

研究报告

2017—2021年温州市腹泻患者沙门菌血清学和耐药谱
及分子分型特征分析林谦阁¹, 章乐怡², 胡玉琴², 孙桂芹¹, 李毅²

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 温州市疾病预防控制中心, 浙江 温州 325000)

摘要:目的 探究温州市食源性腹泻患者沙门菌的血清学、耐药性和分子分型特征,为食源性疾病的预防控制和临床治疗提供科学依据。方法 对从温州市2017—2021年食源性腹泻病例中分离出的567株沙门菌进行病患信息整理以及血清分型,使用微量肉汤稀释法对15种抗菌药物进行敏感性试验,运用脉冲场凝胶电泳(PFGE)技术对菌株进行分子分型。结果 567株沙门菌腹泻患者含男性326人,女性241人,分别占57.5%和42.5%,多为6岁以下的儿童,共分离出119株,占21.0%;其次为60岁以上的老年人,共分离出111株沙门菌,占19.6%。567株沙门菌共分为50种血清型,其中位居前两位血清型是鼠伤寒沙门菌(33.5%,190/567)和肠炎沙门菌(23.6%,134/567)。567株沙门菌对氨苄西林耐药率最高,为73.5%(417/567),其次四环素为63.3%(359/567);鼠伤寒沙门菌对四环素的耐药率最高为84.2%(160/190),而肠炎沙门菌对萘啶酸的耐药率最高为95.5%(128/134)。多重耐药率为62.6%,共产生178种耐药谱,其中最多的耐药谱为AMP-AMS-CFZ-CT-NAL。201株鼠伤寒沙门菌及其单相变种产生70种带型,带型差异度较大,相似度在1.5%~100%之间;127株肠炎沙门菌产生32种带型,相似度在35.8%~100%之间。50株伦敦沙门菌共产生24种带型,相似度在40.0%~100%之间。结论 温州市食源性沙门菌呈现广泛的血清型分布,并存在不同程度的耐药性及多重耐药趋势。为了有效防控沙门菌引起的食源性疾病,应加强对食源性腹泻患者沙门菌的监测,及时了解温州市血清型分布趋势和耐药特点,并采取必要的预防措施。

关键词:沙门菌; 耐药性; 血清型; 分子分型

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)07-0788-09

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.07.004

Serological, drug resistance spectrum and molecular typing analysis of *Salmonella* in patients with foodborne diarrhea in Wenzhou City from 2017 to 2021LIN Qiang¹, ZHANG Leyi², HU Yuqin², SUN Guiqin¹, LI Yi²

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Zhejiang Hangzhou 310053, China; 2. Wenzhou Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Wenzhou 325000, China)

Abstract: Objective To provide scientific basis for the prevention and control of foodborne diseases and clinical treatment, the serological, drug resistance and molecular typing characteristics of *Salmonella* isolated from patients with foodborne diarrhea in Wenzhou City was investigated. **Methods** A total of 567 *Salmonella* strains isolated from foodborne diarrhea cases in Wenzhou City from 2017 to 2021 were sorted out and serotyped. The susceptibility tests to 15 antimicrobial agents were performed using the broth microdilution method. Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) was used for molecular typing. **Results** Among the 567 patients of *Salmonella*, 326 were male and 241 were female, accounting for 57.5% and 42.5%, respectively. Most of them were children under 6 years old, and 119 strains were isolated, accounting for 21.0%. Next was the elderly over 60 years old, 111 strains of *Salmonella* were isolated, accounting for 19.6%. The 567 isolates of *Salmonella* were divided into 50 serotypes, among which the top two serotypes were *Salmonella typhimurium* (33.5%, 190/567) and *Salmonella enteritidis* (23.6%, 134/567). The results showed that the resistance rate to ampicillin was the highest (73.5%, 417/567). It was followed by tetracycline (63.3%, 359/567).

收稿日期:2023-07-19

作者简介:林谦阁 女 检验技师 研究方向为微生物检验 E-mail:linqiang0709@163.com

通信作者:李毅 男 主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail:zjwzliy@126.com

孙桂芹 女 副教授 研究方向为微生物检验 E-mail:sunguiqin2001@163.com

李毅和孙桂芹为共同通信作者

Salmonella typhimurium had the highest resistance to tetracycline (84.2%, 160/190), and *Salmonella enteritidis* had the highest resistance to nalidixic acid (95.5%, 128/134) among 15 antibiotics. Among 567 strains of *Salmonella*, 178 kinds of drug resistance spectrum were found, the rate of multiple drug resistance was 62.6% and the highest proportion was AMP-AMS-CFZ-CT-NAL. The 201 strains of *Salmonella typhimurium* and the monophasic varieties of *Salmonella typhimurium* produced 70 band types. The band types varied greatly and the similarity was between 1.5% and 100%. One hundred and twenty-seven strains of *Salmonella enteritidis* obtained a total of 32 band types with the similarity between 35.8% and 100%. Fifty strains of *Salmonella london* obtained a total of 24 band types by PFGE, and the similarity was between 40.0% and 100%. **Conclusion** Foodborne *Salmonella* strains isolated in Wenzhou displayed diverse serotypes, varying degrees of drug resistance, and multi-drug resistance. To effectively prevent and control foodborne diseases caused by *Salmonella*, enhancing monitoring of *Salmonella* among foodborne diarrhea patients was essential. Timely understanding of *Salmonella* serotype distribution trends and drug resistance patterns in the region, followed by appropriate measures, was imperative.

Key words: *Salmonella*; antibiotic resistance; serotype; molecular characteristics

沙门菌是一种常见的人兽共患病病原体,是引起食物感染与食源性疾病的重要致病菌,是最常见的食源性疾病病原微生物^[1]。沙门菌血清型目前已超过 2 600 种。感染沙门菌后会引发患者腹泻、发热和腹痛,部分患者可致肠道外感染,如败血症、心内膜炎、骨髓炎等。沙门菌引起的人类感染是一个重大的公共卫生问题^[2]。据统计,由沙门菌引起的细菌性食源性疾病在中国、美国、日本等国位列第一^[3-5]。为了解温州市近几年食源性疾病中沙门菌感染的状况,本研究收集并分析了 2017—2021 年温州市食源性疾病感染病例,同时对部分沙门菌分离株进行血清学分型、耐药性分析和分子分型研究,以期对食源性疾病的预防和控制提供科学的实验数据支持,并为临床治疗提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

567 株沙门菌分离株分离自 2017—2021 年温州市食源性疾病腹泻患者,其中 2017 年 100 株,2018 年 78 株,2019 年 110 株,2020 年 129 株,2021 年 150 株。沙门菌(H9812)标准菌株由浙江省疾病预防控制中心提供。

1.1.2 主要仪器与试剂

全自动微生物分析系统 VITEK 2 Compact(法国生物梅里埃);Sensititre AIM 全自动菌液接种仪和 Vizion 微生物药敏分析仪(美国赛默飞);CHEF MAPPER 脉冲场凝胶电泳系统、Molecular Imager® Gel Doc™ XR+带 Image Lab™ Software 的凝胶成像系统(美国伯乐)。

沙门菌显色培养基(法国科玛嘉);沙门菌血清诱导琼脂、沙门菌血清(丹麦 SSI);GN 鉴定卡(法国生物梅里埃公司);Seakem Gold Agarose(瑞士 Lonza);蛋白酶 K(20 mg/mL,上海生工生物工程有

限公司);Xba I 内切酶[宝生物工程(大连)有限公司];Nephelometer 比浊仪、加样器、革兰氏阴性菌药敏板(CHNM4F)、CAMHBT 肉汤(美国赛默飞)。所有使用的试剂和耗材均在有效期内。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定与血清学分型

按照 GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》及 WS 271—2007《感染性腹泻诊断标准》方法进行检验,将标本接种于沙门菌显色培养基进行初步鉴定,取紫色菌落接种于胰蛋白胨大豆琼脂平板,然后接种 GN 鉴定卡进行系统生化鉴定^[6-7],鉴定为沙门菌的菌株进行血清学分型。选用沙门菌多价菌体抗原(O)血清做玻片凝集试验,同时用生理盐水做对照,血清凝集者再选用菌体抗原单价血清凝集,菌体抗原确定后,依次用相应的 H 因子血清凝集第一相和第二相抗原,确定第一相 H 抗原后通过位相诱导来确定第二相 H 抗原,第二相 H 抗原未凝集者,使用软琼脂进行诱导,诱导 3 次依然不凝集者再结合细菌全基因组测序数据预测分析血清型,最后根据以上鉴定结果查 White. Kauffmann. LeMinor 的抗原表(第 9 版)^[8],确定血清型别。

1.2.2 药物敏感性试验

使用微量肉汤稀释法,从 TSA 平皿中挑取 3~5 个菌落,并使用比浊仪将浓度调节至 0.5 麦氏浊度,随后将 10 μL 菌悬液加入到 11 mL 的 CAMHBT 肉汤中,制备试验用菌悬液,接下来将 50 μL 的菌悬液加入到包含 15 种抗菌药物的 96 孔药敏板中的每个孔中,最后将药敏板放置于 36 °C 恒温培养箱中培养 24 h,并记录试验结果。记录每一种抗菌药物抑制细菌生长的 MIC 值。参照美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)标准进行判读,结果为敏感、中介、耐药。

氨苄西林(Ampicillin, AMP)、氨苄西林/舒巴坦

(Ampicillin-Sulbactam, AMS)、头孢唑啉(Cefazolin, CFZ)、头孢噻肟(Cefotaxime, CTX)、头孢他啶(Ceftazidime, CAZ)、头孢西丁(Cefoxitin, CFX)、氨曲南(Aztreonam, AZM)、亚胺培南(Imipenem, IPM)、庆大霉素(Gentamicin, GEN)、四环素(Tetracycline, TET)、氯霉素(Chloramphenicol, CHL)、多黏菌素(Polymyxin, CT)、复方新诺明(Sulfamethoxazole, SXT)、萘啶酸(Nalidixic acid, NAL)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)。

1.2.3 脉冲场凝胶电泳分型分析

按照国际食源性致病菌病原细菌分子分型监测网络 PulseNet 中沙门菌脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)分型的标准操作方法进行^[9]。首先,将新鲜菌株悬浊于盛有 1 mL 细胞悬浊液(Cell suspension buffer, CSB),调整细胞悬液浓度至 4.0~4.5,接下来,将菌悬液包埋在 1% 的 SeaKem Gold 琼脂糖中制成胶块,另加入含有 25 μ L 蛋白酶 K(20 mg/mL)的细胞裂解液(Cell lysis buffer, CLB)进行裂解,然后使用 *Xba* I 酶,对每个胶块在 37 $^{\circ}$ C 水浴箱内进行 3 h 的酶切,菌株 H9812 作为分子质量标准。电泳条件设置为:电压梯度 6 V/cm,

电泳夹角 120 $^{\circ}$,脉冲时间范围为 2.16~63.8 s,电泳时间为 18.3 h。电泳完成后,使用 GelRed 染色 30 min 后再进行纯水脱色。最后,将凝胶成像仪中获得的图像转换为 TIFF 图像格式。

1.3 统计学分析

用 BioNumerics 7.6 软件对 PFGE 结果进行分析,采用了非加权配对算术平均(Unweighted pair group average method, UPGMA)法进行聚类,构建聚类树^[10]。采用 SPSS 26.0 软件对 2017—2021 年温州市腹泻患者沙门菌耐药率进行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 沙门菌感染腹泻患者性别年龄分布情况

2017—2021 年,温州市 567 例沙门菌感染腹泻患者中,男性 326 人,女性 241 人,分别占 57.5% 和 42.5%,同时不同年份的男性均多于女性。而不同年龄组在不同年份也均检出沙门菌,其中感染腹泻患者中以 6 岁以下的儿童为主,共分离出 119 株沙门菌,占 21.0%;其次为 60 岁以上的老年人,共分离出 111 株沙门菌,占 19.6%。具体分布情况见表 1。

表 1 2017—2021 年温州市不同性别和年龄组在不同年份感染沙门菌的分布情况

| 沙门菌分布特点 | | 2017年 | 2018年 | 2019年 | 2020年 | 2021年 | 合计 |
|-----------------|--------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| 不同性别菌株数(构成比/%) | 男 | 62(62.0) | 44(56.4) | 65(59.1) | 74(57.4) | 81(54.0) | 326(57.5) |
| | 女 | 38(38.0) | 34(43.6) | 45(40.9) | 55(42.6) | 69(46.0) | 241(42.5) |
| | 0~6岁 | 31(31.0) | 14(18.0) | 34(30.9) | 13(10.1) | 27(18.0) | 119(21.0) |
| | 7~17岁 | 2(2.0) | 7(9.0) | 8(7.3) | 6(4.7) | 6(4.0) | 29(5.1) |
| 不同年龄组菌株数(构成比/%) | 18~30岁 | 15(15.0) | 7(9.0) | 10(9.1) | 22(17.1) | 22(14.7) | 76(13.4) |
| | 31~40岁 | 12(12.0) | 10(12.8) | 13(11.8) | 23(17.8) | 20(13.3) | 78(13.8) |
| | 41~50岁 | 11(11.0) | 8(10.3) | 12(10.9) | 19(14.7) | 25(16.7) | 75(12.3) |
| | 51~60岁 | 10(10.0) | 12(15.4) | 17(15.5) | 19(14.7) | 21(14.0) | 79(13.9) |
| | >60岁 | 19(19.0) | 20(25.6) | 16(14.6) | 27(20.9) | 29(19.3) | 111(19.6) |

2.2 沙门菌血清学分型情况

采用传统沙门血清型分型方法对 567 株沙门菌进行血清学分型,共检出 50 种血清型,鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌、伦敦沙门菌和鼠伤寒沙门菌单相变种(血清型:1,4,[5],12:i:-)为优势血清型。鼠伤寒沙门菌 190 株,构成比为 33.5%,其余 3 种优势血清型分别为 23.6%、9.9% 和 5.8%,说明这 4 种血清型是引起食源性疾病沙门菌感染最主要的血清型。而其他各类型菌株数量都较少,血清型构成比均为 5.0% 以下。具体血清型分布结果见表 2。

2.3 药敏试验结果及耐药谱情况

2.3.1 药物敏感试验

567 株沙门菌对 15 种抗菌药物均存在一定程度的耐药性,其中对氨苄西林耐药率最高,为 73.5%;其次是四环素、头孢唑啉,耐药率分别为

63.3%、51.9%,对其他类别的抗菌药物耐药率均低于 50%。而排在前 4 位的优势血清型菌株耐药结果显示对氨苄西林/舒巴坦($\chi^2=28.251, P < 0.05$)、头孢噻肟($\chi^2=17.349, P < 0.05$)、头孢他啶($\chi^2=16.493, P < 0.05$)、头孢西丁($\chi^2=8.621, P < 0.05$)、氨曲南($\chi^2=10.493, P < 0.05$)、庆大霉素($\chi^2=131.873, P < 0.05$)、四环素($\chi^2=143.821, P < 0.05$)、氯霉素($\chi^2=89.389, P < 0.05$)、黏菌素($\chi^2=208.639, P < 0.05$)、复方新诺明($\chi^2=84.485, P < 0.05$)、萘啶酸($\chi^2=138.076, P < 0.05$)和环丙沙星($\chi^2=44.562, P < 0.05$)等 12 种抗菌药物的耐药率差异均有统计学意义,说明存在一定差异性,具有不同程度的耐药性。具体内容详见表 3。

2.3.2 耐药谱情况

药敏结果显示,567 株沙门菌对 15 种抗菌药物共产生 178 种耐药谱,而多重耐药率(耐 3 类及以

表2 2017—2021年温州市567株食源性沙门菌血清型分布情况
Table 2 Distribution of foodborne *Salmonella* serotypes in Wenzhou City from 2017 to 2021

| 血清型 | 菌株数/株 | 构成比/% | 血清型 | 菌株数/株 | 构成比/% |
|------------|-------|-------|----------|-------|-------|
| 鼠伤寒沙门菌 | 190 | 33.5 | 维尔肖沙门菌 | 2 | 0.4 |
| 肠炎沙门菌 | 134 | 23.6 | 阿西纳沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 伦敦沙门菌 | 56 | 9.9 | 奥里翁沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 鼠伤寒沙门菌单相变种 | 33 | 5.8 | 波摩那沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 德尔卑沙门菌 | 25 | 4.4 | 布伦登卢普沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 罗森沙门菌 | 20 | 3.5 | 恩多洛沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 黄金海岸沙门菌 | 13 | 2.3 | 法埃德沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 婴儿沙门菌 | 10 | 1.8 | 格莱地沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 汤卜逊沙门菌 | 6 | 1.1 | 凯杜古沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 乙型副伤寒沙门菌 | 6 | 1.1 | 兰伯赫斯特沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 阿贡纳沙门菌 | 5 | 0.9 | 利奇菲尔德沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 肯塔基沙门菌 | 5 | 0.9 | 迈阿密沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 病牛沙门菌 | 5 | 0.9 | 明尼苏达沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 达布沙门菌 | 4 | 0.7 | 莫拉德沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 科瓦利斯沙门菌 | 4 | 0.7 | 姆班达卡沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 火鸡沙门菌 | 4 | 0.7 | 纽波特沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 吉韦沙门菌 | 3 | 0.5 | 纽兰沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 明斯特沙门菌 | 3 | 0.5 | 浦那沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 慕尼黑沙门菌 | 3 | 0.5 | 萨雷甲尼沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 甲型副伤寒沙门菌 | 2 | 0.4 | 山夫登堡沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 卡劳沙门菌 | 2 | 0.4 | 斯坦利沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 圣保罗沙门菌 | 2 | 0.4 | 瓦那塔沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 旺兹沃思沙门菌 | 2 | 0.4 | 温斯顿II沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 韦太夫雷登沙门菌 | 2 | 0.4 | 爪哇纳沙门菌 | 1 | 0.2 |
| 猪霍乱沙门菌 | 2 | 0.4 | 约翰内斯堡沙门菌 | 1 | 0.2 |

表3 2017—2021年温州市沙门菌药敏试验结果

Table 3 Results of *Salmonella* drug susceptibility test in Wenzhou City from 2017 to 2021

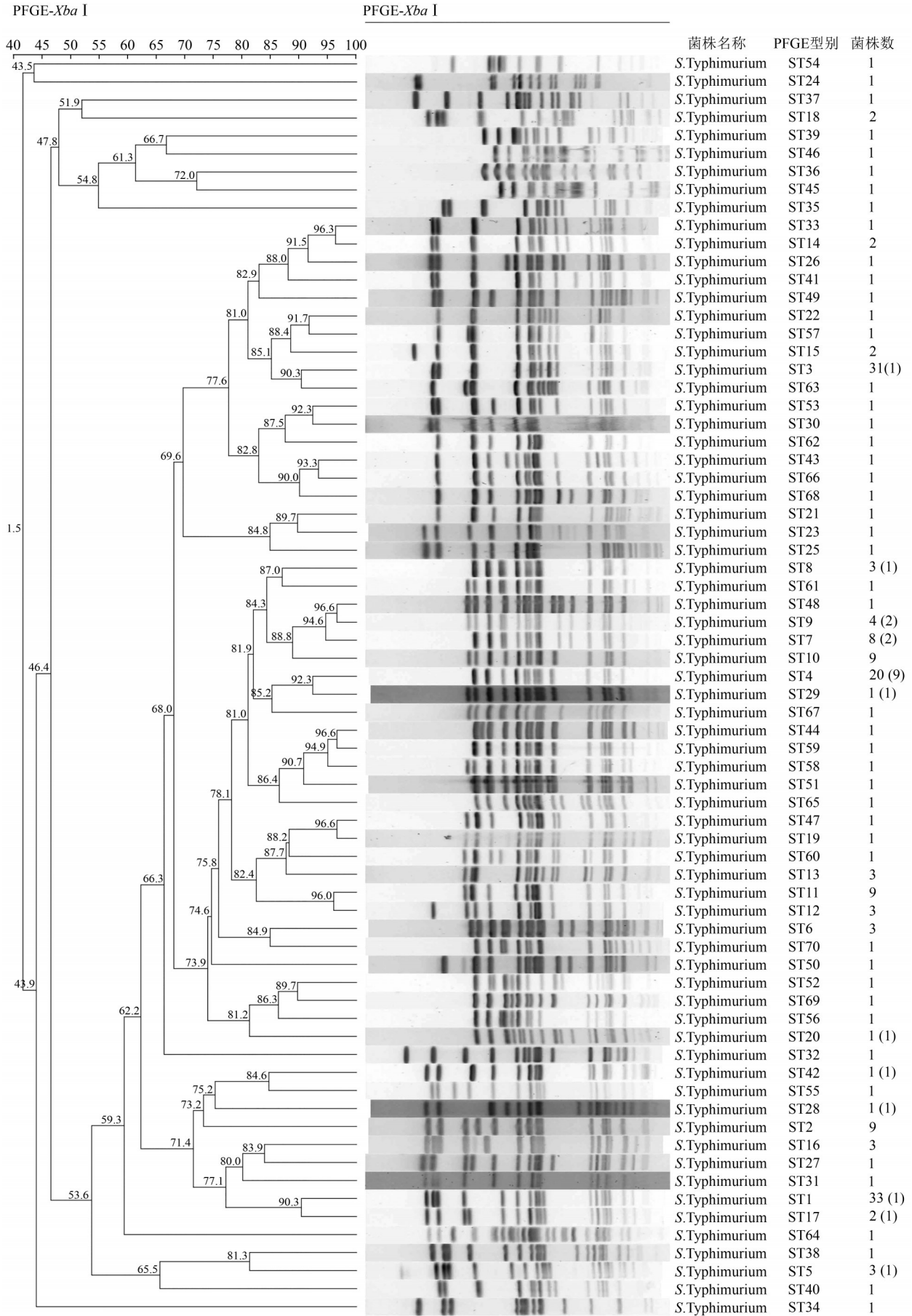
| 抗生素种类 | 抗生素 | 缩写 | 沙门菌耐药情况/(菌株数) | | | | 鼠伤寒沙门菌单相变种(<i>n</i> =33) |
|--------|----------|-----|---------------|------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------------|
| | | | 总耐药率 | 鼠伤寒沙门菌(<i>n</i> =190) | 肠炎沙门菌(<i>n</i> =134) | 伦敦沙门菌(<i>n</i> =56) | |
| β-内酰胺类 | 氨苄西林 | AMP | 73.5(417) | 81.6(155) | 84.3(113) | 80.4(45) | 81.8(27) |
| | 氨苄西林/舒巴坦 | AMS | 46.9(266) | 42.1(80) | 71.6(96) | 57.1(32) | 48.5(16) |
| | 头孢唑啉 | CFZ | 51.9(294) | 52.6(100) | 64.9(87) | 51.8(29) | 57.6(19) |
| | 头孢噻肟 | CTX | 11.1(63) | 9.5(18) | 6.0(8) | 10.7(6) | 30.3(10) |
| | 头孢他啶 | CAZ | 9.2(52) | 6.8(13) | 3.7(5) | 10.7(6) | 24.2(8) |
| | 头孢西丁 | CFX | 7.6(43) | 7.9(15) | 1.5(2) | 8.9(5) | 12.1(4) |
| | 氨曲南 | AZM | 10.1(57) | 7.9(15) | 6.0(8) | 19.6(11) | 15.2(5) |
| | 亚胺培南 | IPM | 1.8(10) | 2.1(4) | 1.5(2) | 1.8(1) | 0.0(0) |
| 氨基糖苷类 | 庆大霉素 | GEN | 14.1(80) | 6.8(13) | 5.2(7) | 66.1(37) | 21.2(7) |
| 四环素类 | 四环素 | TET | 63.3(359) | 84.2(160) | 25.4(34) | 82.1(46) | 93.9(31) |
| 氯霉素类 | 氯霉素 | CHL | 38.1(216) | 42.6(81) | 11.2(15) | 82.1(46) | 42.4(14) |
| 多肽类 | 黏菌素 | CT | 23.0(130) | 10(19) | 76.9(103) | 85.7(48) | 6.1(2) |
| 磺胺类 | 复方新诺明 | SXT | 34.6(196) | 37.9(72) | 8.2(11) | 75.0(42) | 30.3(10) |
| 喹诺酮类 | 萘啶酸 | NAL | 46.6(264) | 40.5(77) | 95.5(128) | 23.2(13) | 27.3(9) |
| | 环丙沙星 | CIP | 20.8(118) | 25.3(48) | 6.0(8) | 48.2(27) | 18.2(6) |

上抗菌药物)为62.6%(355/567),高于2019年NARMS报告中所描述的10%^[11]。最常见的多重耐药谱为AMP-AMS-CFZ-CT-NAL,占多重耐药谱的9.6%(34/355),详见表4。而鼠伤寒沙门菌多重耐药率为64.2%(122/190),有47种多重耐药谱;肠炎沙门菌多重耐药率为70.2%(94/134),含30种耐药谱;伦敦沙门菌多重耐药率为80.4%(45/56),有25种耐药谱;鼠伤寒沙门菌单相变种多重耐药率为45.5%(15/33),含14种耐药谱;德尔卑沙门菌多重耐药率为68.0%(17/25),含7种耐药谱。

表4 2017—2021年温州市沙门菌多重耐药谱

Table 4 Multi-drug resistance spectrum of *Salmonella* strains in Wenzhou City from 2017 to 2021

| 多重耐药谱编号 | 多重耐药谱 | 菌株数 |
|---------|---------------------------------|-----|
| A1 | AMP-AMS-CFZ-CT-NAL | 34 |
| A2 | AMP-AMS-CFZ-CT-NAL-TET | 17 |
| A3 | AMP-CHL-SXT-TET | 17 |
| A4 | AMP-NAL-TET | 15 |
| A5 | AMP-AMS-CFZ-CHL-SXT-TET | 12 |
| A6 | AMP-CFZ-CHL-SXT-TET | 11 |
| A7 | AMP-AMS-CFZ-CHL-CIP-SXT-TET | 10 |
| A8 | AMP-AMS-CFZ-CHL-CIP-NAL-SXT-TET | 10 |
| A9 | AMP-SXT-TET | 7 |
| A10 | AMP-CFZ-NAL-TET | 7 |



注:括号中数字代表鼠伤寒沙门菌单相变种菌株数

图1 201株鼠伤寒沙门菌(包含鼠伤寒沙门菌单相变种)PFGE聚类分析图

Figure 1 PFGE cluster analysis of 201 strains of *Salmonella typhimurium* (including its monophasic 1,4,[5],12:i:- variants)

2.4 沙门菌 PFGE 分子分型与聚类结果

对 190 株鼠伤寒沙门菌以及 33 株鼠伤寒沙门菌单相变种进行分子分型分析,由于细菌本身携带有降解酶,只有 179 株鼠伤寒沙门菌和 22 株鼠伤寒沙门菌单相变种产生 PFGE 条带,考虑到它们的同源性,因此一起进行聚类分析,最后 201 株鼠伤寒沙门菌(包含鼠伤寒沙门菌单相变种)共产生 70 种带型,带型差异度较大,相似度在 1.5%~100% 之间,将这些带型编号为 ST1~ST70 型,其中 ST1 型最多有 33 株,ST3 型有 31 株,ST4 型有 20 株。而 22 株鼠

伤寒沙门菌单相变种以 ST4 型最为多见,包含 9 株。ST7 型和 ST9 型各含 2 株,剩余 9 株分布于 9 种 ST 型。具体内容详见图 1。此外,134 株肠炎沙门菌中,只有 127 株肠炎沙门菌产生 PFGE 条带共产生 32 种带型,相似度在 35.8%~100% 之间,大部分菌株相似度都较高>81.4%,其中 SE8 型为优势带型有 51 株,SE14 型有 16 株,SE7 型有 15 株。具体内容详见图 2。对 56 株伦敦沙门菌进行分子分型,只有 50 株伦敦沙门菌产生 PFGE 条带共产生 24 种带型,相似度在 40.0%~100% 之间。具体内容详见图 3。

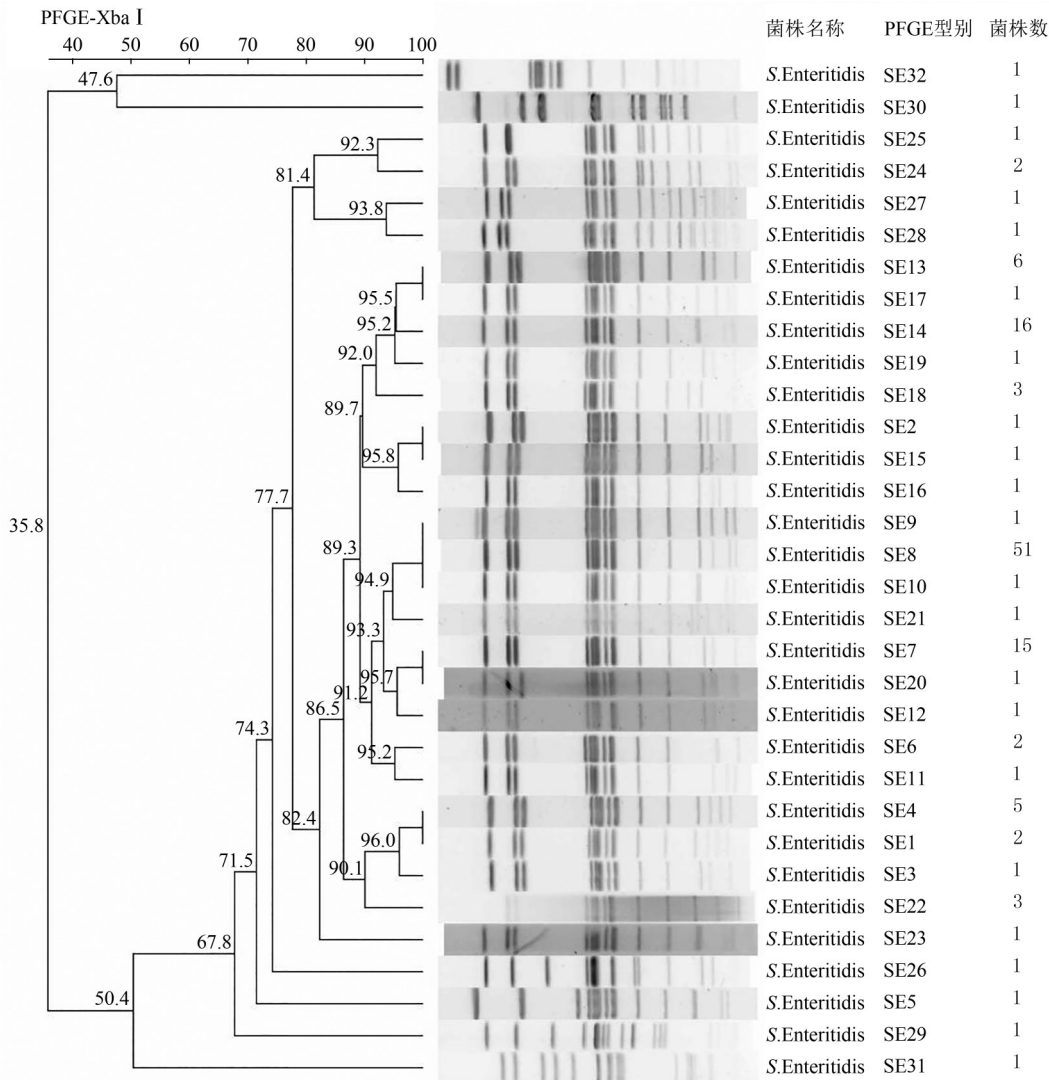


图 2 127 株肠炎沙门菌 PFGE 聚类分析图

Figure 2 PFGE cluster analysis of 127 strains of *Salmonella enteritidis*

3 讨论

沙门菌被广泛认为是全世界范围内主要的食源性致病菌之一。2015 年,WHO 将沙门菌列为引起严重病症以及死亡的食源性病原体^[12]。据统计,中国每年有 987 万例肠胃炎由沙门菌引起^[13]。本研究分析了 2017—2021 年间温州市 567 例沙门菌感

染患者年龄性别分布特征,6 岁以下的儿童和 60 岁以上的老年人分布最多,这可能与婴幼儿免疫力低下,没有养成良好的个人卫生习惯,而 60 岁以上的老年人多有基础病,自理能力下降,抵抗力弱易造成感染,因此应加强对婴幼儿及老年人沙门菌感染的关注。567 株沙门菌共获得 50 种血清型,其中鼠

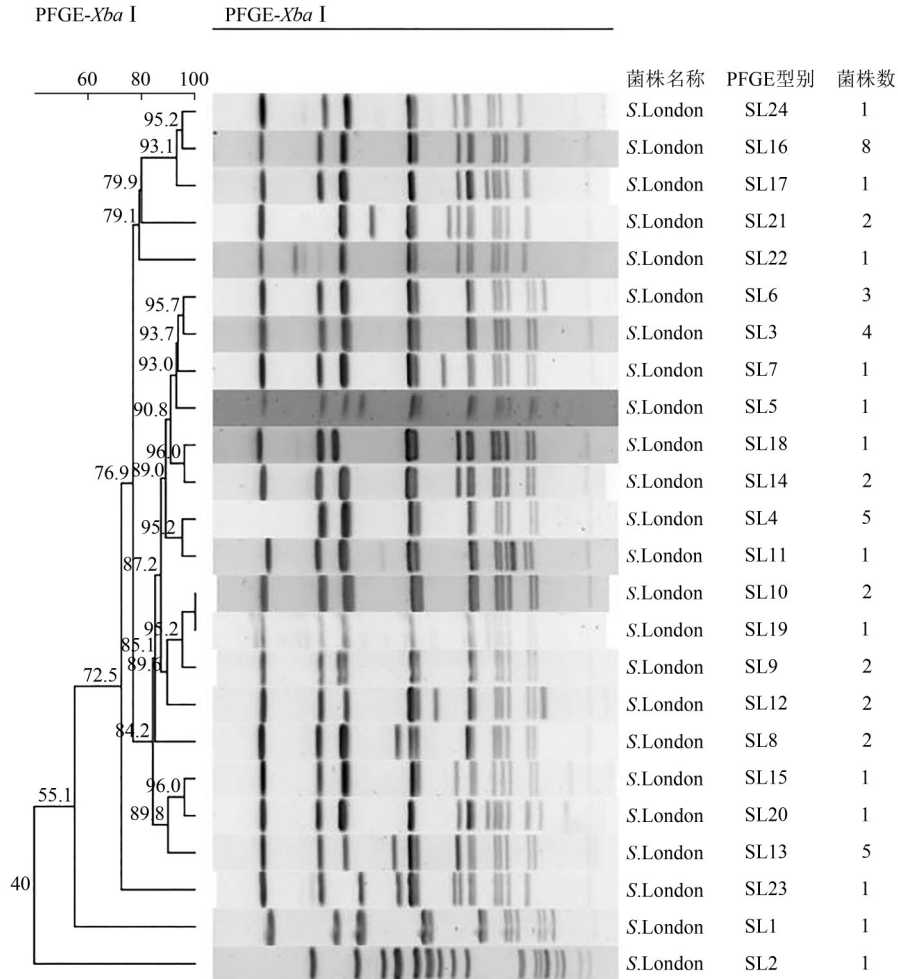


图3 50株伦敦沙门菌PFGE聚类分析图

Figure 3 PFGE cluster analysis of 50 strains of *Salmonella london*

伤寒沙门菌、肠炎沙门菌和伦敦沙门菌是温州市优势血清型,与海宁市^[14]和湖州市^[15]沙门菌检出血清型一致,与郴州市略有差异,郴州市第3优势菌为德尔卑沙门菌^[16],而芜湖市最为主要的优势血清型为肠炎沙门菌^[17]。值得关注的是鼠伤寒沙门菌单相变种目前被认为是导致全球人类沙门菌病的主要血清型之一,在各类分离样本中占据主导地位,如葡萄牙和意大利在调查研究中分别分离出436和89株鼠伤寒沙门菌单相变种^[18-19],检出率远高于本研究,提示感染样本可能存在地域差异。

药敏试验结果显示,温州市沙门菌多重耐药率高达62.6%,主要对β-内酰胺类、喹诺酮类以及四环素类产生耐受,然而对于同类别中的不同药物,沙门菌分离株的耐药率存在一定差异性,如β-内酰胺类抗菌药物中除氨苄西林/舒巴坦、氨苄西林、头孢唑啉之外,沙门菌普遍对其他药物敏感,这与绍兴市结果一致^[20];而在喹诺酮类抗菌药物中,对萘啶酸耐药率较高但对环丙沙星多数敏感,该研究结果表明在临床治疗沙门菌感染疾病时,应合理选择敏感性抗菌药物。值得关注的是,环丙沙星虽然被

作为沙门菌抗感染一线抗菌药物,但是温州市分离株对环丙沙星(20.8%)的耐药率高于美国2019年国家抗生素耐药监测综合报告所述水平的11%^[11],也高于南充市环丙沙星的耐药率(2.91%)^[21]、广州市耐药率(6.2%)^[3],但低于泰州市耐药率(23.7%)^[22],说明其耐药率有较为显著的地域差异性。目前,氟喹诺酮类药物通常用于治疗非伤寒沙门菌感染^[23],而第三代头孢菌素被认为是治疗沙门菌感染的替代药物,这些药物都是用于治疗沙门菌感染的一线药物,但是第三代头孢菌素和氟喹诺酮类药物的共同耐药情况已经成为一个主要的公共卫生问题^[24]。本研究的567株沙门菌中有190株对喹诺酮类药物和头孢菌素类药物共同耐药,这些多重耐药病原菌株的出现和大量传播将对全球公共卫生造成严重危害,从而给临床治疗带来新的挑战。

食源性致病细菌病原细菌PFGE在全球被认为是致病菌分子分型传染病研究的金标准,基于其重复性佳、结果稳定且易于标准化的优点,已经成为致病菌流行病学溯源以及实验室调查的标准方法。本研究结果表明PFGE带型呈现多样性,同时又有

着优势带型特点,其中鼠伤寒沙门菌(包含鼠伤寒沙门菌单相变种)和伦敦沙门菌带型之间差异较大,而肠炎沙门菌指纹图谱具有较高同源性。鼠伤寒沙门菌(包含鼠伤寒沙门菌单相变种)的ST1型、ST3型、ST4型条带以及肠炎沙门菌的SE8型条带相同株数均大于20株,提示在日常监测和分析中,对分离病原菌进行分子分型的比较,若发现来自不同患者菌株具有一致的遗传特征,则提示可能存在共同暴露,可能有暴发。鼠伤寒沙门菌单相变种并未因其血清型的特异性从而表达特殊条带型别,而是分散于鼠伤寒沙门菌不同ST型内,提示沙门菌DNA中的特定基因或序列具有保守型,虽然属于同一物种的不同亚种,但其基因组水平存在一定同源性。近年来,食源性疾病沙门菌感染通常以散发为主,因此对其进行分子分型鉴定并以当地实验室分型结果为基准建立本地数据库,对追溯食源性疾病的暴发传染源具有重大意义。

综上所述,在我国食品安全风险监测中,应对沙门菌给予高度重视,以期提升食品安全风险的早期识别能力,避免发生相关食源性疾病。不同血清型的检出率差异可能是由于各型沙门菌在不同地区的分布特征有关。为了完善血清分型数据库,研究人员今后应通过深入探索其表面抗原特性,寻找新的可能抗原结构,扩充血清试剂种类,改进检测技术,进一步提升沙门菌血清学监测能力,从而更有效地进行临床实践指导。建立健全有效的病原菌耐药监测体系,构建全面的病原菌分子分型技术数据库,及时分析和共享细菌相关监测数据,将对病原菌的追根溯源具有更加精准高效的作用,以便进一步指导医疗部门合理规范使用抗菌药物。因此,在今后的研究方向中,要着重把握沙门菌的耐药机制,同时结合温州市沙门菌的耐药特点,制定有针对性的预防控制措施。

参考文献

- [1] 柳增善,任洪林,孙鸿斌.食品病原微生物学[M].北京:科学出版社,2015.
LIU Z S, REN H L, SUN H B. Food pathogenic microbiology [M]. Beijing: Science Press, 2015.
- [2] LI Y J, YANG Y F, ZHOU Y J, et al. Estimating the burden of foodborne gastroenteritis due to nontyphoidal *Salmonella enterica*, *Shigella* and *Vibrio parahaemolyticus* in China[J]. PLoS One, 2022, 17(11): e0277203.
- [3] 陈思婷,冯峰,杜利军,等.2016—2020年广州市花都区沙门菌流行病学及药敏分析[J].中国食品卫生杂志,2021,33(5):565-570.
CHEN S T, FENG F, DU L J, et al. Epidemiology and drug susceptibility analysis of *Salmonella* in Huadu district, Guangzhou, 2016—2020 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(5): 565-570.
- [4] FIRESTONE M, HEDBERG C. Restaurant inspection letter grades and *Salmonella* infections, New York, USA[J]. Emerging Infectious Diseases, 2018, 24(12): 2164-2168.
- [5] YOSHIKURA H. Declining *Vibrio parahaemolyticus* and *Salmonella*, increasing *Campylobacter*. and persisting *Norovirus* food poisonings: Inference derived from food poisoning statistics of Japan [J]. Japanese Journal of Infectious Diseases, 2019, 73(2): 102-110.
- [6] 中华人民共和国卫生和计划委员会.食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验:GB 4789.4—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
Health and Planning Commission of the People's Republic of China. National standard for food safety microbiology testing of food *Salmonella* testing: GB 4789.4—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.
- [7] 中华人民共和国卫生部.感染性腹泻诊断标准:WS 271—2007[S].北京:人民卫生出版社,2007.
Ministry of Health of the People's Republic of China. Diagnostic criteria for infectious diarrhea: WS 271—2007 [S]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007.
- [8] 朱超,许学斌.沙门菌属血清型诊断[M].上海:同济大学出版社,2009:145-292.
ZHU C, XU X B. Serotype diagnosis of *Salmonella* [M]. Shanghai: Tongji University Press, 2009: 145-292.
- [9] RIBOT E M, FAIR M A, 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.
- [10] DICE LR. Measures of the amount of ecological association between species[J]. Ecology, 1945, 26(3): 297-302.
- [11] The Food and Drug Administration, Centers for Disease Control and Prevention. 2019 NARMS update: Integrated report summary [EB/OL]. [2023-05-09]. <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/2019-narms-update-integrated-report-summary>.
- [12] GODÍNEZ-OVIEDO A, TAMPLIN M L, BOWMAN J P, et al. *Salmonella enterica* in Mexico 2000—2017: Epidemiology, antimicrobial resistance, and prevalence in food[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2020, 17(2): 98-118.
- [13] ID X W, YOU L, WANG D, et al. Antimicrobial resistance and molecular genotyping of *Salmonella enterica* serovar enteritidis clinical isolates from Guizhou province of southwestern China [J]. PLoS One, 2019, 14(9): e0221492.
- [14] 李敏超,宋丽君,陆国飞,等.2014—2023年浙江省海宁市食源性疾病病原体感染特征分析[J/OL].上海预防医学,2024,36(7):1-13.
LI M C, SONG L J, LU G F, et al. Pathogen infection characteristics of foodborne diseases in Haining, Zhejiang Province from 2014 to 2023 [J/OL]. Shanghai Preventive Medicine, 2024, 36(7): 1-13.
- [15] 吴晓芳,徐德顺,纪蕾,等.2018—2020年浙江省湖州市食源性疾病监测结果分析[J].疾病监测,2021,36(9):958-962.
WU X F, XU D S, JI L, et al. Surveillance results of foodborne

- diseases in Huzhou city, Zhejiang province from 2018 to 2020 [J]. *Disease Surveillance*, 2018, 36(9): 958-962.
- [16] 刘勋, 谭文艳, 周亮, 等. 2017—2019年郴州市食源性疾病主动监测病原学特征及耐药分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2023, 35(12): 1792-1798.
- LIU X, TAN W Y, ZHOU L, et al. Etiological characteristics and drug resistance analysis of active surveillance of foodborne diseases in Chenzhou City from 2017 to 2019 [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2019, 35(12): 1792-1798.
- [17] 殷盼盼, 高朋, 胡铃琳, 等. 芜湖市腹泻患者沙门菌 PFGE 分子分型及耐药特征研究[J]. *安徽预防医学杂志*, 2024, 30(3): 204-208.
- YIN P P, GAO P, HU L L, et al. Molecular typing and drug resistance characteristics of salmonella PFGE in diarrhea patients in Wuhu city [J]. *Anhui Journal of Preventive Medicine*, 2024, 30(3): 204-208.
- [18] CAMPOS J, CRISTINO L, PEIXE L, et al. MCR-1 in multidrug-resistant and copper-tolerant clinically relevant *Salmonella* 1, 4, [5], 12: i: - and *S. Rissen* clones in Portugal, 2011 to 2015 [J]. *Eurosurveillance*, 2016, 21(26): 30270.
- [19] PROROGA YTR, MANCUSI A, PERUZY MF, et al. Characterization of *Salmonella typhimurium* and its monophasic variant 1, 4, [5], 12: i: - isolated from different sources[J]. *Folia Microbiol (Praha)*, 2019, 64(6): 711-718.
- [20] 张琴超, 陈金堃, 陈吉铭, 等. 2017—2019年绍兴市沙门菌病人分离株的耐药性与分子分型分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2021, 33(5): 542-548.
- ZHANG Q C, CHEN J K, CHEN J M, et al. Drug resistance and molecular typing of *Salmonella* isolates from Shaoxing city from 2017 to 2019[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2019, 33(5): 542-548.
- [21] 张艳, 胡康, 张帆. 2021—2023年南充市临床腹泻标本沙门菌分子分型及耐药性分析[J/OL]. *寄生虫病与感染性疾病*, 1-7.
- ZHANG Y, HU K, ZHANG F. Molecular typing and drug resistance analysis of *Salmonella* in clinical diarrhea samples from Nanchong City, 2021—2023[J/OL]. *Parasitic and Infectious Diseases*, 1-7.
- [22] 蔡彦秋, 马智龙. 泰州市2016—2020年食源性腹泻患者沙门菌感染状况及耐药性分析[J]. *江苏预防医学*, 2022, 33(2): 194-196.
- CAI Y Q, MA Z L. Analysis of salmonella infection status and drug resistance in food-borne diarrhea patients in Taizhou from 2016 to 2020 [J]. *Jiangsu Preventive Medicine*, 2022, 33(2): 194-196.
- [23] ALDRED K J, KERNS R J, OSHEROFF N. Mechanism of quinolone action and resistance [J]. *Biochemistry*, 2014, 53(10): 1565-1574.
- [24] BURKE L, HOPKINS K L, MEUNIER D, et al. Resistance to third-generation cephalosporins in human non-typhoidal *Salmonella enterica* isolates from England and Wales, 2010-12[J]. *Antimicrob Chemother*, 2014, 69(4): 977-981.

(上接第773页)

匡 华(江南大学食品学院)

朱心强(浙江大学医学院)

刘 弘(上海市疾病预防控制中心)

刘长青(河北省疾病预防控制中心)

刘成伟(江西省疾病预防控制中心)

刘兆平(国家食品安全风险评估中心)

刘守钦(济南市疾病预防控制中心)

刘烈刚(华中科技大学公共卫生学院)

刘爱东(国家食品安全风险评估中心)

孙长颢(哈尔滨医科大学)

李 宁(国家食品安全风险评估中心)

李 黎(中华预防医学会)

李凤琴(国家食品安全风险评估中心)

李业鹏(国家食品安全风险评估中心)

李国梁(陕西科技大学食品与生物工程学院)

李静娜(武汉市疾病预防控制中心)

杨 方(福州海关技术中心)

杨 钧(青海省卫生健康委员会卫生监督所)

杨大进(国家食品安全风险评估中心)

杨小蓉(四川省疾病预防控制中心)

杨杏芬(南方医科大学公共卫生学院)

肖 荣(首都医科大学公共卫生学院)

吴永宁(国家食品安全风险评估中心)

何更生(复旦大学公共卫生学院)

何来英(国家食品安全风险评估中心)

何洁仪(广州市疾病预防控制中心)

赵贵明(中国检验检疫科学研究院)

钟 凯(科信食品与营养信息交流中心)

姜毓君(东北农业大学食品学院)

聂俊雄(常德市疾病预防控制中心)

贾旭东(国家食品安全风险评估中心)

徐 娇(国家卫生健康委员会食品标准与监测评估司)

徐海滨(国家食品安全风险评估中心)

高志贤(军事科学院军事医学研究院)

郭云昌(国家食品安全风险评估中心)

郭丽霞(国家食品安全风险评估中心)

唐振柱(广西壮族自治区疾病预防控制中心)

黄 薇(深圳市疾病预防控制中心)

黄锁义(右江民族医学院药学院)

常凤启(河北省疾病预防控制中心)

崔生辉(中国食品药品检定研究院)

章 宇(浙江大学生物工程与食品学院)

章荣华(浙江省疾病预防控制中心)

梁进军(湖南省疾病预防控制中心)

程树军(广州海关技术中心)

傅武胜(福建省疾病预防控制中心)

谢剑炜(军事科学院军事医学研究院)

赖卫华(南昌大学食品学院)

裴晓方(四川大学华西公共卫生学院)

廖兴广(河南省疾病预防控制中心)

熊丽蓓(上海市疾病预防控制中心)

樊永祥(国家食品安全风险评估中心)