

济宁市城区生活污水中沙门菌分布、耐药特征及全基因组测序分析

王胜男¹, 祝园园², 杜照中¹, 聂天艳¹, 尹强¹

1. 济宁市疾病预防控制中心微生物检验科, 山东 济宁 272000; 2. 任城区疾病预防控制中心微生物检验科

摘要:目的 了解济宁市城区生活污水中沙门菌分布、血清型、耐药特征, 并进行全基因组测序分析, 为沙门菌的防控提供科学依据。方法 2023 年 2—3 月, 每周采集城区 3 个污水厂进水口污水各 2 份, 每份 500 ml, 连续采集 7 周, 合计 42 份污水样本, 对污水样本进行沙门菌的培养、分离、鉴定, 分离出的沙门菌进行血清凝集试验和荧光定量 PCR 血清分型, 利用微量肉汤稀释法对 41 株沙门菌进行 9 类 17 种药物的最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 检测, 进行全基因组测序及系统进化分析。结果 济宁市城区生活污水沙门菌分离率较高, 42 份样本中阳性样本 24 份, 共分离出 41 株沙门菌, 属 9 种血清型, 以阿贡纳和肯塔基为主, 李营和济东污水厂有其独有的血清型。只有 1 株吉韦沙门菌不耐药, 其余 40 株沙门菌均为多重耐药菌, 对复方新诺明、四环素、氨苄西林、链霉素耐药率达 90% 以上, 对氨苄西林/舒巴坦耐药率达 80% 以上, 共 19 种耐药谱, SXT-TET-STR-AMP-AMS 占首位, 不同血清型沙门菌的耐药谱不同, 肯塔基沙门菌、黄金海岸沙门菌、婴儿沙门菌的多重耐药非常严重, 同种血清型在不同污水厂中的耐药谱也不一致, 李营污水厂的沙门菌耐药现象最严重。利用 CARD 数据库进行耐药基因预测, 主要预测出 8 类耐药家族的 18 个耐药基因, 耐药表型与耐药基因几乎全部一致。不同血清型沙门菌的 ST 分型不同, 以 ST13 的阿贡纳沙门菌为主, 进化树分为 6 个簇, 不同污水厂的沙门菌在不同分支, 提示基因组有差异, 不同源。结论 济宁市城区生活污水中沙门菌血清型多样, 提示可能已在人群中存在并传播, 耐药严重, 携带耐药基因广泛, 有些型别菌株持续存在且跨区域分布, 有致病风险, 需持续监测, 并制定对科学的防控措施以控制沙门菌的流行及耐药的加重。

关键词: 血清型; 耐药谱; 耐药基因; 多位点序列分型; 系统进化树

中图分类号: R378.22 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)05-930-07

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202310202

Distribution, drug resistance, and genome sequencing analysis of *Salmonella* in domestic sewage in Jining city

WANG Sheng-nan*, ZHU Yuan-yuan, DU Zhao-zhong, NIE Tian-yan, YIN Qiang

*Department of Microbiology, Jining Center for Disease Control and Prevention, Jining, Shandong 272000, China

Abstract: Objective To understand the distribution, serotype, and drug resistance of *Salmonella* in domestic sewage in Jining city, and to analyze the whole genome sequencing so as to provide scientific basis for the prevention and control of *Salmonella*. **Methods** From February to March in 2023, two samples of sewage from the intake of 3 urban sewage plants with 500 ml each were collected continuously for 7 weeks. A total of 42 sewage samples were collected for culture, isolation, and identification of *Salmonella*. The isolated *Salmonella* was tested for serum agglutination test and fluorescent quantitative PCR serotyping. In total 41 strains of *Salmonella* were tested for minimum inhibitory concentration (MIC) of 17 drugs in 9 classes by microbroth dilution method, followed by genome sequencing and phylogenetic analysis. **Results** The isolation rate of *Salmonella* from domestic sewage in Jining city was high. Among 24 positive samples, 41 strains of *Salmonella* were isolated, belonging to 9 serotypes, mainly *S.Agona* and *S.Kentucky*. Liying and Jidong sewage treatment plants had their own unique serotypes. Only one strain of *S.Give* was not resistant, and the other 40 strains of *Salmonella* were multi-drug resistant. The resistance rates to sulfamethoxazole, tetracycline, ampicillin, and streptomycin were more than 90%, and the resistance rate to ampicillin/sulbactam was more than 80%. There were 19 kinds of drug resistance spectra, of which SXT-TET-STR-AMP-AMS ranked the first place. The resistance spectra of different serotypes of *Salmonella* were different. *S.Kentucky*, *S.Gold Coast*, and *S.Infant* were multi-drug resistant seriously. The resistance spectrum of the same serotype was also inconsistent in different sewage plants, and the resistance was the most serious in Liying sewage plant. The CARD database was used to pre-

作者简介: 王胜男 (1989—), 女, 本科, 主管技师, 研究方向: 从事病原微生物检验研究

通信作者: 尹强, E-mail: 276342580@qq.com

dict drug resistance genes, mainly predicting 18 drug resistance genes in 8 types of drug resistance families, and the drug resistance phenotypes and drug resistance genes were almost all consistent. The ST types of different serotypes of *Salmonella* were different, and ST13 *S. Agona* was dominant. The phylogenetic tree was divided into 6 clusters, and strains in different sewage plants were in different branches, indicating that their genomes were different and had different sources. **Conclusion** There are various serotypes of *salmonella* in domestic sewage in Jining city, suggesting that they might have exist and spread in the population. Almost all strains are multi-drug resistant bacteria, carrying resistance genes extensively. Some types of strains live persistently and distribute across regions, leading to the potential risk to population. It is necessary to carry out continuous monitor, and scientific prevention and control measures need to be formulated to control the epidemic of *salmonella* and the aggravation of drug resistance.

Keywords: Serotype; Drug resistance spectrum; Drug resistance gene; Multilocus sequence typing; Phylogenetic tree

沙门菌(*Salmonella*)是一种常见的食源性致病菌,广泛存在于食用动物乳制品和肉中,通过粪-口途径引起细菌性食物中毒、伤寒、副伤寒等疾病。非伤寒沙门菌(NTS)经常在污水中发现,是发达国家和发展中国家引起腹泻的主要原因之一^[1]。随着抗菌药物在临床治疗和畜牧业生产中的广泛应用,由于耐药基因的产生与转移,许多抗生药的作用效果逐渐减弱,沙门菌的耐药问题也日益^[2-3]。全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)作为一种快速且分辨率更高的方法,可通过测序数据预测血清型、分析耐药基因与毒力因子等,国外已有学者将其运用在沙门菌的监测与疫情调查中^[4-5]。实时的监测是预防和控制疾病传播的关键,基于污水中细菌和病毒等病原微生物的监测和分析,在传染病的监测和预警方面发挥巨大的潜力^[6]。污水厂通过污水管网承接了城市千家万户排放的污水,沙门菌可通过粪便样本或厨房用水经污水管网进入污水厂,相比于直接对粪便样本和食物样本的监测,污水厂进水口的污水覆盖的人数和食品数量更加广泛,包括已出现症状不能及时进行检测或者未出现症状而不进行检测的潜伏期感染者以及携带者、已被沙门菌污染的食物等,经济高效、省时,提早了预警时间;通过对污水中沙门菌的全基因组测序,能够追踪本地沙门菌基因组变异特征,发现隐匿传播,进一步对人群进行主动监测,有助于阐明传播链。本研究旨在通过对济宁市城区生活污水的监测,分析污水中沙门菌的分布、血清型和耐药特征,并利用全基因组测序技术发现沙门菌携带的主要耐药基因,揭示耐药机制,通过系统进化分析,深入揭示城区沙门菌的流行特征。在不接触人群、不从人体采集样本的条件下,一定程度地反映本区域沙门菌的流行规律和病原特征,同时逐步建立沙门菌的监测和预警数据库,为控制本地区沙门菌的流行及耐药的加重提供科学的决策依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样本采集 2023 年 2—3 月,在济宁市城区李

营污水厂(LY)、安居污水厂(AJ)、济东污水厂(JD)每周分别采集 2 份进水口污水,连续采集 7 周,共计 42 份样本。

1.1.2 仪器和试剂 Multifuge X3 FR 高速冷冻离心机(ThermoFisher);恒温培养箱(上海精宏);MALDI Biotyper 质谱仪(美国布鲁克);比浊仪(法国梅里埃);JYQ-I 型全自动加样器、细菌鉴定/药敏分析仪(山东鑫科);GENTIER 96 实时荧光定量 PCR 仪(西安天隆)。改良亚硒酸盐煌绿增菌肉汤(SBG)、沙门菌显色培养基、木糖赖氨酸脱氧胆盐(XLD)琼脂、沙门菌鞭毛诱导软琼脂(广州环凯);脑心浸液琼脂、MH 琼脂(OXOID);肠道菌药敏试剂盒(山东鑫科);沙门菌血清型分子鉴定多重试剂盒(北京美正);DNA 纯化 mini 试剂盒(凯杰 51306);沙门菌属诊断血清(宁波天润);沙门菌诊断血清(丹麦 SSI)。

1.2 方法

1.2.1 菌株分离鉴定 取 500 ml 水样 10 000 r/min 离心 5 min,取沉淀加入 100 ml SBG 增菌液中,过夜增菌,接种到沙门菌显色培养基、XLD 培养基,37℃ 培养 18~24 h,挑取可疑菌落进行质谱鉴定,一个平板挑取 1~2 个菌落,将质谱鉴定为沙门菌的菌落纯分至脑心浸液琼脂平板,进行后续试验。

1.2.2 血清凝集 按沙门菌血清凝集试剂操作说明进行试验,凝集不出的用沙门菌血清型分子鉴定的方法进行补充。提取细菌核酸,按照试剂盒说明设置 PCR 程序,进行结果判读。

1.2.3 药敏试验 药敏试验采用《国家致病菌识别网技术手册(2020 版)》规定的肠道菌药敏操作方法,测试 9 类 17 种药物。结果解释按照识别网沙门菌的折点标准。因本研究中没有伤寒沙门菌,故不对阿奇霉素的结果进行判定。耐三种及三种以上不同类别抗生素定义为多重耐药株(multi-drug resistance, MDR),质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。

1.2.4 全基因组测序 使用 DNA 纯化 mini 试剂盒(凯杰 51306)提取菌株核酸,送至诺禾致源公司(北京)进行二代测序。测序公司进行 DNA 样品质控,质

控合格的样本进行建库测序,利用 Illumina nova 6000 测序平台进行双端测序,过滤 Raw Data,生成 Clean Data。本实验室利用 FastQC 进行数据质控,后利用 CLC Genomics Workbench 21.0(QIAGEN)拼接,得到 fasta 格式序列。以沙门菌 NC_003197 为参考序列进行进化分析,利用 iTOL^[7]修饰进化树。通过 PubMLST 数据库^[8]获得 MLST 分型,利用 CARD 数据库^[9]进行耐药基因的分析。

2 结果

2.1 济宁市城区生活污水中沙门菌的检出情况 42

表 1 济宁市城区生活污水中沙门菌的检出情况

Table 1 Detection of *Salmonella* in domestic sewage in Jining city

污水厂	检测样本数	阳性样本数	阳性率(%)	菌株数	血清型(菌株数)	独有沙门菌血清型
李营	14	9	64.28	14	婴儿(3),德尔卑(1),阿贡纳(4),黄金海岸(2),肯塔基(2),哈瓦那(2)	德尔卑,黄金海岸,哈瓦那
安居	14	5	35.71	9	肯塔基(4),阿贡纳(4),婴儿(1)	
济东	14	10	71.42	18	吉韦(1),伦敦(1),阿贡纳(15)肠炎(1)	吉韦,伦敦,肠炎

2.2 药敏结果 41 株沙门菌对复方新诺明、氨苄西林、四环素、链霉素高耐,耐药率达 90%以上;对氨苄西林 / 舒巴坦耐药率达 80%以上;对氯霉素、替加环

份污水样本共分离出 41 株沙门菌,属 9 种血清型,阿贡纳沙门菌 23 株,肯塔基沙门菌 6 株,婴儿沙门菌 4 株,哈瓦那沙门菌 2 株,黄金海岸沙门菌 2 株,德尔卑沙门菌 1 株,吉韦沙门菌 1 株,伦敦沙门菌 1 株,肠炎沙门菌 1 株,整体上以阿贡纳和肯塔基为主。李营和济东污水厂样本阳性率较高,分离菌株数多。各污水厂沙门菌的血清型分布不一致,李营和济东污水厂有独有的血清型,李营污水厂沙门菌血清型有 6 种之多,独有血清型有 3 种。阿贡纳沙门菌在 3 个污水厂都有检出,且是济东污水厂的优势血清型。见表 1。

素、萘啶酸、环丙沙星的耐药率在 40%左右;对碳青霉烯类、β-内酰胺类的头孢他啶 / 阿维巴坦药物全部敏感。见表 2。

表 2 济宁市城区生活污水中沙门菌的药敏结果

Table 2 Susceptibility results of *Salmonella* in domestic sewage in Jining city

抗生素类别	抗生素名称	敏感	中介	耐药
氯霉素类	氯霉素(CHL)	23(56.10)	1(2.43)	17(41.46)
磺胺类	复方新诺明(SXT)	4(9.76)	0(0.00)	37(90.24)
多肽类	多粘菌素 E(CT)	0(0.00)	40(97.56)	1(2.43)
碳青霉烯类	厄他培南(ETP)	41(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
	美罗培南(MEM)	41(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
β-内酰胺类	头孢噻肟(CTX)	27(65.85)	0(0.00)	14(34.14)
	头孢他啶(CAZ)	30(73.17)	5(12.19)	6(14.63)
	头孢他啶 / 阿维巴坦(CZA)	41(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
	氨苄西林(AMP)	1(2.43)	0(0.00)	40(97.56)
	氨苄西林 / 舒巴坦(AMS)	1(2.43)	4(9.76)	36(87.80)
四环素类	四环素(TET)	3(7.32)	1(2.43)	37(90.24)
甘胺酰环素类	替加环素(TIG)	21(51.21)	0(0.00)	20(48.78)
喹诺酮类	萘啶酸(NAL)	23(56.09)	0(0.00)	18(43.90)
	环丙沙星(CIP)	1(2.43)	21(51.22)	19(46.34)
氨基糖苷类	阿米卡星(AMI)	40(97.56)	0(0.00)	1(2.43)
	链霉素(STR)	0(0.00)	3(7.31)	38(92.68)

注:括号外数据为菌株数,括号内数据为比例(%)。

2.3 耐药谱 41 株沙门菌有 40 株为多重耐药菌,共 19 种耐药谱,以 SXT-TET-STR-AMP-AMS, SXT-TET-TIG-STR-AMP-AMS, SXT-TET-CIP-STR-AMP-AMS 为主。相同血清型沙门菌有一致的耐药谱,不同血清型沙门菌的耐药谱差异较大,阿贡纳沙门菌的耐药谱最为多样,肯塔基沙门菌、黄金海岸沙门菌、

婴儿沙门菌多重耐药非常严重,吉韦沙门菌不耐药,同种血清型在不同污水厂的耐药谱也不一致。李营污水厂的沙门菌耐药较严重,其中的肯塔基沙门菌、黄金海岸沙门菌、婴儿沙门菌分别耐 12 种、11 种、10 种药物。济东污水厂的阿贡纳沙门菌耐药谱多样, SXT-TET-STR-AMP-AMS 居首位。见表 3、见图 1。

(菌株命名规则: 污水厂 + 检测周次 - 菌落顺序, 如 第一个菌落)。JD1-1 为 济东污水厂第一周的污水样本中检测出的

表 3 济宁市城区生活污水中不同血清型沙门菌的耐药谱

Table 3 Drug resistance patterns of different serotypes of *Salmonella* in domestic sewage in Jining city

血清型	污水厂	耐药谱	菌株数
阿贡纳沙门菌	李营	SXT-TET-TIG-CIP-STR-AMP-AMS	2
		SXT-TET-STR-AMP-AMS	2
	安居	SXT-TET-TIG-STR-AMP-AMS	2
		SXT-TET-NAL-STR-AMP-AMS	2
	济东	SXT-TET-STR-AMP-AMS	5
		SXT-TET-CIP-STR-AMP-AMS	4
		SXT-TET-TIG-STR-AMP-AMS	2
		SXT-TET-NAL-STR-AMP-AMS	1
		SXT-CTX-CAZ-TET-STR-AMP-AMS	1
		SXT-TET-CIP-NAL-STR-AMP-AMS	1
肯塔基沙门菌	李营	CHL-SXT-CTX-CAZ-TET-TIG-CIP-NAL-AMI-STR-AMP-AMS	1
		CHL-SXT-CTX-CAZ-TET-TIG-CIP-NAL-STR-AMP-AMS	1
	安居	CHL-CTX-TET-TIG-CIP-NAL-AMP	2
		CHL-SXT-CTX-CAZ-TET-TIG-CIP-NAL-STR-AMP	1
	李营	CHL-SXT-CTX-TET-TIG-CIP-NAL-STR-AMP	1
		CHL-SXT-STR-AMP-AMS	2
		CHL-SXT-TET-CIP-NAL-STR-AMP-AMS	1
		CHL-SXT-CTX-TET-TIG-CIP-NAL-STR-AMP-AMS	1
		CHL-SXT-CTX-TET-TIG-NAL-STR-AMP-AMS	1
		CHL-SXT-CTX-TET-TIG-NAL-STR-AMP-AMS	1
李营	CHL-SXT-CTX-CAZ-TET-TIG-CIP-NAL-STR-AMP-AMS	2	
	CHL-SXT-TET-TIG-CIP-STR-AMP-AMS	1	
李营	STR(1)	1	
	CT-NAL-STR-AMP-AMS	1	

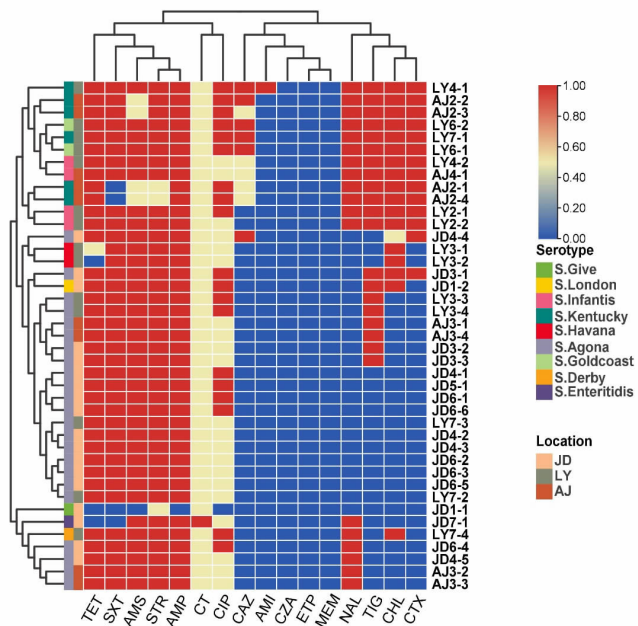


图 1 济宁市城区生活污水中沙门菌耐药表型热力图

Figure 1 Heat map of drug resistance phenotypes of *Salmonella* in domestic sewage in Jining

2.4 耐药基因 利用 CARD 数据库进行菌株的耐药基因分析, 将预测出的 18 个主要耐药基因构建热力图, 涉及到 8 类耐药家族, 为四环素类、β-内酰胺类、氨基糖苷类、磺胺类、喹诺酮类、氯霉素类、大环内酯类、甲氧苄啶类。氨基糖苷类耐药基因最多, 为 AAC(6')-Iy、AAC(6')-Iaa、AAC(3)-Id、APH(6)-Id、APH(3'')-Ib、APH(3')-Ia、aadA7、ANT(3'')-IIa。不同血清型的沙门菌所携带的耐药基因也不一致。婴儿沙门菌单独携带 CTX-M-65 介导对 β-内酰胺类耐药。一株肯塔基沙门菌(LY4-1)单独携带 rmtB 介导对阿米卡星的耐药。德尔卑沙门菌(LY7-4)和一株阿贡纳沙门菌(JD3-1)对氯霉素耐药但不携带耐药基因 floR。一株肠炎沙门菌(JD7-1)对多粘菌素耐药也不携带相关耐药基因。经综合分析, 耐药基因预测与耐药表型几乎全部一致。见图 2。

2.5 基因组分析 不同血清型沙门菌的 ST 分型不同, 以 ST13 的阿贡纳沙门菌为主, 其次为 ST198 的肯塔基沙门菌和 ST32 的婴儿沙门菌。如图 3 进化树所示, 大体分为 6 个簇, 同种血清型大都聚集成簇, 同

一簇中,不同污水厂的沙门菌在不同分支上,提示基

因组有差异,不同源。在阿贡纳沙门菌簇中,LY7-2、LY7-3 和 JD 污水厂的序列一致,提示该种型别的沙门菌在李营和济东共存,已发生区域扩散。济东污水厂中的阿贡纳沙门菌在第 3W ~ 6W 都有检出且序列一致,李营污水厂中的婴儿沙门菌在第 2W、4W 检出且序列一致,提示该菌在该区域较长时间流行。安居污水厂中的 4 株阿贡纳沙门菌在不同分支,提示来源不同。见图 3、4。

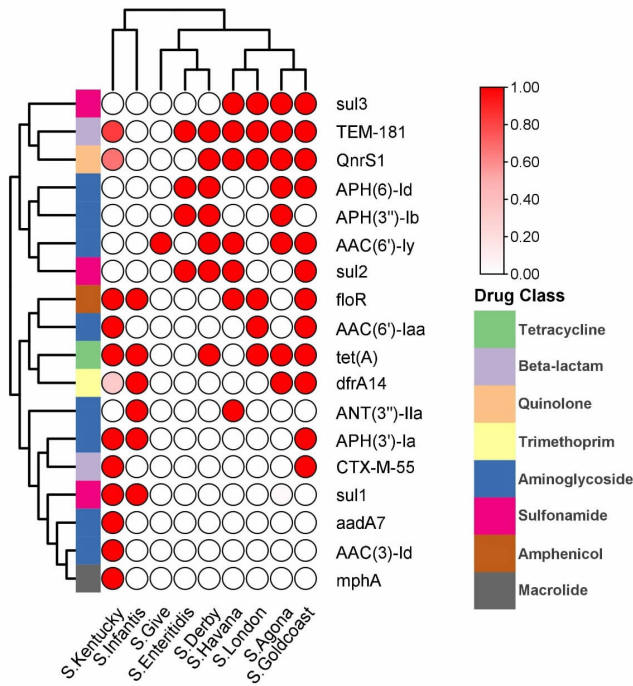


图 2 济宁市城区生活污水中沙门菌耐药基因携带热力图

Figure 2 Heat map of drug resistance genes of *Salmonella* in urban sewage of Jining city

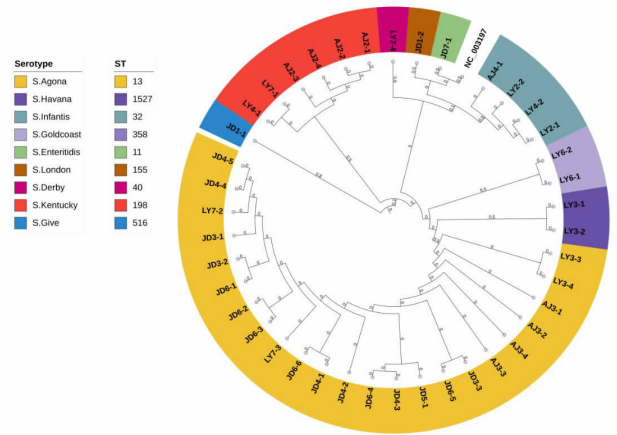


图 3 济宁市城区生活污水中沙门菌进化树

Figure 3 Phylogenetic tree of *Salmonella* in urban sewage of Jining city

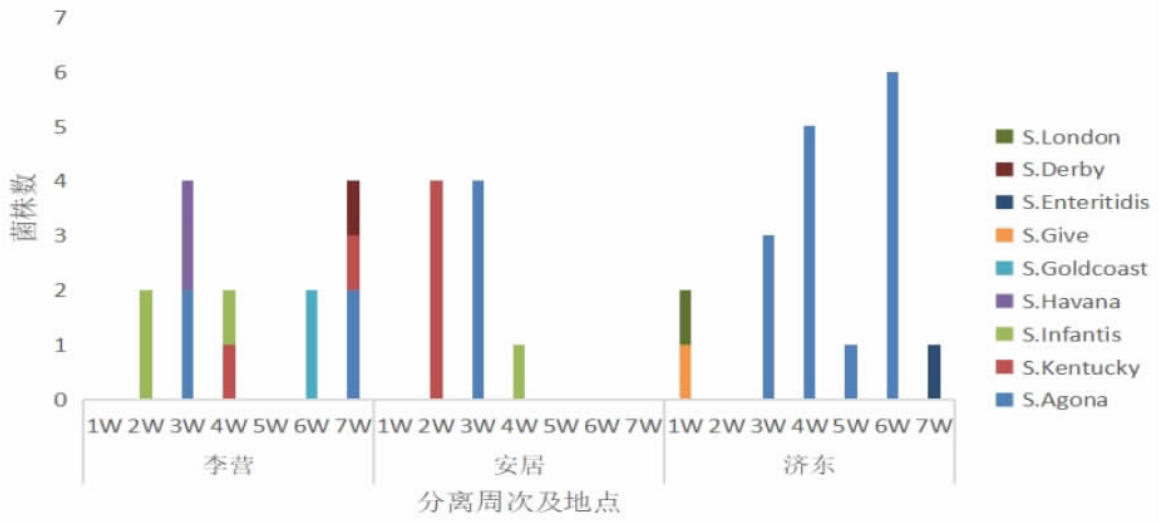


图 4 济宁市城区生活污水中沙门菌的时空分布

Figure 4 Spatial and temporal distribution of *Salmonella* in domestic sewage in Jining city

3 讨论

济宁市城区生活污水中 2023 年 2—3 月共检测出 41 株 9 种不同血清型的沙门菌,分别为阿贡纳、肯塔基、婴儿、肠炎、黄金海岸、德尔卑、伦敦、哈瓦那、吉韦。这些血清型沙门菌都可感染人体而致病,也在生畜肉和生禽肉等食品中检出^[10-11]。城区生活污水来自厨房与卫生间下水道,检测污水中的沙门菌可以反应出人体感染和食品携带的沙门菌的种类和分布,有研究表明,人源性和水源性沙门菌主要血清型一致^[12],所

以对城区生活污水进行沙门菌的实时监测,是切实可行的。

本研究检测出的沙门菌耐药严重,对复方新诺明、四环素、氨苄西林、链霉素耐药率达 90%以上,对氨苄西林 / 舒巴坦耐药率达 80%以上,耐药谱 SXT-TET-STR-AMP-AMS 占首位,这与吴春敏等^[10]、郑之北等^[13]、郭凯等^[14]、Martone-Rocha S 等^[15]的研究一致。德尔卑沙门菌和阿贡纳沙门菌是临床上除鼠伤寒和肠炎外最常见的沙门菌致病血清型,其在动

物、食品和低龄儿童中的检出率高,致病力强^[16]。本研究检测出的德尔卑和阿贡纳沙门菌,耐药表型与其一致。本研究中肯塔基沙门菌为 ST198 型的超耐沙门菌,耐药基因携带情况与曲梅等^[17]研究一致,ST198 肯塔基沙门菌是 20 世纪 90 年代中期在埃及首先被发现,是肯塔基沙门菌多耐药流行株的共同祖先。这意味着多重耐药肯塔基沙门菌在我市发生了一定传播,对公共卫生造成威胁。此外肯塔基沙门菌在禽肉中流行率的上升提示了该血清型沙门菌在食物链上存在传播的潜在风险^[18],需加强做好畜禽养殖、屠宰等源头阶段沙门菌的防控,以减少肯塔基沙门菌对本市的威胁。本研究检测出的 ST358 型黄金海岸耐药谱与杨杰的研究结果一致^[19],因其近几年在全国的流行趋势逐渐升高^[20],此种血清型沙门菌对公共卫生具有一定的潜在风险,需引起关注。

相同血清型沙门菌有一致的耐药谱,不同血清型沙门菌的耐药谱差异较大。有研究表明,无论是核心耐药基因的 SNP 位点还是附属耐药基因的分布情况均与血清型具有较强的相关性^[21]。不同的沙门菌血清型(或 ST 型)间获得性耐药基因的类型与分布具有显著差异,这与沙门菌泛基因组学的结果一致^[22]。通过耐药基因预测,本研究中 18 个耐药基因涉及到 8 类耐药家族,氨基糖苷类耐药基因最多为 AAC(6)-Iy、AAC(6)-Iaa、AAC(3)-Id、APH(6)-Id、APH(3)-Ib、APH(3)-Ia、aadA7、ANT(3)-IIa,这与肖颖等^[23]研究结果一致,也检测出 *blaCTX-M*、*blaTEM*、*blaCMY*、*fosA*、*qnrB*、*qnrS*、*sul2*、*tetA* 耐药基因。它们可能是导致近年来沙门菌对氨基糖苷类、 β -内酰胺类、磷霉素类、喹诺酮类、磺胺类以及四环素类抗生素的耐药性呈逐渐增强趋势的重要因素,且由于氨基糖苷类耐药的 AAC(3)、APH(4)基因, β -内酰胺类耐药的 *blaCMY*、*blaCTX-M* 和 *blaTEM* 基因,及氟喹诺酮类耐药的 *qnrB*、*qnrS* 基因的占比逐年增长^[21]。*Qnr* 基因作为质粒介导的喹诺酮耐药性的主要原因,在喹诺酮耐药性的传播中起着重要作用,它能在不同细菌间进行水平传播^[24]。所以本市的沙门菌耐药情况是比较严重的,非常有必要对本市沙门菌进行持续的耐药监测,及时发现耐药表型及耐药基因的转变,且要加强抗生素的合理利用以遏制耐药加重的严峻态势。

通过全基因组测序分析,获得了沙门菌的 ST 型别,耐药基因预测,并构建系统发育树,首次从基因组水平揭示了本市三个污水厂沙门菌的流行信息。通过早期发现序列一致及高度相似的菌株聚集簇,发现新的变异型和多重耐药菌株及其引起的扩散,基因组学监测正成为沙门菌病乃至其他食源性疾病监测的主要手段^[25]。

本研究系首次对本市城区生活污水中的沙门菌进行监测,并首次采用 WGS 技术进行 MLST 分型、耐药基因预测及系统进化分析,揭示了本市沙门菌流行和耐药严峻的情况,丰富了本市沙门菌监测数据库,为科学防控沙门菌提供了依据。根据调查数据及时发布预警,进行科普宣传,提高公众的自我防控意识;根据系统进化分析,对聚集成簇的沙门菌展开主动调查,对同时期的人源沙门菌、食源沙门菌进行测序分析,以从基因组水平上进行溯源追踪,并结合流行病学调查,识别潜在的传染源,明确传播链,以控制沙门菌引起的暴发;根据耐药监测结果,下一步将进行本地人源沙门菌、食源沙门菌耐药特征与耐药基因的研究,揭示污水、人源、食源沙门菌之间的关联,控制本地沙门菌耐药的加重。将构建融合食源、人源、污水来源沙门菌的全面系统的监测预警网络,以及时监测、应对常见沙门菌感染暴发,及时发现新流行亚型、新耐药克隆株,并预防其扩散。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Akinyemi KO, Ajoseh SO, Iwalokun BA, et al. Antimicrobial resistance and plasmid profiles of salmonella enterica serovars from different sources in Lagos, Nigeria[J]. Health, 2018, 10(6): 758-772.
- [2] Arya G, Holtslander R, Robertson J, et al. Epidemiology, pathogenesis, genoserotyping, antimicrobial resistance, and prevention and control of Non-Typhoidal salmonella serovars [J]. Current Clinical Microbiology Reports, 2017, 4(1): 43-53.
- [3] 胡豫杰,刘畅,王美美,等. 2016 年中国 26 个省市食源性沙门菌耐药性特征分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(5): 456-461.
Hu YJ, Liu C, Wang MM, et al. Resistance characteristic analysis for foodborne Salmonella isolates from China, 2016 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2018, 30(5): 456-461.
- [4] Gymoese P, Sørensen G, Littrup E, et al. Investigation of outbreaks of salmonella enterica serovar typhimurium and its monophasic variants using Whole-Genome sequencing, Denmark[J]. Emerging Infectious Diseases, 2017, 23(10): 1631-1639.
- [5] Tay MYF, Pathirage S, Chandrasekaran L, et al. Whole-Genome sequencing analysis of nontyphoidal salmonella enterica of chicken meat and human origin under surveillance in Sri Lanka [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2019, 16(7): 531-537.
- [6] 臧金鑫,杨其帆,王娜. 污水流行病学及信息分析研究进展 [J]. 中国公共卫生, 2022, 38(7): 944-947.
Zang JX, Yang QF, Wang N. Obtaining epidemiological information based on a new method-wastewater analysis: a review [J]. Chinese Journal of Public Health, 2022, 38(7): 944-947.
- [7] Letunic I, Bork P. Interactive tree of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(W1): W293-W296.
- [8] Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their ap-

- plications[J]. Wellcome Open Res, 2018, 3: 124.
- [9] Alcock BP, Huynh W, Chalil R, et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database [J]. Nucleic Acids Research, 51(D1): D690–D699.
- [10] 吴春敏,叶素贞,胡凤清,等. 2018–2020 年福建省南平市沙门菌分子分型及耐药性分析[J]. 疾病监测, 2023, 38(1): 16–22.
Wu CM, Ye SZ, Hu FQ, et al. Molecular typing and drug resistance analysis of *Salmonella* in Nanping, Fujian, 2018–2020 [J]. Disease Surveillance, 2023, 38(1): 16–22.
- [11] 段瑶,李杰,阚斌,等. 2006–2016 年我国畜禽动物源性沙门菌血清型分布及其耐药特征 [J]. 疾病监测, 2019, 34(4): 295–302.
Duan Y, Li J, Kan B, et al. Serotype distribution and drug resistance characteristics of livestock-borne *Salmonella* in China, 2006–2016 [J]. Disease Surveillance, 2019, 34(4): 295–302.
- [12] 张建群,黄邵军,苗超,等. 余姚市人源性与水源性沙门菌血清型与耐药性对比研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(14): 1694–1696.
Zhang JQ, Huang SJ, Miao C, et al. Comparative study on serotype and drug resistance of *Salmonella* serotype and human *Salmonella* in Yuyao [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2019, 29(14): 1694–1696.
- [13] 郑之北,郑伟,汪皓秋,等. 杭州地区多重耐药沙门氏菌的耐药特征[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 536–544.
Zheng ZB, Zheng W, Wang HQ, et al. Characteristics and molecular subtyping of multidrug resistant *Salmonella* in Hangzhou [J]. Microbiology, 2021, 48(2): 536–544.
- [14] 郭凯,刘晓琳,王伟栋,等. 2014–2018 年山东省青岛市腹泻病例中沙门菌分子分型及耐药分析[J]. 疾病监测, 2020, 35(4): 345–349.
Guo K, Liu XL, Wang WD, et al. Molecular typing and drug resistance of *Salmonella* in diarrhea cases in Qingdao, Shandong, 2014–2018[J]. Disease Surveillance, 2020, 35(4): 345–349.
- [15] Martone-Rocha S, Dropa M, Moreira Calixto da Cruz B, et al. Antimicrobial profile of non-typhoidal *Salmonella* isolated from raw sewage in the Metropolitan Region of São Paulo, Brazil [J]. Journal of Infection in Developing Countries, 2023, 17(1): 86–92.
- [16] 赵嘉咏,穆玉姣,谢志强,等. 河南省德尔卑沙门菌和阿贡纳沙门菌耐药与分子分型研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2016, 11(6): 517–521.
Zhao JY, Mu YJ, Xie ZQ, et al. Characteristics of drug resistance and molecular typing research for *Salmonella* Derby and *Salmonella* agona isolated in Henan Province[J]. Journal of Pathogen Biology, 2016, 11(6): 517–521.
- [17] 曲梅,黄瑛,田祎,等. 北京市 2010–2020 年多重耐药肯塔基沙门菌流行特征分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(7): 1252–1259.
Qu M, Huang Y, Tian Y, et al. Analysis on epidemiological characteristics of multidrug-resistant *Salmonella* Kentucky in Beijing, 2010–2020 [J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2021, 42(7): 1252–1259.
- [18] 訾凯元,康喜龙,孟闯,等. 肯塔基沙门菌的流行状况及其耐药性的研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(3): 1095–1104.
Zi KY, Kang XL, Meng C, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* Kentucky: a review[J]. Microbiology, 2022, 49(3): 1095–1104.
- [19] 杨杰. 黄金海岸沙门菌耐药性和携带伤寒沙门菌毒力基因研究[D]. 天津:天津医科大学, 2018.
Yang J. Research on salmonella resistance and virulence genes of typhoid-carrying salmonella on the Gold Coast [D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2018.
- [20] Wang Y, Liu Y, Lyu N, et al. The temporal dynamics of antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* and predominant serovars in China[J]. Natl Sci Rev, 2022, 10(3): nwac269.
- [21] 周秀娟,崔妍,何逸尘,等. 沙门氏菌泛耐药基因组特征分析[J]. 微生物学报, 2021, 61(8): 2358–2369.
Zhou XJ, Cui Y, He YC, et al. Characteristics analysis of pan-resistant genome of *Salmonella* [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(8): 2358–2369.
- [22] Laing CR, Whiteside MD, Gannon VPJ. Pan-genome Analyses of the Species *Salmonella enterica*, and Identification of Genomic Markers Predictive for Species, Subspecies, and Serovar [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1345.
- [23] 肖颖,武雅婷,赵婉好,等. 成都市人源沙门菌基因组特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2022, 38(5): 433–440, 446.
Xiao Y, Wu YT, Zhao WY, et al. Analysis of genomic characteristics of *Salmonella* in humans in Chengdu[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2022, 38(5): 433–440, 446.
- [24] 闫雷,徐海. 质粒介导的喹诺酮耐药基因 qnr 的分类、耐药机制及其在国内的流行状况 [J]. 微生物学报, 2016, 56(2): 169–179.
Yan L, Xu H. Classification and prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in China—A review[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(2): 169–179.
- [25] 闫梅英,阚斌. 建设部门协同机制和监测网络应对沙门菌感染疫情[J]. 中华流行病学杂志, 2022, 43(7): 996–1001.
Yan MY, Kan B. Establishment of multi-sector collaborative mechanism and surveillance network for *Salmonella* infection outbreak response and control[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2022, 43(7): 996–1001.

收稿日期: 2023–10–11