

广东省2008—2009年沙门菌监测

柯碧霞 邓小玲 李柏生 谭海玲 何冬梅 刘美真 陈经雕 柯昌文

【摘要】 目的 了解广东省腹泻患者中沙门菌的感染及沙门菌暴发的情况以及沙门菌株的血清型别、耐药性和分子特征。**方法** 对纳入研究的腹泻病患者进行沙门菌的检测,对日常监测中分离到的菌株和暴发监测收集到的菌株进行血清分型、药物敏感试验和脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型。**结果** 2008年共检测1922份粪便标本,分离到71株沙门菌,阳性率为3.7%;2009年检测2110份粪便标本,分离到85株沙门菌,阳性检出率为4.0%;156株菌共分37种血清型,鼠伤寒和肠炎沙门菌居多;监测到10起由沙门菌污染引起的食物中毒事件,其中有4起由肠炎沙门菌引起,有3起由鼠伤寒沙门菌引起;发现1起疑似肠炎沙门菌暴发,并开展流行病学调查,结果提示4名病例中有2名病例是感染同来源的肠炎沙门菌;229株沙门菌对头孢类和喹诺酮类抗菌药物敏感率达80%以上,59.3%是多重耐药沙门菌。**结论** 在广东省引起感染性腹泻和食物中毒的沙门菌主要为肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门菌。

【关键词】 沙门菌; 监测; 暴发

Surveillance on *Salmonella* infection in Guangdong province, 2008–2009 KE Bi-xia, DENG Xiao-ling, LI Bo-sheng, TAN Hai-ling, HE Dong-mei, LIU Mei-zhen, CHEN Jing-diao, KE Chang-wen. Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510300, China
Corresponding author: KE Bi-xia, Email: kebixia@live.cn

This work was supported by a grant from the China-United States Collaborative Program on Emerging and Re-Emerging Infectious Diseases (No. 1U2GGH000018–01).

【Abstract】 Objective To understand the infection of *Salmonella* (*S.*) in patients with diarrhea and outbreaks caused by *Salmonella* to identify the serotypes, resistance to antibiotics and PFGE types of the strains from the surveillance program in Guangdong province. **Methods** *S.* strains from patients with diarrhea were detected, and all the positive strains collected in routine and outbreak surveillance programs, were tested by serum agglutination, antibiotic susceptibility and PFGE. **Results** 71 *S.* strains were isolated from 1922 stool samples in 2008, with positive rate as 3.7%. 85 *S.* strains were isolated from 2110 stool samples in 2009, with positive rate as 4.0%. All the 156 strains were divided into 37 serotypes, with *S.* serotype *typhimurium* and *enteritidis* as the most common serotypes. 10 incidents of food poisoning were detected, of which 4 were caused by *enteritidis* and 3 by *typhimurium*. A suspected outbreak by *enteritidis* was discovered and under epidemiological investigation. The findings indicated that 2 of the 4 patients from this outbreak were infected with identical *enteritidis* isolates. 80% of the 229 isolates were found susceptible to cephalosporins and quinolone and 59.3% of them were multiresistant to the antibiotics. **Conclusion** *S. enteritidis* and *S. typhimurium* were the most common serotypes that caused infectious diarrhoea and food poisoning in Guangdong province.

【Key words】 *Salmonella*; Surveillance; Outbreak

全球每年约有1600万沙门菌感染病例,其中60万例死亡^[1]。WHO对沙门菌感染十分重视,早在2000年就成立世界范围的全球沙门菌监测系统。广东省疾病预防控制中心(CDC)从2007年起加入全球沙门菌监测系统,在全省选择8所哨点医院,对

腹泻患者进行沙门菌检测,至2009年哨点医院增加至10所。沙门菌感染在中国细菌性食物中毒中最常见,占感染总数的70%~80%^[2]。从2008年开始,广东省沙门菌监测系统不仅对散发的腹泻患者进行监测,同时对食物中毒暴发进行监测,本研究对2008—2009年的监测结果进行分析。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.08.012

基金项目:中美新发和再发传染病合作项目(1U2GGH000018–01)

作者单位:510300 广州,广东省疾病预防控制中心

通信作者:柯碧霞, Email: kebixia@live.cn

资料与方法

1. 监测系统:选择广东省的东(汕头和揭阳市)、

南(广州市)、西(肇庆和湛江市)、北(韶关市)、中(东莞和惠州市)部 8 个城市的 10 所医院为本次监测的哨点医院。除东莞市外,其他城市的哨点医院只负责采集符合腹泻病例定义的患者粪便标本,标本的沙门菌检测工作由当地 CDC 完成,广州市 2 所哨点医院的标本由广东省 CDC 完成。东莞市的标本采样和检测均由哨点医院完成。除惠州市为妇幼保健院外,其余哨点医院均为综合性医院。

2. 仪器:药敏纸片分配器为英国 Oxoid 公司产品, CHEF MAPPER 脉冲场凝胶电泳仪和 GEL Doc EQ 凝胶成像分析系统为美国 Bio-Rad 公司产品。比浊仪为美国 Dade Behring 公司产品。

3. 试剂:TTB(连四硫磺酸)增菌液、沙门菌显色培养基及双糖铁、VP、 β -半乳糖苷酶(ONPG)、尿素、靛基质和赖氨酸微量生化管购自广东环凯微生物科技有限公司,诊断血清为泰国 S&A 公司产品。API 20 E 手工细菌生化鉴定条和 Cary Blair 运送培养基为法国生物梅里埃公司产品,药敏纸片为英国 Oxoid 公司产品, MH 平板购自广州迪景微生物科技有限公司, Xba I 酶购自美国 Promega 公司,琼脂糖为美国 Cambrex 公司产品,蛋白酶 K 为德国 Merck 公司产品。

4. 方法:

(1) 分离培养:采集的新鲜粪便标本保存于 Cary-Blair 运送培养基中送到实验室,接种至 TTB 增菌液, 37 °C 培养过夜后用沙门菌显色平板分离, 37 °C 培养过夜挑取紫色可疑菌落做初步生化鉴定,包括双糖铁、VP、ONPG、尿素、靛基质和赖氨酸鉴定,生化实验结果符合者再做血清凝集试验和系统生化鉴定。

(2) 药物敏感试验:采用纸片扩散法(Kirby-Bauer),包括以下抗菌药物:氨苄西林(AMP, 10 μ g)、头孢他啶(CAZ, 30 μ g)、环丙沙星(CIP, 5 μ g)、氯霉素(CHL, 30 μ g)、头孢噻肟(CTX, 30 μ g)、头孢吡肟(FEP, 30 μ g)、庆大霉素(GEN, 10 μ g)、萘啶酸(NAL, 30 μ g)、磺胺甲二唑(SMX, 200 μ g)、链霉素(STR, 10 μ g)、四环素(TE, 30 μ g)和甲氧苄啶(TEP, 5 μ g)共 12 种。结果判定按照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)出版的药敏试验指南(2007 版)。

(3) 脉冲场凝胶电泳(PFGE):参照美国 PulseNet 伤寒沙门菌 PFGE 标准操作方法。

结 果

1. 腹泻患者监测:2008 年广东省沙门菌监测哨

点医院共检测 1922 份粪便标本,分离到 71 株沙门菌,阳性检出率为 3.7%;2009 年检测 2110 份粪便标本,分离到 85 株沙门菌,阳性检出率为 4.0%。各地区的阳性分离率较不平衡,东莞市最高,达 7.4%,韶关最低,只有 1.3%,平均分离率为 3.9%(表 1)。2008—2009 年沙门菌检出高峰期在 4—10 月。156 例阳性病例中男性 88 例,女性 74 例,男女比例为 1:0.84;年龄分布显示各个年龄段均有感染的可能性,但以 0~2 岁的婴幼儿为主,占 48.0%。对监测检出的 156 株沙门菌全部进行血清学分型,除 4 株未能分型外,其余的 152 株菌共分为 37 种血清型,其中鼠伤寒沙门菌居第一位,共 43 株(28.2%);其次是肠炎沙门菌,共 37 株(24.3%);第三位是斯坦利沙门菌,共 14 株(9.2%);第四位是 4,5,12:i:-沙门菌,共 9 株(5.9%);第五位是德比沙门菌,共 6 株(3.9%)。对前五位血清型沙门菌共 109 株菌进行 PFGE 分型,未发现同一血清型的沙门菌于 2 个月内有超过 3 株以上 PFGE 型别一致的现象。

表 1 2008—2009 年广东省各地区哨点医院检测数和阳性率(%)

地区	检测数	阳性数	阳性率
广州	1089	47	4.3
汕头	258	5	1.9
湛江	145	4	2.7
惠州	443	21	4.7
东莞	729	54	7.4
韶关	841	11	1.3
肇庆	231	10	4.3
揭阳	296	9	3.0
合计	4032	156	3.9

2. 暴发监测:2008—2009 年共收集到 10 起由沙门菌污染引起的食物中毒菌株(表 2)。这些食物中毒事件由肠炎沙门菌、鼠伤寒沙门菌、韦太夫登沙门菌、科瓦斯沙门菌和伦敦沙门菌引起,其中由肠炎沙门菌引起的食物中毒最多,共 4 起;其次是由鼠伤寒沙门菌引起的,共 3 起。2 年共收集到食物中毒暴发菌株 73 株,涉及的病例达 147 例,无死亡病例。在这 10 起食物中毒中有 3 起能同时从患者和可疑食品中分离到沙门菌,可疑食品分离株的 PFGE 型别均与同一事件中患者分离株的 PFGE 型别一致。如 2008 年 9 月在揭阳市发生的韦太夫登沙门菌食物中毒事件中,同时从 2 例患者的肛拭子和可疑食品西瓜粒和冰块中均分离到韦太夫登沙门菌。对这 4 株菌株进行 PFGE 分型,结果 4 株菌的 PFGE 图谱均一致。流行病学调查资料显示该事件中 28 例病例发病前均进食冰块拌水果,因此能确定

表 2 2008—2009 年广东省食物中毒事件情况

序号	时间(年-月)	地点	病例数	可疑食品	检验结果
1	2008-05	东莞	16	无	肠炎沙门菌(10份肛拭子)
2	-07	韶关	19	猪肉、生水	鼠伤寒沙门菌(4份肛拭子)
3	-09	揭阳	28	冰块拌水果	韦太夫登沙门菌(西瓜粒、冰块各1份和2份肛拭子)
4	2009-05	湛江	8	烧猪肉	鼠伤寒沙门菌(8份肛拭子)
5	-05	东莞	18	冬菇肉饼	鼠伤寒沙门菌(5份肛拭子和冬菇肉饼)
6	-05	梅州	9	无	肠炎沙门菌(4份肛拭子)
7	-05	梅州	11	未炒熟的蛋	肠炎沙门菌(6份肛拭子)
8	-06	番禺	30	无	肠炎沙门菌(25份肛拭子和1份冰箱拭子)
9	-06	番禺	3	无	科瓦斯沙门菌(3份外环境拭子)
10	-08	茂名	5	鸡肉	伦敦沙门菌(1份肛拭子和2份食品)

患者就是进食这些受污染的冰块拌水果而引起食物中毒。其他 7 起食物中毒事件的菌株 PFGE 分型结果(也是同一事件中全部菌株的 PFGE 图谱)相似值均为 100.00%。

3. 疑似暴发事件的调查:2009 年 5 月,两所距离不远的医院在一周内检出 4 株肠炎沙门菌,且这 4 例病例的就诊时间均在 4 月 26—28 日。图 1 为肠炎沙门菌 2007 年 4 月至 2009 年 7 月每月的检出情况,2009 年 4 月有一高峰,且比前两年各月的检出数均要高。因此怀疑可能存在一个肠炎沙门菌感染暴发,流行病学调查人员通过对病例进行电话调查和访谈两所就诊医院肠道专科门诊调查此起疑似暴发事件。经调查发现:病例 1 和 2 为夫妻,病例 1、2 和 3 就诊于同一医院,病例 4 就诊于另一所医院。4 例病例的临床症状为发热、腹痛、腹泻。未发现病例 3 与 1、2 进食同一种可疑食物。2009 年的 4 月 27 日至 5 月 3 日,这两所医院的腹泻病就诊人数并没有升高,反而比往年同期要低,并在以后的一周也呈下降趋势。4 例病例的 PFGE 图谱见图 2,结果显示病例 1、2 的 PFGE 图谱一致,病例 3、4 与 1、2 的 PFGE 图谱不一致,病例 3、4 的 PFGE 图谱也不一致。根据上述的流行病学调查结果和实验室结果提示病例 3、4 与 1、2 感染的不是同来源的肠炎沙门菌,但病例 1 和 2 可能感染同来源的肠炎沙门菌。

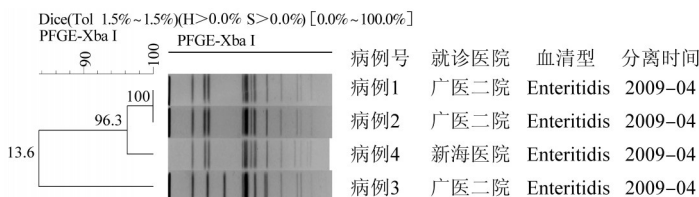


图 2 2009 年广东省 4 例病例的 PFGE 聚类分析图

4. 药敏试验:2008—2009 年沙门菌日常监测和暴发监测共收集到 229 株沙门菌。药敏试验显示,沙门菌对 CAZ、CTX、FEP 和 CIP 抗菌药物的敏感率达 80% 以上,但对磺胺、TE、STR、NAL 和 AMP 的耐药率均较高。比较日常监测的散发菌株和食物中毒的暴发菌株对这 12 种药物的敏感性,发现除对 AMP、NAL 和 STR 暴发菌株的耐药性明显高于散发菌株外,对其余药物的敏感性基本一致。这 229 株沙门菌中共 136 株(59.4%)为多重耐药沙门菌,其中 80 株(58.8%)对 4~5 种抗菌药物耐药、5 株(40.5%)对 6~9 种抗菌药物耐药、只有 1 株(0.7%)对 10 种抗菌药物耐药(表 3)。

表 3 229 株沙门菌的药敏结果

抗菌药物	耐药率(%)	中度敏感率(%)	敏感率(%)
AMP	50.3	0	49.7
CAZ	2.5	0	97.5
CIP	1.3	17	81.8
CHL	32.7	3.1	64.2
CTX	3.1	4.4	92.5
FEP	1.9	1.3	96.9
NAL	56.6	7.5	35.8
SMX	69.8	3.1	27.0
STR	52.2	21.4	26.4
TE	55.3	1.9	42.8
TMP	29.6	0.6	69.8
GEN	17.2	0.6	82.2

讨 论

图 1 2007—2009 年广东省肠炎沙门菌每月的检出例数

2008—2009 年广东省沙门菌腹泻患者监测的

平均检出率分别为 3.7% 和 4.0%，比 2007 年度的阳性检出率 6.29% 要低得多^[3]。各监测点医院在 2008—2009 年均加大采样量可能是造成分离率下降的主要原因，2007 年度本监测系统只检测约 1000 份粪便标本，而 2008—2009 年均上升至约 2000 份标本。采样量大幅增加，可能是医生放宽纳入本监测系统的病例定义，使很多非感染性的腹泻患者也进行检测，因此，样本量加大，但分离率却下降。

从年龄分布来看，广东省沙门菌感染以 0~2 岁的婴幼儿为主，占 48.0%。在婴幼儿人群中沙门菌的分离率较高，可能是由于当婴幼儿出现明显症状的时候，会快速寻求治疗，家长不会擅自让儿童服用抗菌药物。另外，当内科医生检查一例腹泻病例的时候，儿童的粪便更容易采集到。

2007 年度广东省沙门菌腹泻患者监测检出 71 株沙门菌^[3]，血清分型排在前两位的是肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门菌。2008—2009 年沙门菌腹泻患者监测检出 156 株沙门菌，血清分型排在前两位的仍然是这两种血清型，而且所占比例从 37.5% 上升至 52.5%。从 2008—2009 两年的暴发监测来看，10 起食物中毒暴发事件中有 7 起由是肠炎沙门菌或鼠伤寒沙门菌引起的。提示广东省引起感染性腹泻的沙门菌中肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门菌是最主要和最常见的 2 种血清型，这与亚洲、欧洲、拉丁美洲等国家沙门菌流行的优势血清型数据是一致的^[4-8]。

从对广东省沙门菌的耐药监测中发现 2007 年的菌株对 FEP(第四代头孢类)百分之百敏感^[3]，但 2008—2009 年的菌株中已经有对 FEP 产生耐药的菌株。对 AMP 的耐药率从 40.3%^[3] 上升至 50.3%，对其他的 11 种抗菌药物的耐药率均有不同程度的小幅上升，一半以上的菌株是多重耐药沙门菌，提示广东省沙门菌的耐药性有越来越严重的趋势。

(感谢东莞、湛江、汕头、始兴、南雄、惠州、揭阳、肇庆市 CDC 以及中国 CDC、东莞东华医院、广州医学院第二附属医院、汕头医学院第一附属医院、广东医学院第一附属医院、广州新海医院、惠州市妇幼保健院、韶关南雄市中医院、始兴县城郊医院、揭阳市第一人民医

院、肇庆市第一人民医院以及冉陆老师)

参 考 文 献

- [1] Garaizar J, López-Molina N, Laconcha I, et al. Suitability of PCR fingerprinting, infrequent-restriction-site PCR, and Pulsed-Field Gel Electrophoresis, combined with computerized gel analysis, in library typing of *Salmonella enterica* serovar enteritidis. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(12):5273-5781.
- [2] Zhang DT, Kan B. The molecule typing technique research review of *Salmonella*. *Chin J Zoonoses*, 2009, 29(5):465-468. (in Chinese)
张代涛, 阚颀. 沙门菌属分子分型技术研究进展. *中国人兽共患病学报*, 2009, 29(5):465-468.
- [3] Ke BX, Deng XL, Zhang LH, et al. Surveillance and pathogenic analysis on non-typhoidal *Salmonella* in Guangdong province, 2007. *Chin J Epidemiol*, 2008, 29(12):1199-1203. (in Chinese)
柯碧霞, 邓小玲, 张丽华, 等. 广东省 2007 年度非伤寒沙门菌监测及病原学特征分析. *中华流行病学杂志*, 2008, 29(12):1199-1203.
- [4] Bangtrakulnonth A, Pornreongwong S, Pulsrikarn C, et al. *Salmonella* serovars from humans and other sources in Thailand, 1993-2002. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10(1):131-136.
- [5] Galanis E, Lo Fo Wong DM, Patrick ME, et al. Web-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000-2002. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(3):381-388.
- [6] Herikstad H, Motarjemi Y, Tauxe RV. *Salmonella* surveillance: a global survey of public health serotyping. *Epidemiol Infect*, 2002, 129(1):1-8.
- [7] Humphrey TJ. Public-health aspects of *Salmonella* infections// Wray CWA. *Salmonella in domestic animals*. United Kingdom: CABI Publishing, CAB International, 2000:245-263.
- [8] Olsen SJ, Bishop R, Brenner FW, et al. The changing epidemiology of salmonella: trends in serotypes isolated from humans in the United States, 1987-1997. *J Infect Dis*, 2001, 183(5):753-761.

(收稿日期:2011-03-15)

(本文编辑:万玉立)