

- [17] SANCHEZ-MALDONADO A F, ASLAM M, SERVICE C, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from two pork processing plants in Alberta, Canada [J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 241: 49-59.
- [18] 吕虹, 雷高鹏, 黄伟峰, 等. 2007—2016年四川省德尔卑沙门菌耐药与分子分型分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(6): 570-576.
- [19] 雷高鹏, 黄玉兰, 吕虹, 等. 四川省鸭和猪源鼠伤寒沙门菌脉冲场凝胶电泳分型与耐药比较分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(5): 441-444.

研究报告

广西鼠伤寒沙门菌 1,4,[5],12:i:-耐药性及分子分型特征研究

曾献莹, 吕素玲, 瞿聪, 蓝兰, 谭冬梅, 李秀桂

(广西壮族自治区疾病预防控制中心, 广西南宁 530028)

摘要:目的 通过研究 2018 年广西壮族自治区食源性鼠伤寒沙门菌单相变体 1,4,[5],12:i:-(*S.* 1,4,[5],12:i:-)耐药情况和分子分型特征,建立广西壮族自治区食源性 *S.* 1,4,[5],12:i:-数据库。方法 对来自病例监测和食品监测分离的 124 株 *S.* 1,4,[5],12:i:-用微量肉汤稀释法进行药敏试验,用脉冲电场凝胶电泳(PFGE)进行分子分型。结果 124 株 *S.* 1,4,[5],12:i:-均对亚胺培南敏感,对另外 13 种抗生素产生不同程度的耐药,对四环素耐药率最高(96.8%,120/124),其次为氨苄西林(95.2%,118/124),三重及以上耐药率为 26.6%(33/124)。47.1% *S.* 1,4,[5],12:i:-分离株具有氨苄西林、氯霉素、磺胺类、四环素(ACSuT)多重耐药。PFGE 结果分为 104 种带型,相似度为 72.9%~100%,优势带型为 JPXX01.GX0114(5 株)和 JPXX01.GX0294(4 株),均来源于食源性疾病监测。结论 广西壮族自治区 *S.* 1,4,[5],12:i:-耐药情况不容乐观,特别对青霉素类和四环素类耐药严重。*S.* 1,4,[5],12:i:-分子型别呈高度散发状态,及时对 *S.* 1,4,[5],12:i:-进行分子溯源,可以提高广西壮族自治区在散发病例中识别潜在的食源性 *S.* 1,4,[5],12:i:-暴发事件的能力。

关键词:鼠伤寒沙门菌 *S.* 1,4,[5],12:i:-; 耐药性; 多重耐药; 脉冲电场凝胶电泳; 分子分型

中图分类号:R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2021)05-0558-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2021.05.007

The drug resistance and molecular characteristics of *Salmonella typhimurium* 1, 4, [5], 12 : i : - in Guangxi

ZENG Xianying, LYU Suling, QU Cong, LAN Lan, TAN Dongmei, LI Xiugui

(Guangxi Center for Disease Prevention and Control, Guangxi Nanning 530028, China)

Abstract: Objective Establishing the database of food-borne *Salmonella typhimurium* 1, 4, [5], 12 : i : - and monophasic variant in Guangxi Zhuang Autonomous Region by investigating the drug resistance and molecular typing characteristics of the isolates in 2018. **Methods** 124 strains of *S.* 1, 4, [5], 12 : i : - from clinic samples and food samples were tested for drug sensitivity by minimum inhibitory concentration (MIC), and molecular typing by pulsed field gel electrophoresis (PFGE). **Results** One hundred and twenty four strains of *S.* 1, 4, [5], 12 : i : - were all sensitive to imipenem, but resistant to the other 13 antibiotics at different levels. The resistance rate to tetracycline was the highest (96.8%, 120/124), followed by ampicillin (95.2%, 118/124). Multidrug resistant (MDR) rate was 26.6% (33/124), and 47.1% *S.* 1, 4, [5], 12 : i : - isolates were multi-resistant to ACSuT. The *S.* 1, 4, [5], 12 : i : - strains were differentiated into 104 Xba I PFGE patterns with similarity of 72.9%-100%, and the dominant patterns were JPXX01.GX0114 (5 isolates) and JPXX01.GX0294 (4 isolates), all of which came from foodborne disease surveillance.

Conclusion The result indicated that the *S.* 1, 4, [5], 12 : i : - isolates in Guangxi were highly resistant to penicillins and tetracyclines and drug resistance situation was not optimistic, *S.* 1, 4, [5], 12 : i : - PFGE pattern were highly

收稿日期:2021-06-25

基金项目:广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题(Z20190120)

作者简介:曾献莹 女 主管技师 研究方向为食源性致病菌 E-mail: 342442133@qq.com

通信作者:李秀桂 男 主任技师 研究方向为食源性致病菌 E-mail: xglxgcdc@163.com

sporadic. It is necessary to trace the molecular origin of the isolated strains on time, which can improve ability to identify potential food-borne *S.* 1, 4, [5], 12:i:- outbreak events in sporadic cases.

Key words: *Salmonella typhimurium* 1; 4; [5]; 12; i-; antibiotic resistance; multidrug resistance; pulsed field gel electrophoresis; molecular typing

非典型伤寒沙门菌 (Non-typhoidal *Salmonella*, NTS) 是对全世界公共卫生构成威胁的食源性致病菌之一。尽管已鉴定出超过 2 600 种血清型, 但绝大多数感染是由有限的血清型引起的, 鼠伤寒沙门菌是全世界最普遍引起人类感染的血清型之一^[1]。在过去的 20 年中, 全球出现了一种新的沙门菌血清型, 即鼠伤寒沙门菌的单相变体, 其抗原分子式为 *S.* 1, 4, [5], 12:i:-。

20 世纪 90 年代中期, *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 开始在欧洲出现^[2]。1997 年在西班牙从猪中分离出并初步鉴定表明, 该血清型与鼠伤寒沙门菌 (*S.* 4, [5], 12:i:1, 2) 相比, 缺少编码鞭毛第二抗原 (H2) 的 *fljB* 基因的表达^[3]。多项研究表明, *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 与鼠伤寒沙门菌在遗传上有极大相似性^[4-5]。*S.* 1, 4, [5], 12:i:- 已经在全世界范围内迅速增长, 成为沙门菌感染最常见的血清型之一^[5-8]。在我国广东省、江苏省、河南省等均有 *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 的污染情况的报道^[9-11]。

为更好地了解和掌握广西壮族自治区食源性 *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 的污染情况、耐药性及分子特征, 本研究收集 124 株 2018 年广西壮族自治区 *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 分离株, 采用微量肉汤稀释法对 8 类 14 种抗生素进行耐药分析, 利用脉冲电场凝胶电泳 (Pulsed field gel electrophoresis, PFGE) 进行分子分型研究, 建立广西壮族自治区食源性 *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 数据库, 研究不同来源 *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 克隆的关系, 追踪其传播途径及其流行病学特征, 为食源性疾病暴发分子溯源及临床规范使用抗生素提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

本研究菌株均由参与 2018 年食品安全风险监测和食源性疾病监测的各市县级疾病预防控制中心和哨点医院收集。广西壮族自治区疾病预防控制中心微生物检验所利用聚合酶链式反应 (Polymerase chain reaction, PCR) 技术从 205 株鼠伤寒沙门菌分离株中筛选出 124 株 *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 分离株, 其中, 食品来源 7 株, 腹泻病例来源 117 株。

1.1.2 主要仪器与试剂

比浊计 (法国梅里埃); 去离子水系统 (美国

Millipore); 水浴摇床 (英国 Grant); 脉冲电场凝胶电泳仪及配套设备 (美国 BIO-RAD); 凝胶成像系统 (美国 BIO-RAD)。

沙门菌诊断血清 (丹麦 SSI); Premix Ex Taq™ Hot Start Version (中国 TaKaRa); 沙门菌抗生素药敏试剂盒 (美国 Thermo Fisher); Seakem Gold 琼脂糖 (美国 Lonza); 蛋白酶 K (德国 Merck/Amresco); 限制性内切酶 *Xba* I (中国 TaKaRa); 营养肉汤和营养琼脂均购自北京陆桥技术股份有限公司, 均在有效期内使用。耐药性试验质控菌株为大肠埃希菌 (ATCC 25922) 购自广东省食品微生物安全工程技术研究开发中心。

1.2 方法

1.2.1 *S.* 1, 4, [5], 12:i:-DNA 提取及多重 PCR 鉴定

根据 Kauffmann-White 血清分型直至鞭毛抗原二相出现第一个阴性的凝集结果, 再利用 PCR 方法确认缺少鞭毛二相抗原。欧洲食品安全局^[12] 建议使用多重 PCR: 利用引物 FFLIB 和 RFLIA 扩增鞭毛蛋白基因簇的 *fljB-fljA* 基因间区域, 扩增了鼠伤寒沙门菌和 *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 的 1 000 bp 产物; 引物 sense-59 和 antisense-83 扩增鞭毛二相抗原遗传决定簇基因 *fljB*, 鼠伤寒沙门菌的菌株中扩增出 1 389 bp 的产物, 而从缺乏该基因的 *S.* 1, 4, [5], 12:i:- 菌株中无扩增产物。

1.2.2 抗生素耐药性实验

按照药敏试剂盒使用说明, 采用微量肉汤法定量测定抗生素最低抑菌浓度 (Minimum inhibitory concentration, MIC), 包含 8 类 14 种抗生素: 环丙沙星 (Ciprofloxacin, CIP)、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑 (Trimethoprim/sulfamethoxazole, SXT)、氯霉素 (Chloramphenicol, CHL)、萘啶酸 (Nalidixic acid, NAL)、庆大霉素 (Gentamicin, GEN)、四环素 (Tetracycline, TET)、头孢噻肟 (Cefotaxime, CTX)、头孢西丁 (Cefoxitin, CFX)、氨苄西林 (Ampicillin, AMP)、氨苄西林/舒巴坦 (Ampicillin/sulbactam, AMS)、头孢他啶 (Ceftazidime, CAZ)、头孢唑啉 (Cefazolin, CFZ)、亚胺培南 (Imipenem, IPM)、阿奇霉素 (Azithromycin, AZM)。

结果判读: 按照临床和实验室标准协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 标准判读结果并确定耐药表型^[13]。

1.2.3 PFGE

按照2018年食源性疾病监测工作手册推荐的分子分型技术方案中非伤寒沙门菌PFGE-*Xba* I酶切反应参数进行操作,对2018年的121株*S. 1,4,[5],12:i:-*进行PFGE分型,使用BioNumerics 7.6软件进行聚类分析。标准菌株为布伦登卢普沙门菌H9812来自于中国疾控中心。

2 结果

2.1 *S. 1,4,[5],12:i:-*检出情况

205株鼠伤寒沙门菌菌株中共分离出124株

*S. 1,4,[5],12:i:-*分离株,占比60.5%(124/205),其中117株来自腹泻病例,7株来自食品。124株*S. 1,4,[5],12:i:-*分离株分别来自14个市,其中南宁市和贵港市均分离出20株,各占比16.1%(20/124)。*S. 1,4,[5],12:i:-*四季均有检出,感染率于夏季最高(36.3%,45/124),春秋季节感染率达27.8%。临床病例的男女比例为1.49(男性70和女性47),年龄范围从96天到86岁,5岁以下幼儿*S. 1,4,[5],12:i:-*感染率为82.9%(97/117),其中89.7%(87/97)为1岁及以下幼儿感染(表1)。

表1 2018年广西各地区*S. 1,4,[5],12:i:-*的来源、季节、性别和年龄分布

Table 1 Distribution of source, season, gender and ages of *S. 1,4,[5],12:i:-* of Guangxi in 2018

	南宁市	贵港市	防城港市	北海市	贺州市	柳州市	百色市	来宾市	梧州市	崇左市	河池市	桂林市	玉林市	钦州市	总计
样品来源															
临床病例	19 (15.3)	18 (14.5)	15 (12.1)	12 (9.7)	10 (8.1)	9 (7.3)	8 (6.5)	8 (6.5)	5 (4.0)	3 (2.4)	4 (3.2)	2 (1.6)	3 (2.4)	1 (0.8)	117 (94.4)
食品	1 (0.8)	2 (1.6)	0 (0)	0 (0)	1 (0.8)	1 (0.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.8)	0 (0)	1 (0.8)	0 (0)	0 (0)	7 (5.6)
季节															
春季	5 (4.0)	10 (8.1)	5 (4.0)	4 (3.2)	2 (1.6)	2 (1.6)	1 (0.8)	1 (0.8)	0 (0)	1 (0.8)	1 (0.8)	0 (0)	1 (0.8)	1 (0.8)	34 (27.4)
夏季	9 (7.3)	8 (6.5)	3 (2.4)	2 (1.6)	4 (3.2)	6 (4.8)	2 (1.6)	3 (2.4)	2 (1.6)	2 (1.6)	1 (0.8)	2 (1.6)	1 (0.8)	0 (0)	45 (36.3)
秋季	4 (3.2)	2 (1.6)	5 (4.0)	3 (2.4)	5 (4.0)	2 (1.6)	4 (3.2)	4 (3.2)	2 (1.6)	1 (0.8)	2 (1.6)	1 (0.8)	0 (0)	0 (0)	35 (28.2)
冬季	2 (1.6)	0 (0)	2 (1.6)	3 (2.4)	0 (0)	0 (0)	1 (0.8)	0 (0)	1 (0.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.8)	0 (0)	10 (8.1)
性别															
男	11 (9.4)	12 (10.3)	9 (7.7)	10 (8.5)	6 (5.1)	5 (4.3)	5 (4.3)	3 (2.6)	1 (0.9)	1 (0.9)	2 (1.7)	2 (1.7)	3 (2.6)	0 (0)	70 (59.8)
女	8 (6.8)	6 (5.1)	6 (5.1)	2 (1.7)	4 (3.4)	4 (3.4)	3 (2.6)	5 (4.2)	4 (3.4)	2 (1.7)	2 (1.7)	0 (0)	0 (0)	1 (0.9)	47 (40.2)
年龄															
0~	5 (4.3)	9 (7.7)	8 (6.8)	6 (5.1)	6 (5.1)	6 (5.1)	2 (1.7)	2 (1.7)	4 (3.4)	2 (1.7)	1 (0.9)	1 (0.9)	2 (1.7)	0 (0)	54 (46.2)
1~	6 (5.1)	5 (4.3)	3 (2.6)	5 (4.3)	2 (1.7)	1 (0.9)	4 (3.4)	4 (3.4)	0 (0)	0 (0)	1 (0.9)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	32 (27.4)
2~	2 (1.7)	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	10 (8.5)
5~	1 (0.9)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5 (4.3)
13~	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (3.4)
50~	3 (2.6)	2 (1.7)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	1 (0.9)	1 (0.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.9)	10 (8.5)

注:春季(3~5月),夏季(6~8月),秋季(9~11月),冬季(12~2月)

2.2 *S. 1,4,[5],12:i:-*耐药性结果

124株*S. 1,4,[5],12:i:-*除对亚胺培南敏感外,对其余13种抗生素均存在一定的耐药性(表2)。96.8%(120/124)*S. 1,4,[5],12:i:-*对四环素耐药,其次是氨苄西林95.2%,氨苄西林/舒巴坦66.9%,头孢唑啉54.0%,氯霉素53.2%,庆大霉素37.9%,甲氧苄啶/磺胺甲噁唑37.9%,萘啶酸34.7%,头孢他啶20.2%,头孢西丁0.8%。对临床一线用药抗生素头孢噻肟、环丙沙星和阿奇霉素的耐药性分别33.1%、33.1%、3.2%。对MIC浓度≥0.12 μg/mL环丙沙星的耐药率为54.0%,95.5%(64/67)为病例来源。

2.3 *S. 1,4,[5],12:i:-*多重耐药性结果

124株*S. 1,4,[5],12:i:-*分离株中,只有1株食品来源分离株对所有测试的抗生素敏感,其余123株(99.2%)分离株对一种及一种以上抗生素具有耐药性。70株*S. 1,4,[5],12:i:-*对三类及三类

以上抗生素具有耐药性,多重耐药率达56.5%(70/124)。94.3%(66/70)多重耐药菌株为病例来源(表3)。

123株不同耐药程度的*S. 1,4,[5],12:i:-*形成48种耐药谱。病例来源的*S. 1,4,[5],12:i:-*最常见的耐药谱为AMP-TET($n=16$)、AMP-AMS-CHL-CIP-GEN-NAL-SXT-TET($n=11$)、AMP-AMS-CFZ-TET($n=9$)。6株食品来源*S. 1,4,[5],12:i:-*的耐药谱分别是:AMP-TET、AMP-NAL-TET、AMP-AMS-CFZ-TET、AMP-AMS-CHL-SXT-TET、AMP-AMS-CHL-CIP-GEN-NAL-TET、AMP-AMS-CFZ-CHL-CTX-GEN-NAL-TET(表4)。

2.4 *S. 1,4,[5],12:i:-*PFGE聚类分析

124株*S. 1,4,[5],12:i:-*经*Xba* I酶切后同源性在72.9%~100%,共形成104个PFGE型别(图1)。11个100%同源带型中优势带型为JPXX01.GX0114($n=5$)和JPXX01.GX0294($n=4$)。基

表 2 2018 年广西 S. 1,4,[5],12:i:-耐药性

Table 2 Antimicrobial resistance of S. 1,4,[5],12:i:- from Guangxi in 2018

抗生素种类	抗生素名称	耐药率/n(%)		
		食品来源(n=7)	病例来源(n=117)	总计(n=124)
β-内酰胺类	头孢噻肟(CTX)	1(14.3)	40(34.2)	41(33.1)
	头孢西丁(CFX)	0(0.0)	1(0.9)	1(0.8)
	头孢他啶(CAZ)	0(0.0)	25(21.4)	25(20.2)
	头孢唑啉(CFZ)	2(28.6)	65(55.6)	67(54.0)
	氨苄西林(AMP)	6(85.7)	112(95.7)	118(95.2)
	氨苄西林/舒巴坦(AMS)	4(57.1)	79(67.5)	83(66.9)
碳青霉烯类	亚胺培南(IPM)	0(0)	0(0)	0(0)
	环丙沙星(CIP)	1(14.3)	40(34.2)	41(33.1)
喹诺酮类	环丙沙星(CIP*)	3(42.9)	64(54.7)	67(54.0)
	萘啶酸(NAL)	3(42.9)	40(34.2)	43(34.7)
磺胺类	甲氧苄啶/磺胺甲噁唑(SXT)	1(14.3)	46(39.3)	47(37.9)
氯霉素类	氯霉素(CHL)	3(42.9)	63(53.8)	66(53.2)
氨基糖苷类	庆大霉素(GEN)	2(28.6)	45(38.5)	47(37.9)
四环素类	四环素(TET)	6(85.7)	114(97.4)	120(96.8)
大环内酯类	阿奇霉素(AZM)	0(0)	4(3.4)	4(3.2)

注: * MIC 浓度 ≥ 0.12 μg/mL

表 3 2018 年广西 S. 1,4,[5],12:i:-多重耐药性/株(%)

Table 3 Multidrug resistant of S. 1,4,[5],12:i:- from Guangxi in 2018

MDR	食品来源(n=7)	病例来源(n=117)	总计(n=124)
3	1(14.3)	10(8.5)	11(8.9)
4	1(14.3)	10(8.5)	11(8.9)
5	2(28.6)	18(15.4)	20(16.1)
6	0(0)	26(22.2)	26(21.0)
7	0(0)	2(1.7)	2(1.6)
总计	4(57.1)	66(56.4)	70(56.5)
ACSuT ^a ± other	1(14.3)	32(27.4)	33(26.6)

注: MDR 指对三类及三类以上抗生素耐药; a: 对氨苄西林、氯霉素、磺胺类、四环素共同耐药

于 85% 同源性, PFGE 型别分为 13 个簇 (Cluster A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、O、P 和 Q) 和 4 个单一带型 (K、L、M 和 N)。Cluster A 包含三个 2 株以上 100% 同源菌株的型别, 优势带型 JPXX01. GX0114 含 5 株 S. 1,4,[5],12:i:-, 来自 3 个城市 (南宁市、贵港市、来宾市)。Cluster I 包含来自 8 个城市的 17 株菌, 其中有 3 个 100% 同源性型别 (JPXX01. GX0304、JPXX01. GX0179、JPXX01. GX0182)。

3 讨论

本研究对 2018 年广西壮族自治区食源性疾

表 4 2018 年广西 S. 1,4,[5],12:i:-耐药谱(前 20)

Table 4 Antimicrobial resistance pattern of S. 1,4,[5],12:i:- from Guangxi in 2018(top20)

耐药谱	食品来源(n=7)	病例来源(n=117)	总计(%) (n=124)
AMP-TET	1(14.3)	16(13.7)	17(13.7)
AMP-AMS-CHL-CIP-GEN-NAL-SXT-TET	0(0)	11(9.4)	11(8.9)
AMP-AMS-CFZ-TET	1(14.2)	9(7.7)	10(8.1)
AMP-AMS-CAZ-CFZ-CTX-TET	0(0)	7(6.0)	7(5.6)
AMP-AMS-TET	0(0)	6(5.1)	6(4.8)
AMP-AMS-CFZ-CHL-CIP-GEN-NAL-SXT-TET	0(0)	5(4.3)	5(4.0)
AMP-AMS-CFZ-CHL-CTX-GEN-SXT-TET	0(0)	4(3.4)	4(3.2)
AMP-AMS-CFZ-CHL-CTX-TET	0(0)	4(3.4)	4(3.2)
AMP-CAZ-CFZ-CTX-TET	0(0)	4(3.4)	4(3.2)
AMP-AMS-CAZ-CFZ-CHL-CIP-CTX-GEN-NAL-TET	0(0)	3(2.6)	3(2.4)
AMP-AMS-CHL-CIP-GEN-NAL-TET	1(14.3)	2(1.7)	3(2.4)
AMP-AMS-CHL-SXT-TET	1(14.3)	2(1.7)	3(2.4)
AMP-AMS-CAZ-CFZ-CHL-CIP-CTX-GEN-NAL-SXT-TET	0(0)	2(1.7)	2(1.6)
AMP-AMS-CFZ-CHL-CTX-GEN-NAL-TET	1(14.3)	1(0.8)	2(1.6)
AMP-AMS-CFZ-CHL-CTX-SXT-TET	0(0)	2(1.7)	2(1.6)
AMP-CFZ-TET	0(0)	2(1.7)	2(1.6)
AMP-CHL-SXT-TET	0(0)	2(1.7)	2(1.6)
AMP-CHL-TET	0(0)	2(1.7)	2(1.6)
AMP-NAL-TET	1(14.3)	1(0.8)	2(1.6)
TET	0(0)	4(3.4)	4(3.2)

病和食品安全风险监测分离的鼠伤寒沙门菌进行 PCR 鉴定,筛选出 124 株鼠伤寒沙门菌单相变体 *S.* 1,4,[5],12:i:-,并对其进行耐药性及 PFGE 同源性分析。2018 年广西壮族自治区病例来源和食品来源 *S.* 1,4,[5],12:i:-的检出率分别为 2.1% (117/5573)、0.08% (7/8374),较江苏省 2018 年病例来源检出率 (0.24%) 高^[10],但较广东省低 (病例来源 17%; 食品来源 2.5%)^[9,14]。婴幼儿感染 *S.* 1,4,[5],12:i:-在广西壮族自治区食源性疾病监测中占一定比例。本研究中,≤5 岁以下儿童感染 *S.* 1,4,[5],12:i:-占 2018 年沙门菌感染病例来源的 28.8% (88% 为 ≤1 岁幼儿感染),该比率与以前的国家报告中 <5 岁腹泻患儿非典型伤寒沙门菌 (NTS) 感染率 34% 相近^[15],但与广东省 (13.0%)、江苏省 (44.7%) 等省份不一致^[9-10],这提示我们应该对 ≤5 岁以下儿童,尤其是 <1 岁幼儿感染 *S.* 1,4,[5],12:i:-的有害危险因素进行深层次的流行病学调查,以便更有效地控制和预防感染 *S.* 1,4,[5],12:i:-的食源性疾病。

自 2015 年起,*S.* 1,4,[5],12:i:-是广西壮族自治区最常见的优势血清型^[16],该血清型的成功传播与其抗生素耐药性的上升是息息相关的。本研究中,*S.* 1,4,[5],12:i:-对传统抗生素四环素 (96.8%) 和氨苄西林 (95.2%) 有较高的耐药性,这与美国、欧盟等其他国家是一致的^[6,7]。*S.* 1,4,[5],12:i:-对临床一线药物环丙沙星和头孢噻肟 (均为 33.1%) 耐药率比西方国家报道的要高^[6,7]。在韩国,食用动物的 *S.* 1,4,[5],12:i:-分离株对环丙沙星和头孢菌素均敏感,与本研究结果相反^[17]。*S.* 1,4,[5],12:i:-的抗生素耐药性因国家而异,可能与在不同国家进行的抗菌治疗和临床管理策略的不同有关。

本研究中有 56.5% (70/124) 的 *S.* 1,4,[5],12:i:-分离为多重耐药 (multidrug resistant, MDR) 菌株。对六类抗生素耐药率最高,达到 21% (26/124)。随着来自欧洲的 *S.* 1,4,[5],12:i:-克隆对 ASSuT (Ampicillin-streptomycin-sulfonamides-tetracycline) 的多重耐药克隆谱系的流行,并与欧洲的多起 *S.* 1,4,[5],12:i:-的暴发有关^[18-20]。来自西班牙、美国等的 *S.* 1,4,[5],12:i:-对 ACSSuT (Ampicillin-chloramphenicol-streptomycin-sulfonamides-tetracycline) 也被检测到具有抗性^[7,21-22]。本研究中,AMP-AMS-CHL-CIP-GEN-NAL-SXT-TET 是最常见的 MDR 模式,有 8.9% (11/124) 且均来自病例来源的 *S.* 1,4,[5],12:i:-分离株表现出该耐药谱,说明该耐药谱在广西壮族自治区 *S.* 1,4,[5],12:i:-的

MDR 模式有可能占主导地位。

在肠杆菌中,染色体基因点突变可以导致喹诺酮耐药^[23]。由于环丙沙星与治疗失败和治疗反应延迟有关^[3],DSC (Decreased susceptibility to ciprofloxacin, MIC ≥ 0.12 μg/mL) 被用作评价对喹诺酮类耐药性的新兴指标^[7,24]。因此,DSC 比萘啶酸耐药性更具有重要的临床意义。美国疾病控制与预防中心的报告中表明在过去十年对 NAL 敏感的 DSC 菌株一直在增加^[7],且来自欧洲的 *S.* 1,4,[5],12:i:-克隆出现了 5% 的 DSC 分离株^[25]。在本研究中,*S.* 1,4,[5],12:i:-分离株对 DSC 的耐药性为 54% (67/124),而 96% (64/67) 的分离株来自病例来源提示通过深入地研究质粒介导的喹诺酮抗性基因来监测广西壮族自治区 *S.* 1,4,[5],12:i:-DSC 分离株的传播趋势是十分必要的。

本研究中通过 PFGE 聚类分析发现广西壮族自治区 *S.* 1,4,[5],12:i:-呈高度多样性,表明这些病例是散发的而非来自食源性疾病暴发。因食品来源 *S.* 1,4,[5],12:i:-较少,没有发现两种不同来源的 *S.* 1,4,[5],12:i:-来自同一带型。多种研究利用 PFGE、多位点序列分型 (Multilocus sequence typing, MLST) 等分子技术发现 *S.* 1,4,[5],12:i:-与鼠伤寒沙门菌具有相同的带型和典型的致病基因,从而认为 *S.* 1,4,[5],12:i:-可能是 U302 型鼠伤寒沙门菌噬菌体的单相变体^[4,26]。提示通过 MLST 和全基因组测序 (Whole genome sequencing, WGS) 建立广西壮族自治区 *S.* 1,4,[5],12:i:-公共数据库,更加清晰地了解广西不同来源和地理位置的 *S.* 1,4,[5],12:i:-和鼠伤寒沙门菌之间遗传联系,是今后研究方向。

本研究中食源性 *S.* 1,4,[5],12:i:-分离株检出率较低,但研究表明从猪、猪肉和 humans 中分离出的 *S.* 1,4,[5],12:i:-菌株高度相关,沿食物链的传播是该血清型感染的途径之一^[27]。我国作为世界上最大的猪肉生产国和消费国,随着 *S.* 1,4,[5],12:i:-在全世界范围内的迅速增加使准确鉴定该血清型变得十分紧迫。仅仅进行血清分型可能会导致识别错误,按照欧洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 的建议^[24],应与多重 PCR 结合使用于鼠伤寒沙门菌和 *S.* 1,4,[5],12:i:-的鉴定,准确识别 *S.* 1,4,[5],12:i:-对于避免因分类错误而引起的不必要的监管行动有非常重要的作用。通过分析 *S.* 1,4,[5],12:i:-的遗传相关性和耐药性特征,更好地理解该血清型通过猪和猪肉传播给人类的能力,更好地预估其对人类存在

的食品安全风险。

参考文献

- [1] GUIBOURDENCHE M, ROGGENTIN P, MIKOLEIT M, et al. Supplement 2003-2007 (no. 47) to the white-kauffmann-le minor scheme [J]. Research in Microbiology, 2010, 161 (1): 26-29.
- [2] MACHADO J, BERNARDO F. Prevalence of Salmonella in chicken carcasses in Portugal [J]. Journal of Applied Bacteriology 1990, 69(4) : 477-480.
- [3] ECHEITA M A, ALADUEÑA A, CRUCHAGA S, et al. Emergence and spread of an atypical *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype 4, 5, 12: I strain in Spain [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1999, 37(10) : 3425.
- [4] DE LA TORRE E, ZAPATA D, TELLO M, et al. Several *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype 4, 5, 12: I-phage types isolated from swine samples originate from serotype *typhimurium* DT U302 [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41(6) : 2395-2400.
- [5] LUCARELLI C, DIONISI A M, TORPDAHL M, et al. Evidence for a second genomic island conferring multidrug resistance in a clonal group of strains of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* and its monophasic variant circulating in Italy, Denmark, and the United Kingdom [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2010, 48 (6): 2103-2109.
- [6] EFSA. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017 [J]. EFSA Journal, 2019, 17 (2): 1-278.
- [7] CDC. National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS): human isolates surveillance report for 2015 (Final Report) [J]. Atlanta, Georgia: U. S. Department of Health and Human Services, 2018, CDC.
- [8] MURASE T, OZAKI H, PHUEKTES P, et al. Genotypic and phenotypic characterization of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* monophasic variants isolated in Thailand and Japan [J]. The Journal of Veterinary Medical Science, 2018, 80 (12): 1839-1846.
- [9] LIANG Z M, KE B X, DENG X L, et al. Serotypes, seasonal trends, and antibiotic resistance of non-typhoidal *Salmonella* from human patients in Guangdong Province, China, 2009-2012 [J]. BMC Infectious Diseases, 2015, 15: 53.
- [10] 郑东宇, 沈赟, 周翌婧, 等. 2014—2018年江苏省食源性疾病监测中 1,4,[5],12:i:-沙门氏菌阳性病例流行病学特征分析 [J]. 公共卫生与预防医学, 2019, 30(4) : 29-32.
- [11] SUN H H, WAN Y P, DU P C, et al. The epidemiology of monophasic *Salmonella typhimurium* [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2020, 17 (2): 87-97.
- [12] EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on monitoring and assessment of the public health risk of “*Salmonella typhimurium-like*” strains [J]. EFSA Journal, 2010, 8 (10): 1826.
- [13] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100-Sperformance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Twenty-Second Informational Supplement [M]. Wayne: CLSI, 2018.
- [14] YANG X J, WU Q P, ZHANG J M, et al. Prevalence and characterization of monophasic *Salmonella* serovar 1,4,[5],12: I- of food origin in China [J]. PLoS One, 2015, 10 (9): e0137967.
- [15] RAN L, WU S Y, GAO Y J, et al. Laboratory-based surveillance of nontyphoidal *Salmonella* infections in China [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2011, 8 (8): 921-927.
- [16] ZENG X Y, LV S, QU C, et al. Serotypes, antibiotic resistance, and molecular characterization of non-typhoidal *Salmonella* isolated from diarrheic patients in Guangxi Zhuang Autonomous Region, China, 2014-2017 [J]. Food Control, 2021, 120: 107478.
- [17] KIM A, LIM S K, LEE K, et al. Characterization of *Salmonella enterica* serovar 4, [5], 12: I-isolates from Korean food animals [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2015, 12 (9): 766-769.
- [18] BARCO L, RAMON E, CORTINI E, et al. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar 4, [5], 12: I DT193 ASSuT strains from two outbreaks in Italy [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2014, 11 (2): 138-144.
- [19] MOSSONG J, MARQUES P, RAGIMBEAU C, et al. Outbreaks of monophasic *Salmonella enterica* serovar 4, [5], 12: I in Luxembourg, 2006 [J]. Euro Surveillance, 2007, 12 (6): E11-E12.
- [20] BONE A, NOEL H, LE HELLO S, et al. Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4, 12: I infections in France, linked to dried pork sausage, March-May 2010 [J]. Euro Surveillance, 2010, 15 (24): 19592.
- [21] ECHEITA M A, HERRERA S, USERA M A. Atypical, *flyB-negative* *Salmonella enterica* subsp. *enterica* strain of serovar 4,5, 12: I appears to be a monophasic variant of serovar *typhimurium* [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2001, 39 (8): 2981-2983.
- [22] MULVEY M R, FINLEY R, ALLEN V, et al. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype 4, [5], 12: I involving human cases in Canada: Results from the Canadian Integrated Program on Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS), 2003-10 [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2013, 68 (9): 1982-1986.
- [23] CRUMP J A, BARRETT T J, NELSON J T, et al. Reevaluating fluoroquinolone breakpoints for *Salmonella enterica* serotype typhi and for non-typhi salmonellae [J]. Clinical Infectious Diseases, 2003, 37 (1): 75-81.
- [24] SEIXAS R, SANTOS T R, MACHADO J, et al. Phenotypic and molecular characterization of *Salmonella* 1,4,[5],12:i:-R-type ASSuT isolates from humans, animals, and environment in Portugal, 2006-2011 [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2016, 13 (11): 633-641.
- [25] MOURÃO J, MACHADO J, NOVAIS C, et al. Characterization of the emerging clinically-relevant multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype 4, [5], 12: I (monophasic variant of *S. typhimurium*) clones [J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2014, 33 (12): 2249-2257.
- [26] ZAMPERINI K, SONI V, WALTMAN D, et al. Molecular characterization reveals *Salmonella enterica* serovar 4, [5], 12: I

from poultry is a variant *typhimurium* serovar [J]. Avian Diseases, 2007, 51 (4): 958-964.

[27] HAUSER E, TIETZE E, HELMUTH R, et al. Pork

contaminated with *Salmonella enterica* serovar 4, [5], 12:1, an emerging health risk for humans[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76 (14): 4601-4610.

研究报告

2016—2020年广州市花都区沙门菌流行病学及药敏分析

陈思婷,冯峰,杜利军,沈菲,汤凤珍,方萍
(广州市花都区人民医院,广东广州 510800)

摘要:目的 通过研究2016年1月至2020年12月广州市花都区沙门菌的流行特征及药敏情况,为防控、诊断及救治该类病原菌引起的疾病提供科学依据。方法 收集广州市花都区2016—2020年腹泻患者粪便标本6665份进行分离、鉴定、血清分型及药敏检测。结果 6665份粪便标本共检出沙门菌435株,总检出率为6.53%。感染人群以婴幼儿(0~3岁)为主,性别比例为男:女=1.18:1,差异无统计学意义。5—11月为流行高峰期,夏秋季易感。普儿科、急诊医学科和消化内科为阳性检出率最高的3个临床科室。流行株以鼠伤寒沙门菌和都柏林沙门菌为优势菌。药敏检测显示该区沙门菌对氨苄青霉素、四环素、哌拉西林和氨苄西林/舒巴坦耐药率极高。头孢类药物耐药率为17.01%~22.63%;喹诺酮类抗生素(左旋氧氟沙星和环丙沙星)耐药率略有上升。该区优势株鼠伤寒沙门菌对本研究中β-内酰胺类抗生素耐药率高于整体沙门菌。结论 广州市花都区近5年沙门菌感染总体呈上升趋势,夏秋季易感,感染人群以婴幼儿为主。本区沙门菌耐药性较强,尤其是鼠伤寒沙门菌,提示有关部门要对本区沙门菌的流行情况加强监测,以及在治疗上合理使用抗生素。

关键词:沙门菌;流行特征;血清型鉴定;药敏检测

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2021)05-0565-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2021.05.008

Epidemiology and drug sensitivity analysis of *Salmonella* in Huadu District of Guangzhou from 2016 to 2020

CHEN Siting, FENG Feng, DU Lijun, SHEN Fei, TANG Fengzhen, FANG Ping
(Huadu District People's Hospital of Guangzhou, Guangdong Guangzhou 510800, China)

Abstract: Objective To study the epidemiological characteristics and drug sensitivity of *Salmonella* in Huadu District of Guangzhou from January 2016 to December 2020, so as to provide scientific basis for prevention, control, diagnosis and treatment of diseases caused by this kind of pathogens. **Methods** Six thousand six hundred and sixty-five fecal samples of diarrhea patients in Huadu District of Guangzhou city from 2016 to 2020 were collected for isolation, identification, serotyping and drug sensitivity test. **Results** A total of 435 *Salmonella* strains were detected, with a total detection rate of 6.53%. The infection population was mainly infants (0-3 years old), and the sex ratio was male : female = 1.18 : 1, which was not statistically significant. The epidemic peak was from May to November. General pediatrics, emergency medicine and gastroenterology were the three clinical departments with the highest positive detection rate. *Salmonella typhimurium* and *Salmonella dublin* were the dominant strains in the epidemic. Drug sensitivity test showed that the resistance rates of *Salmonella* to ampicillin, tetracycline, piperacillin and ampicillin/sulbactam were very high. The drug resistance rate of cephalosporins ranged from 17.01% to 22.63%. The resistance rate of quinolones (levofloxacin and ciprofloxacin) increased slightly. The result showed that the dominant strain of *Salmonella* in this area, *Salmonella typhimurium*, was less sensitive to β-lactam antibiotics in this study. **Conclusion** In the recent 5 years, *Salmonella* infection in Huadu District of Guangzhou city was on the rise, especially in infants. The drug resistance of *Salmonella* in this area was relatively strong, especially *Salmonella typhimurium*. It suggested that the monitoring of the epidemic should

收稿日期:2021-07-06

作者简介:陈思婷 女 检验技师 研究方向病原微生物 E-mail:353507674@qq.com

通信作者:冯峰 男 主管检验师 研究方向病原微生物 E-mail:ff_0307@163.com