

食源性沙门氏菌耐药性检测及相关质粒

杨保伟¹, 盛敏², 席美丽¹, 孟江洪¹

(西北农林科技大学¹ 食品科学与工程学院, ²生命科学学院, 杨凌 712100)

摘要:【目的】测定 390 株沙门氏菌的抗生素药敏性, 研究部分多重耐药株中质粒与其宿主耐药表型之间的关系及其在接合过程中对耐药性水平转移的影响。【方法】使用选择性培养基分离到沙门氏菌并通过 PCR 确认后, 按照琼脂稀释法测定分离株对供试抗生素的药敏性, 试剂盒提取代表性多重耐药株中的质粒, *Hind* 酶切, DPS 软件分析电泳后质粒图谱。通过接合试验研究质粒在抗生素抗性水平转移中的作用。【结果】沙门氏菌分离株对四环素耐药最为普遍(58.2%), 其次为链霉素(42.8%)、卡那霉素(39%)和氨基青霉素(38.2%), 对头孢西丁、氯霉素、庆大霉素、头孢曲松、阿莫西林甲氧苄啶、头孢替唑钠和萘啶酮酸的耐药率分别为 27.2%、26.9%、21%、19%、18.2%、17.9%、14.6% 和 12.3%。抗性质粒编码的相同或相似沙门氏菌耐药表型与其中所含的耐药质粒并不呈现出严格的对应关系。质粒携带的抗性基因可通过接合作用转移, 接合效率在 2.4×10^{-4} 到 5.6×10^{-1} 之间。【结论】食源性沙门氏菌对常用抗生素的多重耐药已经成为普遍现象, 抗性质粒的同源性与其宿主耐药表型无直接相关性, 其携带的耐药基因可通过接合作用在不同细菌种属之间高频传递。

关键词: 沙门氏菌; 多重耐药; 耐药质粒; 接合

中图分类号: Q933 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 08-1006-07

沙门氏菌耐药性的不断增强已经成为世界范围的公共健康和卫生问题^[1]。监测数据表明沙门氏菌抗生素抗性呈现明显的上升趋势, 一些国家已经从 20 世纪 90 年代初的 20%~30% 提高到本世纪初的 70%^[2]。在我国, 20 世纪 60 年代分离的沙门氏菌尚无多重耐药 (Multidrug Resistance, MDR) 现象, 对四环素的耐药率只有 20%, 到了 90 年代对四环素的耐药率则高达 100%, 且随着时间的推移, 其耐药率将大幅度上升, 耐药谱迅速增宽, 成为导致食源性疾病的主体。因此, 病原菌耐药性问题已成为全球关注的焦点^[3, 4]。

除基因突变外, 基因水平转移, 即已具有抗性的可移动基因元件如基因盒、转座子、质粒、噬菌体和整合子等在不同病原菌之间转移已成为导致其耐药性提高的主要因素^[5, 6]。作为宿主染色体外的可复制

DNA, 质粒携带的各种决定簇赋予了宿主相应的性质, 其中 R 质粒所携带的各种抗生素抗性基因通过接合、转化和转导等方式在不同细菌之间互相传递, 加速了细菌新耐药性的出现和耐药强度的增加^[7]。本文旨在研究分离的食源性沙门氏菌由质粒编码的耐药表型、部分抗性菌株所含质粒的同源性及其在细菌耐药性产生过程中的作用, 以探讨病原菌的耐药机制, 为临床治疗提供借鉴。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株: 390 株沙门氏菌分别分离自采集于中国和美国马里兰州等地的牛肉、鸡肉、猪肉、火鸡和沙门氏菌病患者。大肠杆菌 ATCC25922、粪肠球菌 ATCC29212 为马里兰大学营养与食品科学系微生物

基金项目: 西北农林科技大学留学回国人员基金; 长江学者讲座教授奖励计划项目

作者简介: 杨保伟(1974-), 男, 陕西商洛人, 在读博士, 主要从事食源性致病菌快速检测和多重耐药机理研究。Tel: +86-29-87092486;

E-mail: ybwsheng@nwsuaf.edu.cn

收稿日期: 2008-01-16; 修回日期: 2008-05-04

食品安全研究室保存。

1.1.2 主要试剂: MH (Mueller-Hinton Agar) 琼脂, MH 肉汤, LB (Luria-Bertani) 琼脂, LB 肉汤, BA (Blood-Agar) 琼脂, 麦康凯琼脂均购自美国 DIFCO 公司; 13 种抗生素包括氨苄青霉素、氯霉素、链霉素、四环素、庆大霉素、卡那霉素、阿莫西林-克拉维酸、萘啶酮酸、环丙沙星、甲氧苄氨嘧啶、磺胺甲异恶唑、头孢替唑钠盐、头孢曲松等均购自 Sigma 公司; 质粒提取试剂盒(QIAGEN Plasmid Mini Kit)购自 QIAGEN 公司; 限制性内切酶 *Hind*、 λ -phage *Hind* 酶切 DNA 标样、Taq DNA 聚合酶、dNTP、100 bp Ladder 均购自 NEB 公司; 引物由 Invitrogen 公司合成。

1.2 药敏性测定^[8]

采用琼脂稀释法测定 390 株供试沙门氏菌对 13 种抗生素的最小抑菌浓度 (Minimum Inhibitory Concentrations, MICs), 参考美国临床实验室标准化委员会 (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) 标准判读结果并确定耐药表型。药敏测定中使用大肠杆菌 ATCC25922 和粪肠球菌 ATCC29212 作为质控菌株。

1.3 多重耐药 (MDR) 沙门氏菌质粒的提取、酶切及同源性分析

质粒提取按照 QIAGEN 公司小量质粒提取试剂盒产品说明进行。质粒使用核酸蛋白测定仪 (Nanodrop ND-1000) 测定浓度后, 用无菌去离子水调整其终浓度统一为 25 ng/ μ L, -20°C 保存, 备用。质粒酶切条件为: *Hind* 10 U/ μ L, NEB buffer 1 \times / μ L, BSA 0.1 mg/mL, 37 $^{\circ}\text{C}$ 2 h。酶切完成后灭活酶条件为 65 $^{\circ}\text{C}$ 20 min。酶切质粒电泳条件为: 琼脂糖 0.8%, 电压 60 V, 电泳时间 90 min, λ -phage *Hind*III 酶切标样为标准 Marker。电泳结果使用 DPS 数据处理系统进行聚类分析, 处理中以 Ochiai 相似系数为聚类距离, 以类平均法为聚类方法。

1.4 质粒接合试验^[9]

6 株涵盖 3 个血清型的 MDR 沙门氏菌作为供体菌, 两株受体菌分别为大肠杆菌 EC1003 和沙门氏菌 17929N。试验方法参考膜过滤接合法 (Filter Mating Method) 进行。即分别将 25 μ L 供体菌和受体菌的 LB 培养液接种于 25 mL 含有链霉素 (100 μ g/mL) 和萘啶酮酸 (100 μ g/mL) 的 LB 肉汤, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 4~5 h, 当其 OD_{600} 达到 0.6 时, 分别取 0.5 mL 供体菌和受体

菌悬液加入到 4 mL LB 肉汤中, 再将混合物用 ϕ 0.45 μ m 的无菌滤膜过滤, 带菌滤膜置一 BA 平板表面, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 3~4 h 后, 用 1 mL LB 肉汤重悬菌体。细菌混合物适当稀释后, 分别取 50 μ L 稀释液涂布于同时含有链霉素 (100 μ g/mL) 和萘啶酮酸 (100 μ g/mL) 的 BA 平板, 同时分别取等量受体菌和供体菌悬液同法处理, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。挑取培养后平板上单菌落并转移至麦康凯平板, 然后确定接合子对相应抗生素的药敏性、抗性基因的转移及接合效率。

选用两对引物 *bla*_{CMY-2}(F : 5'-TGG CCGTTGCCG-TTATCTAC-3', R : 5'-CCCGTT TTATGC ACCCATGA-3') 和 *bla*_{TEM-1}(F : 5'-CAGCGGTAAGATCCTTGAGA-3', R : 5'-ACTCCCCGTCGTGTAGATAA-3') 确定 β -内酰胺类抗生素耐药基因在接合过程的转移情况。PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 10 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 56 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。

2 结果

2.1 390 株供试沙门氏菌对常用抗生素的耐药特性

药敏试验结果表明, 390 株沙门氏菌对四环素 (58.2%) 的耐药性最为普遍, 其次为链霉素 (42.8%)、卡那霉素 (39.0%) 和氨苄青霉素 (38.2%), 对氯霉素、头孢西丁-磺胺甲恶唑、庆大霉素、头孢曲松、甲氧苄啶、阿莫西林、头孢替唑钠和萘啶酮酸的抗性较低, 分别为 26.9%、27.2%、21.0%、19.0%、17.9%、18.2%、14.6% 和 12.3%。对环丙沙星的耐性最低, 为 1.3% (图 1)。分离株中, 源自火鸡、鸡肉和沙门氏菌病患者中的沙门氏菌抗生素抗性最强, 均为多重耐药株, 其比例分别为 62.4%、62.4% 和 47.8% (数据未列出)。

值得关注的是, 部分沙门氏菌分离株分别对四环素、链霉素、卡那霉素、氨苄青霉素、氯霉素、庆大霉素、甲氧苄啶、头孢曲松等抗生素中的一种或多种同时产生了抗药性 (表 1), 而这些抗生素抗性的产生多数为质粒或整合子或转座子或基因岛等可移动遗传单元所携带的相关基因编码。

2.2 多重耐药沙门氏菌质粒同源性 & 宿主耐药表型

参考 390 株沙门氏菌分离株的耐药表型, 挑选出的耐药谱相似且其耐药性可能为质粒编码的 32 株 MDR 沙门氏菌见表 1。MDR 沙门氏菌中质粒限制性内切酶 (*Hind*) 酶切图谱聚类分析结果见图 2。

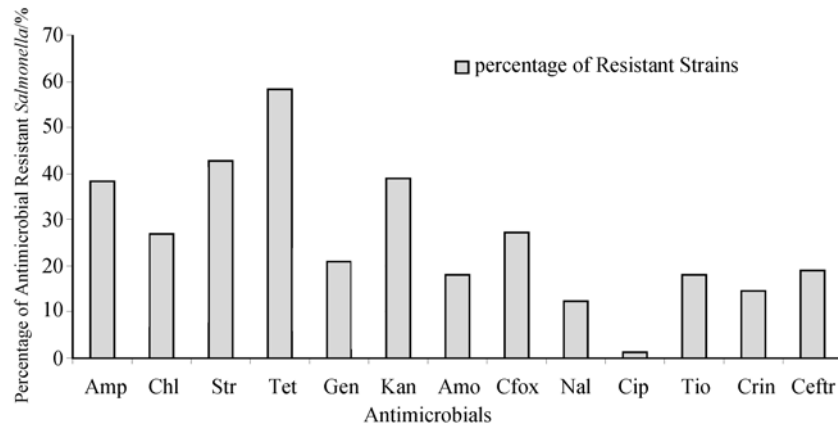


图 1 沙门氏菌分离株耐药特性

Fig. 1 Characterization of Antimicrobial Resistant *Salmonella* in All Isolates(n=390). Amp: ampicillin; Chl: chloramphenicol; Str: streptomycin; Tet: tetracycline; Gen: gentamicin; Kan: kanamycin; Amo: amoxicillin-clavulanic; Cfox: cefoxitin; Nal: nalidixic acid; Cip: ciprofloxacin; Tri: trimethoprim-sulfamethoxazole; Cef: ceftiofur; Ceftr: ceftriaxone.

表 1 32 株沙门氏菌质粒可能编码的耐药表型

Table 1 Antibiotic resistance phenotype encoded by plasmid probably in 32 *Salmonella* isolates

Strain	Serotype	Source	Antibiotic resistance profile
N633	Heidelberg	chicken	Amp-Cfox-Chl-Kan-Str-Tet
N416	Heidelberg	sick man	Amp-Cfox-Chl-Gen-Str-Tet
24352	Heidelberg	turkey	Amp-Cfox-Chl-Str-Tet-Tri
35748	Heidelberg	pork	Amp-Chl-Str-Tet
N635	Newport	beef	Amp-Cfox-Chl-Str-Tet-Tri
29461	Newport	turkey	Amp-Cfox-Chl-Str-Tet
22697	Newport	turkey	Amp-Cfox-Chl-Str-Tet-Tri
22404	Newport	beef	Amp-Cfox-Chl-Str-Tet
21544	Newport	chicken	Amp-Cfox-Chl-Str-Tet
N1543	Newport	beef	Amp-Cfox-Chl-Str-Tet
30034	Typhimurium	turkey	Amp-Chl-Gen-Str-Tet-Tri
ST4495	Typhimurium	turkey	Amp-Chl-Gen-Str-Tet-Tri
ST7864	Typhimurium	turkey	Amp-Cfox-Chl-Gen-Str-Tet-Tri
ST7556	Typhimurium	turkey	Amp-Cfox-Chl-Gen-Str-Tet-Tri
34493	Typhimurium	chicken	Amp-Cfox-Chl-Gen-Tet-Tri
RNDC	Enteritidis	chicken	Amp-Str-Kan-Cef-Tet-Tri
8B	Enteritidis	bearnaise	Amp-Str-Kan-Cef-Tet-Tri
CHs5	Enteritidis	beef	Amp-Str-Kan-Cef-Tet-Tri
CHs15	Enteritidis	chicken	Amp-Str-Kan-Cef-Tet-Tri
30151	Heidelberg	pork	Amp-Cfox-Kan-Str-Tet
35161	Heidelberg	pork	Amp-Cfox-Kan-Str-Tet
24335	Heidelberg	pork	Amp-Kan-Str-Tet
N418	Heidelberg	turkey	Amp-Cfox-Chl-Gen-Kan-Str-Tet
28322	Heidelberg	pork	Amp-Cfox-Chl-Gen-Kan-Str-Tet-Tri
28325	Heidelberg	pork	Amp-Cfox-Chl-Gen-Kan-Str-Tet-Tri
20775	Newport	beef	Amp-Cfox-Chl-Gen-Kan-Str-Tet-Tri
24374	Newport	beef	Amp-Cfox-Chl-Gen-Kan-Str-Tet-Tri
21537	Newport	chicken	Amp-Cfox-Chl-Gen-Kan-Str-Tet
35172	Newport	beef	Amp-Cfox-Chl-Kan-Str-Tet
ST7475	Typhimurium	turkey	Amp-Cfox-Cep-Chl-Gen-Str-Kan-Tet-Tri
ST7868	Typhimurium	turkey	Amp-Cfox-Cep-Chl-Gen-Kan-Str-Tet-Tri
35443	Typhimurium	chicken	Amp-Cfox-Chl-Gen-Kan-Str-Tet-Tri

Amp: ampicillin; Chl: chloramphenicol; Str: streptomycin; Tet: tetracycline; Gen: gentamicin; Kan: kanamycin; Cfox: cefoxitin; Tri: trimethoprim-sulfamethoxazole; Cef: ceftiofur; Ceftr: ceftriaxone.

32 株多重耐药沙门氏菌涵盖 4 个血清型, 分别为 *S.heidelberg*、*S.newport*、*S.enteritidis* 和 *S.typhimurium*, 其中均有质粒检出, 检出率为 100%。

从图 2 可知, 检出的质粒主要有 3 大类。第一大类中宿主菌分别为 :N633、24352、35748、22404、21544、N1543、ST7556、ST4495、30034、34493、N416、29461、22697 和 ST7864, 共同的耐药表型为 Amp-Chl-Str-Tet (表 1), 与 *Salmonella typhimurium* Defined Type 104 (DT104) 耐药表型 (Amp-Chl-Str-Tet-Sul) 非常相似。此外, 该类中部分非伤寒沙门氏菌株 (24352, N635 和 22697) 也具有与 DT104 相同的耐药表型。虽然菌株 24352 和 35748 的来源与耐药谱各不相同, 但却具有完全相同的质粒图谱 (同源性 100%), 表明其各自所含质粒可能相同。

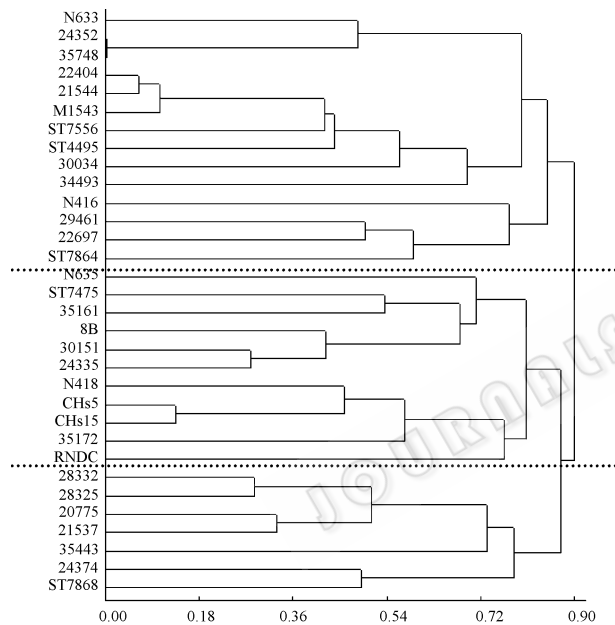


图 2 32 株 MDR 沙门氏菌质粒酶切图谱聚类分析
Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis of plasmid restriction enzyme digested profiles of 32 MDR *Salmonella*.

第二大类菌株分别为 N635、ST7475、35161、8B、30151、24335、N418、CHs5、CHs15、35172 和 RNDC, 共同耐药表型为 Amp-Kan-Str-Tet (表 1)。虽然该类菌株血清型主要为 *S.enteritidis* 和 *S.heidelberg*, 但其耐药表型却表现出与伤寒沙门氏菌 DT193 (Amp-Kan-Str-Tet-Sul) 相同或相似的特点。与第一、第二大类质粒所不同的是, 第三大类中宿主沙门氏菌的共同耐药谱为 Amp-Chl-Gen-Kan-Str-Tet, 即兼有 DT104 和 DT193 型的抗药性。

综合以上分析可知, 3 大类质粒分别赋予了各自

宿主沙门氏菌对某些抗生素极为相似的耐药表型, 且在每一类内大部分质粒的同源性相对较高。然而, 就不同质粒而言, 虽然其宿主的耐药性表型整体上比较相似, 但质粒本身的同源性却比较低 (<15%, 图 2)。这就说明宿主沙门氏菌对某种或某几种抗生素的耐药表型与其中所含的耐药质粒并不呈现出某种严格的对应关系。

2.3 质粒接合实验

作为供体菌的 6 株多重耐药沙门氏菌分别将其质粒通过接合作用转移到受体菌 EC1003 (*E.coli*) 和 17929N (*S.enteritidis*) 的接合效率分别在 2.4×10^{-4} 到 5.6×10^{-1} 之间。质粒在不同种属之间转移时除供体菌 CHs5 质粒转移到 EC1003 时效率为 3.8×10^{-2} , 转移到 17929N 时效率为 2.4×10^{-4} 相差较大外, 其余接合效率相当。接合后绝大部分接合子均获得了供体菌质粒编码的相应抗性表型, 如氨苄西林、氯霉素、四环素、卡那霉素和链霉素抗性等 (表 2)。与 CHs5 相比, 菌株 N633、8B 和 RNDC 分别接合受体菌时, 其质粒的转移效率相当高。使用 PCR 在 CHs5/1003、CHs5/17929N、34530/1003 和 34530/17929N 等接合子中均检出了与 β -内酰胺类抗生素耐药相关的基因 *bla_{CMY-2}* 和 *bla_{TEM-1}*, 表明这些存在于质粒上的耐药基因在接合过程均发生了转移。

3 讨论

研究中供试沙门氏菌株除少部分分离自中国外, 主要分离于美国马里兰州等地采集的牛肉、火鸡、猪肉和沙门氏菌病患者。药敏性试验结果表明, 这些沙门氏菌普遍对氨苄青霉素、四环素、头孢西丁、卡那霉素、庆大霉素、链霉素、氯霉素、头孢曲松、萘啶酮酸和环丙沙星等在临床上和食品性动物生产中常用的抗生素产生了抗性, 与王晓泉等^[10]、Shenghui C 等^[11]、严纪文等^[12]对食源性或动物源性沙门氏菌的药敏研究结果比较一致。与这些研究结果所不同的是, 本研究中的沙门氏菌分离株对萘啶酮酸的耐药率相对比较高, 达到了 12.3%, 部分菌株对环丙沙星也产生了耐药性(1.3%)。分离株中, 源自火鸡和鸡肉中的沙门氏菌抗生素抗性最强, 耐药率平均为 62.4% (具体数据未列出), 这一结果明显高于王晓泉等^[10]对我国零售肉中沙门氏菌耐药性研究时所得平均耐药率 (28.5%)。这可能与美国食品性动物生产主要为规模化, 而我国的生产方式比较分散及食品性动物生产中的用药方式有关。

众所周知, 质粒在宿主菌获得某些耐药表型中起

表 2 接合试验中供体菌、受体菌和接合子的药敏结果

Table 2 Antimicrobials susceptibility profiles of donors, recipients and transconjugatants in conjugation experiment*

Strains	Designation	(MIC)/(μg/mL)* **															Conj. Fre.	Resist. gene(s)
		Cefo	Ami	Chl	Tet	Ceftr	Amo/cia	Cip	Gen	Nal	Cefti	Sul	Tri/sul	Kan	Amp	Str		
<i>E.coli</i> (EC1003)	Recipient	4	2	8	<4	<0.25	4/2	>4	0.5	>32	0.5	<16	0.12/2.38	<8	2	<32		
N633 ^a	Donor	>32	2	>32	>32	64	>32/16	0.12	>16	4	>8	>256	>4/76	64	>32	>64		
N633/1003	Ttransconjugant.	>32	2	>32	>32	8	32/16	>4	<0.5	>32	8	>256	0.5/9.5	<8	>32	>64	2.8×10 ⁻¹	
CHs5 ^b	Donor	>32	1	>32	>32	32	>32/16	0.12	>16	4	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64		<i>bla</i> _{CMY-2}
CHs5/1003	Ttransconjugant	>32	2	>32	>32	8	32/16	>4	<0.5	>32	8	>256	>4/76	<8	>32	>64	3.8×10 ⁻²	<i>bla</i> _{TEM-1}
N418 ^a	Donor	>32	2	>32	>32	32	>32/16	<0.015	>16	4	>8	>256	<0.12/2.38	>64	>32	>64		
N418/1003	Ttransconjugant	>32	1	>32	>32	16	32/16	>4	>16	>32	>8	>256	0.5/9.5	>64	>32	>64	3.2×10 ⁻²	
8B ^b	Donor	>32	1	>32	>32	16	>32/16	0.12	>16	4	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64		
8B/1003	Ttransconjugant	>32	2	>32	>32	8	32/16	>4	>16	>32	>8	>256	0.25/4.74	>64	>32	>64	5.6×10 ⁻¹	
RNDC ^b	Donor	>32	1	>32	>32	64	>32/16	0.25	>16	4	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64		
RNDC/1003	Ttransconjugant	>32	2	>32	32	16	32/16	>4	>16	>32	>8	>256	0.25/4.75	>64	>32	>64	4.8×10 ⁻¹	
34530 ^c	Donor	>32	1	>32	>32	64	>32/16	0.015	16	2	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64		<i>bla</i> _{CMY-2}
34530/1003	Ttransconjugant	>32	2	>32	>32	16	32/16	>4	16	>32	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64	3.3×10 ⁻²	<i>bla</i> _{TEM-1}
SE(17929N)^b	Recipient	4	1	8	4	0.25	1/0.5	0.25	0.25	>32	1	64	0.12/2.38	<8	<4	<32		
N633	Donor	>32	2	>32	>32	64	>32/16	0.12	>16	4	>8	>256	>4/76	64	>32	>64		
N633/17929N	Ttransconjugant	32	1	>32	>32	8	32/16	0.25	<0.25	>32	8	>256	0.25/4.75	<8	>32	>64	1.5×10 ⁻¹	
CHs5	Donor	>32	1	>32	>32	32	>32/16	0.12	>16	4	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64		<i>bla</i> _{CMY-2}
CHs5/17929N	Ttransconjugant	>32	2	>32	32	8	32/16	>4	16	>32	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64	2.4×10 ⁻⁴	<i>bla</i> _{TEM-1}
N418	Donor	>32	2	>32	>32	32	>32/16	<0.015	>16	4	>8	>256	<0.12/2.38	>64	>32	>64		
N418/17929N	Ttransconjugant	>32	1	>32	>32	16	>32/16	>4	>16	>32	>8	>256	0.25/4.75	>64	>32	>64	1.6×10 ⁻²	
8B	Donor	>32	1	>32	>32	16	>32/16	0.12	>16	4	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64		
8B/17929N	Ttransconjugant	>32	1	>32	>32	16	32/16	>4	>16	>32	>8	>256	0.5/9.5	>64	>32	>64	7.3×10 ⁻²	
RNDC	Donor	>32	1	>32	>32	64	>32/16	0.25	>16	4	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64		
RNDC/17929N	Ttransconjugant	4	2	8	<4	<0.25	32/16	>4	<0.25	>32	1	>256	0.12/2.38	>64	>32	>64	7.9×10 ⁻²	
34530	Donor	>32	1	>32	>32	64	>32/16	0.015	16	2	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64		<i>bla</i> _{CMY-2}
34530/17929N	Ttransconjugant	>32	1	>32	>32	16	32/16	>4	>16	>32	>8	>256	>4/76	>64	>32	>64	1.7×10 ⁻²	<i>bla</i> _{TEM-1}

*. Ami: amikacin; Amp: ampicillin; Cefo: ceftiofur; Chl: chloramphenicol; Tet: tetracycline; ceftr: Ceftriaxone; Amo/Cla: Amoxicillin/clavulanic acid; Cip: ciprofloxacin; Gen: gentamicin; Nal: nalidixic acid; Cefti: Ceftiofur; Sul: sulfamethoxazole; Tri/Sul: trimethoprim/sulfamethoxazole; Kan: kanamycin; Str: streptomycin.

.: MIC (μg/mL). **a: *Salmonella* Heidelberg, **b**: *Salmonella* Enteritidis, **c**: *Salmonella* Newport.

着相当重要的作用。本研究表明宿主沙门氏菌所表现的某些抗生素抗性与其携带的质粒之间并不存在某种绝对的对对应关系。含有抗性质粒的 MDR 细菌,其质粒可通过接合作用将自身携带的耐药基因转移到另一细胞,使受体菌获得相应抗性。然而,本研究接合试验也同时表明质粒并不能将宿主菌中可能由质粒编码的抗性完整转移到另一微生物细胞。如当 RNDC 作为供体菌时,并未将其具有的头孢替喹钠、头孢曲松、氯霉素、四环素、庆大霉素和甲氧苄啶-磺胺异恶唑等抗性传递给受体菌 17929N。同样,当 N633 和 CHs5 作为供体菌时,也未能将庆大霉素和卡那霉素抗性转移给受体菌 *E.coli*1003。这就表明除质粒外,其他一些移动基因元件如整合子也可能在耐药性传递中也起着一定的作用。上述耐药基因在整合子上的存在已经被相关研究所证实^[1, 13, 14]。

细菌自发突变获得耐药性的几率一般在 10^{-8} 左右,因此通过此途径获得多重耐药的几率(每个突变几率的乘积)就更小且不稳定^[15]。Sheng 等^[16]、王晓泉等^[10]和 Shyamapada 等^[17]的研究结果显示质粒通过接合作用传递相应抗生素抗性时频率一般在 $10^{-8} \sim 10^{-4}$ 之间,而本研究不但进一步证实了质粒可在种间和种内传递耐药性外,所得接合频率均高于现有报道,在 $10^{-4} \sim 10^{-1}$ 之间。这可能与菌株本身特性及研究时采用的培养基差异而致。但是,这些相似的研究均表明质粒介导的耐药性在细菌抗生素抗性的产生和播散中以较高的频率传递,并起着主导作用。

参 考 文 献

[1] White DG, Shaohua Z, Robert S, *et al.* The isolation of antimicrobial-resistant *Salmonella* from retail ground meats. *N Engl J Med*, 2001, 345(16): 1147-1154.

[2] LinHui S, ChengHsun C, Chishih C, *et al.* Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella* serotypes: A global challenge. *Clin Infect Dis*, 2004, 39: 546-551.

[3] 朱力军. 动物大肠杆菌的耐药变化趋势. 中国兽药杂志 (*Chinese Journal of Veterinary Drug*), 2001, 35(2): 16-18.

[4] 周贵民, 张军民. 我国细菌耐药性监测应注意的几个问题. 中华检验医学杂志 (*Chin J Lab Med*), 2004, 27(10): 5-6.

[5] Fernando C, Julian D. Horizontal gene transfer and the origin of spe-

cies: lessons from bacteria. *Trends Microbiol*, 2000, 133: 128-133.

[6] Blazquez J. Hypermutation as a factor contributing to the acquisition of antimicrobial resistance. *Clin Infect Dis*, 2003, 37: 1201-1209.

[7] 蒋培余, 潘劲草. 细菌遗传元件水平转移与抗生素抗性研究进展. 微生物学通报 (*microbiology*), 2006, 33(4): 167-171.

[8] NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, approved standard. 2nd. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.

[9] Clewell DB, White BA, Gawron-Burke. Sex pheromones and plasmid transfer in *Streptococcus faecalis*: a pheromone, Cam373, which is also excreted by *Staphylococcus aureus*. *Basic Life Sci.*, 1985, 30: 489-503.

[10] 王晓泉, 焦新安, 刘晓文, 等. 江苏部分地区食源性和人源性沙门氏菌的多重耐药性研究. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2007, 47(2): 221-227.

[11] Shenghui C, Beilei G, Jie Z, *et al.* Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter spp.* and *Salmonella* Serovars in Organic Chickens from Maryland Retail Stores. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(7): 4108-4111.

[12] 严纪文, 王海燕, 赖蔚琴, 等. 广东省几种重要食源性致病菌的耐药状况及耐药谱研究. 中国卫生检验杂志 (*Chinese Journal of Health Laboratory Technology*), 2007, 17(11): 2030-2032.

[13] Shaohua Z, Qaiyumi S, Friedman S, *et al.* Characterization of *Salmonella enterica* serotype Newport isolated from humans and food animals. *J Clin Microbiol*, 2003, 41(12): 5366-5371.

[14] Angela M, van HT, Ingrid MJ, *et al.* Detection of antibiotic resistance genes in different *Salmonella* serovars by oligonucleotide microarray analysis. *J Microbiol Methods*, 2005, 62: 13-23.

[15] Ian C, O'Neill J A, Keith, M. The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resist Updat*, 2003, 6: 137-145.

[16] Sheng C, Shaohua Z, White DG, *et al.* Characterization of multiple-antimicrobial-resistance *Salmonella* serovars isolated from retail meats. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 1-7.

[17] Shyamapada M, Manisha DM, Nishith KP. R-Factor in *Salmonella enteria* serovar Typhi: transfer to and acquisition from *Escherichia coli*. *Jpn J Infect Dis*, 2003(56): 65-67.

Identification of antimicrobial susceptibility of foodborne *Salmonella* and related plasmid

Baowei Yang^{1*}, Min Sheng², Meili Xi¹, Jianghong Meng¹

(¹College of Food Science and Engineering, ²College of Life Science, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China)

Abstract: [Objective] We tested the antimicrobial susceptibility of 390 *Salmonella* isolates. We also studied the relationship between plasmids in some multidrug resistant *Salmonella* isolates and the antibiotic resistance profile of their hosts, as well as conjugation test of some multidrug resistant *Salmonellas*. [Methods] *Salmonella* strains were isolated by using selective cultures, putative *Salmonella* was confirmed by PCR. Antimicrobial susceptibility was tested according to the National Committee for Clinical Laboratory Standards. Plasmid of some representative multidrug resistant strains was isolated by using QIAGEN Plasmid Mini Kit and digested with *Hind* III. The plasmid profiles were acquired by gel electrophoresis and analyzed by DPS. The conjugation test was done to illustrate the function of plasmid during the antibiotic resistance transfer. [Results] Of the *Salmonella* isolates, 58.2% were resistant to tetracycline, followed by resistance to streptomycin (42.8%), kanamycin (39%), ampicillin (38.2%), cefoxitin (27.2%), chloramphenicol (26.9%), gentamicin (21%), ceftriaxone (19%), amoxicillin-clavulanic (18.2%), trimethoprim-sulfamethoxazole (17.9%), ceftiofur (14.6%) and nalidixic acid (12.3%). There was no strict corresponding relationship between antibiotic resistance profile of the host *Salmonella* and its plasmid profile. The conjugation frequency of the plasmid was from 2.4×10^{-4} to 5.6×10^{-1} . [Conclusion] Antimicrobial resistance is common in foodborne *Salmonella*, direct relativity does not exist between the homology of plasmids and their hosts' antibiotic resistance phenotype, antibiotic resistant genes in the plasmid can transfer from donor to the recipient in interspecies and intraspecies with high frequency accompanying conjugation.

Keywords: *Salmonella* isolates; Multidrug resistance; antibiotic resistant plasmid; conjugation

Supported by the Funding of Project for Chinese Overseas Returnees of Northwest Agriculture and Forestry University and the Program for Changjiang Scholars

*Corresponding author. Tel: +86-29-87092486; E-mail: ybwsheng@nwsuaf.edu.cn

Received: 16 January 2008/ Revised: 4 May 2008

科技写作中应正确使用英语缩写语

科技文章的发表是科学研究的重要组成部分。科研结果如果没有发表,就意味着科研工作没有完成。而科技文章发表的目的,就是要把科研中的新发现、或者在原有基础上的提高传播给同行、乃至跨领域以及广大普通的读者。因此,科技写作在道义上来讲,作者应该对读者负责,即:要准确、简洁、清晰地向读者传达科学研究的目的、方法、结果、结论和意义。

在科技论文的写作中,初学者经常会滥用英文缩写语。有些缩写语出现在正文、摘要、甚至题目中,让读者丈二和尚摸不着头脑。这种滥用缩写语的做法危害之深,让一个辛辛苦苦的实验结果失去了传播知识的价值和机会!因为除了作者自己,没有人能够看懂作者要传播什么信息。其实,许多年后,这些作者自己再来看自己文章中这些莫名其妙的缩写语时,他一定也会后悔莫及。借此机会,根据自己学习的体会和国际上科技文章缩写语使用的惯例,和大家探讨正确使用英语缩写语的方法。

原则上,不鼓励使用缩写语。(1) 题目:根据常规,题目中一律不用缩写语。因为题目是一个非常重要的检索工具,如果作者在题目中使用缩写语,会造成人们通过检索系统找不到这篇文章,因此也就失去了传播科学技术的作用和意义。找不到文章,就更谈不上文章被人引用的次数了。(2) 摘要:同样,摘要往往是独立的,一般和正文分开被检索利用,因此也不用缩写语。对于摘要中出现的真正十分冗长的名词或短语,如果出现频率较高,例如大于6次,则可以考虑使用缩写。但是在第一次出现这个缩写语时,要把缩写语放在括号内并紧跟在缩写语所代表的名词或短语(全拼)之后,即:名词或短语全拼(缩写语),而此后就不再使用该缩写语的全名。(3) 正文:正文中缩写语的使用规则和摘要中万不得已要使用的情况一样。我这里强调万不得已就是要强调尽量不用缩写语。

有一些例外的缩写语,包括度量单位如毫升(mL)、公斤(kg)、分钟(min)等,则不必全拼全名给予解释。其实即使记不住那么多的惯例和规则,始终记住你文章的可读性和信息传播的目的,你就会负责地正确使用科技写作的英语缩写语。期待《微生物学报》能够迅速成为一个正确使用英语缩写语的净土。

注:在中文稿件中,对于正文中第一次出现的西文缩写语,应附上完整的西文名,以避免由于翻译上的不统一而造成误解。应写为:中文名(西文全名,缩写)。

(朱阳 供稿)