

四川省猪肉源大肠杆菌和沙门氏菌的分离与耐药性分析

邹立扣, 蒲妍君, 杨 莉, 刘春华, 肖 平, 罗 燕, 李 蓓

(四川农业大学都江堰校区微生物学实验室, 森林资源保护与利用实验室, 四川 都江堰 611830)

摘 要: 采集四川省鲜猪肉 126 份, 选择性培养基分离大肠杆菌、沙门氏菌, 划线纯化后, 通过形态特性及 16S rDNA 序列对菌株进行鉴定, 利用 K-B 法(CLSI)药敏试验检测大肠杆菌和沙门氏菌对 17 种抗生素的耐药性。结果表明: 共获得大肠杆菌 105 株, 沙门氏菌 18 株, 检出率分别为 83.33% 和 14.28%。大肠杆菌对各种抗生素的耐药率在 0%~55.3%, 对四环素、氨苄西林耐药率最高, 分别为 55.3%、52.3%, 对其他抗菌药物的耐药率依次为卡那霉素(26.7%)>链霉素(19.1%)>环丙沙星(17.1%)>诺氟沙星(14.3%)>头孢噻吩(11.5%)>氨苄西林/舒巴坦(4.8%)>头孢曲松、头孢噻肟、氨基糖苷、庆大霉素(2.9%)>头孢他啶(1.9%)>阿莫西林/克拉维酸(0.8%)>丁胺卡那霉素(0.1%)>亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦(0%), 共产生 28 种耐药谱, 氨苄西林、四环素及氨苄西林/四环素谱型占优势。沙门氏菌对各种抗生素的耐药率在 0%~55.5%, 其中对四环素、氨苄西林、链霉素的耐药率最高, 依次是 55.5%、38.9%、27.8%, 对其他抗菌药物的耐药率依次是: 氨苄西林/舒巴坦、阿莫西林/克拉维酸(11.1%)>头孢噻肟、卡那霉素、头孢噻吩、庆大霉素、环丙沙星、诺氟沙星(5.6%)>头孢曲松、头孢他啶、亚胺培南、氨基糖苷、哌拉西林/他唑巴坦、丁胺卡那霉素(0%), 共产生 13 种耐药谱。四川省肉源大肠杆菌、沙门氏菌对各类抗生素已表现出一定的耐药性, 虽耐药率相对较低, 但多重耐药已经成为普遍现象, 应引起足够重视, 并加强对其监测。

关键词: 四川; 猪肉; 大肠杆菌; 沙门氏菌; 耐药性

Isolation and Drug Resistance Analysis of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in Pork from Sichuan Province

ZOU Li-kou, PU Yan-jun, YANG Li, LIU Chun-hua, XIAO Ping, LUO Yan, LI Bei

(Laboratory of Microbiology, Laboratory of Forestry Resource Conservation and Utilization, Dujiangyan Campus of Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China)

Abstract: One hundred and twenty-six pork samples were collected in Sichuan province. *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. were isolated using selective medium. The isolates were identified by morphological characteristics and confirmed by 16S rDNA sequence analysis. The susceptibility to seventeen antibiotics was performed according to the standard disk diffusion method recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). The results showed that 105 *E. coli* and 17 *Salmonella* spp. were obtained with detection frequency of 83.33% and 14.28%, respectively. Of 105 *E. coli* isolates, 55.3% and 52.3% were resistant to tetracycline and ampicillin, respectively. The resistance frequency to other antibiotics decreased in the following order: K (26.7%) > S (19.1%) > CIP (17.1%) > NOR (14.3%) > KF (11.5%) > SAM (4.8%) > CRO, CTX, ATM, CN (2.9%) > CAE (1.9%) > AMC (0.8%) > AK (0.1%) > IPM (0%), TZP (0%). There were 28 resistance profiles. Among these resistance profiles, AMP, TET and AMP/TET profiles were dominant. In addition, 55.5%, 38.9% and 27.8% of 17 *Salmonella* isolates were resistant to tetracycline, ampicillin and streptomycin, respectively. The resistance frequency to other antibiotics decreased in the following order: SAM, AMC (11.1%) > CTX, K, KF, CN, CIP, NOR (5.6%) > CRO, CAE, IPM, ATM, TZP and AK (0%). There were 13 resistance profiles. The isolates in pork from Sichuan province had appeared a certain drug-resistant frequency. Although the resistance frequency was lower than other reports, the multi-drug resistance was common in the isolates from pork, suggesting that the isolates from pork should be cautioned because they may constitute a reservoir of antibacterial resistance.

收稿日期: 2011-06-13

基金项目: 四川省教育厅重点资助项目(10ZA055)

作者简介: 邹立扣(1979—), 男, 教授, 博士, 主要从事细菌耐药性、微生物分子生物学研究。E-mail: zoulk124@163.com

Key words: Sichuan province; pork; *Escherichia coli*; *Salmonella* spp.; drug resistance

中图分类号: R155.5; Q939.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)13-0202-05

随着社会经济的发展与人民生活水平的提高, 食品安全问题已经成为人们关注的焦点, 而食品污染中病原微生物引起的食源性疾病是影响食品安全的最主要因素之一^[1]。四川省是我国猪肉产量和消费量最多的省份, 猪肉出口量占全国总出口量的比重也较大。但由于养殖、屠宰、加工、运输及销售等环节控制不严, 常导致猪肉中微生物总数增加或出现致病菌, 尤其是出现大肠杆菌(*Escherichia coli*), 如肠出血性大肠杆菌(*enterohemorrhage E.coli*, EHEC) O157、26、111血清型^[2]及沙门氏菌(*Salmonella* spp.)等肠道致病菌^[3], 引发人类疾病甚至导致死亡^[4]。

食源性致病菌对人类健康造成极大危害, 是食品安全的重大隐患, 由于在食用动物中使用抗菌药物, 使得动物源细菌迅速出现且逐渐增加, 不仅使得原有的抗菌药物失去作用, 导致动物疾病难以控制, 而且这些耐药菌可通过被污染的食品使人感染, 对人类的健康构成威胁^[5-7]。诸多研究亦表明我国养殖业生产中大量使用抗生素, 动物源食品可成为危害人类的耐药性细菌的“蓄水池”^[8]及耐药基因的“贮存库”^[9]。

因此, 本实验在2009年6月—2010年5月期间, 从四川省内各市县采集鲜猪肉, 分离鉴定菌株, 分析大肠杆菌及沙门氏菌污染情况, 并选择各类抗生素进行药敏实验, 通过此实验为微生物食品污染情况提供基础数据, 并可为动物源食品微生物污染与耐药性防控提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 样品来源

2009年6月—2010年5月期间, 采集成都、遂宁、冕宁、雅安、内江、南充、康定、攀枝花、泸州、自贡、巴中、乐山、广安、广元、宜宾、绵阳、德阳、眉山、广汉、彭州、茂县、汶川及简阳等四川省各市县超市或农贸市场的新鲜猪肉样品共126份。

1.1.2 培养基与试剂

麦康凯琼脂培养基、SS琼脂培养基、伊红美蓝培养基(EMB)、蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB)、牛肉膏蛋白胨培养基 杭州微生物试剂有限公司; 水解酪蛋白(mueller-hinton, MH)液、固培养基 广州环凯生物技术有限公司。

琼脂糖、*Taq* DNA聚合酶、dNTP及分子质量标准DL2000 北京天根生物技术有限公司; 药敏纸片 广州迪景微生物有限公司。

16S rDNA引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')、1492R(5'-TACGGCTACCTTGTACGACTT-3')由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.1.3 药敏纸片

β -内酰胺类主要包括青霉素类、头孢类、单环内酰胺类及碳青霉烯类: 青霉素类: 氨苄西林(AMP, 10 μ g/片); 头孢类: 头孢噻肟(CTX, 30 μ g/片)、头孢曲松(CRO, 30 μ g/片)、头孢噻吩(KF, 30 μ g/片)、头孢他啶(CAE, 30 μ g/片); 单环内酰胺类: 氨曲南(ATM, 30 μ g/片); 碳青霉烯类: 亚胺培南(IPM, 10 μ g/片)。

β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂复合物: 阿莫西林/克拉维酸(AMC, 20/10 μ g/片)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP, 100/10 μ g/片)、氨苄西林/舒巴坦(SAM, 10/10 μ g/片)。

氨基糖苷类: 庆大霉素(CN, 10 μ g/片)、卡那霉素(K, 30 μ g/片)、丁胺卡那霉素(AK, 30 μ g/片)、链霉素(S, 10 μ g/片)。

四环素类: 四环素(TET, 30 μ g/片)。

氟喹诺酮类: 诺氟沙星(NOR, 5 μ g/片)、环丙沙星(CIP, 5 μ g/片)。

以上共有17种药敏纸片。

1.2 仪器与设备

显微镜 德国Leica公司; 凝胶成像系统、PCR仪、电泳仪 美国Bio-Rad公司; 5804R高速冷冻离心机、单通量可调微量移液器 德国Eppendorf公司; MaxQ6000气浴摇振培养箱 美国Thermo公司; 小型涡旋振荡器 德国IKA公司; 水浴锅 上海佑柯仪器设备有限公司; 恒温培养箱 哈尔滨东联电子技术开发有限公司; FA2004电子天平 上海舜宇恒平科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品采集与处理

每个采集点分别购置500g左右的新鲜猪肉一份, 无菌袋封好后放置于带冰袋的有盖的泡沫箱中, 密封好泡沫箱后运回实验室, 4℃冰箱保存, 备用^[10]。在无菌条件下, 随机用镊子及手术刀取样品5g, 碎后移入装有45mL TSB的三角瓶中, 置于摇床中37℃培养18~24h^[11-12]。

1.3.2 菌株分离与纯化

将经过液体培养后的样品菌液划线接种于麦康凯琼脂培养基、SS琼脂培养基、伊红美蓝培养基, 37℃的恒温培养基中培养16~18h。根据菌落形态, 挑选大肠杆菌及沙门氏菌疑似菌落, 每个样品挑菌株一株, 牛

肉膏蛋白胨培养基纯化数次后,用含 20g/100mL 甘油的 TSB 培养基保存于 -20℃ 冰柜中,备用。

1.3.3 菌株鉴定

根据大肠杆菌、沙门氏菌在麦康凯琼脂培养基、SS 琼脂培养基、伊红美蓝培养基的培养特征,选取疑似菌落,革兰氏染色后显微镜下观察其形态,将选择纯化菌株划线与牛肉膏蛋白胨培养基,备用。PCR 扩增体系 50μL,包括超纯水 41μL,10× Buffer 5.0μL,4× dNTP 1.0μL,27F 和 1492R 各 1.0μL,Taq 酶 0.5μL 用无菌牙签挑取牛肉膏蛋白胨培养基上菌落作模板,以大肠杆菌 ATCC25922、肠炎沙门氏菌(中国兽医药品监察所)为阳性对照,无菌水为阴性对照,重复两次。每个反应为 30 个循环,每个循环包括 94℃ 变性 1min;50℃ 退火 1min;72℃ 延伸 1.5min。首次循环先在 94℃ 预变性 7min,最后一次循环后在 72℃ 延伸 10min,扩增产物经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳后用凝胶成像系统观察并保存。样品送上海生工生物工程技术服务有限公司测序,将测序序列在 GenBank 中 BLAST(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)比对,利用分子生物学软件分析同源性,菌株确认后用于下步实验。

1.3.4 药敏实验

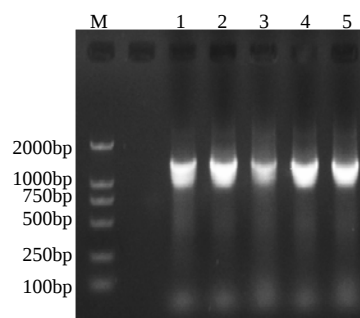
采用纸片琼脂扩散法(K-B 法),根据美国临床和实验标准协会(CLSI, 2009)推荐的方法进行操作^[13],选取已鉴定出的大肠杆菌、沙门氏菌进行药敏实验,用灭菌生理盐水(0.89% NaCl)稀释菌液,麦氏比浊后以无菌脱脂棉蘸取已制备好的菌液,并在管壁上除去多余的菌液后,在 MH 琼脂平板上向一个方向均匀涂布,将平板每转动 60° 涂布,盖上培养皿,置室温干燥 5min。用无菌镊子将含药纸片均匀贴于含菌琼脂平板表面,各纸片中心距离不小于 24mm,纸片距平板内缘应大于 15mm,平板经室温放置 15min,放入 35℃ 培养箱中,培养 18~24h,从平板背面用游标卡尺量取抑菌直径,以大肠杆菌 ATCC25922 和 35218 作为质控菌株,根据 CLSI (2009)年标准判断敏感(S)、中介(I)和耐药(R),根据药敏实验结果,分析病原菌的耐药谱。

2 结果与分析

2.1 猪肉中细菌污染情况

从四川省的超市、市场采集生鲜猪肉,总计 126 份,经麦康凯琼脂、SS 琼脂、伊红美蓝筛选鉴别培养基分离纯化,大肠杆菌菌株在麦康凯培养基上形成红色的圆形隆起,光滑湿润,边缘整齐,直径为 1.5~2.5mm 的小菌落;在伊红美蓝培养基形成中心紫黑色,有金属光泽的菌落。105 株疑似 *E.coli* 纯培养物涂片经革兰氏染色,光学显微镜检查,可见革兰氏阴性菌,两端钝圆,长约 1.5~3.0μm 的短杆菌,无芽孢。沙门氏菌在 37℃ 培养 18~24h 后,在麦康凯培养基上形成无色至浅

橙色,透明或半透明,菌落中心有时为暗色的菌落;SS 培养基上形成菌落有黑色中心,菌落直径约 1mm,革兰氏阴性、两端钝圆的比大肠杆菌细的短杆菌,长约 0.7~1.6μm,无芽孢。所选菌株经 16S rDNA 测序后表明大肠杆菌序列长度在 1440~1454bp 之间,同源性分析表明同源率在 98.1%~100% 之间,沙门氏菌序列长度在 1439~1455bp 之间,同源性在 98.9%~100% 之间,结合形态及培养特性,最终确认为大肠杆菌 105 株,沙门氏菌 18 株,部分菌株电泳结果见图 1,不同样品来源分析如表 1 所示。



M. DL2000; 1~3.大肠杆菌扩增产物; 4~5.沙门氏菌扩增产物。

图1 大肠杆菌、沙门氏菌 16S rDNA 电泳图

Fig.1 Electrophoresis of PCR amplified products of 16S rDNA from *E. coli* and *Salmonella* spp.

表1 不同来源样品中大肠杆菌、沙门氏菌的分离情况

Table 1 Isolation of *E. coli* and *Salmonella* spp. from different sources

样品来源	样品总数	大肠杆菌		沙门氏菌	
		菌株数	检出率/%	菌株数	检出率/%
超市	46	33	71.73	6	13.04
市场	80	72	90.00	12	15.00
合计	126	105	83.33	18	14.28

自 1986 年美国大肠杆菌 O157: H7 首次爆发以来,各国对于大肠杆菌的重视程度也越来越高,是食品卫生和流行病学领域最重要的研究对象之一。动物源性沙门菌易造成摄食者急性腹泻,甚至暴发食物中毒,因此对动物源性食品中沙门菌的检测亦显得重要。只帅等^[14]2007 年 9 月—2008 年 9 月采集分离自陕西西安市及杨凌示范区 414 份样品,分离株经过生化反应和 PCR 鉴定后,获得大肠杆菌 411 株。洪文展^[15]发现深圳市售肉品沙门氏菌污染率为 26.2%。孙晓林等^[16]对兰州市肉与肉制品微生物污染状况研究结果表明,肉样沙门氏菌检出率为 14%。杨保伟^[3]检测陕西部分地区食品中沙门氏菌污染情况,结果表明沙门氏菌在猪肉中检出率 19.4%。

由表 1 可知,样品中大肠杆菌的污染比较严重,大肠杆菌总检出率为 83.33%,沙门氏菌总检出率为 14.28%,

80 份市场猪肉中共分离得到 72 株大肠杆菌、12 株沙门氏菌, 46 份市场猪肉中共分离得到 33 株大肠杆菌、6 株沙门氏菌, 市场猪肉的污染比超市猪肉污染更加严重。可见应该加强猪肉屠宰、运输、销售、加工、贮存及销售等环节操作规程的管理, 防止病原体污染。

2.2 猪肉中细菌耐药率分析结果

2.2.1 大肠杆菌的耐药率

表 2 大肠杆菌对 17 种药物的耐药率

Table 2 Drug-resistant frequency of *E. coli* against 17 antibiotics

类别	抗生素纸片	抑菌直径 参考值/cm	敏感 (S)%	中介 (I)%	耐药 (R)%
头孢类	头孢曲松(CRO)	≤ 13	94.3	2.8	2.9
	头孢噻肟(CTX)	≤ 14	96.2	0.9	2.9
	头孢他啶(CAE)	≤ 14	96.2	1.9	1.9
	头孢唑啉(KF)	≤ 14	73.3	15.2	11.5
碳青霉烯类	亚胺培南(IPM)	≤ 13	100	0	0
单环内酰胺类	氨曲南(ATM)	≤ 15	96.2	0.9	2.9
青霉素类	氨苄西林(AMP)	≤ 13	42.9	4.8	52.3
β-内酰胺/内酯	氨苄西林/舒巴坦(SAM)	≤ 11	94.3	0.9	4.8
β-内酰胺酶抑制剂	哌拉西林/他唑巴坦(TZP)	≤ 17	100	0	0
抑制剂复合物	阿莫西林/克拉维酸(AMC)	≤ 13	89.5	5.7	0.8
氨基糖苷类	庆大霉素(CN)	≤ 12	97.1	0	2.9
	卡那霉素(K)	≤ 13	73.3	0	26.7
	丁胺卡那霉素(AK)	≤ 14	99.0	0	0.1
	链霉素(S)	≤ 11	73.3	7.6	19.1
氟喹诺酮类	环丙沙星(CIP)	≤ 15	80	2.9	17.1
	诺氟沙星(NOR)	≤ 12	81.9	3.8	14.3
四环素类	四环素(TET)	≤ 14	43.8	0.9	55.3

由表 2 可知, 105 株大肠杆菌对 TET、AMP 耐药率最高, 分别为 55.3%、52.3%。对其他抗菌药物的耐药率依次为 K(26.7%)> S(19.1%)> CIP(17.1%)> NOR(14.3%)> KF(11.5%)> SAM(4.8%)> CRO、CTX、ATM、CN(2.9%)> CAE(1.9%)> AMC(0.8%)> AK(0.1%)。IPM、TZP 对大肠杆菌都有很强的抗菌作用, 敏感性达到 100%。从抗生素大类来比较, 耐药率大小依次为: 四环素类(55.3%)>青霉素类(52.3%)>氨基糖苷类(0.1%~26.7%)>氟喹诺酮类(14.3%~17.1%)>头孢类(1.9%~11.5%)>β-内酰胺/β-内酰胺酶抑制剂复合物(0%~4.8%)>单环内酰胺类(2.9%)>碳青霉烯类(0%)。

何嘉仪等^[17]报道对东莞市市售鲜肉分离的大肠杆菌 50% 以上菌株对氨苄西林、阿莫西林、环丙沙星、诺氟沙星、阿米卡星、链霉素、四环素、多西环素有耐药性。只帅等^[18]报道陕西食品源大肠杆菌分离株对链霉素、四环素及氨苄西林耐药率分别为 88.2%、84.4% 及 56.0%。本实验中大肠杆菌对各种抗生素的耐药率在 0%~55.3% 之间, 可见, 四川省猪肉源大肠杆菌对抗生素耐药率相对较低。

2.2.2 沙门氏菌的耐药率

表 3 沙门氏菌对 17 种药物的耐药率

Table 3 Drug-resistant frequency of *Salmonella* spp. against 17 antibiotics

类别	抗生素纸片	抑菌直径参考值/cm	敏感 (S)%	中介 (I)%	耐药 (R)%
头孢类	头孢唑啉(KF)	≤ 14	66.7	27.7	5.6
	头孢噻肟(CTX)	≤ 14	94.4	0	5.6
	头孢曲松(CRO)	≤ 13	100	0	0
	头孢他啶(CAE)	≤ 14	100	0	0
碳青霉烯类	亚胺培南(IPM)	≤ 13	100	0	0
单环内酰胺类	氨曲南(ATM)	≤ 15	100	0	0
青霉素类	氨苄西林(AMP)	≤ 13	38.9	22.2	38.9
β-内酰胺类/β-内酰胺酶抑制剂复合物	阿莫西林/克拉维酸(AMC)	≤ 13	72.2	16.7	11.1
	氨苄西林/舒巴坦(SAM)	≤ 11	83.3	5.6	11.1
	哌拉西林/他唑巴坦(TZP)	≤ 17	100	0	0
氨基糖苷类	链霉素(S)	≤ 11	55.6	16.6	27.8
	卡那霉素(K)	≤ 13	72.2	11.1	5.6
	庆大霉素(CN)	≤ 12	94.4	0	5.6
氟喹诺酮类	丁胺卡那霉素(AK)	≤ 14	100	0	0
	环丙沙星(CIP)	≤ 15	83.3	11.1	5.6
	诺氟沙星(NOR)	≤ 12	94.4	0	5.6
四环素类	四环素(TET)	≤ 11	27.8	16.7	55.5

由表 3 可知, 18 株沙门氏菌对各种抗生素的耐药率在 0%~55.5%。其中对 TET、AMP、S 的耐药率最高, 依次是 55.5%、38.9%、27.8%, 对其他抗菌药物的耐药率依次是: SAM、AMC(11.1%)> CTX、K、KF、CN、CIP、NOR(5.6%); 对 CRO、CAE、IPM、ATM、TZP、AK 的耐药率均为 0, 敏感性达到 100%, 这些药物对沙门氏菌都有极强的抗菌作用。从抗生素大类来看, 耐药率大小依次是: 四环素类(55.5%)>青霉素类(38.9%)>氨基糖苷类(0%~27.8%)>β-内酰胺类/β-内酰胺酶抑制剂复合物(0%~11.1%)>氟喹诺酮类(5.6%)>头孢类(0%~5.6%)>碳青霉烯类、单环内酰胺类(0%)。杨保伟^[13]研究表明食品源沙门氏菌对 TET、AMP 的耐药率 56%、33%, 与本实验相似。

2.3 分离菌的耐药谱

2.3.1 大肠杆菌

表 4 大肠杆菌的耐药谱

Table 4 Drug-resistant spectrum *E. coli*

菌株数	耐药谱	菌株数	耐药谱
6	AMP	2	AMP/CIP/NOR/TET
1	KF	5	AMP/K/S/TET
21	TET	1	AMP/AMT/CRO/CTX/KF
2	AMC/AMP	1	AMP/KF/K/CIP/TET
1	AMC/KF	4	AMP/K/CIP/NOR
1	AMP/KF	1	AMP/K/CIP/NOR/S/TET
1	AMP/S	1	AMP/K/CIP/NOR/SAM/TET
12	AMP/TET	1	AMP/CN/CIP/K/NOR/S
2	K/TET	1	AMP/CN/CIP/K/KF/NOR
2	AMP/K/TET	2	AMP/CN/CIP/K/NOR/S/TET
1	AMP/KF/SAM	1	AMP/K/AK/CIP/NOR/S/TET
4	AMP/S/TET	2	AMP/CIP/K/KF/NOR/S
4	K/S/TET	1	AMC/AMP/ATM/CRO/CTX/CAE/KF/SAM
2	AMP/CIP/KF/TET	1	AMC/AMP/ATM/CRO/CTX/CAE/K/KF/SAM

由表4可知,大肠杆菌对17种抗生素共产生了28种耐药谱,84株耐药菌中,耐一种抗生素菌株($n=28$)占33.33%,19株耐2种抗生素,占22.62%,37株耐3种及3种以上抗生素,占44.05%。整体上,优势耐药谱较明显,AMP、TET及AMP/TET谱型占优势。大部分菌株($n=54$)至少耐2种药物,个别甚至达到8种或9种,耐药谱有越来越大的趋势,耐药谱也显示大肠杆菌对氨苄西林和四环素的耐药较高。大肠杆菌多重耐药情况与何嘉仪等^[17]报道耐6种药物以上的占供试菌株的70%以上、只帅等^[18]多重耐药大肠杆菌分离率为73.9%相似。

2.3.2 沙门氏菌

表5 沙门氏菌的耐药谱
Table 5 Drug-resistant spectrum of *Salmonella* spp.

菌株数	耐药谱	菌株数	耐药谱
1	AMC	1	AMP/K
1	CTX	1	AMP/AK
1	S	1	AMP/SAM/TET
1	KF	2	AMP/S/TET
3	TET	1	AMP/TIC/SAM/S/TET
1	AMC/TET	1	AMP/CN/K/S/CIP/NOR/TET
1	CIP/TET		

由表5可知,沙门氏菌对17种抗生素共产生了13种耐药谱,18株沙门氏菌中16株具有耐药性,其中7株耐一种抗生素,4株耐2种抗生素,5株耐3种及3种以上抗生素,个别的耐药种数达6种或7种。据谭炳乾^[19]报道,16株猪源沙门氏菌对四环素等12种常用抗菌药的耐药率达31.3%~93.8%,并以多重耐药为主,多重耐药达93.75%。马孟根等^[20]对30株猪源致病性沙门氏菌进行了药敏实验,结果有28株菌(93.3%)至少对一种药物有耐药性。杨保伟^[3]研究表明食源性沙门氏菌52.6%可抗至少4种以上抗生素,甚至2.5%可抗高达14种抗生素。

综上,多重耐药肉源大肠杆菌、沙门氏菌的出现已经成为普遍现象^[19,21-22],应引起足够重视,以降低此类菌感染人的风险,保证人类的健康。

3 结 论

采集四川省鲜猪肉分离纯化后,共获得大肠杆菌105株,沙门氏菌18株,大肠杆菌污染率较高,检出率分别为83.33%、14.28%。大肠杆菌对各种抗生素的耐药率在0%~55.3%,对TET、AMP耐药率最高,分别为55.3%、52.3%,共产生28种耐药谱,AMP、TET及AMP/TET谱型占优势。沙门氏菌对各种抗生素的耐药率在0%~55.5%,其中对TET、AMP、S的耐药率最高,依次是55.5%、38.9%、27.8%,共产生13种耐药谱。四川省肉源大肠杆菌、沙门氏菌已表现出一

定的耐药性,虽耐药率相对较低,但多重耐药已经成为普遍现象,应引起足够重视,并需加强监测。

参考文献:

- [1] 张秀丽,廖兴广,郝宗宇,等. 2006—2007年河南省生肉食品中沙门菌的主动监测及其DNA指纹图谱库的建立[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(7): 1545-1548.
- [2] 满晓营,吴斌,张璇,等. 猪源肠出血性大肠杆菌的分离、鉴定及特性研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(10): 984-987.
- [3] 杨保伟. 食源性沙门氏菌特性及耐药机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [4] 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.
- [5] KHACHATOURIAN S G. Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistance bacteria[J]. Canadian Medical Association, 1998, 159(9): 1129-1136.
- [6] HAMER D H, GILL C J. From the farm to the kitchen table: the negative impact of antimicrobial use in animals on humans[J]. Nutrition Reviews, 2002, 60(8): 261-264.
- [7] 林居纯,卓家珍,蒋红霞,等. 不同地区猪源和禽源大肠杆菌耐药性监测[J]. 华南农业大学学报, 2009, 30(1): 86-88.
- [8] 刘冬香,刘书亮,王印,等. 四川省动物性食品中金黄色葡萄球菌的分离鉴定及污染分析[J]. 食品科学, 2009, 30(8): 251-254.
- [9] ZOU Likou, WANG Hongning, ZENG Bo, et al. Phenotypic and genotypic characterization of beta-lactam resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolated from swine[J]. Veterinary Microbiology, 2011, 149(1/2): 139-146.
- [10] BOUVET J, MONTET M P, ROSSEL R, et al. Effects of slaughter processes on pig carcass contamination by verotoxin-producing *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 77(1): 99-108.
- [11] CHOI Y M, BAE Y Y, KIM K H, et al. Effects of supercritical carbon dioxide treatment against generic *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *E. coli* O157:H7 in marinades and marinated pork[J]. Meat Science, 2009, 82(4): 419-424.
- [12] LEE G Y, JANG H I, HWANG I G, et al. Prevalence and classification of pathogenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, poultry, and pork in Korea[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 134(3): 196-200.
- [13] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 19th informational supplement M100-S19[S]. Wayne, ssUSA. 2009.
- [14] 只帅,席美丽,申进玲,等. 食源性大肠杆菌耐药性检测[J]. 西北农业学报, 2009, 18(6): 377-381.
- [15] 洪文展. 市售肉品沙门氏菌污染状况及防控措施[J]. 肉类卫生, 2005(4): 25-26.
- [16] 孙晓林,许敬东,马军武,等. 兰州市肉与肉制品微生物污染状况的研究[J]. 中国兽医杂志, 2008(3): 22-24.
- [17] 何嘉仪,卢沛炯,赖红青. 肉类大肠杆菌耐药性调查[J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(3): 201-202.
- [18] 只帅,席美丽,刘攻关,等. 陕西部分地区不同食源性大肠杆菌耐药性检测[J]. 中国食品学报, 2011, 11(1): 196-200.
- [19] 谭炳乾. 耐氟喹诺酮类药物猪源致病性沙门氏菌 *gyrA* 基因 PCR-RFLP 及序列分析[D]. 雅安: 四川农业大学, 2002.
- [20] 马孟根,王红宁,余勇,等. 猪源致病性沙门氏菌耐药基因的分析[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(1): 65-70.
- [21] 王红宁,刘书亮,陶勇,等. 规模化猪场致病性大肠杆菌、沙门氏菌药敏区系调查[J]. 西南农业学报, 2000, 13(1): 84-91.
- [22] 周晓红,孙明华,徐佩华,等. 生肉制品中沙门菌污染状况及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(12): 3425-3427.