

4 小结

本研究以天津地区的蟹过敏人群为研究对象,发现本地区梭子蟹的主要过敏蛋白为36、48、94 kD,同时发现了个体间存在着明显的反应模式的差异性,为本地区患者在临床上过敏症的诊断及脱敏治疗的差异性提供了研究基础。

参考文献

[1] van Hengel A J. Food allergen detection methods and the challenge to protect food-allergic consumers [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 389:111-118.

[2] LIN Jing, BARDINA L, WAYNE G, et al. Development of a novel peptide microarray for large scale epitope mapping of food allergens [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 124(2):315-322.

[3] 吕相征, 刘秀敏. 健康人群食物过敏状况的初步调查 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2005, 17(2):119-120.

[4] ZWIETERING M. Practical considerations on food safety objectives [J]. *Food Control*, 2005, 16(9):817-823.

[5] 吴序栋, 邓利平, 刘志刚. 大闸蟹过敏原的分离、鉴定与纯化 [J]. *食品科技*, 2009, 34(6):294-296.

[6] AUSUBEL F. Short protocols in molecular biology [M]. 4th ed. Beijing: Science Press, 2005.

[7] ROSALI'A AYUSO, SILVIA SA 'NCHÉZ-GARCIA, LIN Jing, et al. Greater epitope recognition of shrimp allergens by children than by adults suggests that shrimp sensitization decreases with

age [J]. *J allergy clin immunol*, 2010, 125(6):1286-1293.

[8] 林德球, 程江丽, 邹泽红, 等. 欧蓍草花粉主要过敏原 Par j 1 的重组表达及鉴定 [J]. *中国免疫学杂志*, 2011, 8(27):726-730.

[9] LEUNG P S, CHEN Y C, GERSHWIN M E, et al. Identification and molecular characteri zati on of Charybdis feriatius tropomyosin, the major crab allergen [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1998, 102(5):847-852.

[10] GILL B V, CARTIER A, HORTH S L, et al. Identification of Snow Crab proteins that elicit IgE reactivity in Snow Crab processing workers [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 111(2):S97.

[11] 赵绮华, 王锡忠, 陈丽金, 等. 梭子蟹变应原的分离、纯化与鉴定 [J]. *中国免疫学杂志*, 2007, 23(3):256-259.

[12] 沈丽燕, 朱卫娟, 吕杨, 等. 花生、河虾中主要过敏原组分的研究 [J]. *首都公共卫生*, 2008, 2(2):58-61.

[13] 黄建芳, 林婷婷, 向军俭, 等. 河虾主要过敏组分的分离、纯化、鉴定及其致敏性分析 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2010, 26(5):444-446.

[14] KUKREJAA N, SINGHA B P, ARORA N, et al. Identification of *Epicoccum purpurascens* allergens by two-dimensional immunoblotting and mass spectrometry [J]. *Immunobiology*, 2008, 2(3):65-73.

[15] EBO D G, KUEHN A, BRIDTS C H, et al. Monosensitivity to pangasius and tilapia caused by allergens other than parvalbumin [J]. *Investig Allergol Clin Immunol*, 2010, 20(1):84-88.

研究报告

2009—2011年上海市旺兹沃斯沙门菌的耐药分析及分子分型

张雯霞, 陈敏, 张曦, 陈洪友, 王刚毅, 席曼芳
(上海市疾病预防控制中心, 上海 200336)

摘要:目的 了解上海市2009—2011年旺兹沃斯沙门菌的耐药及分子分型特点。方法 采用WHO推荐的改良K-B纸片法,对6株旺兹沃斯沙门菌进行10种抗生素敏感性试验,采用CLSI 2010年版标准判断结果;运用脉冲场凝胶电泳(PFGE)方法对6株旺兹沃斯沙门菌进行分子分型分析。结果 6株旺兹沃斯沙门菌中只有1株对环丙沙星中度敏感,对甲氧苄啶和四环素耐药,其他菌株对这10种抗生素均敏感;6株旺兹沃斯沙门菌共产生5种PFGE带型,其中2株表现为同一PFGE型别。结论 2009—2011年旺兹沃斯沙门菌对抗生素的敏感性较高;部分菌株之间具有较高的同源性。

关键词:旺兹沃斯沙门菌; 药物敏感试验; 脉冲场凝胶电泳; 分子分型; 食品安全

中图分类号:R378.22 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2012)05-0424-04

收稿日期:2012-03-24

作者简介:张雯霞 女 技师 研究方向为微生物检验 E-mail:wxzhang@scdc.sh.cn

通信作者:陈敏 男 主任技师 研究方向为病原微生物检验 E-mail:mchen@scdc.sh.cn

Molecular typing and antimicrobial susceptibility testing of *Salmonella wandsworth* isolated from 2009 to 2011 in Shanghai

Zhang Wenxia, Chen Min, Zhang Xi, Chen Hongyou, Wang Gangyi, Xi Manfang

(Shanghai Municipal Center for Disease Control & Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract: Objective To investigate the antibiotic resistance and molecular types of *S. wandsworth* strains isolated in Shanghai from 2009—2011. **Methods** K-B method recommended by WHO was used to detect 6 strains of *S. wandsworth*. Results were analyzed according to the breakpoints of CLSI 2010; Pulsed field gel-electrophoresis (PFGE) was used for molecular typing. **Results** One strain of *S. wandsworth* was resistant to trimethoprim and tetracycline. The others were sensitive to 10 kinds of antibiotics. Six strains of *S. wandsworth* were classified to 5 PFGE patterns and two of them were the same pattern. **Conclusion** *S. wandsworth* strains isolated from 2009 to 2011 were highly sensitive to antibiotics, and some showed higher homology.

Key words: *Salmonella wandsworth*; antimicrobial susceptibility testing; pulsed - field gel electrophoresis; molecular typing; food safety

沙门菌属是常见的肠道传染病和食物中毒的病原之一,有 2 700 多个血清型,其中肠炎沙门菌、鼠伤寒沙门菌等 A-F 群以内的血清型引起的病例较为常见。旺兹沃斯沙门菌(*S. wandsworth*)是 O 抗原在 A-F 群之外的比较罕见的血清型沙门菌,国内很少有文献报道,但在国外有该菌暴发的报道^[1]。本研究对在 2009—2011 年期间,从食品和健康人体检肛拭子中分离出的 6 株旺兹沃斯沙门菌,以 K-B 法进行了 10 种抗生素的药物敏感实验,运用脉冲场凝胶电泳方法对其进行了分子分型研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

6 株旺兹沃斯沙门菌(39:b:1,2)菌株均来自上海市各区县疾病预防控制中心。菌株信息见表 1。

表 1 6 株旺兹沃斯沙门菌信息

Table 1 The message of 6 strains of *Salmonella wandsworth*

编号	血清型	地区	来源	年份
SH110012	39:b:1,2	长宁	体检	2009
SH110013	39:b:1,2	杨浦	体检	2009
SH110014	39:b:1,2	杨浦	猪肉	2010
SH110015	39:b:1,2	闸北	体检	2011
SH110016	39:b:1,2	嘉定	蛭子	2011
SH110017	39:b:1,2	嘉定	甲鱼	2011

1.1.2 主要仪器

脉冲场凝胶电泳仪(Bio-Rad CHEF Mapper),凝胶成像仪(Bio-Rad GEL Doc2000),Vitek 自动生化鉴定仪和菌液比浊仪为 Densmiat(法国生物梅里埃公司)。

1.1.3 主要试剂

Xba I 限制性内切酶购自英国 New England Biolabs 公司; SeaKem Gold Agarose 购自美国

Cambraex Bio Rockland 公司;药敏纸片均购于 OXOID 公司;M - H 琼脂平板,购于上海科玛嘉公司。沙门菌分型诊断血清 50 种(成都生物制品研究所)、沙门菌分型诊断血清 69 种(S&A, REAGENTS, LAB, Ltd, 泰国)以上试剂均在有效期内使用。

1.2 方法

1.2.1 菌株的鉴定和血清分型

根据《上海市沙门菌监测方案》对分离的沙门菌进行鉴定和血清学复核。

1.2.2 抗生素敏感实验

采用 K - B 纸片扩散法,结果判断按照美国临床实验室标准化协会(CLSI)微生物敏感试验执行标准^[2],质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。选用抗生素敏感实验纸片 10 种。氨基糖甙类:庆大霉素、阿米卡星;头孢类:头孢噻肟、头孢他啶、头孢吡肟;四环素类:四环素;喹诺酮类:环丙沙星;氯霉素类:氯霉素;青霉素类:氨苄西林;磺胺类:甲氧苄啶。

1.2.3 PFGE

参照 PulseNet 公布的 non-typhoidal *Salmonella* serotypes 的标准化方案^[3]。

1.2.4 统计学分析

将实验获取的电泳图谱用 BioNumerics 软件(Version 6.0, Applied Maths)进行处理,识别图形条带。电泳图谱以 *Xba* I 酶切的 H9812 作为统一的分子量标准进行校准确定条带位置。聚类图使用非加权配对算数平均法(unweighted pairgroup method with arithmetic mean, UPGMA)构建,采用 Dice 系数来衡量 PFGE 带型之间的相似度。

2 结果

2.1 药敏试验结果分析

6 株旺兹沃斯沙门菌中,除了菌株 SH110017 对

环丙沙星中度敏感,对甲氧苄啶和四环素耐药之外,其他菌株对这10种抗生素均敏感。见表2。

表2 6株旺兹沃斯沙门菌的药敏试验结果
Table 2 Susceptibility testing results of 6 strains of *Salmonella wandsworth*

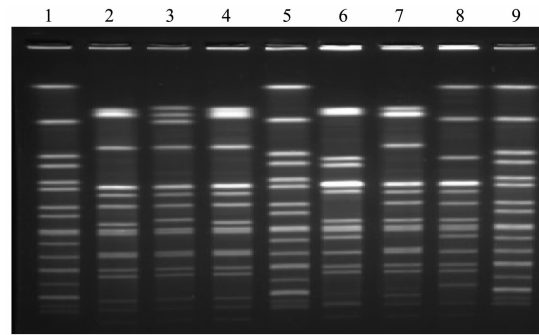
抗生素	SH110012	SH110013	SH110014	SH110015	SH110016	SH110017
庆大霉素	S	S	S	S	S	S
阿米卡星	S	S	S	S	S	S
头孢噻肟	S	S	S	S	S	S
头孢他啶	S	S	S	S	S	S
头孢吡肟	S	S	S	S	S	S
四环素	S	S	S	S	S	R
环丙沙星	S	S	S	S	S	I
氯霉素	S	S	S	S	S	S
氨苄西林	S	S	S	S	S	S
甲氧苄啶	S	S	S	S	S	R

注:“S”代表敏感,“I”代表中度敏感,“R”代表耐药。

2.2 PFGE 结果分析

PFGE 分型结果按照 Tenover 等^[4]提出的菌株同源性判断标准:电泳条带无差异,说明为相同克隆来源的菌株;如果有1~3条带差异,说明菌株间有相近关系,且只有单基因的改变;如果有4~6条带差异,表明菌株间可能亲缘关系相对较远,表示有两个独立基因的存在。6株旺兹沃斯沙门菌的

PFGE 电泳图见图1。



泳道1、5、9为沙门菌H9812,作为Marker;泳道2~4、6~8分别为SH110012~SH110014和SH110015~SH110017号菌株

图1 6株旺兹沃斯沙门菌的 PFGE 分型图谱

Figure 1 PFGE classification map of 6 strains of *Salmonella wandsworth*

采用 BioNumerics 软件对全染色体 DNA 酶切图谱进行类聚分析,PFGE 带型之间的相似度采用 Dice 系数来衡量,条带位置差异容许度选择 1.5%,优化值选择 0.8%。根据电泳产生条带的位置和数量的不同,共分为 5 个型别(相似值 100%的为同一 PFGE 型别),不同菌株的相似系数在 65.8%~100%之间。见图2。

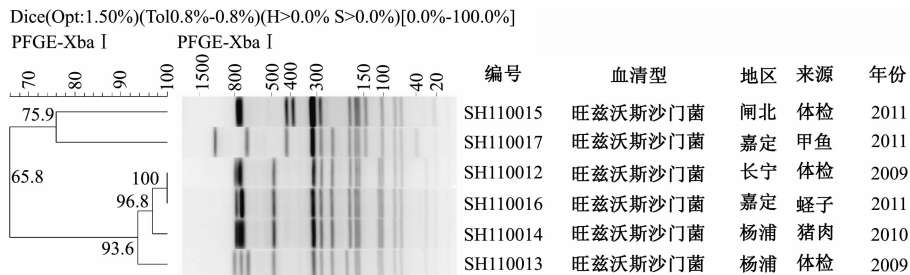


图2 6株旺兹沃斯沙门菌的 PFGE 结果聚类图

Figure 2 The results of PFGE cluster map

3 讨论

本试验收集上海市 2009—2011 年 O 抗原为 A-F 群之外的旺兹沃斯沙门菌 6 株,仅有菌株 SH110017 对环丙沙星中度敏感,对甲氧苄啶和四环素耐药之外,其余菌株对这 10 种抗生素均敏感。菌株 SH110017 是 2011 年从甲鱼中检出,有耐药情况出现,可能是由于在甲鱼饲养过程中抗生素的不合理使用导致了耐药的产生。有文献^[5]报道,在动物饲养过程中抗生素的不规范使用或滥用严重导致了沙门菌多重耐药的产生,这将会对人畜沙门菌病的控制产生不利影响,应引起政府及相关部门的高度重视。

PFGE 分型技术最早产生在上世纪 80 年代末期,经过几十年发展,被认为是目前细菌分子流行病学研究的“金标准”。本次研究中,菌种 SH110012 和

SH110016 为同一克隆,菌株 SH110013 和 SH110014 可能只有单基因改变,菌株带型差异小,总体相似性大于 90%;而其他 2 株菌的条带差异相对较大,菌株间亲缘关系相对较远。2 株属于同一克隆的菌株分离自不同的年份、不同的地区,且来源也不同,分别从健康人体检和食品中分离得到,这应引起重视,旺兹沃斯沙门菌可能会在上海造成散发的病例,只是由于检测技术水平的局限等原因未被发现。旺兹沃斯沙门菌是 O 抗原在 A-F 群之外的沙门菌,是比较罕见的血清型,在全国有文献报道的就仅有 4 例^[6-9],分别为:1985、1986 两年中,从靖江县 4 985 人份食品从业人员健康体检肛拭中分离到 41 株旺兹沃思沙门菌;1996 年 9 月在南昌市从饮食从业人员肛拭子中分离出 1 株;2006 年在绍兴市蛇粉中分离出 1 株;2009 年在商丘市腹泻病人肛

拭中分离出 1 株。但是据美国 CDC 报道,2007 年,美国曾发生过由旺兹沃斯沙门菌引起的一次暴发,这次暴发涉及到美国 17 个州,共有 65 个病例,其中有 77% 的病例出现了血样便。所以,不能忽视这个罕见血清型沙门菌对公共卫生的威胁,防止食品入侵或病例输入,通过对罕见沙门菌血清型的持续监测,对菌株进行耐药性的、分子分型的研究,不断完善和发展以 PFGE 聚类分析为基础的相关数据库,以监控和预警罕见血清型沙门菌型流行,对于公共卫生具有重大的意义。

参考文献

- [1] SOTIR M J, EWALD G, KIMURA A C, et al. Outbreak of Salmonella Wandsworth and Typhimurium infections in infants and toddlers traced to a commercial vegetable-coated snack food [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2009, 28(12): 1041-1046.
- [2] 美国临床实验室标准化协会. 抗微生物药物敏感性试验执行标准[S]. 美国·宾西法尼亚·韦恩: 第 16 版信息增刊(M100-

- S16), 2006, 26(3): 1-78.
- [3] CDC. Standardized laboratory protocol for molecular subtyping of escherichia coli O157: H7, non-typhoidal Salmonella serotypes, and Shigellosis sonnei by Pulsed Field Gel Electrophoresis[S].
- [4] TENOVER F C, ARBEIT R D, GOERING R V, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing[J]. *J Clin Microbiol*, 1995, 33(9): 2233-2239.
- [5] 李郁, 焦新安, 魏建忠, 等. 屠宰生猪沙门氏菌分离株的血清型和药物感受性分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2008, 24(1): 67-70.
- [6] 施益民, 张满珍, 巢国祥. 从健康体检中检出旺兹沃斯沙门菌[J]. *中国人兽共患病杂志*, 1989, 5(5): 55.
- [7] 李端, 王琪, 万水. 南昌市检出旺兹沃斯沙门菌[J]. *中华预防医学杂志*, 1997, 31(6): 345.
- [8] 蒋兴祥, 张行燕. 从纯蛇粉制品检出一株罕见的旺兹沃思沙门氏菌的调查分析[J]. *食品与健康*, 1996, 3(8): 51.
- [9] 李红星, 杜浩森, 李康, 等. 商丘市 2006—2010 年沙门菌感染性腹泻监测结果分析[J]. *现代预防医学*, 2011, 38(17): 3558-3560.

研究报告

食源性金黄色葡萄球菌肠毒素基因型分布研究

沈玄艺, 宋启发, 徐景野, 朱国良, 章丹阳

(浙江省宁波市疾病预防控制中心, 浙江 宁波 315010)

摘要:目的 采用 PCR 法扩增食源性金黄色葡萄球菌中肠毒素基因以了解该菌肠毒素基因携带情况, 比较食物中毒和食品监测来源菌株中肠毒素基因检出率差异。方法 合成 sea、seb、sec、sed 和 see 五种肠毒素基因特异性引物, 用常规 PCR 方法扩增食物中毒和食品监测来源菌株中各自肠毒素基因, 同时采用 mini-VIDAS 检测食物中毒来源菌株中肠毒素。结果 110 株菌株中有 30 株检出肠毒素基因, 检出率为 27.3%, 肠毒素基因阳性菌株均只检出 1 种肠毒素基因。其中来自 2 起食物中毒的 14 株菌株均检出 seb 型肠毒素和相关基因, 检出率为 100%。来源于食品监测样本的 96 株菌株中有 16 株检出肠毒素基因, 检出率为 16.7%, 包括 sea 型 4 株、seb 型 2 株、sec 型 4 株、sed 型 6 株。结论 在宁波市食品监测中所分离的金黄色葡萄球菌所携带的肠毒素基因主要有 sea、seb、sec 和 sed 四型, 而 seb 型肠毒素是引起金黄色葡萄球菌肠毒素所致食物中毒的主要因素。

关键词:金黄色葡萄球菌; 肠毒素; 基因; 食源性致病菌; 食品安全

中图分类号: R378 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2012)05-0427-03

Study on the distribution of enterotoxin genotypes in foodborne *Staphylococcus aureus*

Shen Xuanyi, Song Qifa, Xu Jingye, Zhu Guoliang, Zhang Danyang

(Ningbo Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Ningbo 315010, China)

Abstract: Objective To study and compare the prevalence of enterotoxin genes in foodborne *Staphylococcus aureus*

收稿日期: 2012-05-01

作者简介: 沈玄艺 女 主管技师 研究方向为卫生微生物检验

通信作者: 宋启发 男 副主任技师 研究方向为细菌基因组学 E-mail: songqf@nbcdc.org.cn