

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2020.05.030

牦牛德尔卑沙门氏菌的分离、鉴定及致病性研究

冯 兰<sup>1</sup>, 安添午<sup>2</sup>, 崔鹏飞<sup>1</sup>, 赵晓东<sup>2</sup>, 李华德<sup>2</sup>, 付 雪<sup>1</sup>,  
张 兰<sup>1</sup>, 翟亚如<sup>1</sup>, 李 豪<sup>1</sup>, 晏文俊<sup>1</sup>, 王红宁<sup>1</sup>, 杨 鑫<sup>1</sup>

(1. 四川大学生命科学学院, 动物疫病防控与食品安全四川省重点实验室,  
生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610065; 2. 四川省草原科学研究院, 成都 610097)

**摘 要:** 为调查四川省阿坝州红原县牦牛腹泻病因, 本课题组从红原县 4 所养殖场采集牦牛腹泻粪便 16 份, 并对分离株进行多位点序列分型、血清型鉴定、耐药性试验及小鼠致病性试验. 结果表明: 16 份样品共计分离出 16 株沙门氏菌, 均为德尔卑沙门氏菌 ST71 型, 100% 菌株对四环素、氨苄西林、氯霉素和头孢噻呋多重耐药; 选取腹泻较严重牦牛粪样沙门氏菌分离株(编号 15XLR)进行致病性试验, 得出分离株 15XLR 的半致死剂量为  $1.2 \times 10^7$  CFU, 病理切片结果显示小鼠后脾脏、肠道损伤严重. 本研究对红原县牦牛腹泻病因进行了调查研究, 并证实德尔卑沙门氏菌除感染猪鸡外, 其能够入侵牦牛机体, 提示牦牛腹泻疾病的防控应注重沙门氏菌的感染以及在牦牛群体中的传播.

**关键词:** 牦牛; 德尔卑沙门氏菌; 多重耐药; 小鼠致病性实验

**中图分类号:** Q93      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0490-6756(2020)05-1022-07

Isolation, identification and pathogenicity experiment of *Salmonella enterica* Serovar Derby from yaks (*Poephagus grunniens*) with diarrhea in Tibetan Qiang Autonomous Prefecture of Ngawa, China

FENG Lan<sup>1</sup>, AN Tian-Wu<sup>2</sup>, CUI Peng-Fei<sup>1</sup>, ZHAO Xiao-Dong<sup>2</sup>, LI Hua-De<sup>2</sup>, FU Xue<sup>1</sup>,  
ZHANG Lan<sup>1</sup>, ZHAI Ya-Ru<sup>1</sup>, LI Hao<sup>1</sup>, YAN Wen-Jun<sup>1</sup>, WANG Hong-Ning<sup>1</sup>, YANG Xin<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Bio-Resource and Eco-Environment of Ministry of Education, Animal Disease Prevention and Food Safety Key Laboratory of Sichuan Province, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China;  
2. Sichuan Academy of Grassland Sciences, Chengdu 610097, China)

**Abstract:** In order to investigate the pathogen of yak's diarrhea, 16 feces were collected from 4 farms in Hongyuan, Tibetan Qiang Autonomous Prefecture of Ngawa, China. Multilocus sequence typing, serotyping, antimicrobial resistance and pathogenicity experiment were carried out. A total of 16 *Salmonella* were selected, all strains were *Salmonella* Derby ST71 and multi-resistant to tetracycline, ampicillin, chloramphenicol and ceftiofur. *Salmonella* isolated from bloody stool (No. 15XLR) was selected for pathogenicity experiment and the result showed that the half lethal dose of 15XLR was  $1.2 \times 10^7$  CFU, which can cause severe damage to spleen and intestine according to HE slice. This study investigated the causes of diarrhea in yaks in Hongyuan County, and confirmed that *Salmonella* Derby can invade yaks except pigs and chickens, suggesting that the prevention and control of diarrhea in yaks should pay at-

收稿日期: 2020-03-04  
基金项目: 四川省科技厅牦牛产业链技术研究集成与产业化示范项目(2016NZ0005)  
作者简介: 冯兰(1993—), 女, 四川成都人, 硕士研究生, 主要从事牦牛沙门氏菌疾病防控研究. E-mail: m18302822161@163.com  
通讯作者: 杨鑫. E-mail: yangxin0822@163.com

tention to infected and the spread of *Salmonella* in yak population.

**Keywords:** Yaks; *Salmonella* Derby; Multi-Resistance; Pathogenicity

## 1 引言

牦牛是生活在高海拔地区的哺乳动物,主要分布在中国、俄罗斯、尼泊尔和蒙古。牦牛全球总数约1 420 万头,95%生活在中国,其中四川省阿坝藏族自治州牦牛存栏量约为152 万头。由于高原地区独特的生境,且不同高原物种共享同一生态资源,致使病原菌的种间传播风险更高,牦牛更易感染各类疾病<sup>[2]</sup>。其中,腹泻是导致牦牛高死亡率的主要因素<sup>[3]</sup>。

沙门氏菌是一种严重危害动物和人类健康的病原菌,在人类<sup>[5]</sup>、猪<sup>[6]</sup>、鸡<sup>[7]</sup>、牛<sup>[8]</sup>、骆驼<sup>[9]</sup>、羊<sup>[10]</sup>等中均曾有过沙门氏菌病爆发的记录。自1885年首次被分离出来,沙门氏菌血清型已发展到2 637种<sup>[11]</sup>。部分血清型仅能感染一种或两种特定宿主,例如鸡白痢沙门氏菌仅以鸡为宿主<sup>[12]</sup>,德尔卑沙门氏菌多以猪,鸡以及人类为宿主<sup>[13]</sup>。其余大部分血清型沙门氏菌具有广泛的感染对象。在中国,流行的沙门氏菌血清型众多,包括鼠伤寒沙门氏菌<sup>[14]</sup>、副伤寒沙门氏菌<sup>[15]</sup>、肠炎沙门氏菌<sup>[16]</sup>、及德尔卑沙门氏菌<sup>[17]</sup>等。在中国四川西部及青藏高原等特殊生境,沙门氏菌也有着较长的流行历史。自1958年甘肃牧区马场爆发沙门氏菌病以来<sup>[18]</sup>,有关沙门氏菌感染藏系物种的报道越来越多,其中牦牛沙门氏菌尤甚。调查发现,感染牦牛的沙门氏菌以都柏林沙门氏菌、病牛沙门氏菌以及纽波特沙门氏菌为主。本研究首次从腹泻牦牛体内分离得到德尔卑沙门氏菌ST71,并研究了德尔卑沙门氏菌的致病性,对牦牛腹泻病的防控具有实际指导意义。

## 2 材料和方法

### 2.1 材料

PBS(上海源叶生物科技有限公司)、三氯甲烷(成都华耀化工有限公司)、异丙醇(四川绿森林化工有限公司)、DEPC水(Biosharp)、75%乙醇、95%乙醇、TRIzol(Invitrogrn)、TAKARA反转录试剂盒(生产厂家)、Taq Master Mix(成都擎科生物科技有限公司)、DNA marker2000(成都擎科生物科技有限公司)、病毒引物(成都擎科梓熙生物技术有限公司)、BHI培养基(北京陆桥技术股份有限公司)、BPW培养基(北京陆桥技术股份有限公

司)、MM培养基(北京陆桥技术股份有限公司)、M-H培养基(北京陆桥技术股份有限公司)、XLT4培养基(北京陆桥技术股份有限公司)、50%丙三醇(成都科龙化工试剂厂)、生理盐水、Taq Master Mix(成都擎科生物科技有限公司)、ddH<sub>2</sub>O、TR101沙门氏菌属诊断血清(宁波天润生物药业有限公司)、细菌基因组提取试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司)、药敏纸片(杭州微生物制剂有限公司)、4~6周龄,体重18~20 g Balb/C雄性小鼠36只(四川大学动物实验中心)、生理盐水、50%动物组织固定液(成都里来生物科技有限公司)、超纯水、小鼠灭菌饲料(成都达硕实验动物有限公司)。

### 2.2 方法

2.2.1 样本采集 2017年,于四川省红原县龙日坝乡四所养殖场采集腹泻牦牛新鲜粪便16份。采用灭菌棉签取腹泻粪样5~6 g于10 mL Eppendorf灭菌试管中,进行编号整理后置于4℃冰箱冷藏保存,采样工作结束后48 h内带回四川省动物疫病防控与食品安全重点实验室开展后续实验。

2.2.2 病毒PCR检测 所有样本均进行牛腹泻相关病毒的检测,共计检测7种病毒:牛病毒性腹泻病毒(BVDV)、牛肠道病毒(BEV)、牛冠状病毒(BCoV)、牛圆环病毒(BToV)、牛轮状病毒(BRV)、牛星形病毒(BAstV)和牛诺如病毒(BNoV),引物序列如表1所示。

2.2.3 细菌的分离鉴定 取粪样1 g于5 mL PBS中振荡混匀,使用缓冲蛋白胨水(BPW,8~18 h,37℃,180 r/min)和Rappaport's肉汤(MM,18~24 h,37℃,180 r/min)对样品进行预富集,于XLT4选择性培养基(37℃,24 h)初筛,分离菌革兰氏染色镜检。随后用BD-Phoenix-100系统(bekton-Dickinson)对分离的菌株进行全物种鉴定,并用16S rDNA引物27F和1492R(27F: 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'; 1492R: 5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3')进行PCR鉴定。PCR产物送至成都擎科梓熙生物技术有限公司测序。利用NCBI数据库,采用BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)对PCR产物的测序结果进行分析。

表 1 牛腹泻相关病毒引物

Tab. 1 Primer sequences of bovine diarrhea viral	
Primer	Primer sequences(5'-3')
BRV-F	GGTAGCGGCGTTATTTCC
BRV-R	CGCCATCTGAGTGATTACTC
BVDV-F	GACGGVGCRACTACATGGT
BVDV-R	GTCCAATTCATNCCTGGTG
BCV-F	GAGCGTCCTTTGGAAATC
BCV-R	TACTGGATGCGCGTGAAG
BToV-F	TTCTTACTACACTTTTGGGA
BToV-R	ACTCAAACCTTAACACTAGAC
BNoV-F	AGTTAYTTTTCTTTYTAYGGBGA
BNoV-R	AGTGTCTCTGTCAGTCATCTTCAT
BEV-F	GGGGAGTAGTCCGACTCCGC
BEV-R	CGAGCCCCATCTTCCAGAG
BA <sub>s</sub> TV-F	GAYTGGACBCGHTWTGATGG
BA <sub>s</sub> TV-R	KYTTRACCCACATNCCAA

2.2.4 药物敏感性实验 采用纸片扩散法测定菌株的耐药表型,并根据抗菌药物敏感性试验执行标准;第二十三版资料增刊(CLSI)的要求,在 Mueller-Hinton 琼脂平板上对 19 种抗生素进行检测:氯霉素(C;30 μg)、四环素(TE;30 μg)、头孢噻吩(EFT;30 μg)、阿莫西林(AMC;30 μg)、氨苄西林(AMP;10 μg)、头孢他啶(CAZ;30 μg)、复方新诺明(SXT;1.25+23.75 μg)、环丙沙星(CIP;5 μg)、头孢曲松(CRO;30 μg)、氟苯尼考(FFC;30 μg)、亚胺培南(IPM;10 μg)、诺氟沙星(NOR;10 μg)、多西环素(DO;30 μg)、阿米卡星(AMK;30 μg)、氨基曲南(ATM;30 μg)、多粘菌素(PB;300 units)、庆大霉素(CN;10 μg)、磷霉素(FOS;200 μg)、替加环素(TGC;15 μg). 根据 CLSI 推荐的临床解释标准对结果进行判读,多粘菌素和替加环素采用欧洲抗菌药物敏感试验委员会关于抗菌药物敏感试验的技术说明进行结果判读.

2.2.5 多位点序列分型 (Multilocus sequence typing, MLST) 采用天根细菌基因组 DNA 提取试剂盒(DP302)提取沙门氏菌 DNA,对沙门氏菌的 7 对管家基因 (*aroC*、*dnaN*、*hemD*、*hisD*、*purE*、*sucA*、*thrA*) 进行 PCR 扩增,引物序列以及扩增片段大小如表 2 所示. PCR 产物由成都擎科梓熙生物技术有限公司对扩增产物进行测序. 使用 Enterobase(<http://enterobase.warwick.ac.uk/>) 对序列进行分析并得到最终分型结果.

表 2 沙门氏菌管家基因引物序列

Tab. 2 Primer sequence of housekeeping gene of <i>Salmonella</i>		
基因	引物序列(5'-3')	片段大小 /bp
<i>thrA</i>	F:5'-GTCACGGTGATCGATCCGGT-3'	501
	R:5'-CACGATATTGATATTAGCCCG-3'	
<i>purE</i>	F:5'-GACACCTCAAAAGCAGCGT-3'	399
	R:5'-AGACGGCGATACCCAGCGG-3'	
<i>sucA</i>	F:5'-CGCGCTCAAACAGACCTAC-3'	501
	R:5'-GACGTGGAATAATCGGCGCC-3'	
<i>hisD</i>	F:5'-GAAACGTTCCATTCCGCGC-3'	501
	R:5'-GCGGATTCCGGCGACCA-3'	
<i>aroC</i>	F:5'-CCTGGCACCTCGCGCTATAC-3'	501
	R:5'-CCACACACGGATCGTGCGC-3'	
<i>hemD</i>	F:5'-GAAGCGTTAGTGAGCCGTCTGCG-3'	432
	R:5'-ATCAGCGACCTTAATATCTTGCCA-3'	
<i>dnaN</i>	F:5'-ATGAAATTTACCGTTGAACGTGA-3'	501
	R:5'-AATTTCTCATTCGAGAGGATTGC-3'	

2.2.6 血清型鉴定 沙门氏菌血清型鉴定采用宁波天润 TR101 沙门氏菌属诊断血清(60 种)试剂盒. 选择洁净消毒的载玻片作为血清凝集反应发生载体,并选取干净黑色桌面作为背景以便于清晰观察. 随后进行血清凝集,观察凝集情况,于 1 min 内观察其是否出现明显凝集现象并逐一记录.

2.2.7 小鼠致病性实验 4~6 周龄,体重 18~20 g Balb/C 雄性小鼠 36 只购于成都达硕实验动物有限公司,将小鼠置于 25±2 °C 的温度下,在 12 h 的光/暗循环下进行为期 7 d 的驯化. 通过构建沙门氏菌 OD<sub>600</sub> 与活菌数量线性回归方程,计算 37 °C 160 r/min 恒温摇床过夜培养的沙门氏菌浓度,并逐步梯度稀释至 10<sup>5</sup>~10<sup>9</sup> CFU/mL 备用. 将驯化良好的小鼠随机分为 6 组,6 只/组(编号 A-F),选取分离株 15XLR 进行动物实验, A 组小鼠腹腔注射生理盐水 0.2 mL(0.2 mL/10 g)作为阴性对照, B-F 组依次注射 0.2 mL 浓度为 10<sup>5</sup>~10<sup>9</sup> CFU/mL 沙门氏菌菌液. 每日监测其健康状况,连续监测 7 日,观察是否出现典型腹泻症状(精神不适,进行性虚弱、厌食、低头和腹泻). 本实验采用 Reed-Muench 法计算牦牛德尔卑沙门氏菌 LD<sub>50</sub> 值. 计算方法如下:

距离比例=(高于 50%的死亡率-50%)/(高于 50%的死亡率-低于 50%的死亡率)

lgLD<sub>50</sub>=高于 50%死亡率细菌稀释度的对数+距离比例×稀释倍数的对数

对死亡小鼠立即解剖,取肺脏,脾脏,肝脏,回肠,盲肠,结肠各 3 g 于 5 mL PBS 中洗涤后保存于动物组织固定液中,由成都里来生物公司进行病理切片制作。

3 结 果

3.1 细菌的分离与鉴定

经检测,所有样本中,被检测 7 种病毒均为阴性,表明本次牦牛腹泻并非由病毒感染导致。自 XLT4 选择性培养基分离到菌落。菌落整体较为湿润且具有良好的光泽度形态呈黑色湿润圆状,直径较小,约 1~2 mm。随后的 BD-Phoenix-100 系统和 16S-PCR 结果表明,从 XLT4 培养基中分离出的 16 株菌株均为沙门氏菌。

3.2 沙门氏菌多位点序列分型及血清型鉴定

Enterobase 数据分析结果显示,16 株沙门氏菌的 7 对管家基因等位基因序号均为:*thrA*: 36、*purE*: 29、*sucA*: 9、*hisD*: 36、*aroC*: 39、*hemD*: 8、*dnaN*:35。MLST 型均为 ST71。MLST 分型结果相同表示分离菌属于相同的克隆。对分离得到的 16 株沙门氏菌进行血清凝集反应,试验结果表明,所有被检测沙门氏菌均为德尔卑沙门氏菌(*S. Derby*)([1], 4, [5], 12: f, g: [1,2])。

3.3 药物敏感性实验

药敏试验结果显示所有分离株均对阿莫西林、头孢他啶、磺胺甲恶唑、环丙沙星、头孢曲松、氟苯尼考、亚胺培南、诺氟沙星、强力霉素、阿米卡星、氨曲南、多粘菌素、庆大霉素、磷霉素、替加环素敏感,同时对四环素、氨苄西林、氯霉素和头孢噻唑 4 种抗生素多重耐药(表 3)。

表 3 牦牛沙门氏菌分离株药物敏感试验结果

Tab. 3 Antimicrobial susceptibility patterns for 16*Salmonella* isolates from yaks with diarrhea in Hongyuan, Tibetan Qiang Autonomous Prefecture of Ngawa, China

编号	青霉素类	头孢菌素类		非典型 $\beta$ -内酰胺类				广谱抗生素类				喹诺酮类	磺胺类	氨基糖苷类	多肽类	甘氨酸环素类		
	氨苄西林	头孢噻夫	头孢曲松	头孢他啶	亚胺培南	氨曲南	氟苯尼考	四环素	多西环素	庆大霉素	氯霉素	磷霉素	环丙沙星	诺氟沙星	复方新诺明	阿米卡星	多粘菌素	替加环素
1XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
2XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
3XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
4XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
5XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
6XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
7XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
8XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
9XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
10XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
11XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
12XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
13XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
14XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
15XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
16XLR	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S

注:编号释义:数字:样本序列号;字母 1+字母 2:代表培养基 XLT4;字母 3:菌落在平板上呈现的色泽为红色(Red);耐药表型:S:敏感(susceptible);R:耐药(resistance)

3.4 小鼠致病性实验

3.4.1 半致死剂量测定 由于菌株源自相同克隆,本研究选取腹泻最为严重粪样 15XLR 分离株开展动物实验。通过计算动物存活率,沙门氏菌

15XLR 在 Balb/C 小鼠体内的致病性进行了测定。结果表明,分离的德尔卑沙门氏菌 15XLR 在 10<sup>6</sup> CFU/mL 时具有致死能力,在 10<sup>9</sup> CFU/mL 时致死率为 100%(表 4),根据 Reed-Muench 法,计算



得到半致死剂量(LD<sub>50</sub>)为 1.2×10<sup>7</sup>CFU.

表 4 不同剂量德尔卑沙门氏菌对小鼠致死情况  
Tab.4 The statistics of death mice by different dose of *S. Derby*

接种剂量 (CFU/mL)	1×10 <sup>9</sup>	1×10 <sup>8</sup>	1×10 <sup>7</sup>	1×10 <sup>6</sup>	1×10 <sup>5</sup>
接种只数	6	6	6	6	6
死亡只数	6	4	3	0	0
死亡比	6/6	4/6	3/6	0/6	0/6
死亡率(%)	100	66.6%	50	0	0

3.4.2 病理切片观察 苏木精-伊红(HE)染色结果显示小鼠脾白髓内有散在的小坏死灶.淋巴细胞明显凋亡或坏死,有核溶解或碎裂现象,细胞肿胀和解体,实质淋巴细胞数量明显减少,红髓面积比例相对增加.肠道组织内可见大量病变,肠结构被严重破坏.肠粘膜细胞有明显增生,肠粘膜严重局灶性坏死.细胞解体,坏死区周围可见少量炎性细胞浸润,以淋巴细胞为主,肠腺萎缩.肠黏膜局灶性坏死,炎性细胞浸润等病理变化提示受试小鼠免疫功能和消化功能下降(图 1).

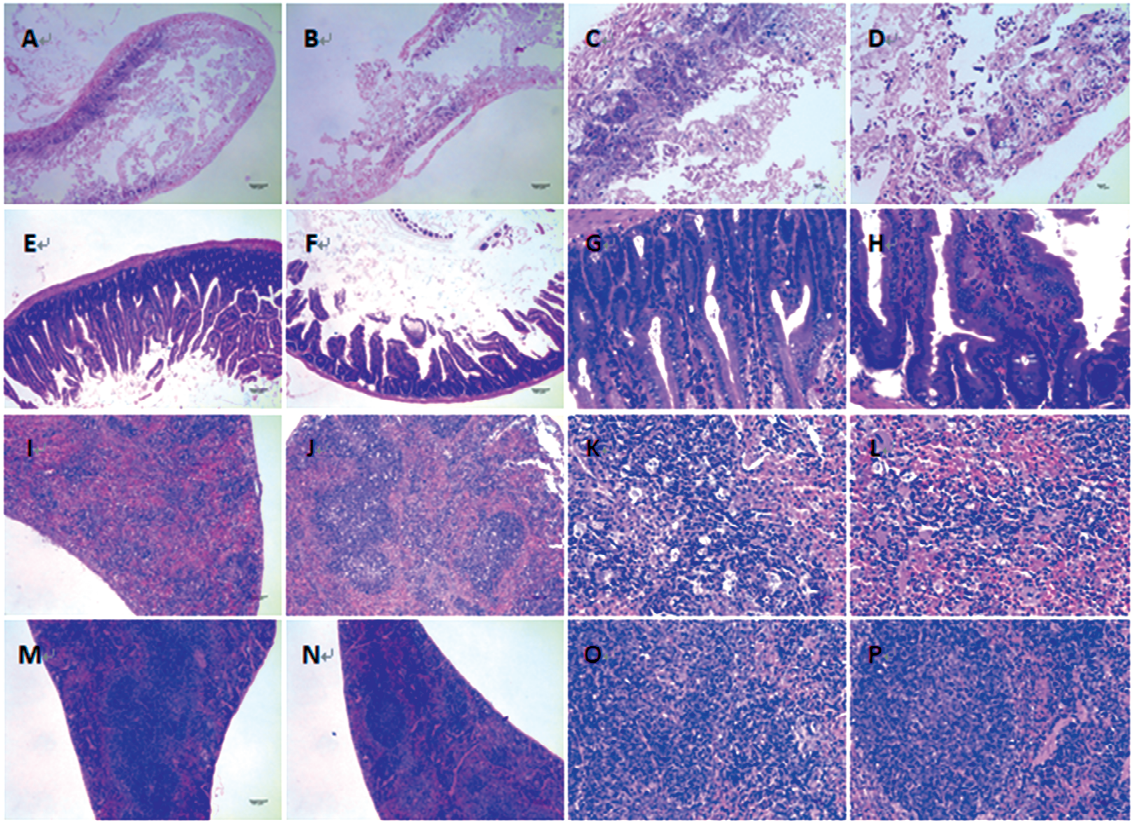


图 1 攻毒后小鼠肠道及脾脏病理切片图  
Fig.1 pathological sections of intestine and spleen of mice after detoxification  
注:A-D:10<sup>6</sup> CFU/mL 沙门氏菌攻毒后肠组织切片(A-B:100x,C-D:400x),E-H 为肠道组织对照组(E-F:100x,G-H:400x). A-B:肠壁肿胀增厚,肠细胞脱落坏死. C-D:肠结构严重受损,肠黏膜严重局限性坏死,可见细胞解体和炎性细胞浸润. I-J:可见红髓面积增大,蓝染区为白髓,散在少量白色空泡. K-L:白髓内可见大量大小不等的圆形空泡,为小坏死灶. K-L:高倍镜下,白髓内可见大量大小不等的圆形空泡. 观察到细胞核固缩、碎裂和溶解.

## 4 讨论

牦牛沙门氏菌病在牧区长期流行,有关该病的报道最早可追溯到 1958 年在甘肃山丹马场爆发过的沙门氏菌病,引起严重的牛群死亡,尤以感染犏牛为甚<sup>[18]</sup>. 牧区流行的沙门氏菌血清型主要为都柏林沙门氏菌与病牛沙门氏菌. 对四川的调查研究显示,腹泻牦牛粪便中主要以都柏林沙门氏菌为主. 2011 年,朱晓霞等<sup>[21]</sup>从四川省青藏高原临床

健康牦牛新鲜粪便中分离到 31 株沙门氏菌,血清型鉴定分别为:御成门沙门氏菌、都柏林沙门氏菌、肠炎沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、布利丹沙门氏菌、斯坦利沙门氏菌、奥雷翁沙门氏菌和纽波特沙门氏菌. 2016 年孔雪英等人<sup>[22]</sup>于红原县,小金县以及理县总共分离得到 33 株沙门氏菌,鉴定血清为乙型副伤寒沙门氏菌(*S. Paratyphi B*),鼠伤寒沙门氏菌(*S. Typhimurium*),猪霍乱沙门氏菌(*S. Cholerae-suis*),丙型副伤寒沙门氏菌(*S. Paratyphi C*)以及汤

卜逊沙门氏菌(*S. Thompson*). 未见德尔卑沙门氏菌感染牦牛的研究报道。

德尔卑沙门氏菌 MLST 型主要为 ST39、ST40、ST71 以及 ST368<sup>[23]</sup>, 蔡银强的研究报告指出, 德尔卑沙门氏菌 ST40 可对至少三种抗生素, 特别对四环素的耐药表型。相比 ST40, ST71 则为易感菌株。在 2019 年 Sévellec 等的调查报告中表明<sup>[25]</sup>, 143 株菌株中有 35.7% 表现出耐药表型, 其中对磺胺甲恶唑和四环素的耐药率较高(>70%), 对氟喹诺酮的耐药率在英国和西班牙分离的德比沙门菌中均有发现。该研究进一步研究发现, ST71 极容易产生对氨基糖苷类、磺胺类和四环素类抗生素的耐药性。与 Sévellec 等的研究不同, 本研究中, ST71 菌株对氯霉素(C)、头孢噻唑(EFT)、氨苄西林(AMP)和四环素(TE)四种抗生素均有多重耐药, 分别属于广谱抗生素、头孢菌素和青霉素类。藏区牦牛沙门氏菌耐药谱变化, 提示牧区应注意抗生素尤其是广谱抗生素的使用, 应联合用药, 以避免单一用药造成超级耐药沙门氏菌的出现。本研究沙门氏菌半致死剂量为  $1.2 \times 10^7$  CFU, 与其他血清型沙门氏菌半致死剂量, 如与 Tennant 等<sup>[26]</sup>等研究的都柏林沙门氏菌( $2 \times 10^4$  CFU)和斯坦利维尔沙门氏菌( $9.1 \times 10^4$  CFU)相比, 德尔卑沙门氏菌非强毒力菌株, 但仍可在一定浓度范围内具有致病及致死能力。

## 参考文献:

- [1] Gong X, Liu L, Zheng F, *et al.* Molecular investigation of bovine viral diarrhea virus infection in yaks (*Bos grunniens*) from Qinghai, China[J]. *Virol J*, 2014, 11: 29.
- [2] Li K, Zhang L, Zhang H, *et al.* Epidemiological investigation and risk factors of *Echinococcus granulosus* in yaks (*Bos grunniens*), Tibetan pigs and Tibetans on Qinghai Tibetan plateau [J]. *Acta Trop*, 2017, 173: 147.
- [3] Cho Y, Yoon K J. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention [J]. *J Vet Sci*, 2014, 15: 1.
- [4] Hoelzer K, Cummings K J, Wright E M, *et al.* *Salmonella* Cerro isolated over the past twenty years from various sources in the US represent a single predominant pulsed-field gel electrophoresis type [J]. *Vet Microbiol*, 2011, 150: 389.
- [5] Jain P, Chowdhury G, Samajapati S, *et al.* Characterization of non-typhoidal *Salmonella* isolates from children with acute gastroenteritis, Kolkata, India, during 2000-2016 [J]. *Braz J Microbiol*, 2020, 51: 613.
- [6] Yang G Y, Xia B, Su J H, *et al.* Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus johnsonii* L531 in a pig model of *Salmonella infantis* infection involves modulation of CCR6 T cell responses and ER stress [J]. *Vet Res*, 2020, 51: 26.
- [7] Asfaw Ali D, Tadesse B, Ebabu A. *Salmonella* prevalence and antibiotic resistance pattern of isolated from caecal contents of exotic chicken in Debre Zeit and Modjo, Ethiopia [J]. *Int J Microbiol*, 2020, 1910630.
- [8] Guizelini C C, Tutija J F, Morais D R, *et al.* Outbreak investigation of septicemic salmonellosis in calves [J]. *J Infect Dev Countr*, 2020, 14: 104.
- [9] Tejedor-Junco M T, Lupiola P, Caballero M J, *et al.* Multiple abscesses caused by *Salmonella* enterica and *Corynebacterium pseudotuberculosis* in a dromedary camel [J]. *Trop Anim Health Pro*, 2009, 41: 711.
- [10] Cetin E, Temelli S, Eyigor A. *Salmonella* prevalence and serovar distribution in healthy slaughter sheep and cattle determined by ISO 6579 and VIDAS UP methods [J]. *J Food Sci Tech Mys*, 2019, 56: 5317.
- [11] Issenhuth-Jeanjean S, Roggentin P, Mikoleit M, *et al.* Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme [J]. *Res Microbiol*, 2014, 165: 526.
- [12] Li X, Nie C, Liu Y, *et al.* *Salmonella Pullorum* The genetic architecture of early body temperature and its correlation with resistance in three chicken breeds [J]. *Front Genet*, 2019, 10: 1287.
- [13] Sevellec Y, Vignaud, M L, Granier S A, *et al.* Polyphyletic nature of *Salmonella* enterica serotype Derby and Lineage-Specific Host-Association revealed by genome-wide analysis [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 891.
- [14] Zhang Z, Cao C, Liu B, *et al.* Comparative study on antibiotic resistance and DNA profiles of *salmonella* enterica serovar *Typhimurium* isolated from humans, retail foods, and the environment in Shanghai, China [J]. *Food Borne Pathog Dis*, 2018, 15: 481.
- [15] Gong J, Kelly P, Wang C. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* enterica serovar *Indiana* in China (1984-2016) [J]. *Zoonoses Public*

Hlth, 2017, 64: 239.

[16] Wang J, Li J, Liu F, *et al.* *Salmonella* enterica characterization of isolates from diseased poultry in Northern China between 2014 and 2018[J]. Pathogens (Basel, Switzerland), 2020, 9: 95.

[17] Li Q, Yin J, Li Z, *et al.* Serotype distribution, antimicrobial susceptibility, antimicrobial resistance genes and virulence genes of *Salmonella* isolated from a pig slaughterhouse in Yangzhou, China [J]. Amb Express, 2019, 9: 210.

[18] 滕振光, 效宏如, 张世凯, 等. 牦牛暴发沙门氏菌病的报告[J]. 畜牧与兽医, 1982, 3: 97.

[19] 关龙伏, 罗淑贞, 林多杰, 等. 牦牛隐性感染沙门氏菌强度的试验研究[J]. 中国兽医科技, 1985, 2: 18.

[20] 詹发茂. 甘肃省天祝县牦牛副伤寒流行病学调查与免疫效果观察[J]. 中国兽医科技, 1998, 5: 33.

[21] 朱晓霞, 岳华, 汤承. 牦牛源沙门氏菌分离株血清群鉴定及其对小鼠的致病性[R]. 兰州: 第三届全国微生物资源学术暨国家微生物资源平台运行服务研讨会, 2011: 8.

[22] 孔雪英, 周晏阳, 罗薇, 等. 33 株牦牛肉源沙门氏菌血清型鉴定及其对小鼠的致病性研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016, 12: 108.

[23] Sévellec Y, Vignaud M L, Granier S A, *et al.* *Salmonella* enterica polyphyletic nature of serotype Derby and Lineage-Specific Host-Association Revealed by Genome-Wide Analysis[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 891.

[24] Cai Y, Tao J, Jiao Y, *et al.* Phenotypic characteristics and genotypic correlation between *Salmonella* isolates from a slaughterhouse and retail markets in Yangzhou, China [J]. Int J Food Microbiol, 2016, 222: 56.

[25] Sévellec Y, Felten A, Radomski N, *et al.* *Salmonella* genetic diversity of derby from the poultry sector in europe[J]. Pathogens (Basel, Switzerland), 2019, 8: 46.

[26] Tennant S M, Schmidlein P, Simon R, *et al.* Refined live attenuated *Salmonella* enterica serovar Typhimurium and Enteritidis vaccines mediate homologous and heterologous serogroup protection in mice [J]. Infect Immun, 2015, 83: 4504.

引用本文格式:

中 文: 冯兰, 安添午, 崔鹏飞, 等. 牦牛德尔卑沙门氏菌的分离、鉴定及致病性研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2020, 57: 1022.

英 文: Feng L, An T W, Cui P F, *et al.* Isolation, identification and pathogenicity experiment of *Salmonella enterica* Seroovar Derby from yaks (*Poephagus grunniens*) with diarrhea in Tibetan Qiang Autonomous Prefecture of Ngawa, China [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2020, 57: 1022.

# 《四川大学学报(自然科学版)》

## 征 稿 简 则

《四川大学学报(自然科学版)》是由国家教育部主管、四川大学主办的自然科学综合性学术期刊,双月刊,国内外公开发行。主要刊登在基础应用学科和高新技术科学领域具有创造性的学术论文,促进国内外学术交流。对国家和省部级基金项目成果给予优先发表。

### 1. 开设栏目

**1.1 研究论文:**透彻、完整、清晰地报导具有学术价值的新的实验、理论结果和进展。研究论文一般分引言、理论或实验方法、结果与讨论、结论等部分,不超过 8000 字。要求在引言及相关部分对该研究内容相关的背景及现状、本工作所解决的问题及意义有清楚、简洁、完整和客观的叙述。

**1.2 快报:**快速、简要地报道新的实验和理论结果。快报正文内容不分章节,一般不超过 6000 字。一旦被接受,将在 4 个月之内发表,作者可将其更为详细的内容投往国内外其它期刊。

**1.3 综合评述:**对变化较快的各相关领域的研究进展做出评述。综合评述一般不超过 10000 字,必须有作者对该领域的较为独到的和具有个人特色的批评性意见和展望。

### 2. 稿件要求

**2.1 标题、作者、单位、摘要及关键词**要求用中英双语表示。题目应以简明、确切的词语反映文中最重要的内容,避免使用非标准的缩略语以及结构式和公式。中国作者姓名采用汉语拼音。单位必须写出全称,所在城市和邮政编码。摘要应体现稿件的研究目的,方法,主要结果和结论等,不使用图表、公式,不采用非标准的术语、缩写词等。应精选出反映稿件内容的中、英文关键词各 3~6 个,按其重要性排列,分别列于中、英文摘要后。另外,请注明中图分类号代码。

**2.2 中文标准基金全称及批准号、作者简介、通讯作者信息**一律在首页用中文脚注标注。作者简介内容包括:姓名、出生年、性别、民族(汉族可省)、籍贯、职称、最高学历(可省,但在读研究生需标注)、研究方向和 E-mail 地址等。通讯作者应标注其 E-mail 地址。

**2.3 使用国际标准的缩略词、符号和计量单位系统时**,全文要一致。摘要和正文中的缩略词在首次出现时须写出全称,后附缩略词,并用圆括号括起,此后可直接引用。应严格执行 GB3100~3102-93 有关法定计量和单位的规定。单位符号一律用正体,变量的符号(包括下标)需用斜体。

**2.4 插图(照片)、表具有自明性**,并按出现的先后次序顺序编号。在论述中应先文后图、表。中文稿件中,插图(照片)、表标题应同时采用中英文双语表示。插图(照片)、表头的量或用来标记图形轴线的量,用“量符号/单位标准化符号”形式标记。表应置于正文相应位置处,用三线表,必要时可加辅助线。若有表注,可写在表底线左下侧。插图曲线要求墨色均匀、粗细均匀,照片要求清晰,黑白反差大。彩色插图(照片)需转化为灰度图。插图(照片)要精选,切忌与表及文中表达重复。

**2.5 应引用与本工作有关的、近年的主要文献**,未公开发表的资料请勿引用。引用时,参考文献序号须加[ ],一般置于右上角;若写成“文献[ ]”,则与正文平排。参考文献应按正文中引文出现的先后顺序列出。参考文献中,作者应以姓在前、名缩写在内的形式列出

(不加缩写点)。文献作者 3 名以内全部列出,4 名以上只列前 3 名,后加“,等”或“,et al”。英文稿件中的中文参考文献需在其后注明“(in Chinese)”。专著、期刊等文献格式按 GB/T 7714-2015 的规则执行,说明如下(详细说明请参考本刊网站投稿指南):

**+ 专著(包括各种图书,学位论文,技术报告,文集,丛书等)**

主要责任者. 题名:其他题名信息[文献类型标志]. 其他责任者. 版本项(初版不写). 出版地:出版者,出版年:起始页码。

**+ 专著中的析出文献**

析出文献主要责任者. 析出文献题名[文献类型标志]. 析出文献其他责任者//主要责任者. 专著题名:其他题名信息. 版本项(初版不写). 出版地:出版者,出版年:起始页码。

**+ 连续出版物(包括期刊,报纸等)**

主要责任者. 题名:其他题名信息[文献类型标志]. 年,卷(期)-年,卷(期). 出版地:出版者,出版年:起始页码。

**+ 连续出版物中的析出文献**

析出文献主要责任者. 析出文献题名[文献类型标志]. 连续出版物题名:其他题名信息,年,卷(期):起始页码。

**+ 专利文献**

申请专利者或所有者. 专利题名:专利国别,专利号[文献类型标识]. 公告日期或公开日期。

**+ 电子文献**

主要责任者. 题名:其他题名信息[文献类型标志/文献载体标志]. 出版地:出版者,出版年(更新或修改日期)[引用日期]. 获取或访问路径(其中文献类型标志/文献载体标志包括:[DB/OL]表示联机网上数据库,[DB/MT]表示磁带数据库,[M/CD]表示光盘图书,[CP/DK]表示磁盘软件,[J/OL]表示网上期刊,[EB/OL]表示网上电子公告)

### 3. 其 它

**3.1 自 2007 年起**,作者须通过网站投稿系统投稿。来稿刊登与否由编辑部根据专家审稿意见和编委会决议最后审定。拟刊登的稿件,作者需提供其最后定稿的方正或 Word 等电子文档;不拟刊登的来稿,编辑部将及时函告作者,但稿件不退还,请自留底稿。

**3.2 稿件文责自负(包括政治、学术、保密等)**,编辑部有权进行技术性和文字性的修改。来稿一经排版,作者对清样稿不能再作大量的文字改动。编辑部对在本刊发表论文者,收取适量的发表费。稿件刊登后向作者寄送本期刊样 1 份、精装抽印本 10 份,并为作者提供该文的 PDF 文档。

**3.3 作者须同意将该文的复制权、发行权、信息网络传播权、翻译权、汇编权等权力在全世界范围内转让给编辑部。**

**3.4 清样稿的 PDF 文档**将通过 E-mail 发给通讯作者作最后的阅读和校对。编辑部在收到校对后的清样稿和发表费后再安排付印。

**3.5 凡与编辑部的通讯**,请注明稿件编号。来函请寄:610064 四川省成都市四川大学学报(自然科学版)编辑部。电话:(028) 85410393, E-mail:scdx@scu.edu.cn, 网址: <http://science.ijournals.cn>

本刊为:

- + 全国中文核心期刊
- + 中国期刊方阵期刊

本刊荣获:

- + 1995 年四川省十佳科技期刊奖
- + 1995 年全国高校优秀学报二等奖
- + 1999 年全国高校优秀期刊二等奖
- + 2000 年四川省第二届优秀期刊一等奖
- + 2004 年全国高校优秀科技期刊二等奖

本刊被下列国内外重要检索系统列为刊源:

- + 美国《数学评论》(MR)

- + 美国《化学文摘》(CA)
- + 俄罗斯《文摘杂志》(PJK)
- + 英国《动物学记录》(ZR)
- + 美国《生物学文摘》(BA)
- + 德国《数学文摘》(Zbl Math)
- + 中国科学引文数据库
- + 中国科技论文与引文数据库
- + 中国学术期刊综合评价数据库
- + 中国学术期刊(光盘版)数据库
- + 万方数据系统科技期刊群数据库

四川大学学报(自然科学版)  
Sichuan Daxue Xuebao (Ziran Kexue Ban)  
(双月刊 1955 年创刊)  
第 57 卷 第 5 期

Journal of Sichuan University  
(Natural Science Edition)  
(Bimonthly, Started in 1955)  
Vol. 57 No. 5

主办单位 四川大学  
主管单位 国家教育部  
编辑出版 四川大学学报(自然科学版)编辑部  
(四川省成都市武侯区望江路 29 号,  
邮编: 610064)  
E-mail: scdx@scu.edu.cn  
主 编 刘应明 教授  
常务副主编 陈忠林 教授  
印 刷 成都市富生实业有限公司  
国内发行 四川省报刊发行局  
国内订购 全国各地邮政局  
国外发行 中国国际图书贸易总公司  
出版日期 2020 年 9 月 28 日

Sponsored by Sichuan University  
Managed by National Education Ministry  
Edited by Editorial Department of Journal of Sichuan University (Natural Science Edition)  
<http://science.scu.edu.cn>  
<http://science.ijournals.cn>  
Editor Professor LIU Ying-Ming  
Administrative Vice Editor Professor CHEN Zhong-Lin  
Printed by Chengdu Fusheng Co., Ltd  
Distributed by Sichuan Newspaper & Journal Publishing Bureau  
Domestic All Local Post Offices  
China International Book Trading Corporation  
Publishing Date Sep. 28, 2020

连续出版物号: ISSN 0490-6756  
CN 51-1595/N

邮发代号: 国内 62-127  
国外 BM 5974

国内定价: 20.00 元/期  
120.00 元/年