

• 论 著 •

2019—2022 年重庆市南岸区人源和食源性沙门菌分型及药敏特征分析^{*}李彩云,殷 静,龚玲玉,周思雨,罗 益,冯 莉,宗 华[△]

重庆市南岸区疾病预防控制中心微生物检验科,重庆 401336

摘要:目的 了解重庆市南岸区从食品和腹泻患者粪便标本中分离的沙门菌血清型、分子分型及药敏特征。**方法** 对重庆市南岸区 2019—2022 年分离自食品和腹泻患者粪便标本的 71 株沙门菌进行血清分型,用微量肉汤稀释法测定菌株的耐药性,对 2 株肯塔基沙门菌进行多位点序列(MLST)分型,对鼠伤寒沙门菌(8 株)及其单相变种(2 株)进行全基因组测序。**结果** 71 株沙门菌包括 13 种血清型,腹泻患者粪便标本中检出沙门菌 48 株,以鼠伤寒沙门菌(56.25%,27/48)和肠炎沙门菌(18.75%,9/48)为主;食品中检出沙门菌 23 株,以里森沙门菌(26.09%,6/23)为主。71 株沙门菌总耐药率为 97.18%,耐药率最高的为氨苄西林(69.01%),其次是四环素(64.79%)、复方磺胺甲噁唑(43.66%)和氯霉素(43.66%)。多重耐药菌株所占比例为 61.97%(44/71),其中腹泻患者粪便标本分离株多重耐药率为 60.42%(29/48),食品分离株多重耐药率为 65.22%(15/23)。食品和腹泻患者中检出的 2 株肯塔基沙门菌耐药种类数分别为 7 类和 8 类,在相应标本中耐药种类数最多,MLST 分型均为 ST198 型。选择测序的 8 株鼠伤寒沙门菌 MLST 分型均是 ST19,2 株鼠伤寒沙门菌单相变种均是 ST34,同一 ST 型的鼠伤寒沙门菌亲缘关系还是有差别。**结论** 重庆市南岸区沙门菌血清型具有多样性,耐药现象严重,检出 ST198 型肯塔基沙门菌,应用全基因组数据分析遗传特征比 MLST 分型方法更为精准,应加强辖区沙门菌血清型、分子分型和耐药性监测。

关键词:沙门菌; 血清型; 耐药性; 多位点序列分型; 全基因组测序

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.12.007

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2024)12-1442-07

文献标志码:A

**Genotyping and antimicrobial susceptibility characteristics of human and foodborne
Salmonella in Nan'an District of Chongqing from 2019 to 2022^{*}**

LI Caiyun, YIN Jing, GONG Lingyu, ZHOU Siyu, LUO Yi, FENG Li, ZONG Hua[△]

Department of Microbiological Laboratory, Nan'an District Center for Disease Control
and Prevention of Chongqing, Chongqing 401336, China

Abstract: Objective To understand the serotype, molecular typing and drug sensitivity characteristics of *Salmonella* isolated from food and stool samples of diarrhea patients in Nan'an District of Chongqing.

Methods A total of 71 *Salmonella* strains isolated from food and stool samples of diarrhea patients in Nan'an District of Chongqing from 2019 to 2022 were serotyped, and the drug resistance of the strains was determined by the micro-broth dilution method. Multilocus sequence typing (MLST) was performed on 2 *Salmonella* Kentucky strains, and whole genome sequencing was performed on 8 *Salmonella* typhimurium strains and 2 *Salmonella* typhimurium variants. **Results** The 71 strains of *Salmonella* included 13 serotypes. A total of 48 *Salmonella* strains were isolated from stool samples of diarrhea patients, with *Salmonella* typhimurium (56.25%, 27/48) and *Salmonella* enteritidis (18.75%, 9/48) as the main serotypes. A total of 23 *Salmonella* strains were isolated in food samples, with *Salmonella* Rissen (26.09%, 6/23) as the predominant. The total drug resistance rate of 71 strains of *Salmonella* was 97.18%. The highest drug resistance rate was ampicillin (69.01%), followed by tetracycline (64.79%), compound sulfamethoxazole (43.66%) and chloramphenicol (43.66%). The multidrug resistant strains accounted for 61.97% (44/71), including 60.42% (29/48) of stool samples of diarrhea patients and 65.22% (15/23) of food samples. The two *Salmonella* Kentucky strains isolated from food and diarrhea patients were resistant to 7 and 8 types, respectively, with the largest number of drug resistant types in the corresponding samples. The MLST types of both *Salmonella* Kentucky strains was ST198 type. The MLST types of 8 *Salmonella* typhimurium strains selected for sequencing were ST19, and the

* 基金项目:重庆市公共卫生重点专科(学科)建设项目。

作者简介:李彩云,女,主管技师,主要从事病原微生物研究。 △ 通信作者, E-mail:1302421779@qq.com。

MLST types of 2 *Salmonella* typhimurium monophasic variants were ST34. The genetic relationship of *Salmonella* typhimurium with the same ST type was different. **Conclusion** The serotypes of *Salmonella* isolated from Nan'an District of Chongqing are diverse and the drug resistance is serious. The detection of ST198 *Salmonella* Kentucky is more accurate by using whole genome sequencing than MLST. The surveillance of *Salmonella* serotypes, molecular typing and drug resistance should be strengthened.

Key words: *Salmonella*; serotype; drug resistance; multilocus sequence typing; whole genome sequencing

沙门菌感染是一种重要的人畜共患传染病,可导致急性肠胃炎等疾病,给患者造成较重的负担^[1]。据2017年中国食物中毒事件流行特征分析显示,沙门菌是造成食物中毒事件的首位致病因素^[2]。重庆市南岸区近年也有沙门菌引起食物中毒的研究报道^[3],有研究表明食品中肉类、蛋类极易被沙门菌污染,抗菌药物治疗是沙门菌感染的主要手段,而沙门菌中存在不同程度的耐药菌株^[4],目前关于重庆市南岸区食品和腹泻患者粪便中沙门菌血清型分布、分子分型及药敏特征的报道少见,开展此项研究对重庆市南岸区沙门菌感染流行病学调查和临床用药有重要的指导意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2019—2022年重庆市南岸区食品和腹泻患者粪便中检出的沙门菌株。食品标本均在南岸区采集,共分离自食品的菌株有23株,其中2019年分离自食品菌株3株,来源于3件熟肉样品;2020年分离自食品菌株5株,来源于5件生禽肉样品;2021年分离自食品菌株4株,来源于2件生畜肉样品、2件熟肉样品;2022年分离自食品菌株11株,来源于5件调理生肉样品、6件生禽肉样品。腹泻患者粪便标本均来自辖区各区域的哨点医院,共分离出腹泻患者粪便标本的菌株有48株,其中2019年5株,2020年8株,2021年26株,2022年9株。腹泻患者选取标准:24 h内腹泻大便次数≥3次,伴粪便性状异常,如稀便、水样便、黏液便或脓血便等。

1.2 仪器与试剂 VITEK 2 Compact 30 全自动细菌生化鉴定仪购自法国 bioMérieux 公司,AIM 全自动菌液接种仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,T100 Thermal Cycler PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司,E-Gel 电泳仪购自英潍捷基贸易有限公司;TTB 增菌液、SC 增菌液、亚硫酸铋琼脂、木糖醇赖氨酸脱氧胆盐琼脂、沙门菌显色培养基购自青岛高科园海博生物技术有限公司,血琼脂平板购自北京陆桥技术有限公司,沙门血清购自宁波天润有限公司,诱导血清购自泰国 S&A 公司,冻干型细菌定量药敏测试盒(批号:A-5020XS)购自复星诊断科技(上海)有限公司,Premix Ex TaqTM(Probe qPCR)购自宝日医生物技术有限公司(批号:AL20588A),2%的琼脂糖凝胶购自英潍捷基贸易有限公司(批号:U071121-01),细菌核酸提取试剂盒 DC502 购自诺唯赞公司(批号:017E2212FA),文库制备试剂盒 TD502-00 购自诺唯

赞公司(批号:007E12132A),纯化磁珠购自诺唯赞公司(批号:007E2251EA),PCR 产物定量试剂 EQ121-00 购自诺唯赞公司(批号:7E2211EA),miniseq 高通量测序试剂盒(批号:20700129)购自美国 Illumina 公司,引物由北京六合华大基因科技有限公司合成,所有培养基均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 菌株鉴定及血清分型 按照相关标准^[5]中的方法鉴定菌株,经生化试验鉴定为沙门菌后用多价血清及 O、H、Vi 因子做血清凝集,若诱导两代第 2 项血清还是没凝集,确定为二项缺失的血清型。

1.3.2 药敏试验 使用微量肉汤稀释法对 71 株沙门菌进行药敏试验。按照药敏板说明书操作,测试抗菌药物共 17 种,其中 15 种(11 类)根据美国临床和实验室标准协会 2021 年公布的肠杆菌科最小抑菌浓度标准值判断菌株的耐药性,此依据中替加环素和链霉素无判读标准,因此这 2 种抗菌药物未纳入分析。耐 3 类及以上抗菌药物的菌株判定为多重耐药菌株。大肠埃希菌 ATCC25922 作为质控菌株。

1.3.3 多位点序列(MLST)分型 2 株肯塔基沙门菌进行 MLST 分型,选择科克大学(University College Cork,http://mlst. ucc. ie)提供的用于沙门菌属 MLST 实验的 7 对管家基因 thrA、purE、sucA、hisD、aroC、hemD、dnan,其对应的 PCR 扩增及测序引物序列见表 1。PCR 反应总体积为 50 μL:PCR MIX 25 μL,上、下游引物各 2 μL,模板 DNA 2 μL,其余用核酸酶水补足。扩增程序为 94 °C 预变性 5 min,94 °C 预变性 45 s,55 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 1 min,35 个循环,72 °C 再延伸 10 min,扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,观察结果,有大小符合、明亮条带的扩增产物送北京六合华大基因科技有限公司测序,最后将序列上传至 <https://pubmlst.org/> 得到每个菌株相应的等位基因谱,从而确定其 MLST 分型。

1.3.4 全基因组测序 按照细菌核酸提取试剂盒 DC502 的操作说明书进行 10 株沙门菌基因组提取,提取产物使用诺唯赞文库制备试剂盒 TD502-00 进行建库,在 Illumina MiniSeq 平台进行全基因组测序,使用 EDATABOX 服务器的基因分析软件对测序得到的数据进行质控和拼接。拼接得到的数据提交国家致病菌识别网数据库,计算完成后,比对获得预测血清型,并将全基因组数据上传到 pubmlst 网站(<https://pubmlst.org/>)。

tps://pubmlst.org/), 获得 ST、cgMLST、rMLST 型别。wgSNP 分析先使用 kSNP3 筛选主要的单核苷酸多态性(SNP)位点(一半以上的标本具备的位点), 用于 fasttree 构建系统发育树, 再用 R 语言构建最小生成树, 最后用 R 语言 igraph 进行可视化。

表 1 沙门菌属 MLST 分型扩增及测序引物

位点	扩增及测序引物	片段大小 (bp)
aroC	F-CCTGGCACCTCGCGCTATAC	
	R-CCACACACGGATCGTGGCG	826
dnaN	F-ATGAAATTACCGTTAACCGTGA	
	R-AATTCTCATTCGAGAGGATTGC	833
hemD	F-ATGAGTATTCTGATCACCCG	
	R-ATCAGCGACCTTAATATCTTGCCA	666
hisD	F-GAAACGTTCCATTCCGCGCAGAC	
	R-CTGAAACGGTCATCCGTTCTG	894
purE	F-ATGTCTTCCCGCAATAATCC	
	R-TCATAGCGTCCCCGCGGATC	510
sucA	F-AGCACCGAAGAGAACGCTG	
	R-GGTTGTTGATAACGATACGTAC	643
thrA	F-GTCACGGTGATCGATCCGGT	
	R-CACGATATTGATATTAGCCCG	852

注: F 为上游引物, R 为下游引物。

1.4 统计学处理 使用 SPSS25.0 对不同年份沙门

菌耐药性差异、不同来源沙门菌耐药率进行描述性分析, 计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 当计数资料频数 <5 时, 进行 Fisher 精确检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 沙门菌血清分型结果 71 株沙门菌检出 13 种血清型, 以鼠伤寒沙门菌(42.25%, 30/71)和肠炎沙门菌(21.13%, 15/71)为主。腹泻患者粪便标本分离株 48 株, 包括鼠伤寒沙门菌 27 株、肠炎沙门菌 9 株、汤卜逊沙门菌 2 株、鼠伤寒沙门菌单相变种 2 株及肯塔基沙门菌、伦敦沙门菌、火鸡沙门菌、哈达尔沙门菌、黄金海岸沙门菌各 1 株、未分型沙门菌 3 株; 食品分离株 23 株, 包括里森沙门菌 6 株、肠炎沙门菌 6 株、鼠伤寒沙门菌 3 株、伦敦沙门菌 3 株、尼堡沙门菌 2 株及印第安纳沙门菌、肯塔基沙门菌、巴尔多沙门菌各 1 株。

2.2 沙门菌总体药敏结果 71 株沙门菌耐药率最高的为氨苄西林(AMP, 69.01%), 其次是四环素(TET, 64.79%)、复方磺胺甲噁唑(SXT, 43.66%)和氯霉素(CHL, 43.66%)。氨苄西林/舒巴坦(AMS)耐药率为 22.54%, 但中介率较高为 43.66%。所有菌株对美罗培南(MEM)、头孢他啶/阿维巴坦(CZA)、厄他培南(ETP)均敏感。不同年份沙门菌对各种抗菌药物的耐药性差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 2。

表 2 71 株沙门菌耐药情况

项目	抗菌药物	2019 年 (n=8,n)	2020 年 (n=13,n)	2021 年 (n=30,n)	2022 年 (n=20,n)	χ^2	P	合计 (n=71,n)	敏感率 (%)	中介率 (%)	耐药率 (%)
青霉素类	AMP	4	12	20	13	1.68	0.69	49	30.99	0.00	69.01
四环素类	TET	4	11	19	12	2.09	0.58	46	35.21	0.00	64.79
叶酸途径抑制剂	SXT	3	9	9	10	4.74	0.19	31	56.34	0.00	43.66
苯丙醇类	CHL	3	8	9	11	4.93	0.17	31	56.34	0.00	43.66
喹诺酮类和氟喹诺酮类	NAL	1	7	9	9	1.61	0.69	26	63.38	0.00	36.62
	CIP	0	3	3	1	1.76	0.65	7	69.01	20.83	9.86
乳菌肽脂肽类	CTE	0	0	6	5	5.49	0.11	11	—	88.24	15.49
头孢类	CTX	0	1	4	6	4.14	0.21	11	80.28	4.23	15.49
	CTZ	0	1	3	2	0.59	1.00	6	85.99	5.56	8.45
大环内酯类	AZM	0	0	2	0	2.40	0.55	2	97.18	0.00	2.82
氨基糖苷类	AMII	0	1	0	0	3.82	0.30	1	98.59	0.00	1.41
碳青霉烯类	ETP	0	0	0	0	—	—	0	100.00	0.00	0.00
	MEM	0	0	0	0	—	—	0	100.00	0.00	0.00
β -内酰胺/ β -内酰胺抑制剂复合物	CZA	0	0	0	0	—	—	0	100.00	0.00	0.00
	AMS	1	2	5	8	4.95	0.16	16	33.80	43.66	22.54

备注: n 为菌株数目; NAL 为萘啶酸; CTE 为头孢噻肟; CIP 为环丙沙星; CTE 为多黏菌素; CTZ 为头孢他啶; AZM 为阿奇霉素; AMII 为阿米卡星; 判读标准中对 CTE 的判读为中介 ≤ 2 , 耐药 ≥ 4 , 无敏感的判读标准; — 为此项无数据。

2.3 沙门菌耐药谱 71 株菌共有 34 种耐药谱型, 除

1 株腹泻患者粪便标本分离株和 1 株食品分离株对

15 种抗菌药物敏感外,其余菌株均对 1 种以上抗菌药物耐药,总耐药率为 97.18%,优势的耐药谱型依次为 TET-AMP、TET、NAL-AMP-AMS、CHL-SXT-TET 等。44 株沙门菌为多重耐药,占 61.97%,其中腹泻患者粪便标本分离株多重耐药率为 60.42%(29/48),食品分离株多重耐药率为 65.22%(15/23)。食品分离株耐药种类数最多为 7 类,腹泻患者粪便标本分离株耐药种类数最多为 8 类,均是肯塔基沙门菌。见表 3。

2.4 不同血清型沙门菌耐药情况 本研究检出的 13 种血清型沙门菌对 11 类抗菌药物有不同程度耐药存在,菌株分离数量前 3 位中,鼠伤寒沙门菌对 8 类抗菌药物存在耐药,对 TET 耐药率最高,肠炎沙门菌对 NAL 耐药率最高,里森沙门菌均为食品分离株,对 SXT、TET 的耐药率最高;耐药种类数 7 类及以上的菌株中,汤不逊沙门菌对 7 类抗菌药物存在耐药,肯塔基沙门菌对 9 类抗菌药物存在耐药。见表 4。

表 3 71 株沙门菌耐药谱

抗菌药物类别数	腹泻患者粪便标本分离株耐药谱(n=48)	总菌株数(n)	食品分离株耐药谱(n=23)	总菌株数(n)
0类		1		1
1类	NAL(1)、TET(4)、CT(2)	7	NAL(2)、	2
2类	NAL-CT(2)、TET-AMP(8)、SXT-TET(1)	11	NAL-AMP(1)、CHL-TET(1)、NAL-CT(2)、CHL-SXT(1)	5
3类	CHL-SXT-AMP(3)、CHL-SXT-TET(3)、TET-NAL-AMP(1)、NAL-AMP-CT(2)、NAL-AMP-AMS(3)、TET-AMP-AMS(1)、CTX-CTZ-TET-AMP(1)	14	CHL-TET-AMP(1)、NAL-AMP-CT(1)、CHL-SXT-TET(1)、SXT-TET-AMP(2)、NAL-AMP-AMS(1)	6
4类	CHL-TET-NAL-AMP(1)、SXT-TET-NAL-AMP(1)、CHL-SXT-TET-AMP(1)、NAL-AMP-AMS-CT(2)	5	CHL-SXT-TET-AMP(2)	2
5类	CHL-SXT-CIP-TET-AMP(1)、CHL-SXT-CTX-TET-AMP(1)、CHL-SXT-TET-AMP-AMS(1)、CHL-CTX-TET-AMP-AMS(1)、CHL-SXT-TET-CIP-NAL-AMP(1)	5	CHL-SXT-CTX-TET-AMP(1)、CHL-SXT-TET-AMP-AMS(3)	4
6类	CHL-SXT-TET-CIP-NAL-AMP-AMS(1)、CHL-SXT-CTX-TET-AMP-AMS(1)	2	CHL-SXT-CTX-TET-AMP-AMS(1)、CHL-SXT-CTX-CTZ-TET-NAL-AMP(1)	2
7类	CHL-SXT-CTX-CTZ-TET-CIP-AZM-AMP(1)、CHL-SXT-CTX-CTZ-TET-CIP-NAL-AMP-AMS(1)	2	CHL-SXT-CTX-CTZ-TET-CIP-NAL-AMI-AMP(1)	1
8类	CHL-SXT-CTX-CTZ-TET-CIP-NAL-AZM-AMP-AMS(1)	1		

表 4 不同血清型沙门菌耐药情况(%)

项目	抗菌药物	鼠伤寒	肠炎	里森	伦敦	肯塔基	汤不逊	尼堡	鼠伤寒	火鸡	哈达尔	印地安纳	黄金海岸	巴尔多
		(n=30)	(n=15)	(n=6)	(n=4)	(n=2)	(n=2)	(n=2)	(n=2)	(n=1)	(n=1)	(n=1)	(n=1)	(n=1)
苯丙醇类	CHL	46.67	0.00	66.67	50.00	100.00	50.00	100.00	50.00	0.00	0.00	100.00	100.00	100.00
叶酸途径抑制剂	SXT	36.67	0.00	100.00	75.00	100.00	50.00	100.00	50.00	0.00	100.00	0.00	100.00	100.00
碳青霉烯类	ETP	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	MEM	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
头孢类	CTX	6.67	6.67	0.00	0.00	100.00	50.00	100.00	50.00	100.00	0.00	0.00	100.00	100.00
	CTZ	0.00	6.67	0.00	0.00	100.00	50.00	50.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00
四环素类	TET	80.00	0.00	100.00	75.00	100.00	50.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
喹诺酮类和氟喹诺酮类	CIP	10.00	0.00	0.00	0.00	100.00	50.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
	NAL	16.67	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00	100.00	0.00
大环内酯类	AZM	0.00	0.00	0.00	0.00	50.00	50.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
氨基糖苷类	AMI	0.00	0.00	0.00	0.00	50.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
乳菌肽脂肽类	CTE	8.33	60.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
青霉素类	AMP	63.33	60.00	83.33	50.00	100.00	50.00	100.00	100.00	100.00	0.00	100.00	100.00	100.00

续表 4 不同血清型沙门菌耐药情况(%)

项目	抗菌药物	鼠伤寒(n=30)	肠炎(n=15)	里森(n=6)	伦敦(n=4)	肯塔基(n=2)	汤不逊(n=2)	尼堡(n=2)	鼠伤寒单相(n=2)	火鸡(n=1)	哈达尔(n=1)	印地安纳(n=1)	黄金海岸(n=1)	巴尔多(n=1)
β-内酰胺/β-内酰胺抑制剂复合物	AMS	16.67	33.33	33.33	25.00	50.00	0.00	0.00	50.00	0.00	0.00	0.00	100.00	100.00
	CZA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

备注: n 为此血清型沙门菌菌株数。

2.5 不同来源沙门菌耐药情况 腹泻患者粪便标本分离株耐药率>30.00%的有 AMP(70.83%)、TET(66.67%)、SXT(37.50%)、CHL(37.50%)、NAL(35.42%), 食品分离株耐药率>30.00%有 AMP(65.22%)、TET(60.87%)、SXT 和 CHL(56.52%)、NAL(39.13%), 见图 1。腹泻患者粪便标本分离株和食品分离株各抗菌药物耐药率差异无统计学意义(均 $P > 0.05$), 腹泻标本分离株和食品分离株多重耐药率差异无统计学意义($P > 0.05$)。

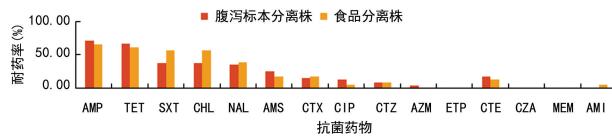
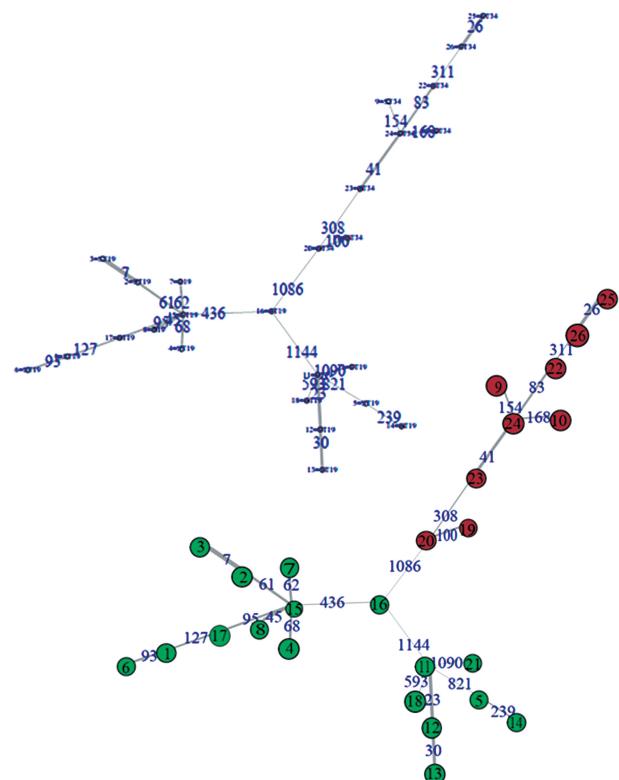


图 1 不同来源沙门菌耐药情况

2.6 腹泻患者与食品来源菌株相关性分析 腹泻患者来源和食品来源的肠炎沙门菌中, 相同的耐药表型包括 NAL-AMP-AMS、NAL、NAL-AMP-CT、NAL-CT。腹泻患者和食品的 2 株肯塔基沙门菌 7 个管家基因的等位基因谱一致, 均为 thrA(67)、purE(64)、sucA(64)、hisD(77)、aroC(76)、hemD(2)、dnan(14), 为 ST198 型, 均表现对喹诺酮类和 3 代头孢菌素耐药, 且对 7 类及以上的抗菌药物耐药。

2.7 全基因组测序结果 10 株测序的沙门菌中 8 株是鼠伤寒沙门菌(7 株腹泻患者粪便标本分离株, 1 株食品株), 2 株是鼠伤寒沙门菌单相变种(均是腹泻患者粪便标本分离株)。全基因组测序数据显示, 血清型预测与血清凝集结果一致, 8 株鼠伤寒沙门菌 MLST 分型是 ST19, 2 株鼠伤寒沙门菌单相变种 MLST 分型是 ST34, cgMLST 分型鉴定出 5 株 cgST-17987/cgST-18469, cgST-18162、cgST-18410、cgST-16838、cgST-18166、cgST-18276、cgST-18276 各 1 株, 以 cgST-17987/cgST-18469 分型为主, rMLST 分型包括 5 株 1369, 2 株 1369/28435/142270, 2 株 1401, 1 株 64013, 以 1369 为主, 从沙门菌数据库下载中国其他地区的 8 株 ST19 的鼠伤寒沙门菌, 以及 2 株 ST34 的鼠伤寒沙门菌单相变种, 泰国 1 株 ST19 的鼠伤寒沙门菌及 1 株 ST34 的鼠伤寒沙门菌单相变种, 比利时 4 株 ST34 的鼠伤寒沙门菌单相变种的全基因组测序序列, 通过分析本实验室分离的 10 株沙门菌与数据库下载的 16 株沙门菌菌株核

心 SNP 位点, 构建最小生成树, 发现本实验室分离的 7 株 ST19 的鼠伤寒沙门菌差异较少, 亲缘关系接近, 且与国内部分其他地区 ST19 的鼠伤寒沙门菌差异较大, 说明虽然同为 ST19 型, 本实验室分离的菌株与其他地区的鼠伤寒沙门菌菌株亲缘关系还是有差别, 本实验室分离的 1 株食品分离株和腹泻分离株亲缘关系较近, 这也说明应用基因组数据的遗传特征分析比传统的 MLST 分型方法更为精细和精准。ST34 与 ST19 菌株差异较大, 国内 ST34 菌株与其他国家 ST34 的菌株存在一定的差异。wgSNP 分析结果见图 2。



注: 红色圈代表 ST 型为 34 的菌株; 绿色圈代表 ST 型为 19 的菌株; 圈内的数字代表样本编号, 1~10 号标本为本实验室分离的菌株, 其中 6 号标本是食品分离株, 其他标本均是腹泻患者粪便标本分离株, 11~18 号标本为中国其他地区分离的鼠伤寒沙门菌, 19~20 号为中国其他地区分离的鼠伤寒沙门菌单相变种, 21、22 号分别为泰国鼠伤寒沙门菌、鼠伤寒沙门菌单相变种, 23~26 号是比利时鼠伤寒单相沙门菌支线上数字代表菌株之间 SNP 不同的数量; 线的粗细代表相似程度, 线越粗代表越相似。

图 2 沙门菌 wgSNP 分析结果

3 讨 论

本研究 71 株沙门菌共检出 13 种血清型, 腹泻患

者粪便标本分离株以鼠伤寒沙门菌为优势血清型, 肠炎沙门菌次之, 与陕西省^[6]和湖南省^[7]报道的优势血清型一致, 与上海市^[8]、郑州市^[9]报道的优势血清型为肠炎沙门菌不同, 说明各地区优势血清型存在一定差别。食品分离株优势血清型为里森沙门菌, 虽然本研究中并没有在腹泻患者粪便标本中检出里森沙门菌, 但 2021 年 ELBEDIWI 等^[10]报道重庆存在里森沙门菌感染病例, 且 10 岁以下儿童感染居多, 存在通过摄入污染食品导致感染的可能性, 应加强对里森沙门菌的监测。腹泻患者粪便标本和食品中分离的沙门菌血清型分布存在差别, 共同存在的血清型有鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌、伦敦沙门菌、肯塔基沙门菌。

71 株沙门菌对 AMP、TET、SXT、CHL、NAL 耐药率较高, 与杨翊等^[11]报道的湖南省沙门菌耐药情况相似。AMS 耐药率为 22.54%, 但中介率较高为 43.66%, 应加强药敏监测, 尽早发现及遏制可能的耐药率上升趋势。MEM、CZA、ETP、AMI 等敏感率较高, 临床可以参考研究结果选择性用药。本研究沙门菌多重耐药所占比例为 61.97%, 多重耐药率与杨翊等^[11]报道的湖南省研究接近, 高于部分地区^[12]多重耐药率, 多重耐药现象比较严重。耐药谱型多样, 最优势的耐药谱型为 TET-AMP, 与李兵兵等^[13]报道的江苏省淮安市的不同, 但其报道的最优势的耐药谱型 NAL-AMP-AMS, 也是本研究主要的耐药谱型之一。

本研究 30 株优势血清型鼠伤寒沙门菌对 TET、AMP、SXT、CHL、AMS、NAL、CIP 耐药率较高, 其余 8 种抗菌药物耐药率 <10.00%, 与王尔群等^[14]报道成都市的鼠伤寒沙门菌耐药情况基本一致, 可能相邻省份鼠伤寒沙门菌耐药特征相似, 15 株肠炎沙门菌对 NAL 均耐药, 对 AMP 和 CTE 耐药率较高, 与张琴超等^[15]报道的浙江省绍兴市情况类似, 目前国内用于畜禽养殖中抗菌药物以青霉素类、四环素类、大环内酯类为主, 因此畜禽养殖中的抗菌药物不规范使用可能与鼠伤寒沙门菌和肠炎沙门菌耐药特征相关。食品分离株和腹泻患者粪便标本分离株耐药率均较高, 耐药现象严重。

食源性致病菌对抗菌药物的耐药性存在“异质性”的现象, 即同种食源性致病菌的菌株之间存在耐药性差异, 是临床环节中抗菌药物治疗失败的主要因素之一^[16], 加强临床药敏监测, 减少经验性用药, 能指导临床针对性用药, 减少耐药株的产生。本研究相同血清型中, 分离自腹泻患者和食品的部分肠炎沙门菌有 4 种耐药谱相同, 可能提示肠炎沙门菌易通过食品造成人群感染, 但因受菌株较少限制, 不同来源各种血清型的沙门菌耐药之间的相关性还有待进一步研究验证。WEILL 等^[17]在 2002 年 12 月首次从 1 例非洲旅游返回的法国患者身上分离出耐 CIP 的肯塔基沙门菌, 近年来 CIP 耐药的 ST198 肯塔基沙门菌在全球范围内广泛流行, 尤其是对喹诺酮类药物和 3 代头

孢菌素产生抗性的多重耐药菌株引发高度关注^[18], 我国广东^[19]、北京^[20]等地区也有多重耐药肯塔基沙门菌感染及污染食物的报道, 本研究检出的 2 株肯塔基沙门菌均对 CIP 和 3 代头孢菌素表现耐药, 2020 年从食品中检出, 2021 年从腹泻患者中检出, 经 MLST 分型确定均为 ST198 型, 耐药表型与曲梅等^[20]报道的腹泻患者和翁蕊等^[21]报道的食品中检出的 ST198 型肯塔基沙门菌类似, 给临床用药带来新的挑战, 应加强对这种多重耐药菌的监控, 临床可以选择 ETP、MEM、CTE、CZA 用于治疗。

全基因组数据分析结果显示, MLST 分型相同的 ST19 的鼠伤寒沙门菌、ST34 型别的鼠伤寒沙门菌单相变种, 基因组信息各地区还是存在一定的差别, 同时本区域大部分菌株亲缘关系接近, 提示流行菌株存在一定的地域特征, 也说明基于全基因组测序数据的 wgMLST 分型方法, 相较于传统的 MLST 分型方法更能对菌株进行精准溯源分型。

综上所述, 重庆市南岸区沙门菌血清型分布及耐药情况具有区域性特征, 且检出的多重耐药的肯塔基沙门菌为广受关注的 ST198 型, 目前辖区的监测网络刚刚建立, 在此基础上加强区域性的沙门菌血清型和药敏监测, 一定程度上可以及时采取有效措施预防沙门菌引起的突发公共卫生事件的发生, 发现并减少耐药菌株的传播, 对沙门菌感染的疾病预防控制和临床用药具有重要的参考意义。下一步计划从不同血清型沙门菌引起感染的临床表现区别开展研究, 以期进一步指导临床实践, 临幊上建议加强临床抗菌药物规范使用, 减少经验性用药, 根据药敏监测结果选择性用药。

本研究具有一定的局限性。本实验室从 2020 年加入国家致病菌识别网网络实验室, 开展常规肠道病原监测工作, 因涉及初期医院配合度问题, 采样菌株阳性率收集的菌株较少。

参考文献

- [1] GBD 2017 Non-Typhoidal Salmonella Invasive Disease Collaborators. The global burden of non-typhoidal salmonella invasive disease: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. Lancet Infect Dis, 2019, 19(12): 1312-1324.
- [2] 王霄晔, 任婧寰, 王哲, 等. 2017 年全国食物中毒事件流行特征分析 [J]. 疾病监测, 2018, 33(5): 359-364.
- [3] 宗华, 许磊, 曾德唯. 一起沙门菌引起食物中毒的溯源分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(14): 1771-1773.
- [4] 刘方, 王岚, 湛志飞, 等. 湖南省 815 株沙门菌血清型和耐药性分析 [J]. 预防医学, 2023, 35(2): 134-136.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 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.

(下转第 1452 页)

- 染学杂志,2023,33(5):776-780.
- [3] 王晓洁,周苏丽,毛小娜,等.未足月胎膜早破影响因素及其对妊娠结局影响[J].临床军医杂志,2022,50(11):1194-1196.
- [4] 雷蕾,罗利平.未足月胎膜早破孕妇阴道菌群微生态分析及抗感染治疗时机对妊娠结局的影响[J/CD].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2021,15(2):111-116.
- [5] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组.妊娠期高血压疾病诊治指南(2020)[J].中华妇产科杂志,2020,55(4):227-238.
- [6] 中华医学会妇产科学分会产科学组.胎膜早破的诊断与处理指南(2015)[J].中华妇产科杂志,2015,50(1):3-8.
- [7] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组.阴道微生态评价的临床应用专家共识[J].中华妇产科杂志,2016,51(10):721-723.
- [8] 殷婉萍,黄巧如,周倩珺.妊娠晚期孕妇阴道微生态环境与不良妊娠结局关系[J].中国计划生育学杂志,2022,30(7):1639-1643.
- [9] 马敬丽,崔冬青,程桂丽,等.妊娠晚期胎膜早破孕妇阴道菌群、炎症因子改变及对妊娠结局影响[J].中国计划生育学杂志,2020,28(11):1798-1802.
- [10] 裴萧灵,李惠雯,徐敏丹.胎膜早破和妊娠期糖尿病患者阴道菌群分布及对妊娠结局的影响[J].中国妇幼保健,2023,38(8):1396-1399.
- [11] SERRANO M G, PARIKH H I, BROOKS J P, et al. Racial/ethnic diversity in the dynamics of the vaginal mi-
- crobiome during pregnancy[J]. Nat Med, 2019, 25(6): 1001-1011.
- [12] 林小能,唐袁婷,于凡,等.妊娠期妇女阴道微生态状况和生殖道感染特征分析[J].现代临床医学,2021,47(3):199-201.
- [13] 苏本宪,艾静,朱德全,等.乳杆菌代谢产物对化脓性链球菌的抑制作用[J].微生物学通报,2015,42(1):117-124.
- [14] 闫翠云,张玢玢,张莉,等.乳酸杆菌联合甲硝唑治疗细菌性阴道病的临床研究[J].中国药物与临床,2011,11(5):575-576.
- [15] 廖秦平.女性阴道微生态及阴道微生态评价[J].实用妇产科杂志,2010,26(2):81-83.
- [16] 侯雪楠,赵淑霞,顾来梅.妊娠晚期胎膜早破孕妇阴道菌群分布、微生态情况及与妊娠结局的关系[J].临床误诊误治,2022,35(5):95-98.
- [17] 王贝贝,马丽丽,曹宇新.孕晚期胎膜早破孕妇阴道内菌群变化、外周血单个核细胞 FoxP3、STAT5 表达及妊娠结局[J].中国计划生育学杂志,2022,30(12):2816-2820.
- [18] 郑胜英,赵志平,李蓓.未足月胎膜早破合并宫内感染产妇胎盘 NLRP3、IL-1 β 、FasL 表达及其临床意义[J].中南医学科学杂志,2023,51(1):57-60.
- [19] 董佳丽,倪建芳,朱玲,等.妊娠期念珠菌性阴道炎患者阴道微生态与早产的相关性分析[J].中国妇幼保健,2023,38(1):23-26.

(收稿日期:2023-12-12 修回日期:2024-03-26)

(上接第 1447 页)

- [6] 李文涓,陈雅丽,王君,等.2018 年陕西省感染性腹泻患者中分离沙门菌的病原学特征分析[J].现代预防医学,2020,47(7):1281-1284.
- [7] 吴诗蓝,段宏波,贾华云,等.2015—2019 年湖南省食源性沙门菌流行病学特征分析[J].实用预防医学,2021,28(12):1428-1432.
- [8] 段胜钢,齐辰,陆冬磊,等.2018 年上海市非伤寒沙门菌感染流行病学特征分析[J].中国食品卫生杂志,2020,32(4):422-426.
- [9] 周鹏,安戈,李羿,等.2019 年郑州市感染性腹泻患者中分离沙门菌的病原学特征分析[J].实用预防医学,2021,28(11):1392-1394.
- [10] ELBEDIWI M, SHI D, BISWAS S, et al. Changing patterns of *Salmonella enterica* serovar *risson* from humans, food animals, and animal-derived foods in China, 1995—2019[J]. Front Microbiol, 2021, 12: 702909.
- [11] 杨朔,贾华云,任国峰,等.2013—2017 年湖南省沙门菌耐药状况及其分布[J].中国抗生素杂志,2020,45(6):621-626.
- [12] 张建群,袁士杰,苗超.2007—2018 年浙江省余姚市沙门菌血清型变迁及耐药分析[J].疾病监测,2020,35(7):627-632.
- [13] 李兵兵,金晶,赵怀荣,等.不同来源食源性沙门菌耐药特征分析[J].中国卫生检验杂志,2021,31(16):1927-1930.
- [14] 王尔群,舒玉聪,宋志琴,等.2014—2019 年成都市新都区鼠伤寒沙门菌耐药特性和分子分型研究[J].中国食品卫生杂志,2021,33(1):69-74.
- [15] 张琴超,陈金塑,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.
- [16] 赵勇,李欢,张昭寰,等.食源性致病菌耐药机制研究进展[J].生物加工过程,2018,16(2):1-10.
- [17] WEILL F X, BERTRAND S, GUESNIER F, et al. Ciprofloxacin-resistant *Salmonella Kentucky* in travelers[J]. Emerg Infect Dis, 2006, 12(10): 1611-1612.
- [18] 张靖菊,刘静,徐飞.肯塔基沙门菌对氟喹诺酮和碳青霉烯类药物耐药性研究进展[J].中国畜牧兽医,2020,47(11):3739-3748.
- [19] 王少君,孙康泰,熊智颖,等.广东省零售市场鸡肉中肯塔基沙门菌的流行情况及耐药性分析[J].畜牧兽医学报,2019,50(12):2509-2517.
- [20] 曲梅,黄瑛,田祎,等.北京市 2010—2020 年多重耐药肯塔基沙门菌流行特征分析[J].中华流行病学杂志,2021,42(7):1252-1259.
- [21] 翁蕊,辜依海,张微,等.2019—2020 年汉中市食源性食品中 ST198 型肯塔基沙门菌的耐药性研究[J].食品安全质量检测学报,2021,12(17):6756-6762.

(收稿日期:2023-10-20 修回日期:2024-03-12)