

颜 卫,赵莎莎,丁丽军,等. 江苏地区沙门氏菌流行现状调查及耐药性分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(2):157-159.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.02.039

江苏地区沙门氏菌流行现状调查及耐药性分析

颜 卫,赵莎莎,丁丽军,卢劲晔,羊建平,沈晓鹏,余张霞

(江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300)

摘要:由沙门氏菌引起的食物中毒位列我国细菌性食物中毒首位,引起中毒的食品包括肉、蛋、奶、蔬菜等。鸡肉是我国主要的畜禽产品之一,鸡在养殖过程中容易受沙门氏菌感染。为了解在食物、动物、人群中沙门氏菌的污染情况,采集江苏部分地区农贸市场和超市的食品样本、养殖场鸡的泄殖腔样本、人群粪便样品,对分离到的菌株进行药敏试验,监测不同来源菌株的耐药现状。研究结果对于指导临床合理选择、正确使用抗菌药物,降低耐药菌株的产生具有现实意义,同时也为更有效地综合防治沙门氏菌病提供依据。

关键词:江苏;沙门氏菌;药敏试验;耐药性;检出率

中图分类号:S855.99 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)02-0157-02

沙门氏菌是一种重要的常见人畜共患病原菌,寄生于人和动物肠道内,不仅引起家禽的各种疾病如鸡白痢、禽伤寒、禽副伤寒等,还能通过污染的肉类、禽蛋类、蔬菜等食物引起人沙门氏菌感染,国外报道鸡肉中沙门氏菌的检出率在 13.0%~88.2%^[1],欧洲某些城市鸡肉样品中沙门氏菌平均检出率为 2.7%^[2],细菌进入肠道后大量繁殖,引起肠黏膜发炎,大量活菌释放的内毒素可引起机体中毒。国内外沙门氏菌引起的食物中毒和食源性疾病的案例一直位居前列,占细菌性食物中毒的 42.6%~60.0%,世界卫生组织已将它列为具有严重危害或中等危害的食源性病原菌。

抗生素在疫病防治中发挥着重要作用,但随着临床和养殖环节的不合理使用,沙门氏菌对常用抗菌药物耐药情况有逐年增加的趋势,且其耐药性可通过食物链传播到人群,一旦耐药率高且耐药谱广的沙门氏菌感染了人,有效抗菌药物的选择有限,将导致疾病治疗失败。调查沙门氏菌的感染情况,监测和分析其针对不同抗菌药物的耐药性,不但能够对临床用药进行指导,在公共卫生方面也有着重要意义。

1 材料与方法

1.1 培养基与试剂

缓冲蛋白胨水(BPW)、亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)、四硫磺酸钠煌绿增菌液(TTB)、三糖铁琼脂(TSI)、脑心浸液肉汤(BHI)、水解酪蛋白培养基(MH)WS琼脂,均购自北京陆桥技术有限责任公司;科玛嘉显色培养基购于郑州博赛生物技术有限公司;生化鉴定管和标准药敏片,购于杭州天和微生物试剂有限公司。

1.2 样品来源

2016 年 2—10 月,从江苏部分地区 6 个养殖场不同类型

鸡中采集 328 份泄殖腔拭子(棉签以捻转的方式插入泄殖腔 2~3 cm 深),从农贸市场、超市采集 5 类具有代表性的食品样本,包括生肉类、水产品类、熟肉制品类、生食蔬菜类、生牛奶样本共 452 份,采集部分地区 2016 年春季饮食行业工作人员健康检查的粪便样品 165 份进行沙门氏菌检测。

1.3 沙门氏菌的分离

食源样本中沙门氏菌检验主要按照 GB 4789.4—2010《食品微生物学检验 沙门氏菌检验》,步骤主要为:第一,增菌。25 g 样品加入 225 mL 缓冲蛋白胨水,37℃下培养 6~8 h,按 1:10 的比例取前增菌液接种 TTB 和 SC 内,分别于 42、37℃下培养 18~24 h。第二,选择性培养。增菌液接种科玛嘉沙门氏显色培养基,37℃培养 24 h。经沙门氏菌科玛嘉显色培养基培养后,挑取菌落形态为紫色或淡紫色、湿润、大小适中、边缘整齐光滑的沙门氏菌疑似菌株做革兰氏染色、镜检。沙门氏菌为革兰氏阴性、两端钝圆的短杆菌。

泄殖腔样本接种 5 mL TTB 增菌液,42℃培养 24 h,接种环挑取增菌液划线科玛嘉显色培养基,37℃恒温培养 24 h,挑取紫色单菌落,纯培养后作生化鉴定。

人类便样本按国标方法进行常规检验,主要步骤为:约 10 g 粪样置于 10 mL SC 增菌液中,37℃增菌 18~24 h,挑取 1 铂金耳于 WS 平板 37℃分离培养 24 h,取疑似菌落接种 TSI 斜面 37℃培养 18~24 h,可疑菌苔进行玻板凝集试验,阳性者作生化鉴定。

1.4 沙门氏菌的鉴定

1.4.1 生化鉴定 纯培养物分别进行糖发酵试验(葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖)、枸橼酸盐利用试验、甲基红试验、硫化氢试验、尿素试验,沙门氏菌的生化特征为能分解葡萄糖、甘露醇、麦芽糖产酸产气,不利用乳糖和蔗糖,能利用枸橼酸盐,甲基红试验阳性,硫化氢试验产生 H₂S,不分解尿素。

1.4.2 PCR 鉴定 采取热裂解法制备菌株 DNA 模板:将生化鉴定阳性的菌株接种于 2 mL 脑心浸肉汤(BHI)中,37℃培养 12 h,取培养液 0.5 mL 置于 Eppendorf 管中,离心收集菌体,用灭菌蒸馏水洗涤 2 次,最后用 1 mL 蒸馏水悬浮,隔水煮沸 15 min,8 000 r/min 离心 15 min,取上清制成 DNA 模板。

收稿日期:2017-09-01

基金项目:江苏省泰州市科技支撑计划(社会发展)项目(编号:TS201617)。

作者简介:颜 卫(1983—),女,江苏泰州人,硕士研究生,讲师,主要从事病原微生物研究。Tel:(0523)88219281;E-mail:1049213600@qq.com。

扩增沙门氏菌的保守基因 *invA*,扩增体系为 25.0 μL,其中 ddH₂O 17.5 μL、10 × PCR buffer 2.5 μL、*Taq* 酶 2.0 μL、10 μmol/L 引物 1.0 μL、DNA 模板 1.0 μL。扩增程序为: 93 ℃ 5 min;93 ℃ 30 s,65 ℃ 30 s,72 ℃ 45 s,35 个循环;72 ℃ 10 min。PCR 扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳分离,凝胶成像系统成像观察,目的扩增片段为 284 bp。

1.5 沙门氏菌的耐药性

将沙门氏菌菌株划线于普通营养琼脂平板,培养 18 h,挑选菌落接种于 MH 肉汤 37 ℃ 培养,用生理盐水校正菌液至合适浓度(1.5 × 10⁸ ~ 3.0 × 10⁸ CFU/mL)。将菌液用涂布棒均匀涂布于 MH 表面,稍干后,用无菌镊子将药敏纸片平整地贴于琼脂表面,稍加按压使纸片贴紧,平板置于 35 ℃ 培养箱中培养 24 h。从平板背面测量抑菌圈直径,依据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)标准对结果进行判定。

2 结果与分析

2.1 不同来源样本沙门氏菌的污染情况

对 452 份食源样品进行沙门氏菌分离鉴定,共检出 11 份阳性样本,总检出率 2.4%(表 1)。对分离自养殖场的 328 份泄殖腔拭子进行沙门氏菌分离鉴定,检出阳性样品 15 份,阳性率 4.6%(表 2)。165 份人粪便样本分离鉴定出 1 株沙门氏菌,阳性率为 0.6%。

由表 1 可知,鸡肉样品分离沙门氏菌 7 株,阳性率 7.5%,

表 1 食源样品沙门氏菌检出率

样品种类	样品数量 (份)	阳性样品数 (份)	阳性率 (%)
生鸡肉	93	7	7.5
生猪肉(农贸市场)	52	3	5.8
生猪肉(超市)	41	1	2.4
水产品	77	0	0.0
熟肉制品	84	0	0.0
蔬菜	59	0	0.0
生牛奶	46	0	0.0
合计	452	11	2.4

表 4 不同类型样本的药敏试验结果分析

样本来源	耐药菌数 (株)	耐药率(%)									
		AMC	AMP	GEN	AMK	TET	FIS	CIP	CFI	CEF	CRO
病鸡	6	16.7	16.7	0.0	0.0	33.3	66.7	0.0	0.0	0.0	0.0
雏鸡	2	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
成鸡	7	0.0	85.7	42.9	0.0	0.0	42.9	0.0	57.1	0.0	0.0
鸡肉	7	14.3	28.6	0.0	0.0	57.1	28.6	0.0	14.3	0.0	0.0
猪肉	4	25.0	0.0	0.0	0.0	50.0	50.0	25.0	0.0	0.0	0.0

3 讨论与结论

试验中食物样品沙门氏菌的污染率为 2.4%,污染食品主要为生肉类,其中生鸡肉的污染率 7.5%,农贸市场生猪肉的污染率 5.8%,超市生猪肉的污染率 2.4%,与钱静等的调查结果^[3]相似,低于何瑞琪等监测的污染率^[4]。生肉中的较高污染率与肉品销售场所的卫生条件、运输途中保存环境都有较大关系。食源样品中水产品、熟肉制品、蔬菜和生牛奶样品中均未检出沙门氏菌,可能与样本采集量还不够大有关。同一类型的猪肉样本,农贸市场样本的污染率 5.8% 高于超市样本 2.4%,可能与农贸市场内不同食品间、肉品与市场污

来源于农贸市场的猪肉样品分离到 3 株沙门氏菌,阳性率为 5.8%,超市猪肉样品分离到 1 株沙门氏菌,阳性率为 2.4%。

由表 2 可知,健康种鸡未检出沙门氏菌率,健康雏鸡分离沙门氏菌 2 株,阳性率 2.8%,健康成年鸡分离沙门氏菌 7 株,阳性率 4.6%,病鸡样本分离率最高,达 9.4%。

表 2 鸡源样品沙门氏菌检出率

样品种类	样品数量 (份)	阳性样品数 (份)	阳性率 (%)
病鸡	64	6	9.4
健康种鸡	42	0	0.0
健康雏鸡	71	2	2.8
健康成年鸡	151	7	4.6
合计	328	15	4.6

2.2 耐药率

来源于食品和动物的 26 株沙门氏菌对 6 类 10 种临床常用的抗微生物药物的耐药情况见表 3,来源于不同类型样本的试验菌株耐药情况见表 4。

由表 3 可知,沙门氏菌对氨苄西林和磺胺异噁唑的耐药率最高,达 42.3%;其次为四环素,耐药率为 30.8%;头孢唑啉的耐药率为 19.2%;阿莫西林/克拉维酸和庆大霉素的耐药率为 11.5%;环丙沙星的耐药率较低,为 3.8%;对阿米卡星、头孢噻呋和头孢曲松的耐药率均为 0。

表 3 不同来源沙门氏菌对 10 种药物的耐药结果

药物类型	药物名称	英文缩写	耐药菌数 (株)	耐药率 (%)
青霉素类	阿莫西林/克拉维酸	AMC	3	11.5
	氨苄西林	AMP	11	42.3
氨基糖苷类	庆大霉素	GEN	3	11.5
	阿米卡星	AMK	0	0.0
四环素类	四环素	TET	8	30.8
磺胺类	磺胺异噁唑	FIS	11	42.3
喹诺酮类	环丙沙星	CIP	1	3.8
头孢类	头孢唑啉	CFI	5	19.2
	头孢噻呋	CEF	0	0.0
	头孢曲松	CRO	0	0.0

水、市场环境间的交叉污染、从业人员的不规范操作有关,可见应该加强对市场卫生的检疫,加强肉制品屠宰、运输、加工、贮存以及销售环节的管理,进一步规范从业人员的操作,从源头上降低病原菌污染。

养殖场不同类型鸡源样品污染情况存在差异,病鸡的沙门氏菌分离率仅为 9.4%,可能是由于病料采集前养殖场已使用药物进行治疗。健康种鸡未检出沙门氏菌,检出率低于薛俊龙等的报道^[5],可能与样品数量有关或是在养殖场过程中,针对沙门氏菌感染,种鸡经过了长期净化。从健康雏鸡 2.8% 的感染率到健康成年鸡 4.6% 的污染率,说明随着养殖时间的延长,鸡沙门氏菌的感染率有所提高。对比养殖环节

陆艳凤,韩大勇,孙国波,等.不同饲养方式下黑羽番鸭血清生化指标的比较[J].江苏农业科学,2019,47(2):159-161.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.02.040

不同饲养方式下黑羽番鸭血清生化指标的比较

陆艳凤¹,韩大勇¹,孙国波^{1,2},孟伊宁¹,伊丽婷¹

(1.江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300;2.国家级水禽基因库,江苏泰州 225300)

摘要:以江苏农牧科技职业学院培育的黑羽番鸭为试验素材,开展高产期笼养组和平养组黑羽番鸭公母鸭血液生化指标测定分析。结果表明,母鸭谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)活性和肌酐含量笼养组显著低于平养组($P < 0.05$),碱性磷酸酶(ALP)、超氧化物歧化酶(SOD)活性笼养组显著高于平养组($P < 0.05$);公鸭平养组血清中AST、UA、SOD活性显著高于笼养组($P < 0.05$),ALP显著低于笼养组($P < 0.05$),睾酮(TES)含量极显著低于笼养组($P < 0.01$),表明不同饲养方式对黑羽番鸭血清生化指标有一定影响。

关键词:黑羽番鸭;血液生化指标;测定分析;饲养方式

中图分类号:S834.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)02-0159-03

番鸭是优良的瘦肉型鸭,黑羽番鸭是通过法国番鸭与中国番鸭(黑羽)杂交选育而成,具有“五黑”特征和小型优质化的特点。为了全面了解黑羽番鸭生理生化特点和变化规律,揭示不同时期、性别、饲养条件对黑羽番鸭生理特性的影响,本研究对黑羽番鸭不同饲养方式(笼养与平养)、不同生理周期(繁殖期、休产期)的血清生化指标和生殖激素含量进行测

收稿日期:2017-09-14

基金项目:江苏省农业重大新品种创制项目(编号:PZCZ201737);2016年江苏省农业三新工程项目(编号: SXGC[2016]293);2016年江苏省大学生创新创业训练计划(编号:201612806007Y);江苏农牧科技职业学院院级课题(编号: NSF201620、NSFPT201744、NSFPT201727)。

作者简介:陆艳凤(1980—),女,江苏靖江人,硕士,讲师,主要从事动物遗传育种教学与科研工作。E-mail: sgb1981@126.com。

成年鸡4.6%的分离率与市场鸡肉样本7.5%的阳性率,从养殖场到市场沙门氏菌感染率的增高说明在运输过程或农贸市场环境间交叉污染的可能性。

抗菌药物在防治沙门氏菌病中发挥着重要作用,但随着药物使用不当引发的耐药病原菌也呈逐年递增趋势。试验中沙门氏菌对10种药物的耐药率在0~42.3%之间。氨苄西林、磺胺异噁唑和四环素的耐药率最高,均在30%以上。磺胺异噁唑42.3%的耐药率可能是因为临床应用时没有坚持首次倍量的原则。头孢唑啉、庆大霉素、阿莫西林、克拉维酸的耐药率在10%~30%之间。庆大霉素肾毒性较强,临床上不推荐使用,阿莫西林作为常用的抗沙门氏菌药,随着使用的频繁,耐药率达到11.5%。环丙沙星为合成的第3代喹诺酮类抗菌药物,26株分离株中只有1株猪肉源分离株对该菌产生耐药性,鸡源沙门氏菌对该抗菌药敏感,说明目前环丙沙星在临床上对鸡沙门氏菌的抑菌效果还是较好的。菌株对阿米卡星、头孢噻唑、头孢曲松尚未产生耐药性,头孢噻唑和头孢曲松均为第3代头孢菌素类抗生素,对肠杆菌科细菌有很强的活性,但价格较贵,目前主要用于人疾病的临床治疗。

不同来源菌株的耐药情况也表现出差异性,分离自病鸡

定,分析其表达规律,为丰富黑羽番鸭种质特性档案资料和标准化规模饲养提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验于2016年4—12月在江苏丰达水禽育种场内进行。选取进入高产期黑羽番鸭母鸭200只,分别进行笼养和平养试验。另选择成年黑羽番鸭公鸭70只,也分半进行笼养和平养。

1.2 饲养方式

本试验主要涉及笼养和地面平养2种饲养方式,黑羽番鸭在不同饲养方式下的具体饲养操作要求参照2016年1月颁布的泰州市地方标准《黑羽番鸭繁育技术规程》(DB3212/T 137—2016)中的相关规定。

的菌株主要表现为对磺胺异噁唑的耐药(耐药率>50%);分离自雏鸡的菌株对氨苄西林表现出100%的耐药;来源于成年鸡的菌株主要表现为氨苄西林和头孢唑啉的耐药(耐药率>50%);来源于鸡肉样品的菌株主要表现为四环素的耐药(耐药率>50%)。

参考文献:

- [1] Mikołajczyk A, Radkowski M. *Salmonella* spp. on chicken carcasses in processing plants in Poland[J]. Journal of Food Protection, 2002, 65(9): 1475-1479.
- [2] Medeiros M A N, de Oliveira D C N, de Freitas D R C. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities[J]. Journal of Food Protection, 2011, 30(6): 555-560.
- [3] 钱静,徐恒秋,何俊,等. 2010—2012年合肥市食品中食源性致病菌监测结果分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2015, 5(5): 533-535.
- [4] 何瑞琪,魏素红,郭善广,等. 广州市售鲜肉微生物污染状况调查[J]. 现代食品科技, 2010, 26(7): 746-749.
- [5] 薛俊龙,田林君,张国权,等. 山西省鸡沙门氏菌病流行病学调查分析[J]. 山西农业科学, 2010, 38(9): 58-62.