

肠炎沙门菌质粒与沙门菌疾病关系的研究

赵英伟 卢明俊

本文就沙门菌耐药质粒和毒力质粒与沙门菌引起的食物中毒和医院内感染关系进行探讨,以求为预防和控制沙门菌病提供依据。

1. 调查对象与方法:①三起食物中毒事件总计 57 例病例,中毒病例均有食酱牛肉史。从病例粪便和剩余酱牛肉中分离出 8 株菌,经过鉴定均为肠炎沙门菌,血清学鉴定为 1, 9, 12, g, m: -, 编号为 31~38。②院内感染:哈尔滨市儿童医院 1 年内多起院内感染病例,患儿年龄 2 月龄~14 岁,平均年龄 4.5 岁,对腹泻患儿的 217 份粪便标本进行细菌分离,分离出 28 株肠炎沙门菌,编号为 1~28。③质粒提取与质粒消除:采用碱性裂解法提取质粒^[1],用 Hill^[2]法消除质粒;以电泳后紫外光下显示质粒消失的菌定为衍生株 I [只含质粒相对分子质量(M_r) 3.6×10^7]和衍生株 II (不含质粒)。④细菌毒力实验(31~38 号菌);血清抗性试验:取用生理盐水稀释好的菌悬液 $10 \mu\text{l}$ (菌落计数法测含菌约 300 cfu),加入 $90 \mu\text{l}$ 新鲜豚鼠血清 37°C 温育 3 h。采用平皿倾注培养法,计数活菌数,同时以 56°C 10 min 处理过的新鲜豚鼠血清为对照。豚鼠角膜炎试验:用 3 种菌液各 $50 \mu\text{l}$ 滴入正常健康的豚鼠眼结膜袋,对照组豚鼠眼内滴入稀释用生理盐水。小鼠毒力试验:取健康纯系 BalB/C 小鼠,雌雄各半,体重 $13 \text{g} \pm 2 \text{g}$ 。将实验动物按照随机数字表分配到 3 种菌液的各剂量组,每组 8 只,每只腹腔注射 $50 \mu\text{l}$ 菌液,观察 3 周,按照文献^[3]计算小鼠半数致死量。⑤药敏试验:采用 WHO 推荐的 K-B 法^[1],药敏纸片 9 种:氯霉素(Cm)、链霉素(Sm)、四环素(Tc)、先锋霉素(Cp)、庆大霉素(Gm)、丁胺卡那霉素(AKN)、红霉素(Em)、卡那霉素(Km)和氨苄青霉素(Am),测定标准及结果解释参照 NCCLS^[1]。

2. 结果:哈尔滨市儿童医院院内感染沙门菌共有 7 个质粒图谱型,质粒数目 1~8 个,食物中毒沙门菌仅有一个质粒图谱型,均有两条质粒带,质粒 M_r 分别为 6.2×10^7 和 3.6×10^7 。对食物中毒分离出的 8 株菌进行了质粒消除获两个衍生株,即衍生株 I (只含质粒 $M_r 3.6 \times 10^7$)和衍生株 II (不含质粒)。血清抗性试验结果 3 种菌液与豚鼠的新鲜血清混合培养 3 h,活菌计数结果为亲代株、衍生株 I 和衍生株 II 的血清抗性分别为 66%、32%和 0%。豚鼠角膜试验结果,实验动物于注射菌液 48 h 后发生感染,角膜出现充血红肿,其中没有引起炎症反应的为衍生株 II;引起炎症但没有

引起化脓性分泌物的为衍生株 I;引起炎症且有化脓性分泌物的为亲代株。小鼠毒力试验结果,计算出亲代株对小鼠腹腔注射半数致死量为 5.6×10^2 cfu, 衍生株 I 为 6.9×10^3 cfu, 衍生株 II 为 7.7×10^5 cfu。耐药质粒 36 株菌均携带有大小不等的质粒,其中 29 株菌携带 $M_r 3.6 \times 10^7$ 质粒,占 84.6%。食物中毒肠炎沙门菌呈多重耐药性,对 Tc、Sm、Am、Cp 4 种抗生素耐药;院内感染肠炎沙门菌多数亦呈多重耐药性,而且耐药谱比较集中,主要是对 Cp、Am 耐药。对含有 $M_r 3.6 \times 10^7$ 质粒的 29 株菌进行质粒消除后,耐药情况则有很大变化,88%的菌株 M_r 在 3.6×10^7 质粒消除后对所试的抗生素敏感。

3. 讨论:在医院内感染以及食物中毒中,沙门菌是一个重要菌属,其分型在流行病学上非常重要。因为它提供了病例之间、疫源地之间及病例与食物或其他媒介之间的相关性。本实验表明传统的分型方法认为是同一株菌,用质粒图谱方法却并非同一来源菌,因此质粒图谱分型方法比传统的沙门菌分型方法更具优越性,其特点是特异性好、分析周期短、简便稳定,可作为医院内外沙门菌感染的流行病学追踪和监测的手段。儿童医院院内感染质粒谱型复杂,28 株菌含有 7 个质粒图谱型,含 1~8 个质粒。说明同一年度内同一地点的相同菌种的感染,其感染源不完全相同,即其数次院内感染的菌株克隆来源为多源性。食物中毒沙门菌所携带的毒力质粒与宿主菌的毒力密切相关,毒力质粒提高了宿主菌的血清抗性,增强了宿主菌对小鼠的毒力作用,并能引起严重的豚鼠角膜炎。研究结果证明毒力质粒在沙门菌引起疾病过程中的重要作用,即有毒力质粒的菌株其毒力强,致病力强。

参 考 文 献

- 1 Scott D Holmberg, Kaye Wachsmuth, Frances W Hickman-brenner, et al. Comparison of plasmid profile analysis, phage typing, and antimicrobiol susceptibility testing in characterizing *Salmonella typhimurium* isolates from outbreak. J Clin Microbiol, 1984, 19: 100.
- 2 Hill WE, Charles LC. Loss of plasmids during enrichment for *Escherichia coli*. Appl Environment Microbiol, 1981, 41: 1046.
- 3 Nakamura M, Sato S, Ohya T, et al. Possible relationship of a 36 megadalton *Salmonella enteritidis* plasmid to virulence in mice. Infect Immun, 1985, 47: 831-833.

(收稿日期:2002-10-20)

(本文编辑:尹廉)