

研究报告

2005—2016年宁波市3种来源的非伤寒沙门菌
对β-内酰胺类抗生素耐药性詹晔斐¹,许兆军¹,宋启发²

(1. 宁波市第二医院重症监护中心,浙江宁波 315010;

2. 宁波市疾病预防控制中心微生物检验科,浙江宁波 315010)

摘要:目的 采用氨苄青霉素和第三代头孢菌素耐药水平、产超广谱β-内酰胺酶水平和可能耐药分子机制等指标,评价非伤寒沙门菌对β-内酰胺类抗生素的耐药水平,为相关疾病控制和治理提供数据支撑。方法 采用美国临床和实验室标准化研究所(CLSI)纸片法检测2005—2016年宁波市在临床患者、食品和河水中分离的非伤寒沙门菌菌株对氨苄青霉素、头孢曲松和头孢曲松/克拉维酸的耐药水平,并通过聚合酶链式反应(PCR)技术检测菌株中是否携带有 bla_{TEM} 、 bla_{CTX-M} 和 bla_{OXA} 3种编码β-内酰胺酶的耐药基因以及1类($IntI1$)和2类整合子基因($IntI2$)。结果 从临床患者、食品和河水中共分离893株非伤寒沙门菌,其对氨苄青霉素的耐药率为37.8%(338/893),对头孢曲松耐药和产超广谱β-内酰胺酶的菌株占比分别为7.7%(69/893)和7.3%(65/893)。检测菌株中耐氨苄青霉素最高的3种血清型为印第安纳沙门菌(100.0%,11/11)、德尔卑沙门菌(69.7%,23/33)和鼠伤寒沙门菌(57.4%,148/258)。其他检出对头孢曲松耐药和产超广谱β-内酰胺酶的非伤寒沙门菌血清型有阿贡那沙门菌(4株)、肯塔基沙门菌(2株)和明斯特沙门菌(2株)。 bla_{TEM} 基因主要存在于只对氨苄青霉素有耐药性的菌株中, bla_{CTX-M} 和 bla_{OXA} 基因主要存在于对头孢曲松有耐药性的菌株中。检出的 $IntI1$ 基因均为完整的整合子结构,包含1类整合子3'端 $Sul1$ 和 $qacE\Delta1$ 基因,未检出 $IntI2$ 基因。结论 分离自临床患者、食品和河水中的非伤寒沙门菌对氨苄青霉素具有较高的耐药水平,对第三代头孢菌素表现一定程度的耐药性。在印第安纳沙门菌、德尔卑沙门菌和鼠伤寒沙门菌等血清型中存在高水平的β-内酰胺类抗生素耐药现象。对β-内酰胺类抗生素耐药的沙门菌具有较复杂的分子机制,增加了耐药扩散的风险,应加强对非伤寒沙门菌耐药水平的监测和耐药机制的分析。

关键词:非伤寒沙门菌;β-内酰胺类抗生素;耐药;分子机制;食源性致病菌

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2018)03-0239-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.03.004

Antimicrobial resistance of β-lactam antibiotics among nontyphoidal *Salmonella enteric* isolates recovered from Ningbo City, 2005-2016

ZHAN Ye-fei¹, XU Zhao-jun¹, SONG Qi-fa²

(1. Intensive Care Unit, Ningbo No. 2 Hospital, Zhejiang Ningbo 315010, China;

2. Department of Microbiology, Ningbo Municipal Centre for Disease Control and Prevention, Zhejiang Ningbo 315010, China)

Abstract: Objective To assess the prevalence of β-lactam resistance among nontyphoidal *Salmonella* (NTS) isolates including ampicillin and third-generation cephalosporins, detect the production of ESBL and analyzing their molecular mechanisms, and to provide data basis for relevant diseases control and treatment. **Methods** NTS isolates were collected from patients, food and river water in Ningbo from 2005 to 2016 and were tested for resistance to ampicillin, cefotaxime and cefotaxime/clavulanate using the disc diffusion method specified in Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Among isolates resistant to β-lactam antibiotics, β-lactamase genes (bla_{CTX-M} , bla_{TEM} , and bla_{OXA}) and two types of integrons, class 1 and class 2, were amplified. **Results** Overall, 893 NTS isolates were obtained from patients, food and river water with resistance rates to ampicillin and cefotaxime, and ESBL-production rate of 37.8% (338/893), 7.7% (69/893) and 7.3% (65/893), respectively. The top three β-lactam-resistant serotypes were *Salmonella indiana*

收稿日期:2018-04-18

基金项目:浙江省医药卫生科技计划(2018KY688,2016KYB274)

作者简介:詹晔斐 女 主治医师 研究方向为医院感染控制 E-mail:zhancn@163.com

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

(100.0%, 11/11), *Salmonella derby* (69.7%, 23/33) and *Salmonella typhimurium* (57.4%, 148/258). Other serotypes that were tested positive for cefotaxime resistance and ESBL production were *Salmonella agona* (4 isolates), *Salmonella kentucky* (2 isolates) and *Salmonella muenster* (2 isolates). Ampicillin-resistant isolates mainly contained *bla*_{TEM} gene. Cefotaxime-resistant isolates often contained *bla*_{CTX-M} and *bla*_{OXA} gene. Most β -lactam-resistant isolates were found to have class I integron with complete structure. **Conclusion** High prevalence of ampicillin resistance and moderate prevalence of third-generation cephalosporins resistance existed in NTS isolates from patients, food and river water. High level of β -lactam resistance was found in several NTS serotypes such as *Salmonella indiana*, *Salmonella derby* and *Salmonella typhimurium*. Complicated molecular mechanisms existed in β -lactam-resistant NTS isolates, which might pose great risk to the spread of antibiotic resistance. Strengthened surveillance on β -lactam resistance and exploration of relevant molecular mechanisms were required.

Key words: Nontyphoidal *Salmonella*; β -lactam antibiotics; antimicrobial resistance; antimicrobial resistance mechanisms; foodborne pathogens

非伤寒沙门菌(nontyphoidal *Salmonella*, NTS)是指除伤寒、副伤寒沙门菌以外的各种沙门菌,可以在水和食物等环境中生存和传播,也可在医院等环境中通过直接接触传播,可引起人和多种动物宿主的非伤寒沙门菌感染^[1]。近年来非伤寒沙门菌感染明显增加,已成为严重的公共卫生问题^[2]。在世界卫生组织新发传染病报告中,报道了多起食源性感染事件,如肯塔基沙门菌感染、2018年1月法国奶粉导致的阿贡那沙门菌感染等^[3-4],在我国非伤寒沙门菌也是引起细菌性食源性疾病的主要病原菌^[5]。非伤寒沙门菌感染的临床表现复杂,可分为胃肠炎型、类伤寒型、败血症型、局部化脓感染型等,如进入血液可危及生命,亦可表现为无症状感染^[6]。对多数以腹泻为主要表现的非伤寒沙门菌感染,一般不需要抗生素治疗,但对于严重感染患者以及婴幼儿和免疫缺陷患者等,需进行抗生素治疗,临床常用抗生素包括氟喹诺酮类抗生素和 β -内酰胺类抗生素如氨苄青霉素、第三代头孢菌素等^[7]。

近年来,非伤寒沙门菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药性越来越受到人们的关注,耐药菌株表现为仅对氨苄青霉素耐药以及对包含第三代头孢菌素在内的多种 β -内酰胺类抗生素耐药,甚至表现为产超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamases, ESBL),能水解青霉素类、头孢菌素类以及单环 β -内酰胺类多种抗生素^[8]。更为严重的是,对多种 β -内酰胺类抗生素耐药的菌株往往同时对氟喹诺酮类等抗生素也具有耐药性,而成为泛耐药菌,导致临床可选择的治疗药物极其有限^[9]。在非伤寒沙门菌中,携带如*bla*_{TEM}、*bla*_{OXA}或*bla*_{CTX-M}耐药基因,编码针对 β -内酰胺类抗生素水解酶是其主要的耐药机制,同时通过质粒以及1类(由*Int1*基因编码)和2类(由*Int2*基因编码)整合子等介导的基因水平转移,使耐药基因在菌株间扩散^[10]。

虽然以往研究中关于特定血清型的沙门菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药分析多有报道,如对产超广谱 β -内酰胺酶鼠伤寒沙门菌、印第安纳沙门菌等开展了分析研究^[11],但对整体非伤寒沙门菌的 β -内酰胺类抗生素耐药水平和发展趋势尚缺乏系统分析。临床上常用于治疗沙门菌感染的药物中,氨苄青霉素和头孢曲松分别为早期半合成青霉素和第三代头孢菌素,因此本研究收集了2005—2016年宁波市所分离的893株非伤寒沙门菌菌株,检测该菌对2种 β -内酰胺类抗生素的耐药状况,通过检测*bla*_{TEM}、*bla*_{OXA}和*bla*_{CTX-M}3种耐药基因,分析该菌对 β -内酰胺类抗生素耐药的分子机制,通过检测*Int1*和*Int2*基因,评估相关耐药基因的扩散风险,为非伤寒沙门菌感染疾病的控制和治疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

本研究所用菌株为2005—2016年宁波市从临床患者、食品和河水中分离的非伤寒沙门菌,共893株,其中临床患者来源584株(粪便来源554株,血液或其他组织来源30株)、食品来源244株和河水来源65株。所有菌株均通过API 20E或VITEK-2型全自动细菌鉴定仪进行生化鉴定,以及通过沙门菌诊断血清进行血清学鉴定。检测菌株用30%甘油肉汤保存于-80℃备用。质控菌株为大肠埃希菌(ATCC 25922,美国Microbiologies)。

1.1.2 主要仪器与试剂

API 20E和VITEK-2全自动微生物分析仪均购自法国生物梅里埃,梯度聚合酶链式反应(PCR)仪(德国Eppendorf AG)。沙门菌诊断血清(日本生研),PCR试剂(大连宝生物工程有限公司),脑心浸液肉汤(北京陆桥技术股份有限公司),M-H培养基(英国Oxoid),PCR引物均由上海生工生物技术有

限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 药物敏感试验

使用美国临床和实验室标准研究所(CLSI)制定的抗菌药物敏感试验标准(M02-A12)^[12]推荐的纸片药敏试验方法对所有菌株进行药物敏感试验,根据CLSI M100-S27^[13]对药敏结果进行解读。所检测抗菌药物(英国Oxoid)包括3种β-内酰胺类抗生素,分别为氨苄青霉素(10 μg)、头孢曲松(30 μg)和头孢曲松/克拉维酸(30/10 μg),其他抗菌药物包括环丙沙星(5 μg)、庆大霉素(10 μg)、氯霉素(30 μg)和复方新诺明(SMZ/TMP,1.25/23.75 μg),质控菌株为大肠埃希菌(ATCC 25922)。若检测菌株的头孢曲松/克拉维酸抑菌圈直径比头孢曲松抑菌圈直径≥5 mm,则该菌株定义为产超广谱β-内酰胺酶。根据对3种β-内酰胺类抗生素的药敏检测结果,菌株分

为3种抗β-内酰胺类抗生素水平:全敏感组、耐氨苄青霉素组、耐头孢曲松组。

1.2.2 PCR扩增耐药基因

将耐药菌株接种于脑心浸液琼脂培养基中,置于恒温箱中37℃过夜培养。用去离子水制备0.5麦氏浊度菌悬液,100℃煮沸10 min,12 000×g离心5 min,取上清液作为扩增模板,按照表1中PCR引物序列扩增 bla_{TEM} 、 bla_{CTX-M} (引物 $bla_{CTX-M14}$ 和 $bla_{CTX-M15}$)和 bla_{OXA} 3种编码β-内酰胺酶耐药基因以及 $Int1$ 和 $Int2$ 基因。反应混合液总体积为25 μl,包括Premix Taq预混液12.5 μl、上下游引物各0.5 μl(10 pmol/μl)、模板2 μl,其余用去离子水补足至25 μl。反应条件:94℃预变性5 min,94℃变性30 s,52℃退火30 s,72℃延伸45 s,共30个循环,产物采用1%琼脂糖电泳分离和溴乙锭染色判断结果。

表1 PCR引物信息

Table 1 PCR primer information

基因类型	基因名称	核酸序列(5'-3')	产物大小/bp	参考文献
整合子基因	<i>Int1</i>	Int1-1: TCT GGA CCA GTT GCG TGA GC	237	本研究
		Int1-2: CAC AGC ACC TTG CCG TAG AA		
	<i>Int2</i>	Int2-1: CAC GGA TAT GCG ACA AAA AGG T	789	[14]
		Int2-2: GTA GCA AAC GAG TGA CGA AAT G		
β-内酰胺酶相关基因	<i>Sul1</i>	Sul-1: TGG TGA CGG TGT TCG GCA TTC	408	本研究
		Sul-2: GCG AGG GTT TCC GAG AAG GTG		
	<i>qacEΔ1</i>	Qac-1: CGA AGT AAT CGC AAC ATC CG	256	本研究
		Qac-2: AAA GGC AGC AAT TAT GAG CC		
<i>bla_{CTX-M14}</i>	<i>bla_{CTX-M14}</i>	CTX-M14-1: AAA ACT TGC CGA ATT AGA GC	711	本研究
		CTX-M14-2: TTA GGT TGA GGC TGG GTG AA		
	<i>bla_{CTX-M15}</i>	CTX-M15-1: ATG AAC GCT TTC CAA TGT GC	461	本研究
		CTX-M15-2: GGT CGT ATT GCC TTT GAG CC		
<i>bla_{OXA}</i>	OXA-1: AAT GGC ACC AGA TTC AAC TT	593	本研究	
	OXA-2: TGG CTT TTA TGC TTG ATG TT			
<i>bla_{TEM}</i>	TEM-1: TGT CGC CCT TAT TCC CTT TT	783	本研究	
	TEM-2: ATA GTT GCC TGA CTC CCC GT			

1.3 统计学分析

采用SPSS 13.0进行 χ^2 检验,比较两组样本间耐药率差异,以单侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非伤寒沙门菌血清型分布

2005—2016年宁波市共收集893株非伤寒沙门菌菌株,共78种血清型,最常见的5种血清型为鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌、伦敦沙门菌、德尔卑沙门菌和斯坦利沙门菌,占菌株总数的59.0%(527/893),其他73种血清型分布比较分散,每种血清型平均检出5株,见表2。

2.2 药敏试验结果

893株非伤寒沙门菌对氨苄青霉素耐药的菌株

占比为37.8%(338/893),对头孢曲松耐药和产超广谱β-内酰胺酶的比例分别为7.7%(69/893)和7.3%(65/893),对头孢曲松耐药的菌株均对氨苄青霉素具有耐药性。对氨苄青霉素耐药率最高的3种血清型为印第安纳沙门菌(100.0%,11/11)、德尔卑沙门菌(69.7%,23/33)和鼠伤寒沙门菌(57.4%,148/258),其中对头孢曲松耐药和产超广谱β-内酰胺酶的印第安纳沙门菌占比均为81.8%(9/11),见表2。其他检出对头孢曲松耐药和产超广谱β-内酰胺酶的非伤寒沙门菌血清型有阿贡那沙门菌(4株)、肯塔基沙门菌(2株)和明斯特沙门菌(2株)。

根据菌株来源可分为临床患者来源、食品来源和河水来源,3种来源菌株对氨苄青霉素均表现出较高的耐药性,对头孢曲松也具有一定程度的耐药性,见表3。其中,临床患者来源菌株对氨苄青霉

表2 893株非伤寒沙门菌血清型分布和耐药水平

Table 2 Serotype distribution and β -lactam antibiotic resistance of 893 nontyphoid *Salmonella* strains

血清型	菌株数(%)	耐药菌株数(%)		
		氨苄青霉素	头孢曲松	产超广谱 β -内酰胺酶
鼠伤寒沙门菌	258(28.9)	148(57.4)	23(8.9)	23(8.9)
肠炎沙门菌	160(17.9)	60(37.5)	17(10.6)	15(9.4)
伦敦沙门菌	44(4.9)	22(50.0)	0(0.0)	0(0.0)
德尔卑沙门菌	33(3.7)	23(69.7)	6(18.2)	6(18.2)
斯坦利沙门菌	32(3.6)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
里森沙门菌	22(2.5)	12(54.5)	2(9.1)	2(9.1)
婴儿沙门菌	18(2.0)	2(11.1)	2(11.1)	2(11.1)
病牛沙门菌	13(1.5)	3(23.1)	0(0.0)	0(0.0)
汤卜逊沙门菌	11(1.2)	3(27.3)	0(0.0)	0(0.0)
印第安纳沙门菌	11(1.2)	11(100.0)	9(81.8)	9(81.8)
其他68种血清型	291(32.6)	54(18.6)	10(3.4)	8(2.7)
合计	893(100.0)	338(37.8)	69(7.7)	65(7.3)

表3 不同抗生素中3种来源非伤寒沙门菌耐药情况比较

Table 3 Comparison of β -lactam antibiotic resistance among nontyphoid *Salmonella* strains from three sources

抗生素	耐药菌株数(%)				P_1 值	P_2 值
	临床患者来源 ($n=584$)	食品来源 ($n=244$)	河水来源 ($n=65$)	合计 ($n=893$)		
氨苄青霉素	240(41.1)	73(30.0)	25(38.5)	338(37.8)	0.04	>0.05
头孢曲松	43(7.4)	19(7.8)	7(10.8)	69(7.7)	>0.05	>0.05
产超广谱 β -内酰胺酶	41(7.0)	17(7.0)	7(10.8)	65(7.3)	>0.05	>0.05

注: P_1 值为临床患者来源与食品来源菌株耐药率比较; P_2 值为临床患者来源与河水来源菌株耐药率比较

素的耐药率高于食品来源菌株,差异有统计学意义($P < 0.05$),河水来源菌株对头孢曲松的耐药率和产超广谱 β -内酰胺酶的比例略高于临床患者来源菌株,差异均无统计学意义($P > 0.05$),可能由于对头孢曲松耐药率较高的印第安纳沙门菌和阿贡那沙门菌多为河水来源所致,造成对2种 β -内酰胺抗生素耐药率分布不一致。

按照对不同 β -内酰胺类抗生素的药敏结果分为全敏感组、耐氨苄青霉素组和耐头孢曲松组,比较3组对4种非 β -内酰胺类抗菌药物(环丙沙星、庆大霉素、氯霉素和复方新诺明)的耐药情况,见表4,耐氨苄青霉素组和耐头孢曲松组对4种非 β -内酰胺类抗菌药物的耐药率均明显高于全敏感组,差异有统计学意义($P < 0.001$)。

表4 非 β -内酰胺类抗生素中不同 β -内酰胺类抗生素耐药水平的非伤寒沙门菌的耐药率比较Table 4 Comparison of non- β -lactam antibiotic resistance rates among nontyphoid *Salmonella* strains with different

抗生素名称	β -lactam resistance levels				P_1 值	P_2 值
	全敏感组 ($n=555$)	耐氨苄青霉素组 ($n=269$)	耐头孢曲松组 ($n=69$)	合计 ($n=893$)		
环丙沙星	0(0.0)	1(0.4)	24(34.8)	25(2.8)	—	<0.001
庆大霉素	10(1.8)	93(34.6)	67(97.1)	170(19.0)	<0.001	<0.001
氯霉素	23(4.1)	150(55.8)	65(94.2)	238(26.7)	<0.001	<0.001
复方新诺明	121(21.8)	165(61.3)	69(100.0)	355(39.8)	<0.001	<0.001

注: P_1 和 P_2 分别为全敏感组与耐氨苄青霉素组、全敏感组与耐头孢曲松组之间非 β -内酰胺类抗菌药物耐药率比较;—表示因样本数量太少无此值

2.3 耐药基因检测结果

在所有只对氨苄青霉素耐药的菌株中随机选择100株菌株,与所有对头孢曲松耐药的69株菌株共同进行相关耐药基因检测,结果见表5。2组不同 β -内酰胺类抗生素之间耐药基因分布差异均有统计学意义($P < 0.05$),只对氨苄青霉素耐药的菌株以 bla_{TEM} 基因为主, bla_{CTX-M} 和 bla_{OXA} 主要存在于对头孢曲松耐药的菌株中。检出 $Int1$ 基因的菌株均包含 $Int1$ 基因3'端的 $Sul1$ 和 $qacE\Delta1$ 基因,为完整的整

合子结构,未检出 $Int2$ 基因。

3 讨论

近年来非伤寒沙门菌感染增加和对婴幼儿等特殊人群健康的威胁已经成为世界卫生组织等国际机构关注的重要公共卫生问题。 β -内酰胺类抗生素是治疗非伤寒沙门菌感染的常用抗生素,掌握非伤寒沙门菌对该类抗生素的耐药状况是成功治疗和预防非伤寒沙门菌感染的关键因素。本研究

表5 耐药基因在不同β-内酰胺类抗生素耐药水平的非伤寒沙门菌检出率比较

Table 5 Comparison of the detection rates of resistance genes among nontyphoid *Salmonella* strains with different β-lactam resistance levels

耐药基因	耐药菌株数(%)		P 值
	耐氨苄青霉素 (n = 100)	耐头孢曲松 (n = 69)	
<i>IntI1</i>	76(76.0)	69(100.0)	<0.001
<i>bla_{TEM}</i>	86(86.0)	22(31.9)	<0.001
<i>bla_{CTX-M}</i>	0(0.0)	46(66.7)	<0.001
<i>bla_{OXA}</i>	4(4.0)	20(29.0)	<0.001

共收集 2005—2016 年宁波市所分离的 893 株非伤寒沙门菌菌株,通过分析该菌对氨苄青霉素和第三代头孢菌素耐药水平、产超广谱 β-内酰胺酶水平和可能的耐药分子机制,掌握该菌对 β-内酰胺类抗生素耐药情况。

本研究表明,引起人类感染和污染食品的非伤寒沙门菌具有明显的优势血清型。最常见的血清型为鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌、伦敦沙门菌、德尔卑沙门菌和斯坦利沙门菌,占有 893 株沙门菌总数的 59.0%,其他 73 种血清型比较分散。全球多国监测结果^[15]表明,鼠伤寒沙门菌和肠炎沙门菌最为常见,两者占比可达 40% 左右,与本研究监测的两者占比 46.8% (418/893) 接近。而血清型分布排名第 3 及以后的常见血清型分布具有一定的地域区别,如美国的监测结果^[16]显示第 3~5 位的血清型为新港沙门菌、海德堡沙门菌和爪哇沙门菌,与本研究(伦敦沙门菌、德尔卑沙门菌和斯坦利沙门菌)存在区别。非伤寒沙门菌所致疾病以胃肠炎为主,多数可以自愈,但约有 5%~10% 的患者也可以导致血液等其他无菌部位严重侵袭性感染,特别是在艾滋病(HIV)患者等免疫力低下人群中,更容易造成严重的临床后果^[17-18]。本研究从血液或其他组织来源共分离 30 株非伤寒沙门菌,占有临床患者来源菌株的 5.1% (30/584),与文献报道^[17-18]接近。

本研究通过检测非伤寒沙门菌对氨苄青霉素和头孢曲松的耐药率以及产超广谱 β-内酰胺酶的比例,评价非伤寒沙门菌对 β-内酰胺类抗生素的耐药水平。2 种抗生素均被世界卫生组织认定为安全和有效的抗生素,长期在发达和发展中国家中使用。氨苄青霉素从 1961 年开始进入临床应用,是最早用于治疗革兰阳性和阴性菌的广谱 β-内酰胺类抗生素^[19];而头孢曲松从 1980 年才开始进入临床应用,属于第三代具有广谱抗菌作用的头孢菌素^[20]。由于氨苄青霉素使用时间远长于头孢曲松,肠杆菌科细菌如非伤寒沙门菌对氨苄青霉素的耐药率往往明显高于对头孢曲松的耐药率。本研究

发现,非伤寒沙门菌对氨苄青霉素的耐药率为 37.8%,对头孢曲松耐药和产超广谱 β-内酰胺酶的菌株占比分别为 7.7% 和 7.3%,并且对头孢曲松耐药和产超广谱 β-内酰胺酶的菌株均对氨苄青霉素耐药,而且临床患者、食品和河水来源菌株均对 β-内酰胺类抗生素表现出较高的耐药水平。我国另一项研究^[21]也发现,分别有 41.4% 和 4.1% 的非伤寒沙门菌对氨苄青霉素和头孢曲松具有耐药性。但美国国家耐抗菌素监测系统(NARMS)监测数据^[22]显示,对氨苄青霉素和头孢曲松耐药的伤寒沙门菌分别只有 19.8% 和 2.5%,说明非伤寒沙门菌耐药率存在一定的地域差别。本研究和其他研究^[23]均显示,部分非伤寒沙门菌血清型对 β-内酰胺类抗生素呈现高度耐药,如印第安纳沙门菌、德尔卑沙门菌、阿贡那沙门菌和鼠伤寒沙门菌。本研究中所分离的印第安纳沙门菌和阿贡那沙门菌多为河水来源,对头孢曲松高度耐药。对 β-内酰胺类抗生素耐药水平较高的菌株往往同时对其他非 β-内酰胺类抗生素(如环丙沙星、庆大霉素、氯霉素和复方新诺明)也出现耐药,成为泛耐药菌,加剧了对 β-内酰胺类抗生素耐药的伤寒沙门菌感染的临床治疗难度。

本研究分析对 β-内酰胺类抗生素耐药的伤寒沙门菌的分子机制发现,耐氨苄青霉素与 *bla_{TEM}* 基因高度相关。文献报道^[24] *bla_{TEM}* 基因编码的蛋白为革兰阴性菌中最常见的 β-内酰胺酶,是造成肠杆菌科对氨苄青霉素耐药的主要机制。在对头孢曲松耐药的菌株中,存在 *bla_{CTX-M}* 和 *bla_{OXA}* 基因,部分菌株同时存在 2 种基因。其他研究^[25]表明我国发现的产超广谱 β-内酰胺酶细菌以 CTX-M 型为主,但与之不同的是,本研究中部分产超广谱 β-内酰胺酶的非伤寒沙门菌菌株检出 *bla_{OXA}* 基因,这种情况在对 β-内酰胺类抗生素耐药的伤寒沙门菌中未有报道,对于是否出现新的耐药机制应引起重视。同时在耐药菌株中,也有大部分菌株检出完整的 *IntI1* 基因结构,该结构往往造成细菌之间耐药基因重组和扩散,提示非伤寒沙门菌中存在 β-内酰胺类抗生素耐药性进一步扩散的风险。

以上研究表明,临床患者、食品和河水来源的非伤寒沙门菌均对氨苄青霉素存在较高的耐药水平,印第安纳沙门菌、德尔卑沙门菌、阿贡那沙门菌和鼠伤寒沙门菌等部分非伤寒沙门菌血清型还存在对第三代头孢菌素耐药的现象。在我国和世界多国的食品安全监测中,非伤寒沙门菌均为重要的食源性致病微生物,往往通过奶制品、肉类等多种消毒不彻底的食品感染人类,在宁波市也曾导致严

重的食物中毒事件^[26];因此在预防和治疗非伤寒沙门菌引起的食源性疾病过程中,要关注不同血清型非伤寒沙门菌中不同 β -内酰胺类抗生素的耐药水平。本研究还发现了 β -内酰胺类抗生素耐药菌株中存在 bla_{TEM} 、 bla_{CTX-M} 基因和未见报道的 bla_{OXA} 基因等多种耐药分子机制以及广泛存在完整的 $Int1$ 基因结构,更进一步增加了耐药扩散的风险,因此应加强对非伤寒沙门菌耐药水平的监测和耐药机制分析。同时,本研究也获得了2005—2016年宁波市非伤寒沙门菌对 β -内酰胺类抗生素的整体耐药水平和导致耐药的主要分子机制,为今后非伤寒沙门菌的耐药趋势研究建立了基础。

参考文献

- [1] 王军, 郑增忍, 王晶钰. 动物源性食品中沙门氏菌的风险评估[J]. 中国动物检疫, 2007, 24(4):23-25.
- [2] MAJOWICZ S E, MUSTO J, SCALLAN E, et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis[J]. Clin Infect Dis, 2010, 50(6): 882-889.
- [3] LE HELLO S, HENDRIKSEN R S, DOUBLET B, et al. International spread of an epidemic population of *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 resistant to ciprofloxacin [J]. J Infect Dis, 2011, 204(5):675-684.
- [4] World Health Organization. Outbreak of *Salmonella agona* infections linked to internationally distributed infant formula-France [EB/OL]. (2017-12-22) [2018-02-24]. <http://www.who.int/csr/don/22-december-2017-salmonella-agona-infections-france/en/>.
- [5] 毛雪丹, 胡俊峰, 刘秀梅. 2003—2007年中国1060起细菌性食源性疾病流行病学特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22(3): 224-228.
- [6] FEASEY N A, DOUGAN G, KINGSLEY R A, et al. Invasive non-typhoidal *Salmonella* disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa [J]. The Lancet, 2012, 379(9835): 2489-2499.
- [7] DUTTA P, MITRA U, DUTTA S, et al. Ceftriaxone therapy in ciprofloxacin treatment failure typhoid fever in children [J]. Indian J Med Res, 2001, 113(6):210-213.
- [8] MIRIAGO V, TASSIOS P T, LEGAKIS N J, et al. Expanded spectrum cephalosporin resistance in non-typhoid *Salmonella* [J]. Int J Antimicrob Agents, 2004, 23(6):547-555.
- [9] SONG Q F, XU Z J, GAO H, et al. Overview of the development of quinolone resistance in *Salmonella* species in China, 2005-2016 [J]. Infect Drug Resist, 2018, 11:267-274.
- [10] YUKO M, HIDEMASA I, TSUYOSHI S, et al. Characterization of bla_{TEM-52} -carrying plasmids of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Salmonella enterica* isolates from chicken meat with a common supplier in Japan [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(12):7545-7547.
- [11] LU Y, ZHAO H Y, SUN J, et al. Characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovars Indiana and Enteritidis from chickens in Eastern China [J]. PLoS One, 2014, 9(5):e96050.
- [12] CLSI. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard-eleventh edition. CLSI document M02-A12 [M]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
- [13] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. CLSI document M100-S27 [M]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
- [14] LE T M V, BAKER S, LE T P T, et al. High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in commensal members of the Enterobacteriaceae in Ho Chi Minh City, Vietnam [J]. J Med Microbiol, 2009, 58(12):1585-1592.
- [15] HENDRIKSEN R S, VIEIRA A R, KARLSMOSE S, et al. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank; results of quality assured laboratories from 2001 to 2007 [J]. Foodborne Pathog Dis, 2011, 8(8):887-900.
- [16] JONES T F, INGRAM L A, CIESLAK P R, et al. Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype [J]. J Infect Dis, 2008, 198(1):109-114.
- [17] DEEN J, VON SEIDLEIN L, ANDERSEN F, et al. Community-acquired bacterial bloodstream infections in developing countries in south and southeast Asia: a systematic review [J]. Lancet Infect Dis, 2012, 12(6):480-487.
- [18] GORDON M A, BANDA H T, GONDWE M, et al. Nontyphoidal *Salmonella* bacteraemia among HIV-infected Malawian adults: high mortality and frequent recrudescence [J]. AIDS, 2002, 16(12): 1633e41.
- [19] RAVINA E. The evolution of drug discovery: from traditional medicines to modern drugs [M]. Weinheim: Wiley-VCH, 2011:262.
- [20] FISCHER J, GANELLIN C R. Analogue-based drug discovery [M]. Weinheim: Wiley-VCH, 2006:494.
- [21] RAN L, WU S Y, GAO Y J, et al. Laboratory-based surveillance of nontyphoidal *Salmonella* infections in China [J]. Foodborne Pathog Dis, 2011, 8(8):921-927.
- [22] CRUMP J A, MEDALLA F M, JOYCE K W, et al. Antimicrobial resistance among invasive nontyphoidal *Salmonella enteric* isolates in the United States: national antimicrobial resistance monitoring system, 1996 to 2007 [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(3):1148-1154.
- [23] GONG J S, WANG C M, SHI S R, et al. Highly drug-resistant *Salmonella enterica* serovar indiana clinical isolates recovered from broilers and poultry workers with diarrhea in China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(3):1943-1947.
- [24] BRADFORD P A. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat [J]. Clin Microbiol Rev, 2001, 14(4): 933-951.
- [25] 鲁卫平, 安琳, 黎敏, 等. 近6年产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌耐药性动态观察分析[J]. 检验医学, 2009, 24(1):5-8.
- [26] 宋启发, 王爱红, 杨元斌, 等. 分子生物学技术在一起食物中毒检测中的应用 [J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(3): 254-258.