

颜宏伟, 宋春莲, 张莹, 等. 云南省猪源志贺菌分离株耐药特点和毒力基因分析 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (10): 88-93.

YAN H W, SONG C L, ZHANG Y, et al. Analysis of drug resistance and virulence genes of *Shigella* isolated from pigs in Yunnan Province [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (10): 88-93.

云南省猪源志贺菌分离株耐药特点和毒力基因分析

颜宏伟, 宋春莲, 张莹, 张雪, 杜松, 李长妹, 董继琳, 杨春坤, 舒相华*

(云南农业大学动物医学院, 云南昆明 650201)

摘要: 旨在研究云南省猪源志贺菌的流行情况以及耐药情况, 分析志贺菌分离株耐药基因和毒力基因。采集云南省5个地州共300份猪肛门拭子样品进行志贺菌的分离、生化鉴定及PCR鉴定, 通过K-B药敏纸片法和PCR分别检测分离菌的耐药性、耐药基因及毒力基因。结果: 志贺菌阳性检出率20.7% (62/300), 其中楚雄、红河、大理、昭通、澜沧阳性率分别为18.9%、21.8%、18.8%、21.9%和22%; 62株志贺菌对14种抗生素均有不同程度的耐药, 对萘啶酸耐药率最高为96.8%, 对头孢西丁的耐药率最低为3.2%; 以链霉素-氨苄西林耐药谱为主; 喹诺酮类耐药基因 *gyrA* 的检出率最高为79%, *qnrA* 的检出率最低为1.6%; 毒力基因 *ipaH*、*ial*、*shet1A* 的检出率依次为100%、77.4%和40.3%。研究表明, 云南省猪源志贺菌对多种抗生素均产生耐药性, 耐药基因检出率均较高, 毒力基因以 *ipaH* 为主。

关键词: 猪; 志贺菌; 分离鉴定; 药敏试验; 耐药基因; 毒力基因; 耐药率

中图分类号: S852.6 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)10-0088-06

Analysis of drug resistance and virulence genes of *Shigella* isolated from pigs in Yunnan Province

YAN Hongwei, SONG Chunlian, ZHANG Ying, ZHANG Xue, DU Song, LI Changmei, DONG Jilin, YANG Chunkun, SHU Xianghua*

(School of Animal Medicine, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: To explore the prevalence and resistance of *Shigella* isolated from pigs in Yunnan Province, the resistance and virulence genes of *Shigella* isolates were analyzed in this study. A total of 300 anal swab samples were collected from pigs in large scale farms in 5 prefectures of Yunnan Province for isolation, biochemical identification and PCR identification of *Shigella*; and the drug resistance, resistance genes and virulence genes were detected using the K-B susceptibility tablet method and PCR, respectively. The results showed that the positive detection rate of *Shigella* was 20.7% (62/300), among which the positive rates of the samples from Chuxiong, Honghe, Dali, Zhaotong and Lancang were 18.9%, 21.8%, 18.8%, 21.9% and 22% respectively. 62 strains of *Shigella* were resistant to 14 antibiotics at different degrees, and the highest resistance rate to nalidixic acid was 96.8%, and that to cefoxitin was the lowest at 3.2%. The drug resistance profile was streptomycin-ampicillin. The resistance gene *gyrA* had the highest detection rate, and the lowest detection rate of *qnrA* was 79% and 1.6% respectively. The detection rate of virulence genes *ipaH*, *ial* and *shet1A* were 100%, 77.4% and 40.3%, respectively. It can be seen that *Shigella* infection in pig farms in Yunnan Province was resistant to various antibiotics, and the detection rate of resistance genes was high. And *ipaH* was the major virulence gene.

Keywords: pig; *Shigella*; isolation and identification; susceptibility test; resistance gene; virulence gene; resistance rate

志贺菌 (*Shigella*) 为革兰阴性杆菌, 长 2~3 μm , 宽 0.5~0.7 μm , 不形成芽胞、无荚膜、无鞭毛、有菌毛、需氧或兼性厌氧^[1]。在 XLD (木糖-赖氨酸-脱氧胆酸琼脂) 培养基上形成呈粉色至无色、

菌落中间略微凸起、圆形、半透明、湿润、光滑、边缘整齐或者不整齐的菌落^[2]。志贺菌病是一类较为严重的人兽共患疾病, 不仅引发动物的病症, 对人类也会造成严重危害。人体是志贺菌的主要宿主, 主要通过消化道传播传染, 以 5 岁以下儿童、老人和免疫力低下的人群为主, 以人与人接触为主要传染途径。志贺菌致病性高, 只需 10~20 个细菌就可以使最多 50% 的人致病, 并且能侵入人体黏膜形成炎症, 还有可能导致肠功能紊乱和痉挛。志贺菌病作为一种临床常见病, 在世界各地广泛流行, 尤其是发展中国

收稿日期: 2023-10-09; 修回日期: 2024-08-01

基金项目: 云南省农业重大科技专项计划项目 (202102AE090007); 国家重点研发专项省部联动项目 (2022YFD1100407)

第一作者: 颜宏伟, 男, 硕士研究生

* 通信作者: 舒相华, 博士, 教授, 研究方向为临床兽医学, E-mail: 1633992175@qq.com。

家,这与卫生状况不佳、营养不良以及不清洁饮用水等有关。

由于志贺菌可以通过质粒、整合子等可移动元件,从其他同种或者不同种的细菌中获得耐药基因,导致志贺菌耐药性逐年上升。饶桂波等^[3]对广西金陵猪场调查表明,志贺菌对12种抗生素完全不敏感;Nusrin等^[4]检出的志贺菌对阿奇霉素耐药;马明等^[5]发现贵州地区紫云花猪腹泻病原菌分离得到的20株志贺菌对氨苄西林、阿莫西林、新霉素等9种药物高度耐药,平均耐药率为83.3%。近年来多重耐药志贺菌在全球范围的扩散已受到广泛关注,张鹏飞等^[6]发现豪猪来源的志贺菌分离株对喹诺酮类、四环素类、头孢类、氨基糖苷类、青霉素类和氯霉素类药物均表现为耐药;孙娜等^[7]研究结果显示,志贺菌分离菌株对氨基糖苷类药物、四环素、氯霉素、青霉素和氨苄西林耐药,且主要表现为多重耐药;阳巧梅等^[8]分离的52株志贺菌对9种药物出现多重耐药,最高耐药率在98.1%。志贺菌的致病性与其携带的毒力因子有关,其中侵袭性质粒抗原H(IpaH)、侵袭相关蛋白(Ial)和志贺菌肠毒素1(Shet1)是目前已确定的与该菌致病相关的蛋白。IpaH和Ial与志贺菌入侵宿主细胞的能力密切相关,帮助细菌穿透和破坏宿主细胞屏障;志贺毒素Shet1通过破坏宿主细胞的蛋白质合成机制,导致宿主细胞死亡,引发肠道和系统性的严重感染,包括腹泻、痢疾以及潜在的肾脏损伤等^[9]。关于对志贺菌毒力基因的研究,国内外报道的文献很多,大多数集中在志贺菌毒力基因或基因组序列的研究上,对于毒力基因和毒力关系方面的研究相对缺乏。

本研究调查了云南部分地区猪源志贺菌的流行情况,分析其毒力基因和耐药基因的携带情况,旨在为志贺菌病防控、净化措施的制定和绿色健康养殖提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 样本来源

采集云南省5个地方规模化养殖场共300份猪肛门拭子样品,其中楚雄74份、昭通73份、大理48份、澜沧50份和红河55份。

1.2 主要试剂

三糖铁培养基、LB培养基、XLD培养基、琼脂糖,均购自广东环凯生物科技有限公司;细菌基因组提取试剂盒购自昆明丰科生物科技有限公司;药敏片购自杭州滨河微生物试剂有限公司;志贺菌成套生化鉴定管购自海博生物技术有限公司。

1.3 志贺菌分离鉴定

1.3.1 细菌分离

将采取的肛门拭子样品放入到增菌培养基培养,后接种于鉴别培养基XLD,于37℃培养24h,将培养出的典型菌落进行染色观察。

1.3.2 生化鉴定

从选择性琼脂平板(XLD琼脂、麦康凯琼脂)上至少选取2个典型菌落或可疑菌落,将其接种到志贺菌生化鉴定管,并按照试剂盒说明书对分离菌株进行生化培养,参照GB 4789.5—2012《食品微生物学检验 志贺氏菌检验》判断结果。

1.4 药敏试验

用K-B药敏纸片法进行药敏试验,吸收200 μL菌液于LB培养基上,用无菌涂布棒将菌液涂布均匀,将药敏纸片按照一定的顺序贴在相应区域的中间,轻轻按压以固定。置于37℃培养18~24h,然后观察抑菌圈。采用电子游标卡尺测量其抑菌圈的直径,取其平均值。判定标准及结果解释参照美国临床与实验室标准协会(NCCLS 2014)公布的药敏试验标准,以志贺菌参考菌株CMCC(B) P51252作为质控菌株,见表1。

表1 志贺菌药物敏感性判定标准

| 抗菌药物 | 含药量/ (mg·片 ⁻¹) | 抑菌圈直径/mm | | |
|--------------------|-------------------------------|----------|-------|-------|
| | | 耐药(R) | 中敏(I) | 敏感(S) |
| 氨苄西林(AMP) | 10 | ≤13 | 14~16 | ≥17 |
| 环丙沙星(CIP) | 5 | ≤15 | 16~20 | ≥21 |
| 头孢噻肟(CTX) | 30 | ≤22 | 23~25 | ≥26 |
| 头孢吡肟(FEP) | 30 | ≤18 | 19~24 | ≥25 |
| 复方新诺明(SXT) | 1.25/23.75 | ≤10 | 11~15 | ≥16 |
| 左氧氟沙星(LVFS) | 5 | ≤13 | 14~16 | ≥17 |
| 阿莫西林/ 克拉维酸(AMC) | 20/10 | ≤13 | 14~17 | ≥18 |
| 氯霉素(C) | 30 | ≤12 | 13~17 | ≥18 |
| 头孢西丁(FOX) | 30 | ≤14 | 15~17 | ≥18 |
| 萘啶酸(CAS) | 30 | ≤13 | 14~18 | ≥19 |
| 诺氟沙星(NOR) | 10 | ≤12 | 13~16 | ≥17 |
| 链霉素(S) | 10 | ≤11 | 12~14 | ≥15 |
| 四环素(TE) | 30 | ≤11 | 12~14 | ≥15 |
| 磺胺复合物(S3) | 300 | ≤12 | 13~16 | ≥17 |

1.5 耐药基因PCR鉴定

参考文献[10-11]针对志贺菌的β-内酰胺酶类(OXA、TEM)、磺胺类(qacEΔ1-sull、dfrA1)、喹诺酮类(gyrA、qnrA)、氨基糖苷类ant(3'')-I、

aac (6') -*Ib* 这 4 类耐药基因合成引物, 引物序列见表 2。耐药基因引物由北京擎科生物科技有限公司合成。利用 PCR 对分离的志贺菌进行耐药基因检测。PCR 反应体系为 25 μL ; Premix *Taq* 为 12.5 μL , 上

下游引物各 0.5 μL , 模板为 DNA 2 μL , 无菌双蒸水为 9.5 μL 。取 6 μL 的 PCR 产物, 用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。

表 2 耐药基因及其序列

| 药物类别 | 目的基因 | 引物序列 (5'→3') | 扩增长度/bp | 退火温度/°C | 基因序列号 |
|----------------|--------------------------------------|--|---------|---------|------------|
| β -内酰胺酶类 | <i>OXA</i> | F: CTGTTGTTTGGGTTTCGCAAG R: CTTGGCTTTATGCTTGATG | 440 | 55 | CP133853.1 |
| | <i>TEM</i> | F: AGGAAGAGTATGATTCAACA R: CTCGTCGTTTGGTATGGC | 535 | 52 | KC958581.1 |
| 磺胺类 | <i>qacEΔ1-sulI</i> | F: TAGCGAGGGCTTTACTAAGC R: ATTTCAGAATGCCGAACACCG | 300 | 55 | CP135069.1 |
| | <i>dfrA1</i> | F: TTGTGAAACTATCACTAATGGTAG R: CTTGTAAACCCCTTTTGCCAGA | 480 | 54 | CP125885.1 |
| 氨基糖苷类 | <i>ant</i> (3'') - <i>I</i> | F: CGCTATGTTCTCTTGCTTTG R: TGATTTGCTGTTACGGTGAC | 519 | 56 | CP134913.1 |
| | <i>aac</i> (6') - <i>Ib</i> | F: TTAGGCATCACTGCGGTTC R: ATGACTGAGCATGACCTTGC | 284 | 55 | OR352128.1 |
| 喹诺酮类 | <i>gyrA</i> | F: TTAATGATTGCCCGCGTCGG R: TACACCGGTCAACATTGAGG | 648 | 56 | CP134923.1 |
| | <i>qnrA</i> | F: TCAGCAAAGAGGATTTCTCA R: GGCAGCACTATTACTCCCA | 627 | 56 | CP135262.1 |

1.6 毒力基因 PCR 检测

参考文献 [9, 13-14], 参照 GenBank 已发表的志贺菌基因组 (登录号: NC_007414) 设计 *ipaH*、*ial* 和 *shet1A* 基因引物, 由生工生物工程 (上海) 股

份有限公司合成, 具体引物序列见表 3。PCR 反应体系同 1.5。取 6 μL PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测目的片段。

表 3 毒力基因及其引物序列

| 目的基因 | 引物序列 (5'→3') | 扩增长度/bp | 退火温度/°C | 基因序列号 |
|---------------|---|---------|---------|------------|
| <i>ipaH</i> | F: TGGAAAACTCAGTGCCTCT R: CCAGTCCGTAAATTCATTCT | 423 | 52 | CP119450.1 |
| <i>ial</i> | F: CTGGATGGTATGGTGAGG R: GGAGGCCAACAAATTATTCC | 320 | 52 | CP119451.1 |
| <i>shet1A</i> | F: TCACGCTACCATCAAAGA R: TATCCCCCTTTGGTGTA | 309 | 52 | CP119441.1 |

2 结果与分析

2.1 志贺菌分离及生化鉴定

疑似志贺菌在 XLD 培养基培养 24 h 后通过形态学观察, 菌落颜色变化为粉红色至无色, 形状为圆形、半透明、湿润、光滑、菌缘整齐或不整齐。在显微镜下的细菌形态呈现为革兰阴性的短小杆状。利用

志贺菌成套生化鉴定管对在 XLD 培养基上疑似志贺菌进行鉴定, 结果证实从 300 份样品中分离到 62 株志贺菌。

2.2 5 个地区志贺菌阳性率

来自楚雄、红河、大理、昭通和澜沧样品志贺菌阳性率分别为 18.9% (14/74)、21.8% (12/55)、18.8% (9/48)、21.9% (16/73) 和 22% (11/50),

各地区志贺菌检出率无显著差异。

2.3 志贺菌耐药性

2.3.1 药敏试验

62株猪源志贺菌药敏试验结果显示：对14种抗生素产生了不同程度的耐药，其中，对萘啶酸的耐药率最高，为96.8%；对头孢西丁的的耐药率最低，为3.2%。具体耐药率见图1。

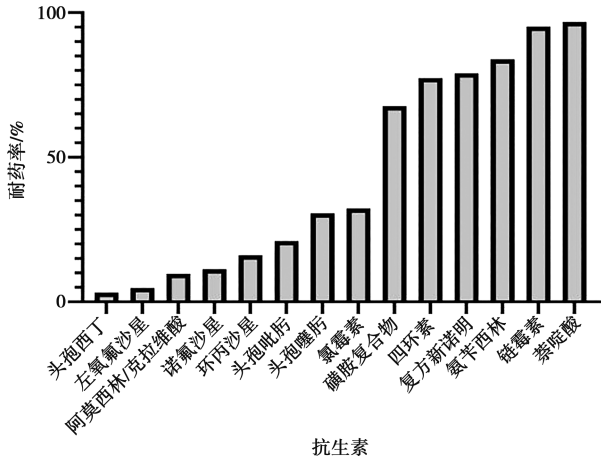


图1 志贺菌分离株对不同抗生素耐药率

2.3.2 耐药表型分析

62株志贺菌共有9种耐药谱，有1株志贺菌对9种抗生素同时耐药。主要以链霉素-氨基西林耐药谱为主，该比例高达82.3%。具体情况见表4。

2.3.3 耐药基因检测及流行情况

对β-内酰胺酶类(OXA、TEM)、磺胺类(qacEΔ1-sull、dfrA1)、喹诺酮类(gyrA、qnrA)、氨基糖苷类[ant(3'')-I、aac(6')-Ib]共8种耐药基因的检测表明，除qnrA基因携带率只有1.6%

外，其他耐药基因携带率较高，最高为80.6%，见表5。通过比对药敏试验和耐药基因的检测结果，表明β-内酰胺酶类、氨基糖苷类、磺胺类、喹诺酮类抗生素耐药基因和耐药表型符合率较高，平均符合率为83%，见表6。

表4 62株志贺菌的多重耐药谱

| 耐药谱 | 菌株数 | 比例/% |
|-------------------------------|-----|------|
| S+AMP | 51 | 82.3 |
| S+AMP+TE | 45 | 72.6 |
| S+AMP+TE+SXT | 38 | 61.3 |
| S+AMP+TE+SXT+S3 | 36 | 58.1 |
| S+AMP+TE+SXT+S3+CTX | 9 | 14.5 |
| S+AMP+TE+SXT+S3+CTX+C | 4 | 6.5 |
| S+AMP+TE+SXT+S3+CTX+C+FEP | 3 | 4.8 |
| S+AMP+TE+SXT+S3+CTX+C+FEP+CIP | 1 | 1.6 |
| S+AMP+TE+S3+C | 11 | 17.7 |

表5 62株分离菌耐药基因检测结果

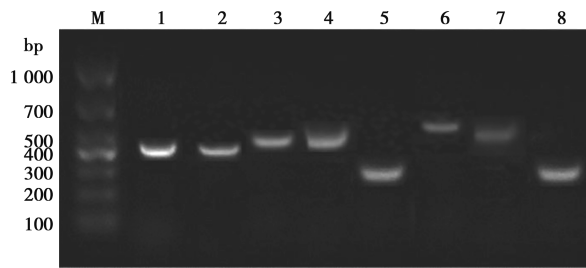
| 抗生素类别 | 基因 | 阳性数/株 | 阳性率/% |
|---------|-------------|-------|-------|
| β-内酰胺酶类 | OXA | 41 | 66.1 |
| | TEM | 40 | 64.5 |
| 氨基糖苷类 | ant(3'')-I | 50 | 80.6 |
| | aac(6')-Ib | 45 | 72.6 |
| 磺胺类 | qacEΔ1-sull | 35 | 56.5 |
| | dfrA1 | 42 | 67.7 |
| 喹诺酮类 | qnrA | 1 | 1.6 |
| | gyrA | 49 | 79.0 |

表6 耐药性与耐药基因符合率

| 抗生素类别 | 耐药表型 | 耐药菌株数 | 耐药基因型 | 携带耐药基因菌株数 | 符合率/% |
|---------|---------------------|-------|-----------------------|-----------|-------|
| β-内酰胺酶类 | AMP+CTX+FEP+AMC+FOX | 52 | OXA+TEM | 41 | 78.8 |
| 磺胺类 | S3+SXT | 49 | qacEΔ1-sull+dfrA1 | 42 | 85.7 |
| 喹诺酮类 | NA+CIP+NOR+LEV | 60 | qnrA+gyrA | 49 | 81.7 |
| 氨基糖苷类 | S | 59 | ant(3'')-I+aac(6')-Ib | 50 | 87.4 |

根据本研究中猪源志贺菌对各类抗生素的耐药表型，对4类抗生素的耐药基因进行检测。β-内酰胺酶类耐药基因在红河的检出率最高，为66.7% (OXA)，在大理的检出率最低，为41.7% (TEM)；喹诺酮类耐药基因在红河的检出率最高，为88.9% (gyrA)，在楚雄、大理、昭通没有检测出qnrA基因；

氨基糖苷类耐药基因在澜沧的检出率最高，为81.8% (ant(3'')-I)，在大理检出率最低，为58.3% (aac(6'')-Ib)；磺胺类耐药基因在红河检出率最高，为66.7% (dfrA1)，在大理检出率最低，为41.7% (qacEΔ-sull)，具体结果见图2和表7。



M. DNA 分子质量标准 (DL1000); 1. *dfiA1*; 2. *OXA*; 3. *TEM*; 4. *aac*; 5. *qacEΔl-sull*; 6. *gyrA*; 7. *qnrA*; 8. *ant*。

图 2 耐药基因的 PCR 检测结果

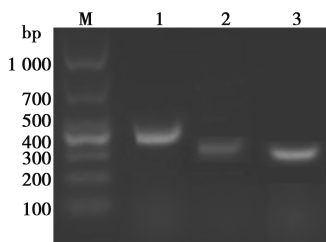
表 7 云南部分地区耐药基因检出率

| 地区 | <i>OXA</i> | <i>TEM</i> | <i>gyrA</i> | <i>dfiA1</i> | <i>ant</i> (3') -I | <i>aac</i> (6'') -Ib | <i>qacEΔ-sull</i> | <i>qnrA</i> |
|-----------|------------|------------|-------------|--------------|--------------------|----------------------|-------------------|-------------|
| 楚雄 (n=14) | 64.3 | 64.3 | 78.6 | 64.3 | 78.6 | 64.3 | 50.0 | 0 |
| 红河 (n=12) | 66.7 | 55.6 | 88.9 | 66.7 | 77.8 | 66.7 | 55.6 | 9.1 |
| 大理 (n=9) | 58.3 | 41.7 | 75.0 | 58.3 | 75.0 | 58.3 | 41.7 | 0 |
| 昭通 (n=16) | 56.3 | 62.5 | 81.3 | 62.5 | 81.3 | 62.5 | 56.3 | 0 |
| 澜沧 (n=11) | 54.5 | 63.6 | 72.7 | 63.6 | 81.8 | 63.6 | 54.5 | 9.1 |

2.4 毒力基因分析

2.4.1 毒力基因检测及流行情况

检测结果显示 62 株志贺菌全部携带 *ipaH* 基因, 检出率 100% (62/62); *ial* 基因检出率为 77.4% (48/62); *shet1A* 基因检出率最低, 为 40.3% (25/62)。基因的 PCR 扩增见图 3。



M. DNA 分子质量标准 (DL1000); 1. *ipaH*; 2. *ial*; 3. *shet1A*。

图 3 毒力基因的 PCR 检测

2.4.2 云南 5 个地区毒力基因检测分析

根据各毒力基因检测结果, 统计云南各地区志贺菌分离株毒力基因分布水平。其中, *ipaH* 基因在各个地区均检出; *ial* 基因在楚雄检出率最高, 为 71.4%, 在红河的检出率最低, 为 55.6%; *shet1A* 基因在红河的检出率最高, 为 44.4%, 在大理的检出率最低, 为 33.3%。具体结果见表 8。

表 8 云南各地区毒力基因检出率

| 地区 | <i>ipaH</i> | <i>ial</i> | <i>shet1A</i> |
|-----------|-------------|------------|---------------|
| 楚雄 (n=14) | 100 | 71.4 | 42.9 |
| 红河 (n=12) | 100 | 55.6 | 44.4 |
| 大理 (n=9) | 100 | 66.7 | 33.3 |
| 昭通 (n=16) | 100 | 56.3 | 37.5 |
| 澜沧 (n=11) | 100 | 63.6 | 36.4 |

3 讨论

在云南部分地区所采集的 300 份拭子样品中分离得到 62 株志贺菌, 5 个地区的分离率均为 20% 左右, 提示云南各地区志贺菌检出率差异性不大。与曾邦权等^[13]、喻华英等^[14]、张兴民等^[15] 对志贺菌的分离结果相似, 都处于较高水平, 说明云南部分地区志贺菌的流行情况比较严重, 需要加强志贺菌的净化, 实时监控志贺菌的流行情况, 预防志贺菌病的暴发。

62 株志贺菌对 14 种抗生素都产生了不同程度的耐药, 最高为 96.8%。因此, 这些药物对于云南部分地区而言已不能再用于志贺菌病的治疗。志贺菌分离株对喹诺酮类抗生素的耐药率最高为 96.8% (萘啶酸), 最低为 4.8% (左氧氟沙星), 因此, 萘啶酸已经不能用于云南部分地区志贺菌病的治疗, 但其余喹诺酮类抗生素耐药率最高才为 16.1%, 所以喹诺酮类药物仍然是治疗志贺菌病最主要的一类抗生素。此外, 62 株志贺菌关于喹诺酮类耐药基因检测中,

gyrA 基因检出率为 79%，其耐药性与耐药基因符合率为 81.7%，提示二者具有相关性。研究结果显示，志贺菌对 β 内酰胺酶类抗生素（阿莫西林/克拉维酸、头孢西丁）耐药率仅为 9.7% 和 3.2%，因此喹诺酮类抗药性的发生可以通过与其联合用药来减少。此外，志贺菌对头孢噻肟的耐药率达到 30.6%，对头孢吡肟的耐药率也达到 21.0%。温晓峥等^[16] 对志贺菌进行一代头孢和三代头孢类抗生素耐药检测发现，其耐药率分别为 5.6%（头孢唑啉）、21%（头孢三嗪）和 4.5%（头孢哌酮），与本次研究结果存在差异，提示志贺菌对头孢类抗生素的耐药性已日益增强。因此，云南部分地区需要规范抗菌药物的使用，尽量少用头孢类抗生素，防止志贺菌对其耐药性再次增加。62 株志贺菌对 9 种抗生素同时具有耐药性的有 1 株，另外耐药谱中比例最高的是链霉素-氨基苄西林，这一比例占到了 82.3%。所测耐药基因的检出率与其相对的抗生素耐药率基本一致，表明耐药基因和耐药表型符合率较高，说明志贺菌对抗生素的耐药机理与耐药基因存在关联，耐药基因的存在可诱导志贺菌对相应药物产生耐药性。

本研究对 62 株志贺菌进行 3 种毒力基因检测结果显示，*ipaH* 基因的检出率为 100%，与张雯霞等^[10]、徐义刚等^[16] 研究结果相同，表明 *ipaH* 基因在志贺菌中广泛存在。*ial* 与细菌黏附肠上皮细胞有关，由于其处于质粒内，有缺失的可能性，因此该基因在本次检测的检出率仅为 77.4%，与张俊琪等^[9] 研究结果一致。此外，本研究还对编码志贺菌肠毒素 1 的基因 *shet1A* 进行了检测，检出率为 40.3%。

综上，本研究对云南省 5 个地州的规模化养猪场样品进行了志贺菌分离鉴定、药物敏感性分析及耐药基因和毒力相关基因的检测，为云南地区志贺菌感染的防控提供了理论依据。

参考文献：

[1] 孙亚伟. 鸡志贺菌超广谱 β -内酰胺酶的分子生物学及相关特性研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2007.

- [2] 张召兴, 贾青辉, 张艳英, 等. 貉源志贺菌分离鉴定、致病性及耐药性分析 [J]. 中国预防兽医学报, 2023, 45 (1): 25-31.
- [3] 饶桂波, 孟菲, 王力波, 等. 猪伪狂犬病毒变异株与大肠杆菌、志贺氏菌混合感染的病原鉴定及分析 [J]. 南方农业学报, 2015, 46 (6): 1111-1116.
- [4] NUSRIN S, ASAD A, HAYAT S, et al. Multiple mechanisms confer resistance to azithromycin in *Shigella* in Bangladesh: a comprehensive whole genome-based approach [J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10 (4): e0074122.
- [5] 马明, 方福平, 朱喜玲, 等. 贵州地区紫云花猪腹泻病原菌的分离鉴定及耐药性分析 [J]. 畜牧与兽医, 2019, 51 (7): 96-99.
- [6] 张鹏飞, 王印, 德西措姆, 等. 豪猪源福氏志贺氏菌的分离鉴定及喹诺酮类耐药基因 [J]. 中国兽医学报, 2019, 41 (2): 204-208.
- [7] 孙娜, 陈强, 杨艳玲, 等. 水貂志贺氏菌分离鉴定及药物敏感性分析 [J]. 中国畜牧兽医学报, 2017, 44 (11): 33.
- [8] 阳巧梅, 邓小荣, 谭德展. 南京地区仔猪源志贺菌分离鉴定与耐药性分析 [J]. 中国兽医杂志, 2020, 56 (6): 83-85.
- [9] 张俊琪, 钱雪琴, 李雪萍, 等. 福氏志贺菌临床分离株毒力基因的研究 [J]. 中国人兽共患病学报, 2007 (12): 1243-1246.
- [10] 谭红丽, 程雪琴, 王勇, 等. 多耐鲍曼不动杆菌分子流行病学分析 [J]. 疾病监测, 2015, 30 (1): 8-13.
- [11] 张雯霞. 上海市 2010—2014 年志贺氏菌流行特征及喹诺酮类耐药基因研究 [D]. 上海: 东华大学, 2016.
- [12] 杨全中, 张煜, 谢永生. 实验小鼠粪便中致病性病原微生物检测与耐药性分析 [J]. 中国兽医杂志, 2019, 55 (4): 99-102.
- [13] 曾邦权, 杨勇, 郑欢莉. 一起猪群腹泻的紧急流行病学调查 [J]. 中国动物检疫, 2020, 37 (5): 17-22.
- [14] 喻华英, 胡文兵, 陈长生. 犍牛腹泻病中志贺氏菌分离与鉴定 [C]. 中国畜牧兽医学学会兽医病理学分会第十四次学术研讨会、中国病理生理学会动物病理生理专业委员会第十三次学术研讨会, 乌鲁木齐, 2006.
- [15] 张兴民, 张焕容, 毛从剑. 四川部分地区山羊腹泻病主要病原菌的分离鉴定及耐药性检测 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019, 568 (4): 78-82.
- [16] 温晓峥, 李智潮. 176 株福氏 2a 型志贺氏菌耐药性检测 [J]. 四川省卫生管理干部学院学报, 2002 (1): 2.
- [17] 徐义刚, 李丹丹, 刘忠梅, 等. 应用 DPO-PCR 方法特异性检测志贺氏菌 [J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41 (3): 28-32.