

广西壮族自治区 1994—2013 年伤寒流行病学特征及菌株耐药分析

王鸣柳 阚飙 杨进 林玫 闫梅英 曾竣 权怡
廖和壮 周凌云 蒋震玲 黄德蕙

【摘要】 目的 分析 1994—2013 年广西地区伤寒流行特征、菌株耐药特征及其变迁。方法 采用描述流行病学方法分析 1994—2013 年广西地区伤寒疫情报告资料,对分离自伤寒病例 475 株沙门菌,利用纸片扩散法及肉汤微量稀释法检测抗菌药物最小抑菌圈和抑菌浓度(MIC),依据 CLSI 2012 版敏感判定标准,判定菌株的耐药情况。结果 20 年间广西地区共报告伤寒病例 57 928 例,年均发病率为 6.29/10 万,病死率为 0.03%。<20 岁人群发病较高,发病无性别差异,病例以农民和学生为主,主要分布在广西北部地区,全年均有发病,发病高峰在 5—10 月。2001—2013 年发生 13 起大的暴发疫情,传播方式以水型为主。475 株菌对第三代头孢类抗生素头孢噻肟和氟喹诺酮类诺氟沙星的敏感率为 100%,对四环素、氯霉素、氨苄西林、庆大霉素的敏感率约为 98%,对环丙沙星的敏感率为 89.89%;对链霉素、复方新诺明的敏感性较低,为 67.73% 和 65.89%。发现 1 株环丙沙星耐药、47 株环丙沙星敏感性降低的菌株。暴发株与散发株耐药情况无差别。有 28 株菌耐 ≥3 种抗生素,首次发现 1 株同时对氨苄西林、氯霉素、链霉素、复方新诺明、四环素、萘啶酸(ACSSxT-NAL)耐药的多重耐药菌株。多耐药株多见于伤寒小范围暴发疫情。结论 广西地区伤寒发病水平仍较高,且菌株出现对临床常用的氟喹诺酮类药物敏感性降低及多重耐药现象,应加强疫情及耐药监测。

【关键词】 伤寒沙门菌; 流行病学; 耐药谱

Epidemiological characteristics of typhoid fever and antibiotic susceptibility testing of *Salmonella* Typhi isolates in Guangxi, 1994—2013 Wang Mingliu¹, Kan Biao², Yang Jin¹, Lin Mei¹, Yan Meiyin², Zeng Jun¹, Quan Yi¹, Liao Hezhuang¹, Zhou Lingyun¹, Jiang Zhenling¹, Huang Dehui¹. 1 Guangxi Zhuang Autonomous Regional Center for Disease Control and Prevention, Guangxi 530028, China; 2 State Key Laboratory for Infectious Diseases Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention
Corresponding author: Yang Jin, Email: yyyjin@126.com

【Abstract】 **Objective** Through analyzing the typhoid epidemics and to determine and monitor regional resistance characteristics of the shift of drug resistant profile on *Salmonella* (*S.*) Typhi, to understand the related epidemiological characteristics of typhoid fever and to provide evidence for the development of strategies, in Guangxi. **Methods** Data of typhoid fever from surveillance and reporting system between 1994 to 2013 was collected and statistically analyzed epidemiologically. The susceptibility of 475 *S.* Typhi isolates from patients on ten antibiotics was tested by broth micro-dilution method and minimum inhibition concentration was obtained and interpreted based on the CLSI standard. **Results** From 1994 to 2013, a total of 57 928 cases of typhoid fever were reported in Guangxi province with an annual incidence of 6.29/100 000 and mortality as 0.03%. The higher incidence was observed in the population under 20 years of age. There was no significant difference on incidence between male and female, but farmers and students were among the hardest hit groups. More cases were seen from the northern part of the province. Cases appeared all year round with the peak from May to October. A total of 13 major outbreaks during 2001 to 2013 were reported and the main transmission route was water-borne. All the strains were sensitive to third generation cephalosporins cefotaxime and fluoroquinolones norfloxacin. The susceptibility rates to tetracycline, chloramphenicol, ampicillin and gentamicin was around 98% but relative lower

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.08.012

作者单位: 530028 南宁, 广西壮族自治区疾病预防控制中心(王鸣柳、杨进、林玫、曾竣、权怡、廖和壮、周凌云、蒋震玲、黄德蕙); 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所(阚飙、闫梅英)

通信作者: 杨进, Email: yyyjin@126.com

susceptible rate to ciprofloxacin was seen as 89.89%. The lowest susceptibility was found for streptomycin and sulfamethoxazole agents, with the rates as 67.73% and 65.89%, respectively. One strain was found to have been resistant to ciprofloxacin and another 47 isolates with reduced susceptibility to ciprofloxacin. Twenty eight isolates were found to be resistant to multiple antibiotics and one displayed ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole tetracycline and nalidixic acid (ACSSxT-NAL) resistance profile. This was the first report in China. Multi-drug resistant strains were frequently isolated from small scale outbreaks of typhoid fever. **Conclusion** The incidence of typhoid fever in Guangxi was still high and some strains showed multi-drug resistance and reduced susceptibility to ciprofloxacin, indicating that the surveillance and monitor programs on drug resistance of *S. Typhi* should be strengthened, to prevent large scale outbreaks of typhoid fever in this province.

[Key words] *Salmonella Typhi*; Epidemiology; Antibiotic resistant profile

伤寒目前仍是全球重点防治疾病。多年来广西属于伤寒高发区,其发病率一直居全国前几位。近年来国外报道部分地区出现对临床一线药物如氟喹诺酮类、三代头孢类药物耐药的伤寒沙门菌感染^[1-4]。为进一步了解广西地区伤寒流行状况、菌株耐药情况和采取有针对性防治措施,本研究分析1994—2013年广西地区伤寒疫情及菌株耐药监测结果,以便掌握高发地区伤寒流行的危险因素、菌株耐药变迁等情况。

资料与方法

1. 疫情资料:来源于1994—2013年广西各地伤寒疫情报告资料,主要为监测点病例报告数据,包括病例概况(年龄、性别、住址、发病时间、诊断),其中诊断依据包含临床实验室检查(血常规、肥达反应、血培养和/或粪便培养结果)以及暴发疫情调查报告。

2. 研究方法:

(1) 实验菌株:共475株伤寒沙门菌,均分离自1994—2013年广西各地监测实验室病例菌株;大肠埃希菌 ATCC25922 为药敏试验质控菌株,购自中国食品药品检定研究院。

(2) 药敏试验:参照临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)的操作规程采用纸片扩散法并根据抑菌圈直径判断敏感(S)、中介(I)、耐药(R)。抗菌药物纸片包括四环素(TET)、氨苄西林(AMP)、复方新诺明(SXT)、环丙沙星(CIP)、氯霉素(CHL)、诺氟沙星(NFX)、萘啶酮酸(NAL)、头孢噻肟(CTX)、庆大霉素(GEN)和链霉素(STR),均在有效期内使用。采用MH肉汤微量稀释法测试NAL耐药菌株对CIP的敏感性。药物微量稀释板为天津金章生物技术有限公司生产,CIP为0.008~16 μg/ml。最小抑菌浓度(MIC)值为无细菌生长的最低抗菌药物浓度。试验中以ATCC25922的MIC值为质控标准。抗菌药物阈值判定标准采用CLSI 2012版新标准。多重耐药型ACSSxT-NAL的判定标准为同时对氨苄西林、氯霉

素、链霉素、复方新诺明、四环素、萘啶酮酸6种耐药。

(3) 脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型:所有伤寒沙门菌参照国际实验室分子分型监测网络PulseNet中沙门菌PFGE分型标准方案。使用限制性内切酶Xba I进行酶切,获得的菌株PFGE图像录入BioNumerics(Version 5.1, Applied Maths, Inc.)软件,经校准后,使用非加权配对算术平均法(unweighted pair group average method, UPGMA)进行聚类,构建聚类树,分析菌株间的相似性。

3. 统计学分析:对伤寒疫情报告资料进行描述性流行病学分析。采用WHONET 5.3软件进行数据处理和分析。

结果

1. 流行特征:广西地区虽然在1995、2000、2001年及2004年出现发病高峰波动,发病率超过10.0/10万,但整体呈下降趋势(图1)。1993—2005年平均发病率为5.5/10万至13.6/10万,每年报告发病0.5万~12万例,病死2~374例,2006年平均发病率下降至3.04/10万,之后发病例数呈显著下降趋势,年平均发病率维持在2.0/10万至3.0/10万,但仍高于全国平均发病水平(发病率<1.0/10万),排在全国第二至四位,为我国伤寒高发省份之一。



图1 1993—2013年广西地区伤寒年均发病率变化趋势

2008—2012年广西地区累计报告病例数排在

三位的市为桂林、河池和百色,分别占全区发病总数的50.17%、14.74%和8.98%,3个市报告病例数占全区总数的73.79%,年均发病率为52/10万,属伤寒中度流行区。广西地区一年四季均有伤寒病例发生,其中2月最少,8月最多,以5—10月为发病高峰,占总病例数的60%以上(图2)。报告病例男女性别比为1.20:1,以<20岁人群发病较高,占总病例数的37.95%。病例职业构成多为农民和学生,分别占发病总数的42.29%和25.46%。伤寒流行方式以散发为主,占全部报告病例的90.13%。2001—2013年共发生伤寒暴发疫情13起,发病531例,暴发疫情多发生在农村(农民,43.25%)和学校(学生,30.56%)。传播途径有水型、接触型和混合型,其中水型传播为主要(78.03%)传播途径,暴发的主要因素是饮用水污染,此外疫情迟报和病例误诊、传染源管理不善等因素也是引起暴发和流行的关键因素。

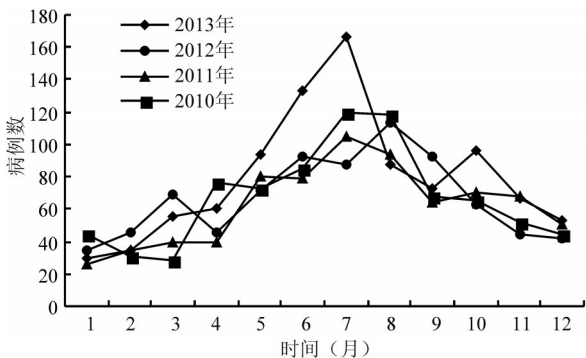


图2 2010—2013年广西地区伤寒病例月报告数分布

2. 伤寒沙门菌耐药特征:

(1) 菌株耐药情况:475株伤寒沙门菌对CTX和NFX敏感率均为100%;对TET、CHL、AMP、GEN的敏感率约为98%;对CIP、NAL的敏感率分别为89.89%和85.47%,对CIP的中介率为9.89%(47/475),只有1株菌表现为对CIP耐药;对STR、SXT的敏感性较低,分别为67.73%和65.89%。提示第三代头孢菌素(CTX)为广西地区治疗伤寒的首选药物。见表1。

表1 1994—2013年广西地区伤寒沙门菌的耐药率(%)

抗菌药物	S	I	R
AMP	97.89	0.42	1.68
CTX	100.00	0	0
CHL	98.32	1.26	0.42
CIP	89.89	9.89	0.21
NFX	100.00	0	0
GEN	97.89	1.26	0.84
NAL	85.47	-	14.53
STR	67.73	29.06	3.21
SXT	65.89	-	34.11
TET	99.16	0.63	0.21

(2) 菌株耐药性变迁:1996年以前菌株对TET、

CHL、GEN均具有较低耐药性(<15%,见图3)。对STR的耐药性出现4个高峰时段(1994、2000、2008—2009和2013年),菌株耐药率均>50%;对SXT的耐药性除1995年以前耐药率>50%外,1996年后菌株耐药率均维持在30%左右(图3)。菌株对NAL的耐药性出现于2002年,同时也伴随对CIP敏感性降低(图3),二者耐药率均在20%~30%之间,但至2013年后二者耐药率均达100%,菌株对CIP的MIC值为0.125~0.5 mg/L。

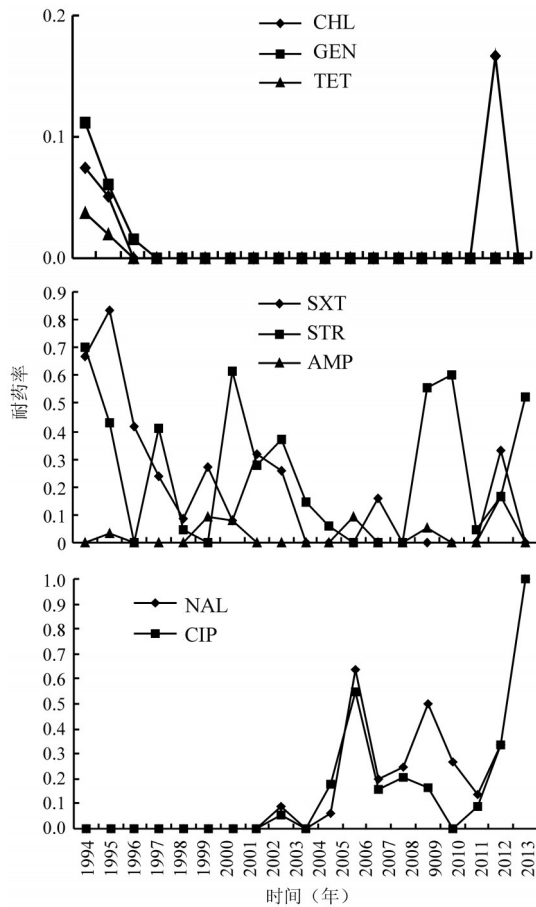


图3 1994—2013年广西地区伤寒菌株耐药率的时间变化趋势

(3) 耐药菌株的地区差异:不同市县来源的伤寒沙门菌对药物敏感性存在差异(由于其他市县菌株数量较少,本文仅分析3个市县的分离菌株)。全州县分离的伤寒沙门菌总体敏感率最低(15.45%,17/110),分离自河池市菌株的敏感率最高(65.12%,28/43),其次为桂林市城区菌株,敏感率为54.41%(37/68)。三者间的差异有统计学意义($P<0.05$)。3个市县菌株间药物敏感性差异主要表现为对单一药物,特别是SXT、NAL耐药率的差异,如全州县来源菌株对SXT的耐药率达46.36%,而桂林市菌株的耐药率仅为13.24%,河池市则无对SXT耐药菌株。对

NAL的耐药率,桂林市来源菌株为16.18%,全州县和河池市菌株仅约为5%。提示各市县应加强耐药监测。

(4)暴发和散发菌株耐药性差异:整体而言,广西地区伤寒暴发与散发菌株的耐药情况基本一致(表2)。提示对散发病例耐药性监测有助于指导暴发疫情时预防用药。

表2 1994—2013年广西地区伤寒暴发株与散发株的耐药率(%)

抗菌药物	暴发株			散发株		
	S	I	R	S	I	R
AMP	98.15	0.37	1.48	97.56	0.49	1.95
CTX	100.00	0	0	100.00	0	0
CHL	98.52	1.48	0	98.05	0.98	0.98
CIP	89.63	10.00	0.37	91.71	0	8.78
NFX	100.00	0	0	100.00	0	0
GEN	97.04	1.85	1.11	99.02	0.49	0.49
NAL	89.63	-	10.37	89.76	-	10.24
STR	70.00	27.78	2.22	75.61	20.98	3.41
SXT	60.00	-	40.00	73.17	-	26.83
TET	99.26	0.74	0	99.02	0.49	0.49

(5)多重耐药监测:475株菌对10种抗菌药物共产生23种耐药谱。其中耐1种药有145株,同时耐2种药有88株,耐≥3种药物有28株(5.89%),见表3。多重耐药谱型多见于散发菌株,但耐药谱型STR-NAL-CIP(共12株)发现于2013年都安县一起伤寒暴发,该起暴发共获得28株菌,除12株同时耐STR-NAL-CIP外,其余16株中除1株耐CIP外,15株则表现为对CIP敏感性降低。另外,分离自2012年桂林市区1株散发菌株表现为ACSSxT耐药表型,且同时对CIP敏感性降低。同此2006年平乐县一次暴发中分离的4株SXT-NAL-CIP耐药菌株也发现对CIP耐药性降低。可见近几年暴发菌株中更多出现多重耐药谱型,但地区间分布无差异。

表3 1994—2013年广西地区伤寒沙门菌多重耐药谱分布

耐药谱	菌株数	菌株分离情况
SXT-TET-GEN	1	散发菌株
STR-SXT-CIP	1	散发菌株
CHL-SXT-GEN	1	散发菌株
CHL-STR-SXT	3	2株暴发,1株散发
AMP-STR-SXT	1	散发菌株
AMP-NAL-CIP [†]	2	散发菌株
SXT-NAL-CIP [†]	4	暴发菌株
STR-NAL-CIP [†]	12	暴发菌株,其中1株为CIP [®]
CHL-STR-SXT-GEN	1	散发菌株
CHL-STR-SXT-TET-GEN	1	散发菌株
AMP-CHL-STR-SXT-TET-NAL-CIP [†]	1	散发菌株

注:CIP[®]:环丙沙星耐药,CIP[†]:环丙沙星中度敏感

3. 菌株PFGE分析:对100株多重耐药菌株及部分敏感菌株进行PFGE分型,共分为71个型别,优势

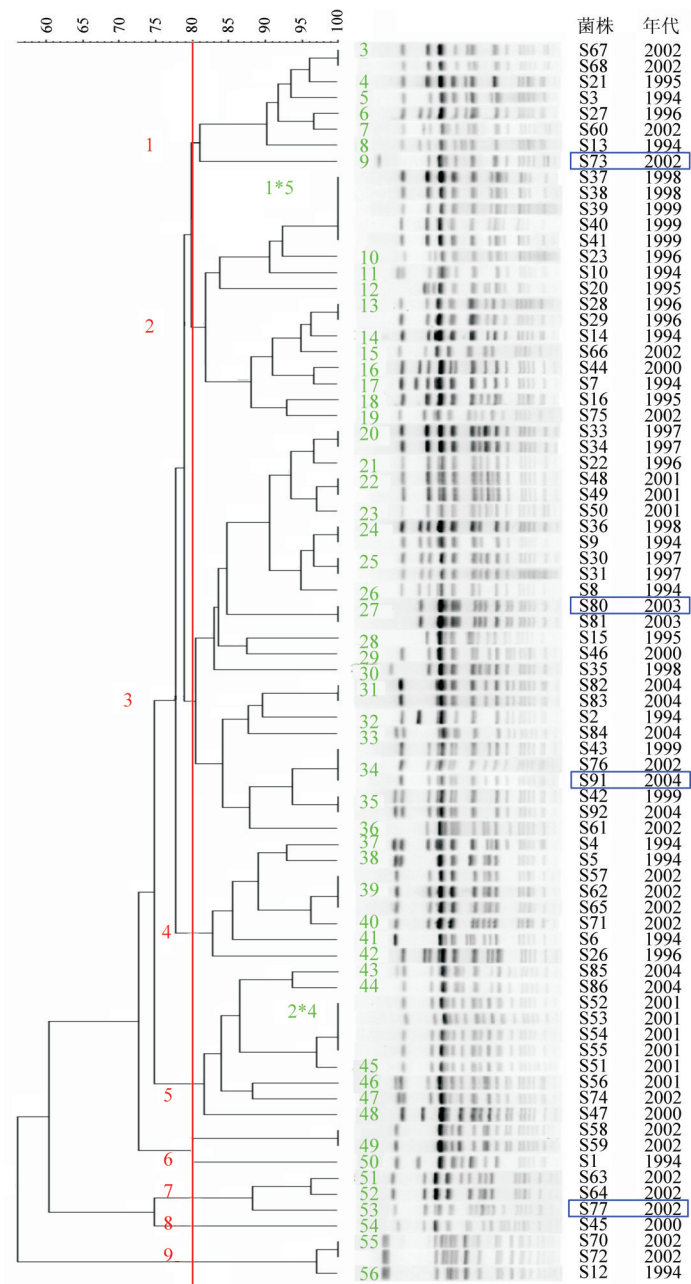
型别为1型和2型。若按80%的相似度划分,可将菌株分为15个群(部分PFGE图谱见图4)。可见不同年份分离菌株分属于不同的PFGE型别,同一年份散发菌株也属于不同的型别,说明广西地区伤寒沙门菌存在遗传多样性。另外,不同耐药谱型的伤寒沙门菌菌株具有不同的PFGE带型,反映了耐药菌株的多克隆化现象。

讨 论

本研究分析20年间广西地区伤寒报告病例,发现自2006年后伤寒发病人数显著降低,可能与当地政府自2001年始投入大量财力进行改水改厕,同时可能与1995年起在高发病地区学校推广伤寒Vi疫苗接种以及对易感人群实施的Vi疫苗干预(DOMI)项目在人群中形成一定的免疫屏障有关,学校卫生管理的加强也在很大程度上降低了伤寒暴发的概率。尽管如此仍高于全国平均发病水平,这与带菌者持续存在、病例报告延迟及不良卫生习惯有关。另外,广西地区为喀斯特地貌,地下水源更易被病原菌污染,可能也是病例持续存在,并不断出现暴发的原因。有学者研究了影响云南省伤寒流行的气候因素,发现气温、降水量与伤寒发病显著相关^[5,6]。水型传播是伤寒的主要暴发形式,与我国贵州、浙江等地及其他国家的报道相似^[7-10]。此现象与甲型副伤寒沙门菌引起的暴发明显不同,后者的暴发以食物型为主^[8,11]。

氟喹诺酮类抗生素是临床常用的一线药物,近年来陆续出现耐CIP的伤寒沙门菌感染^[1,2],造成临床治疗时间延长或失败,并增加病原携带的风险。本研究仅在2013年分离株中发现1株CIP耐药菌株,说明在广西地区伤寒沙门菌对氟喹诺酮类药物尚未产生高水平的耐药,但已观察到自2002年开始出现对CIP敏感性降低的菌株,并持续存在于后续的几年中,至2013年暴发疫情全部为CIP敏感性降低菌株,提示该类菌株存在扩散的趋势,虽然PFGE显示不同年份间菌株的PFGE图谱存在差异,但不排除多克隆散在暴发的可能。应加强该类耐药菌株的监测。

自20世纪90年代越南首先出现多重耐药伤寒沙门菌以来,多地陆续报道了多重耐药菌株包括少见的产广谱β-内酰胺酶(ESBL)菌株的出现及其引起的暴发^[3,4,9,12,13]。我国也零星报道了一些主要耐AMP、SXT及CHL的伤寒沙门菌,但均对NAL敏感。本研究未发现产ESBL的伤寒沙门菌,但发现1株分离自2012年散发病例的ACSSxT-NAL耐药表型菌株,且同时对CIP敏感性降低,这是国内首次在



注:红色数字代表不同的群,绿色数字为PFGE带型编号,蓝色框内为CIP敏感性降低菌株

图4 1994—2013年广西地区部分时间内伤寒沙门菌PFGE图谱

伤寒沙门菌中发现这一耐药表型,说明该菌株中含有类似IncHI1的多重耐药质粒^[14],提示该外源基因元件在不同菌种之间的频繁水平转移,也警示应加强该类菌株的监测,防止扩散及暴发。

自90年代中末期广西地区甲型副伤寒已取代伤寒沙门菌成为优势菌型,引起较多病例和暴发疫情^[15]。但近几年监测发现,自病例分离的伤寒沙门菌比例呈上升趋势,由2006年的10.7%上升至2012年的92.8%,这是否与抗NAL及CIP耐药菌株出现有关,值得进一步探讨。

总之,本研究通过对广西地区近20年伤寒疫情资料分析发现,伤寒发病水平仍较高,属全国高发省份,且菌株中出现了一定比例的氟喹诺酮类药物敏感性降低的菌株,及首次发现ACSSxT-NAL多重耐药现象,提示应加强疫情及耐药监测,建立全国耐药监测网络,防止耐药株引起当地或跨地区的暴发和流行。

参考文献

[1] Crump JA, Kretsinger K, Gay K, et al. Clinical response and outcome of infection with *Salmonella enterica* serotype Typhi with decreased susceptibility to fluoroquinolones: a United States FoodNet multicenter retrospective cohort study [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52: 1278-1284.

[2] Felicita M, Maria SK, Sanghyuk S, et al. Ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhi, United States, 1999-2008 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2011, 17(6): 1095-1098.

[3] Yvonne P, Jens M, Wolfgang R. *Salmonella enterica* serovar Typhi with CTX-M β -lactamase, Germany [J]. *Emerg Infect Dis*, 2009, 15(9): 1533-1534.

[4] Nashwan AN, Bastiaan Z, Martine CR, et al. Extended-spectrum-beta-lactamase production in a *Salmonella enterica* serotype Typhi strain from the Philippines [J]. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(8): 2794-2795.

[5] Wang LX, Yan MY, Fang LQ, et al. Typhoid and paratyphoid fever in Yunnan province: distributional patterns and the related meteorological factors [J]. *Chin J Epidemiol*, 2011, 32(5): 485-489. (in Chinese)

王鲁茜, 闫梅英, 方立群, 等. 云南省伤寒副伤寒空间分布特征及其气候影响因素研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2011, 32(5): 485-489.

[6] Wang JF, Wang Y, Zhang J, et al. Spatiotemporal transmission and determinants of Typhoid and paratyphoid fever in Hongta district, Yunnan province, China [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2013, 7(3): e2112.

[7] Tao Q, He P, Xie Y, et al. Etiological analysis of typhoid and paratyphoid fever in Guizhou province, 1951-2001 [J]. *Chin J Public Health*, 2001, 19(9): 1149-1150. (in Chinese)

陶沁, 何平, 谢阳, 等. 贵州省1951—2001年伤寒、副伤寒流行原因分析 [J]. *中国公共卫生*, 2001, 19(9): 1149-1150.

[8] Gao JX, Zhang J. Analysis of the epidemiological characteristics and risk factors of typhoid and paratyphoid outbreak in China, 2004 to 2007 [J]. *Dis Surveill*, 2008, 23(11): 698-701. (in Chinese)

高金霞, 张静. 2004—2007年中国大陆地区伤寒、副伤寒暴发疫情流行特征及危险因素分析 [J]. *疾病监测*, 2008, 23(11): 698-701.

[9] Lewis MD, Serichantalergs O, Pitarangsi C, et al. Typhoid fever: a massive, single-point source, multidrug-resistant outbreak in Nepal [J]. *Clin Infect Dis*, 2005, 40: 554-561.

[10] Tran HH, BJune G, Nguyen BM, et al. Risk factors associated with typhoid fever in Son La province, northern Vietnam [J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2005, 99: 819-826.

[11] Qin SW, Chen EF, Xie SY, et al. Epidemiological analysis of typhoid and paratyphoid fever in coastal area of Zhejiang in China, 2004-2006 [J]. *Chin Prev Med*, 2008, 9(4): 284-286. (in Chinese)

秦淑文, 陈恩富, 谢淑云, 等. 2004—2006年浙江省沿海地区伤寒副伤寒疫情及监测结果分析 [J]. *中国预防医学杂志*, 2008, 9(4): 284-286.

[12] Wain J, Kidgell C. The emergence of multidrug resistance to antimicrobial agents for the treatment of typhoid fever [J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2004, 98: 423-430.

[13] Connerton P, Wain J, Hien TT, et al. Epidemic typhoid in Vietnam: molecular typing of multiple-antibiotic-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhi from four outbreaks [J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38: 895-897.

[14] Parkhill J, Dougan G, James KD, et al. Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18 [J]. *Nature*, 2001, 413: 848-852.

[15] Lin M, Tang ZZ, Dong BQ, et al. Typhoid and paratyphoid fever epidemic in Guangxi, 1993-2002 [J]. *South China J Prev Med*, 2003, 29(4): 10-12. (in Chinese)

林玫, 唐振柱, 董柏青, 等. 1993—2002年广西伤寒、副伤寒流行特征及防治对策分析 [J]. *华南预防医学*, 2003, 29(4): 10-12.

(收稿日期: 2014-01-23)
(本文编辑: 张林东)