

广东省佛山市鼠伤寒沙门菌分子分型及其多重耐药分析

骆艳婷 梁景涛 陈爱贞 廖华乐 何秀榕

【关键词】 鼠伤寒沙门菌; 脉冲场凝胶电泳; 多重耐药

Study on the status of multi-drug resistance and molecular characteristics of *Salmonella typhimurium* in Foshan city, Guangdong

Luo Yanting, Liang Jingtao, Chen Aizhen, Liao Huale, He Xiurong. Foshan Center for Disease Control and Prevention, Foshan 528000, China

Corresponding author: Liao Huale, Email: fs-jyk@163.com

This work was supported by a grant from the Medical Research Projects of Foshan (No. 2010167).

【Key words】 *Salmonella typhimurium*; Pulsed-field gel electrophoresis; Multi-drug resistance

本研究对2012年佛山市分离到的28株鼠伤寒沙门菌进行多重耐药谱分析,并采用脉冲场凝胶电泳(PFGE)方法进行分型,分析耐药谱和分子分型之间的关系。

1. 材料与方法:

(1)菌株来源:26株来源于2012年佛山市食源性疾病监测项目中感染性腹泻患者(2株菌株分离自同一名反复感染沙门菌的患儿)的肛拭子标本;另外2株菌株来源于2只宠物乌龟外表涂抹样本。所有菌株均按照国家标准方法进行鉴

定,并用丹麦SSI诊断血清进行分型,均符合鼠伤寒沙门菌特点。药敏试验质控菌株为大肠埃希菌ATCC25922,PFGE分析的分子质量参考标准株为沙门菌Braenderup血清型全球参考菌株H9812^[1],由广东省疾病预防控制中心(CDC)提供。

(2)流行病学调查:监测中有1例反复感染沙门菌患儿,发病前5天内饮食史无异常。调查发现该患儿家中喂养2只宠物龟(甲和乙),并有经常用手触摸乌龟同时吸吮手指的习惯。采集该患儿粪便样本、其母亲肛拭样本、2只乌龟外表涂抹样本进行初筛。结果显示,除患儿母亲肛拭样本外,其余标本均检出鼠伤寒沙门菌。

(3)实验方法:按照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)推荐的K-B法用氨苄西林(AMP)、头孢他啶(CAZ)、环丙沙星(CIP)、氯霉素(CHL)、头孢噻肟(CTX)、头孢吡肟(FEP)、庆大霉素(GEN)、萘啶酸(NAL)、链霉素(S)、磺胺复合物(S3)、四环素(TE)和甲氧苄氨嘧啶(W)12种药物对菌株进行药物敏感试验。按照美国CDC公布的沙门菌PFGE方法^[2],对菌株进行分型。

(4)统计学分析:采用BioNumerics v6.6软件对电泳图像进行分析,得出聚类树状图。

2. 结果:

(1)耐药性分析:28株菌株对CAZ和CTX(三代药物)敏感率为分别为67.86%和53.57%,对FEP(四代药物)敏感率78.57%,对喹诺酮类药物CIP敏感率为50.00%,而对AMP、CHL、GEN、NAL、S3、W、S和TE敏感率均低于50.00%。28

株菌株耐 >3 种抗生素的多重耐药株占 92.86% (26/28)。26 株多重耐药菌株中耐 4~5 种抗生素占 30.77% (8/26), 耐 6~12 种抗生素占 69.23% (18/26)。

(2) PFGE 分型: 28 株鼠伤寒沙门菌可分为 20 个 PFGE 型, 相似值 58.90%~100.00%, 分别命名为 A~T 型, 其中优势条带型为 S 型别, 包含 5 株菌 (2 株来源于乌龟), 见图 1。

(3) PFGE 分型与耐药性的相关性: H、L 和 N 型型内菌株耐药谱完全相同, S 型型内 23 号 (来源于乌龟甲)、25、26 号 (来源于同一患儿的 2 次肛拭子标本) 菌株均对 AMP、GEN、

CTX、FEP 4 种抗生素耐药; 而 24 号菌株 (来源于乌龟乙) PFGE 型别与上述 3 株菌株一致、耐药谱差异较大, 仅对萘啶酸中度敏感。来源于临床分离标本的 27 号菌株与前 4 株菌株耐药谱也不相同, 见表 1。其余不同型别的耐药谱有较大差异。

3. 讨论: 28 株鼠伤寒沙门菌对 AMP、磺胺类、S、TE、NAL、氨基糖苷类、CHL 有较高耐药性, 均超过 50%, 与 Cabrera 等^[3]报道相符。提示临床治疗鼠伤寒引起的感染性腹泻患者不宜采用以上抗生素治疗。

本研究显示, 佛山市鼠伤寒沙门菌的 PFGE 型别呈现多样性。从聚类分析图上可以看出, 在 20 种带型中一半以上带型遗传相似度高于 90%, 遗传距离很近, 属于相同克隆系, 提示变异中存在的相对稳定性。

PFGE 型别相同的菌株耐药谱非常接近, 特别是 H、L 和 N 型型内菌株耐药谱完全相同。值得一提的是, S 型内菌株药敏结果显示, 来源于宠物乌龟甲的菌株耐药谱与患儿 2 份肛拭子耐药谱十分相似, 而宠物乌龟乙的菌株则与前 3 株菌耐药谱不完全相同。将药敏、PFGE 分子分型结果与流行病学调查结果结合分析, 推测宠物乌龟甲身上携带的鼠伤寒沙门菌可能是患儿感染源头。

[本研究得到佛山市医学科研项目 (2010167) 支持]

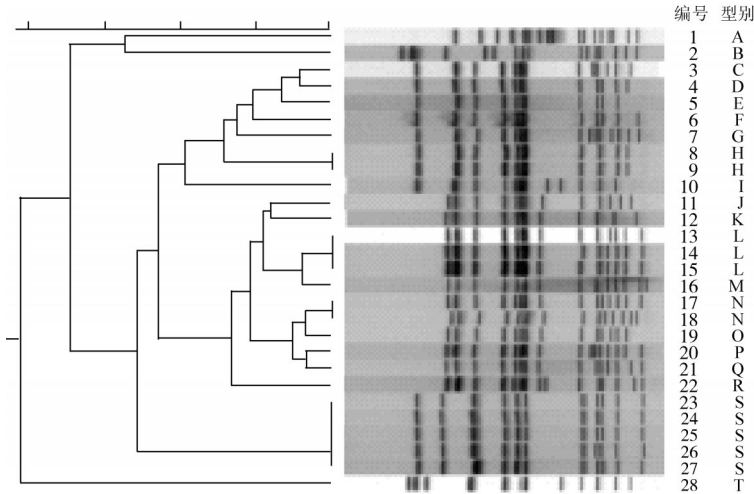


图 1 28 株鼠伤寒沙门菌 PFGE 分型

表 1 沙门菌 H、L、N、S 型型内菌株耐药谱比较

菌株编号	AMP	CAZ	CIP	CHL	CTX	FEP	NAL	S3	S	TE	W	GEN	PFGE 分型
H 型菌株 8	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	100%
9	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	
L 型菌株 13	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	100%
14	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	
15	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	
N 型菌株 17	R	S	I	R	I	S	R	R	R	R	R	R	100%
18	R	S	I	R	I	S	R	R	R	R	R	R	
S 型菌株 23	R	I	S	S	R	R	I	S	S	S	S	R	100%
24	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	
25	R	R	S	S	R	R	I	S	S	S	S	R	
26	R	R	S	S	R	R	I	S	S	S	S	R	
27	R	R	S	S	R	R	R	S	I	S	S	R	

注: S: 敏感; I: 中度耐药; R: 耐药

参 考 文 献

[1] Hunter SB, Vauterin P, Lambert M, et al. Establishment of universal size standard, strain for use with the pulse net standardized pulse-field gel electrophoresis protocols: converting the national databases to the new size standard [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(3): 1045-1050.

[2] Centers for Disease Control and Prevention. PulseNet Protocols

[EB/OL]. (2011-02-09) [2011-07-06]. <http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols.htm>.

[3] Cabrera R, Ruiz J, Marco F, et al. Mechanism of resistance to several antimicrobial agents in *Salmonella* clinical isolates causing traveler's diarrhea [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(10): 3934-3939.

(收稿日期: 2014-05-22)
(本文编辑: 万玉立)