

2007 年重庆市人群沙门菌监测分析

李志峰, 王文斟, 王红, 李勤, 段刚, 廖春艳, 何源, 赵波, 王玲, 许静茹, 赵寒, 凌华, 冯连贵

摘要: **目的** 对重庆市人群沙门菌感染进行监测并对监测分离的菌株进行耐药性和脉冲场凝胶电泳(PFGE)分子分型研究。**方法** 明确监测病例定义, 制定、实施监测方案, 实验室分离、鉴定监测的沙门菌, 利用 K-B 法对分离菌株进行药敏检测, 并采用 PFGE 进行分子分型。**结果** 2007 年监测了 835 例病例, 病例分布在 9 个区(县), 其中监测沙门菌暴发疫情 10 起, 病例 175 例。实验室共分离鉴定了 79 株 12 种沙门菌(11 种血清型和 1 组 B 群), 全部菌株对至少一种抗菌素耐药, 9 种(75%)对 3 种以上的抗菌素耐药, 2 种(16.67%)对 6 种抗菌素耐药, 尤其是里定沙门菌、婴儿沙门菌及汤卜逊沙门菌耐药严重。沙门菌 PFGE 分型被分成 9 种 14 种亚型。**结论** 重庆市 2007 年人群沙门菌分离株没有明显的优势流行株, 同一事件中的沙门菌 PFGE 分型相同, 分离株耐药情况严重, 分离菌株的耐药谱和 PFGE 型也没有明显的联系。

关键词: 沙门菌监测; PFGE 分型; 耐药性

中图分类号: R378.2+2

文献标识码: A

文章编号: 1003-9961(2009)05-0325-04

Surveillance of *Salmonella* in population in Chongqing, 2007 LI Zhi-feng, WANG Wen-zhen, WANG Hong, LI Qin, DUAN Gang, LIAO Chun-yan, HE Yuan, ZHAO Bo, WANG Ling, XU Jing-ru, ZHAO Han, LING Hua, FENG Lian-gui. Chongqing Municipal Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 400042, China

Corresponding author: LI Zhi-feng, Email: qczfl@163.com

Abstract: **Objective** To conduct surveillance of *Salmonella* in population and study of drug resistance and PFGE typing of *Salmonella* strains isolated in Chongqing. **Methods** The surveillance case definition was determined, the surveillance schema was developed and implemented, *Salmonella* strains were isolated and identified. The drug susceptibility test of isolated *Salmonella* strains was conducted by Kirby-Bauer method, and the molecule typing was performed by PFGE. **Results** A total of 835 cases of *Salmonella* infection were under surveillance in 2007, these cases distributed in 9 districts /counties. Ten *Salmonella* infection outbreaks were detected (175 cases). Seventy nine strains of *Salmonella* were isolated, which belonged to 11 serotypes and B serogroup. All the strains were resistant to one antibiotics at least, 9 strains (75%) were resistant to ≥ 3 antibiotics, 2 strains (16.67%) were resistant to 6 antibiotics. Particularly, *Salmonella* reading, *Salmonella* infantis, *Salmonella* thompson were highly resistant to antibiotics. The *Salmonella* strains isolated were divided into 9 PFGE types with 14 subtypes. **Conclusion** No predominating strains were detected among the isolates of *Salmonella* in population in Chongqing in 2007; the PFGE types were same for the strains in an outbreak; the drug resistances of the strains isolated were high and the drug resistance spectrum and PFGE type of isolated strains did not related with each other obviously.

Key words: *Salmonella* surveillance; PFGE typing; drug resistance

沙门菌在自然界分布广泛, 不仅感染人畜, 还间接污染食品, 是引起食物中毒的常见致病菌, 也是引起腹泻的重要病原菌之一。人感染沙门菌常常是由于摄入沙门菌污染的食物, 如禽肉、牛肉、猪肉、蛋、奶等所致。目前在全球范围内沙门菌感染有上升趋势, 特别是发展中国家感染沙门菌的人数

逐年增多^[1]。随着抗生素的广泛使用, 沙门菌耐药现象日趋严重, 近 20 年来, 世界各地都报道多重耐药性沙门菌的分离率越来越高^[2]。目前在一些发达国家, 已建立了基于脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型技术的细菌分子分型国家电子网络(PulseNet), 以便进行食源性疾病和食物中毒的快速反应和预警。因此监测人群沙门菌的感染状况、耐药性和分子分型, 对于沙门菌病的预防、控制、治疗和沙门菌病的溯源工作有非常重要的意义。重庆市于 2007 年申请并加入 WHO 沙门菌监测网, 制定监测方案, 选择重庆市渝中区、九龙坡区、永川区、巴南区、沙坪坝 5 个区县级以上医疗机构作为监测点, 对就诊的疑似沙门菌病例和重庆市沙门菌聚集或暴发病

基金项目: WHO 全球沙门菌监测项目(WHO global *Salmonella* surveillance, WHO-GSS)

作者单位: 重庆市疾病预防控制中心, 重庆 400042

作者简介: 李志峰, 男, 山东省文登人, 博士, 主要从事分子流行病学研究工作

通信作者: 李志峰, Tel: 023-68803652, Email: qczfl@163.com

收稿日期: 2008-11-24

例作为监测对象,开展监测工作。本文对重庆市 2007 年沙门菌监测结果进行了汇总和分析。

1 材料与方法

1.1 监测病例 参照 WHO-GSS 监测方案,制定重庆市沙门菌监测病例定义:24 h 内连续腹泻 ≥ 3 次且粪便性状改变;或发热,体温 38 ℃ 以上,伴有头痛、寒战、全身乏力等;或呕吐、腹泻、腹痛,粪便性状为黄色水样便或黄绿色水样便。凡符合以上 2 条及以上者,列为沙门菌监测病例。

1.2 监测对象 在重庆市渝中区、九龙坡区、永川区、巴南区、沙坪坝区县级以上医疗机构就诊的,或重庆市内腹泻病聚集或暴发疫情中符合监测病例定义的病例。

1.3 实验方法 各监测点负责沙门菌病例标本的采集,沙门菌的初步分离、培养参照《食品卫生微生物学检验 沙门菌检测》(GB/T 4789.4.28-2003)进行,疑似菌株再送重庆市疾病预防控制中心进行全自动细菌生化鉴定仪(VITEK32)复核鉴定、血清分型(宁波天润)和 K-B 药敏纸片(OXOID)扩散法抗菌素敏感实验,最后将初步分离鉴定的沙门菌送中国疾病预防控制中心传染病预防控制所做进一步复核鉴定和限制性内切酶 *Xba* I 酶切脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型。

1.4 药物敏感实验 方法按 WHO 推荐的 K-B 琼脂纸片扩散法进行,结果判定依照《抗微生物药物敏感性试验执行标准》2006 版(M100-S16)进行,每批试验均用质控菌株 ATCC25922 进行质控。

1.5 PFGE 分型方法 酶切后图谱完全一致定为同一型如 A 型;酶切后图谱与 A 型图谱比较有 1~3 条带不同者,定为亚型(如 A1...An);酶切后图谱与 A 型图谱比较如有 3 条以上带不同者则定为另一基因型如 B、C、D 型等。数据分析用 Bionumerisc V 4.0 软件对数据进行聚类分析,方法采用 UPGMA,聚类相似系数(距离)采用的是基于条带比较的 Dice^[3]。

2 结果

2.1 沙门菌监测基本流行特征 2007 年重庆市共监测了沙门菌监测病例 835 例,其中监测就诊的腹泻病例 660 例,占监测病例的 79.04%(660/835),沙门菌暴发疫情 10 起,病例 175 例,占监测病例的 20.96%(175/835)。发病主要集中在夏秋季,监测的沙门菌检出病例分布在 9 个区(县)(渝中区、九

龙坡、巴南区、南川区、沙坪坝区、永川区、渝北区、秀山县),占全市区(县)的 22.50%(9/40)。发病没有性别差异。沙门菌暴发共分离检测出 6 个血清型,有汤卜逊沙门菌、鼠伤寒沙门菌、婴儿沙门菌、里定沙门菌、哥德堡沙门菌、B 群沙门菌(暂未鉴定到种)。

2.2 监测分离的沙门菌菌株 全年共监测了 835 例病例,分离鉴定沙门菌菌株 79 株,检出率为 9.46%(79/835),经生化反应(VITEK32)、血清学实验鉴定的沙门菌血清型有 11 种:里定沙门菌 2 株(占 2.53%)、婴儿沙门菌 5 株(占 6.33%)、都柏林沙门菌 2 株(占 2.53%)、鼠伤寒沙门菌 16 株(占 20.25%)、肠炎沙门菌 1 株(占 1.27%)、阿伯丁沙门菌 1 株(占 1.27%)、哥德堡沙门菌 1 株(占 1.27%)、汤卜逊沙门菌 35 株(占 44.30%)、伤寒沙门菌 9 株(占 11.39%)、亚力桑那沙门菌 1 株(占 1.27%)、丙型副伤寒沙门菌 1 株(占 1.27%),另有 5 株 B 群沙门菌鞭毛抗原丢失(占 6.33%),暂未鉴定到血清型。

2.3 PFGE 分型 监测分离的沙门菌菌株除 2 株里定沙门菌、9 株伤寒沙门菌和 5 株汤卜逊沙门菌因上送菌株较晚未能及时进行 PFGE 分型外,其余 63 株沙门菌 PFGE 分型按分型方法可分为 7 个基因型(A、B、C、D、E、F、G),7 个基因型又可分为 14 个亚型。A 型为 5 株婴儿沙门菌,占分型菌株的 7.35%;B 型为 1 株歌德堡沙门菌,占分型菌株的 1.54%;C 型分为 5 个亚型有 32 株沙门菌,占分型菌株的 52.94%,其中 30 株汤卜逊沙门菌分为 4 个亚型(C1~C4),1 株阿伯丁沙门菌分为 1 个亚型(C5);D 型分为 2 个亚型有 2 株沙门菌,占分型菌株的 2.94%,其中丙型副伤寒沙门菌(D1)和亚力桑那沙门菌(D2)各分为 1 个亚型;E 型分为 2 个亚型有 18 株沙门菌,占分型菌株的 26.47%,其中 5 株 B 群沙门菌和 10 株鼠伤寒沙门菌分为一个亚型(E1),另有 3 株鼠伤寒沙门菌被分为一个亚型(E2);F 型为 3 株鼠伤寒沙门菌,占分型菌株的 4.41%;G 型分为 2 个亚型有 3 株沙门菌,占分型菌株的 4.41%,其中 1 株都柏林沙门菌和 1 株肠炎沙门菌分为一个亚型(G1),1 株都柏林沙门菌被分为 1 个亚型(G2),结果见图 1。Bionumerics 软件对这 64 株伤寒沙门菌产生的电泳图谱做聚类分析,发现它们的相似性值在 45.5%~100%。对监测的同一血清型多个分离株的沙门菌以血清型进行 PFGE 基因分型,发现 5 株婴儿沙门菌为同一基因型,5 株 B

群沙门菌均为同一基因型,30 株汤卜逊沙门菌分为 4 个基因型,14 株鼠伤寒沙门菌分为 3 个基因型。

Dloe(Opt1.00%)(Tol 1.0%~1.0%)(H>0.0% S>0.0)[0.0%~100.0%]

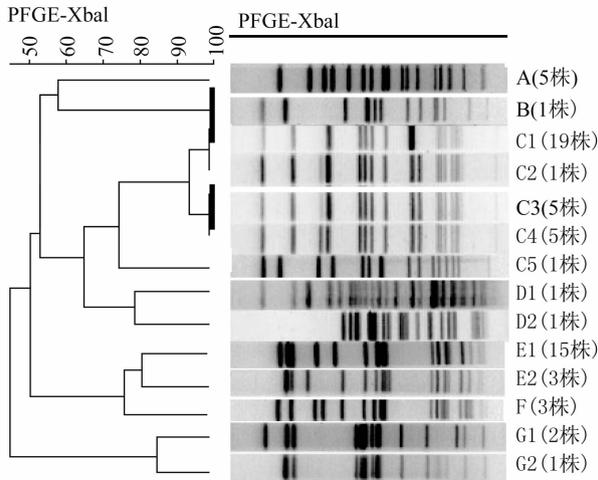


图 1 63 株沙门菌 PFGE 分型结果

Figure 1 PFGE typing of 63 strains of *Salmonella*

2.4 抗菌素敏感试验 12 种人群沙门菌分离株 (11 种血清型和 1 组 B 群)100% 对 1 种以上的抗菌素耐药,75% (9 种) 对 3 种以上的抗菌素耐药,41.67% (5 种) 对 4 种以上的抗菌素耐药,16.67% (2 种) 对 6 种抗菌素耐药,见表 1。

表 1 79 株沙门菌抗生素敏感实验耐药检测结果
Table 1 Drug susceptibility of 79 strains of *Salmonella*

沙门菌	菌株数	抗生素 ⁽¹⁾						
		CTX	NAL	STR	SMX	TMP	SXT	TET
里定沙门菌	2	2	2	0	2	2	2	2
婴儿沙门菌	5	3	4	0	3	3	3	3
都柏林沙门菌	2	0	1	0	0	0	0	0
鼠伤寒沙门菌	16	0	5	2	2	0	0	2
肠炎沙门菌	1	0	0	1	0	0	0	0
阿伯丁沙门菌	1	0	0	1	1	0	0	1
歌德堡沙门菌	1	0	0	1	1	0	0	1
汤卜逊沙门菌	35	0	4	29	28	0	0	28
伤寒沙门菌	9	0	4	2	3	0	0	3
B 群沙门菌	5	0	2	0	0	0	0	1
丙型副伤寒沙门菌	1	0	1	0	1	0	0	1
亚利桑那沙门菌	1	0	0	1	1	0	0	1
合计	79	5	23	37	42	5	5	43

注:(1)TET:四环素,NAL:萘啶酸,CTX:头孢噻肟,SMX:磺胺,TMP:甲氧苄氨嘧啶,STR:链霉素,SXT:复方新诺明。

79 株沙门菌对氨苄西林、庆大霉素、头孢他啶、头孢吡肟、氯霉素和阿莫西林全部敏感,对头孢塞肟、萘啶酸、链霉素、磺胺、甲氧苄氨嘧啶、复方新诺明、四环素等 8 种抗菌素出现不同程度的耐药,其中里定沙

门菌、婴儿沙门菌及汤卜逊沙门菌耐药情况较严重,监测的 2 株里定沙门菌全部及 60% (3/5) 的婴儿沙门菌对头孢塞肟、萘啶酸、磺胺、甲氧苄氨嘧啶、复方新诺明和四环素 6 种抗菌素耐药,有 80% (28/35) 的汤卜逊沙门菌对磺胺、四环素和链霉素耐药,其余监测的沙门菌抗菌素耐药情况见表 1。

另有阿伯丁沙门菌 (1 株)、歌德堡沙门菌 (1 株)、亚利桑那沙门菌 (1 株)、丙型副伤寒沙门菌 (1 株) 和汤卜逊沙门菌 (24 株) 对环丙沙星中度敏感;有阿伯丁沙门菌 (1 株)、歌德堡沙门菌 (1 株)、亚利桑那沙门菌 (1 株)、伤寒沙门菌 (3 株) 和汤卜逊沙门菌 (29 株) 对萘啶酸中度敏感;有里定沙门菌 (2 株)、婴儿沙门菌 (2 株)、都柏林沙门菌 (1 株)、肠炎沙门菌 (1 株)、伤寒沙门菌 (4 株)、鼠伤寒沙门菌 (8 株) 和汤卜逊沙门菌 (4 株) 对链霉素中度敏感的。

2.5 监测菌株的耐药谱与 PFGE 型之间的关系 63 株沙门菌 PFGE 型与耐药谱之间的分布关系见表 2,对细菌的 PFGE 分型和耐药谱结果进行比较可以看出,相同 PFGE 分型的菌株其耐药谱型不一定相同,而不同 PFGE 分型的菌株也可拥有完全相同的耐药谱型,同一血清型也可表现出不同的耐药谱。未发现耐药谱与 PFGE 型之间有直接的关联。

表 2 监测菌株耐药谱与 PFGE 型之间的关系
Table 2 Relationship between drug resistance spectrum and PFGE type of isolated strains of *Salmonella*

耐药谱	血清型	PFGE 型	菌株数 (合计)
CTX-NAL-SMX-TMP-SXT-TET	婴儿沙门菌	A	3
STR-NAL-SMX-TET	汤卜逊沙门菌	C1	2
	丙型副伤寒沙门菌	D1	
STR-SMX-TET	歌德堡沙门菌	B	12
	汤卜逊沙门菌	C1, C3, C4, C5	
	鼠伤寒沙门菌	E1	
GEN-NAL-AMP	汤卜逊沙门菌	C1	1
STR	汤卜逊沙门菌	C1	1
NAL	汤卜逊沙门菌	C2	6
	鼠伤寒沙门菌	E1, F	
TET	B 群沙门菌	E1	1

3 讨论

近年来,PFGE 技术因为能够对整个染色体进行分析,且区分能力强、重复性好、结果稳定、易于标准化,在分子流行病学分析中得到了广泛应用。尽管 PFGE 有其应用优势,但由于 PFGE 结果得到的是条带,而不是序列,不同源的菌株可能由于酶切片段相同也可以表现为同一 PFGE 型,PFGE 得到的亲缘关

系只能起到一个指导作用,而不是真正意义上的种系发生量度,其分型结果必须结合流行病学调查结果进行分析,才能确定菌株之间的关系。本次监测的 5 株婴儿沙门菌、5 株 B 群沙门菌和 10 株鼠伤寒沙门菌分别来自 3 起不同暴发疫情,每一起疫情菌株 PFGE 分型均为同一型,进一步证实了每起疫情为同一来源菌株的暴发,而散发病例分离的鼠伤寒沙门菌 PFGE 分为 E2 和 F 型,暴发菌株(E1)和散发病例菌株(E2、F)之间的相似性只有 72%,根据监测记录,可以认为这些菌株在监测的流行病学事件上没有联系。而认为同一起疫情的 30 株汤卜逊沙门菌被分为一个基因型 4 个亚型(C1 ~ C4),但菌株之间的相似性在 92% 以上,结合流行病学资料认为可能是同一来源菌株在持续流行一个多月发生单个遗传事件的结果,如点突变、插入或 DNA 缺失等。本次监测表明重庆市似乎没有明显的优势流行菌株,分离菌株的耐药谱和 PFGE 型也没有明显的联系。

食源性致病菌的耐药性对食品安全及人类健康的影响已经引起很多国家的警惕,美国在 1996 年就建立了“国家肠道细菌耐药性检测系统(NARMS)”,多种抗生素耐药性沙门菌的出现使沙门菌的耐药现象越来越受到全世界的重视^[4,5]。本次监测结果表明,重庆市人群沙门菌分离株耐药现象严重,分离的 79 株沙门菌总耐药率可达 68.35% (54/79),12 种沙门菌分离株(11 种血清型和 1 组 B 群)均表现出不同程度的耐药,尤其是里定沙门菌、婴儿沙门菌及汤卜逊沙门菌耐药情况严重。一次暴发疫情分离的汤卜逊沙门菌 80% 对沙门菌临床一线用药磺胺、四环素和链霉素耐药,68.57% 对环丙沙星、萘啶酸中度敏感,这可能是该疫情波及面广、持续时间久的最重要的原因之一。但监测菌株对庆大霉素、氯霉素和复方新诺明敏感性较好。监测菌株对四环素、链霉素、磺胺类药物高度耐受,耐药率分别达到了 54.43%、46.84% 和 53.16%,这可能与四环素类的金霉素作为动物饲料添加剂长期使用分不开,动物饲养过程中抗生素的不规范使用或抗生素的滥用可能导致了沙门菌对四环素、链霉素、磺胺类等药物的普遍耐药。这些都对沙门菌病的控制和救治带来不利影响^[6]。本次监测的沙门菌抗菌素药敏实验结果总体上与其他地区的监测报道基本一致^[7-9]。但不同地区不同型别的沙门菌有其不同的耐药谱,沙门菌病的防治应根据本地区的实际情况,合理选用抗生素,减少耐药菌株。由

于 2007 年监测的散发病例来源菌株较少,同一血清型的散发病例来源菌株与暴发病例来源菌株抗菌素耐药性之间关系未做统计学分析,但总体分析,除链霉素(STR)散发病例来源菌株的耐药率(36.36%)低于暴发病例来源菌株的耐药率(69.57%)($\chi^2 = 4.21, P < 0.05$),其余测试的抗菌素的耐药性未发现散发病例来源菌株与暴发病例来源菌株抗菌素之间的耐药性有差异。本次研究监测结果同时暴露了重庆市防治沙门菌病存在的一些不足,如临床实验室致病菌的检出率低,监测数据的汇总分析不及时,实验室结果相对治疗和防治滞后等,这在今后的监测工作应加以逐步改进和提高。

参考文献

- [1] Scott E. Food safety and foodborne disease in 21st century homes [J]. *Can J Infect Dis*, 2003, 14(5):277-280.
- [2] Guerra B, Soto SM, Arguelles JM, et al. Multidrug resistance is mediated by large plasmids carrying a class 1 integron in the emergent *Salmonella enterica* serotype [4, 5, 12: i:—] [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(4):1305-1308.
- [3] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gelelectrophoresis: criteria for bacterial strain typing [J]. *J Clin Microbiol*, 1995, 33:2233-2239.
- [4] Lalira JVP, David GW, Karl G, et al. Evidence for all efflux pump mediating multiple antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serovar typhimurium [J]. *Agent Chem*, 2000, 44(11):3118-3121.
- [5] Lee LA, Punr ND, Maloney EK, et al. Increase in antimicrobial resistant *Salmonella* infections in the United States, 1989-1990 [J]. *J Infect Dis*, 1994, 170:128-134.
- [6] Liu Q, Liu HC, Li ZP, et al. A study on the antibiotic resistance of *Salmonella* spp [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2004, 31(3):330-332. (in Chinese).
刘渠, 刘衡川, 李灶平, 等. 食品中沙门菌的耐药性研究 [J]. 现代预防医学, 2004, 31(3):330-332.
- [7] Zhen BT, Zhang LR, Wang BL. Bacterial dysenteric bacterial clump and antimicrobial resistance in Tongzhou district, July to September 2006 [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2007, 17(11):2086-2087. (in Chinese)
甄博塘, 张兰荣, 王宝兰. 2006 年 7-9 月通州区细菌性痢疾菌型及耐药分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(11):2086-2087.
- [8] Wen QW, Duan YX, Ju CY, et al. Study on PFGE molecular typing and antimicrobial resistance of *Salmonella enteritidis* [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2008, 18(2):214-216. (in Chinese)
温群文, 段永翔, 鞠长燕, 等. 肠炎沙门菌 PFGE 分子分型及耐药性研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(2):214-216.
- [9] Wang XQ, Jiao XA, Liu XW, et al. Characterization of multidrug-resistant meats and human samples in *Salmonella* serovars isolated from some regions of Jiangsu [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2007, 47(2):221-227. (in Chinese)
王晓泉, 焦新安, 刘晓文, 等. 江苏部分地区食源性和人源沙门菌的多重耐药性研究 [J]. 微生物学报, 2007, 47(2):221-227.