

论著

我国食品中大肠埃希菌 O157 耐药及 PFGE 分子分型特征分析

白莉, 郭云昌, 董银革, 王伟, 杜春明, 徐进, 李凤琴

(国家食品安全风险评估中心 卫生部食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021)

摘要:目的 了解我国食品中分离的 110 株大肠埃希菌 O157 的耐药及脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 分子分型特征, 完善我国食品中大肠埃希菌 O157 菌株特征的基础信息, 为该菌的风险评估提供依据。方法 使用琼脂稀释法对确认的 110 株大肠埃希菌 O157 进行药敏试验, 完成耐药特征的分析。参照美国疾病预防控制中心 PulseNet 试验方法, 对 110 株大肠埃希菌 O157, 运用 *Xba* I 酶进行酶切并完成 PFGE 分析, 利用 BioNumerics 软件对分离株的指纹图谱进行聚类分析。结果 ①110 株菌中, 43 株菌至少对一种抗生素有抗性。耐药率最多的前三种抗生素依次是四环素 (30.0%, 33/110), 磺胺甲恶唑 (29.1%, 32/110), 萘啶酸 (26.4%, 29/110); ②一共有 24 个耐药谱, 耐两种以上抗生素的菌株有 34 株, 耐 3 种以上抗生素的多重耐药菌株有 32 株。最常见的三种耐药谱依次是 SMX(6), AMP-NAL-SMX-SXT-TET(6), AMP-CHL-NAL-SMX-SXT-TET(4)/AMP-SMX-SXT-TET(4)/TET(4); ③大肠埃希菌 O157 非 H7 (O157: hunde) 对所测试的抗生素的耐药率明显高于大肠埃希菌 O157: H7 ($\chi^2 = 72.010$ $P < 0.05$)。其中 37 株携带了志贺毒素基因的大肠埃希菌 O157: H7 仅对磺胺甲恶唑 (2.7%, 1/37)、萘啶酸 (2.7%, 1/37) 有耐药, 没有多重耐药菌株; ④通过不同种类食品中大肠埃希菌 O157 菌株耐药率比较发现, 从生猪肉、生禽肉中分离的菌株耐药率相对高于其他食品种类; ⑤PFGE 分子分型研究显示菌株具有基因多态性, 且可以很好将大肠埃希菌 O157 非 H7 和大肠埃希菌 O157: H7 菌株区分开。结论 我国食品中分离的大肠埃希菌 O157 耐药现象严重。我们应加强养殖环节和零售环节食源性致病菌, 特别是大肠埃希菌 O157 (包括产志贺毒素大肠埃希菌 O157) 菌株药敏特征的监测, 探明食品与养殖环节菌株耐药的传播关系, 并为国家制定科学的养殖业抗生素用药提供依据。

关键词: 大肠埃希菌 O157; 药敏试验; 脉冲场凝胶电泳; 耐药; 分子分型

中图分类号: R155.5; R378.2⁺1; TS207.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-8456(2014)05-0422-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2014.05.004

Antimicrobial susceptibility analysis and molecular typing by pulsed-field gel electrophoresis of *Escherichia coli* O157 isolated from food in China

BAI Li, GUO Yun-chang, DONG Yin-ping, WANG Wei, DU Chun-ming, XU Jin, LI Feng-qin
(Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment of Ministry of Health, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

Abstract: Objective To investigate the antimicrobial susceptibility and the pulse field gel electrophoresis (PFGE) patterns of 110 *Escherichia coli* O157 isolates from food in China, and to complete the characteristics of *Escherichia coli* O157 in food for the risk assessment. **Methods** Antimicrobial susceptibility of all confirmed *Escherichia coli* O157 isolates was determined by agar dilution method. DNA collected from all strains was digested by *Xba* I according to the standard PFGE protocol of US CDC. The PFGE patterns were analyzed with BioNumerics software. **Results** Out of all the isolates, 43 strains were resistant to at least one antibiotic. The top three antibiotics were tetracycline (30.0%, 33/110), sulfamethoxazole (29.1%, 32/110), nalidixic acid (26.4%, 29/110). In total, 24 antimicrobial resistance profiles were identified. 34 isolates were resistant to more than two antibiotics and 32 resistant to more than three antibiotics. The dominant multidrug resistant profiles were SMX (6), AMP-NAL-SMX-SXT-TET (6), AMP-CHL-NAL-SMX-SXT-TET (4)/AMP-SMX-SXT-TET (4)/TET (4). The antibiotic resistance rate of *E. coli* O157 was significantly higher than *E. coli* O157: H7 ($\chi^2 = 72.010$ $P < 0.05$). 37 *E. coli* O157: H7 isolates harboring shiga toxin genes only were resistant to sulfamethoxazole (2.7%, 1/37), nalidixic acid (2.7%, 1/37) with no multi-drug resistant strains. Compared by different food types, strains from raw pork and raw poultry had relatively higher resistance rates than other types of food. PFGE

收稿日期: 2014-06-03

作者简介: 白莉 女 副研究员 研究方向为食品微生物 E-mail: baili@cfssa.net.cn

通讯作者: 徐进 男 研究员 研究方向为食品微生物 E-mail: xujin@cfssa.net.cn

molecular typing completely separated *E. coli* O157: hund and *E. coli* O157: H7 strains. **Conclusion** The antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from food in Chinawas serious. The antimicrobial susceptibility surveillance should be strengthened, especially for *E. coli* O157 (including STEC *E. coli* O157) isolates to explore the relationship and transmission of antibiotic resistance strains between farming areas and retail sectors and to provide a scientific basis to develop antibiotic medication in farming.

Key words: *Escherichia coli* O157; antibiotics resistance; pulsed-field gel electrophoresis; drug resistance; molecular typing

大肠埃希菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 通常存在于人类和动物的肠道内,但是通过粪便或是动物屠宰过程的污染,也常常存在于水、土壤、食物中^[1]。产志贺毒素大肠埃希菌 (shiga toxin-producing *Escherichia coli*, STEC) 是一类携带了前噬菌体编码一种或两种志贺毒素基因 (*stx*) 的食源性致病菌^[2]。自 1982 年以来,产志贺毒素大肠埃希菌 O157: H7 相继在美国、英国、加拿大、日本等国家引起暴发和流行^[2],可导致患者出现腹泻,出血性结肠炎,其中有 2% ~7% 的病人会出现血栓性血小板减少性紫癜及溶血性尿毒综合症,严重者死亡,产志贺毒素大肠埃希菌引发的食源性疾病已成为严重的公共卫生安全问题^[3]。对于大肠埃希菌 O157: H7 耐药特征的研究文章显示,该菌株耐药率较低,对多种抗生素敏感,多重耐药菌株较为少见^[4-5]。

一直以来,对于 STEC 菌株导致的感染,是否使用抗生素一直是有争议的^[6]。2000 年, Wong 等^[7]发现婴幼儿在感染 STEC O157: H7 后,某些情况下,抗生素的治疗不能改善其引起的感染状况,且还会加重引发溶血性尿毒综合症 (HUS) 的风险。因为抗生素裂解了细菌的细胞膜,加速毒素的释放。但也有研究发现,某些抗生素,如果是在感染早期使用,可能会降低疾病发展成为 HUS 的风险^[8]。对 2011 年德国产志贺毒素暴发事件溶血性尿毒综合症病人分离的 O104: H4 菌株,添加某种抗生素进行培养,就没有出现志贺毒素合成和释放的增加^[9]。

但近年来,大肠埃希菌 O157 的耐药性一直在增加,可能是由于某类抗生素在养殖业的预防性用药和作为生长剂的使用^[5,8-11]。在养殖业,抗生素不仅作为预防性治疗也作为一种促生长剂,必然对经济动物肠道内的菌株造成一定的耐药选择性压力^[12],经济型动物在饲养、生产、加工过程中,动物的排泄物等物质势必携带耐药菌株、可移动的耐药基因^[13],对外在的环境也造成耐药的的选择性压力^[14]。2011 年德国暴发的 STEC O104: H4 疫情,该菌株联合携带了产志贺毒素大肠埃希菌的基因 (*stx2*, *iha*, *lpf*₀₂₆, *lpf*₀₁₁₃) 和聚集性黏附大肠埃希菌的基因 (*aggA*, *aggR*, *setI*, *pic*, *aap*),并表现出以上基因赋予的特性,同时该菌株具有产生 β -内酰胺酶的基因,并表现出对多种青霉素类和头孢类药物耐药^[15]。经济型动物,特别是牛羊等

牲畜,是大肠埃希菌 O157 (包括 STEC O157) 的天然宿主。当动物生存的环境使用抗生素时,它必然也就成为了耐药细菌的耐药库。

本研究首次对我国食品来源的的 110 株大肠埃希菌 O157 的耐药性和分子分型进行研究,目的是更好的了解不同食品来源菌株的耐药性及分布特征。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源沙门菌

试验用 110 株大肠埃希菌 O157 来自 2005—2010 年国家污染物监测网,本实验室使用生化反应、血清方法和 PCR 方法完成 110 株菌鉴定,明确毒力基因携带情况^[16]。根据不同的血清和毒力基因携带情况,在 110 株大肠埃希菌 O157 中,67 株为大肠埃希菌 O157: H7,其中有 37 株携带了 *stx* 基因,43 株为 O157 非 H7 的大肠埃希菌。菌株的分布情况见表 1。大肠埃希菌 O157: H7 EDL933,大肠埃希菌 (MG 1655),大肠埃希菌 (ATCC 25922),脉冲场凝胶电泳 (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) 使用的相对分子量标准菌株为 *Salmonella braenderup* H9812 等质控菌株由本室保存。

表 1 各种不同类别的食品中 O157: H7 和 O157 非 H7 数量
Table 1 Different source of *E. coli* O157: H7 and *E. coli* O157: hund isolated from food

菌株类型	样品种类					合计
	生羊肉	生猪肉	生牛肉	生鸡肉	其他*	
O157: H7	28	6	13	4	16	67
O157 非 H7	14	16	5	6	2	43

注: * 表示熟肉制品/凉拌菜/豆制品等

1.1.2 主要仪器与试剂

恒温培养箱 (美国 3M)、涡旋振荡器 (德国 IKA)、微量紫外分光光度计 NanoDropND-1000 Spectrophotometer (美国 Thermo Fisher)、细菌多点接种仪、bioMérieux Vitek 浊度计 (法国梅里埃)、恒温振荡器、CHEF-mapper 型脉冲场凝胶电泳仪、GEL DOC XR 凝胶成像系统 (美国伯乐)、纯水仪、电子天平、小型高速离心机。

脑心浸液肉汤和脑心浸液琼脂均购于北京陆桥技术有限公司, MH- II 肉汤 (美国 BD), 试验用抗生素氯霉素、头孢噻肟、头孢西丁、四环素、庆大霉

素、磺胺甲恶唑、复方新诺明、萘啶酸、环丙沙星、氨苄西林、头孢吡肟、头孢曲松、阿米卡星、卡那霉素均购自美国 Sigma, Mueller-Hinton 琼脂(英国 Oxoid),氯化钠(北京化工厂),Tris base、Tris-HCl 均购自美国 Promega,蛋白酶 K(德国 Merck),限制性内切酶 *Xba* I(美国 New England BioLabs),月桂酰肌氨酸钠、十二烷基磺酸钠、乙二胺四乙酸二钠、比浊管、SeaKem Gold 琼脂糖均购自美国 BD。

1.2 方法

1.2.1 菌株活化

将于 -70 ℃ 冰箱中冻存的 110 株大肠埃希菌 O157 和质控菌株划线接种于脑心浸液琼脂(BHA)上,37 ℃ 培养过夜,次日挑取单菌落再次接种于 BHA 上,37 ℃ 培养过夜。

1.2.2 药敏试验菌悬液的制备和试验

分别取 2~3 个第二次 BHA 上传代的新鲜菌落,于 3 ml 无菌 0.85% 生理盐水比浊管中,用微量紫外分光光度计调整菌悬液至 0.5 麦氏单位,取上述液体 10 μl,加入到 990 μl 无菌 0.85% 生理盐水中,充分混匀。用细菌多点接种仪分别对不同的抗生素进行接种,接种完毕后于 37 ℃,培养 16~20 h,观察结果。

1.2.3 抗生素最低抑菌浓度的测定

抗生素最低抑菌浓度(MIC):参考美国临床实验室标准化委员会(CLSI)2012 版^[17],使用琼脂稀释法测定肠杆菌科 14 种抗生素(氯霉素、头孢噻肟、头孢西丁、四环素、庆大霉素、磺胺甲恶唑、复方新诺明、萘啶酸、环丙沙星、氨苄西林、头孢吡肟、头孢曲松、阿米卡星、卡那霉素)的 MIC 值,并参照

CLSI 判断 MIC 结果是否为耐药或敏感。

1.2.4 脉冲场凝胶电泳分析

参照美国 CDC PulseNet 的统一 PFGE 方法^[18],脉冲场凝胶电泳分型所用标准菌株为 *S. braenderup* 血清型全球参考菌株 H9812。电泳图像分析和结果聚类分析,PFGE 图像应用 Bionumerics v4.0 数据库软件进行处理,识别图像条带。在图像识别过程中,在 Marker 最小片段外的试验菌株条带因为不能为 Marker 校准而被舍去。图像通过统一的 Marker 进行校准,标定条带位置,必要时进行人工校正。聚类方法和参数选择:聚类图类型选择 UPGMA(unweighted pair group method using arithmetic averages)方法,条带位置差异容许度选择 1.0%,优化值为 0.5%,Band based/Dice 方法计算相似性系数。在限制性内切酶的作用下,不同的菌株会呈现不同的条带数和片段大小,按照 PulseNet 的命名原则,对每一种不同的带型进行命名。

2 结果

2.1 110 株大肠埃希菌 O157 的药敏结果

在受试的 14 种抗生素中,对所有抗生素都敏感的菌株有 67 株菌。其余的 43 株菌至少对一种抗生素有抗性。耐药率最多的前四种抗生素依次是四环素(30.0%,33/110),磺胺甲恶唑(29.1%,32/110),萘啶酸(26.4%,29/110),复方新诺明(23.6%,26/110),其次为氨苄西林、氯霉素、庆大霉素、环丙沙星、卡那霉素和头孢西丁。对阿米卡星、头孢吡肟,头孢曲松、头孢噻肟耐药株各 1 株,药敏结果见表 2。

表 2 食品中分离的 110 株大肠埃希菌 O157 的药敏结果(%)
Table 2 Antimicrobial resistance phenotypes of 110 *E. coli* O157 isolates from retail food

抗生素种类	耐药率/%					
	生羊肉(n=42)	生猪肉(n=22)	生牛肉(n=18)	生禽肉(n=10)	其他(n=18)	合计(n=110)
阿米卡星	2.4(1/42)	0.0(0/22)	0.0(0/18)	0.0(1/10)	0.0(0/18)	0.0(1/110)
氨苄西林	16.7(7/42)	50.0(11/22)	11.1(2/18)	50.0(5/10)	5.6(1/18)	23.6(26/110)
氯霉素	11.9(5/42)	18.2(4/22)	0.0(0/18)	30.0(3/10)	0.0(0/18)	10.9(12/110)
环丙沙星	4.8(2/42)	4.5(1/22)	0.0(0/18)	30.0(3/10)	0.0(0/18)	5.5(6/110)
头孢曲松	0.0(0/42)	4.5(1/22)	0.0(0/18)	0.0(0/10)	0.0(0/18)	0.9(1/110)
头孢噻肟	0.0(0/42)	4.5(1/22)	0.0(0/18)	0.0(0/10)	0.0(0/18)	0.9(1/110)
头孢吡肟	0.0(0/42)	4.5(1/22)	0.0(0/18)	0.0(0/10)	0.0(0/18)	0.9(1/110)
头孢西丁	0.0(0/42)	4.5(1/22)	0.0(0/18)	10.0(1/10)	5.6(1/18)	2.7(3/110)
庆大霉素	7.1(3/42)	9.1(2/22)	0.0(0/18)	20.0(1/10)	5.6(1/18)	6.3(7/110)
卡那霉素	4.8(2/42)	9.1(2/22)	0.0(0/18)	0.0(0/10)	0.0(0/18)	3.6(4/110)
萘啶酸	19.0(8/42)	63.6(14/22)	11.1(2/18)	50.0(5/10)	0.0(0/18)	26.4(29/110)
磺胺甲恶唑	21.4(9/42)	54.5(12/22)	16.7(3/18)	40.0(4/10)	22.2(4/18)	29.1(32/110)
复方新诺明	19.0(8/42)	50.0(11/22)	16.7(3/18)	40.0(4/10)	0.0(0/18)	23.6(26/110)
四环素	28.6(12/42)	63.6(14/22)	11.1(2/18)	40.0(4/10)	5.6(1/18)	30.0(33/110)

注:抗生素对应的耐药临界点(μg/ml):阿米卡星(64);氨苄西林(32);氯霉素(32);环丙沙星(4);头孢曲松(32);头孢噻肟(4);头孢吡肟(32);头孢西丁(4);庆大霉素(16);卡那霉素(64);萘啶酸(32);磺胺甲恶唑(512);复方新诺明(4/76);四环素(16)

2.2 大肠埃希菌 O157: H7和大肠埃希菌 O157 非 H7 药敏结果的比较及耐药谱

67 株大肠埃希菌 O157: H7和 43 株大肠埃希菌 O157 非 H7 分别有 5 株菌和 38 株菌对所测试的 14 种抗生素有不同程度的耐药。5 株耐药的大肠埃希菌 O157: H7仅对萘啶酸(1.5%,1/67),磺胺甲恶唑耐药(6.0%,4/67),对其余抗生素均敏感。但大肠埃希菌 O157 非 H7 对这几种抗生素的耐药率明显高于大肠埃希菌 O157: H7菌株,对上述 2 种抗生素的耐药率均有统计学差异(萘啶酸 $\chi^2=54.61$, $P<0.05$;磺胺甲恶唑 $\chi^2=44.416$, $P<0.05$),药敏结果比较见图 1。

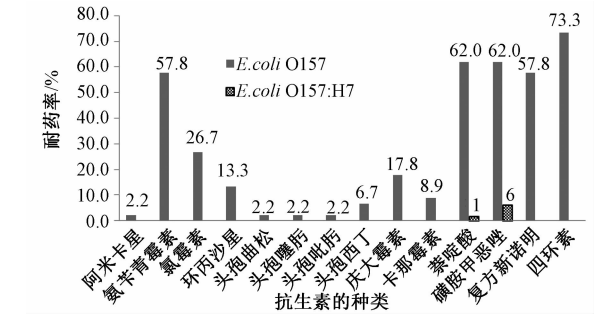


图 1 大肠埃希菌 O157: H7和大肠埃希菌 O157 非 H7 对 14 种抗生素耐药的比较
Figure 1 Comparison of resistance to 14 antibiotics of isolated from food between *E. coli* O157: H7

在 43 株耐药菌株中,一共有 24 个耐药谱。其中大肠埃希菌 O157 非 H7 有 23 种耐药谱,大肠埃希菌 O157: H7有 2 种耐药谱。其中耐 3 种不同类别抗生素及其以上的多重耐药的共 30 株,且都为大肠埃希菌 O157 非 H7 菌株,大肠埃希菌 O157: H7没有多重耐药菌株,前者的多重耐药率明显高于后者。

在 43 株耐药菌株中,一共有 24 个耐药谱。耐两种以上抗生素的菌株有 34 株,耐 3 种以上抗生素的多重耐药菌株有 32 株。最常见的五种耐药谱依次是 SMX(6),AMP-NAL-SMX-SXT-TET(6),AMP-CHL-NAL-SMX-SXT-TET(4),AMP-SMX-SXT-TET(4),TET(4)。多重耐药菌株最多可同时对 12 种抗生素耐药,其耐药谱为 AMP-CHL-CIP-CRO-CTX-FEP-GEN-SMX-KAN-NAL-SXT-TET。

2.3 产志贺毒素大肠埃希菌 O157: H7的耐药情况

37 株携带了志贺毒素基因的大肠埃希菌 O157: H7 菌株仅对磺胺甲恶唑(2.7%,1/37)、萘啶酸(2.7%,1/37)有耐药。对 2 种抗生素的耐药率明显低于其他不携带志贺毒素的大肠埃希菌 O157,两种抗生素均有统计学差异(磺胺甲恶唑 $\chi^2=19.987$, $P<0.05$;萘啶酸 $\chi^2=16.431$, $P<0.05$)。37 株携带志贺毒素的大肠埃希菌 O157: H7没有多重耐药菌株,结果见图 2。

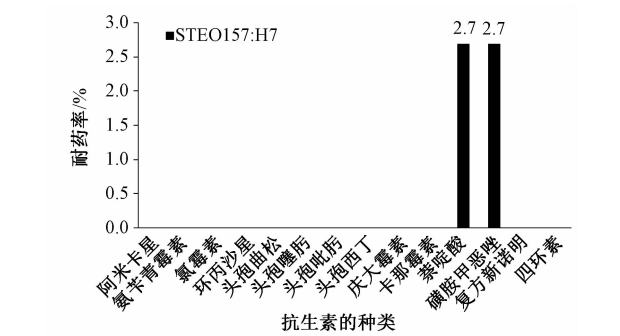


图 2 产志贺毒素大肠埃希菌 O157: H7的耐药情况
Figure 2 Produces shiga toxin *E. coli* O157: H7 resistance

2.4 PFGE 分析结果

PFGE 分析结果见图 3,110 株菌经 *Xba* I 内切酶消化后制胶进行 PFGE 分型,经 Bionumerics 软件聚类分析发现,每株菌的条带数在 16~23 之间,110 菌株共分为 101 种带型,带型间差别很大,说明食品来源的菌株在基因水平上具有多态性。有 5 个带型有相同的条带,分别是 pattern I、pattern II、pattern III、pattern IV、pattern V,相同带型的菌株都具有相同的耐药谱。PFGE 将菌株分为两个主要的 cluster,cluster I(相似度 61.3%)和 cluster II(相似度 58.3%)。cluster I 全是 O157: H7 菌株;cluster II 全是 O157 非 H7 菌株,耐药菌株大多集中在 cluster II。

3 讨论

人类、经济型动物及食品之间存在一个相互紧密联系的微生态环境,养殖业大量使用抗生素,会使动物体内的微生物长期存在耐药筛选压力,必然会产生耐药菌株。这些菌株又可以通过食物链定植于人体的肠道,对社区人群的健康产生威胁^[19]。研究食品来源大肠埃希菌 O157 菌株的耐药情况,可以为我国探索人员社区感染提供一定的线索。本研究中 39.1% 菌株对至少一种测试的抗生素耐药。这与先前 Schroeder 等^[6]对 361 株(210 株产志贺毒素大肠埃希菌 O157: H7和 151 株不产志贺毒素的大肠埃希菌 O157)进行药敏检测并发现约有 40% 的菌株对至少一种测试的抗生素耐药的结果相近。本研究中大肠埃希菌 O157 菌株对四环素,复方新诺明,萘啶酸,氨苄西林耐药率较高,这与先前报道的结果大体一致^[8,20],但是萘啶酸的耐药率本研究高于文献报道^[8,21],这可能与我国养殖业喹诺酮类药物使用有关^[19]。在我国食品中分离的其他食源性致病菌株对喹诺酮类耐药,其耐药率远高于欧美发达国家的报道屡见不鲜^[21]。

从耐药谱看,43 株菌共有 24 个耐药谱,这与本次研究菌株来源的多样性有关。Ziebell 等^[22]的研

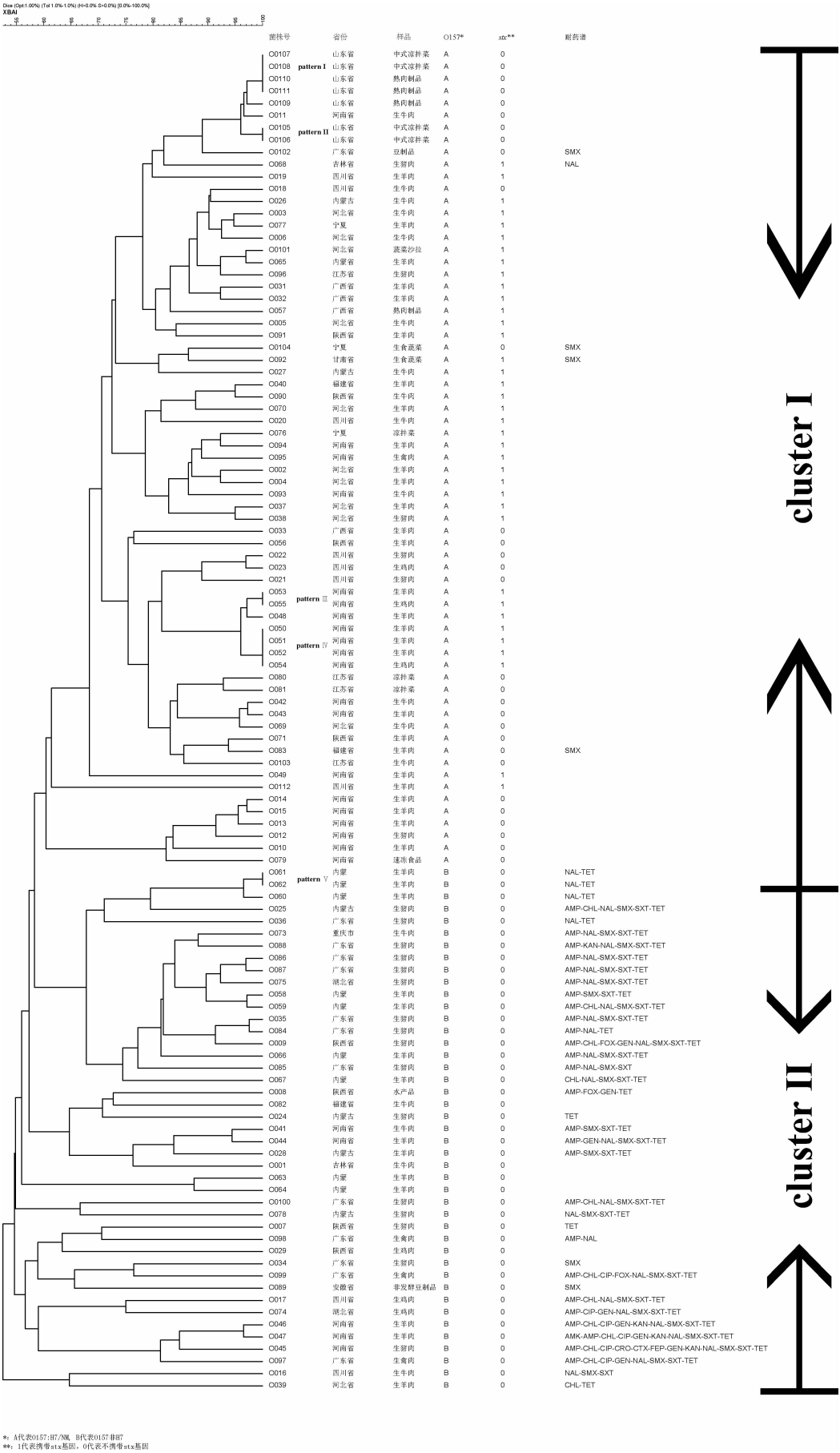


图 3 110 株大肠埃希菌 O157 食品分离株带型聚类图

Figure 3 PFGE patterns of 110 strains of *E. coli* O157 isolated from food.

究显示大肠埃希菌 O157 耐药谱的多样性与菌株噬菌体型有关。细菌在某种生存环境压力下,带有耐药机制的遗传物质(质粒、噬菌体、插入序列、整合子等)通过水平传播方式,逐渐向细菌传递和积累的结果^[19]。超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌在世界范围内已有大量报道^[21],且国内外已有 ESBLs STEC 菌株的报道^[23-24]。特别是 2011 年德国暴发的 STEC O104: H4,具有产生 β -内酰胺酶的基因,并表现为对多种青霉素类和头孢类药物耐药,警示人类关注这类新型超级耐药的高致病性菌株的存在^[15]。2013 年,丹麦首次报道了从人类分离到 ESBLs STEC O157: H7^[25]。但是本次研究中,我们没有进行 ESBLs 表型和基因型的研究,这也是未来的研究中需要完善的地方。

PFGE 分子分型显示食品来源的菌株在基因水平上具有多态性,且可以将 O157: H7 菌株和 O157 非 H7 菌株很好的分为两个群,可见两簇在进化的过程中来源于不同的克隆群,这与先前研究已经证实 O157: H7 是从 O55: H7 进化而来的结果是一致的^[26]。通过本研究 PFGE 的方法也可以为分离菌株的预警提供有效的分子分型比对。

本研究对我国食品分离的 O157 菌株进行药敏检测,发现抗生素的使用,包括四环素类、磺胺类、喹诺酮类及青霉素类,对大肠埃希菌 O157 菌株产生了选择性压力。美国相关研究显示生猪肉分离的大肠埃希菌 O157 菌株的高耐药率与生猪可批准使用的兽药有一定的相关性,养殖过程兽药的使用可能会促进大肠埃希菌 O157 菌株新的耐药性出现^[8]。Vidovic 等^[27]报道动物来源的 O157 菌株与人来源的菌株在统计学上有显著差异,造成差异的原因也是因为养殖过程中抗生素的使用。新出现且广泛分布的耐药菌株必将对未来可能出现的 STEC O157 疫情产生更加复杂的影响。我们应加强养殖环节和零售环节食源性致病菌,特别是大肠埃希菌 O157(包括 STEC O157)菌株药敏特征的监测,探明食品与养殖环节菌株耐药的传播关系,并为国家制定科学的抗生素用药提供依据。

(志谢 感谢参与全国食源性疾病监测的同志)

参考文献

[1] Shulman S T, Friedmann H C, and Sims R H. Theodor Escherich: the first pediatric infectious diseases physician? [J]. Clinical Infectious Diseases, 2007, 45 (8) : 1025-1029.

[2] Nataro J P, Kaper J B. Diarrheagenic *Escherichia coli* [J]. Clinical Microbiology Reviews, 1998, 11 (1) : 142-201.

[3] Griffin P M, Tauxe R V. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157: H7, other enterohemorrhagic *E. coli* and the associated hemolytic uremic syndrome [J]. Epidemiol Rev,

1991, 13 : 60-98.

[4] MENG J, ZHAO S, Doyle M P, et al. Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* O157: H7 and O157: NM isolated from animals, food and humans [J]. Journal of Food Protection, 1998, 61 (11) : 1511-1514.

[5] Galland J C, Hyatt D R, Crupper S S, et al. Prevalence, antibiotic susceptibility and diversity of *Escherichia coli* O157: H7 isolates from a longitudinal study of beef cattle feedlots [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67 (4) : 1619-1627.

[6] Schroeder C M, ZHAO C, DebRoy C, et al. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68 (2) : 576-581.

[7] Wong C S, Jelacic S, Habeeb R L, et al. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157: H7 infections [J]. New England Journal of Medicine, 2000, 342 (26) : 1930-1936.

[8] ZHAO S H, White D G, GE B L, et al. Identification and characterization of integron-mediated antibiotic resistance among Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67 (4) : 1558-1564.

[9] Corogeanu D, Willmes R, Wolke M, et al. Therapeutic concentrations of antibiotics inhibit Shiga toxin release from enterohemorrhagic *E. coli* O104 : H4 from the 2011 German outbreak [J]. BMC Microbiology, 2012, 12 (1) : 160.

[10] Garcia-Aljaro C, Moreno E, Andreu A, et al. Phylogroups, virulence determinants and antimicrobial resistance in *stx2* gene-carrying *Escherichia coli* isolated from aquatic environments [J]. Research in Microbiolog, 2009, 160 (8) : 585-591.

[11] Müffling T, Smajilovic M, Nowak B, et al. Preliminary study of certain serotypes, genetic and antimicrobial resistance profiles of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) isolated in Bosnia and Germany from cattle or pigs and their products [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 117 (2) : 185-191.

[12] WANG Y, CHEN Q, CUI S, et al. Enumeration and characterization of *Salmonella* isolates from retail chicken carcasses in Beijing, China [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2014, 11 (2) : 126-132.

[13] Martinez J L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants [J]. Environmental Pollution, 2009, 157 (11) : 2893-2902.

[14] Taylor N G, Verner-Jeffreys D W, Baker-Austin C. Aquatic systems: maintaining, mixing and mobilising antimicrobial resistance [J]. Trends in Ecology & Evolution, 2011, 26 (6) : 278-284.

[15] Bielaszewska M, Martina B, Alexander M, et al. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011; a microbiological study [J]. The Lancet Infectious Diseases, 2011, 11 (9) : 671-676.

[16] 白莉, 刘秀梅, 付萍, 等. 2005—2007 年中国食品中疑似 O157 大肠埃希菌的鉴定及毒素基因的检测 [J]. 卫生研究, 2010, 39 (3) : 335-338.

[17] CLSI. M100-S23: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Third Informational Supplement [S]. 2013.

[18] Ribot E M, Fair M, Gautom R, et al. Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli* O157 : H7, *Salmonella* and *Shigella* for PulseNet [J]. Foodborne Pathogens & Disease, 2006, 3 (1) : 59-67.

[19] 崔生辉,徐潇,张凤兰. 中国“超级耐药细菌”流行原因与控制措施探讨[J]. 中华预防医学杂志,2013,47(5):400-402.

[20] XU X, CUI S H, ZHANG F L, et al. Prevalence and characterization of cefotaxime and ciprofloxacin co-resistant *Escherichia coli* isolates in retail chicken carcasses and ground pork, China[J]. Microbial Drug Resistance, 2014, 20(1):73-81.

[21] Mora A, Blanco J E, Blanco M, et al. Antimicrobial resistance of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* O157: H7 and non-O157 strains isolated from humans, cattle, sheep and food in Spain[J]. Research in Microbiology, 2005, 156(7):793-806.

[22] Ziebell K, Steele M, ZHANG Y, et al. Genotypic characterization and prevalence of virulence factors among Canadian *Escherichia coli* O157: H7 strains[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(14):4314-4323.

[23] Roest H I, Liebana E, Wannet W, et al. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* O157 isolated between 1998 and 2003 in The Netherlands[J]. Tijdschrift voor Diergeneeskunde, 2007, 132(24):954-958.

[24] CHEN Q J, CAO C Y, WANG B F, et al. Study on the surveillance of *Escherichia Coli* O157 in Longyan City, Fujian, China from 1999 to 2005[J]. Preventive Medicine Tribune, 2006, 12(6):646-648.

[25] Torpdahl M, Nielsen E M, Scheutz F, et al. Detection of a Shiga toxin-and extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* O157: H7 human clinical isolate[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2013, 68(5):203-1204.

[26] FENG P C, Monday S R, Lacher D W, et al. Genetic diversity among clonal lineages within *Escherichia coli* O157: H7 stepwise evolutionary model[J]. Emerging Infectious Diseases 2007, 13(11):1701-1706.

[27] Vidovic S, Tsoi S, Medihala P, et al. Molecular and antimicrobial susceptibility analyses distinguish clinical from bovine *Escherichia coli* O157 strains[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2013, 51(7):2082-2088.

论著

北京市食源性金黄色葡萄球菌耐药及分子分型研究

王迪, 张晓媛, 陈倩, 陆峥, 王丽丽

(北京市疾病预防控制中心营养与食品卫生所 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013)

摘要:目的 分析北京市食源性金黄色葡萄球菌对常用抗生素的耐药情况及其分子分型特征, 预防和控制由该菌引起的食源性疾病, 为临床合理用药提供依据。方法 收集 2010—2012 年北京地区食源性致病菌监测网分离到的金黄色葡萄球菌 187 株, 采用微量肉汤稀释法检测金黄色葡萄球菌对 8 种常用抗生素的敏感性。采用脉冲场凝胶电泳(PFGE)进行分子分型。结果 116 株金黄色葡萄球菌表现出对抗生素耐药, 耐药率为 62.03%, 对抗生素的耐药率为红霉素(ERY)45.45%、苯唑西林(OXA)27.81%、克林霉素(CLI)20.86%、四环素(TET)13.90%、氯霉素(CHL)11.76%、环丙沙星(CIP)6.42%、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑(TPM/SMZ)5.88%。其中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)52 株、对甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌(MSSA)135 株。分离到的 MRSA 中 34 株菌表现出多重耐药。全部菌株共分为 129 种 PFGE 带型, 优势带型不明显。结论 食源性金黄色葡萄球菌的耐药和多重耐药普遍存在, PFGE 带型分布分散与耐药谱的关联性较差。

关键词:金黄色葡萄球菌; 耐药; 微量肉汤稀释法; 脉冲场凝胶电泳; 食源性致病菌; 分子分型

中图分类号:R155; R378.1⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2014)05-0428-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.05.005

Study of antimicrobial resistance and molecular characteristics in foodborne *Staphylococcus aureus* in Beijing

WANG Di, ZHANG Xiao-ai, CHEN Qian, LU Zheng, WANG Li-li

(Institute for Nutrition and Food Hygiene, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective To analyze the antimicrobial resistance and molecular characteristics in foodborne *Staphylococcus*

收稿日期: 2014-05-21

作者简介: 王迪 男 主管技师 研究方向为食源性致病菌相关研究 E-mail: wangdi124@126.com

通讯作者: 陈倩 女 主任技师 研究方向为食源性致病菌相关研究 E-mail: cchenqian@263.com