

## 风险监测

## 温州市食品中沙门菌污染状况及特征分析

谢爱蓉,章乐怡,李毅,胡玉琴,吴跃进

(温州市疾病预防控制中心,浙江温州 325000)

**摘要:**目的 了解温州市食品中沙门菌的污染状况,分析分离的沙门菌血清型分布、耐药性及脉冲场凝胶电泳(PFGE)分子分型特征。方法 依据GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》进行菌株分离鉴定及血清学分型,采用微量肉汤稀释法进行药敏试验,PFGE法进行分子分型。结果 6类食品2 039份样品中,37份样品检出沙门菌,检出率为1.8%,其中生禽肉和生畜肉检出率较高,分别为6.9%(20/290)和3.4%(10/290)。37株沙门菌分属16种血清型,居前三位分别为鼠伤寒沙门菌、德尔卑沙门菌和肠炎沙门菌。81.1%(30/37)的菌株对17种抗生素产生不同程度的耐药,呈现24种耐药谱,多重耐药率为56.8%(21/37)。PFGE图谱分为31种PFGE带型,呈多态性。结论 沙门菌在温州市食品中存在一定的污染率,耐药情况形式严峻,PFGE图谱的聚集性与沙门菌的血清型有一定的联系,与耐药谱之间的关联性并不明确。

**关键词:**沙门菌;血清型;耐药性;分子分型;食源性致病菌

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2019)05-0461-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2019.05.012

### Contamination and characteristics of foodborne *Salmonella* in Wenzhou

XIE Airong, ZHANG Leyi, LI Yi, HU Yuqin, WU Yuejin

(Wenzhou Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Wenzhou 325000, China)

**Abstract: Objective** To investigate *Salmonella* contamination in food in Wenzhou, and to analyze the serotype distribution, drug resistance, and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns. **Methods** According to GB 4789.4-2016, the *Salmonella* strains were isolated, identified and serotyped. The broth microdilution method was used for drug sensitivity test. All strains were subtyped by PFGE. **Results** Six categories of 2 039 food samples were collected. 37 *Salmonella* strains were isolated with a positive isolation rate of 1.8%. Raw poultry meat and raw livestock meat got the highest detection rates with 6.9% (20/290) and 3.4% (10/290), respectively. The 37 *Salmonella* isolates belonged to 16 serotypes, including *S. Typhimurium*, *S. Derby* and *S. Enteritidis* as the dominant serotypes. 81.1% (30/37) of the strains showed different resistance levels to 17 kinds of antibiotics, and displayed 24 kinds of multiple drug resistant spectrums. The multiple antibiotic resistance rate reached 56.8% (21/37). The 37 isolates were divided into 31 PFGE patterns which showed polymorphism. **Conclusion** Food was contaminated to some degree by *Salmonella* in Wenzhou, and the antibiotic resistance was severe. The aggregation of PFGE patterns was related to the serotype of *Salmonella*, but had no obvious relation to the resistant spectrum.

**Key words:** *Salmonella*; serotype; drug resistance; molecular typing; foodborne pathogenic bacteria

沙门菌是一种重要的人畜共患病致病菌,广泛存在于环境中,亦是一种常见的食源性致病菌。沙门菌污染食物所导致的食源性疾病已成为世界性食品安全问题,美国每年大约有140万的肠道感染由沙门菌引起<sup>[1]</sup>,而在我国,沙门菌居于细菌性食物中毒致病因子的首位<sup>[2-3]</sup>。为了解温州市食品中沙门菌污染水平,本研究对生畜肉、生禽肉、熟肉制

品、餐饮食品、水果、蛋及蛋制品进行监测,并对分离出的沙门菌进行血清型、耐药性和脉冲场凝胶电泳(PFGE)分子分型研究,建立其相关资料的数据库,为今后更好地预防和控制由沙门菌引起的食源性疾病的发生提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品来源

2017—2018年在温州市11个县市区所设监测点内的各农贸市场、超市等场所,采集生畜肉、生禽

收稿日期:2019-07-19

基金项目:温州市医药卫生科学研究项目计划(2018B07)

作者简介:谢爱蓉 女 副主任技师 研究方向为微生物检验

E-mail: sharonxar@aliyun.com

肉、熟肉制品、餐饮食品、水果、蛋及蛋制品 6 类食品, 共计 2 039 份样品, 每份约 500 g。

### 1.1.2 主要仪器与试剂

VITEK 2 全自动细菌生化鉴定系统(法国 BioMérieux), Sensititre AIM 全自动菌液接种仪、Vizion 微生物药敏分析仪均购自美国 Thermo, CHEF Mapper 型脉冲场凝胶电泳仪、Gel XR 型凝胶成像仪均购自美国 Bio-Rad。

沙门菌显色培养基(法国 Chromagar), GN 鉴定卡(法国 BioMérieux), 沙门菌血清诱导琼脂、沙门菌诊断血清均购自丹麦 SSI, 微量细菌定量(MIC)药敏试剂(美国 Thermo), *Xba* I 核酸内切酶[宝生物工程(大连)有限公司], 蛋白酶 K(上海生工生物工程股份有限公司)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 菌株的分离鉴定

所有样品参照 GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》<sup>[4]</sup> 进行检验, 分离菌株经全自动细菌鉴定及药敏分析系统鉴定。

### 1.2.2 血清学分型

参照沙门菌血清诊断操作步骤, 根据 Kauffmann-White 抗原表(2007 版)确定沙门菌的血清型。

### 1.2.3 药物敏感性试验

采用微量肉汤稀释法进行药敏试验, 包括 10 类 23 种抗生素: 氨苄西林(AMP)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)、阿莫西林/克拉维酸(AMC)、头孢唑林(CFZ)、头孢吡肟(FEP)、头孢噻肟(CTX)、头孢西丁(CFX)、头孢他啶(CAZ)、氨曲南(AZM)、亚胺培南(IMI)、美罗培南(MEM)、庆大霉素(GEN)、阿米卡星(AMI)、卡那霉素(KAN)、四环素(TET)、多西环素(DOX)、米诺环素(MIN)、环丙沙星(CIP)、左氧氟沙星(LEV)、萘啶酸(NAL)、复方新诺明(SXT)、磺胺异噁唑(Sul)、氯霉素(CHL), 结果判断、质量控制参考美国临床和实验室标准协会(CLSI)标准<sup>[5]</sup>进行。药敏试验质控菌株为大肠埃希菌(ATCC 25922), 购自中国工业微生物菌种保藏管理中心。

### 1.2.4 PFGE 分子分型

参考 PulseNet 中沙门菌 PFGE 标准操作方法<sup>[6]</sup>进行。将获得的电泳图像用 BioNumerics v7.5 软件进行分析, 用非加权配对算术平均(UPGMA)法进行聚类, 构建聚类树, 选用 Dice 系数估算菌株彼此之间相似性。

## 1.3 统计学分析

使用 Excel 软件录入数据, SPSS 23.0 软件进行

统计分析, 计数资料的比较采用非参数检验, 检验统计量以 *S* 代表,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 食品样品中沙门菌的污染情况

6 类食品 2 039 份样品中共有 37 份样品检出沙门菌, 总检出率为 1.8%。生禽肉检出率最高(6.9%, 20/290), 其次为生畜肉(3.4%, 10/290), 不同食品检出率差异有统计学意义( $S = 61.937, P < 0.05$ )。生畜肉样品中沙门菌检出率高于熟肉制品、餐饮食品, 差异有统计学意义( $S_{\text{生畜肉-熟肉制品}} = 29.864, P < 0.05; S_{\text{生畜肉-餐饮食品}} = 31.705, P < 0.05$ ), 生禽肉中沙门菌检出率高于生畜肉、熟肉制品、餐饮食品、蛋及蛋制品, 差异有统计学意义( $S_{\text{生禽肉-生畜肉}} = 35.155, P < 0.05; S_{\text{生禽肉-熟肉制品}} = 65.019, P < 0.05; S_{\text{生禽肉-餐饮食品}} = 66.860, P < 0.05; S_{\text{生禽肉-蛋及蛋制品}} = 66.232, P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 不同类别食品样品中沙门菌检出率

Table 1 Detection rate of *Salmonella* isolated from different categories of food samples

食品类别	检测样品份数	阳性样品份数	检出率/%
生畜肉	290	10	3.4
生禽肉	290	20	6.9
熟肉制品	578	3	0.5
餐饮食品	591	2	0.3
水果	40	1	2.5
蛋及蛋制品	250	1	0.4
合计	2 039	37	1.8

### 2.2 沙门菌血清型分布

37 株沙门菌, 分为 16 种血清型, 血清型分布情况见表 2。其中鼠伤寒沙门菌、德尔卑沙门菌检出率居前两位, 分别占 27.0% (10/37)、16.2% (6/37), 其次为肠炎沙门菌(10.8%, 4/37), 其余各型检出率均 < 10.0%。

表 2 沙门菌血清型分布( $n = 37$ )

Table 2 Serotype distribution of *Salmonella*

血清型	菌株数	占比/%	血清型	菌株数	占比/%
鼠伤寒沙门菌	10	27.0	圣保罗沙门菌	1	2.7
德尔卑沙门菌	6	16.2	吉韦沙门菌	1	2.7
肠炎沙门菌	4	10.8	阿贡纳沙门菌	1	2.7
达布沙门菌	3	8.1	布伦登卢普沙门菌	1	2.7
伦敦沙门菌	2	5.4	鲁齐齐沙门菌	1	2.7
肯塔基沙门菌	2	5.4	科特布斯沙门菌	1	2.7
都柏林沙门菌	1	2.7	纽波特沙门菌	1	2.7
火鸡沙门菌	1	2.7	斯坦利沙门菌	1	2.7

### 2.3 沙门菌药物敏感试验结果

所有菌株均对 FEP、CTX、CAZ、AZM、AMI、IMI、MEM 敏感, 对 CFX 敏感率达 86.5% (32/37)。对

TET、DOX 耐药率最高 (59.5%, 22/37), 其次为 NAL、Sul、AMP、CHL, 耐药率为 40.5%~48.6%, 见表 3。仅 3 株菌株 (8.1%, 3/37) 对所有抗生素敏感。30 株菌株对至少 1 种抗生素耐药, 呈现 24 种耐药谱, 其中对 3 类及以上抗生素耐药的菌株有 21 株, 多重耐药率为 56.8% (21/37)。

### 2.4 分离菌株的 PFGE 分子分型结果

除 2 株沙门菌 DNA 降解未获得图谱外, 其他 35 株菌株分子型别呈多态性, 经聚类分析其相似度为 37.8%~100.0%, 分为 31 种 PFGE 指纹图谱, 见图 1。10 株鼠伤寒沙门菌经 *Xba* I 酶切后, 获得 7 种 PFGE 指纹图谱, 相似度在 60.7%~100.0%; 3 株达布沙门菌分为 2 种 PFGE 图谱, 两者相似度达 88.9%。其他血清型未见同种指纹图谱。图 1 中可以看出, 鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌、达布沙门菌、伦敦沙门菌都各自聚为一簇, 而 6 株德尔卑沙门菌中亦有 5 株聚集成一簇, 说明 PFGE 图谱的聚集性与沙门菌的血清型有一定的联系。将 PFGE 型别与耐药谱进行分析, 发现 PFGE 型别一致的菌株, 它们的耐药谱并不完全相同, 而耐药谱相同的菌株, PFGE 型别却不同, 显示它们之间无明显关联性。

表 3 沙门菌药物敏感试验结果 (n=37)

Table 3 Analysis of drug sensitivity test of *Salmonella*

抗生素种类	抗生素名称	敏感菌株数	中介菌株数	耐药菌株数	耐药率/%
青霉素类	AMP	20	0	17	45.9
	AMS	20	6	11	29.7
β-内酰胺/β-内酰胺抑制剂复合物	AMC	27	5	5	13.5
	CFZ	10	14	13	35.1
头孢类	FEP	37	0	0	0.0
	CTX	37	0	0	0.0
	CFX	32	5	0	0.0
单环内酰胺类	CAZ	37	0	0	0.0
	AZM	37	0	0	0.0
碳青霉烯类	IMI	37	0	0	0.0
	MEM	37	0	0	0.0
氨基糖苷类	GEN	33	0	4	10.8
	AMI	37	0	0	0.0
	KAN	29	1	7	18.9
四环素类	TET	15	0	22	59.5
	DOX	15	0	22	59.5
	MIN	19	4	14	37.8
喹诺酮类	CIP	15	10	12	32.4
	LEV	14	13	10	27.0
磺胺类	NAL	19	—	18	48.6
	SXT	28	—	9	24.3
氯霉素类	Sul	19	—	18	48.6
	CHL	12	10	15	40.5

注:—为无中介

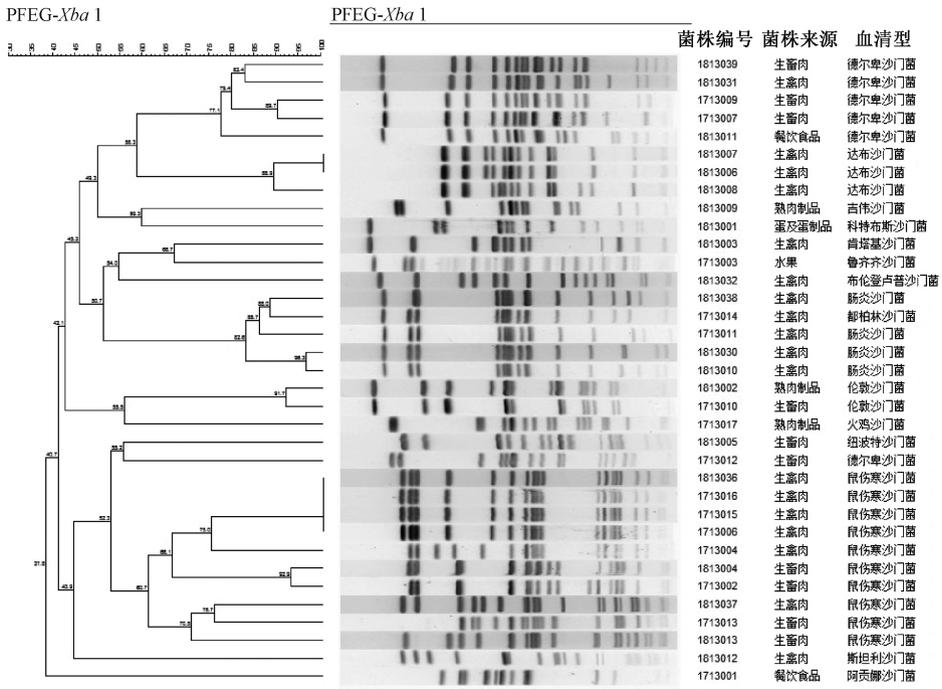


图 1 沙门菌 PFGE 图谱的聚类分析结果

Figure 1 PFGE patterns of *Salmonella* isolates

### 3 讨论

鉴于沙门菌在食源性疾病中的重要地位, 对其开展监测与研究极为必要。本次调查显示, 6 类食品中沙门菌检出率为 1.8%, 提示温州市食品存在

一定程度的沙门菌污染, 尤其是生禽肉 (6.9%) 及生畜肉 (3.4%) 类食品, 但相关食品检出率均低于国内相关文献<sup>[7-9]</sup>报道。这些差异可能与所处地域不同、采样季节变化以及屠宰运输销售卫生条件等因素有关。本次分离的 37 株沙门菌广泛分布于

16个血清型,其中鼠伤寒沙门菌、德尔卑沙门菌、肠炎沙门菌居前三位。这与我国近年来其他地区食品检出的优势菌株基本一致,也与国内引起食物中毒沙门菌的血清型别基本一致<sup>[10-11]</sup>。

自20世纪60年代初,首次报道发现耐CHL沙门菌株以来,沙门菌耐药问题日益突出。本次研究显示,81.1%(30/37)的菌株对17种抗生素产生了不同程度的耐药,尤其对TET、DOX、NAL、Sul、AMP、CHL等传统抗生素耐药率较高,且多重耐药率达56.8%。与吕素玲等<sup>[9]</sup>报道的广西食品中沙门菌的药敏结果基本一致。值得注意的是,研究中CIP、LEV中介率分别达27.0%(10/37)、35.1%(13/37),致使其敏感率仅为40.5%(15/37)、37.8%(14/37),低于黄裕等<sup>[12]</sup>、周佳等<sup>[13]</sup>、吕素玲等<sup>[9]</sup>相关报道。氟喹诺酮类药物在国内畜牧业和养殖业的广泛使用、滥用,导致细菌对该类药物的耐药菌株不断增多,敏感率逐渐降低。

本研究35株沙门菌分为31种PFGE型别,显示温州市食源性沙门菌基因型呈多态性。本次调查中,相同的血清型沙门菌,其PFGE图谱基本聚在一起,提示PFGE图谱的聚集性与沙门菌的血清型有一定的关联性,张晓媛等<sup>[14]</sup>、白莉等<sup>[15]</sup>、娄静等<sup>[16]</sup>亦有相同报道。PFGE聚类对沙门菌血清学分型具有较好的提示及验证作用,可以在血清学分型的基础上,进一步分析其差别,为食源性沙门菌疾病暴发调查及监测提供数据支撑。但研究中显示,PFGE型别与耐药谱之间的关联性并不明确。通过对沙门菌的PFGE分型研究,完善了温州市沙门菌的PFGE数据库,对今后可能引发的食源性疾病流行病学调查和溯源有着重要意义。同时,有关部门应加大监管力度,防止食品中沙门菌的污染,并加强耐药性监测。

## 参考文献

[1] BELL R L, GONZÁLEZ-ESCALONA N, STONES R, et al. Phylogenetic evaluation of the 'Typhimurium' complex of *Salmonella* strains using a seven-gene multi-locus sequence analysis[J]. *Infect Genet Evol*, 2011, 11(1):83-91.

[2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会办公厅. 国家卫生计生委办公厅关于2015年全国食物中毒事件情况的通报:国卫办应急发[2016]5号[Z]. 2016-02-19.

[3] 王霄晔,任婧寰,王哲,等. 2017年全国食物中毒事件流行特征分析[J]. *疾病监测*, 2018, 33(5):359-364.

[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验:GB 4789.4—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.

[5] CLSI. M100 performance standard for antimicrobial susceptibility testing[S]. Wayne, PA, 2018.

[6] CDC PulseNet. Standard operating procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*[EB/OL]. (2017-12) [2018-06-06]. <https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/ecoli-shigella-salmonella-pfge-protocol-508c.pdf>.

[7] 张志强,陈雅丽,刘红丽,等. 2015—2016年陕西汉中市中食品中沙门氏菌污染状况调查分析[J]. *医学动物防制*, 2018, 34(1):31-33.

[8] 孙吉昌,游兴勇,曾艳兵,等. 2009年至2011年江西省食品中沙门菌污染状况调查[J]. *实验与检验医学*, 2012, 30(2):126-129.

[9] 吕素玲,韦程媛,姚雪婷,等. 2010年广西食品中沙门氏菌污染状况和血清型分布及耐药谱的研究[J]. *应用预防医学*, 2012, 18(3):137-141,170.

[10] 韩哈,韦晓婷,魏映,等. 沙门氏菌对食品的污染及其导致的食源性疾病[J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(5):15-20.

[11] 陈玲,张菊梅,杨小鹏,等. 南方食品中沙门氏菌污染调查及分型[J]. *微生物学报*, 2013, 53(12):1326-1333.

[12] 黄裕,阙式斌,汪清,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*, 2016, 7(6):2252-2257.

[13] 周佳,刘书亮,侯小刚,等. 四川省动物性食品源沙门氏菌的耐药性监测与分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(3):188-191.

[14] 张晓媛,骆海朋,王迪,等. 北京市食源性沙门菌血清型和分子特征研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23(16):3177-3180.

[15] 白莉,李薇薇,王岗,等. 我国4省肉鸡屠宰场沙门氏菌脉冲场凝胶电泳分子分型[J]. *中国食品卫生杂志*, 2013, 25(4):303-308.

[16] 娄静,刁保卫,李杰,等. 沙门菌脉冲场凝胶电泳分型与血清型的对应关系[J]. *中华流行病学杂志*, 2013, 34(6):618-621.