms in Jilin Province [J]. *Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2017, 38(6): 62, 64 (in Chinese)
- [24] Frnck B, Timothy B, Osewe P. One Health economics for healthy people, agriculture and environment [EB/OL]. [2022-02-02]. <https://blogsworldbankorg/health/one-health-economics-healthy-people-agriculture-and-environment> 2017
- [25] Zhang Z Y, Zhang Q, Wang T Z, Xu N H, Lu T, Hong W J, Penuelas J, Gillings M, Wang M X, Gao W W, Qian H F. Assessment of global health risk of antibiotic resistance genes [J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 1553
- [26] 酒跃光, 朱顺, 栗绍文, Sher B K, 孙梦真, 邹夏, 孟宪荣, 吴斌, 周锐. 健康和患病猪来源沙门菌株的耐药性分析 [C] // 第八届全国畜牧兽医青年科技工作者学术研讨会论文集. 2016: 370  
Jiu Y G, Zhu S, Li S W, Sher B K, Sun M Z, Zou G, Meng X R, Wu B, Zhou R. Drug resistance analysis of *Salmonella* strains from healthy and diseased pigs [C]. In: Proceedings of the 8th National Young Scientific and Technological Workers Symposium on Animal Husbandry and Veterinary Medicine. 2016: 370 (in Chinese)
- [27] Spratt B G. Resistance to antibiotics mediated by target alterations [J]. *Science*, 1994, 264(5157): 388-393
- [28] Peterson E, Kaur P. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: Relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2928
- [29] Branas P, Villa J, Viedma E, Mingorance J, Orellana M A, Chaves F. Molecular epidemiology of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in Madrid: Successful establishment of an OXA-48 ST11 clone [J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2015, 46(1): 111-116
- [30] Forsberg K J, Reyes A, Wang B, Selleck E M, Sommer M O A, Dantas G. The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens [J]. *Science*, 2012, 337(6098): 1107-1111
- [31] Stoesser N, Sheppard A E, Pankhurst L, De Maio N, Moore C E, Sebra R, Turner P, Anson L W, Kasarskis A, Batty E M, Kos V, Wilson D J, Phetsouvanh R, Wyllie D, Sokurenko E, Manges A R, Johnson T J, Price L B, Peto T E A, Johnson J R, Didelot X, Walker A S, Crook D W. Evolutionary history of the global emergence of the *Escherichia coli* epidemic clone ST131 [J]. *mBio*, 2016, 7(2): e02162
- [32] 杨丹. 四川甘孜州藏鸡沙门氏菌的分离鉴定、耐药基因及可移动遗传元件的检测 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2016  
Yang D. Isolation, identification, resistance genes and mobile genetic elements detection of *Salmonella* from Tibetan chicken in Ganzi, Sichuan [D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2016 (in Chinese)
- [33] Wang W, Baloch Z, Peng Z, Hu Y, Xu J, Fanning S, Li F. Genomic characterization of a large plasmid containing a *bla<sub>NDM-1</sub>* gene carried on *Salmonella enterica* serovar Indiana C629 isolate from China [J]. *BMC Infectious Diseases*, 2017, 17(1): 479
- [34] 吕鲁超. 食品动物源大肠杆菌中 *bla<sub>NDM</sub>* 基因的传播机制研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2018  
Lv L C. Transmission mechanism of *bla<sub>NDM</sub>* genes in *Escherichia coli* of food-animal origin [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018 (in Chinese)
- [35] Zhang C P, Feng Y Q, Liu F, Jiang H, Qu Z N, Lei M, Wang J F, Zhang B, Hu Y F, Ding J B, Zhu B L. A phage-like IncY plasmid carrying the *mcr-1* gene in *Escherichia coli* from a pig farm in China [J].



*Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2017, 61(3): e02035

- [36] 金彪, 伍成奇, 唐攀, 邱渊皓, 刘万华, 武宁, 王鼎钰. 肉鸡源致病性大肠埃希菌中  $\beta$ -内酰胺类抗生素耐药基因的检测[J]. *动物医学进展*, 2013, 34(4): 65-69

Jin B, Wu C Q, Tang P, Qiu Y H, Liu W H, Wu N, Wang J Y. Detection of aminoglycosides resistance genes among pathogenic

*Escherichia coli* from broilers[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2013, 34(4): 65-69 (in Chinese)

- [37] Chopra I, Roberts M C. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2001, 65(2): 232-260

责任编辑: 秦梅



**第一作者简介:**吴慧敏,女,汉族,本科毕业于新疆农业大学动物医学学院动物药学专业,现为新疆农业大学动物医学学院兽医学在读硕士研究生。本科期间参与校级大学生科研创新项目1项,研究生期间曾获校级奖学金。本人有较强的动手能力,能够较快学会一些实验操作。



**通讯作者简介:**夏利宁,女,汉族,1975年5月出生。农学博士学位,硕士生/博士生导师,九三社员。主要研究方向为兽医药理与毒理学。先后主持国家自然科学基金3项;国家教育部重点项目1项;新疆维吾尔自治区自然科学基金2项;新疆维吾尔自治区教育厅青年培育项目1项。发表论文70余篇,其中SCI收录论文10余篇(第一作者4篇,通讯作者2篇)。获批实用新型专利3项。制定地方标准1个。指导校级优秀硕士论文4篇,自治区级优秀博士论文1篇。