

西藏地区牦牛源沙门菌分离鉴定、
血清分型及致病性研究

李天娇¹, 班马泽郎¹, 李登宇¹, 张开琴¹, 赵晓慧¹, 王保宁^{1,2}, 索朗斯珠¹

(1. 西藏农牧学院动物科学学院, 林芝 860000;
2. 四川大学华西基础医学与法医学院, 成都 610041)

摘 要: 本研究旨在了解西藏地区牦牛源沙门菌流行情况、分布情况和血清型种类. 通过采集西藏全区七地市牦牛腹泻粪便, 利用细菌培养特性、生化特性和分子生物学方法对样品中细菌进行分离鉴定, 再根据血清特异性凝集对分离菌株进行血清分型, 最后利用动物感染试验和动物组织 HE 染色法了解菌株致病性强弱. 结果表明: 西藏全区共分离出 50 株沙门菌, 检出率为 25.13%(50/199). 其中, 拉萨、昌都和山南三地分离率相较于其他四地较高, 阿里地区分离率最低; 血清型分型结果显示, 共分离出 B 群、C1 群、C2 群、D 群 4 种血清群, 包含都柏林沙门菌、伤寒沙门菌、阿邦尼沙门菌等血清型共 18 种血清型. 按血清群统计结果显示, 4 种血清群中, 以 D 群所占血清菌株最多, 为常见血清群; 50 株沙门菌种以都柏林沙门菌为优势血清型, 占有菌株的 20.00%(10/50); 从各地区沙门菌分型结果显示, 各地区所占血清群、血清型数量均不相同. 致病性试验结果显示: 牦牛源都柏林沙门菌感染 KM 小鼠的 LD₅₀ 为 0.368×10⁸CFU/mL, 属强致死性菌株; 组织 HE 染色观察结果显示牦牛源都柏林沙门菌可引起宿主全身性损坏, 其中脾脏、肺脏、肠和胃组织病变程度较重. 本次试验结果提示我们沙门菌在西藏牦牛源中确实存在, 且具有一定流行趋势, 同时也确定了西藏地区牦牛源沙门菌的常见血清群、优势血清型, 以及优势血清型都柏林沙门菌的致病强度.

关键词: 西藏牦牛; 沙门菌; 分离鉴定; 血清型; 致病性

中图分类号: S852.61+2 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2022.046002

Isolation, identification, serotyping and pathogenicity of
Salmonella from Yaks in Tibet

LI Tian-Jiao¹, BANMA Ze-Lang¹, LI Deng-Yu¹, ZHANG Kai-Qin¹, ZHAO Xiao-Hui¹,
WANG Bao-Ning^{1,2}, SUOLANG Si-Zhu¹

(1. Animal Science College Tibet Agriculture & Animal Husbandry University, Nyingchi 860000, China;
2. West China School of Basic Medical Science and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: The purpose of this study was to understand the prevalence, distribution and serotypes of *Salmonella* from yak sources in Tibet. By collecting yak diarrhea feces in seven districts of Tibet, the bacteria in the samples were isolated and identified by using bacterial culture, biochemical characteristics, and molecular biology methods, and then the isolated strains were serotyped according to serum specific ag-

收稿日期: 2021-04-25
基金项目: 西藏自治区科技厅 2019 年度重点项目(201901); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系(CARS-37)
作者简介: 李天娇(1996—), 女, 西藏林芝人, 硕士研究生, 主要从事高原动物传染病的研究. E-mail: 930155282@qq.com
通讯作者: 索朗斯珠. E-mail: xzslsz@163.com

glutination, and finally, animal infection and HE staining of animal tissue were used to understand the pathogenicity of strains. The results showed that a total of 50 *Salmonella* strains were isolated from the whole region of Tibet, with a detection rate of 25.13% (50/199). Among them, the separation rate of Lhasa, Qamdo, and Shannan was higher than the other four, and the Ngari area is the lowest; the serotyping results show that 4 serogroups including B group, C1 group, C2 group and D group were isolated. The serogroup includes 18 serotypes including *Salmonella* Dublin, *Salmonella* Typhi, and *Salmonella* Aboni. According to serogroup statistics, among the 4 serogroups, group D accounts for the most serogroups and is a common serogroup; 50 *Salmonella* strains were dominated by *Salmonella*, accounting for 20.00% (10/50) of all strains; The typing results of *Salmonella* in various regions show that the number of serogroups and serotypes in each region are different. The results of the pathogenicity test showed that the LD₅₀ of KM mice infected with yak-derived *S. dublin* was 0.368×10^8 CFU/mL, which was a highly lethal strain. The results of tissue HE staining showed that yak-derived *S. dublin* could cause systemic damage to the host. Among them, the spleen, lung, intestine and stomach have more severe lesions. The results of this experiment suggest that *Salmonella* does exist in Tibetan Yak sources, and has a certain trend of prevalence. At the same time, the common serogroups, dominant serotypes and dominant serotypes of *Salmonella* dublin from yak sources in Tibet have been identified, and the pathogenicity of the dominant serotype was also identified.

Keywords: Tibetan Yaks; *Salmonella*; Isolation and identification; Serotype; Pathogenic

1 引言

沙门菌(*Salmonella*)为革兰氏阴性短小杆菌,肠杆菌科沙门菌属^[1]. 据国内外研究报道,沙门菌在多种动物中均有发现,在动物相关副产品及食材中也常有检出,所以沙门菌也是食源性疾病中最常见的病原菌之一,动物感染沙门菌时,常引起胃肠炎及局部炎症,严重时会引起不同程度的败血症^[2-4]. 成牛感染时临床表现为水样或血样腹泻,严重时表现为呼吸系统疾病或流产;犏牛感染时死亡率高于成牛^[5]. 牦牛是生长在我国高海拔地区的特有物种,西藏作为我国牦牛主产地之一,牦牛更是当地牧民的重要经济来源之一^[6]. 自关龙伏等人^[7]于 1985 年首次报道从青海牦牛源中分离出沙门菌后;张斌等^[8]、柏雪等^[9]和冯兰等^[10]也陆续报道了青海、四川等地牦牛源沙门菌相关研究,说明沙门菌在高海拔牧区长期处于流行状态. 加之,沙门菌主要以粪-口传播,牧区养殖模式又以放牧为主,利于沙门菌的传播,严重影响当地牦牛养殖产业的健康发展.

沙门菌血清型多达 2500 种,常见血清型均具有一定致病性,同时根据宿主的感染范围不同,血清型也会有所不同,致病性也有所差异^[11]. 牛沙门菌病可由多种血清型引起,都柏林沙门菌为其中

最主要的血清型,牛作为其天然宿主极易被感染,沙门菌也易导致母牛流产,犏牛死亡. 了解宿主的优势血清型及致病性强弱,有助于为相关疫病提出较为针对性的防控管理措施.

目前,国内外针对牦牛源沙门菌的研究较少,西藏地区沙门菌感染情况、菌株的分离鉴定和优势血清型等相关方面的研究更甚. 因此,本研究通过采集西藏拉萨市、林芝市、昌都市和山南市等西藏全部七地市牦牛源腹泻样品,对样品中的沙门菌进行分离鉴定及血清型分型,旨在了解西藏各地区牦牛源沙门菌感染情况及优势血清型分布情况,同时随机选取本试验中优势血清型沙门菌一株进行动物试验和病变组织切片,旨在了解其菌株的致病性强弱,为后续相关方面深入研究提供理论基础和数

2 材料与方法

2.1 材料

牦牛源新鲜腹泻粪便,采集自西藏拉萨市、林芝市、昌都市和山南市等七地市,共 199 份,样品具体分布情况见表 1. 样品采集后及时编号,保存至 -20 °C 冰箱.

BPW 培养基、MRSV 培养基购自美国 BD 公司;LB 培养基、TTB 培养基、SS 培养基、BS 培养

基、TSI 培养基、营养琼脂购自杭州微生物试剂有限公司;革兰氏染色试剂盒购自青岛海博生物技术有限公司;TR101 沙门菌属诊断血清试剂盒购自宁波天润生物药业有限公司;Premix TaqTM

(TaKaRa TaqTM Version 2. 0)、DL 2000 DNA marker 购自大连宝生物有限公司. 试验动物为 SPF 级,4~6 周年龄、体重 18~20 g 的 KM 小鼠 72 只,购自成都达硕实验动物有限公司.

表 1 样品分布情况
Tab.1 Sample distribution

西藏各地市	拉萨	林芝	那曲	日喀则	昌都	阿里	山南
海拔/米	3650	2954	4510	3940	3257	4280	3572
样品数量/份	59	46	36	10	19	15	14

2.2 方 法

2.2.1 细菌分离培养 将采集的样品参照 GB4789. 4-2010^[12]和 Liu 等人^[13]的方法进行分离培养. 将样品接种于 BPW 培养液中,进行前期预增菌;将上述增菌液接种在 MRSV 半固体培养基上,进行初筛;初筛后的菌液在 SS、XLT4 选择性培养基上复筛;筛选出的单菌落进行革兰氏染色、镜检;并将符合形态特征的菌落接种于 TTB 培养液进行纯化.

2.2.2 生化试验 将 TSI 固体培养基制成斜面培养基,将纯培养菌液在 TSI 培养基上进行斜面穿刺,37 ℃培养 12 h 后观察结果.

2.2.3 PCR 鉴定 利用高温裂解法提取菌株的 DNA,并利用 PCR 技术检测菌株的特异性鉴定基因 *invA*^[14],引物序列: 5'-GTGAATTATCG-CACGTTTCGGCAA-3'; 5'-TCATCGCACGT-CAAAGGAACC-3'. 将引物序列送至上海生工生物科技有限公司合成.

反应总体系 25 μL,其中:DNA 模板 2 μL, Premix TaqTM12. 5 μL,上下游引物各 1 μL,ddH₂O 补充至 25 μL. 退火温度为 61 ℃,共 35 个循环. PCR 产物经 1. 0%琼脂糖凝胶电泳检测,并将扩增产物送至上海生工生物科技有限公司测序.

2.2.4 血清型鉴定 将 TSB 中纯培养菌液接种于营养琼脂上,37 ℃培养 12 h. 将培养基中的单菌落在玻片上与 TR101 沙门菌属血清诊断试剂盒(宁波天润生物药业有限公司)中的血清混合,观察凝集的情况并记录凝集情况,血清凝集结果根据 Kauffman-white^[15]标准进行分析.

2.2.5 测定菌株 LD₅₀ 从此次菌株优势血清型(*Salmonella dublin*)中随机选取一株沙门菌,该菌株编号为 H42,测定其 LD₅₀. 将驯养后的 KM 小

鼠随机分成 7 组试验组,1 组对照组,1 组空白组,每组各 8 只小鼠.

根据预实验中测得 H42 的 LD₀ 为 0. 208×10⁸ CFU/mL,LD₁₀₀ 为 0. 648×10⁸ CFU/mL,利用改良寇氏法^[16] 计算公式 $r = \frac{(G^{-1})\sqrt{LD_{100}/LD_0}}{(7^{-1})\sqrt{LD_{100}/LD_0}}$ (G 为组数),计算出 H42 的 $r = \frac{(7^{-1})\sqrt{LD_{100}/LD_0}}{(7^{-1})\sqrt{LD_{100}/LD_0}} \approx 1. 21$,确定各组小鼠攻毒剂量(详见表 2). 将稀释菌液腹腔注射于试验组小鼠体内,对照组腹腔注射无菌生理盐水,注射剂量均为 0. 2 mL/只. 注射后密切观察小鼠 7 d 内死亡情况并做好试验记录.

表 2 试验组小鼠注射菌量
Tab. 2 Amount of bacteria injected into mice in the test group

试验组	1	2	3	4	5	6	7
注射菌量 /10 ⁸ CFU/mL	0. 208	0. 251	0. 304	0. 368	0. 445	0. 539	0. 648

2.2.6 病理切片 将攻毒后 24 h 内(急性)死亡小鼠,72 h 后(慢性)死亡小鼠立即解剖后,取心脏、肝脏、脾脏、肺脏、胃组织、肠组织于无菌生理盐水洗涤后,用 4%多聚甲醛进行固定,并将组织委托成都里来生物有限公司制作 HE 切片进行观察,并记录结果.

3 结 果

3.1 细菌分离纯化

将疑似菌落接种于 SS 固体培养基和 BS 固体培养基上,菌株在 SS 平板上生长出透明且中心带黑点的圆形单菌落,在 BS 平板上生长出黑褐色且带有金属光泽的圆形单菌落,将疑似单菌落染色镜检后,显微镜油镜下观察为粉红色短小杆菌. 以上特征均符合沙门菌生长特性及形态学特征,结果见图 1.

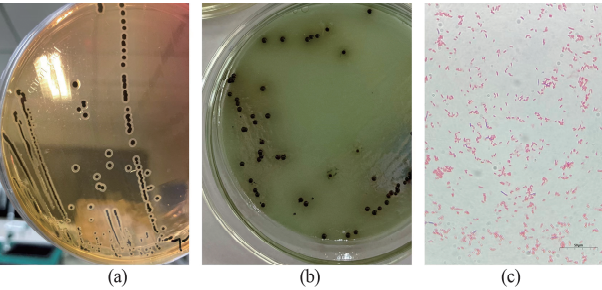


图 1 分离菌株的菌落形态和镜检结果
(a) SS 培养基; (b) BS 培养基; (c) 革兰氏染色油镜结果
Fig.1 Colony morphology and microscopic examination results of isolated strains
(a) SS Culture medium; (b) BS Culture medium; (c) Gram stain oil microscope results

3.2 生化试验

分离菌株均能与 TSI 反应生成 H₂S 黑色沉淀,且分解 TSI 中葡萄糖,使斜面变红,表面氧化后则变黄,符合沙门菌生化特性.

3.3 PCR 鉴定

疑似沙门菌的单菌落进行特异性基因 *invA* 检测显示,分离菌株目的条带约为 284 bp,与预期条带大小相似,结果见图 2. 将 PCR 结果结合培养特性、形态学特征及生化特性结果显示:西藏 7 地市共分离出 50 株沙门菌,检出率为 25. 13%(50/199). 其中拉萨 19 株,检出率为 32. 20%(19/57); 林芝 9 株,检出率为 19. 57%(9/46); 那区 7 株,检出率为 19. 44%(7/36); 日喀则 2 株,检出率为 20. 00%(2/10); 山南 4 株,检出率为 28. 57%(4/14); 阿里 2 株,检出率为 13. 34%(2/15); 昌都 7 株,检出率 36. 84%(7/19). 本次分离结果中,拉萨、昌都和山南三地分离率相较于其他四地较高,阿里地区的分离率最低.

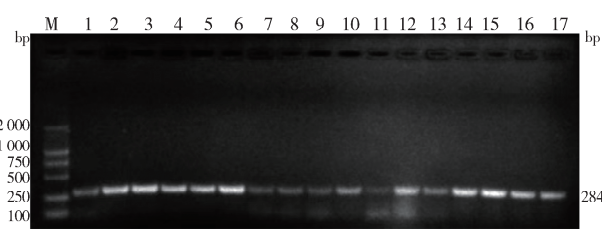


图 2 牦牛源沙门菌 *invA* 基因 PCR 结果
M:DL 2 000 DNA 分子量标准;1~5:拉萨;6~9:林芝;10~12:那曲;13:山南;14:阿里;15:日喀则;16~17:昌都
Fig.2 PCR results of *invA* gene of *Salmonella* from Yaks
M:DL2 000 DNA maker;1~5:Lhasa;6~9:Nyingchi;10~12:Nagqu;13:Shannan;14:Ngari;15:Rikaze;16~17:Changdu

3.4 血清型鉴定

本次血清型分型结果显示:50 株沙门菌共分属 B 群、C1 群、C2 群、D 群 4 种血清群,含都柏林

沙门菌、伤寒沙门菌、阿邦尼沙门菌等血清型共 18 种. 按血清群统计结果显示:4 种血清群中,以 D 群所占血清菌株最多,为常见血清群,含 5 种血清型,共 20 株分离菌;其次是 B 群含 8 种血清型,共 19 株菌;C1 群占 3 种血清型,共 9 株菌;C2 群占 2 种血清型,共 2 株菌,具体结果详见图 3.

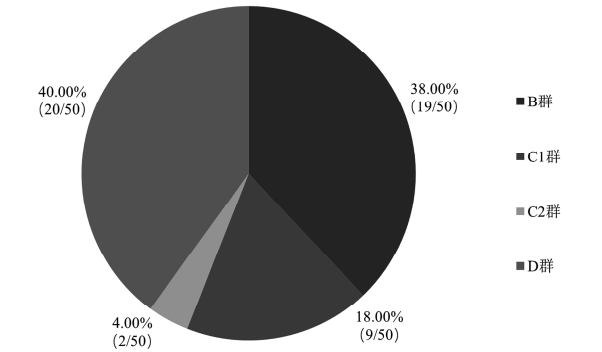


图 3 50 株牦牛源沙门菌所占血清群比例
Fig.3 Proportion of 50 Strains of *Salmonella* from Yaks

从 18 种血清分型结果显示:西藏地区沙门菌的优势血清型为都柏林沙门菌共 10 株,占总分型菌株的 20. 00%(10/50);其次是伤寒沙门菌和阿邦尼沙门菌个 7 株,占总分型菌株的 14. 00%(7/50);接着是丙型副伤寒沙门菌共 6 株,占总分型菌株的 12. 00%(6/50),血清型统计结果详见图 4.

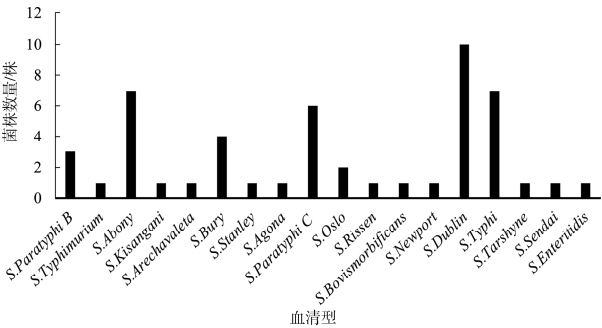


图 4 50 株牦牛源沙门菌血清型分布情况
Fig.4 Distribution of 50 Serotypes of *Salmonella* from Yaks

从各地沙门菌血清分型结果显示:各地所占血清群、血清型数量均不相同. 其中,拉萨市共有 10 种血清型,且 4 种血清群均有分布,以都柏林沙门菌和伤寒沙门菌为优势血清群;林芝市共 5 种血清型 2 种血清群,以都柏林和阿邦尼沙门菌为优势血清型;那曲市共 5 种血清型,以丙型副伤寒、伤寒沙门菌为优势血清型;日喀则两株分离菌均为伯里沙

门菌;昌都市共包括 6 种血清型,以阿邦尼沙门菌型,具体结果详见表 3。
为优势血清型;阿里和山南分离菌株均为不同血清

表 3 西藏各地市牦牛源沙门菌血清分型情况(单位:株)
Tab. 3 Serotypes of *Salmonella* from Yaks in various cities in Tibet

血清型	O 抗原	H 抗原	拉萨	林芝	那曲	日喀则	昌都	阿里	山南	合计
<i>S. Paratyphi B</i>	1,4,[5],12	b,1,2	1	1	1					3
<i>S. Typhimurium</i>	1,4,[5],12	i,1,2	1							1
<i>S. Abony</i>	1,4,[5],12,27	b,e,n,x		3			2	1	1	7
<i>S. Kisangani</i>	1,4,[5],12	a,1,2					1			1
<i>S. Arechavaleta</i>	4,[5],12	a,1,7		1						1
<i>S. Bury</i>	4,12,[27]	c,z6			1	2	1			4
<i>S. Stanley</i>	1,4,[5],12,[27]	d,1,2							1	1
<i>S. Agona</i>	1,4,[5],12	f,g,s,[1,2]					1			1
<i>S. Paratyphi C</i>	6,7,[Vi]	c,1,5	2		2			1	1	6
<i>S. Oslo</i>	6,7,14	a,e,n,x	2							2
<i>S. Rissen</i>	6,7,14	f,g	1							1
<i>S. Bovismorbificans</i>	6,8,20	r,[i],1,5	1							1
<i>S. Newport</i>	6,8,20	e,h,1,2			1					1
<i>S. Dublin</i>	1,9,12,[Vi]	g,p	5	3			1		1	10
<i>S. Typhi</i>	9,12,[Vi]	d	4		2		1			7
<i>S. Tarshyne</i>	9,12	d,1,6	1							1
<i>S. Sendai</i>	1,9,12	a,1,5	1							1
<i>S. Enteritidis</i>	1,9,12	g,m,[1,7]		1						1
合计			19	9	7	2	7	2	4	50

表 4 各组小鼠感染牦牛源都柏林沙门菌死亡情况
Tab. 4 Deaths of mice infected with Yaks *Salmonella* *Dublin* in each group

组号	动物数/个	死亡数/个	死亡率/%
试验 1	8	0	0
试验 2	8	2	25.0
试验 3	8	3	37.5
试验 4	8	4	50.0
试验 5	8	5	62.5
试验 6	8	6	75.0
试验 7	8	8	100
对照组	8	0	0
空白组	8	0	0

3.5 牦牛源 *Salmonella Dublin* 感染小鼠的 LD₅₀
LD₅₀ 试验结果(详见表 4),经 SPSS 21.0 软件

分析,牦牛源都柏林沙门菌对感染小鼠的 LD₅₀ 为 0.368×10⁸ CFU/mL,95%置信区间为 0.311×10⁸~0.434×10⁸ CFU/mL.

3.6 病理切片

光镜下观察小鼠组织病理切片结果显示:急性(24 h 内)死亡组小鼠的心脏、肠组织和胃组织相关细胞结构完整清晰无明显病变,肝脏、脾脏和肺脏相关细胞出现轻微坏死和变性。慢性(72 h 后)死亡组小鼠心脏间质轻微炎细胞浸润,以淋巴细胞为主;脾脏相较于急性组较为严重,骨髓和红髓细胞变性、坏死且细胞边缘基本消失,免疫细胞聚集增多;肺泡上皮细胞也相较于急性组严重,出现上皮细胞慢性坏死;肠组织黏膜层结构模糊,大面积溶解坏死,肠腔坏死区域细胞大量坏死,部分区域出现轻微充血扩张;胃部黏膜层也坏死溶解明显,结果详见图 5。

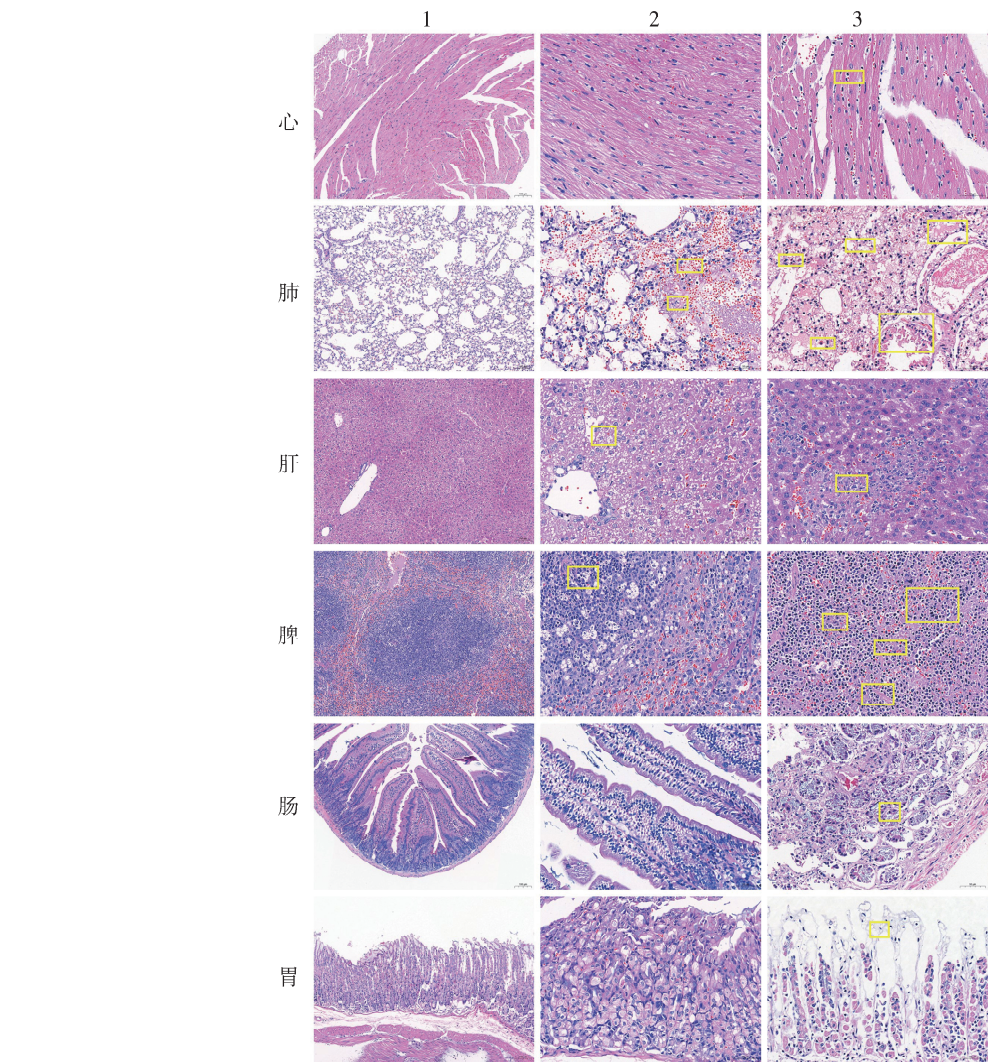


图 5 牦牛源都柏林沙门菌感染小鼠各病变组织病理切片
1:对照组 HE 染色; 2:急性组 HE 染色; 3:慢性组 HE 染色
Fig. 5 Histopathological sections of each lesion in mice infected with *Salmonella Dublin* from Yaks
1: HE staining of control group; 2: HE staining in acute group; 3: HE staining of chronic group

4 讨 论

沙门菌作为一类重要的食源性病原菌,宿主众多,可感染各个年龄段的牛只,以犏牛最为常见^[17]. 李慧明等人^[18]对四川省牦牛群调查结果显示,沙门菌引起的的牦牛发病率 2.76%~34.82%,死亡率高达 4.61%~47.32%. 随着研究深入,国内各地有关牦牛源沙门菌的相关报道也逐步增多,说明沙门菌在牦牛群中处于长期流行状态,且死亡率也较高,但针对西藏牦牛源沙门菌相关研究报道却较为少见. 本次研究中,西藏地区牦牛源沙门菌总分离率为 25.13%,与逯玉等人^[19]从青海犏牛腹泻样品的分离率 24.00%结果相似. 本次研究结果确定沙门菌在西藏牦牛源中存在,七地市均有分离说明该细菌在西藏存在一定的流行

趋势.

目前,高原草场超载、矿元素缺乏等问题普遍存在于青藏高原等高海拔地区,这些原因可直接影响牦牛生长发育、机能维持等方面^[20]. 而西藏整体处于该情况,加之牛群结构不合理、养殖模式单一,牛群常有未淘汰的老牛、未及时发现的病牛和抵抗力较弱的犏牛,导致牛群极易感染各类病原菌;并且在放牧情况下,病牛和隐性感染牛不易发现,污染放牧环境,加大牛群患病机率^[21]. 本次研究结果提示我们需改善养殖方式和加强监管措施,减少感染机率,尤其分离率高的地区更应引起重视. 同时,分离率最高的拉萨、昌都、山南三地,环境相似,海拔较为接近,但感染率高是否与海拔存在相关性,还需深入研究.

沙门菌对人和温血动物致病的血清型主要集

中于 A~F 血清群,朱晓霞等人^[22]针对四川藏区沙门分群中血清型也主要集中于 B 群、D 群中,与本次试验中常见血清群结果相似,说明牦牛虽产地不同,但高海拔地区也存在一定的相似性。沙门血清根据宿主感染不同,存在专嗜性、偏嗜性、泛嗜性。牛沙门菌病可由多种血清型引起,都柏林沙门菌为牛源最主要的血清型,其次是鼠伤寒沙门菌,本次研究中以上两种血清型均有分离,都柏林沙门菌更是西藏牦牛源优势血清型^[23]。李慧明等人^[18]针对四川牦牛源沙门菌鉴定结果显示,菌株中 21.87% 为都柏林沙门菌;20 世纪 80 年代陈含义等人^[24]和滕振光等人^[25]分别从青海两地牦牛源中分离出的沙门菌也均为都柏林沙门菌;国外也曾有牛群感染都柏林沙门菌的报道。

本次试验中牦牛源都柏林沙门菌感染 KM 小鼠的半数致死结果为 0.368×10^8 CFU/mL,相较于冯兰等^[10]感染小鼠的半数致死结果 1.2×10^7 CFU/mL 较高,属于强致死性菌株。随后观察病变组织切片发现此株都柏林沙门菌可引起宿主全身性感染,心脏组织心肌纤维变性坏死,肝脏组织肝细胞变性坏死、肝窦淤血扩张,脾脏组织淋巴细胞减少、坏死、骨髓萎缩、脾血窦淤血,肺脏组织支气管脱落、肺泡上皮细胞变性坏死、水肿、炎细胞浸润、出血,肠组织黏膜层变性坏死、充血,胃组织黏膜层变性坏死等病理改变,与对照组相比,急性组和慢性组均可见不同程度病理改变,且慢性组整体病理程度重于急性组,其中脾脏、肺脏、肠和胃组织病变程度较重。因此,我们需重视 *S. Dublin* 引起的危害,及时制定有针对性的防控管理措施。同时此次沙门血清分型种类较多,我们也需考虑存在多种血清型引起牛只患病的情况,需要我们提高对牛群沙门菌感染情况的重视。

此次牦牛源沙门菌中还分离出鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌,这两种血清型具有泛嗜性,拥有广泛感染的宿主谱,可引起人和多种动物相关沙门菌病,具有重要的公共卫生学意义^[26]。乙型、丙型副伤寒沙门菌主要造成人类食物中毒,孔雪英等人^[27]曾从牦牛肉中检出这两种副伤寒沙门菌,说明牦牛在屠宰过程中可能感染沙门菌,而人类食用牦牛肉时,也存在一定的感染风险。因此我们需加强在牛只屠宰到销售过程中的监管环节,降低副产品被污染的机率。同时,病牛沙门菌作为罕见的非伤寒沙门菌,和纽波特沙门菌,在研究报道中主要是食物污染而引起的食物中毒,也需引起相关监管

部门的重视^[28,29]。阿邦尼沙门菌毒性也较强,孙阳阳等人^[30]曾在驴源中分离,陈俊等人^[31]人则从鸭源中分离得到奥斯陆沙门菌,而本次牦牛源沙门分型结果中均分离得到这两种血清型,需考虑这两种血清型可能存在多种动物间交叉感染的情况。而伯里、阿雷查瓦莱塔、里森、塔西、仙台等血清型相关研究报道较少,是否具有较强毒性和致病性还需进一步研究。本次分型结果中沙门菌血清型种类较多,优势血清型特点突出,部分血清型宿主广泛、危害较大,提示我们需引起高度重视,也可针对相关优势血清型进行深入研究。

5 结 论

目前,国内外针对牦牛源沙门菌研究较少,有关全区牦牛源沙门菌的研究更少。本次实验针对西藏全区牦牛源沙门菌进行分离鉴定,确定沙门菌在西藏牦牛源中确实广泛存在,且具有一定流行趋势;本次试验也确定了西藏地区的常见血清群和优势血清型;确定了牦牛源 *S. Dublin* 具有较强的致病性。为以后相关方面深入研究提供理论基础,也为相关部门防治提供数据支撑。

参考文献:

- [1] Zishiri O T, Mkhize N, Mukaratirwa S. Prevalence of virulence and antimicrobial resistance genes in *Salmonella* spp. isolated from commercial chickens and human clinical isolates from South Africa and Brazil [J]. Onderstepoort J Vet Res, 2016, 83: a1067.
- [2] Kiflu B, Necash Y, Equale T, et al. *Salmonella* serotypes and their antimicrobial susceptibility in apparently healthy dogs in Addis Ababa, Ethiopia [J]. BMC Vet Res, 2017, 13: 134.
- [3] Pulford C V, Wwener N, Redway M L, et al. The diversity, evolution and ecology of *Salmonella* in venomous snakes [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2019, 13: e0007169.
- [4] Behiru A, Igbinosa I H, Igbinosa E O. Biofilm formation and potential virulence factors of *Salmonella* strains isolated from ready-to-eat shrimps [J]. PLoS One, 2018, 13: e0204345.
- [5] Madorba E, Kapeta D, Gelaw A K. *Salmonella* contamination, serovars and antimicrobial resistance profiles of cattle slaughtered in South Africa original research [J]. Onderstepoort J Vet Res, 2016, 83: a1109.

- [6] 贾功雪, 丁路明, 徐尚荣, 等. 青藏高原牦牛遗传资源保护和利用: 问题与展望[J]. 生态学报, 2020, 40: 6314.
- [7] 关龙伏, 罗淑贞, 林多杰, 等. 牦牛隐性感染沙门菌强度的试验研究[J]. 中国兽医科技, 1985, 2: 18.
- [8] 张斌, 朱晓霞, 岳华, 等. 青藏高原部分地区牦牛源沙门菌血清型及毒力基因的调查[J]. 畜牧兽医学报, 2013, 44: 1167.
- [9] 柏雪, 郭春华, 刘少文, 等. 青藏高原部分地区牦牛与黄牛源沙门菌的分离鉴定与药敏实验[J]. 食品工业科技, 2017, 38: 196.
- [10] 冯兰, 安添午, 崔鹏飞, 等. 牦牛德耳卑沙门菌的分离、鉴定及致病性研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2020, 57: 1022.
- [11] Yashwant K, Varun S, Gulshan K, *et al.* Serovar diversity of *Salmonella* among poultry [J]. *Indian J Med Res*, 2019, 150: 92.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验: GB 4789. 4-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [13] Liu B, Zhang L D, Zhu X N, *et al.* PCR identification of *Salmonella* serogroups based on specific targets obtained by comparative genomics [J]. *Int J Food Microbiol*, 2011, 144: 511.
- [14] 徐红红, 王艳, 张小荣, 等. 不同来源沙门菌的分子分型及耐药性研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2020, 15: 1131.
- [15] Petter J G. Induction of flagellation and a novel agar-penetrating flagellar structure in *Salmonella enterica* grown on solid media: possible consequences for serological identification [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1997, 149: 173.
- [16] 程琼, 庞瑞亮, 王若晨, 等. 不同源沙门菌对小鼠致病力的比较与毒力基因检测[J]. 中国人兽共患病学报, 2013, 29: 460.
- [17] Cho Y, Yoon K J. An overview of calf diarrhea infectious etiology, diagnosis, and intervention[J]. *J Vet Sci*, 2014, 15: 1.
- [18] 李慧明, 李国绪, 罗来春, 等. 牦牛沙门菌的分离与鉴定[J]. 中国兽医杂志, 1989, 08: 16.
- [19] 逯玉, 谢秀梅. 腹泻犏牦牛沙门菌的分离鉴定与药敏试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015, 20: 121.
- [20] 马金英, 鲍宇红, 夏晨阳, 等. 西藏牦牛养殖现状、存在问题与发展对策研究[J]. 中国牛业科学, 2014, 40: 71.
- [21] 参木友, 久美, 张晓庆, 等. 西藏亚东县帕里牦牛产业发展现状与经营模式调研[J]. 西藏农业科技, 2020, 42: 1.
- [22] 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[C]//中国微生物学会. 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论文集. 兰州: 出版者不详, 2011.
- [23] 焦新安, 李求春, 彭大新, 等. 沙门菌病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015: 199.
- [24] 陈汉义, 宋芳兰, 吴映彪, 等. 牦牛都柏林沙门氏杆菌病的诊断[J]. 甘肃畜牧兽医, 1985, 6: 9.
- [25] 滕振光, 效宏如, 张世凯, 等. 牦牛暴发沙门菌病的报告[J]. 畜牧与兽医, 1982(3): 97.
- [26] Rakov A V, Yalovev A A, Kuznetsova N A. Interaction of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* in microbial association formed by them *in vitro* experiment[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2019, 168: 69.
- [27] 孔雪英, 周晏阳, 罗薇, 等. 33 株牦牛肉源沙门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(6): 108.
- [28] Brandwagt D, Wijngard C V D, Tulen A D, *et al.* Outbreak of *Salmonella Bovismorbificans* associated with the consumption of uncooked ham products, the Netherlands, 2016 to 2017 [J]. *Euro Surveill*, 2018, 23: 17.
- [29] 周辉, 高硕, 张之烽, 等. 病牛沙门菌致盆腔脓肿 1 例[J]. 临床检验杂志, 2019, 37: 557.
- [30] 孙阳阳, 杨美, 解晓莉, 等. 驴源沙门菌的分离鉴定、耐药及毒力分析[J]. 山东农业科学, 2019, 51: 143.
- [31] 陈俊, 蒋文灿, 程平, 等. 四川和重庆地区鸭源沙门菌分离鉴定及血清型分析[J]. 中国预防兽医学报, 2015, 37: 262.

引用本文格式:

中文: 李天娇, 班马泽郎, 李登宇, 等. 西藏地区牦牛源沙门菌分离鉴定、血清分型及致病性研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2022, 59: 046002.

英文: Li T J, Banma Z L, Li D Y, *et al.* Isolation, Identification, Serotyping and Pathogenicity of *Salmonella* from Yaks in Tibet [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2022, 59: 046002.