

鸡蛋生产链中沙门氏菌对抗生素及消毒剂的耐药性研究

杨盛智¹, 吴国艳¹, 龙梅¹, 邓雯文¹, 王红宁², 邹立扣¹

1. 四川农业大学资源学院, 成都 611130;

2. 四川大学动物疫病防控与食品安全四川省重点实验室, 成都 610064

摘要: 为研究鸡蛋生产链中沙门氏菌的污染情况及抗生素、消毒剂耐药情况, 本文鉴定了鸡蛋生产链中分离得到的 111 株沙门氏菌(*Salmonella*)血清型, 并测定了抗生素和消毒剂对沙门氏菌的最小抑菌浓度(Minimum inhibitory concentrations, MICs), 检测了其对抗生素和消毒剂的耐药基因的表达情况。研究表明, 沙门氏菌对甲氧苄啶(Trimethoprim, TMP)耐药率最高($N=100$, $P=90.09\%$), 对阿莫西林/克拉维酸(Amoxicillin and clavulanate, AMC)、头孢噻呋钠(Sodium ceftiofur, CFS)、庆大霉素(Gentamicin, CN)敏感。沙门氏菌共产生 6 种不同的耐药谱型, TMP 是最主要的耐药谱型($N=36$, $P=32.43\%$), 52.25%的菌株($N=58$)具有多重耐药性。苯扎氯铵(Benzalkonium chloride, BC)与氯化十六烷基吡啶(Cetylpyridinium chloride, CPC)对沙门氏菌的 MIC 的范围分别为: 8~128 $\mu\text{g/mL}$ 、8~256 $\mu\text{g/mL}$ 。相对于质控菌株 *Escherichia coli* ATCC10536, 101 株沙门氏菌对 BC 和 CPC 同时具有较高的耐药性($P=90.99\%$), 109 株沙门氏菌对抗生素和消毒剂具有共同耐药性($P=98.20\%$)。抗生素耐药基因检出率最高为 *blaTEM*($N=49$, $P=44.14\%$), 未检测出 *qnrA*、*qnrB*、*qepA* 基因, 仅检测出 *qacEΔ1* 消毒剂耐药基因($N=63$, $P=56.76\%$)。抗生素耐药基因 *sul1* 和消毒剂耐药基因 *qacEΔ1* 具有显著相关性($P<0.01$)。*S. Derby* 对 TMP、土霉素(Oxytetracycline, OTC)、阿莫西林(Amoxicillin, AML)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)同时表现较高的耐药性, *S. Derby* 检出了 11 种抗生素耐药基因, 消毒剂耐药基因 *qacEΔ1* 的检出率为 81.25%($N=52$)。鸡场中养殖内环境沙门氏菌对抗生素和消毒剂的耐药率以及耐药基因检出率均高于养殖外环境, 鸡蛋包装、储存及销售等环节中沙门氏菌耐药率及耐药基因检出率均较高。由此可见, 鸡蛋生产链中沙门氏菌对抗生素、消毒剂耐药性较严重, 且存在共同耐药的现象。因此, 需要进一步规范防控鸡场中沙门氏菌, 规范抗生素和消毒剂的使用以及加强鸡蛋生产链条中卫生安全的监管。

关键词: 沙门氏菌; 抗生素; 消毒剂; 耐药性; 鸡蛋生产链

收稿日期: 2016-05-21; 修回日期: 2016-07-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31671954)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31671954)]

作者简介: 杨盛智, 硕士研究生, 专业方向: 微生物分子生物学。E-mail: ysz001@msn.cn

吴国艳, 硕士研究生, 专业方向: 农产品质量安全。E-mail: guoyanw90@163.com

杨盛智和吴国艳为并列第一作者。

通讯作者: 邹立扣, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 微生物与食品安全。E-mail: zoulk124@163.com

DOI: 10.16288/j.yczs.16-185

网络出版时间: 2016/8/12 10:44:00

URI: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20160812.1044.008.html>

Antibiotic and disinfectant resistance of *Salmonella* isolated from egg production chains

Shengzhi Yang¹, Guoyan Wu¹, Mei Long¹, Wenwen Deng¹, Hongning Wang², Likou Zou¹

1. College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. Animal Disease Prevention and Food Safety Key Laboratory of Sichuan Province, School of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China

Abstract: To investigate the contamination of *Salmonella* and its drug resistance in egg production chains, 111 *Salmonella* strains of different serotypes isolated from egg production chains were used in the study. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibiotics and disinfectants against *Salmonella* isolates were determined, meanwhile, antibiotic and disinfectant resistance genes were amplified. The results showed that the resistance frequency of trimethoprim (TMP, $N=100$, $P=90.09\%$) was highest among *Salmonella* isolates and all isolates were sensitive to amoxicillin and clavulanate (AMC), ceftiofur sodium (CFS) and gentamicin (CN), respectively. There were six different antibiotic resistance profiles, and TMP profile was the most prevalent type ($N=36$, $P=32.43\%$). 52.25% of *Salmonella* isolates appeared multi-drug resistance. The MICs of benzalkonium chloride (BC) and cetylpyridinium chloride (CPC) against *Salmonella* strains ranged from 8 to 128 $\mu\text{g/mL}$ and 8 to 256 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Compared to quality control strain *Escherichia coli* ATCC10536, 101 *Salmonella* isolates ($P=90.99\%$) had dual resistances to BC and CPC. 109 *Salmonella* ($P=98.20\%$) were co-resistant to antibiotic and disinfectant. Detection of drug resistance genes showed that *bla*_{TEM} gene was dominant ($N=49$, $P=44.14\%$). The *qnrA*, *qnrB* and *qepA* genes were not detected. Only *qacEΔ1* gene ($N=63$, $P=56.76\%$) was detected among the disinfectant resistance genes. There was a significant correlation between *sulI* gene and *qacEΔ1* gene ($P < 0.01$). *S. Derby* showed multi-resistances to TMP, oxytetracycline (OTC), amoxicillin (AML) and ciprofloxacin (CIP). Eleven antibiotic resistance genes were found in *S. Derby*, in which the prevalence of *qacEΔ1* gene was 81.25% ($N=52$). Besides, the drug resistance frequency and the prevalence of drug resistance genes in internal farm environment were higher than those in external environment. High frequency of drug resistances and high prevalence of drug resistance genes were detected in all links of the egg production chains, including package, storage and sale. Our results showed that severe antibiotic and disinfectant resistances existed in egg production chains. Therefore, further hygiene supervision should be implemented to prevent and control *Salmonella*, and standardize the use of antibiotics and disinfectants.

Keywords: *Salmonella*; antibiotic; disinfectant; resistance; egg production chains

细菌对抗生素的耐药机制主要是基于酶的失活、降低细胞内药物积累以及修饰、保护、替代靶位点的作用而产生^[1]。细菌的耐药性是在抗生素和环境选择性压力下, 适应其自身生存而产生的一种特殊表现形式, 包括固有性耐药性以及获得性耐药性, 例如基于染色体变异和水平基因的转移^[2]。抗生素耐药基因通常位于质粒、转座子和整合子等可移动遗传元件^[1,3,4], 通过结合、移动、转导和转化的作用, 在细菌之间转移和传播^[1,5]。在畜禽养殖过程中, 抗生素通常用于畜禽疾病的预防和治疗, 或者作为饲料添加剂, 以促进动物生长^[6], 但随着抗

生素在畜牧养殖业中的广泛使用, 导致了细菌对抗生素耐药性的出现^[7]。季铵盐(Quaternary-N)作为一种阳离子表面活性剂^[8], 具有无腐蚀、无刺激性、较稳定且毒性低等优点, 已被作为消毒剂而广泛地应用于医院、食品加工、畜牧业等环境中^[9,10], 从而导致了季铵盐消毒剂具有耐药性的细菌出现^[11,12]。同时, 消毒剂会导致细菌对抗生素耐药性增加^[11], 而抗生素耐药基因和消毒剂耐药基因的共同传播的现象已经相继被报道^[13,14]。

沙门氏菌(*Salmonella*)是全球广泛存在的食源性致病菌, 会污染鸡蛋、家禽肉和猪肉等食物, 并能

够通过动物源食物传播给人类^[15], 导致疾病爆发^[3,16]。而因为革兰氏阴性细菌具有相对不渗透外膜结构, 比革兰氏阳性细菌通常更容易产生耐药性^[17], 所以越来越多的沙门氏菌对抗生素、消毒剂产生了耐药性^[18]。本研究以鸡蛋生产链中分离的沙门氏菌作为研究对象, 测定了沙门氏菌对抗生素、消毒剂的耐药表型和基因型, 研究鸡蛋生产链中沙门氏菌耐药性的变化, 以及抗生素耐药性和消毒剂耐药性的相关性, 可为抗生素、消毒剂的规范使用以及沙门氏菌的防控提供科学依据及理论基础。

1 材料和方法

1.1 菌株来源

2014 年从蛋鸡养殖外环节(粪便、土壤、灰尘、水沟、传送带、集蛋器、鸡笼、蛋槽及环境中未清洗的鸡蛋等)、鸡蛋包装(辐照、清洗水、包装箱、清洗后的鸡蛋等)、储藏(储藏箱、蛋架、鸡蛋等)及销售环节(超市销售产品)中分离得到沙门氏菌 111 株。

1.2 试剂及仪器

1.2.1 抗生素

头孢噻呋钠(Sodium ceftiofur, CFS)、阿莫西林(Amoxicillin, AML)、阿莫西林/克拉维酸(Amoxicillin and clavulanate, AMC)、庆大霉素(Gentamicin, CN)、土霉素(Oxytetracycline, OTC)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)、甲氧苄啶(Trimethoprim, TMP)购于鲁抗医药科技有限公司。

1.2.2 消毒剂

苯扎氯铵(Benzalkonium chloride, BC)、氯化十六烷基吡啶(Cetylpyridinium chloride, CPC)均购于成都贝斯特试剂有限公司。

1.2.3 仪器与设备

电泳仪、凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司) ;PCR 仪(美国 Thermo 公司) ;水浴锅(上海佑柯仪器设备有限公司) ;DKT200-4 恒温金属浴、恒温培养箱(杭州米欧仪器有限公司) ;Eppendorf 5804R 高速冷冻离心机、单通道可调微量移液器(德国 Eppendorf 公司) ;小型涡旋振荡器(德国 IKA 公司) ;MIT-60P 型细菌多点接种仪(日本佐久间公司)。

1.3 沙门氏菌的血清分型

参照丹麦 SSI 试剂盒说明书, 对沙门氏菌菌株进行血清型鉴定。

1.4 抗生素最小抑菌浓度(Minimum inhibitory concentrations, MICs)测定

根据《抗菌药物敏感性试验执行标准;第 23 版信息增刊》(CLSI, 2015), 利用无菌生理盐水稀释菌落制备菌悬液至 0.5 麦氏浓度。采用二倍稀释法将抗生素稀释, 将不同浓度抗生素溶液分别加到水解酪蛋白琼脂培养基(Mueller-Hinton agar, MHA)中, 用多点接种仪将菌液接种到 MHA 培养基平板上, 使每点菌数约为 10^4 CFU, 接种后于 37℃ 孵育 24 h 后, 按 CLSI 标准判定耐药性。选择 *Escherichia coli* ATCC® 25922, *E. coli* ATCC® 25928 作为质控菌株。

1.5 消毒剂 MIC 测定

根据《抗菌药物敏感性试验执行标准;第 23 版信息增刊》(CLSI, 2015), 利用无菌生理盐水稀释菌落制备菌悬液至 0.5 麦氏浓度, 采用平板稀释法制备含有不同浓度消毒剂(0.125、0.25、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 依次递增到 1024 $\mu\text{g/mL}$)的 MHA 培养基, 用多点接种仪将菌液接种到 MHA 培养基平板上, 使每点菌数约为 10^4 CFU, 接种后于 37℃ 孵育 24 h 后, 将抑制细菌生长的最低浓度作为消毒剂的 MIC。选择 *E. coli* ATCC® 10536 作为质控菌株。

1.6 耐药基因的检测

取适量的沙门氏菌菌落于无菌离心管中, 加入无菌去离子水 700 μL , 振荡混匀, 煮沸 10 min, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液作为 PCR 模板备用。检测的抗生素耐药基因为 *tetA*、*tetB*、*tetC*^[19], *sul1*、*sul2*、*sul3*^[20], *blaCMY*、*blaTEM*、*blaSHV*、*blaCTX-M*^[21], *qnrA*、*qnrB*、*qnrS* 及 *qepA*^[22,23]。消毒剂耐药基因为 *qacEΔ1*、*qacE*、*qacG*、*qacF*、*sugE(p)*^[24], 以上基因引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

2 结果与分析

2.1 沙门氏菌对抗生素和消毒剂的耐药性

2.1.1 沙门氏菌对抗生素耐药率

抗生素 MIC 测定结果表明, 有 110 株沙门氏菌

对抗生素具有耐药性, 其中对 TMP 的耐药率最高($N=100$, $P=90.09\%$), 其次是 OTC, 耐药率为 62.16% ($N=69$), 其余依次为 AML($N=59$, $P=53.15\%$)、CIP($N=29$, $P=26.13\%$), 所有菌株对 AMC、CFS、CN 均敏感。

2.1.2 沙门氏菌对抗生素耐药谱

在 110 株耐药的沙门氏菌中, 一共产生 6 种不同的耐药谱型, 前 3 种优势耐药分别是 TMP($N=36$)、AML-TMP-OTC($N=29$)、AML-TMP-CIP-OTC($N=25$), 其中 58 株($P=52.25\%$)具有多重耐药性, 3 重耐药菌株数为 33 株($P=29.73\%$), 4 重耐药菌株数为 25 株($P=22.52\%$)。(表 1)。

2.1.3 消毒剂对沙门氏菌的 MIC

111 株沙门氏菌对 BC 的 MIC 的范围为: $8\sim 128\text{ }\mu\text{g/mL}$, 对 CPC 的 MIC 范围为: $8\sim 256\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。将大于消毒剂对质控菌株 *E. coli* ATCC10536 的 MIC(对 BC 和 CPC 的 MIC 分别为 $16\text{ }\mu\text{g/mL}$ 、 $64\text{ }\mu\text{g/mL}$) 定义为沙门氏菌对消毒剂具有耐药性, 则 101 株($P=90.99\%$)沙门氏菌对 BC、CPC 同时具有耐药性。

2.1.4 沙门氏菌中抗生素耐药基因流行情况

110 株抗生素耐药菌中 *bla*TEM($N=49$, $P=44.14\%$) 基因检出率最高, 其余依次为 *sul*1($N=46$, $P=41.44\%$)、*sul*2($N=44$, $P=39.64\%$)、*tet*B($N=35$, $P=31.53\%$)、*tet*C($N=15$, $P=13.51\%$)、*bla*CTX-M($N=12$, $P=10.81\%$)、*tet*A($N=10$, $P=9.01\%$)、*bla*SHV($N=4$, $P=3.60\%$)、*sul*3($N=3$, $P=2.70\%$)、*bla*CMY-2($N=1$, $P=0.90\%$)及 *qnr*S($N=1$, $P=0.90\%$), 而所有菌株中均未检测出 *qnr*A、*qnr*B、*qep*A 耐药基因。

表 1 沙门氏菌对抗生素耐药谱
Table 1 Drug resistance profiles in *Salmonella*

耐药谱	数量	检出率(%)
TMP	36	32.43
TMP-OTC	15	13.51
AML-TMP	1	0.90
AML-TMP-CIP	4	3.60
AML-TMP-OTC	29	26.13
AML-TMP-CIP-OTC	25	22.52

2.1.5 沙门氏菌中消毒剂耐药基因流行情况

检测 111 株沙门氏菌中消毒剂耐药基因, 最终仅检测出 *qac*EA1 耐药基因($N=63$, $P=56.76\%$), 未检测出 *qac*E、*qac*G、*qac*F 和 *sug*E(*p*)耐药基因。

2.1.6 沙门氏菌对抗生素和消毒剂耐药性相关性

分析沙门氏菌对抗生素、消毒剂的耐药率以及耐药基因, 109 株($P=98.20\%$)沙门氏菌对抗生素和消毒剂具有共同耐药性。BC 耐药性与 AML、CIP、OTC 的耐药性均具有显著相关性($P<0.05$), 而 CPC 耐药性与 AML、CIP、OTC 均具有显著相关性($P<0.01$)。抗生素耐药基因 *sul*1 与消毒剂耐药基因 *qac*EA1 具有显著相关性($P<0.01$)。*qac*EA1 阳性菌株共产生 5 种抗生素耐药谱型, 分别为 TMP($N=7$, $P=11.11\%$), TMP-OTC($N=6$, $P=9.52\%$), AML-CIP-TMP($N=3$, $P=4.76\%$), AML-TMP-OTC($N=23$, $P=36.51\%$), AML-CIP-TMP-OTC($N=24$, $P=38.10\%$)。

2.2 不同血清型沙门氏菌对抗生素、消毒剂耐药性

2.2.1 不同血清型沙门氏菌对抗生素耐药率

111 株沙门氏菌共检出 5 种不同的血清型, 分别是德尔卑沙门氏菌(*S. Derby*)($N=64$)、耶路撒冷沙门氏菌(*S. Jerusalem*)($N=18$)、病牛沙门氏菌(*S. Bovimobificens*)($N=8$)、布伦登鲁普沙门氏菌(*S. Braenderup*)($N=6$)、肠炎沙门氏菌(*S. Enteritidis*)($N=4$), 其余菌株($N=11$)未检测出血清型。除 *S. Derby*, 其余血清型沙门氏菌数量较少, 统计 *S. Derby* 对抗生素耐药率发现, 其对 TMP 耐药率为 100% , 对 OTC、AML 耐药率均为 81.25% , 对 CIP 耐药率为 45.31% 。

2.2.2 不同血清型沙门氏菌对消毒剂耐药性

BC 对 *S. Jerusalem*、*S. Derby*、*S. Enteritidis*、*S. Braenderup* 及 *S. Bovimobificen* 的 MIC、MIC₅₀、MIC₉₀ 均为 $128\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。CPC 对 *S. Jerusalem*、*S. Derby*、*S. Braenderup*、*S. Bovimobificens* 的 MIC 最高, 为 $256\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。CPC 对 *S. Derby*、*S. Braenderup* 的 MIC₅₀ 最高, 为 $256\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。CPC 对 *S. Jerusalem*、*S. Derby*、*S. Braenderup*、*S. Bovimobificen* 的 MIC₉₀ 最高, 为 $256\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。

2.2.3 耐药基因在不同血清型沙门氏菌中的流行性

除 *S. Derby*, 其余血清型沙门氏菌数量较少, 未

表 2 消毒剂对不同血清型沙门氏菌的 MIC
Table 2 Susceptibility of different serotypes of *Salmonella* to disinfectant

血清型	MIC (μg/mL)		MIC ₅₀ (μg/mL)		MIC ₉₀ (μg/mL)	
	BC	CPC	BC	CPC	BC	CPC
耶路撒冷沙门氏菌(<i>S. Jerusalem</i>)	128	256	128	128	128	256
德尔卑沙门氏菌(<i>S. Derby</i>)	128	256	128	256	128	256
肠炎沙门氏菌(<i>S. Enteritidis</i>)	128	128	128	128	128	128
布伦登卢普沙门氏菌(<i>S. Braenderup</i>)	128	256	128	256	128	256
病牛沙门氏菌(<i>S. Bovimobificens</i>)	128	256	128	128	128	256

分析其耐药基因。*S. Derby* 检出了 12 种的耐药基因，*S. Derby* 中 *blaTEM* 检出率最高，为 75.00% (*N*=48)，其次为 *sul1* 耐药基因，检出率为 64.06% (*N*=41)，而 *qnrA*、*qnrB*、*qepA* 在 *S. Derby* 中未检测出。*S. Derby* 中 *qacEΔ1* 的检出率为 81.25% (*N*=52)(图 1)。

2.3 鸡蛋生产链中沙门氏菌耐药性变化

2.3.1 鸡蛋生产链沙门氏菌对抗生素耐药率

养殖内环境分离的沙门氏菌对抗生素耐药率(36.51%~100%)均要高于养殖外环境的沙门氏菌对抗生素耐药率(12.25%~100%)。除了销售鸡蛋分离的沙门氏菌对 CIP 表现敏感，在其余生产环节中均分离出对 CIP 具有耐药性的沙门氏菌，而在所有环境中均分离出对 AML、TMP、OTC 具有耐药性的沙门氏菌。AML、CIP、TMP、OTC 在环境中的耐药率分别为 16.67%~65.08%、12.25%~36.51%、83.33%~100%、22.22%~75.00%。(图 2)。

2.3.2 鸡蛋生产链沙门氏菌对消毒剂耐药率

除养殖内环境沙门氏菌对 BC 的耐药率为

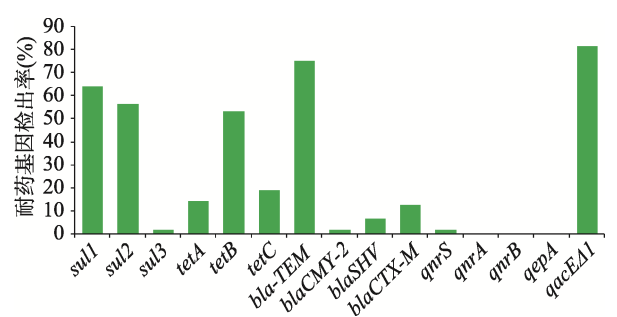


图 1 *S. Derby* 中抗生素、消毒剂耐药基因流行情况
Fig. 1 Prevalence of antibiotic and disinfectant resistance genes in *S. Derby*

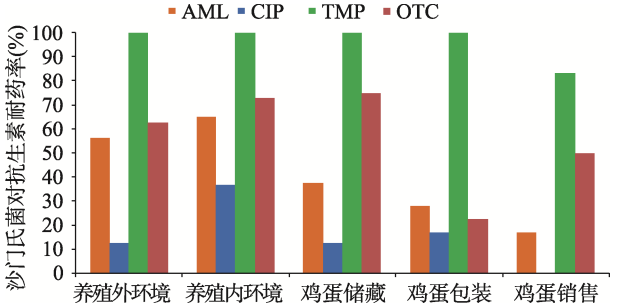


图 2 鸡蛋生产链沙门氏菌对抗生素耐药率
Fig. 2 Antibiotic resistance frequency in *Salmonella* from egg production chains

98.41%，养殖外环境、包装环节、鸡蛋储藏、鸡蛋销售环节中沙门氏菌对 BC 的耐药率为 100%。养殖外环境、养殖内环境以及包装环节中沙门氏菌对 CPC 耐药率分别为 93.75%、93.65%、72.22%，鸡蛋储藏、鸡蛋销售环节沙门氏菌对 CPC 耐药率均为 100%。

2.3.3 鸡蛋生产链沙门氏菌中抗生素、消毒剂耐药基因流行性

养殖内环境中分离的沙门氏菌中每种耐药基因检出率均高于养殖外环境中沙门氏菌耐药基因检出率。在养殖外环境的沙门氏菌检出 6 种耐药基因，养殖内环境中检测出 12 种耐药基因，鸡蛋储藏环节检测出 8 种耐药基因，鸡蛋包装检测出 7 种耐药基因，在销售鸡蛋环节未检测出耐药基因。*sul1*、*sul2*、*sul3*、*tetB*、*tetC*、*blaTEM*、*blaCTX-M* 耐药基因在环境中的检出率范围分别为 11.11%~65.08%、31.25%~62.5%、1.59%~25%、12.25%~46.03%、5.56%~19.05%、16.67%~57.14%、12.50%~16.67%，而 *tetA*、*blaCMY-2*、*blaSHV*、*qnrS* 耐药基因仅在养殖内环境中检测出，

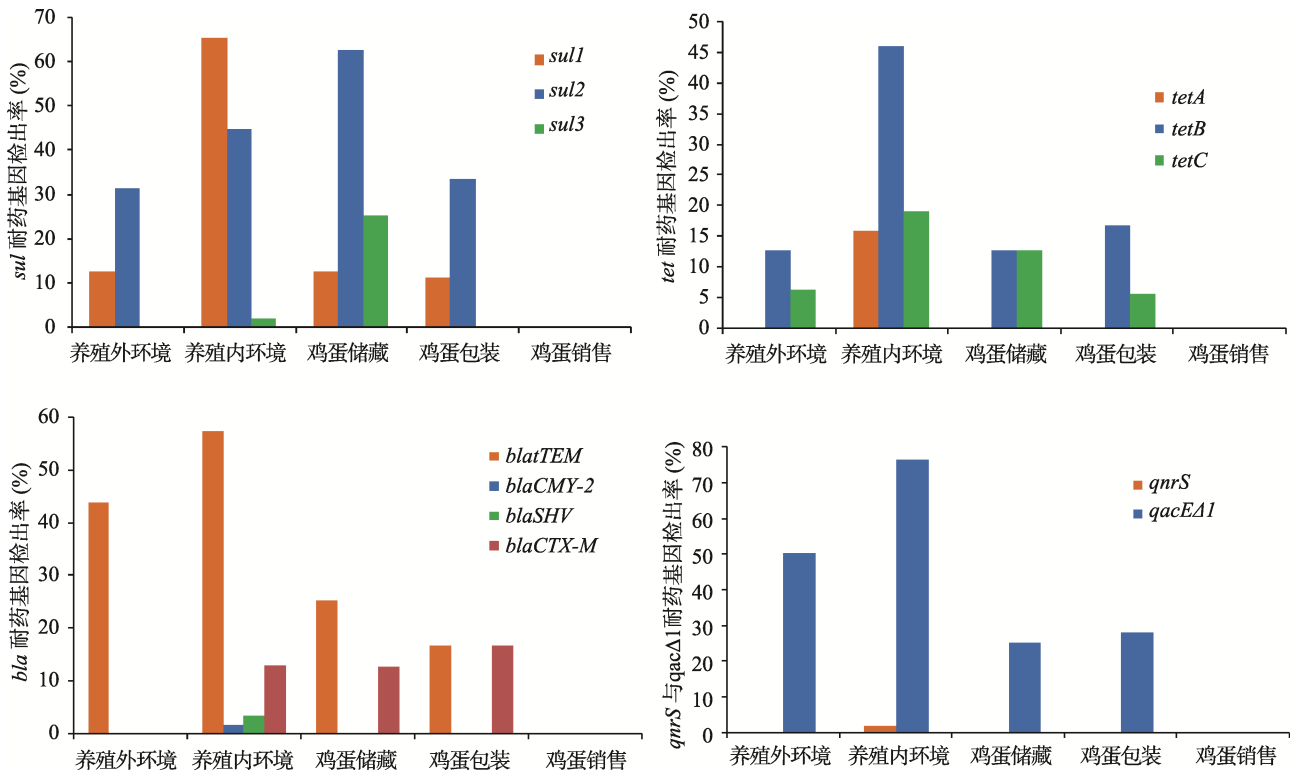


图 3 生产链中沙门氏菌的耐药基因流行情况

Fig. 3 Prevalence of drug resistance genes in *Salmonella* from egg production chains

检出率分别为 15.87%、1.59%、3.17%、1.59%。*qacEA1* 耐药基因在环境中的检出率为 25.00%~76.19%(图 3)。

3 讨 论

本研究中,沙门氏菌对 TMP 的耐药率最高,为 90.09%($N=100$),高于 Lu 等^[25]研究结果($P=78.39\%$);对 CIP 耐药率为 26.13%,高于朱冬梅等^[26]研究结果($P=14.10\%$),低于赖海梅等^[27]研究结果($P=39.29\%$),与 Lu 等^[25]研究结果相似($P=27.10\%$);而所有菌株对 AMC、CN 均不具耐药性,而其他研究结果^[25-28]均检测出较高的耐药率。而沙门氏菌对 TMP 具有较高的耐药率,可能与磺胺类药物以及 TMP 因其廉价高效而被广泛使用,并且在停止使用后耐药性不会减弱^[29]存在着密切的关系。本研究的沙门氏菌多重耐药率为 52.25%,与朱冬梅等^[26]研究基本一致($P=51.28\%$),而 Lu 等^[25]研究表明,沙门氏菌最多能对 16 种抗生素产生耐药性,其中以 5、6、13、14 重耐药性最多。

通过对沙门氏菌抗生素耐药基因检测,111 株沙门氏菌中有 110 株检测出耐药性,检出率最高

为 *blaTEM*,检出率为 44.14%($N=49$),高于刘芳萍等^[30]研究结果($P=31.0\%$)。本研究 *sul1*、*sul2*、*sul3* 检出率分别为 41.44%、39.64%、2.7%。通过对比其他研究^[27,30,31],表明 *sul1*、*sul2* 耐药基因检出率保持相对稳定,但 *sul3* 耐药基因检出率在逐步提高^[31]。111 株沙门氏菌仅检测出 *qnrS*($N=1$)耐药基因,而其他研究也表明沙门氏菌中 *qnr* 耐药基因检出率普遍偏低^[32,33],特别是 *qnrA* 耐药基因,较少在沙门氏菌中检测出^[34]。

消毒剂 BC、CPC 对沙门氏菌的 MIC 范围分别为 8~128 $\mu\text{g/mL}$ 、8~256 $\mu\text{g/mL}$,与郭莉娟等^[35]研究结果一致。Aarestrup 等^[36]研究表明,BC 对动物源沙门氏菌的 MIC 范围为 64~256 $\mu\text{g/mL}$,其中 MIC=128 $\mu\text{g/mL}$ 的菌株最多($P=88.46\%$)。Chuanchien 等^[37]研究表明 BC 对家禽源沙门氏菌的 MIC 范围为 32~256 $\mu\text{g/mL}$,其中 MIC=64 $\mu\text{g/mL}$ 菌株最多($P=41.6\%$)。沙门氏菌中 *qacEA1* 耐药基因检出率为 56.76%,高于郭莉娟^[35]的研究结果($P=10.42\%$),高于何雪梅^[38]对大肠杆菌的研究结果($P=20.00\%$)。其他研究表明,

qacEAI 耐药基因已经广泛地在细菌中被检测出^[39]。

109 株沙门氏菌对抗生素和消毒剂具有共同耐药性($P=98.20\%$), 对季铵盐消毒剂耐药性与抗生素耐药性存在显著相关性($P<0.05$)。研究表明, 细菌在季铵盐消毒剂的选择压力下能够产生对抗生素的耐药性, 而细菌对消毒剂、抗生素共同耐药的情况已被广泛报道^[40,41]。分析药基因相关性, 表明 *sulI* 耐药基因和 *qacEAI* 耐药基因具有显著相关性($P<0.01$), *sulI* 耐药基因和 *qacEAI* 耐药共同位于 I 类整合子 3' 的保守序列部分^[42~44], 从而导致了 *sulI* 和 *qacEAI* 能够共同表达。

鸡场中养殖内环境中沙门氏菌对抗生素耐药率和耐药基因检出率均高于养殖外环境, 可能是养殖内环境中抗生素、消毒剂的大量使用, 造成了对沙门氏菌耐药菌株的筛选, 从而使沙门氏菌对抗生素、消毒剂产生耐药性, 表明养殖内环境是鸡蛋生产链中沙门氏菌耐药性的重要传播源头。在各个鸡蛋生产链中, 沙门氏菌对抗生素和消毒剂均具有较高的耐药性, 耐药性的沙门氏菌以及耐药基因能够随生产链传播。而销售鸡蛋的沙门氏菌出现耐药性, 可能是在鸡蛋在清洗、消毒后, 少数存活的沙门氏菌重新繁殖, 导致沙门氏菌在鸡蛋中交叉传播, 从而使出场鸡蛋中沙门氏菌出现耐药性。

本研究发现, 鸡蛋生产链中沙门氏菌共产生 6 种不同的抗生素耐药谱型, 具有多重耐药较严重, 对消毒剂也同时具有较高的耐药性。抗生素耐药基因 *sulI* 和消毒剂耐药基因 *qacEAI* 具有显著相关性。沙门氏菌对 TMP、OTC 具有较高的耐药性, 建议停止使用该种抗生素, 而对 AMC、CFS、CN 表现敏感, 建议考虑作为首选抗生素用于养殖中。鸡场中养殖内环境沙门氏菌对抗生素耐药率以及耐药基因检出率均高于养殖外环境, 在鸡蛋包装、储存及销售等环节中沙门氏菌耐药率及耐药基因检出率均较高, 表明鸡蛋生产链中沙门氏菌对抗生素、消毒剂耐药性较严重, 存在共同耐药的现象, 因此, 需要进一步规范防控鸡场中沙门氏菌, 规范抗生素和消毒剂的使用以及加强鸡蛋生产链条中卫生安全的监管。

参考文献(References):

- [1] Schwarz S, Chaslus-Dancla E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet Res*, 2001, 32(3-4): 201-225. [DOI]
- [2] Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*, 2015, 13(1): 42-51. [DOI]
- [3] Wang HH, Ye KP, Wei XR, Cao JX, Xu XL, Zhou GH. Occurrence, antimicrobial resistance and biofilm formation of *Salmonella* isolates from a chicken slaughter plant in China. *Food Control*, 2013, 33(2): 378-384. [DOI]
- [4] Diarra MS, Delaquis P, Rempel H, Bach S, Harlton C, Aslam M, Pritchard J, Topp E. Antibiotic resistance and diversity of *Salmonella enterica* serovars associated with broiler chickens. *J Food Prot*, 2014, 77(1): 40-49. [DOI]
- [5] Li RH, Lai J, Wang Y, Liu SL, Li Y, Liu KY, Shen JZ, Wu CM. Prevalence and characterization of *Salmonella* species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China. *Int J Food Microbiol*, 2013, 163(1): 14-18. [DOI]
- [6] Tao CW, Hsu BM, Ji WT, Hsu TK, Kao PM, Hsu CP, Shen SM, Shen TY, Wan TJ, Huang YL. Evaluation of five antibiotic resistance genes in wastewater treatment systems of swine farms by real-time PCR. *Sci Total Environ*, 2014, 496: 116-121. [DOI]
- [7] Mezali L, Hamdi TM. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from meat and meat products in Algiers (Algeria). *Foodborne Pathog Dis*, 2012, 9(6): 522-529. [DOI]
- [8] Buffet-Bataillon S, Branger B, Cormier M, Bonnaure-Mallet M, Jolivet-Gougeon A. Effect of higher minimum inhibitory concentrations of quaternary ammonium compounds in clinical *E. coli* isolates on antibiotic susceptibilities and clinical outcomes. *J Hosp Infect*, 2011, 79(2): 141-146. [DOI]
- [9] Langsrud S, Sundheim G. Factors contributing to the survival of poultry associated *Pseudomonas* spp. exposed to a quaternary ammonium compound. *J Appl Microbiol*, 1997, 82(6): 705-712. [DOI]
- [10] Adair FW, Geftic SG, Gelzer J. Resistance of *Pseudomonas* to quaternary ammonium compounds: II. Cross-resistance characteristics of a mutant of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol*, 1971, 21(6): 1058-1063. [DOI]
- [11] Sidhu MS, Sørum H, Holck A. Resistance to quaternary ammonium compounds in food-related bacteria. *Microb Drug Resist*, 2002, 8(4): 393-399. [DOI]
- [12] Sundheim G, Langsrud S, Heir E, Holck AL. Bacterial resistance to disinfectants containing quaternary ammo-

- nium compounds. *Int Biodeterior Biodegrad*, 1998, 41(3–4): 235–239. [DOI]
- [13] Zhao WH, Chen G, Ito R, Kimura S, Hu ZQ. Identification of a plasmid-borne *blaIMP-11* gene in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Med Microbiol*, 2012, 61(2): 246–251. [DOI]
- [14] Call DR, Singer RS, Meng D, Broschat SL, Orfe LH, Anderson JM, Herndon DR, Kappmeyer LS, Daniels JB, Besser TE. *bla*_{CMY-2}-positive IncA/C plasmids from *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* are a distinct component of a larger lineage of plasmids. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(2): 590–596. [DOI]
- [15] Threlfall EJ. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. *FEMS Microbiol Rev*, 2002, 26(2): 141–148. [DOI]
- [16] Hur J, Jawale C, Lee JH. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. *Food Res Int*, 2012, 45(2): 819–830. [DOI]
- [17] McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*, 1999, 12(1): 147–179. [DOI]
- [18] Sapkota AR, Kinney EL, George A, Hulet RM, Cruz-Cano R, Schwab KJ, Zhang GY, Joseph SW. Lower prevalence of antibiotic-resistant *Salmonella* on large-scale U.S. conventional poultry farms that transitioned to organic practices. *Sci Total Environ*, 2014, 476–477: 387–392. [DOI]
- [19] Xia QQ, Wang HN, Zhang AY. Detection of tetracycline resistant genes in bacterial by using a triple-PCR method. *J Sichuan Univ (Nat Sci Ed)*, 2013, 50(1): 171–176.
夏青青, 王红宁, 张安云. 三重 PCR 方法对猪、鸡源细菌中四环素类药物耐药基因的检测. *四川大学学报(自然科学版)*, 2013, 50(1): 171–176. [DOI]
- [20] Sáenz Y, Briñas L, Domínguez E, Ruiz J, Zarazaga M, Vila J, Torres C. Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains of human, animal, and food origins. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(10): 3996–4001. [DOI]
- [21] Zhao S, Blickenstaff K, Glenn A, Ayers SL, Friedman SL, Abbott JW, McDermott PF. β -Lactam resistance in *Salmonella* strains isolated from retail meats in the United States by the National Antimicrobial Resistance Monitoring System between 2002 and 2006. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(24): 7624–7630. [DOI]
- [22] Cattoir V, Weill FX, Poirer L, Fabre L, Soussy CJ, Nordmann P. Prevalence of *qnr* genes in *Salmonella* in France. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 59(4): 751–754. [DOI]
- [23] Yamane K, Wachino JI, Suzuki S, Arakawa Y. Plasmid-mediated *qepA* gene among *Escherichia coli* clinical isolates from Japan. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(4): 1564–1566. [DOI]
- [24] Zou LK, Meng JH, McDermott PF, Wang F, Yang QR, Cao GJ, Hoffmann M, Zhao SH. Presence of disinfectant resistance genes in *Escherichia coli* isolated from retail meats in the USA. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69(10): 2644–2649. [DOI]
- [25] Lu Y, Zhao HY, Sun J, Liu YQ, Zhou XP, Beier RC, Wu GJ, Hou XL. Characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovars Indiana and Enteritidis from chickens in Eastern China. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96050. [DOI]
- [26] Zhu DM, Peng Z, Liu SL, Lai HM, Han XF, Zou LK. Contamination and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* spp. from broiler slaughter and processing chain. *Food Sci*, 2014, 35(17): 214–219.
朱冬梅, 彭珍, 刘书亮, 赖海梅, 韩新锋, 邹立扣. 肉鸡屠宰加工过程中沙门氏菌的污染情况及其耐药性分析. *食品科学*, 2014, 35(17): 214–219. [DOI]
- [27] Lai HM, Liu SL, Zou LK, Han XF, Zhou K, Zhu DM, Peng Z, Li JL. Detection of integron-1 and sulphonamide resistant genes of multi-drug resistant *Salmonella* species isolated from broiler slaughterhouse. *Food Sci*, 2014, 35(24): 178–183.
赖海梅, 刘书亮, 邹立扣, 韩新锋, 周康, 朱冬梅, 彭珍, 李建龙. 肉鸡屠宰场多重耐药沙门氏菌 I 类整合子与磺胺类耐药基因(*sul1*、*sul2* 和 *sul3*)的检测. *食品科学*, 2014, 35(24): 178–183. [DOI]
- [28] Feng CF, Lin JC, Zhang F, Shu G, Zhao L, Gao TT. *Salmonella* serotypes from foods of animal origin and their resistance to β -lactam antibiotics. *Food Sci*, 2015, 36(7): 101–104.
冯彩峰, 林居纯, 张飞, 舒刚, 赵玲, 高彤彤. 食品动物源沙门氏菌血清型及对 β -内酰胺类耐药性调查. *食品科学*, 2015, 36(7): 101–104. [DOI]
- [29] Sköld O. Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Vet Res*, 2001, 32(3–4): 261–273. [DOI]
- [30] Liu FP, Zhao YL, Li CW, Liu LX, Li R, Luo PZ, Lu SL, Zhang XY. Drug resistance gene detection and the resistance correlation analysis in *Salmonella* isolated from chickens. *Chin J Prev Vet Med*, 2013, 35(8): 627–630.
刘芳萍, 赵玉林, 李昌文, 刘立新, 李睿, 罗鹏志, 卢斯亮, 张秀英. 鸡源性沙门氏菌耐药基因检测与耐药相关性分析. *中国预防兽医学报*, 2013, 35(8): 627–630. [DOI]
- [31] Kozak GK, Pearl DL, Parkman J, Reid-Smith RJ, Deckert

- A, Boerlin P. Distribution of sulfonamide resistance genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from swine and chickens at abattoirs in Ontario and Québec, Canada. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(18): 5999–6001. [DOI]
- [32] Jiang HX, Song L, Liu J, Zhang XH, Ren YN, Zhang WH, Zhang JY, Liu YH, Webber MA, Ogbolu DO, Zeng ZL, Piddock LJV. Multiple transmissible genes encoding fluoroquinolone and third-generation cephalosporin resistance co-located in non-typhoidal *Salmonella* isolated from food-producing animals in China. *Int J Antimicrob Agents*, 2014, 43(3): 242–247. [DOI]
- [33] Veldman K, Cavaco LM, Mevius D, Battisti A, Franco A, Botteldoorn N, Bruneau M, Perrin-Guyomard A, Cerny T, De Frutos Escobar C, Guerra B, Schroeter A, Gutierrez M, Hopkins K, Myllyniemi AL, Sunde M, Wasyl D, Aarestrup FM. International collaborative study on the occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolated from animals, humans, food and the environment in 13 European countries. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(6): 1278–1286. [DOI]
- [34] Li L, Liao XP, Yang YR, Sun J, Li LL, Liu BT, Yang SS, Ma J, Li X, Zhang QJ, Liu YH. Spread of *oqxAB* in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium predominantly by IncHI2 plasmids. *J Antimicrob Chemother*, 2013, 68(10): 2263–2268. [DOI]
- [35] Guo LJ. Disinfectant and antibiotic resistance in *Salmonella* isolation from retail meats[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2015.
郭莉娟. 动物性食品源沙门氏菌对抗生素和消毒剂的耐药性研究[学位论文]. 雅安: 四川农业大学, 2015. [DOI]
- [36] Aarestrup FM, Hasman H. Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. *Vet Microbiol*, 2004, 100(1–2): 83–89. [DOI]
- [37] Chuanchuen R, Pathanasophon P, Khemtong S, Wannaprasat W, Padungtod P. Susceptibilities to antimicrobials and disinfectants in *Salmonella* isolates obtained from poultry and swine in Thailand. *J Vet Med Sci*, 2008, 70(6): 595–601. [DOI]
- [38] He XM. Antibiotic and disinfectant resistance of *Escherichia coli* isolated from animal-derived foods[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2014.
何雪梅. 动物性食品源大肠杆菌对抗生素与消毒剂耐药性及 PFGE 分型研究[学位论文]. 雅安: 四川农业大学, 2014. [DOI]
- [39] Kazama H, Hamashima H, Sasatsu M, Arai T. Distribution of the antiseptic-resistance gene *qacEAI* in gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 1998, 165(2): 295–299. [DOI]
- [40] Zmantar T, Kouidhi B, Miladi H, Bakhrouf A. Detection of macrolide and disinfectant resistance genes in clinical *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *BMC Res Notes*, 2011, 4(1): 453. [DOI]
- [41] Soumet C, Fourreau E, Legrandois P, Maris P. Resistance to phenicol compounds following adaptation to quaternary ammonium compounds in *Escherichia coli*. *Vet Microbiol*, 2012, 158(1–2): 147–152. [DOI]
- [42] Ploy MC, Courvalin P, Lambert T. Characterization of In40 of *Enterobacter aerogenes* BM2688, a class 1 integron with two new gene cassettes, *cmlA2* and *qacF*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42(10): 2557–2563. [DOI]
- [43] Carattoli A. Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Vet Res*, 2001, 32(3–4): 243–259. [DOI]
- [44] Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006, 70(2): 296–316. [DOI]

(责任编辑: 谢建平)