

研究报告



杭州地区多重耐药沙门氏菌的耐药特征

郑之北* 郑伟 汪皓秋 俞骅 潘劲草 陈琦 刘小东

杭州市疾病预防控制中心 浙江 杭州 310021

摘要:【背景】沙门氏菌是重要的食源性致病菌,其多重耐药现象不容忽视。【目的】分析杭州地区临床来源多重耐药沙门氏菌的耐药特征和感染状况。【方法】利用微量肉汤稀释法对339株沙门氏菌进行14类28种药物的最低抑菌浓度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)测定,对同时耐3类或3类以上药物的多种耐药株进行耐药特征、血清型分布等分析,并对其进行Xba I酶切及脉冲场凝胶电泳(Pulse Field Gel Electrophoresis, PFGE)。【结果】从339株沙门氏菌中检出234株多重耐药株,多重耐药率达69.03%,近3年数据比较结果显示差异无统计学意义($\chi^2=0.117$, $P=0.943$);以同时耐4–8类药物的菌株多见,合计占总菌株数的56.93% (193/339);大部分多重耐药沙门氏菌(199/234, 85.04%)同时耐5–13种药物;菌株的耐药模式较为分散,相对优势的耐药谱为AMP-AMS-NAI-STR-SUL (10株, 4.27%)和AMP-STR-TET-MIN-DOX-SUL (7株, 2.99%);鼠伤寒单相变种和德尔卑血清型的多重耐药现象较为突出,其多重耐药率分别为97.06% (66/68)和100% (11/11);234株多重耐药沙门氏菌分为162个PFGE带型,相似度为44.2%–100%,其带型呈散在多态性;PFGE带型相同的菌株,其耐药类别和耐药谱不一定相同,PFGE带型不同的菌株,其耐药类别和耐药谱也可能相同。【结论】杭州地区临床来源沙门氏菌多重耐药现象普遍,但耐药谱分散,耐药表型呈多样性,而且PFGE带型呈散在多态性,与耐药表型也不存在对应关系。其基因组特征和主要食物来源有待于进一步研究。

关键词: 沙门氏菌, 多重耐药, 药敏试验, 脉冲场凝胶电泳

Characteristics and molecular subtyping of multidrug resistant *Salmonella* in Hangzhou

ZHENG Zhibei* ZHENG Wei WANG Haoqiu YU Hua PAN Jincan CHEN Qi
LIU Xiaodong

Hangzhou Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310021, China

Abstract: [Background] *Salmonella* is one of the most important food-borne pathogens. Its multidrug resistance has attracted more and more attention. [Objective] To analyze the antimicrobial-resistant characteristics and molecular subtyping of multidrug resistant (MDR) *Salmonella* from clinical sources in

Foundation items: Scientific Research Fund for Healthcare and Key Diseases Program of Hangzhou Science and Technology Bureau (20140633B24); Medical Health Science and Technology Project of Health Commission of Zhejiang Province (2020ZH028)

*Corresponding author: E-mail: zzb189@126.com

Received: 26-02-2020; **Accepted:** 07-05-2020; **Published online:** 07-08-2020

基金项目: 杭州市科技局医疗卫生及重点专科专病科研攻关专项(20140633B24); 浙江省医药卫生科技计划(2020ZH028)

*通信作者: E-mail: zzb189@126.com

收稿日期: 2020-02-26; **接受日期:** 2020-05-07; **网络首发日期:** 2020-08-07

Hangzhou, the present study was performed. **[Methods]** A total of 339 *Salmonella* isolates from clinical sources were subjected to antimicrobial susceptibility testing and the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined. The MDR isolates, which show reduced susceptibility to at least 3 of the 14 antimicrobial categories tested, were analyzed the drug-resistant characteristics, serotype distribution, and the molecular subtyping by pulsed field gel electrophoresis (PFGE). **[Results]** Among the 339 *Salmonella* isolates, 234 MDR isolates were found and the MDR rate reached 69.03%. No significant difference was observed in the MDR rate from 2017 to 2019 ($\chi^2=0.117$, $P=0.943$). Isolates resistant to 4–8 antimicrobial categories were most common, accounting for 56.93% (193/339) of the total number of *Salmonella* isolates. Most of the MDR isolates (199/234, 85.04%) showed resistance to 5–13 antimicrobial agents. The resistance patterns of the MDR isolates were quite diverse, and the relatively dominant patterns were AMP-AMS-NAL-STR-SUL (10, 4.27%) and AMP-STR-TET-MIN-DOX-SUL (7, 2.99%). The level of MDR in *Salmonella* Derby and monophasic *Salmonella* Typhimurium was prominent, which MDR rate was 100% (11/11) and 97.06% (66/68), respectively. The 234 MDR *Salmonella* isolates were subtyped into 162 molecular types by PFGE, with the similarity of 44.2%–100%. The PFGE profiles of the MDR isolates showed high polymorphism and no predominant PFGE profile was found, except for serotype Enteritidis and Typhimurium. For the isolates with identical PFGE profiles, their MDR patterns were either identical or different. For those with different PFGE profiles, the MDR patterns may also be identical. **[Conclusion]** High level of MDR was observed in *Salmonella* from clinical sources in Hangzhou, with the MDR patterns being quite diverse, and the PFGE profiles showed high polymorphism. The results showed that the infection of MDR *Salmonella* in Hangzhou was mainly sporadic. However, the genomic characteristics and the main food origin of MDR *Salmonella* in Hangzhou need to be further studied.

Keywords: *Salmonella*, multidrug resistance (MDR), antimicrobial susceptibility testing, pulse field gel electrophoresis (PFGE)

沙门氏菌是重要的食源性致病菌,随着抗菌药物在临床治疗和畜牧业生产中的广泛应用,沙门氏菌的耐药现象日益严重^[1-2]。2017年,国家卫计委建立了国家致病菌识别网,要求对肠道分离的沙门氏菌开展耐药监测。通过监测发现,杭州地区同时对3类或3类以上抗菌药物耐药的多重耐药(Multidrug Resistance, MDR)现象较为普遍,为明确杭州地区MDR沙门氏菌的耐药特征和感染状况,本研究对杭州地区2017–2019年临床分离的MDR沙门氏菌进行耐药类别、耐药谱构成、血清型分布,以及PFGE分型等分析。

1 材料与方法

1.1 菌株

以杭州市辖区内13个区、县(市)的16家哨点医院作为监测点,其中包括2家儿童医院,1家传染病医院,其余均为综合性医院。沙门氏菌菌株分离自2017–2019年有可疑食物暴露史的以腹泻症状

为主诉的就诊病人的粪便或肛拭样本,其中2017年77株、2018年116株、2019年146株。

1.2 主要试剂和仪器

革兰阴性细菌鉴定卡、VITEK[®] 2 Compact全自动微生物鉴定系统, BioMérieux公司; 肠杆菌科药敏试剂盒I、II, 山东鑫科生物科技股份有限公司; 沙门氏菌血清型鉴定用诊断血清, SSI公司; 蛋白酶K、限制性内切酶 *Xba* I, 大连 TaKaRa公司; PFGE专用琼脂糖 Seakem Gold Agarose, Lonza公司。浊度分析仪、自动接种仪、药敏分析仪, 山东鑫科生物科技股份有限公司; 脉冲场凝胶电泳仪、凝胶成像系统, Bio-Rad公司。

1.3 菌株鉴定和血清分型

沙门氏菌菌株的分离培养与鉴定按照《感染性腹泻诊断标准》(WS 271-2007)^[3]和《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)^[4]进行, 生化鉴定使用 VITEK[®] 2

Compact 全自动微生物鉴定系统, 血清分型采用丹麦 SSI[®]沙门氏菌血清型鉴定用诊断血清。

1.4 药敏试验

使用国家致病菌识别网定制肠杆菌科药敏试

剂盒, 利用微量肉汤稀释法测定 14 类 28 种抗菌药物对沙门氏菌的最低抑菌浓度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC), 药物种类及浓度详见表 1, 药物类别参照 Magiorakos 等报道^[5], 耐药折点参照

表 1 药敏试验所用药物

Table 1 Drugs used in the antimicrobial susceptibility testing

类别序号 Category No.	药物类别 Antimicrobial category	药物名称 Antimicrobial agent	浓度范围 Concentration range (μg/mL)	MIC 折点 MIC breakpoint (μg/mL)
1.1*	青霉素类 Penicillin	氨苄西林 Ampicillin, AMP	2-64	≥32
1.2	青霉素类和酶抑制剂 Penicillin+β-lactamase inhibitor	氨苄西林-舒巴坦 Ampicillin-sulbactam, AMS 阿莫西林/克拉维酸 Amoxicillin-clavulanate, AMC	2/1-64/32 2/1-64/32	≥32/16 ≥32/16
1.3	一、二代头孢菌素类 1st and 2nd generation cephalosporin	头孢唑林 Cefazolin, CFZ	0.5-16	≥8
1.4	三、四代头孢菌素类 3rd and 4th generation cephalosporin	头孢噻肟 Cefotaxime, CTX 头孢他啶 Ceftazidime, CAZ 头孢吡肟 Cefepime, FEP	0.25-8 0.5-16 0.25-16	≥4 ≥16 ≥16
1.5	头霉素类 Cephamecin	头孢西丁 Cefoxitin, CFX	2-64	≥32
1.6	碳青霉烯类 Carbapenem	亚胺培南 Imipenem, IMI 美罗培南 Meropenem, MEM	0.25-8 0.06-4	≥4 ≥4
1.7	单环 β-内酰胺类 Monobactam	氨曲南 Aztreonam, AZM	1-32	≥16
2.	喹诺酮和氟喹诺酮类 Quinolone and fluoroquinolone	萘啶酸 Nalidixic acid, NAL 环丙沙星 Ciprofloxacin, CIP 左氧氟沙星 Levofloxacin, LEV 吉米沙星 Gemifloxacin, GEM	2-64 0.03-32 0.12-8 0.015-16	≥32 ≥1 ≥2 ≥1
3.	大环内酯类 Macrolide	阿奇霉素 Azithromycin, AZI	2-64	≥32
4.	氨基糖苷类 Aminoglycoside	链霉素 Streptomycin, STR 庆大霉素 Gentamicin, GEN 卡那霉素 Kanamycin, KAN 阿米卡星 Amikacin, AMI	4-32 1-32 8-64 4-128	≥32 ≥16 ≥64 ≥64
5.	四环素类 Tetracycline	四环素 Tetracycline, TET 多西环素 Doxycycline, DOX 米诺环素 Minocycline, MIN	1-32 0.5-16 1-32	≥16 ≥16 ≥16
6.	苯丙醇类 Phenicol	氯霉素 Chloramphenicol, CHL	2-64	≥32
7.	叶酸途径拮抗剂 Folate pathway antagonist	复方新诺明 Trimethoprim-sulfamethoxazole, SXT 磺胺甲基异噁唑 Sulfisoxazole, SUL	0.25/4.75-8/152 32-512	≥4/76 ≥512
8.	脂肽类 Lipopeptide	多粘菌素 B Polymyxin B, POL 多粘菌素 E Colistin, COL	0.5-16 0.5-16	≥8 ≥4

注: *1.1-1.7 类药物可归为 β-内酰胺类

Note: Drugs of category 1.1-1.7 can be classified as β-lactams

2020 版美国临床与实验室标准化研究所(CLSI)药敏试验操作标准^[6]和中国疾病预防控制中心 2017 版国家致病菌识别网技术手册(药物敏感实验篇)。

1.5 PFGE 分型

按照美国 PulseNet 推荐的沙门氏菌 PFGE 分型方法,对 MDR 沙门氏菌进行 *Xba* I 酶切和 PFGE 分型,采用 Bionumerics V6.6 软件对电泳图谱进行聚类分析,相似度系数采用 Dice,聚类方法为 UPGMA,条带位置的差异容许度(Tolerance)和优化值(Optimization)均设置为 1.5%,相似度为 100%时认定为同一 PFGE 带型^[7]。

1.6 统计分析

利用 Excel 2013 进行数据统计和图表制作,利用 SPSS 21.0 进行卡方检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 沙门氏菌耐药概况

339 株沙门氏菌对 14 类 28 种抗菌药物的耐药

情况详见图 1。由图 1 可知,沙门氏菌对 AMP、SUL、DOX、TET、STR、AMS 等 6 种药物的耐药率大于 50%,对 NAL、CHL、SXT、MIN、CFZ 等 5 种药物的耐药率在 50%–25%之间,对其余 17 种药物的耐药率均低于 20%;未发现对美罗培南(MEM)耐药的菌株。2017、2018 年均未发现对阿米卡星(AMI)耐药的菌株,2019 年发现 2 株耐阿米卡星(AMI)的菌株。

2.2 MDR 沙门氏菌的耐药模式与耐药谱分析

在检测的 339 株沙门氏菌中,对 14 类 28 种抗菌药物均不耐药的菌株有 62 株(18.29%),耐 1 类或 2 类药物的分别有 21 株(6.19%)和 22 株(6.49%),耐 3 类或 3 类以上的 MDR 菌共 234 株(69.03%)。在 234 株 MDR 沙门氏菌中,以耐 4–8 类药物的菌株多见,其中,耐 4 类的 33 株,耐 5 类的 45 株,耐 6 类的 37 株,耐 7 类的 54 株,耐 8 类的 24 株,合计占总菌株数的 56.93% (193/339),占 MDR 菌的 82.48% (193/234) (其余的均 ≤ 11 株)。2017–2019 年的 MDR

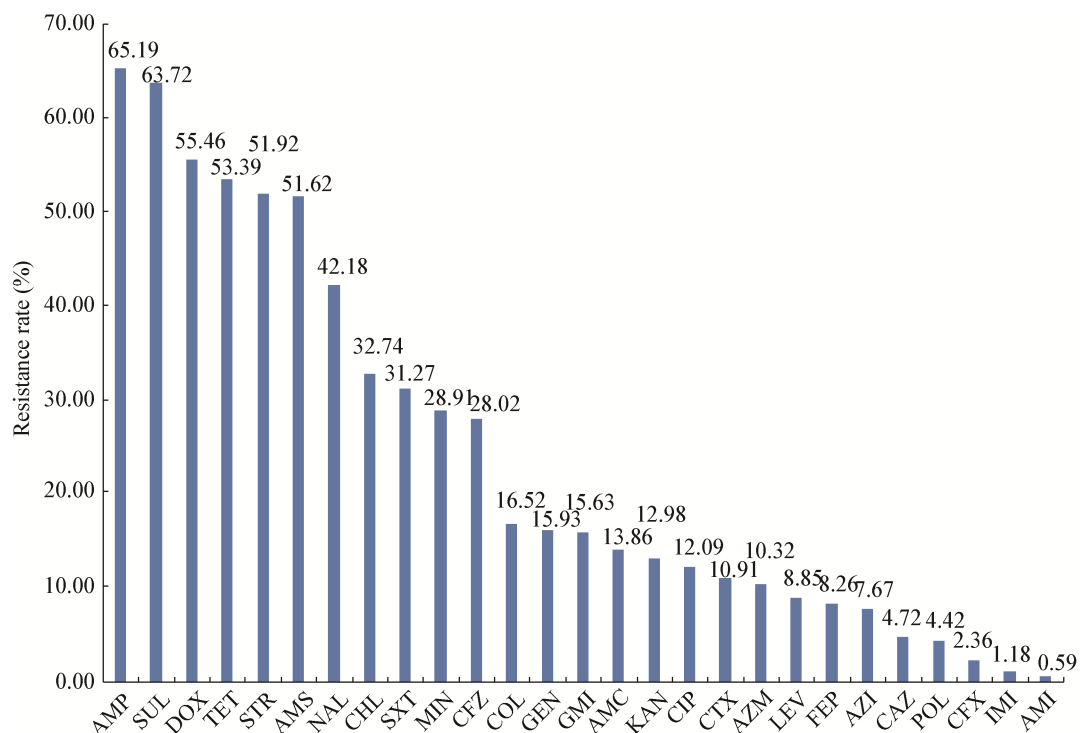


图 1 沙门氏菌对各种药物的耐药率

Figure 1 Resistance rate of *Salmonella* to different antimicrobiol agents

率分别为 67.53% (52/77)、69.83% (81/116)和 69.18% (101/146), 差异无统计学意义($\chi^2=0.117$, $P=0.943$)。

234 株 MDR 沙门氏菌按耐药类别共分为 41 种耐药模式, 其中以 1-2-4-5-6-7 (28 株)、1-4-5-7 (27 株)、1-2-4-7-8 (23 株)及 1-4-5-6-7、1-5-6-7、1-2-3-4-5-6-7 (各 16 株)模式较为多见, 合计占 53.85% (126/234) (数字所代表的药物类别详见表 1, 因耐药模式分散, 将 1.1–1.7 类归为 β -内酰胺类进行统计); 菌株的耐药谱也较分散, 相对优势的耐药谱有 7 种, 分别为 AMP-AMS-NAL-STR-SUL (10 株, 属 1-2-4-7 耐药模式)、AMP-STR-TET-MIN-DOX-SUL (7 株, 属 1-4-5-7 模式)、AMP-CFZ-AMS-AMC-NAL-STR-SUL-COL 和 AMP-AMS-NAL-STR-SUL-COL (各 6 株, 均属 1-2-4-7-8 模式), 以及 AMP-CFZ-AMS-NAL-STR-SUL-COL-POL (5 株, 属 1-2-4-7-8 模式)、AMP-TET-MIN-DOX-CHL-SXT-SUL (5 株, 属 1-5-6-7 模式)和 AMP-AMS-STR-TET-MIN-DOX-SUL (5 株, 属 1-4-5-7 模式), 合计仅占 18.80% (44/234), 其他耐药谱的菌株数均 ≤ 3 株。

234 株 MDR 沙门氏菌按耐药种数共分为 20 种模式, 耐药种数分别为 3–23 种(未见同时耐 19 种药物的菌株), 其中以同时耐 5–13 种药物的菌株居多, 占 85.04% (199/234); 部分菌株同时耐 20 多

种药物(7 株, 占 2.99%), 其敏感药物主要为多粘菌素 B、多粘菌素 E、美罗培南、亚胺培南和阿米卡星。

2.3 MDR 沙门氏菌的血清型分布

234 株 MDR 沙门氏菌共分为 25 种血清型, 其中菌株数大于 10 株的血清型有 6 种, 合计占 85.47% (200/234)。各血清型的 MDR 情况详见表 2, 尤为突出的是德尔卑血清型和鼠伤寒单相变种 (1,4,[5],12:i:-), 其 MDR 率分别为 100% (11/11)和 97.06% (66/68)。

2.4 MDR 沙门氏菌的 PFGE 分型结果

234 株 MDR 沙门氏菌经 PFGE 分型, 其中 11 株 DNA 降解, 获得清晰电泳条带的 223 株菌, 共分为 162 种 PFGE 带型, 相似度为 44.2%–100%, 其中 21 种带型有 1 株以上菌株, 涉及 6 种血清型 82 株菌, 分别为: (1) 鼠伤寒血清型的 3 种带型, 分别有 8、3 和 2 株菌; (2) 鼠伤寒单相变种的 7 种带型和伦敦血清型的 3 种带型, 各有 2 株菌; (3) 罗森和鸭血清型各有 1 种带型有 2 株菌; (4) 肠炎血清型的 4 种带型, 分别有 13、11、9 和 8 株菌, 另有 2 种带型各有 2 株菌。PFGE 分型结果显示, 相同血清型的菌株, 其 PFGE 带型聚集成簇, 各血清型的簇内相似度为 70.6%–100%; 菌株的 PFGE 带型

表 2 MDR 沙门氏菌的血清型分布

Table 2 Serotype distribution of MDR *Salmonella*

血清型 Serotype	菌株数 Number of strains	MDR 菌(株) Number of MDR strains	MDR 率 MDR rate (%)
德尔卑 Derby	11	11	100
鼠伤寒单相变种 Monophasic variant of Typhimurium	68	66	97.06
伦敦 London	23	19	82.61
罗森 Rissen	15	12	80.00
鼠伤寒 Typhimurium	37	29	78.38
肠炎 Enteritidis	82	63	76.83
其他 Other	103	34	33.01
合计 Total	339	234	69.03

呈散在多态性,除肠炎和鼠伤寒血清型外,其他血清型仅少数菌株间具有相同的 PFGE 带型,各带型最多只有 2 株菌,未发现绝对优势带型。

以鼠伤寒血清型的 PFGE 分型和药敏结果为 例(图 2), 29 株 MDR 鼠伤寒沙门氏菌共分为 19 种 PFGE 带型,相似度为 72.2%–100%。结果显示, PFGE 带型相同的菌株,其耐药类别和耐药谱不一

定相同(图 2 中 D 带型的 2 株菌相同, E 带型的 3 株菌各不相同, Q 带型的 8 株菌间有相同也有不同); PFGE 带型不同的菌株,其耐药类别和耐药谱也可能相同(图 2 中 F、G 带型的菌株,其耐药谱相同);在时间和地区分布上,均无明显聚集性, E 带型和 Q 带型菌株的分离时间跨越了 2017–2019 这 3 个年份。

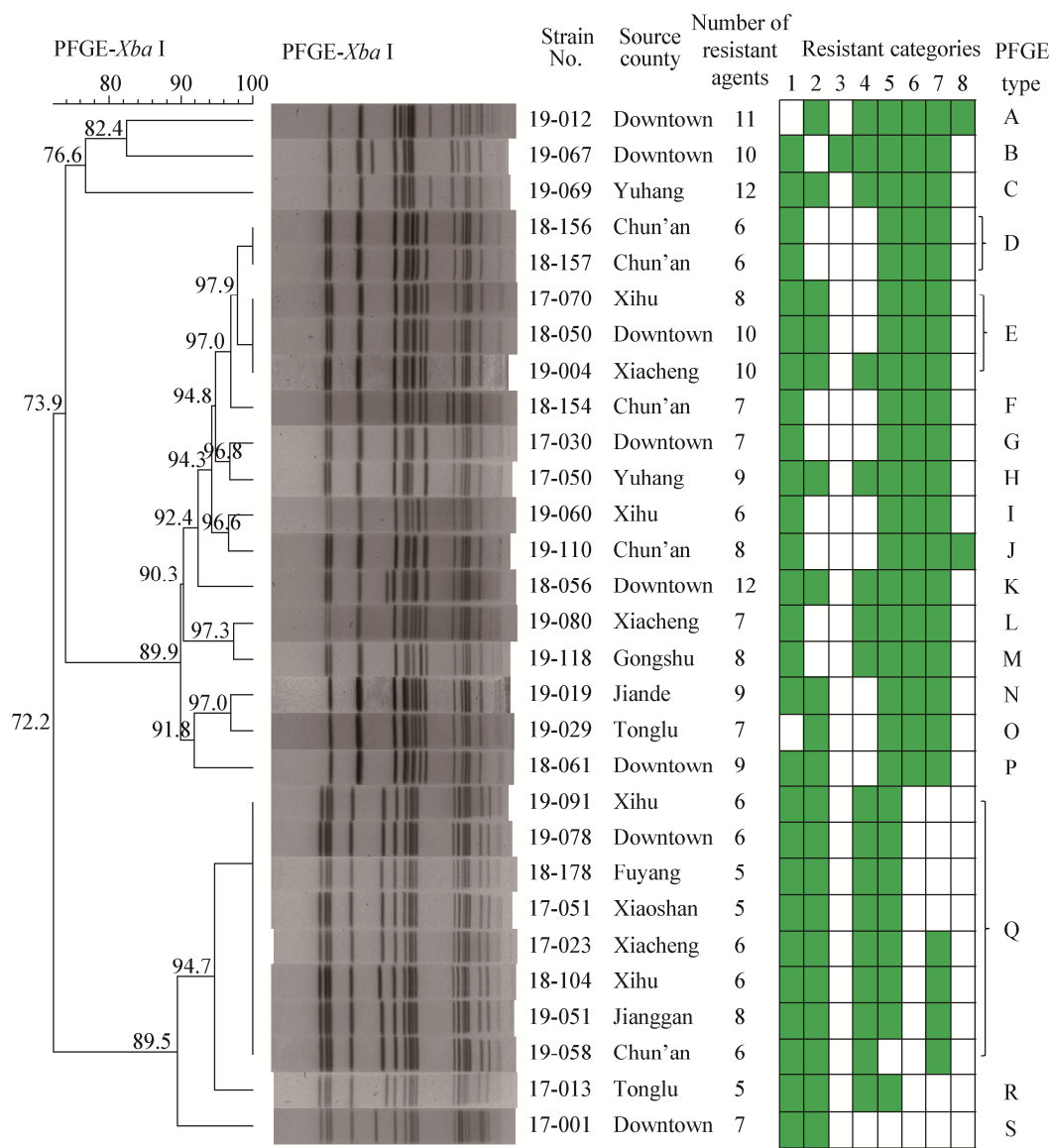


图 2 MDR 鼠伤寒沙门氏菌的 PFGE 分型和药敏结果

Figure 2 PFGE typing and antimicrobial resistance of MDR *Salmonella* Typhimurium

注: 菌株编号的前两位数字为菌株分离年份; 耐药类别中绿色表示耐药, 数字所代表的药物类别详见表 1

Note: The first two digits of the strain number indicate the year of strain isolation; The resistant antimicrobial categories are shown in green, and the categories represented by the numbers are shown in table 1

3 讨论与结论

多重耐药是指同时耐 3 类或 3 类以上抗菌药物,但对抗菌药物类别的划分并不统一^[5,8]。李凡等将多重耐药定义为:同时对多种作用机制不同或结构完全各异的抗菌药物具有耐药性,对 3 类(如氨基糖苷类、红霉素、 β -内酰胺类)或 3 类以上抗菌药物同时耐药的病原菌为多重耐药菌^[8];Magiorakos 等将 β -内酰胺类细分为青霉素类、青霉素类和酶抑制剂、一二代头孢菌素、三四代头孢菌素、头霉素类、单环 β -内酰胺类、碳青霉烯类等 7 类,分别作为一类独立的药物进行判定^[5]。根据上述文献分别进行分析,本研究仅有 3 株菌存在差异,其耐药谱分别为 AMP-AMS-AMC-CFZ-NAL、AMP-CFZ-CTX-CAZ-FEP-AZM-NAL 和 AMP-CFZ-CTX-CAZ-AZM-TET-MIN-DOX,均同时耐多类 β -内酰胺类药物和 1 类其他药物。为呈现更为具体细致的分析结果,本文参照 Magiorakos 等^[5]报道的药物分类进行 MDR 株的判定。结果表明,绝大部分 MDR 沙门氏菌,同时耐 β -内酰胺类及其他多类抗菌药物,仅少数 MDR 菌(3/234, 1.28%)耐多类 β -内酰胺类药物,却较少耐其他类别药物。

本研究结果显示,沙门氏菌对氨苄西林、磺胺甲异噁唑、链霉素、四环素等传统抗菌药物耐药率高,均大于 50% (图 1);对脂肽类、大环内脂类及新型 β -内酰胺类药物较为敏感,对目前临床常用的阿奇霉素、环丙沙星及三、四代头孢菌素,其耐药率分别为 7.67%、12.09%及 10.91% (头孢噻肟)、4.72% (头孢他啶)和 8.26% (头孢吡肟),与国内其他报道^[9-10]相当,但远高于欧美地区^[11-12]。对临床常规报告的氨苄西林和磺胺甲异噁唑^[6],其 MIC 中位值分别为 $>64 \mu\text{g/mL}$ 和 $>512 \mu\text{g/mL}$,提示该 2 种药物均已不适用于沙门氏菌的临床治疗。1 株同时耐 23 种药物的鼠伤寒单相变种沙门氏菌(1,4,[5],12:i:-),仅对多粘菌素 B、多粘菌素 E、美罗培南、亚胺培南和阿米卡星等 5 种药物敏感。本研究发现 15 株对多粘菌素 B 耐药、56 株对多粘菌素 E 耐药的菌

株,接下来将进一步分析其 *mcr-1* 基因携带情况,以明确杭州地区携带 *mcr-1* 基因的耐多粘菌素沙门氏菌流行情况,并与周边地区进行比较^[13-14]。

本研究结果表明,杭州地区临床来源沙门氏菌 MDR 现象普遍,达 69.03%,与国内其他地区如广东省、上海市报道的数据(分别为 41.90%和 21.1%)^[9-10]相比相差较大,除存在地区差异外,还可能与药敏试验所用的药物种类和数量有关,上述 2 个地区报道的分别是对 14 种和 16 种抗菌药物的耐药情况,本研究则是对 28 种药物进行了 MIC 测定。234 株 MDR 菌,按耐药类别分,以同时耐 4-8 类药物的菌株较为多见,合计占 82.48% (193/234);按耐药种数分,以同时耐 5-13 种药物的菌株居多,占 85.04% (199/234);菌株耐药谱分散,最多见的耐药谱为 AMP-AMS-NAL-STR-SUL (10 株)和 AMP-STR-TET-MIN-DOX-SUL (7 株),分别仅占 4.27%和 2.99%。上述结果表明,杭州地区临床来源 MDR 沙门氏菌耐药表型呈多样性。

沙门氏菌的耐药性常被认为与其血清型别密切相关^[9-12]。鼠伤寒单相变种(1,4,[5],12:i:-)虽由鼠伤寒血清型(1,4,[5],12:i:2)进化而来,但两者在流行病学特征、耐药性等方面存在差异^[15]。本研究中,鼠伤寒及其单相变种的 MDR 率分别为 78.38%和 97.06%,经检验差异有统计学意义(Fisher 确切概率法, $P=0.007$)。本研究结果显示,鼠伤寒单相变种(1,4,[5],12:i:-)和德尔卑血清型 MDR 现象严重,97.06% (66/68)的鼠伤寒单相变种为 MDR 菌,11 株德尔卑沙门氏菌均为 MDR 菌。此 2 种血清型均被认为是 MDR 现象较为突出的血清型^[11,16]。但近年有研究认为,因不同动物饲养过程中所用抗菌药物种类和剂量的不同,影响沙门氏菌 MDR 表型获得和传播的决定性因素是宿主来源及动物饲养环境,并非血清型别^[17]。然而沙门氏菌的血清型分布与其宿主范围密切相关^[18-20]。在猪及猪肉中,最常见的血清型是鼠伤寒、1,4,[5],12:i:-、德尔卑、罗森及伦敦^[18,20]。Su 等报道鼠伤寒单相变种(1,4,[5],12:i:-)和

德尔卑血清型分别占我国猪源沙门氏菌的 53.9% (56/104) 和 7.69% (8/104), 其 MDR 率均为 100%^[20], 与本研究结果高度吻合。沙门氏菌为食源性致病菌, 其感染常与肉、蛋类等食品的食用有关, 杭州地区临床来源鼠伤寒单相变种(1,4,[5],12:i:-) 和德尔卑沙门氏菌的高 MDR 率可能与猪肉及其制品的消费密切相关, 其确切证据有待于进一步研究。

PFGE 分型结果显示, 相同血清型的菌株, 其 PFGE 带型聚集成簇; 234 株多重耐药沙门氏菌共分为 162 个 PFGE 带型, 相似度为 44.2%–100%, 其带型呈散在多态性; 除肠炎和鼠伤寒血清型存在较优势带型外, 其他血清型仅少数菌株间具有相同的 PFGE 带型。因各肠炎沙门氏菌间基因的高度相似性, PFGE 方法对其分辨力有限, 即无流行相关性的菌株, 其指纹图谱也常完全相同^[21], 因此本研究中肠炎血清型虽存在较优势带型, 但很可能并不存在流行相关性。鼠伤寒血清型 E 带型的 3 株菌、Q 带型的 8 株菌, 各分离自不同年份, 推测可能存在由某种食品引起的持续传播。结合 PFGE 分型和药敏试验结果, 发现 PFGE 带型相同的菌株, 其耐药类别和耐药谱不一定相同; PFGE 带型不同的菌株, 其耐药类别和耐药谱也可能相同。由此说明, 沙门氏菌的 PFGE 型别与其耐药谱并不存在严格的对应关系, 与以往报道^[20,22]相符。这可能也是因为 PFGE 的分辨力有限所致, 即耐药基因和质粒的突变不在 PFGE 的酶切位点上, 也可能是食品中的 MDR 沙门氏菌进入人体后发生了耐药基因或质粒的变化, 而且不同个体内的变化可能不同, 但尚缺乏确切证据, 有待于进一步研究。另外, 在时间和地区分布上 234 株 MDR 菌无明显聚集性。上述结果表明, 杭州地区 MDR 沙门氏菌的感染可能存在少数的聚集性暴发, 但以散发为主; PFGE 型别与其耐药谱并不存在严格的对应关系。

本研究着重对杭州地区的多重耐药沙门氏菌进行耐药类别、耐药谱构成、血清型分布以及 PFGE 分型等分析, 以探究沙门氏菌多重耐药株的特性, 有别于其他主要探讨沙门氏菌总体耐药水平的报

道; 而且本研究药敏试验采用微量肉汤稀释法, 较传统采用的 K-B 纸片法更为准确可靠。研究结果表明, 杭州地区临床来源沙门氏菌 MDR 现象普遍, 耐药谱分散, 耐药表型呈多样性, 其感染以散发为主。今后将通过基因组分析和比较, 进一步探讨杭州地区临床来源 MDR 沙门氏菌的基因组特征及其与食品分离株的遗传关系, 进行耐药溯源分析, 为沙门氏菌这一主要食源性致病菌的科学防控提供依据。

REFERENCES

- [1] Arya G, Holslander R, Robertson J, Yoshida C, Harris J, Parmley J, Nichani A, Johnson R, Poppe C. Epidemiology, pathogenesis, genosero typing, antimicrobial resistance, and prevention and control of non-typhoidal *Salmonella* serovars[J]. *Current Clinical Microbiology Reports*, 2017, 4(1): 43-53
- [2] Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R. Global trends in antimicrobial use in food animals[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(18): 5649-5654
- [3] MOHC the Minister of Health of the People's Republic of China. WS 271-2007 Diagnostic criteria for infections diarrhea[S]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007 (in Chinese)
中华人民共和国卫生部. WS 271-2007 感染性腹泻诊断标准[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2007
- [4] National Health and Family Planning Commission of PRC, National Medical Products Administration. GB 4789.4-2016 National food safety standard Microbiological examination of food Examination of *Salmonella*[S]. Beijing: China Standard Press, 2016 (in Chinese)
国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 4789.4-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016
- [5] Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance[J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012, 18(3): 268-281
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI document M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020
- [7] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray

- BE, Persing DH, Swaminathan B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1995, 33(9): 2233-2239
- [8] Li F, Xu ZK. *Medical Microbiology*[M]. 9th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018 (in Chinese)
李凡, 徐志凯. *医学微生物学*[M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018
- [9] He DM, Ke BX, Zeng HH, Yang T, Liang YH, Tan HL, Li BS, Liu MZ, Ke CW. Surveillance and drug resistance analysis of *Salmonella* in Guangdong province in 2015[J]. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology*, 2017, 37(8): 611-617 (in Chinese)
何冬梅, 柯碧霞, 曾洪辉, 杨彤, 梁宇恒, 谭海玲, 李柏生, 刘美真, 柯昌文. 2015 年广东省沙门菌监测及其耐药性分析[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2017, 37(8): 611-617
- [10] Wei ZQ, Chang HL, Li YF, Xu XB, Zeng M. Clinical epidemiology and antimicrobial resistance of nontyphoidal *Salmonella* enteric infections in children: 2012-2014[J]. *Chinese Journal of Pediatrics*, 2016, 54(7): 489-495 (in Chinese)
魏仲秋, 常海岭, 李月芳, 许学斌, 曾玫. 2012-2014 年儿童非伤寒沙门菌肠道感染的临床流行病学特征及耐药模式[J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54(7): 489-495
- [11] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017/2018[J]. *EFSA Journal*, 2020, 18(3): 6007
- [12] The National Antimicrobial Resistance Monitoring System: NARMS integrated summary, 2016-2017[R]. Laurel, MD: U.S. Department of Health and Human Services, FDA, 2019. <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/2016-2017-nar- ms-integrated-summary>
- [13] Lu X, Zeng M, Xu JL, Zhou HJ, Gu BK, Li ZP, Jin HM, Wang XX, Zhang W, Hu YF, et al. Epidemiologic and genomic insights on *mcr-1*-harboring *Salmonella* from diarrhoeal outpatients in Shanghai, China, 2006-2016[J]. *EBioMedicine*, 2019, 42: 133-144
- [14] Lu J, Quan JJ, Zhao DD, Wang YF, Yu YS, Zhu J. Prevalence and molecular characteristics of *mcr-1* gene in *Salmonella* Typhimurium in a tertiary hospital of Zhejiang Province[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2018, 28(12): 105-110
- [15] Sun HH, Wan YP, Du PC, Bai L. The epidemiology of monophasic *Salmonella* Typhimurium[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2020, 17(2): 87-97
- [16] Xu CG, Ren XX, Feng Z, Fu Y, Hong YF, Shen ZJ, Zhang LN, Liao M, Xu XB, Zhang JM. Phenotypic characteristics and genetic diversity of *Salmonella* enterica serotype Derby isolated from human patients and foods of animal origin[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2017, 14(10): 593-599
- [17] An R, Alshalchi S, Breimhurst P, Munoz-Aguayo J, Flores-Figueroa C, Vidovic S. Strong influence of livestock environments on the emergence and dissemination of distinct multidrug-resistant phenotypes among the population of non-typhoidal *Salmonella*[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179005
- [18] Campos J, Mourão J, Peixe L, Antunes P. Non-typhoidal *Salmonella* in the pig production chain: a comprehensive analysis of its impact on human health[J]. *Pathogens*, 2019, 8(1): 19
- [19] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017[J]. *EFSA Journal*, 2018, 16(12): e05500
- [20] Su JH, Zhu YH, Ren TY, Guo L, Yang GY, Jiao LG, Wang JF. Distribution and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from pigs with diarrhea in China[J]. *Microorganisms*, 2018, 6(4): 117
- [21] Ziebell K, Chui L, King R, Johnson S, Boerlin P, Johnson RP. Subtyping of Canadian isolates of *Salmonella* enteritidis using multiple locus variable number tandem repeat analysis (MLVA) alone and in combination with pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and phage typing[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2017, 139: 29-36
- [22] Gad AH, Abo-Shama UH, Harclerode KK, Fakhr MK. Prevalence, serotyping, molecular typing, and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from conventional and organic retail ground poultry[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2653