

动物源食品中沙门氏菌的分离及危害特征分析

葛庆书, 严凯平, 李梦宇, 吴伟超, 解苗苗, 李港回, 卫静雯, 周鑫琰, 叶应旺*

(合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽合肥 230601)

摘要: 沙门氏菌作为一种重要的食源性病原菌, 在全世界范围内对人类健康造成巨大危害。为了解不同动物源食品中分离的沙门氏菌的危害特征, 实验采集了生牛乳、生鲜肠类、鸡蛋和猪肉四种常见食品, 从中分离鉴定出 21 株沙门氏菌菌株并展开毒力基因、运动性等表型分析。实验结果发现, 所有菌株均携带 *sseL*、*mgtC*、*invA*、*stn* 毒力基因, 其中 8 株分离菌株的运动能力显著。在对抗生素敏感性上, β -内酰胺类以及喹诺酮类抗生素耐药率均为 71.43%, 碳青霉烯类抗生素则无耐药现象。生物膜及表面理化特性测定发现, 55.56% 的菌株能够产生较强的生物膜, 表面疏水性和自聚集能力范围分别在 15.79%~76.85% 和 21.38%~58.89%。结合环境胁迫试验结果可知, 不同食品来源沙门氏菌的环境耐受无明显规律性。综上, 不同动物源食品样本分离的沙门氏菌综合危害性显著, 污染防控风险突出。本研究揭示了不同食品来源菌株的生物学特征, 为阐明食源性沙门氏菌致病与生存机制、完善食品链沙门氏菌污染防控体系提供了理论支撑。

关键词: 沙门氏菌; 毒力基因; 耐药性; 生物膜; 环境耐受性

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.8.0998

Isolation and Hazard Characterization of *Salmonella* from Animal-Derived Foods

GE Qingshu, YAN Kaiping, LI Mengyu, WU Weichao, XIE Miaomiao, LI Ganghui, WEI Jingwen, ZHOU Xinyan, YE Yingwang*

(College of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: *Salmonella*, a major foodborne pathogen, poses a severe threat to human health worldwide. To characterize the hazardous properties of *Salmonella* strains isolated from diverse animal-derived food commodities, a total of 21 *Salmonella* isolates were recovered and identified from four common food matrices, namely raw milk, fresh sausages, eggs and pork, followed by phenotypic analyses including virulence gene profiles and motility assays. The results showed that all isolates harbored virulence genes *sseL*, *mgtC*, *invA* and *stn*, among which eight strains exhibited remarkable motility. Antimicrobial susceptibility testing revealed that the isolates presented a 71.43% resistance rate to both β -lactams and quinolones, whereas no resistance to carbapenems was detected. Assays for biofilm formation and surface physicochemical properties demonstrated that 55.56% of the strains could form robust biofilms, with cell surface hydrophobicity and auto-aggregation capacity ranging from 15.79% to 76.85% and 21.38% to 58.89%, respectively. Additionally, stress tolerance assays indicated no consistent pattern in environmental resistance among *Salmonella* isolates derived from different food sources. Collectively, *Salmonella* strains isolated from various food matrices exhibit remarkable comprehensive hazards, leading to prominent risks of food contamination. This study characterizes the biological profiles of *Salmonella* strains from diverse animal-derived food commodities, providing theoretical evidence for elucidating the pathogenicity and survival mechanisms of foodborne *Salmonella* as well as improving control strategies against *Salmonella* contamination along the food chain.

Key words: *Salmonella*; virulence genes; antimicrobial resistance; biofilm; environmental tolerance

沙门氏菌 (*Salmonella*) 在自然界中是分布广泛的人畜共患病原菌, 可在肉类、鲜蛋、乳制品等多种食品中定植, 并通过食物链传播, 增加食源性疾病的风险^[1]。据估计, 全球每年由非伤寒沙门氏菌 (NTS) 引起的胃肠炎

收稿日期: 2026-07-04; 修回日期: 2026-08-12; 接受日期: 2026-08-12

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFF1100700); 广东省重点领域研发计划 (2022B1111040002); 安徽省食品质量与安全专业教学创新团队 (2024cxt014)

作者简介: 葛庆书 (2002-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 沙门氏菌的检测与控制, E-mail: 1874157488@qq.com

通讯作者: 叶应旺 (1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物安全检测与控制, E-mail: yeyingwang04@126.com

病例约为9 500 万例, 导致约15 万人死亡^[2]。在国内由食品污染导致的细菌感染事件中, 沙门氏菌的致病率占比可达70%~80%。据统计约90%发病根源为误食携带沙门氏菌的肉品、蛋类、生鲜乳品等动物源性食物^[3]。这主要是由于食品中营养充足、水分含量高、pH 环境适宜, 极易遭受沙门氏菌等致病菌污染。沙门氏菌经污染食品侵入人体后, 首先面临的是胃酸屏障, 该菌可抵抗胃液的杀菌作用, 顺利通过胃部并进入小肠部位, 由此诱发机体出现轻重不一的病症, 临床表现从轻症急性胃肠炎迁延至重症全身性侵袭性感染^[4,5]。

目前, 大量、不合理的使用抗菌药物用于动物临床治疗以及畜牧业生产, 促进耐药基因在不同层次之间进行横向传播及蔓延, 从而使沙门氏菌耐药性问题日益严重^[6]。据相关报道显示, 多重耐药沙门氏菌检出率逐年升高, 导致临床上能够使用的有效抗菌药物大大减少, 增加疾病的发生率^[7,8]。此外, 沙门氏菌可以通过生物膜的产生提高其抵抗不良环境的能力, 在病原菌的生存、传播和致病等方面都起着重要作用^[9]。一些最新研究显示, 这一过程由鞭毛介导的运动引起细菌具有朝向宿主细胞或者与之接触表面移动能力; 之后, 细菌表面疏水性和自聚集作用使细菌能够黏附到目标表面上并且不能被轻易地洗脱, 从而有利于生物膜形成; 当生物膜进一步发展时, 它提供的机械保护作用以及菌落内微生物之间相互作用可以加强细菌对恶劣条件抵抗能力, 使其能够在低 pH、热、高渗环境中存活并有效传播^[10]。以上表型互相联系、互相作用, 是使沙门氏菌能在各种环境中定居并且能够良好繁殖的原因。因此, 本研究以从市售不同动物源食品中分离获得的21 株沙门氏菌为对象, 通过对毒力基因、运动性、耐药性等表征进行分析, 初步探讨了该批菌株的生物学特征与潜在食品安全风险, 为相关风险评估提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

沙门氏菌显色培养基, 青岛海博生物技术有限公司; LB 肉汤培养基 (LB)、缓冲蛋白胨水 (BPW)、药敏纸片, 德国 OXOID 公司; 琼脂粉, 北京酷来搏科技有限公司; 甘油, 上海麦克林生化科技股份有限公司。

1.2 主要仪器

YXQ-50G 立式压力蒸汽灭菌器, 上海博讯医疗生物仪器股份有限公司; LRH-150B 生化培养箱, 青岛聚创环保集团有限公司; ZWY-2102C 立式双层全温振荡器, 成都壹科医疗器械有限公司; SHP-80 生化细菌培养箱, 上海培因实验仪器有限公司; SW-CJ-1FD 超净无菌操作台, 苏州净化设备有限公司; M1324 微量高速离心机, 深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品采集与分离鉴定

本实验选取生牛乳、生鲜肠类、鸡蛋及猪肉四类市售动物源食品作为监测对象, 主要基于其消费量大、沙门氏菌污染风险较高, 且分别涵盖生鲜乳品、肉类加工品、蛋品及生鲜肉类, 基本覆盖了我国家庭日常消费的主要动物性食品种类, 为沙门氏菌的常见污染载体, 具有一定代表性。为此在某菜市场共采集上述食品样品 233 份。所有样本采集后均置于无菌密封袋中, 经 4℃ 低温冷藏转运至实验室, 立即进行细菌分离培养及后续检测。

在无菌条件下, 将待测样品按 1:9 (质量/体积) 的比例接入缓冲蛋白胨水 (BPW) 中, 置于 37℃ 恒温摇床, 以 180 r min⁻¹ 振荡培养 12 h 进行预增菌。随后取上述增菌液转接至四硫磺酸盐煌绿 (TTB) 选择性培养基, 继续培养 12 h。最后将培养物划线接种于沙门氏菌显色琼脂平板。挑目的菌落于 LB 液体培养基中培养。利用 PCR 聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 进行鉴定。取 5 μL 扩增产物上样于 1.0% 琼脂糖凝胶, 电泳后经紫外成像系统显影记录。经电泳鉴定无误的 PCR 产物, 送至生工生物工程 (上海) 有限公司进行序列测定。将 16S rRNA 基因序列提交 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 数据库采用 BLAST 工具进行同源性比对。

所有分离菌株纯化培养后, 取新鲜菌液与等体积无菌甘油充分混匀, 分装至无菌冻存管, 标记菌株信息后置于 -80℃ 冰箱中长期保藏。

1.3.2 沙门氏菌毒力检测

本研究共检测了 11 个毒力基因。其中，SPI-1 基因（*hilA*、*invA*、*sipA*）编码III型分泌系统及效应蛋白，介导菌株侵袭肠道上皮细胞；SPI-5 基因 *pipC* 可协同 SPI-1 诱导肠道炎症反应。SPI-2 基因（*ssaB*、*sseL*）为菌株在巨噬细胞内定植增殖、引发全身感染的关键基因；SPI-3 的 *mgtC* 基因助力菌株适应宿主体内低镁环境，提升胞内存活能力；SPI-4 基因 *orf319* 可编码黏附蛋白，增强菌株肠道定植能力。此外，菌毛基因 *sefA* 介导菌株肠道初始黏附，毒力质粒基因 *spvC* 可增强菌株抗血清杀伤能力与全身毒力，肠毒素基因 *stn* 直接引发宿主腹泻症状。多种毒力基因协同作用，使该菌株可完成黏膜黏附、上皮侵袭、胞内存活、免疫逃逸、全身播散及肠道致泻的完整致病过程，证实其具备较高的致病潜能。各基因对应的退火温度及引物序列详见表 1。

表 1 PCR 引物序列和条件

Table 1 Sequences and reaction conditions of PCR primers				
Gene name	Primer sequence (5'~3')	bp	Annealing temperature/℃	Reference
16Sr RNA	F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	1 465	55	[11]
	R: GGTACCTTGTTACGACTT			
<i>sefA</i>	F: GCAGCGGTTACTATTGCAGC R:TGTGACAGGGACATTTAGC	321	65	[12]
<i>hilA</i>	F: TTAACATGTGGCCAAACAGC	216	51	[12]
	R: GCAAACCTCCCGACGATGTA			
<i>spvC</i>	F: TATGATGGGGCGGAAA	392	55	[13]
	R: AGGCTAACACGGGCTT			
<i>ssaB</i>	F: ATGTCTGAGGAGGGAT	302	55	[12]
	R: GTTTATGGTGATTGCG			
<i>sipA</i>	F: CCATTCGACTAACAGCAGCA	449	52	[12]
	R: CGGTCGTACCGGCTTTATTA			
<i>orf319</i>	F: GTATCGGACAAAGAAGG	323	53.5	[12]
	R: ATGAAAAGGGTAACAGG			
<i>sseL</i>	F: CTATCCTATTGGGCTTAT	304	55	[13]
	R: GTTGGGTACATTGTTCTG			
<i>mgtC</i>	F: CGACGATCATTATCTTTGC	200	55	[13]
	R: GACCGAACCTAACCCTTGT			
<i>stn</i>	F: CTTTGGTCGTAAAATAAGGCG	260	55	[13]
	R: TGCCCAAAGCAGAGAGATTC			
<i>invA</i>	F: AAAGAAGGGTCGTCGTTAGGA	130	60	[14]
	R: GTAGACGCTCCGCAAGTT			
<i>pipC</i>	F: CGCCTCTTCTTCGGT	145	55	[13]
	R: TATGCCATTGCCTGA			

1.3.3 沙门氏菌运动能力的检测

将保存的分离菌株接种至划线 LB 平板，37 ℃培养 12 h 后，挑取单菌落置于新鲜 LB 液体培养基中 37 ℃、180 r min⁻¹ 培养至菌浓度约为 10⁸ CFU/mL。分别吸取 3 μL 菌液点滴在 0.3%和 0.5%的 LB 半固体培养基平板中央，待其晾干后将平板正置于 37 ℃恒温培养箱中，静置培养 12 h 和 20 h 后观察结果，于黑色背景或透射光下观察菌株运动性^[15]，测量直径大小，评估不同食源性沙门氏菌的运动能力。

1.3.4 沙门氏菌抗菌药物敏感性检测

采用纸片扩散法（Kirby-Bauer 法）进行药敏试验。将分离菌株于 LB 液体培养基中培养至菌浓度约为 10⁸ CFU/mL 后各取 1mL 置于灭菌后的离心管中，12 000 r min⁻¹ 离心 3 min，弃上清。沉淀用 1 mL 生理盐水重悬，振荡混匀后十倍梯度稀释，取适宜稀释度菌悬液涂布于 LB 平板。随后用无菌镊子取药敏纸片轻贴于平板表面，所用抗菌药物包括：链霉素（SM）、氯霉素（CM）、卡那霉素（KAN）、四环素（TE）、头孢噻吩（CEP）、萘啶酸（NA）、氨苄西林（AMP）、亚胺培南（IPM）、氨基曲南（ATM）、头孢曲松（CRO）、环丙沙星（CIP）、庆大霉素（GEN）、美罗培南（MEM）、甲氧苄啶（TMP）。将接种后的平板倒置于 37 ℃恒温培养箱中培养 24 h。实验

操作严格依照美国临床和实验室标准协会（CLSI）的最新指南标准^[16]进行，使用游标卡尺测量抑菌圈直径，依据抑菌圈直径大小判断该菌株对该种抗生素的敏感性，分为敏感（S）、中介（I）和耐药（R）三个等级，如表 2 所示。

表 2 药物敏感实验判定标准

Table 2 Criteria for antimicrobial susceptibility testing

Category	Antibiotic	Abbreviation	Content per disc/(μg disc ⁻¹)	Diameter of inhibition zone/mm		
				S	I	R
Aminoglycosides	Streptomycin	SM	10	≤11	12~14	≥15
	Gentamicin	GEN	10	≤12	13~14	≥15
	Kanamycin	KAN	30	≤13	14~17	≥18
Tetracyclines	Tetracycline	TE	30	≤11	12~14	≥15
	Cefalotin	CEP	30	≤14	15~17	≥18
Quinolones	Nalidixic acid	NA	30	≤13	14~18	≥19
	Ciprofloxacin	CIP	10	≤15	16~20	≥21
	Imipenem	IPM	10	≤19	20~22	≥23
β-lactams	Aztreonam	ATM	30	≤15	16~21	≥22
	Aztreonam	CRO	30	≤19	20~22	≥23
	Ceftriaxone	AMP	10	≤13	14~16	≥17
	Meropenem	MEM	10	≤15	16~19	≥19
Phenicol	Chloramphenicol	CM	30	≤12	13~17	≥18
Folate pathway inhibitors	Trimethoprim	TMP	10	≤10	11~15	≥16

1.3.5 沙门氏菌生物膜形成能力检测

本实验采用结晶紫染色法^[17]测定分离菌株的生物膜形成能力。将过夜培养至菌浓度约为 10⁸ CFU/mL 的菌液按 1:100 比例稀释，取 200 μL 稀释液接种于 96 孔板，以新鲜 LB 液体培养基作为阴性对照。分别于 37 ℃培养 24、48 和 72 h 后，弃去各孔培养液，用生理盐水轻洗 3 次并甩干残留液体；随后加入适量甲醇，固定 15 min。置于超净工作台内自然风干后，每孔添加 200 μL 0.1%结晶紫染液，室温避光孵育 15 min。弃去染液并再次冲洗，待平板烘干后，每孔加入 200 μL 33%醋酸溶液，室温静置 30 min 以溶解孔壁结合的结晶紫。最后使用酶标仪在 600 nm 波长下读取各孔吸光度值。

1.3.6 沙门氏菌表面疏水性和自聚集能力分析

1.3.6.1 沙门氏菌表面疏水性分析

根据先前研究报道的方法^[18]测定表面疏水性。将过夜培养至菌浓度为 10⁸ CFU/mL 的菌液以 8 000 r min⁻¹离心 5 min 收集菌体沉淀，用 PBS 重悬后再次离心洗涤，将洗涤后的菌体重悬于 PBS 中，调整其浓度约为 10⁸ CFU/mL，此时吸光度值记为 A₀。吸取 1 mL 该菌悬液于试管中，加入 200 μL 二甲苯，静置共培养 2 h。待水相与有机相完全分离后，小心吸取下层水相，测定其 OD₆₀₀ 值，记为 A₁。细菌表面疏水指数（Cell Surface Hydrophobicity, CSH%）按下式计算：

$$CSH(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$
 (1)

式中：

A₀——初始吸光度；

A₁——终止吸光度。

1.3.6.2 沙门氏菌自聚集能力分析

采用静置沉降法对分离菌株的自聚集能力进行定量评估。首先将过夜培养的菌液在 8 000 r min⁻¹条件下离心 5 min，弃去上清；收集的菌体沉淀用 PBS 重悬后再次离心洗涤。将洗涤后的菌体重悬于适量 PBS 中，调整菌悬液浓度约为 10⁸ CFU/mL，将此初始吸光度值记录为 H₀。随后，将上述标定好的菌悬液在室温下静置孵育 20 h。

孵育结束后吸取试管上层的均匀悬浮液,测定其 OD₆₀₀ 值,所得结果记为 H₁。细菌自聚集能力指数(Auto-aggregation AAg%)按下式计算:

$$AAg(\%) = \frac{H_0 - H_1}{H_0} \times 100\%$$

(2)

式中:
H₀——初始吸光度;
H₁——终止吸光度。

1.3.7 沙门氏菌抗环境胁迫能力

本实验设置酸处理、高温处理及高盐处理三种胁迫条件,用以探究菌株在不同胁迫下的生长特性^[19]。将保存分离菌株在 LB 平板上划线,在 37℃ 下培养 24 h 后,挑取单菌落接种到新鲜 LB 液体培养基中,于 37℃、180 r min⁻¹ 振荡培养 12 h。按 1%(V/V)接种量加入 LB 培养基中 37℃ 培养,各组培养设置如下:酸胁迫:将培养基分别调配至 pH 值为 3~7 五个梯度,用 0.45 μm 滤头过滤除菌后待用;高温胁迫:选用 pH 值=7 的 LB 培养基,分别在 25、37、50℃、200 r min⁻¹ 环境培养;高盐胁迫:LB 培养基添加浓度 0%、1.5%、3.5%、5.5%氯化钠。培养参数:除高温组采用对应设定温度外,剩余组均在 37℃、200 rpm 摇床连续培养 12 h;培养过程中每小时无菌吸取 1 mL 菌液,检测 OD₆₀₀ 吸光度,评估不同分离菌株对环境抗性的差异。

1.3.8 数据统计分析

本研究所有实验均设置 3 次独立的生物学重复,所有结果以均数±标准差形式表示。实验结果图表采用 prism 10.1.2 (GraphPad Software, 美国)和 Origin 2026 软件 (Origin Lab, 美国)制作完成。所有结果以均数±标准差形式表示。

2 结果与讨论

2.1 细菌分离结果与鉴定

2014~2022 年全国动物源食品监测数据显示,沙门氏菌总体检出率为 9.25%,生鲜禽肉和猪肉污染较为严重^[20]。从本研究 233 份动物源食品(从生牛乳、生鲜肠类、鸡蛋和猪肉)中共分离出 21 株沙门氏菌,总体检出率为 9.01% (见表 3),值得注意的是,沙门氏菌的污染率在不同地区之间存在明显差异,其中鸡蛋检出率最高(17.65%),猪肉次之(10.00%),生鲜肠类(7.25%)和生牛乳(4.11%)检出率较低。结果表明,鸡蛋和猪肉产品受沙门氏菌污染风险较高,生鲜肠类则相对较低,说明禽蛋养殖、加工储运环节防控存在污染风险是沙门氏菌经食品传播的核心隐患^[21]。

采用 16S rRNA 通用引物对菌株样品进行 PCR 扩增从而获得基因组 DNA,在琼脂糖凝胶上观察到只有一个条带出现,大小约在 1 465 bp 左右,符合预期结果。经电泳确认为阳性的产物送测序,获得的序列经 NCBI 数据库比对分析后,其同源性比对结果见表 4。本研究分离的 21 株菌株均为 *Salmonella* 属。其中鸡蛋样本中的沙门氏菌检出率最高,生鲜肠类样本检出率最低,从中可看出不同样品来源的污染状况存在差异。

表 3 不同样本中沙门氏菌检测结果

Table 3 Detection results of <i>Salmonella</i> in different samples					
Sample type	Sample				Total
	Raw milk	Fresh sausage	Egg	Pork	
No.of samples	69	73	51	40	233
No.of positivesamples	5	3	9	4	21
Positive rate/%	7.25	4.11	17.65	10.00	9.01

表 4 分离菌株的 16S rDNA 测序结果

Table 4 16S rDNA sequencing results of isolated strains			
Strain designation	Strain source	Genus	Accession No.
G01	Egg	<i>Salmonella</i>	PZ151 877.1

G02	Egg	Salmonella	PP843 552.1
G03	Egg	Salmonella	PP843 552.1
G04	Egg	Salmonella	PP843 552.1
G06	Egg	Salmonella	PP843 553.1
G07	Egg	Salmonella	PZ151 877.1
G10	Egg	Salmonella	MK809 213.1
G16	Egg	Salmonella	PP843 549.1
G18	Egg	Salmonella	OZ184 494.1
G05	Raw milk	Salmonella	PZ151 876.1
G08	Raw milk	Salmonella	MF459 889.1
G11	Raw milk	Salmonella	MK809 220.1
G17	Raw milk	Salmonella	CP075 141.1
G21	Raw milk	Salmonella	CP133 435.1
G14	Fresh sausage	Salmonella	MH548 519.1
G15	Fresh sausage	Salmonella	MH548 465.1
G20	Fresh sausage	Salmonella	CP185 324.1
G09	Pork	Salmonella	KX355 308.1
G12	Pork	Salmonella	MH548 468.1
G13	Pork	Salmonella	ON386 391.1
G19	Pork	Salmonella	MH593 391.1

注：若菌株的登录号相同，则表明它们的目标基因区域序列完全相同。

2.2 沙门氏菌毒力基因的检出情况

沙门氏菌致病性依赖一系列重要毒力因素，例如侵袭相关蛋白、内毒素、肠毒素以及一些特殊的遗传物质如毒力岛、毒力质粒。本研究共对 11 种毒力基因进行检测。其中 *sseL*、*mgtC*、*invA*、*stn* 四种基因在所有菌株中全部检出，覆盖了沙门氏菌侵袭、胞内寄生、代谢适应及肠道毒力的主要功能环节，表明分离株具有较为完备的致病遗传基础。*SipA*、*orf319*、*pipC* 检出率均达 95.24%（20/21）以及 *ssaB*、*hilA*、*spvC* 检出率依次为 90.47%（19/21）、66.67%（14/21）、80.95%（17/21），相关研究发现沙门氏菌中普遍携带以上毒力基因检出率偏高^[22]。由图 1 所示可看出毒力基因几乎普遍存在，其中从生牛乳中分离出的菌株 G17 携带全部毒力基因，说明菌株 G17 具有较高毒性以及致病风险，而菌株 G21 仅携带 5 个毒力基因，揭示了同源分离株在毒力基因组成上存在显著差异。

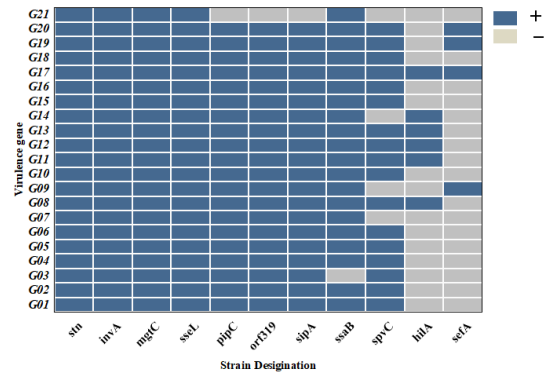


图 1 沙门氏菌分离株毒力基因检出情况

Fig.1 Detection of virulence genes in isolated *Salmonella* strains

注：+：Gene present；-：Gene absent。

2.3 沙门氏菌运动形成能力

细菌的运动能力主要是由鞭毛决定的。这一方面有利于细菌穿过肠粘液到达肠上皮细胞上,增加其入侵能力和粘附力,另一方面也在宿主体内发挥重要作用,使细菌能够逃避宿主免疫清除作用。21株分离菌株在一定条件下运动表现不同(见图2)。在0.3%琼脂培养12h后,G01、G10、G11、G13和G20等菌株运动能力突出,在长时间培养过程中不断扩散,形成较大透明扩散区,其中菌株G10的运动直径可达到86.40mm;而另一些菌株则基本不运动。琼脂浓度为0.5%时,几乎所有菌株都不能进行正常运动,只有少量菌株在接种点周围有少量生长,这就说明琼脂浓度可以显著影响沙门氏菌的运动。在较高琼脂浓度情况下,其正常的鞭毛旋转以及通过基质的能力被极大程度上限制^[23]。

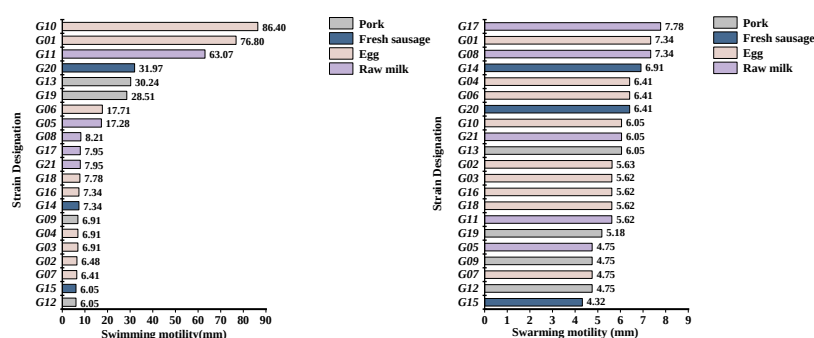


图2 沙门氏菌分离株运动能力情况

Fig.2 Motility status of isolated *Salmonella* strains

2.4 沙门氏菌生物膜形成能力检测结果

生物膜是沙门氏菌在宿主体内存活、长期存在以及对抗宿主清除的重要条件。为了比较各个分离株间的生物膜形成能力,本研究测定了21株分离菌株在24、48和72h的生物膜形成能力如图3所示。根据文献^[24]标准可以将这21株菌分为三类:强成膜菌株占55.56%,中等成膜菌株占26.98%,而弱成膜菌株仅占17.46%。其中菌株G06、G13和G19在48h培养后具有较强的生物膜形成能力,且这类强成膜菌株在多种样品来源中均有分布,而非集中于同一类样品。分离自鸡蛋中的菌株G01、G16以及分离自生鲜肠类产品中的菌株G20在整个培养过程中生物膜形成能力较弱,在24h与48h时基本未观察到生物膜形成的现象。

生物膜生命周期涵盖初始附着粘附、早期发育、成熟以及最终扩散等过程^[25]。从图3的结果可以看出不同菌株的生物被膜生成量随培养时间呈现阶段性变化。在24~48h内沙门氏菌分离株的生物膜形成能力随着培养时间而增强,这一生长趋势符合生物膜早期发育规律;值得注意的是,在48~72h阶段生物膜生成量明显降低,这可能说明细胞进入新的定植期阶段发生了脱落^[26]。除了菌株G01、G05、G15、G18、G19和G20以外的多数菌株残留的生物膜量仍高于24h的水平,这可能是由于进入脱落期后,生物膜结构的稳定性以及积累量从而在一定程度上减缓了脱落导致的生物量下降。此外,不同样品来源分离的菌株之间的差异性也可能为其自然环境或食品加工条件下的持久定植能力提供了不同的生态适应策略^[27]。

一般而言,胞内第二信使c-di-GMP可能通过抑制鞭毛基因转录与马达旋转、同时激活胞外基质合成,驱动细菌完成从游泳向固着的生活方式转换^[28]。鞭毛运动则可能通过调节细胞朝向以抵抗剪切力,进而协助细菌定植于壁面。本实验发现按照48h时的生物膜形成量来看,强成膜能力的菌株G06、G13、G19并不具有相应强运动能力;具有强运动能力的菌株G01、G10、G11并没有强成膜能力。据此推测,G06、G13、G19菌株可能通过运动非依赖途径完成初始黏附并开始形成生物膜;而G01、G10、G11等菌株虽具备较强的运动能力,但可能因c-di-GMP信号不足或其他调控通路的干预,未能有效激活胞外基质合成。这一调控模式具有明显的菌株特异性,不同菌株中c-di-GMP的效应靶点和调控输出可能存在差异^[29]。以上说明说明运动性与生物膜形成之间的关系在微生物学可能不是简单的正相关或负相关关系,即运动性并非生物膜形成的绝对决定因素。

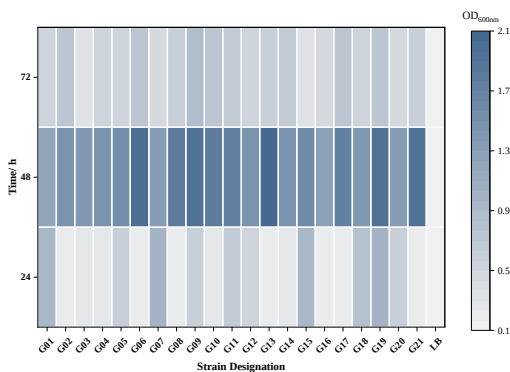


图3 沙门氏菌分离株生物膜形成能力热图

Fig.3 Heatmap of biofilm formation capacity of *Salmonella* isolates

注：弱成膜菌株 OD₆₀₀<0.3；中等成膜菌 OD₆₀₀=0.3~0.6；强成膜菌株 OD₆₀₀>0.6。

2.5 沙门氏菌耐药性检测情况

沙门氏菌是危害突出的食源性耐药致病菌，其多重耐药性造成了当下临床用药的局限性。本研究对 21 株沙门氏菌的药敏试验结果如图 4 所示，所有菌株中有 16 株多重耐药菌株，菌株 G18 和菌株 G20 对所有抗生素均敏感。这凸显了不同食品来源菌株的差异性，这种差异可能与菌株所处的环境相关。耐药菌株中对 β-内酰胺类（AMP，氨苄西林）和喹诺酮类（NA，萘啶酸）的耐药率最高，均 71.43%（15 株），与现有食源沙门氏菌耐药流行病学调查趋势吻合^[30]；氨基糖苷类中，链霉素（SM）和卡那霉素（KAN）的耐药率较高分别为 66.67%（14 株）和 52.38%（11 株）；氯霉素（酰胺醇类）和四环素（四环素类）的耐药率分别为 61.90%（13 株）和 57.14%（12 株）。而全部沙门氏菌分离株对亚胺培南和美罗培南均表现为完全敏感，Rasha 等^[31]的研究也出现类似规律。不同抗生素的作用机制存在差异。β-内酰胺类抗生素的机制是阻止细菌细胞壁形成从而导致细菌死亡，而细菌对这类药物产生抗性的原因主要是因为产生了耐药酶；喹诺酮类抗菌素作用对象是细菌 DNA 复制相关蛋白，靶位基因点突变是其产生耐药性的核心诱因^[32]。氨基糖苷类、四环素类及酰胺醇类耐药机制则多与药物外排、修饰酶合成、靶位点保护等途径相关，多重耐药菌株可通过携带多种耐药元件同时获得多类药物抗性。

所有分离菌株中，G01、G06、G15 和 G16 菌株对多数抗生素耐药，然而其生物膜形成能力存在显著差异，其中仅 G06 菌株具有强成膜特性。这一结果可能说明该批分离株的多重耐药性并非由生物膜介导的物理屏障机制主导，该结果进一步印证了既往文献中生物膜量与耐药性之间没有稳定正相关关系的观点^[33]。

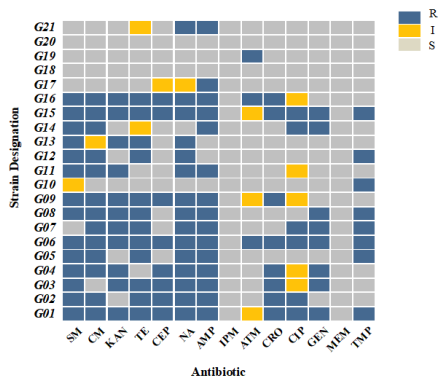


图4 沙门氏菌分离株药敏试验结果

Fig.4 Antimicrobial susceptibility results of *Salmonella* isolates

2.6 沙门氏菌表面疏水性与自聚集能力结果分析

表面疏水性是细菌与疏水表面之间相互吸引的物理化学驱动力，而自聚集能力是细菌群体形成的以及协同抗性的基础。如图 5 所示，沙门氏菌分离株表面疏水性在 15.79%~76.85%，自聚集能力在 21.38%~58.89%。不同菌

株之间的比较发现具备高疏水性或自聚集能力的菌株并非集中于某一特定样本来源,其中 *G08*、*G09* 和 *G20* 具有良好的自聚集能力; *G10* 和 *G17* 兼具强表面疏水性、自聚集能力、较强生物膜形成能力以及强运动能力。已有研究证实这两种表型特征与沙门氏菌的附着及定殖能力相关联^[34],高疏水性可以降低菌体与接触面间的界面排斥,促进菌体可逆吸附,自聚集能推动菌体相互交联形成微菌落。

运动能力与自聚性、疏水性间也存在着间接关联。在生物被膜形成初期,鞭毛驱动为细菌靠近并接触宿主表面提供驱动力,疏水作用帮助菌体克服界面排斥力、更紧密地贴附于表面;自聚性则介导菌体之间的聚集,共同促进初始黏附的发生。而一旦初始粘附建立,细菌则通过下调运动相关基因表达,同时促进粘附素及胞外聚合物的积累,从而促进生物膜的发育与成熟。在调控层面,三项表型在生物被膜形成过程中表现出协同变化的趋势,说明三者可能受同一调控网络介导,共同参与生物被膜形成的调控^[35,36]。

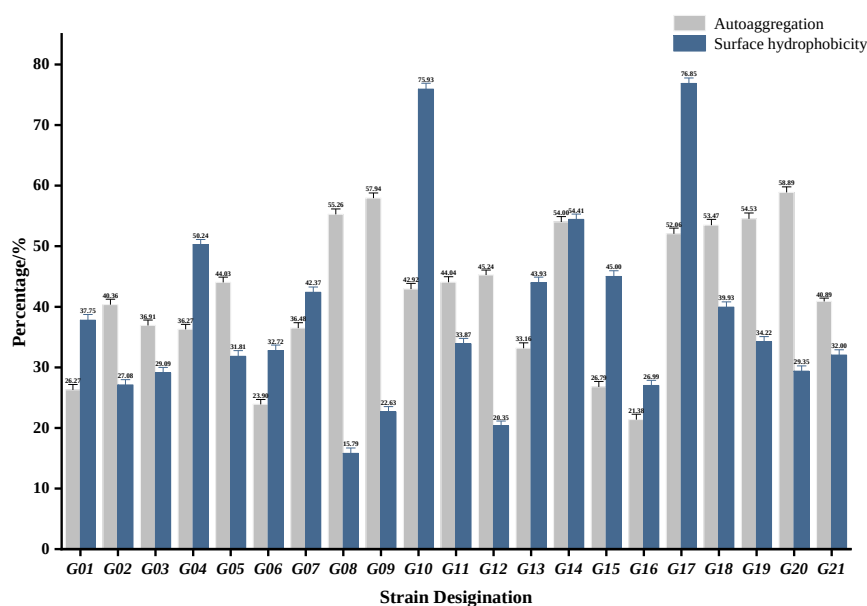


图5 沙门氏菌分离株的表面疏水性和自聚集能力分析

Fig.5 Cell surface hydrophobicity and cell auto-aggregation analysis of *Salmonella* isolates

2.7 沙门氏菌对酸性、高温及 NaCl 胁迫的耐受性

生牛乳、生鲜肠类、鸡蛋及猪肉是常见的沙门氏菌污染高风险类食品,能够附着在各类食品加工器械中。然而,沙门氏菌还具有较强的环境适应性,能够在短时间内产生对高温、酸等常用杀菌手段的耐受性。不同来源的沙门氏菌分离株在 pH4.0、3.5% NaCl 和 50 °C 三种胁迫条件下的生长存活情况存在明显差异。结果如图 6~8 所示。在酸性条件下,分离株表现出不同的耐受能力,其中分离自鸡蛋样品的菌株 *G18* 和分离自生鲜肠类的菌株 *G15* 仍维持较强的生长状态,OD₆₀₀ 值可达 0.6;在高盐胁迫下,分离自鸡蛋样品的菌株 *G16* 与分离自生牛乳的菌株 *G08* 表现出相对较高的生存优势;在高温胁迫下,仅分离自鸡蛋样品的菌株 *G18* 和分离自生牛乳的菌株 *G08* 仍保持活性,其余菌株几乎失活。其中菌株分别分离自鸡蛋和生牛乳 *G08* 和 *G18* 菌株表现出较强的环境耐受性,表明这两类食品中沙门氏菌污染问题可能较为突出,值得重点关注。然而沙门氏菌分离株的环境胁迫耐受性与食品来源之间未表现出明确的关联趋势,这可能说明即使是来自同一环境的不同菌株,其胁迫耐受能力也高度分化,这一结果支持了之前的结论^[37]。

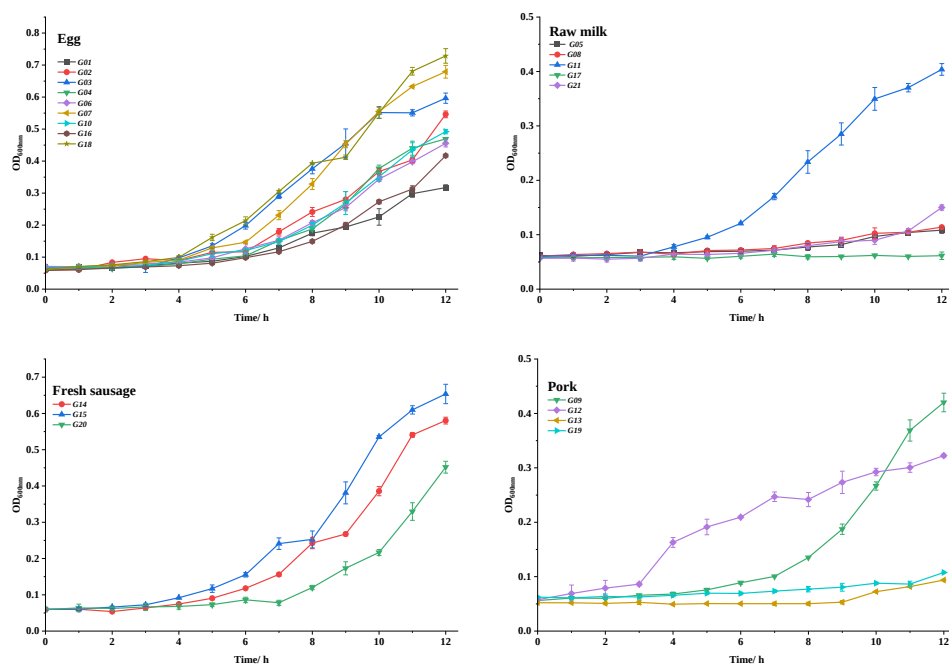


图6 沙门氏菌分离株在 pH4.0 下的耐受性

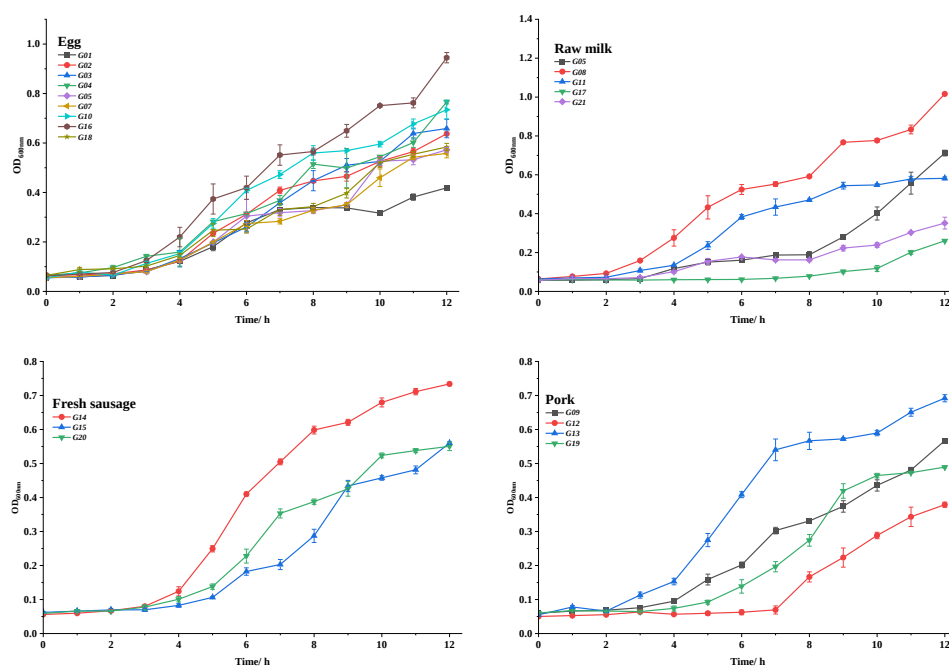
Fig.6 Tolerance of *Salmonella* isolates to pH 4.0

图7 沙门氏菌分离株在 NaCl 3.5% 的耐受性

Fig.7 Tolerance of *Salmonella* isolates to 3.5% NaCl

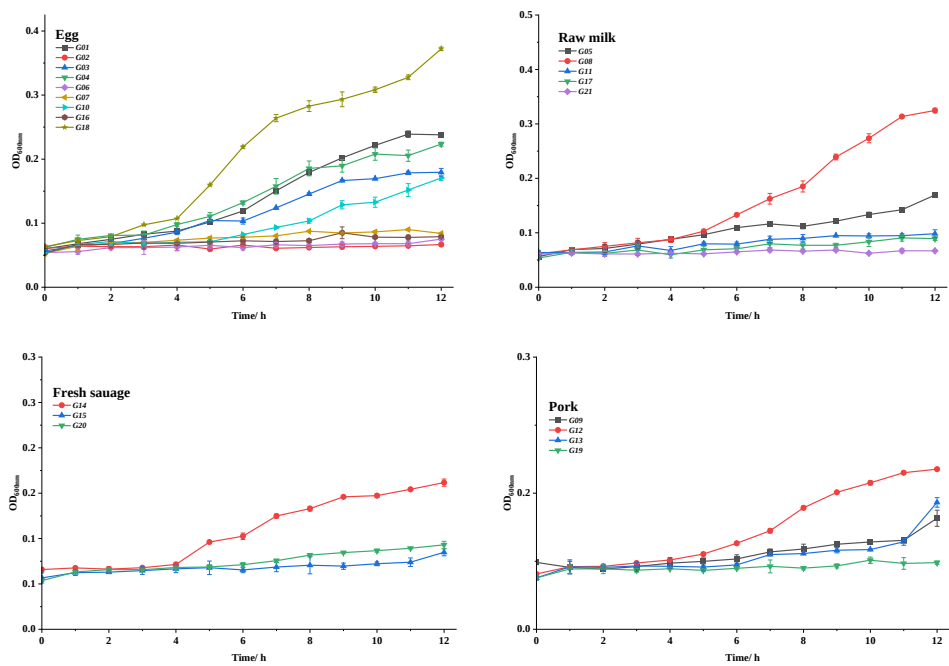


图 8 沙门氏菌分离株在 Tm 50 °C 的耐受性

Fig.8 Tolerance of *Salmonella* isolates to 50 °C

3 结论

本实验对不同动物来源的样品中分离出的 21 株沙门氏菌展开表型分析,解析菌株关键理化及生物学特征。毒力基因结果显示所有分离株均携带丰富的毒力基因,这说明菌株普遍具备侵袭和感染宿主的遗传基础。在生物膜相关性方面,本研究结果发现了运动性对生物膜的影响并非单向的促进或抑制;进一步分析表明,除鞭毛黏附之外,表面疏水性与自聚集能力作为关键的物理协同因素,共同调控着细菌的附着起始与生物被膜的动态发育过程。药敏试验结果表明分离菌株多重耐药现象突出,普遍对 β -内酰胺类、喹诺酮类耐药,且与生物膜的形成没有稳定的正相关性。此外从环境胁迫角度来看,不同样本来源的沙门氏菌分离株在环境耐受性上的生长情况存在一定差异,但与食品来源之间未表现出明确的关联性。

研究初步阐明了食源性沙门氏菌的毒性及耐药相关生物学特征,为食品链中沙门氏菌污染的监测与防控提供了基础理论参考。需指出的是,本研究菌株来源仅限于四种食品,样本量也相对有限,因此所得到的结论主要适用于该特定食品供应链,普适性尚待大样本研究进一步验证。现阶段完成了菌株表型与基础基因初步筛查,后续可结合多种分子生物学技术,构建多层次、全覆盖的动态监测体系,为制定精准、高效的防控策略提供数据支撑。

参考文献

[1] LI Q. Mechanisms for the invasion and dissemination of *Salmonella* [J]. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 2022, 2022(1): 2655801.

[2] NAZIR J, MANZOOR T, SALEEM A, et al. Combatting *Salmonella*: a focus on antimicrobial resistance and the need for effective vaccination [J]. BMC Infectious Diseases, 2025, 25(1): 84.

[3] 姚菊霞,马丽萍,齐茜.家禽沙门氏菌病的流行情况及发病机理[J].畜牧兽医杂志,2026,45(2):112-118.

[4] LU J, WU H, WU S, et al. *Salmonella*: Infection mechanism and control strategies [J]. Microbiological Research, 2025, 292: 128013.

[5] SCHULTZ B M, MELO-GONZALEZ F, SALAZAR G A, et al. New insights on the early interaction between typhoid and non-typhoid *Salmonella* serovars and the host cells [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 647044.

[6] OH H, CHOI Y, LEE J. Antibiotic-resistant *Salmonella* in animal products jeopardize human health [J]. Food Science of Animal Resources, 2025, 45(2): 409.

- [7] YASSIN A, HURALSKA M, POGUE J M, et al. State of the management of infections caused by multidrug-resistant gram-negative organisms [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2023, 77(9): e46-e56.
- [8] 廖娟,章文欣,沈雪梅,等.鸡源沙门氏菌的分离鉴定及耐药基因和毒力基因检测[J].*江苏农业科学*,2025,53(8):184-191.
- [9] KHARGA K, DHAR I, KASHYAP S, et al. Zingerone inhibits biofilm formation and enhances antibiotic efficacy against *Salmonella* biofilm [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2023, 39(10): 268.
- [10] KRZYŻEWSKA-DUDEK E, DUDEK B, KAPCZYŃSKA K, et al. The influence of lipopolysaccharide O-Antigen chain length on biofilm formation capacity and outer membrane proteome shape of *Salmonella* Enteritidis [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2025, 17(6): e70211.
- [11] 陆凡,王鹏,刘林敏,等.鸽源鼠伤寒沙门氏菌的分离鉴定及耐药与毒力基因检测[J].*动物医学进展*,2024,45(1):36-43.
- [12] 李若男,何欣,符乐,等.3株鸡源沙门氏菌的耐药性和致病性分析[J].*动物医学进展*,2024,45(9):32-38.
- [13] 徐爱霞.鸭胚源沙门氏菌的分离鉴定与毒力基因检测及分析[D].泰安:山东农业大学,2021.
- [14] 年梦婷,李港回,黄菊,等.安徽凤阳肉类产品中沙门氏菌的流行、毒力、耐药及环境耐受性[J].*蚌埠学院学报*,2023,12(5):34-42+96.
- [15] PING L, ZHENG YANG Z, MOHAN S, et al. Effects and molecular mechanism of sugar transporter ESA_RS15745 on desiccation resistance, motility, and biofilm formation of *Cronobacter sakazakii* [J]. *Journal of Food Science*, 2024, 89(1): 581-595.
- [16] 郝世轩,张潇丹,陶俊杰,等.镇江地区食源性沙门氏菌的时空分布和耐药性研究[J].*食品安全质量检测学报*,2026,17(8):143-149.
- [17] GARCÍA-FERRÚS M, PELLICER A G, FERRÚS M A. Prevalence, antimicrobial resistance and biofilm formation of *Helicobacter pullorum* isolated from chicken products intended for human consumption [J]. *Food Control*, 2026, 184: 112005.
- [18] LI Z, LING N, JIANG S, et al. Uncovering key genes of K1 capsule *Cronobacter* on environmental resilience [J]. *Food Bioscience*, 2025, 67: 106224.
- [19] WANG Y, LING N, LI Z, et al. Uncovering phenotypic changes of luxS-mediated acid tolerance in *Cronobacter malonaticus* [J]. *International Journal of Dairy Technology*, 2024, 77(2): 383-392.
- [20] LI Y, LIU L, BAI L, et al. Spatio-temporal prevalence and distribution of *Salmonella* spp. serovars in animal-origin foods in China: A comprehensive outlook derived from nine years of national surveillance, 2014-2022 [J]. *Food Research International*, 2025, 219: 116931.
- [21] 覃军,吴发移,王树艳,等.蛋鸡源沙门氏菌的分离鉴定及耐药性分析[J].*现代农业科技*,2026,9:127-131.
- [22] 张皓琪,崔中磊,毛衍伟,等.生鲜牛肉生产过程中沙门氏菌的流行情况、分布及多样性[J].*肉类研究*,2026,40(1):58-66.
- [23] HU M, ZHOU Z, LIU C, et al. Roles of response regulators in the two-component system in the formation of stress tolerance, motility and biofilm in *Salmonella* Enteritidis [J]. *Foods*, 2024, 13(22): 3709.
- [24] OBE T, NANNAPANENI R, SCHILLING W, et al. Antimicrobial tolerance, biofilm formation, and molecular characterization of *Salmonella* isolates from poultry processing equipment [J]. *Journal of Applied Poultry Research*, 2021, 30(4): 100195.
- [25] WEI W, CHUA S L. Hallmarks of a Microbial Biofilm Life Cycle [J]. *CourseSource*, 2025, 142: 1622.
- [26] GONZÁLEZ-MACHADO C, CAPITA R, RIESCO-PELÁEZ F, et al. Visualization and Quantification of the Cellular and Extracellular Components of *Salmonella* Agona Biofilms at Different Stages of Development [J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e0200011.
- [27] AVCI F N, AKÇELİK N, AKÇELİK M. Resilient Communities: The role of biofilms in *Salmonella* enterica ecology, persistence and pathogenesis [J]. *Environmental Microbiology*, 2026, 28(2): e70250.
- [28] WEI G, PALALAY J-J S, SANFILIPPO J E, et al. Flagellum-driven motility enhances *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by altering cell orientation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2025, 91(7): e00821-e00825.
- [29] CHEN X, WANG L, SOURJIK V. Swimming or sessile: the interplay between c-di-GMP signalling and flagellar motility [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2025, 87: 102632.
- [30] DO AMARANTE V S, DE CASTRO PEREIRA J K, SERAFINI M F, et al. Dynamics of *Salmonella* Dublin infection and antimicrobial resistance in a dairy herd endemic to salmonellosis [J]. *PLoS One*, 2025, 20(1): e0318007.
- [31] ELKENANY R, ELSAYED M M, ZAKARIA A I, et al. Antimicrobial resistance profiles and virulence genotyping of *Salmonella* enterica serovars recovered from broiler chickens and chicken carcasses in Egypt [J]. *BMC Veterinary Research*, 2019, 15(1): 124.
- [32] WANG J, SANG Z, ZHAO Y, et al. The molecular mechanisms of quinolone resistance in *Salmonella*: a review [J]. *Archives of Microbiology*, 2025, 207(9): 230.
- [33] MADDURI A, VANOMMESLAEGHE L, COENYE T. Is increased biofilm formation associated with decreased antimicrobial

- susceptibility? A systematic literature review [J]. *Microorganisms*, 2025, 13(10): 2292.
- [34] WANG H, DING S, DONG Y, et al. Biofilm formation of *Salmonella* serotypes in simulated meat processing environments and its relationship to cell characteristics [J]. *Journal of Food Protection*, 2013, 76(10): 1784-1789.
- [35] HU H, JIA K, WANG H, et al. Novel sRNA and regulatory genes repressing the adhesion of *Salmonella* enteritidis exposed to meat-related environment [J]. *Food Control*, 2020, 110: 107030.
- [36] GRZYMAJŁO K, DUTKIEWICZ A, CZAJKOWSKA J, et al. *Salmonella* adhesion is decreased by hypoxia due to adhesion and motility structure crosstalk [J]. *Veterinary Research*, 2023, 54(1): 99.
- [37] OH S, PATEL J. Phenotypic and metabolic diversity of *Salmonella* isolates from agricultural creek sediment [J]. *Journal of Food Protection*, 2026, 89(7): 100807.