·实验技术及其应用·

成都市市售生鲜猪肉中沙门菌耐药性及分子分型研究

严忠雪[1,2],马炳存[2],涂尊方[2],吴晓刚[2],李增婷[2],曹乾超[2],李云鹤[2],兰婉玲[1,2]
1.成都大学食品与生物工程学院,四川 成都 610106;
2. 四川省药品检验研究院(四川省医疗器械检测中心、四川养麝研究所),四川 成都 611731

摘要:目的　对 2021 年成都市市售生鲜肉猪肉分离的沙门菌进行抗生素、消毒剂耐药表型及基因型分析,并基于全基因组对其区域分布和亲缘关系进行研究,为成都市临床治疗用药、指导生鲜市场消毒剂选择以及食源性疾病防控提供科学依据,同时也为沙门菌引起的突发公共卫生事件溯源提供数据支持。**方法**　对成都市各区县生鲜市场分离到的猪源沙门菌,使用微量肉汤稀释法对 14 种抗生素及 8 种消毒剂进行药物敏感性试验;利用全基因组测序及生物信息学技术对分离到的 114 株沙门菌进行 MLST 分型、抗生素耐药基因及消毒剂抗性基因分布特征分析;结晶紫染色消除生物膜。**结果**　四环素(87.72%)和复方新诺明(67.54%)耐药率最高;氨苄西林、氨苄西林 / 舒巴坦、头孢唑林、庆大霉素、环丙沙星、阿奇霉素、复方新诺明,这七种抗生素耐药有显著区域差异。高新区耐药最严重,为 55.95%,其次是成华区的 42.86%;分离株对 25%戊二醛均耐受,对单水合十六烷基啶氯化物(cetylpyridinium chloride monohydrate,CCM)相对敏感,CCM 可有效破坏生物膜;共检测到 10 类 38 种耐药基因,分离株均携带 *aac*(6')-*Iaa* 基因,但该基因与表型无显著相关性,其次携带 *tet*(*A*)基因(84.21%),耐药基因 *BlaTEM-1B*、*tet*(*A*)、*floR*、*cmlA 1*、*sul*3、*dfrA* 12 与表型有显著相关性;消毒剂抗性基因 (*DRGs*)qacE 检出率 29.82%, 高新区占 83.33%,*DRGs* 携带菌株中抗生素多重耐药 (multidnug resistance, MDR)率 94.12%;优势 ST 型为 ST469 广泛分布于成都各区。**结论**　成都市猪源沙门菌耐药现象普遍,耐药率高,MDR 趋势显著,在售卖生鲜猪肉时,优先选用 CCM 代替戊二醛(醛类),优势型为 ST469,存在明显的跨区传播风险。

关键词:沙门菌;抗生素与消毒剂抗性;抗性基因;分子分型
中图分类号:R155.5　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1003-8507(2026)03-525-08
DOI:10.20043/j.cnki.MPM.202507308

Antibiotic and disinfectant resistance and molecular typing of *Salmonella* isolated from retail fresh pork in Chengdu, China

YAN Zhong-xue*, MA Bing-cun, TU Zun-fang, WU Xiao-gang, LI Zeng-ting, CAO Qian-chao, LI Yun-he, LAN Wan-ling
College of Food and Biological Engineering, Chengdu University, Chengdu, Sichuan 610106, China

Abstract: Objective This study aims to analyze the phenotypic and genotypic resistance to antibiotics and disinfectants in *Salmonella* isolated from fresh pork sold in Chengdu in 2021, and to investigate their regional distribution and phylogenetic relationships based on whole-genome sequencing (WGS). The findings provide scientific evidence for clinical treatment guidance, disinfectant selection in fresh markets, and foodborne disease prevention and control, while also supporting traceability investigations for *Salmonella*-related public health emergencies. **Methods** The antibacterial susceptibility of *Salmonella* isolated from fresh pork markets across Chengdu districts was tested against 14 antibiotics and 8 disinfectants using the broth microdilution method. WGS and bioinformatics analysis were performed on 114 strains for MLST typing, antibiotic resistance gene (ARG) profiling, and disinfectant resistance gene (DRG) distribution. Crystal violet staining was used to assess biofilm eradication. **Results** Resistance rates were highest for tetracycline (TET, 87.72%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT, 67.54%). Significant regional variations were observed for resistance to ampicillin (AMP), ampicillin-sulbactam (AMS), cefazolin (CFZ), gentamicin (GM), ciprofloxacin (CIP), azithromycin (AZM), and SXT. High-tech Zone exhibited the highest resistance (55.95%), followed by Chenghua District (42.86%). All isolates tolerated 25% glutaraldehyde (GD), whereas the isolates were relatively susceptible to cetylpyridinium chloride monohydrate (CCM), and CCM could effectively disrupt *Salmonella* biofilms. A total of 38 ARGs spanning 10 classes were detected, with all strains carrying *aac (6')-Iaa* (not phenotypically correlated), followed by *tet*(*A*) (84.21%). Significant phenotype-genotype correlations were identified for *BlaTEM-1B, tet(A), floR, cmlA 1, sul3,*

基金项目:四川省科技计划项目重点研发项目(2023YFS0017)
作者简介:严忠雪(2000—),女,硕士在读,研究方向:微生物风险监测
通信作者:兰婉玲,E-mail:894064256@qq.com

and *dfrA12*. The disinfectant resistance gene (*DRGs*) qacE was detected in 29.82% of isolates, with 83.33% concentrated in High-tech Zone. 94.12% of *DRG*-positive strains were multidrug-resistant (MDR). ST469 was the dominant sequence type (ST), widely distributed across Chengdu. **Conclusion** *Salmonella* from pork in Chengdu exhibits widespread and high antibiotic resistance, with increasing MDR trends. In retail fresh pork markets, CCM is recommended over GD (aldehyde-based disinfectants). ST469 was the predominant sequence type, indicating a substantial risk of cross-regional transmission.

Keywords: *Salmonella*; Antibiotic and disinfectant resistance; Resistance genes; Molecular typing

猪肉作为消费量第二大的肉类，成为人类蛋白质的主要来源，而猪肉中沙门菌的检出率高达 32.5%[1]，沙门菌(*Salmonella*)是全球范围内引起公共食源性爆发问题的常见病原菌，大多通过食用动物源性食品传播[2]，临床表现为腹泻、腹痛、发热和呕吐等症状，抵抗力弱的群体感染后，可能更容易出现的全身性并发症[3]。食源性疾病监测系统显示，2015—2023 年成都市由致病菌引起的食源性疾病事件 117 起，其中由沙门菌导致的事件占 50.43%，发病人次高达 710 例[4]。目前，抗生素仍是沙门菌食源性疾病的主要治疗手段，但由于抗菌药物在农业、畜牧业的不合理使用和管理不当[5]，以及消毒剂的广泛使用，促使出现消毒剂抗性[6]，并且长期化学消毒剂压力会通过基因突变、基因水平转移、生物膜形成和应激适应等多途径驱动细菌耐药性进化，加剧动物源性食品的抗生素耐药性危机。抗生素耐药性可由多种基因介导[7]，高风险耐药基因的转移可能促使病原菌产生新耐药性，并通过食物链传递给人类肠道菌群，导致临床关键抗生素失效。多重耐药菌比例持续上升，将大幅增加临床诊疗压力，严重威胁人类健康[8-9]。

既往研究表明，成都市沙门菌的耐药性广泛报道，但其多重耐药分子流行病学特征、抗生素抗性基因、消毒剂抗性基因分布复杂，且区域流动传播路径不明，导致耐药克隆溯源困难。全基因组测序(WGS)能结合系统发育分析和基因分型，精准追溯耐药克隆的传播链。

本研究对成都市分离到的 114 株猪源沙门菌进行抗生素与消毒剂敏感性试验、全基因组测序、生物膜清除试验，以探究成都市沙门菌的抗生素耐药性、耐消毒剂性与耐药基因区域分布及跨行政区流动情况，为成都市致病性沙门菌的监测与预防提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 本研究 114 株沙门菌，分离自 2021 年 1—4 月，成都市 11 个主辖区的生鲜市场(每市场采集 5～10 份)，经无菌包装后冰存运输并当日检测。样本采集、菌株分离与保藏根据《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门菌检验》(GB4 789.4—2016)由四川省药品检验研究院完成。区县分布：郫都区 6 株、金牛区 8 株、青羊区 12 株、武侯区 10 株、高新区 6 株、温江区 15 株、锦江区 5 株、双流区 19 株、新都区 12 株、成华区 11 株、龙泉驿区 10 株。

1.2 抗生素敏感性试验 采用微量肉汤稀释法检测 114 株沙门菌对 14 种抗菌药物的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration，MIC)，以大肠埃希菌 ATCC 25922 为质控菌株，测试药物包括：氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、头孢唑林、头孢噻肟、头孢西丁、头孢他啶、亚胺培南、庆大霉素、环丙沙星、萘啶酸、四环素、阿奇霉素、氯霉素、复方新诺明(sulfamethoxazole and trimethoprim，SXT)。将菌株接种于药敏板(上海星佰)，(37±1)℃培养 18～24 h 后，重复 3 次后依据临床和实验室标准协会 M100-Ed34 折点判读药敏结果。

1.3 消毒剂敏感性试验 采用 CLSI 微量肉汤稀释法测定 MIC，以鼠伤寒沙门菌 ATCC 14028 为质控菌株。测试 5 类 8 种消毒剂：25%戊二醛、月桂基三甲基铵氯化物 (cetyltrimethylammonium chloride，CTAC)、过硫酸钾、醋酸氯己定(chlorhexidine apetats，CA)、次氯酸钠、苯扎氯铵、十二烷基二甲基胺氯化物(dodecyl dimethy mmonium chloride，DDAC)、单水合十六烷基啶氯化物(cetylpyridinium chloride monohydrate，CCM)。挑取工作菌株的单菌落，接种于 2×MH 肉汤，调至 0.5 麦氏浊度并 1∶100 稀释，96 孔板中 2 倍连续稀释各消毒剂后加菌液，(35±2)℃静置培养 16～20 h，重复 3 次。

1.4 沙门菌全基因组分析

1.4.1 基因测序 将收集到的猪源沙门菌分离株送往中国科学院微生物研究所进行全基因组测序，具体流程如下：使用 Illumina DNA Prep Kit 进行全基因组 DNA 文库构建；使用 Illumina NovaSeq 6000 进行双端 PE150 测序；利用 FastQC、Trimmomatic 进行数据质控，去除低质量 reads；使用 SPAdes(v3.15.4)进行初步组装，通过 Pilon (v1.24) 纠错，并手动检查冗余 contigs，获得最终完整基因组的组装结果。

1.4.2 全基因组生物信息学分析 使用 ResFinder 分析耐药基因和消毒剂基因。基于 Zhang 等[10]的框架评估耐药基因的风险等级 (I、II 级为高风险)；使用 Origin2024b 绘抗生素表型—基因热图；使用 SISTR 预测血清型，基于 7 个管家基因进行 MLST 分型；核心基因组通用细菌分类标记(up-to-date bacterial core

gene,UBCG)分析核心基因组,基于最大似然法建树(itol 美化);统计学分析使用 SPSS(v29.0)。

1.5　生物膜清除试验　本研究采用结晶紫染色法评估 114 株沙门菌(*bapA* 阳性)的生物膜清除效能。以 *bapA* 阴性菌株和铜绿假单胞菌 ATCC27853 为对照。取工作菌株接种 TSB 培养 18～24h（37℃),1∶100 稀释于 TSB+2%葡萄糖（1×10^7 CFU/ml),200 μl/ 孔 28℃培养 72h。PBS 洗涤后分别加入 CCM(16 mg/L)、戊二醛(128 mg/L)处理 30min,经甲醛固定、结晶紫染色后,33%冰乙酸溶解生物膜,测定 OD_{570},重复 3 次。

2　结　果

2.1　药物敏感性试验结果

2.1.1　抗生素敏感性试验结果　药敏结果显示,114 株菌株对亚胺培南和头孢西丁全部敏感，对头孢噻肟、头孢他啶也较敏感,耐药率分别为 2.63%、1.96%。但对四环素耐药率最高，为 87.72%，部分区域达 100%(龙泉驿区、成华区、高新区和青羊区),其次为 SXT(67.54%)、氨苄西林(57.89%)和氨苄西林 / 舒巴坦(57.89%),其中氨苄西林、氨苄西林 / 舒巴坦、头孢唑林、庆大霉素、环丙沙星、阿奇霉素、SXT 存在显著区域差异，见表 1。高新区耐药情况最突出,为 55.95%,成华区次之,为 42.86%,该两区对氨苄西林、氨苄西林 / 舒巴坦、SXT 耐药率均高于 80%。

2.1.2　猪源沙门耐药谱　114 株猪源沙门菌中,10 株全敏感,15 株单耐药,74 株多重耐药(64.91%),耐药组合氨苄西林 – 氨苄西林 / 舒巴坦 – 四环素 – 氯霉素 –SXT 最多(12.28%,14/114),主要分布于双流区(35.71%,5/14)、温江区(21.43%,3/14)、新都区(14.29%,2/14)。见表 2。

表 1　114 株沙门菌对 14 种抗生素药物敏感性试验结果

Table 1　Results of drug susceptibility testing of 114 *Salmonella* strains to 14 kinds of antimicrobial drugs

抗生素种类	抗生素名称	敏感(S)占比(%)	中介(I)占比(%)	耐药(R)占比(%)	区域间耐药显著性 *P* 值
β – 内酰胺类	AMP	40.35	1.75	57.89	<0.05
	AMS	42.11	0.00	57.89	<0.05
	CFZ	36.84	29.82	33.33	<0.05
	CTX	96.49	0.88	2.63	>0.05
	FOX	95.61	4.39	0.00	—
	CAZ	98.45	0.00	1.96	>0.05
	IPM	100	0.00	0.00	—
氨基糖苷类	GM	76.31	0.00	23.69	<0.05
喹诺酮类	CIP	41.23	34.21	24.55	<0.05
	NAL	90.35	—	9.65	<0.05
四环素类	TET	11.40	0.88	87.72	>0.05
大环内酯类	AZM	83.32	—	16.67	<0.05
氯霉素类	CHL	42.99	2.63	54.39	>0.05
磺胺类 + 甲氧苄啶	SXT	32.46	—	67.54	<0.05

注:中介(I)列“–”表示 CLSI 未推荐该中介值;—表示耐药率为 0%,无统计学意义;AMP、AMS、CFZ、CTX、FOX、CAZ、IPM、GM、CIP、NAL、TET、AZM、CHL 分别表示氨苄西林、氨苄西林 / 舒巴坦、头孢唑林、头孢噻肟、头孢西丁、头孢他啶、亚胺培南、庆大霉素、环丙沙星、萘啶酸、四环素、阿奇霉素、氯霉素。

表 2　114 株沙门菌耐药谱

Table 2　Drug resistance spectra of 114 *Salmonella* strains

抗生素耐药重数	耐药谱	菌株数	区域
0	—	10	A–B–D–F–G–H–I–
1	TET	15	B–C–D–F–G–H–I–K
2	TET–SXT	8	A–C–F–H–I
	TET–CHL	5	C–H–J–K
	CFZ– NAL	1	H
	CHL–SXT	1	I
3	CIP–TET–CHL	1	B
	TET–CHL–SXT	4	D–I–K
	NAL–TET–SXT	1	I
4	AMP– AMS–TET–SXT	6	B–F–J–K
	CIP–TET–CHL–SXT	1	B
	AMP– AMS–CFZ–TET	1	D
5	AMP–AMS–CFZ–TET–SXT	7	A–B–D–F–H–J
	AMP–AMS–TET–CHL–SXT	14	A–B–F–H–I–J–K
	AMP–AMS–GM–CHL–SXT	1	F
	AMP–AMS–CFZ–CHL–SXT	1	I

（续表）

抗生素耐药重数	耐药谱	菌株数	区域
	AMP–AMS–CFZ–TET–CHL	1	E
6	AMP–AMS–CFZ–TET–CHL–SXT	7	C–F–G–H–K
	GM–CIP– NAL–TET– AZM–SXT	1	E
	AMP–AMS–CIP–TET–CHL–SXT	1	G
7	AMP–AMS–CFZ–CIP–TET–CHL–SXT	1	D
	AMP–AMS–GM–CIP–NAL–TET–CHL	1	D
	AMP–AMS–GM–CIP–TET– AZM–SXT	1	F
	AMP– AMS–CFZ–GM–TET–CHL–SXT	1	J
8	AMP–AMS–GM–CIP–TET– AZM–CHL–SXT	3	A–J
	AMP–AMS–CFZ–GM–CIP– NAL–TET–CHL	2	C
	AMP–AMS–CFZ–GM–TET– AZM–CHL–SXT	1	C
	AMP–AMS–CFZ–GM–CIP–TET–CHL–SXT	1	F
	AMP–AMS–CFZ– CTX–GM–TET–CHL–SXT	1	H
	AMP–AMS–GM–CIP– NAL–TET– AZM–SXT	1	H
	AMP–AMS–GM–CIP– NAL–TET–CHL–SXT	1	H
	AMP–CFZ–CIP– NAL–TET– AZM–CHL–SXT	1	H
	AMP–AMS–CFZ–GM–TET–AZM–CHL–SXT	2	K
9	AMP–AMS–CFZ–GM–CIP–TET– AZM–CHL–SXT	8	C–E–J
11	AMP–AMS–CFZ–CTX–CAZ–GM–CIP– NAL–TET–CHL–SXT	1	H
12	AMP–AMS–CFZ– CTX–CAZ–GM–CIP– NAL–TET– AZM–CHL–SXT	1	A

注：A 郫都区；B 金牛区；C 青羊区；D 武侯区；E 高新区；F 温江区；G 锦江区；H 双流区；I 新都区；J 成华区；K 龙泉驿区；AMP、AMS、CFZ、CTX、FOX、CAZ、IPM、GM、CIP、NAL、TET、AZM、CHL 分别表示氨苄西林、氨苄西林 / 舒巴坦、头孢唑林、头孢噻肟、头孢西丁、头孢他啶、亚胺培南、庆大霉素、环丙沙星、萘啶酸、四环素、阿奇霉素、氯霉素。

2.1.3　消毒剂敏感性试验结果　结果表明，戊二醛、CTAC、过硫酸钾、次氯酸钠、苯扎氯铵、DDAC、CCM 消毒剂 MIC 值（质控菌）分别为 128、128、8 192、8、128、8、4 和 16 mg/L。114 株分离菌均对戊二醛耐药，过硫酸钾、次氯酸钠、CA 的 MIC 值与质控菌一致的占比分别为 100%、64.04%、55.26%。季铵盐类消毒剂 CTAC、苯扎氯铵、DDAC、CCM 等于质控菌 MIC 值的占比分别为 85.96%、93.86%、50.88%、35.09%，MIC 低于质控菌值的占比最高为 CCM（61.40%）和 DDAC（34.21%）。见图 1。次氯酸钠在高新区耐药率最高，为 66.67%；CA 在成华区耐药最普遍，为 72.73%，其次为新都区、青羊区和龙泉驿区，分别为 66.67%、50%、50%。

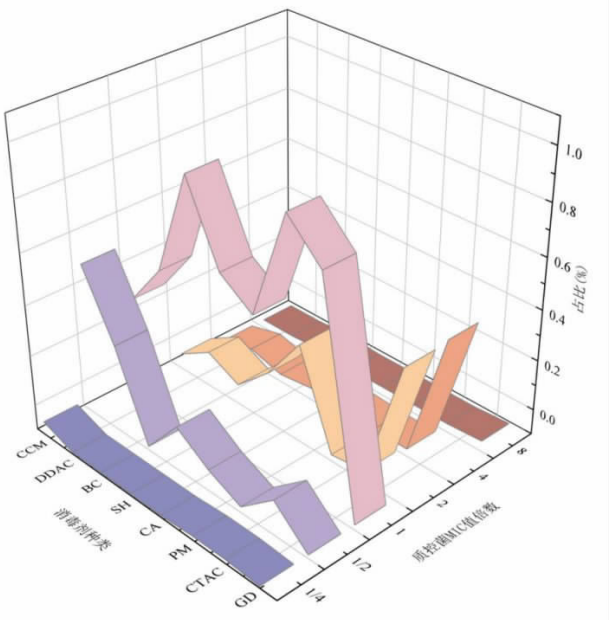


图 1　猪源沙门菌消毒剂抗性试验结果

Figure 1　Results of the disinfectant susceptibility testing for porcine–derived *Salmonella*

2.2　全基因组分析

2.2.1　抗生素抗性基因（*ARGs*）携带情况分析　全基因组测序检出 10 类 38 种 *ARGs*，其中双流区检出最多（171，16.38%）；*ARGs* 以氨基糖苷类为主（32.09%），其次是磺胺类（14.95%）和四环素类（12.64%）；所有菌株均携带 *aac(6′)–Iaa* 基因，84.21% 携带 *tet(A)* 基因；各类抗生素携带最多 *ARGs*，β – 内酰胺类 *blaTEM –1B*（84.62%）、氯霉素类 *floR*（48.74%）、喹诺酮类 *qnrS*1（49.43%）、甲氧苄啶类 *dfrA* 12（69.74%）、磺胺类 *sul*2（38.06%，而大环内酯类仅检测到 *mph(A)*。见图 2。

2.2.2　抗生素抗性基因（*AGRs*）与表型相关性分析　基因 – 表型关联分析显示，*blaTEM–1B*、*tet(A)*、*floR*、*cmlA* 1、*sul*3、*dfrA* 12，这些基因显著驱动耐药表型（$P<0.05$）。*aac(6')–Iaa* 基因与表型虽具有较高的一致率（23.68%），但差异无统计学意义（$P>0.05$）。高新区和成华区耐药率最高，但两者表型及基因分布无显著

差异（$P>0.05$）。

2.2.3　高风险抗生素抗性基因（*ARGs*）分析　在 114 株沙门菌中共检出 I 级高风险 *ARGs* 185 个，携带率 17.72%，其中 *floR* 基因携带最多为 31.35%（58/185），其次是 *dfrA*12 的 28.65%、*tet* (*M*) 的 17.84%和 *aph*(6)-*Id* 的 13,51%。双流区携带率最高，为 31.58%，其次是温江区的 23.68%、成华区的 19.30%，且双流区高风险 *ARGs* 种类最丰富。见图 2。

2.2.4　消毒剂耐药基因（*DRGs*）携带情况分析　基于 114 株猪源沙门菌全基因测序数据，*qacE* 基因总携带率为 29.82%，高新区最高，为 83.33%，其次是成华区的 72.73%和青羊区的 58.33%。

2.2.5　抗生素多重耐药（multidrug resistance,MDR）与抗生素抗性基因（*ARGs*）、消毒剂抗性基因（*DRGs*）分析　在 74 株多重耐药沙门菌中，氨苄西林 – 氨苄西林 / 舒巴坦 – 四环素 – 氧霉素 –SXT（β – 内酰胺类 – 四环素类 – 氯霉素类 – 磺胺 + 甲氧苄啶类）为最常见的耐药谱，该耐药谱菌株均携带相应 *ARGs*，且 100%携高风险 *ARGs*，其中四环素类高风险 *ARGs* 占 71.43%，甲氧苄啶类占 100%。

携带 *DRGs* 的 34 株沙门菌，MDR 占比极高，为 94.12%（32）。见图 3。

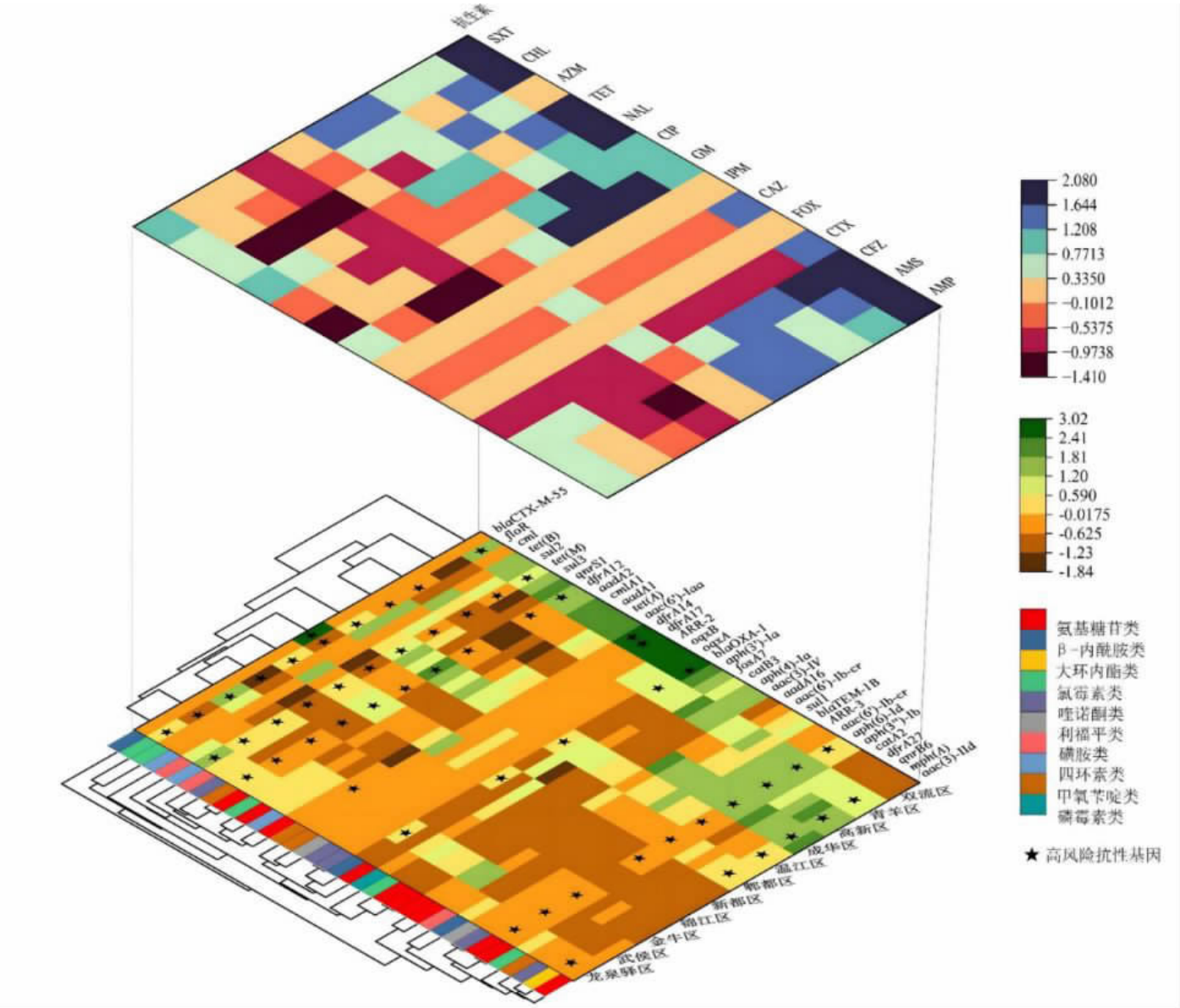


图 2　各区域耐药基因 – 抗生素耐药表型分层热图

Figure 2　Hierarchical heatmap of regional distributions of antibiotic resistance genes and phenotypes

2.2.6　多点位分型与进化关系分析　MLST 分型鉴定出 18 种 ST 型，其中 ST358 和 ST2529 对应黄金海岸沙门菌，差异在 *his*D、*thr*A、*suc*A、*aro*C、*pur*E 基因。其余血清型和 ST 型一一对应，见表 3；优势 ST 型为 ST469（里森沙门菌，27.19%），分布于除高新区外的 10 个行政区，ST155 和 ST40 次之，覆盖 9 个区。ST34（2.63%）见于高新区、双流区和新都区，ST19（鼠伤寒沙门菌，1.75%）具有强致病性，来自温江区和新都

区。SM066（ST2040）与其他菌株差异显著，SM067（ST2529）和 SM034（ST1499）遗传距离较大，见图 4。系统发育分析表明，同分支菌株存在跨区域分布现象，见图 5。

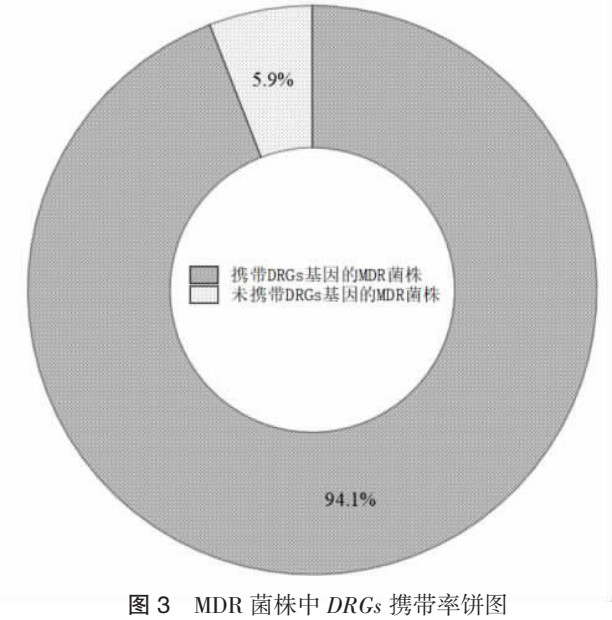


图 3　MDR 菌株中 *DRGs* 携带率饼图

Figure 3　Pie chart of *DRGs* carrying rate in MDR strains

表 3　114 株多重耐药沙门菌血清型及多点位序列分型结果

Table 3　Serotypes and MLST results of 114 *Salmonella* strains with multidrug resistance

血清型	MLST 分型	血清型	MLST 分型
肯塔基沙门菌 *S. Kentucky*	ST198	梅里加德沙门菌 *S. Meleagridis*	ST463
里森沙门菌 *S. Rissen*	ST469	阿贡纳沙门菌 *S. Agona*	ST13
德尔卑沙门菌 *S. Derby*	ST40	科瓦利斯沙门菌 *S. Corvallis*	ST1541
未知血清型 *I4,[5],12* 沙门菌 *S. I 4,[5],12*	ST34	婴儿沙门菌 *S. Infantis*	ST32
伦敦沙门菌 *S. London*	ST155	鼠伤寒沙门菌 *S. Typhimurium*	ST19
黄金海岸沙门菌 *S. Goldcoast*	ST358/ST2529	牛病沙门菌 *S. Bovismorbificans*	ST1499
安纳图姆沙门菌 *S. Anatum*	ST64	普顿沙门菌 *S. Putten*	ST1656
曼哈顿沙门菌 *S.Manhattan*	ST18	利文斯通沙门菌 *S. Livingston*	ST543
印第安纳沙门菌 *S. Indiana*	ST2040		

2.3　生物膜消除结果　基于全基因组测序，筛出 72 株菌携带 *bapA* 基因（生物膜关键基因），其生物膜形成率达 95.83%。结晶紫染色结果显示，消毒剂 CCM 生物膜清除率达到69.57%（48/69），显著优于戊二醛的 7.25%（$P<0.05$）。

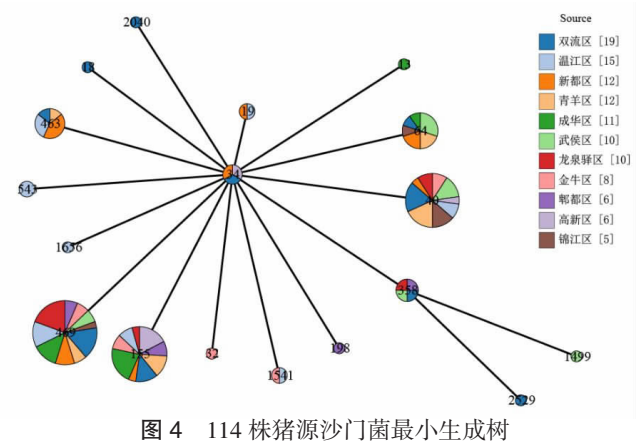


图 4　114 株猪源沙门菌最小生成树

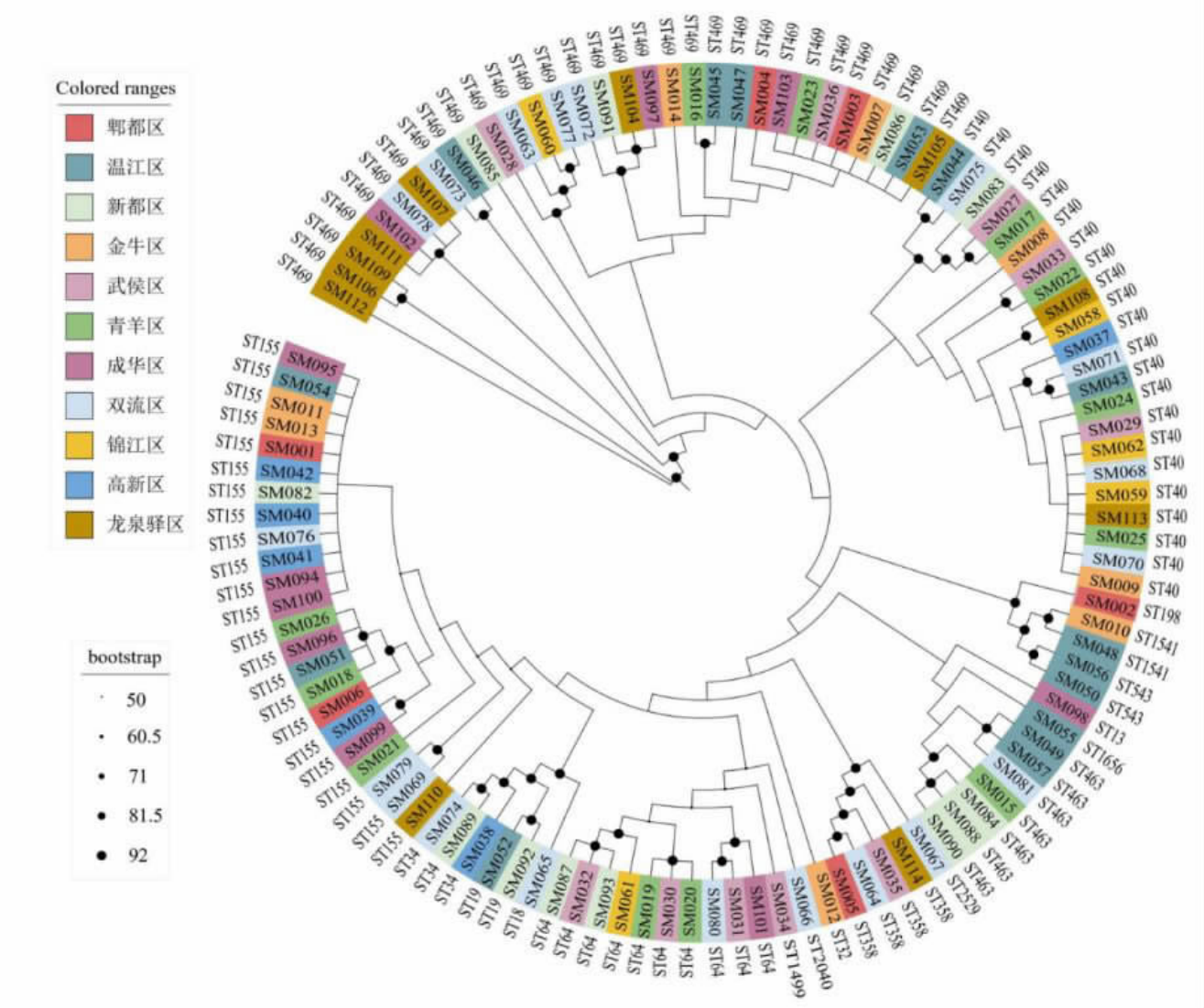
Figure 4　The minimum spanning tree (MST) of 114 swine-derived *Salmonella* strains

3　讨　论

在养殖、生产和销售等环节，抗生素和消毒剂滥用加剧沙门菌耐药性的增强和耐药谱的变宽[11]。对从成都市 114 株生猪肉沙门菌的耐药分析显示，四环素耐药率最高，其次是 SXT，与国内食源性沙门菌耐药趋势一致[12-13]，可能早期养殖业广泛使用四环素类和磺胺类药物相关[14]。64.91%的菌株呈多重耐药，提示成都市沙门菌耐药形势严峻。此外，头孢唑林和环丙沙星的介药率（I%）较高，需警惕潜在耐药风险并加强防控。

有研究表明，消毒剂可通过多种机制促进细菌耐药进化[15-17]，包括：（1）*ptsI* 基因突变降低 ROS 水平，导致广谱耐药[18]。同时，外排泵过表达联合孔蛋白 OmpC 和 OmpF 的下调，导致抗菌药物积累[19]；（2）增强质粒接合频率，加速耐药基因水平转移[20-21]。（3）生物膜形成胞外聚合物屏障限制药物渗透，增强细菌的耐药性[22-23]；（4）SOS 反应、氧化应激与严谨反应诱导交叉耐药[24]。这些机制共同构成消毒剂介导的耐药性进化网络。本研究中，所有菌株对消毒剂戊二醛均耐受，而 CTAC、过硫酸钾、苯扎氯铵耐受趋势明显，建议减少使用。次氯酸钠在高新区，CA 在成华区、新都区和青羊区呈现高抗性，应避免选用。相比之下，CCM 仍较敏感，可有效破坏生物膜（$P<0.05$），其阳离子表面活性可破坏生物膜脂质架构并溶解胞外多糖，而消毒剂戊二醛可能因蛋白交联增强生物膜稳定性，且 CCM 低毒、无挥刺激，推荐用于食品加工环节。

沙门菌耐药表型与抗性基因相关但存在差异。本研究发现，尽管 *aac*(6')-*Iaa* 基因普遍存在（100%），但对抗生素庆大霉素耐药仅 23.69%，且无显著相关性（$P>0.05$），可能因基因沉默、低表达或需其他酶或外排泵协同。β- 内酰胺类以 *blaTEM-1B*（84.62%）为主要基因，与 ZHAO 等[25]研究结果一致，该基因与表



注：外圈为各菌株 ST 型。

图 5　114 株猪源沙门菌全基因组进化树

Figure 5　Whole-genome phylogenetic tree of 114 *Salmonella* isolates from swine

型显著相关（$P<0.05$）。甲氧苄啶类 *dfrA* 12（67.7%）是主要基因且高风险，可导致 SXT 高水平耐药（$P<0.05$）。值得注意的是，双流区抗性基因最多且高风险基因携带率最高，但未增加 XDR 风险，可能因适应性代价，但若发生补偿性突变，未来耐药性风险可能上升，需加强监测。此外，季铵盐类消毒剂抗性基因 *qac*E，高新区携带率（83.33%）与消毒剂抗性水平（0）呈现显著不一致。高新区 *qac*E（83.33%）基因携带率与表型抗性水平（0）不符，而新都区 *qac*E 基因携带率为 8.33%，但抗性占比 17.24%，推测与新都区更高的消毒剂选择压力促进耐药株富集有关。研究提示，不同地区消毒剂抗性基因检出率与分布差异显著，可能与环境相关[26]。

MLST 分型显示，猪源沙门菌优势 ST 型为 ST469，与 Teerarat 等[27]一致。系统发育树显示不同区域的菌株聚于同一分支，提示生鲜猪肉供应链存在交叉污染，可能与人员流动或物流流通相关。建议实施“生熟分区”“规范操作”“多模式消毒”和定期环境监测以控制沙门菌风险。

综上所述，成都市猪源沙门菌耐药现象普遍，MDR 趋势显著，耐药模式向 MDR 演化；成都猪源沙门菌对戊二醛耐受，对 CCM 相对敏感，且可有效破坏生物膜，建议生鲜市场在猪肉环节优先选用 CCM 代替戊二醛（醛类），并结合多模式消毒以减少耐药选择。鉴于优势型 ST469 的高流行性与跨区传播风险，需构建分级联防体系，进行耐药哨点的监测预警、针对性的精准干预以及必要的区域协同。

利益冲突声明　本研究不存在任何利益冲突

参考文献

[1] Prasertsee T, Chokesajjawatee N, Santiyanont P, et al. Quantification and rep-PCR characterization of Salmonella spp. in retail meats and hospital patients in Northern Thailand [J]. Zoonoses and Public

Health, 2019, 66(3): 301–309.

[2] Galán–Relaño Á, Valero Díaz A, Huerta Lorenzo B,et al. Salmonella and salmonellosis: an update on public health implications and control strategies[J]. ANIMALS, 2023, 13(23): 3666.

[3] Al–Ansari MM, Aljubali MM, Somily AM, et al. Isolation and molecular characterization of multidrug–resistant Salmonella enterica serovars [J]. Journal of Infection and Public Health, 2021, 14(12): 1767–1776.

[4] 冯敏,李晓辉,王瑶,等. 2010–2022 年成都市食源性疾病暴发事件流行病学特征分析[J]. 预防医学情报杂志,2024,40(7):755–760.
Feng M, Li XH, Wang Y, et al. Epidemiological characteristics of foodborne disease outbreaks in Chengdu City from 2010 to 2022[J]. Journal of Preventive Medicine Information, 2024, 40 (7): 755–760.(In Chinese)

[5] Vidal JL, Clavijo V, Castellanos LR, et al. Multidrug–resistant Salmonella spp. in fecal samples of pigs with suspected salmonellosis in Antioquia, Colombia, 2019–2021 [J]. Pan American Journal of Public Health, 2023, 47(1): e46.

[6] Yan XX, Tao RF, Zhou HY, et al. Sublethal sanitizers exposure differentially affects biofilm formation in three adapted Salmonella strains: A phenotypic–transcriptomic analysis of increased biofilm formed by ATCC 14028 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2025, 436(16): 111189.

[7] Zhang ZY, Zhang Q, Wang TZ, et al. Assessment of global health risk of antibiotic resistance genes [J]. Nature Communications, 2022, 13 (1): 1553.

[8] Rupali P. Drug–resistant enteric pathogens [J]. International Journal of Infectious Diseases, 2023, 130(Supplement 2): S37–S38.

[9] Hull DM, Harrell E, Harden L, et al. Multidrug resistance and virulence genes carried by Mobile genomic elements in Salmonella enterica isolated from live food animals, processed, and retail meat in North Carolina, 2018–2019 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 378(23): 109821.

[10] Zhang AN, Gaston JM, Dai CL, et al. An omics–based framework for assessing the health risk of antimicrobial resistance genes [J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 4765.

[11] Lu J, Guo JH. Disinfection spreads antimicrobial resistance[J]. Science, 2021, 371(6528): 474.

[12] 胡豫杰,文艺,马彦宁,等. 北京市批发市场鸡肉中沙门菌血清型和耐药特征研究[J]. 中国食品卫生杂志,2024,36(1):1–7.
Hu YJ, Wen Y, Ma YN, et al. Serotype distribution and antimicrobial resistance characteristics of Salmonella in chicken meat collected from wholesale markets in Beijing City [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(1): 1–7.(In Chinese)

[13] 石奔,赵薇,孙景昱,等. 全基因组测序分析 45 株沙门氏菌分子分型、耐药性与毒力携带情况[J]. 食品安全质量检测学报,2024,15(20):79–88.
Shi B, Zhao W, Sun JY, et al. Analysis of molecular subtyping, drug sensitivity and virulence factors of 45 strains of Salmonella by whole genome sequencing [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15 (20): 79–88.(In Chinese)

[14] 岳秀英,葛荣,汪开毓,等. 四川省猪源沙门氏菌及耐药性变迁调查[J]. 四川动物,2015,34(5):707–713.
Yue XY, Ge R, Wang KY, et al. Prevalence of antimicrobial resistance in salmonella from pig in Sichuan province [J]. Sichuan Journal of Zoology, 2015, 34(5): 707–713.(In Chinese)

[15] Boyce JM. Quaternary ammonium disinfectants and antiseptics: tolerance, resistance and potential impact on antibiotic resistance[J]. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 2023, 12(1): 32.

[16] 李帼宁,黄校樑,何杏欣,等. 沙门菌耐药性及其耐消毒剂基因的分析[J]. 热带医学杂志,2021,21(1):40–43.
Li GN, Huang JL, He XX, et al. Analysis of salmonella antibiotic resistance and detection of disinfectant resistance genes[J]. Journal of Tropical Medicine, 2021, 21(1): 40–43.(In Chinese)

[17] 杨明哲,董庆利,牛洪梅,等. 沙门氏菌对季铵盐类消毒剂的适应性耐受机制研究进展[J]. 工业微生物,2023,53(3):83–90.
Yang MZ, Dong QL, Niu HM, et al. Research progress on mechanisms of adaptive tolerance to quaternary ammonium disinfectants in salmonella [J]. Industrial Microbiology, 2023, 53(3): 83–90.(In Chinese)

[18] Zeng J, Hong YZ, Zhao NQ, et al. A broadly applicable, stress–mediated bacterial death pathway regulated by the phosphotransferase system (PTS) and the cAMP–Crp cascade [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(23): e2118566119.

[19] Masi M, Réfregiers M, Pos KM, et al. Mechanisms of envelope permeability and antibiotic influx and efflux in Gram–negative bacteria[J]. Nat Microbiol, 2017, 2(3): 17001.

[20] Paul D, Chakraborty R, Mandal SM. Biocides and health–care agents are more than just antibiotics: Inducing cross to co–resistance in microbes [J]. Ecotoxicology and Environment Safety, 2019, 174(8): 601–610.

[21] Ochman H, Lawrence JG, Groisman EA.Lateral gene transfer and the Nature of bacterial innovation[J]. Nature, 2000, 405(6784): 299–304.

[22] Guzmán–Soto I, McTiernan C, Gonzalez–Gomez M, et al. Mimicking biofilm formation and development: Recent progress in in vitro and in vivo biofilm models[J]. iScience, 2021, 24(5): 102443.

[23] Ciofu O, Moser C, Jensen PØ, et al. Tolerance and resistance of microbial biofilms [J]. Nature Reviews Microbiology, 2022, 20(10): 621–635.

[24] 崔润博,陈渺渺,洪守强,等. 消毒剂促进细菌抗菌药物耐受性/耐药性产生和传播机制研究进展 [J]. 中国抗生素杂志,2025,50(2):160–170.
Cui RB, Chen MM, Hong SQ, et al. Advancements on mechanisms of bacterial antibiotic tolerance/resistance promoted by disinfectants[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2025, 50(2): 160–170.(In Chinese)

[25] Zhao XN, Hu M, Zhang Q, et al. Characterization of integrons and antimicrobial resistance in Salmonella from broilers in Shandong, China[J]. Poultry Science, 2020, 99(12): 7046–7054.

[26] 杨盛智,吴国艳,龙梅,等. 鸡蛋生产链中沙门氏菌对抗生素及消毒剂的耐药性研究[J]. 遗传,2016,38(10):948–956.
Yang SZ, Wu GY, Long M, et al. Antibiotic and disinfectant resistance of Salmonella isolated from egg production chains [J]. Hereditas, 2016, 38(10): 948–956.(In Chinese)

[27] Prasertsee T, Prachantasena S, Tantitaveewattana P, et al. Assessing antimicrobial resistance profiles of Salmonella enterica in the pork production system [J]. Journal of Medical Microbiology, 2024, 73(9): 001894.

收稿日期:2025–07–20