

鼠伤寒沙门菌婴幼儿分离株耐药基因及毒力基因研究

王伟¹, 胡豫杰¹, 徐进¹, 彭子欣¹, 张宏元¹, 赵熙¹, 许学斌², 李凤琴¹

- (1. 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;
2. 上海市疾病预防控制中心, 上海 200336)

摘要:目的 基于全基因组测序结果,分析鼠伤寒沙门菌耐药表型和耐药基因的关系,研究其耐药发生机制和毒力因子。方法 利用美国临床和实验室标准委员会(CLSI)推荐的微量肉汤稀释法对5岁以下腹泻患儿粪便中分离的321株鼠伤寒沙门菌开展药物敏感性试验,从中选择不同耐药表型的3株鼠伤寒沙门菌(S1:敏感;S2:TET耐药;S3:ESBLs阳性,10重耐药)进行全基因组测序,通过与抗生素抗性基因数据库(ARDB)和病原毒力因子数据库(VFDB)比对以及美国国立生物技术信息中心(NCBI)核酸数据库人工检索,对耐药基因和毒力基因进行注释。结果 321株鼠伤寒沙门菌对IPM和MEM均敏感,对TET和AMP的耐药率最高,分别为84.4%(271/321)和83.8%(269/321),206株菌株显示为耐3类以上抗生素(64.2%,206/321),11株CIP-CTX耐药株均为ESBLs阳性(3.4%,11/321);全基因组测序结果显示,S1、S2和S3的全基因组大小依次为4 876 427、4 970 690、5 133 380 bp,预测编码基因数分别为4 825、4 936和5 082个,GC含量依次为52.18%、52.14%、51.87%;对S1、S2和S3基因组中18、20和32个耐药基因进行注释,除共有基因外,S2主要携带*tetA*和*sul2*基因,S3主要携带*sul1/2/3*、*tetB*、*AAC(3)-IV*、*AAC(6')-I*、*ANT(2'')-I*、*ANT(3'')-I*、*aphA1*、*bla_{CTX-M-14}*、*bla_{OXA-1}*、*catB3*、*cml_e1*和*cml_e3*基因。与阳性鼠伤寒沙门菌株LT2的*gyrA*基因进行序列比对发现,S3 *gyrA*基因第87位密码子由GAC突变为AAC(Asp87→Asn);分别注释S1、S2和S3基因组的130、129和120个毒力基因,发现主要以三型分泌系统和粘附因子为主。结论 5岁以下腹泻患儿粪便样品中鼠伤寒沙门菌耐药现象严重;全基因组测序分析发现耐药基因与耐药表型一致,且存在多种毒力因子;为后续开展耐药基因传播机制和菌株致病性研究,评估其对人群的健康风险,防控鼠伤寒沙门菌感染提供技术支持。

关键词:腹泻; 婴幼儿; 鼠伤寒沙门菌; 耐药基因; 毒力基因; 全基因组测序; 食源性致病菌

中图分类号:R155 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2016)05-0567-09

DOI:10.13590/j.cjfh.2016.05.002

Analysis of antibiotic resistance genes and virulence genes in *Salmonella typhimurium* isolated from fecal samples of children under 5-year old by whole genome sequencing
WANG Wei, HU Yu-jie, XU Jin, PENG Zi-xin, ZHANG Hong-yuan, ZHAO Xi, XU Xue-bin, 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 Based on whole genome sequence analysis, the antibiotic resistance genes and virulence genes in *Salmonella typhimurium*, which was isolated from fecal samples of children under 5-year old, were investigated and their resistance mechanisms were tested. **Methods** The antimicrobial susceptibility of 321 *Salmonella typhimurium* strains isolated from fecal samples of diarrheal children under 5-year old was tested by broth microdilution method as the Clinical and Laboratory Standards Institute recommended. Then, *Salmonella typhimurium* strains S1, S2 and S3 with different resistance phenotypes (S1: susceptible to all 12 tested antibiotics; S2: resistant to tetracycline only; S3: resistant to 10 antibiotics except imipenem and meropenem) were selected for whole genome sequences using Illumina Hiseq 2000. The antibiotic resistance genes and virulence genes were annotated with antibiotic resistance genes database (ARDB) and virulence factors of pathogenic bacteria database (VFDB). Comparing to *Salmonella typhimurium* str. LT2, the genetic mutation analysis of *gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE* in the 3 tested strains was performed by GENtle software. **Results** All 321 *Salmonella typhimurium* isolates were susceptible to imipenem and meropenem, while 271 (84.4%, 271/321) and 269 (83.8%, 269/321) strains were resistant to tetracycline and ampicillin, respectively. Besides, 206 (64.2%, 206/321) showed multiple

drug resistance, and 11 (3.4%, 11/321) strains were ESBLs-producing strains. The sizes of genome of S1, S2 and S3 were 4 876 427 bp (GC content: 52.18%), 4 970 690 bp (GC content: 52.14%) and 5 133 380 bp (GC content: 51.87%), respectively. Furthermore, the ARDB annotation results showed that 18 out of 4 825 genes of S1, 20 out of 4 936 genes of S2, and 32 out of 5 082 genes of S3 were associated with antibiotic resistance, respectively. In detail, *tetA* and *sul2* genes were annotated in S2. While *sul1/2/3*, *tetB*, *AAC* (3')-IV, *AAC* (6')-I, *ANT* (2'')-I, *ANT* (3'')-I, *aphA1*, *bla_{CTX-M-14}*, *bla_{OXA-1}*, *catB3*, *cml_e1* and *cml_e3* were annotated in S3. Compared with *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *typhimurium* str. LT2, the 87th cod on of *gyrA* in S3 changed from GAC to AAC (Asp87→Asn). Meanwhile, the VFDB annotation results showed that 130 out of 4 825 genes of S1, 129 out of 4 936 genes of S2, and 120 out of 5 082 genes of S3 were associated with virulence, and the major types of virulence were type three secretion system and adherence factors.

Conclusion The antibiotic resistance of *Salmonella typhimurium* isolated from fecal samples of children under 5-year old was very serious. The resistance genes obtained by genome annotation were in good accordance with resistance phenotypes. Moreover, various virulence genes were annotated in this study. There sultscouldshed light on drug resistance mechanisms and pathogenicity of *Salmonella typhimurium* isolates, health risk assessment, and finally preventing and controlling the contamination of *Salmonella typhimurium* isolates.

Key words: Diarrhea; children; *Salmonella typhimurium*; antibiotic resistance gene; virulence gene; whole genome sequencing; foodborne pathogens

鼠伤寒沙门菌(*Salmonella typhimurium*)属于非伤寒沙门菌属,Kauffmann-White-Le Minor Scheme 已公布的 2 610 余种沙门菌血清型中^[1-2],鼠伤寒沙门菌是最常见的肠道沙门菌血清型之一,其导致的食源性疾病已成为全球重要公共卫生问题^[3]。1988—2000 年国际上发生的 4 093 起微生物食源性疾病事件中,有近半数(47%)由沙门菌引起^[4],我国的食源性疾病监测结果显示,70%~80% 细菌性食物中毒由沙门菌引起^[5]。沙门菌致病性与其耐药性和毒力密切相关。鼠伤寒沙门菌感染发病机理复杂,涉及的毒力因子有多种,其中主要有脂多糖、肠毒素、菌毛、毒力岛、毒力质粒等^[6]。

目前鼠伤寒沙门菌对氯霉素、氨基苄西林或卡那霉素等均已产生很强的耐药性^[7],近年来世界各地还出现了大量喹诺酮类或三代头孢类抗生素耐药株^[6]。沙门菌耐药机制主要包括以下几个方面:①酶类作用,如β-内酰胺酶、氨基糖苷类钝化酶、氯霉素乙酰转移酶和红霉素酯化酶等^[8-13],可通过对抗生素的修饰或水解作用破坏抗生素而导致耐药,世界各地出现的产超广谱β-内酰胺酶(extended spectrum-β-lactamases, ESBLs)菌株是此类中最具代表性的^[9,14];②基因突变,如鼠伤寒沙门菌耐喹诺酮类抗生素的主要机制是喹诺酮耐药决定区(QRDRs)即编码 DNA 旋转酶(*gyrA* 和 *gyrB*)和拓扑异构酶 IV(*parC* 和 *parE*)的基因发生了点突变,使喹诺酮类抗生素无法识别靶标蛋白而产生耐药^[15];③主动外排系统,细菌细胞膜上一种具有外排泵作用的转运蛋白,可将有毒物质从胞内排到胞外环境中,从而介导菌株产生耐药^[16];④可移动基因元件介导的耐药,如质粒、转座子和整合子等可携带一种或多种耐药基因,通过水平转移的方式在沙门菌

种内或细菌种间传播,导致细菌耐药谱拓宽,耐药性增强^[17-18]。此外,细菌生物膜改变也可引起沙门菌产生耐药^[19]。

本研究利用二代测序技术 Illumina Hiseq 2000 平台对 3 株鼠伤寒沙门菌进行全基因组测序,应用比较基因组学进行耐药基因和毒力基因比对与功能注释,筛选出耐药基因和毒力基因,可为探讨该菌的耐药机制和致病机理,指导临床治疗及评估此类耐药及致病性菌株对人群带来的健康风险提供支持,同时对沙门菌病原食品生产加工过程中抗生素的合理使用及污染防控也具有重要的公共卫生学意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

2014 年分别从上海 11 家医院儿童腹泻门诊 5 岁以下腹泻患儿粪便标本中分离到 321 株鼠伤寒沙门菌,对所有菌株均进行了生化和血清学鉴定;质控菌株大肠埃希菌(ATCC 25922)和肺炎克雷伯菌(ATCC 700603)为本实验室保存菌株。

1.1.2 主要仪器与试剂

Illumina Hiseq 2000 测序系统(美国 Illumina)。脑心浸液肉汤、脑心浸液琼脂、MHB 肉汤均购自美国 BD,全基因组 DNA 提取试剂盒(德国 Qiangen),Rnase A[100 mg/ml,天根生化(北京)有限公司],试验用 12 种抗生素均购自美国 Sigma。

1.2 方法

1.2.1 药敏试验

根据美国临床和实验室标准委员会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的微量

肉汤稀释法,测定庆大霉素 (GEN)、氯霉素 (CHL)、环丙沙星 (CIP)、奈啉酸 (NAL)、氨苄西林 (AMP)、氨苄西林/青霉素 (SAM)、四环素 (TET)、亚胺培南 (IPM)、头孢他啶 (CAZ)、头孢噻肟 (CTX)、复方新诺明 (SXT)、美罗培南 (MEM) 等 12 种抗生素对受试菌株的最低抑菌浓度 (MIC),CAZ 或 CTX 阳性菌株,用 CTX 和克拉维酸 (CLA) 进一步鉴定是否为 ESBLs 阳性菌株,质控菌株的 MIC 值均在可接受的质控范围内。对耐药结果进行分析,筛选出 3 株鼠伤寒沙门菌进行全基因组测序。

1.2.2 全基因组 DNA 提取

用 10 μl 无菌接种环将 3 株鼠伤寒沙门菌菌株从含 40% 甘油的脑心浸液肉汤冻存管中挑出,划线接种脑心浸液琼脂平板,(37 ± 1) °C 培养 18 ~ 24 h 后,挑取单菌落接种于 10 ml 脑心浸液肉汤,(37 ± 1) °C 培养 18 ~ 24 h 后按试剂盒说明书操作,提取基因组 DNA,提取的基因组 DNA 浓度均 > 50 ng/ml,总量均 > 2 μg。取 2 μl 提取的基因组 DNA 用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。

1.2.3 DNA 文库构建

3 株鼠伤寒沙门菌基因组提取产物送往深圳华大基因科技有限公司进行全基因组序列测定。具体流程:DNA 样品被接收后,对样品进行检测;然后用检测合格的样品构建文库:首先采用超声法将大片段 DNA 随机打断并产生主带 ≤ 800 bp 的一系列 DNA 片段,然后用 T4 DNA 聚合酶、克列诺 DNA 聚合酶和 T4 多聚核酸激酶将打断形成的粘性末端修复成平末端,再通过 3' 端加碱基 A,使得 DNA 片段能与 3' 端带有 T 碱基的特殊接头连接,用电泳法选择需回收的目的片段连接产物,再使用 PCR 技术扩增两端带有接头的 DNA 片段;最后,用合格的文库进行 cluster 制备和 Illumina Hiseq 2000 平台测序。

1.2.4 序列组装及基因预测

应用 SOAPdenovo 2.04 软件对测定的 3 株鼠伤寒沙门菌全基因组序列进行拼接,采用 Glimmer 软件进行组装结果的基因预测。

1.2.5 基因注释

应用 Effective T3 软件进行耐药基因和致病细菌毒力因子的注释。基因注释用数据库:耐药基因数据库 ARDB (<http://ardb.cbcb.umd.edu>),毒力因子数据库 VFDB (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/main.htm>)。

2 结果

2.1 药敏试验结果

本研究分离的 321 株鼠伤寒沙门菌对 IPM 和

MEM 均敏感。其中 34 株菌株对受试的 12 种抗生素均敏感 (10.6%, 34/321);对 TET 和 AMP 的耐药率最高,分别为 84.4% (271/321) 和 83.8% (269/321);对其他抗生素的耐药率依次为 CHL (50.2%, 161/321)、NAL (48.3%, 155/321)、SXT (37.4%, 120/321)、SAM (34.6%, 111/321)、GEN (22.7%, 73/321)、CIP (15.6%, 50/321)、CTX (9.3%, 30/321) 和 CAZ (5.9%, 19/321)。11 株对 CIP 和 CTX 均耐药 (3.4%, 11/321),经进一步鉴定,11 株 CIP-CTX 耐药株均为 ESBLs 阳性。321 株菌株共识别出 74 种耐药谱,其中最常见的是 AMP-TET (67 株) 和 GEN-CHL-NAL-AMP-SAM-TET-SMX (21 株)。206 株菌株显示为多重耐药 (对 3 种或 3 种以上抗生素耐药,64.2%, 206/321)。详见表 1 和图 1。

表 1 321 株鼠伤寒沙门菌对 12 种抗生素敏感性试验结果
Table 1 Antimicrobial susceptibility of 321 *S. typhimurium*

抗生素	strains to 12 antibiotics					
	耐药		中介		敏感	
	菌株数 /株	耐药率 /%	菌株数 /株	中介率 /%	菌株数 /株	敏感率 /%
GEN	73	22.7	2	0.6	246	76.6
CHL	161	50.2	57	17.8	103	32.1
CIP	50	15.6	30	9.3	241	75.1
NAL	155	48.3	0	0.0	166	51.7
AMP	269	83.8	0	0.0	52	16.2
SAM	111	34.6	65	20.2	145	45.2
TET	271	84.4	4	1.2	46	14.3
IPM	0	0.0	0	0.0	321	100.0
CAZ	19	5.9	8	2.5	294	91.6
CTX	30	9.3	1	0.3	290	90.3
SXT	120	37.4	0	0.0	201	62.6
MEM	0	0.0	0	0.0	321	100.0

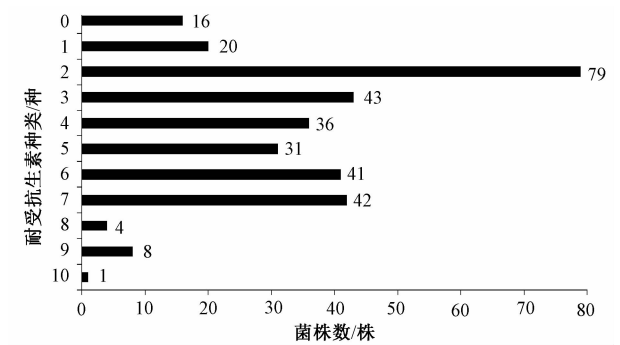


图 1 321 株鼠伤寒沙门菌耐药谱情况
Figure 1 Multi-drug resistance of 321 *S. typhimurium* strains

2.2 用于全基因组测序的菌株

通过对 321 株鼠伤寒沙门菌分离株耐药结果进行分析,筛选出 3 株鼠伤寒沙门菌,分别命名为 S1、S2 和 S3,分别分离自 14 月龄男婴、12 月龄男婴和 4 岁女婴的粪便标本。其中 S1 对受试的 12 种抗生素均表现为敏感;S2 仅对 TET 表现为耐药 (MIC

值为 32 $\mu\text{g/ml}$),对其他 11 种受试抗生素均表现为敏感;而 S3 除对 IPM 和 MEM 敏感外(MIC 值分别为 0.5 和 $<0.125 \mu\text{g/ml}$),对其他 10 种受试抗生素均表现为耐药,耐药谱为 GEN-CHL-CIP-NAL-AMP-SAM-TET-CAZ-CTX-SXT,经进一步鉴定,S3 为 ESBLs 阳性。

2.3 鼠伤寒沙门菌基因组测序与分析

通过测序,S1 鼠伤寒沙门菌共产出 753 Mb 数据,基因组大小为 4 876 427 bp,GC 含量 52.18 %,共 52 个 scaffold,53 个 contig;基因组组分分析后发现,S1 分离株的基因组含有 4 825 个基因,总长度 4 256 586 bp,平均长度 882 bp,占基因组全长的 87.29%;串联重复序列共 73 个,总长为 9 217 bp,占基因组全长的 0.189%;小卫星序列 45 个,微卫星序列 6 个;tRNA 75 个,rRNA 4 个。S2 分离株共

产出 752 Mb 数据;基因组大小为 4 970 690 bp,GC 含量 52.14 %,共 53 个 scaffold,54 个 contig;基因组组分分析后发现,S2 分离株的基因组含有 4 936 个基因,总长度 4 335 024 bp,平均长度 878 bp,占基因组全长的 87.21%;串联重复序列共 104 个,总长为 14 119 bp,占基因组全长的 0.284%;小卫星序列 57 个,微卫星序列 7 个;tRNA 79 个,rRNA 8 个。S3 分离株共产出 753 Mb 数据,基因组大小为 5 133 380 bp,GC 含量 51.87 %,共 72 个 scaffold,73 个 contig,基因组组分分析后发现,S3 分离株的基因组含有 5 082 个基因,总长度 4 470 702 bp,平均长度 880 bp,占基因组全长的 87.09%;串联重复序列共 83 个,总长为 14 417 bp,占基因组全长的 0.281%;小卫星序列 46 个,微卫星序列 7 个,tRNA 79 个,rRNA 4 个。详见表 2。

表 2 3 株鼠伤寒沙门菌基因组测序组装结果统计
Table 2 Assembly results of genome sequence of three *S. typhimurium* strains

分离株	数据产出 /Mb	基因组大小 /bp	GC 含量 /%	scaffold /个	contig /个	基因 /个	总长度 /bp	平均长度 /bp
S1	753	4 876 427	52.18	52	53	4 825	4 256 586	882
S2	752	4 970 690	52.14	53	54	4 936	4 335 024	878
S3	753	5 133 380	51.87	72	73	5 082	4 470 702	880

分离株	占基因组 全长/%	串联重复 序列/个	串联重复 序列总长/bp	串联重复序列占 基因组全长/%	小卫星序列 /个	微卫星序列 /个	tRNA /个	rRNA /个
S1	87.29	73	9 217	0.189	45	6	75	4
S2	87.21	104	14 119	0.284	57	7	79	8
S3	87.09	83	14 417	0.281	46	7	79	4

2.4 抗生素耐药基因注释

通过 ARDB 数据库比对,取 Identity ≥ 80 ,S1、S2 和 S3 基因组中分别有 18、20 和 32 条基因获得耐药基因注释,见表 3。S2 和 S3 均含有与磺胺类耐药有关的 *sul2* 耐药基因;S2 单独含有与四环素类抗生素耐药有关的 *tetA* 耐药基因;S3 单独含有 13 种耐药基因,分别为 AAC(3)-IV、AAC(6')-Ib-cr、ANT(2'')-I、ANT(3'')-I、aphA1、bla_{CTX-M-14}、bla_{OXA-1}、catB3、cml_e1、cml_e3、sul1、sul3 及 tetB,其中 AAC(3)-IV、AAC(6')-Ib-cr、ANT(2'')-I、ANT(3'')-I 和 aphA1 等 5 种基因与氨基糖苷类抗生素耐药有关,AAC(6')-Ib-cr 还可介导喹诺酮类抗生素耐药;catB3、cml_e1 和 cml_e3 等 3 种基因与氯霉素类抗生素耐药有关;sul1 和 sul3 与磺胺类抗生素耐药有关;tetB 与四环素类抗生素耐药有关;bla_{CTX-M-14} 和 bla_{OXA-1} 基因与 ESBLs 耐药株有关。此外,S1、S2 和 S3 还均含有其他 18 种耐药基因,其中 mdtg、mdth、mdtk、tolc、emrd、mdtl、acrb、acra、rosb、mdtm、bcr、macb、acrf 等 13 种基因参与沙门菌外排泵作用而介导耐药;arna、baca、ksga、mdfa、pbp2 等 5 种基因分别参与核苷二磷酸糖差向异构酶、二甲基烯丙基顺转移酶、16S rRNA 的甲基化酶、磷脂丝胺酸

转位酶和青霉素钝化转糖苷酶等而介导沙门菌耐药。

2.5 QRDRs(*gyrA* 和 *gyrB*)和拓扑异构酶 IV(*parC* 和 *parE*)基因突变状况

从 GenBank 下载 *Salmonella typhimurium* str. LT2 的 *gyrA*、*gyrB*、*parC*、*parE* 序列,使用 GENTle 软件进行序列比对。由图 2 可见,S1 和 S2 鼠伤寒沙门菌基因序列未发现突变,而 S3 菌株有两个突变位点,分别为 QRDRs 的 *gyrA* 基因第 87 位密码子由 GAC 变为 AAC,翻译成氨基酸序列后由天冬氨酸(Asp)变为天冬酰胺(Asn),属于错义突变;拓扑异构酶 IV 的 *parC* 基因第 571 位密码子由 ACC 变为 ACT,属于无义突变。

2.6 毒力因子注释

通过 VFDB 数据库比对,取 Identity ≥ 80 ,3 株鼠伤寒沙门菌预测获得的基因注释结果见表 4,S1、S2 和 S3 基因组分别有 130、129 和 120 条基因获得毒力基因注释,S1 和 S2 基因组分别被注释为 15 类 25 种毒力因子,S3 基因组被注释为 12 类 21 种毒力因子。其中与染色体上沙门菌毒力岛 1 和 2(*SPI-1* 和 *SPI-2*)编码的两个三型分泌系统(type III

表3 3株鼠伤寒沙门菌基因组 ARDB 注释结果

Table 3 ARDB annotation of genome sequence of three *S. typhimurium* strains

耐药基 因类型	介导耐受抗生素	携带该基 因的菌株	耐药机制 类型	耐药基 因类型	介导耐受抗生素	携带该基 因的菌株	耐药机制 类型
<i>arna</i>	多粘菌素	S1、S2、S3	核苷二磷酸糖差 向异构酶	<i>pbp2</i>	青霉素类	S1、S2、S3	青霉素钝化 转糖苷酶
<i>bcr</i>	杆菌肽	S1、S2、S3	外排泵	<i>tetA</i>	四环素类	S2	外排泵
<i>baca</i>	杆菌肽	S1、S2、S3	二甲基烯丙基顺 转移酶	<i>tetB</i>	四环素类	S3	外排泵
<i>emrd</i>	—	S1、S2、S3	外排泵	<i>sul2</i>	磺胺类	S2、S3	二氢叶酸 合成酶
<i>ksga</i>	春雷霉素	S1、S2、S3	16S rRNA 的甲基化酶	<i>sul3</i>	磺胺类	S3	二氢叶酸 合成酶
<i>acrI</i>	—	S1、S2、S3	外排泵	<i>sulI</i>	磺胺类	S3	二氢叶酸 合成酶
<i>tolC</i>	氨基糖苷类、甘氨酸环素、大环 内酯类、β-内酰胺酶、吡啶黄素	S1、S2、S3	外排泵	<i>AAC(3)-IV</i>	奈替米星、妥布霉素、西索 米星、地贝卡星、庆大霉素、 安普霉素	S3	N-乙酰转移 酶(AAC)
<i>acrB</i>	氨基糖苷类、甘氨酸环素、大环 内酯类、β-内酰胺酶、吡啶黄素	S1、S2、S3	外排泵	<i>AAC(6′)-Ib-cr</i>	异帕米星、奈替米星、妥布 霉素、阿米卡星、西索米星、 地贝卡星	S3	N-乙酰转移 酶(AAC)
<i>acra</i>	氨基糖苷类、甘氨酸环素、大环 内酯类、β-内酰胺酶、吡啶黄素	S1、S2、S3	外排泵	<i>ANT(2″)-I</i>	妥布霉素、卡那霉素、西索 米星、地贝卡星、庆大霉素	S3	O-核苷转移 酶(ANT)
<i>mdtG</i>	脱氧胆盐、磷霉素	S1、S2、S3	外排泵	<i>ANT(3″)-I</i>	大观霉素、链霉素	S3	O-核苷转移 酶(ANT)
<i>mdtH</i>	脱氧胆盐、磷霉素	S1、S2、S3	外排泵	<i>aphA1</i>	巴龙霉素、新霉素、卡那霉 素,利维霉素、核糖霉素、庆 大霉素 B	S3	O-磷酸转移 酶(APH)
<i>mdtK</i>	依诺沙星、诺氟沙星	S1、S2、S3	外排泵	<i>bla_{CTX-M-14}</i>	单胺菌素、青霉素类、头孢 菌素类、头孢他啶	S3	β-内酰胺酶
<i>mdtL</i>	氯霉素	S1、S2、S3	外排泵	<i>bla_{OXA-1}</i>	邻氯苄星、青霉素类	S3	β-内酰胺酶
<i>mdtM</i>	氯霉素、吡啶黄素、诺氟沙星	S1、S2、S3	外排泵	<i>catB3</i>	氯霉素类	S3	氯霉素乙酰 转移酶
<i>mdfA</i>	—	S1、S2、S3	磷脂丝胺酸转位酶	<i>cml_e1</i>	氯霉素类	S3	外排泵
<i>macB</i>	大环内酯类	S1、S2、S3	外排泵	<i>cml_e3</i>	氯霉素类	S3	外排泵
<i>roxB</i>	膦胺霉素	S1、S2、S3	外排泵				

注：—为介导耐药抗生素种类不明确

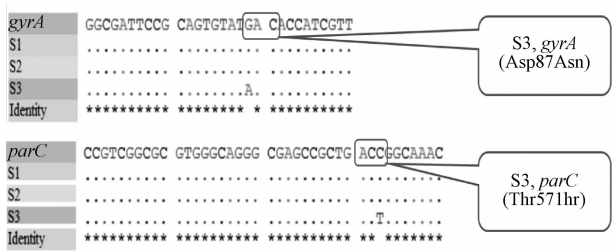


图2 S3与LT2的 *gyrA* 及 *parC* 基因序列比对结果

Figure 2 Gene sequence alignment of *gyrA* and *parC* of S3 and LT2

secretion/translocation systems, TTSS) 有关的基因最多, S1、S2 和 S3 基因组参与 *SPI-1* 和 *SPI-2* 编码的基因分别有 38 和 24 条、38 和 24 条、38 和 25 条;其次为与粘附有关的基因, S1、S2 和 S3 分别有 28、28 和 24 条, 其中又以 1 型菌毛 (type 1 fimbriae) 和细聚合菌毛 (Agf) 有关的基因较多, S1、S2 和 S3 基因组均分别有 9 条和 6 条;此外, 与沙门菌鞭毛 (flagella)、肠菌素 (enterobactin) 和质粒毒力基因

(*Spv*) 有关的基因也较多, S1、S2 和 S3 基因组分别均有 10、9 和 5 条。其他还有与调节、侵袭、肠菌素铁蛋白利用、脂多糖、镁吸收、抗菌肽抵抗、巨噬细胞诱导、血清抵抗、外膜蛋白和应激蛋白有关的基因在 VFDB 数据库获得注释。

3 讨论

据报道, 沙门菌属的多重耐药率已从 20 世纪 90 年代的 20%~30% 增至本世纪初的 70%, 其中鼠伤寒沙门菌占 18.87%~87.5%^[20-24]。本研究发现上海 5 岁以下腹泻患儿粪便标本分离株除对碳青霉烯类抗生素 (IPM 和 MEM) 敏感外, 对其他抗生素均表现为不同程度的耐药, 多重耐药率高达 64.2% (206/321), 这与以往报道基本一致^[20-24]。结合已报道的食品中沙门菌耐药性资料, 表明耐药沙门菌可能已经在食品和感染者间建立起一定的耐药关联。此外, 本研究还发现 11 株 CIP-CTX 双重耐药株均为 ESBLs 阳性, 其中 1 株用于全基因组测序的

表 4 3 株鼠伤寒沙门菌基因组 VFDB 注释结果

Table 4 VFDB annotation of genome sequence of three *S. typhimurium* strains

毒力因子类型		毒力基因数/条		
		S1	S2	S3
粘附	<i>Agf</i>	6	6	6
	<i>Lpf</i>	5	5	5
	<i>MisL</i>	1	1	1
	<i>Pef</i>	4	4	—
	<i>RatB</i>	1	1	1
	<i>ShdA</i>	1	1	1
	<i>SinH</i>	1	1	1
	type 1 fimbriae	9	9	9
肠菌素	enterobactin	9	9	9
鞭毛	flagella	10	10	10
调节	<i>Fur</i>	1	1	1
	<i>RpoS</i>	1	1	1
	<i>PhoPQ</i>	2	2	2
侵袭	<i>Ibes</i>	1	1	1
肠菌素铁蛋白利用	<i>IroN</i>	1	1	1
脂多糖	<i>LPS</i>	3	2	3
镁吸收	<i>MgtBC</i>	2	2	2
抗菌肽抵抗	<i>Mig-14</i>	1	1	1
巨噬细胞诱导	<i>Mig-5</i>	1	1	—
血清抵抗	<i>Rck</i>	1	1	—
外膜蛋白	<i>OmpA</i>	1	1	1
应激蛋白	<i>SodCI</i>	1	1	1
质粒毒力基因	<i>Spv</i>	5	5	—
三型分泌系统	TTSS(<i>SPI-1</i> encode)	38	38	38
	TTSS(<i>SPI-2</i> encode)	24	24	25
合计		130	129	120

注：—为未携带该类型基因

菌株甚至表现为 10 重耐药,而喹诺酮类和三代头孢类抗生素为临床治疗严重沙门菌感染的首选用药,因此喹诺酮类和三代头孢类抗生素耐药沙门菌感染的患儿在临床上很难找到有效的抗生素进行治疗。

沙门菌耐药性的出现与菌株长期处于环境中多种抗生素的选择性压力及耐药基因通过染色体或耐药质粒在沙门菌种内或菌种间的广泛传播或扩散有关^[9-18]。本研究针对本次发现的鼠伤寒沙门菌耐药机制讨论如下。

3.1 氨基糖苷类耐药机制

沙门菌氨基糖苷类抗生素耐药机制最主要的是氨基糖苷类钝化酶作用,常由染色体与质粒编码,同时与整合子、转座子有关,质粒中遗传物质的交换和转座作用都对细菌的遗传物质掺入耐药基因有关^[10]。尽管已报道的氨基糖苷类钝化酶多达 85 种,但其中仅有少数几种,如 *ANT(2'')-I*、*ANT(3'')-I*、*AAC(6')-Ib-cr*、*AAC(3)-I*、*AAC(3)-II*、*AAC(3)-III*、*AAC(3)-IV*、*AAC(3)-VI* 和 *aphA1* 等可导致磺胺类抗生素耐药^[25]。本研究 S3 分离株注释获得的 5 个氨基糖苷类耐药基因通过 ARDB 数据库注释发现 *AAC(3)-IV*、*ANT(2'')-I* 和 *aphA1* 可导致鼠伤寒

沙门菌对庆大霉素耐药,这与马孟根等^[26]、丛莉^[27]从耐药的沙门菌中通过 PCR 方法检测到此类基因相一致。

3.2 四环素和氯霉素类耐药机制

国内外研究发现沙门菌中四环素类耐药最流行的是 *tetA* 基因,其次是 *tetB* 和 *tetG* 基因^[10,28],我国的研究报道还从鸡源和猪源沙门菌中分离到四环素类耐药基因,其中也以 *tetA*、*tetB* 和 *tetG* 为主^[29-30],本研究中四环素耐药的 S2 和 S3 分离株分别含有 *tetA* 和 *tetB* 基因,这与以往报道一致。沙门菌对四环素类耐药的主要机制是获得了插入的质粒及转座子当中的 *tet* 主动外排泵基因有关^[31],由于这些质粒或转座子属于可移动基因元件,因此人类四环素类耐药基因的获得可能是通过感染沙门菌的动物性食品传递。此外,本研究在 S3 分离株中还发现氯霉素相关耐药基因 *catB3*、*cml_e1* 和 *cml_e3*,研究认为细菌对氯霉素的耐药性主要由质粒介导,并由于氯霉素乙酰转移酶(*cat*)的出现,催化乙酰辅酶 A 依赖位于 C-3 位羟基的乙酰化,使氯霉素最终形成 1,3-二乙酰氯霉素而失活;而细胞内膜 *cml* 蛋白介导的主动外排系统则可以使氯霉素在菌体内的含量明显减少从而实现耐药^[32]。

3.3 磺胺类耐药机制

沙门菌等致病菌可通过获得 *sul1*、*sul2* 和 *sul3* 等基因,通过二氢叶酸合成酶来抑制磺胺类抗生素而产生耐药^[33]。*sul1* 基因通常与 I 类整合子的 3' 保守区上其他耐药基因连接,*sul2* 通常位于非结合性质粒或可转移的多重耐药质粒,*sul3* 多出现在携带 I 类整合子的沙门菌中,通常也会带有 *aadA* 和 *dfrA* 基因盒^[34]。Patricia 等^[33]利用 PCR 方法对 1 183 株人源和食源沙门菌进行分析,其中 152 株检出 *sul1* 基因,74 株检出 *sul2* 基因,14 株检出 *sul3* 基因,有 34 株存在一种以上的磺胺类耐药基因,这与本研究发现复方新诺明耐药的 S3 分离株注释到 *sul1*、*sul2* 和 *sul3* 三种耐药基因相一致。此外,本研究中复方新诺明敏感的 S2 分离株也注释到 *sul2*,这可能与甲氧苄啶的存在增强了磺胺甲恶唑的抗菌活性有关。

3.4 喹诺酮类耐药机制

沙门菌对喹诺酮类抗生素耐药主要原因是菌株 QRDRs 发生的基因突变,同时编码组成 DNA 旋转酶中的亚单位 A 和 B,与亚单位 C 和 E 组成的拓扑异构酶 IV 中的任何一个亚单位的基因发生突变,将会降低喹诺酮类抗生素对其亲和力,从而降低菌株对抗生素的敏感性,其中 *gyrA* 基因第 83 位、87 位密码子和 *parC* 基因第 80 位、84 位密码子的突变是

最常见的^[35]。本研究通过对3株分离株 *gyrA* 和 *parC* 基因进行比对发现,环丙沙星耐药株的 S3 鼠伤寒沙门菌具有 *gyrA* 和 *parC* 两个点突变,其中 *gyrA* 基因第 87 位密码子由天冬酰胺 (Asn) 代替天冬氨酸 (Asp),提示 *gyrA* 基因点突变可能是导致本研究 S3 菌株环丙沙星耐药的主要原因。近年来研究发现介导氨基糖苷类抗生素耐药的耐药质粒 AAC(6')-Ib-cr 在 179 位密码子发生 Tyr 突变 (Asp179Tyr) 后, Tyr 可与喹诺酮环 p 轨道发生 $\pi-\pi$ 堆积,从而导致 AAC(6')-Ib-cr 活性酶对喹诺酮类亲和性增加,而介导菌株对喹诺酮类抗生素产生耐药^[36]。

3.5 菌株内酰胺酶类抗生素耐药机制

沙门菌可产生 β -内酰胺酶,水解并使 β -内酰胺类抗生素开环灭活。 β -内酰胺酶可分为 TEM 型、SHV 型、CTXM 型和 OXA 型等。近年来,已经在沙门菌中出现了由质粒介导的包括抗头孢曲松在内的超广谱 β -内酰胺酶,给临床感染性疾病的治疗造成极大的威胁^[37]。1990 年, Bauerbeind 等^[38]首次报道了 CTX-M 型 ESBLs,该类酶主要由鼠伤寒沙门菌、大肠埃希菌等肠杆菌科的细菌产生,相对头孢他啶来说,更优先水解头孢噻肟。OXA 类酶主要由铜绿假单胞菌产生,可通过质粒传递给其他致病菌,绝大部分 OXA 型 ESBLs 使沙门菌对头孢他啶耐药。本研究头孢噻肟和头孢他啶耐药的 S3 分离株经鉴定为 ESBLs,含有两种型别的基因,分别为 CTX-M 的 *bla*_{CTX-M-14} 型和 OXA 的 *bla*_{OXA-1} 型,在我国其他地区也有这两型 ESBLs 的检出^[39-42],提示该两种型别的 ESBLs 在我国存在一定的流行。

3.6 其他耐药机制

本研究筛选的 3 株鼠伤寒沙门菌基因组经 ARDB 数据库注释,发现均含有 *mdtg*、*mdth*、*mdtk*、*tolc*、*emrd*、*mdtl*、*acrb*、*acra*、*rosb*、*mdtm*、*ber*、*macb*、*acrf* 等 13 种外排泵相关及 *arna*、*baca*、*ksga*、*mdfa*、*pbp2* 等 5 种酶类相关的耐药基因。其中研究最多的是 *tolc*、*acrb*、*acra* 等基因参与的 *AcrAB-TolC* 外排泵系统,主要受调节子 *marRAB* 的调控,在 Mar 突变株中,该外排泵由于过度表达导致菌株对喹诺酮类、四环素、氯霉素和 β -内酰胺酶类抗生素的 MIC 值提高^[43]。*arna*、*baca*、*ksga*、*pbp2* 等可通过酶类水解、钝化等破坏或灭活抗生素活性,而使得菌株对多粘菌素、杆菌肽、春雷霉素、青霉素等产生耐药。目前对沙门菌其他外排泵系统的研究还不是很清楚,因此有待于进一步结合表型及其他实验技术进行深入研究。

3.7 沙门菌毒力因子

本研究的 3 株鼠伤寒沙门菌分离株基因组通过 VFDB 数据库注释,获得了 10 多类 100 多个毒力基因,其中又以三型分泌系统、粘附等最为常见。据研究,沙门菌染色体上 *SPI* 使其能够在宿主体内进行侵染、繁殖和传播,目前沙门菌至少有 5 个毒力岛,其中 *SPI-1* 和 *SPI-2* 分别编码的三型分泌系统在所有亚种都存在,是沙门菌在宿主细胞内存活和发挥毒力的重要条件^[44]。除毒力岛外,沙门菌染色体上还有其他一些毒力因子,其中菌毛粘附类毒力因子有 20 多种,每一种毒力因子都由多基因编码操纵子调控^[45]。*Spv* (*Salmonella* plasmid virulence) 是沙门菌中质粒编码的毒力基因,目前有 *spvA*、*spvB*、*spvC*、*spvD* 和 *spvR* 等 5 种基因,是沙门菌在网状内皮系统繁殖所必需的^[46];沙门菌另一个毒性质粒 *pSLT* 是 1970 年发现,并于 1982 年命名的,大小为 93 kb,主要有四大类毒力因子基因 *pef*、*spv*、*reck* 和 *mig-5* 等,可编码所有与连接传递有关的蛋白^[47]。

本研究将第二代测序技术应用于 3 株鼠伤寒沙门菌分离株的全基因组测序,并对其耐药基因和毒力因子进行注释,结果显示,3 株鼠伤寒沙门菌的全基因组大小均约为 5 Mb,GC 含量约为 52%,呈现出近似于泊松分布的形状,即在该基因组的 GC 值附近会出现一个峰值,表明测序过程中 GC 的偏向性不严重,组装数据结果优良,可用于对鼠伤寒沙门菌基因组的预测和注释。本研究筛选出 3 株鼠伤寒沙门菌基因组经 ARDB 数据库注释获得的耐药基因,与敏感株 S1 含有 18 种耐药基因相比,一重耐药株 S2 还含有 1 种四环素类和 1 种磺胺类耐药基因;十重耐药株 S3 还含有 5 种氨基糖苷类、3 种氯霉素类、3 种磺胺类、1 种四环素类和 2 种 ESBLs 阳性耐药基因;S3 喹诺酮类耐药决定区 *gyrA* 基因还存在 Asn87Asp 突变,耐药表型与基因型基本一致。此外通过 VFDB 数据库注释,还获得了 3 株鼠伤寒沙门菌致病力相关的毒力基因,表明通过对鼠伤寒沙门菌全基因组序列进行 ARDB 和 VFDB 数据库注释,可以准确预测其耐药基因、耐药谱、毒力基因、致病力等重要表型特性,可为临床治疗和指导用药,为后续开展耐药基因传播机制和致病性研究,评估对人群的健康风险,以及为指导沙门菌病原食品生产加工过程中抗生素的合理使用及污染防控提供技术支持。

参考文献

- [1] Grimont P A D, Weill F X. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars, 9th ed [R]. Paris: World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*,

Institute Pasteur,2007.

[2] Guibourdenche M, Roggentin P, Mikoleit M, et al. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le minor scheme [J]. Res Microbiol,2010,161(1) :26-29.

[3] Camila G F, Angela P S, Patricia H C, et al. PCR multiplex for detection of *Salmonella enteritidis*, *typhi* and *typhimurium* and occurrence in poultry meat [J]. Int J Food Microbiol,2010,139(1/2) :15-22.

[4] Greig J D, Ravel A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution [J]. Int J Food Microbiol, 2009,130(2) :77-87.

[5] 王军,郑建忍,王晶钰. 动物源性食品中沙门菌的风险评估 [J]. 中国动物检疫,2007,24(4) :23-25.

[6] 方艳红,孙裴,魏建忠,等. 沙门氏菌毒力基因研究进展 [J]. 动物医学进展,2010,31(4) :190-193.

[7] 陈晶,孙自镛. 鼠伤寒沙门菌对喹诺酮类耐药机制的研究 [J]. 中国感染与化疗杂志,2006,6(2) :100-104.

[8] CHANG C M, Lee H C, Lee N Y, et al. Cefotaxime-ciprofloxacin combination therapy for nontyphoid *Salmonella* bacteremia and paravertebral abscess after failure of monotherapy [J]. Pharmacotherapy,2006,26(11) :1671-1674.

[9] Salimian R K, Najar P S, Bakhshi B, et al. Prevalence of the *bla*_{CTX-M-1} group and their transferability in resistant clinical isolates of *Salmonella* serogroups from several hospitals of Tehran [J]. Iran J Microbiol,2015,7(4) :203-207.

[10] 刘建军,张玮,王元兰,等. 沙门菌耐药基因多重 PCR 检测方法的建立 [J]. 中国抗生素杂志,2013,38(11) :871-875.

[11] Schlisselberg D B, Edna K, Kisluk G, et al. Biofilm formation ability of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* *acrAB* mutants [J]. Int J Antimicrob Ag,2015,46(4) :456-459.

[12] Falgenhauer L, Ghosh H, Guerra B, et al. Comparative genome analysis of *IncH2* VIM-1 carbapenemase-encoding plasmids of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from a livestock farm in Germany [J]. Vet Microbiol,2015,45(5) :609-624.

[13] 穆瑞瑞,蔺芳,陈泽章,等. 志贺菌多耐药现状与多耐药机制 [J]. 中国农学通报,2011,27(2) :266-270.

[14] 胡豫杰,赫英英,王晔茹,等. 中国六省份零售整鸡中环丙沙星与头孢噻肟双耐药印第安纳沙门菌流行状况及分子分型研究 [J]. 中华预防医学杂志,2015,49(8) :716-721.

[15] SUN Y W, DAI M H, HAO H H, et al. The role of *RamA* on the development of ciprofloxacin resistance in *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* [J]. PLoS One,2011,6(8) :e23471.

[16] Baucheron S, Nishino K, Monchaux I, et al. Bile-mediated activation of the *acrAB* and *tolC* multidrug efflux genes occurs mainly through transcriptional derepression of *ramA* in *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* [J]. J Antimicrob Chemother,2014,69(9) :2400-2406.

[17] DU X D, LI D X, HU G Z, et al. Tn1548-associated *armA* is co-located with *qnrB2*, *aac*(6') -*Ib-cr* and *bla*_{CTX-M-3} on an *IncF* II plasmid in a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar paratyphi B strain isolated from chickens in China [J]. J Antimicrob Chemother,2012,67(1) :246-248.

[18] Gharieb R M, Tartor Y H, Khedr M H. Non-typhoidal *Salmonella* in poultry meat and diarrhoeic patients: prevalence, antibiogram, virulotyping, molecular detection and sequencing of class I integrons in multidrug resistant strains [J]. Gut Pathog,2015,7(1) :1-11.

[19] Schlisselberg D B, Kler E, Kisluk G, et al. Biofilm formation ability of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* *acrAB* mutants [J]. Int J Antimicrob Agents,2015,46(4) :456-459.

[20] 王蔚佳. 儿童抗生素合理应用分析 [J]. 临床合理用药,2013,6(12A) :76-77.

[21] 张新,王全意,曲梅,等. 2009—2011 年北京市腹泻儿童沙门菌感染流行病学特征和耐药分析 [J]. 中国病原生物学杂志,2012,7(10) :728-730,742.

[22] 李桦,汪伟山,周玉球. 2009—2014 年珠海市腹泻儿童沙门菌感染的流行病学特征 [J]. 国际检验医学杂志,2015,36(18) :2640-2642.

[23] 陈庆法,陈强,余晓君,等. 腹泻儿童沙门菌的耐药性研究及肠毒素基因与临床关系分析 [J]. 中华临床医师杂志(电子版),2011,5(18) :5360-5365.

[24] 黄宝兴,马东礼. 深圳市某儿童医院沙门菌属菌群分布及耐药性分析 [J]. 实用预防医学,2015,22(7) :880-881.

[25] Vakulenko S B, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future [J]. Clin Microbiol Rev,2003,16(3) :430-450.

[26] 马孟根,王红宁,余勇,等. 猪源致病性沙门氏菌耐药基因的分析 [J]. 畜牧兽医学报,2006,37(1) :65-70.

[27] 丛莉. 鱼塘生态体系沙门氏菌的耐药性及耐药基因分析 [D]. 广州:暨南大学,2011.

[28] Michael G B, Cardoso M, Rabsch W, et al. Phenotypic and genotypic differentiation of porcine *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Derby isolates [J]. Vet Microbiol, 2006,118(34) :312-318.

[29] 王晓泉,王彦红,吴双,等. 四环素耐药基因在鸡源沙门菌中的分布和传播 [J]. 中国家禽,2007,29(9) :10-12.

[30] 李郁,焦新安,魏建忠,等. 屠宰生猪多重耐药沙门菌 I 类整合子与耐药基因的检测 [J]. 中国人兽共患病学报,2008,24(4) :327-330.

[31] Ng L K, Martin I, Alfa M, et al. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistance genes [J]. Mol Cell Probes,2001,15(4) :209-215.

[32] 杜向党,阎若潜,沈建忠. 氯霉素类药物耐药机制的研究进展 [J]. 动物医学进展,2004,25(2) :27-29.

[33] Patricia A, Jorge M, Joao C S, et al. Dissemination of sulfonamide resistance genes (*sul1*, *sul2* and *sul3*) in portuguese *Salmonella enterica* strains and relation with integrons [J]. Antimicrob Agents Chemother,2005,49(2) :836-839.

[34] Kozak G K, Pearl D L, Parkman J, et al. Distribution of sulfonamide resistance genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from swine and chickens at abattoirs in Ontario and Québec, Canada [J]. Appl Environ Microbiol,2009,75(18) :5999-6001.

[35] Nath G, Maurya P, Gulati A K. ERIC PCR and RAPD based finger-printing of *Salmonella typhi* strains isolated over a period of two decades [J]. Infect Genet Evol,2010,10(4) :530-536.

[36] Maurice F, Broutin I, Podglajen I, et al. Enzyme structural plasticity and the emergence of broad-spectrum antibiotic resistance [J]. EMBO Rep,2008,9(4) :344-349.

[37] Chiaretto G, Zavagnin P, Bettini F, et al. Extended spectrum-

lactamase SHV-12-producing *Salmonella* from poultry [J]. Vet Microbiol,2008,128(3/4):406-413.

[38]

Bauernfeind A, Jungwirth R, Schweighart S, et al. Antibacterial activity and beta-lactamase stability of eleven oral cephalosporins [J]. Infection,1990,18(3):155-167.

[39]

WONG M H, ZENG L, LIU J H, et al. Characterization of *Salmonella* food isolates with concurrent resistance to ceftriaxone and ciprofloxacin[J]. Foodborne Pathogens and Disease,2013,10(1):42-46.

[40]

夏梦,张智洁,刘勇. 152 株沙门菌临床分离株的耐药性及同源性分析[J]. 医学临床研究,2014,31(12):2311-2317.

[41]

崔海洋,王霄雪,霍哲,等. 76 株沙门菌耐药谱及耐药基因分析[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(1):136-138.

[42]

吴伟元,王辉,陆坚,等. 深圳社区感染沙门菌耐药基因调查

与同源性分析[J]. 中华检验医学杂志,2011,34(5):431-436.

[43]

刘晓林,王同展. 细菌外排泵 *AcrAB-TolC* 研究进展[J]. 中国公共卫生,2011,27(11):1456-1458.

[44]

曹恬雪,蒋文灿,何文成,等. 沙门氏菌毒力因子的研究进展[J]. 中国预防兽医学报,2014,36(4):331-334.

[45]

GUO A, Lasaro M A, Sirard J C, et al. Adhesin-dependent binding and uptake of *Salmonella enterica* serovar typhimurium by dendritic cells[J]. Microbiology,2007,153(4):1059-1069.

[46]

韩妍,梁文,李博,等. 沙门菌致病相关毒力因子概述[J]. 中国抗生素杂志,2013,38(5):2-7.

[47]

Nicholson B, Low D. DNA methylation-dependent regulation of pef expression in *Salmonella typhimurium* [J]. Mol Microbiol, 2000,35(4):728-742.

· 资讯 ·

协和医院最新研究发现,超七成过敏原是食物

中国人发生过敏性休克的诱因有哪些?日前,北京协和医院首次发布的中国过敏性休克诱因研究表明,超七成致敏原因是食物,其中以小麦居多。在药物致敏的情形中,中药注射液居首位,占到近四成。

水果中桃子最易引发过敏

从2000年至2014年的15年间,北京协和医院接诊了全国各地逾千例过敏性休克患者。作为全国过敏性疾病诊疗中心,该院通过对907位患者的1952次休克发作的研究,在国际上首次发布了中国过敏性休克的诱因排序,以及在不同年龄段人群中的分布特点,为全球过敏性休克诱因的研究消除了“中国空白”。

总体来看,诱发过敏性休克的原因中,食物占到77%。其中,小麦为元凶,占到总诱因的37%;水果/蔬菜排第二,占到20%;随后是豆类/花生占7%,坚果/种子占5%。专家介绍,最常见的导致过敏性休克的水果为桃子,最常见的致敏坚果为腰果。从发病的严重程度看,小麦诱发了57%的重度过敏反应,而水果/蔬菜类倾向于轻中度过敏反应。

食物诱发过敏性休克常常合并花粉过敏,蒿花粉——食物综合征最为常见。在调料、水果/蔬菜、豆类/花生、坚果/种子所致的严重过敏反应中,合并蒿花粉过敏的比例分别为75%、67%、61%和51%。71%由桃子诱发严重过敏反应的患者对蒿花粉过敏。此外,研究还报告了诱发过敏性休克的中国特色食物及罕见食物谱,比如,菊花茶、牛蛙、野菜、蚕蛹、蝗虫及金蝉等。

小麦制品“面筋”是过敏主因

欧美最常见的过敏性休克诱因是坚果、花生、鱼、贝类。美国排在首位的诱因是花生,日韩是荞麦、小麦,新加坡是燕窝。

北京协和医院变态反应科专家称,成人严重过敏反应的发病率显著高于儿童。68%的严重过敏反应发生在18至50岁,不同年龄段发生过敏性休克的首要原因不同。0至3岁的婴幼儿有62%是因为牛奶致敏,4至9岁的儿童有59%因为水果/蔬菜致敏。而10岁之后的青少年及成人组,小麦诱发过敏性休克的情况跃升首位,且随着年龄增长占比不断提高。比如,10至17岁的青少年过敏性休克由小麦诱发的占到20%,18至50岁人群的这一比例升至42%。

专家推测,国内缺少“免面筋”的小麦制品,以及国人遗传易感性是中国小麦诱发过敏性休克比例偏高的原因。现实生活中,面筋蛋白主要存在于小麦、大麦和燕麦的面粉中,麸质过敏症患者对其十分敏感。

药物致敏中药注射液居首

除食物外,药物也是诱发中国人过敏性休克的重要原因,占到7%。

致敏药物中,排在第一位的是中药,占到37%。清开灵注射液、双黄连注射液、鱼腥草注射液最为常见;排在第二位的是抗生素,占到24%,以青霉素为主;排在第三位的是解热镇痛类药物,占到16%。

注射液可以直接注射入人体的组织、血管或器官内,吸收快,作用迅速。特别是静脉注射,药液直接进入血液循环,出现过敏反应的几率也比口服、外用等方式高。

专家提醒,药物诱发过敏性休克虽为“小众”,但随着中国人高血压患病率的逐年提高,阿司匹林又被证实对预防中风、老年痴呆、抗衰老等有明显疗效,预计将有更多人群预防性服用阿司匹林。一旦患者被明确诊断为小麦诱发的严重过敏反应,阿司匹林及解热镇痛类药物是禁止服用的;如因病情需要必须服用阿司匹林或解热镇痛药物,那么小麦类食物必须禁止食用。

另外,运动也是诱发过敏性休克的“帮凶”。研究表明,有39%的过敏性休克发生在运动过程中。其中,食物依赖运动诱发严重过敏的情形占到87%。举例来说,有的“小麦依赖运动诱发过敏性休克”患者,吃面条后如果不运动本可以避免休克,一旦运动则会引发休克发作。

(摘自北京日报,相关链接:http://bjrb.bjd.com.cn/html/2016-09/19/content_67504.htm)