

# 2013—2014年贵阳市感染性腹泻监测病例中沙门菌的病原学监测分析

游 旅<sup>1</sup>, 何寻面<sup>2</sup>, 韦小瑜<sup>1</sup>, 李世军<sup>1</sup>, 王 斌<sup>1</sup>, 黄 荷<sup>1</sup>, 唐光鹏<sup>1</sup>, 朱 琳<sup>3</sup>, 王定明<sup>1</sup>

**摘要:** 目的 了解2013—2014年贵阳市腹泻监测病例中沙门菌的血清型别分布及脉冲场凝胶电泳(Pulse-Field Gel Electrophoresis, PFGE)分型特征,为贵阳市沙门菌病的防控提供科学依据。方法 收集2013—2014年贵阳市4家哨点医院感染性腹泻病例的432份粪便标本,对其进行沙门菌的分离培养、生化鉴定、血清分型及PFGE分型。结果 432例感染性腹泻患者的粪便标本共检出沙门菌35株,检出率为8.10%(35/432),男女检出之比为1.5:1,发病年龄主要集中在0~5岁;各季度间沙门菌检出率经Fisher确切概率法比较无统计学差异( $P=0.052$ )。35株沙门菌分成9种血清型,其中优势血清型为肠炎沙门菌11株(占31.43%)和鼠伤寒沙门菌9株(占25.71%),其次克勒肯威尔沙门菌6株(占17.14%),斯坦利沙门菌3株,德尔卑沙门菌2株,阿贡纳沙门菌、婴儿沙门菌和病牛沙门菌血清型各1株,1株未分型。经Xba I酶切后11株肠炎沙门菌分成8种PFGE型,优势型为JEGX01.CN0007;9株鼠伤寒沙门菌分成9种PFGE型,总体型别呈多样性分布。结论 贵阳市引起感染性腹泻的沙门菌以肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门菌为主,PFGE型别呈多样性。

**关键词:** 沙门菌; 感染性腹泻; 监测; 脉冲场凝胶电泳

中图分类号:R378.2

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2018)08-0712-04

## Surveillance and analysis on the pathogenic feature of *Salmonella* from infectious diarrheal patients in Guiyang, China, 2013—2014

YOU LYU<sup>1</sup>, HE Xun-mian<sup>2</sup>, WEI Xiao-yu<sup>1</sup>, LI Shi-jun<sup>1</sup>, WANG Bin<sup>1</sup>,  
HUANG He<sup>1</sup>, TANG Guang-peng<sup>1</sup>, ZHU Lin<sup>3</sup>, WANG Ding-ming<sup>1</sup>

(1. Guizhou Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guiyang 550004, China;  
2. Sandu County Center for Disease Control and Prevention, Qannan 558100, China;  
3. Zunyi Center for Disease Control and Prevention, Zunyi 563000, China)

**Abstract:** We studied the serovars and PFGE types of *Salmonella* in patients with infectious diarrhea from 2013 to 2014, in order to provide scientific basis for the prevention and control of salmonellosis in Guiyang City. A total of 432 samples of stool specimens of diarrheal patients from 4 sentinel hospitals were collected to isolate *Salmonella* strains. The isolated *Salmonella* strains were further analyzed via serotypes and PFGE pattern. The positive rate of the surveillance *Salmonella* in Guiyang was 8.1%(35/432). The ratio of male and female was 1.5 : 1. *Salmonella* infection was most in 0~5 years old. The positive rate was 8.91%. The difference of isolated rates of *Salmonella* was not statistically significant ( $P=0.052$ ) in the four seasons. Nine serovars were identified in the 35 isolates. The most prevalent were *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*, account for 31.43% and 25.71% respectively. Eleven strains of *Salmonella enteritidis* were divided into 8 PFGE types, 9 strains of *Salmonella typhimurium* were divided into 9 PFGE types, showed great genetic diversity. Results showed *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* were the dominant serotypes causing infectious diarrhea in Guiyang City. The PFGE types were great genetic diversity.

贵州省科技基金计划项目(No. 黔科合基础[2017]1094);贵州省卫计委科技项目(No. gzwjkj2016-1-003);贵州省高层次创新型人才培养项目“百层次”(No. 黔科合(2016)4021号)及“千层次”(韦小瑜);“贵州省传染病预防与控制人才培养基地项目”(No. 黔人领发[2013]15号)子项目(No. RCJD1401)游旅、何寻面同为第一作者  
通信作者:韦小瑜,Email:weixyuse@foxmail.com

作者单位:1.贵州省疾病预防控制中心,贵阳 550004;

2.贵州省三都县疾病预防控制中心,黔南州 558100;

3.贵州省遵义市疾病预防控制中心,遵义 563000

Supported by Program of the Natural Science Foundation of Guizhou Province (No. Qian Ke He Basis [2017]1094), the Science and Technology Fund of the Health Department of

Guizhou Province (No. gzwjkj2016-1-003), the Special Funds for High-Level Creative Talents Cultivation in Guizhou Province (Qian Ke He (2016)4021), the Guizhou Province Government Founds for Talent Base Construction for Infectious Disease Control and Prevention (No. Qian Ren Ling Fa [2013] 15) (Sub-project: Natural Focus and Insect-borne Infectious Disease Research Team [RCJD1401])

You Lü and He Xun-mian have an equal contribution to this paper.

Corresponding author: Wei Xiao-yu, Email: weixyuse@foxmail.com

沙门菌是全球范围内感染性腹泻最常见的病原菌之一,是重要的食源性致病菌及人兽共患致病菌。人类可通过进食受到沙门菌污染、且未通过适当烹饪或处理的食品、水,或接触受到污染的蛋、奶及其制品、肉类、食品等从而感染沙门菌导致沙门菌性肠炎和败血症等,常常引起食源性疾病的暴发<sup>[1]</sup>。近年来,沙门菌感染在全世界普遍流行,在许多国家和地区已成为严重的公共卫生问题。据统计,全球每年估计发生将近13亿因沙门菌导致的急性胃肠炎病例,其中300万患者死亡<sup>[2]</sup>,在我国,每年因沙门菌感染而致病的约有903万<sup>[3]</sup>。贵阳市在2010—2015年感染性腹泻病原菌中发现,沙门菌是贵阳市引起感染性腹泻的主要病原菌,且近年由沙门菌引起的中毒事件时有发生<sup>[4-7]</sup>。本研究收集2013—2014年贵阳市4家哨点医院感染性腹泻病例的粪便标本进行沙门菌的分离培养、血清分型及PFGE分子分型,了解贵阳市感染性腹泻病例中沙门菌的检出情况、血清型分布及PFGE分子流行特征,为贵阳市沙门菌引起的感染性腹泻疫情或食物中毒事件、实验室监测及防控预警提供技术支持。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 以贵阳市4家哨点医院作为监测点,其中包括一家儿童医院,将符合腹泻监测病例定义的患者即24 h内连续腹泻3次及以上且伴有稀便、水样便、粘液便、脓血便、米泔样便等粪便性状异常者,列为感染性腹泻监测病例对象。采集感染性腹泻病例粪便标本5 mL(或5 g)于50 mL含卡布运送培养基的螺旋管中,24 h内送往肠道病原菌检测实验室进行检测。2013年1月至2014年12月收集到432份感染性腹泻粪便标本。

**1.2 主要试剂和仪器** 沙门菌显色培养基购自法国CHROMA加公司;亚硒酸盐煌绿增菌液(SBG)购自北京友康生物公司;API20E生化鉴定条购自法国生物梅里埃公司;沙门菌诊断血清、Swarm Agar诱导软琼脂购自丹麦SSI公司;TBE购自北京索莱宝科技有限公司;蛋白酶K购自德国Merck公司;*Xba*I酶购自大连宝生物工程有限公司;

Seakem Gold 琼脂购自美国LONZA公司;GelRed染料购自美国Biotium公司;CHEF Mapper脉冲场电泳仪和Gel Doc2000凝胶成像系统购自美国Bio-Rad公司。

**1.3 标本的分离培养、鉴定及血清分型** 标本经SBG增菌后接种至沙门菌显色平板上,36℃培养过夜,从沙门菌显色培养基上挑取淡紫色菌落接种至克氏双糖和MIU进行初步生化鉴定后,符合沙门菌初步生化的菌株进一步采用API20E生化鉴定板条进行系统生化鉴定,对明确鉴定为沙门菌的菌株转种至哥伦比亚营养琼脂平板进行沙门菌O相血清凝集,并点种至Swarm Agar软琼脂平板进行H相血清凝集,生理盐水作对照。根据Kauffmann-White血清分型表确定对应血清型别。

**1.4 PFGE分子分型和聚类分析** 根据国际PulseNet网络实验室公布的沙门菌PFGE标准分型方法,对监测中分离的沙门菌进行PFGE分子分型,*Xba*I进行酶切,以H9812菌株作为参比菌株。应用BioNumerics 7.5软件对电泳图谱进行聚类分析,聚类算法为非加权配对平均法(UPGMA)。

**1.5 统计分析** 采用SPSS 22.0软件进行数据分析,统计方法包括卡方检验和Fisher确切概率法,*P*<0.05有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 感染性腹泻病例中沙门菌的检出情况及血清型分布** 对2013—2014年收集的432例感染性腹泻患者的粪便标本进行培养及鉴定,结果共检出沙门菌35株,检出率为8.10%(35/432),其中肠炎沙门菌检出率最高为2.55%(11/432),其次为鼠伤寒沙门菌2.08%(9/432),各血清型检出情况见表1。

**2.2 感染性腹泻病例中沙门菌的流行病学分布特征**

**2.2.1 性别分布** 432例感染性腹泻病例中男251例、女181例,沙门菌检出率分别为8.37%(21/251)和7.73%(14/181),男女检出之比为1.5:1,差异无统计学意义( $\chi^2=0.056, P>0.05$ )。

表 1 35 株沙门菌的血清分型结果

Tab.1 Serovars of 35 *Salmonella* strains from 432 samples

血清型	阳性数	检出率(%)	所占比例(%)
肠炎沙门菌	11	2.55	31.43
鼠伤寒沙门菌	9	2.08	25.71
克勒肯威尔沙门菌	6	1.39	17.14
斯坦利沙门菌	3	0.69	8.57
德尔卑沙门菌	2	0.46	5.71
阿贡纳沙门菌	1	0.23	2.86
婴儿沙门菌	1	0.23	2.86
病牛沙门菌	1	0.23	2.86
8,20:-:-	1	0.23	2.86
合 计	35	8.10	100.00

2.2.2 年龄分布 发病年龄多集中在 0~5 岁, 检出率为 8.91% (32/359), 占沙门菌检出数的 91.43% (32/35); ≥6 岁大年龄组检出率为 4.11% (3/73),

占 8.57%, 经卡方检验两个年龄组沙门菌检出率无统计学差异 ( $\chi^2 = 1.880, P > 0.05$ )。

2.2.3 时间分布 432 例腹泻病例据月份分为 4 组: 1—3 月份、4—6 月份、7—9 月份及 10—12 月份, 沙门菌检出率分别为 8.11% (3/37)、2.86% (1/35)、11.30% (26/230) 及 3.85% (5/130), 经 Fisher 确切概率法比较  $P = 0.052$ , 各季度间检出率比较无统计学差异。

2.3 主要血清型沙门菌 PFGE 分型及聚类结果 采用 BioNumerics7.5 软件, 对贵阳市主要血清型沙门菌肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门菌的 PFGE 图像进行聚类分析, 结果本次研究中分离的 11 株肠炎沙门菌, 经限制性内切酶 *Xba* I 进行酶切, PFGE 获得 8 种带型, 其中 JEGX01.CN0007 有 3 株, JEGX01.CN0003 有 2 株, 其余均为 1 株; 本次研究中分离的 9 株鼠伤寒沙门菌, 经酶切获得 9 种 PFGE 带型, 见图 1 和图 2。

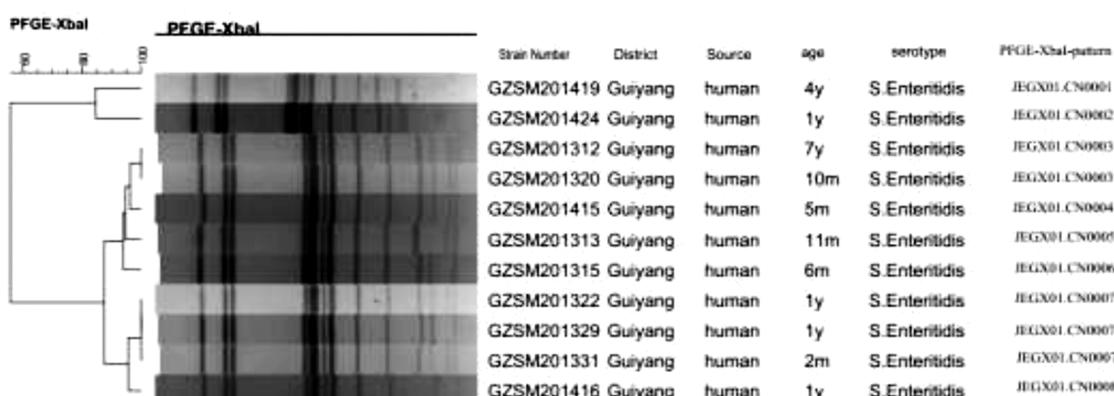


图 1 2013—2014 年贵阳市腹泻病例中肠炎沙门菌 PFGE 聚类结果

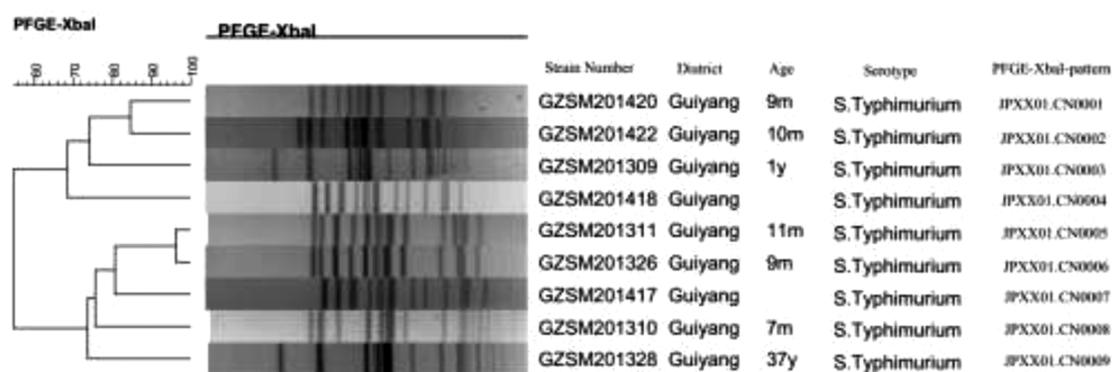
Fig.1 Clustering results of PFGE patterns of *S. enteritidis* strains from infectious diarrheal patients in Guiyang from 2013 to 2014

图 2 2013—2014 年贵阳市腹泻病例中鼠伤寒沙门菌 PFGE 聚类结果

Fig.2 Clustering results of PFGE patterns of *S. typhimurium* strains from infectious diarrheal patients in Guiyang from 2013 to 2014

### 3 讨 论

本研究显示,2013—2014年贵阳市感染性腹泻病例中沙门菌的检出率为8.10%,高于广东省、无锡市的检出率<sup>[8-9]</sup>。35株沙门菌共分为9种血清型,优势血清型为肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门菌,与广东、无锡、泰安等地的研究结果一致<sup>[8-10]</sup>,提示在对贵阳市感染性腹泻的病原监测中要重点加强对肠炎沙门菌和鼠伤寒沙门菌的监测。从年龄分布看,发病年龄多集中在0~5岁,占沙门菌检出数的91.43%,其检出率为8.91%,该结果与深圳市龙岗区2010—2012年感染性腹泻沙门菌的研究结果一致<sup>[11]</sup>,但与北京市发病年龄集中在18~40岁不同<sup>[12]</sup>,提示沙门菌感染特征存在地域差异。0~5岁低年龄组的婴幼儿是贵阳市沙门菌的重点监测对象。从时间分布看,各季度均有沙门菌检出,无明显的季节分布趋势。但检出沙门菌阳性数在7—9月份居多,提示7—9月感染性腹泻的高发季节也是易感染沙门菌的季节,应加强沙门菌的监测。

为进一步了解贵阳市分离的主要血清型沙门菌分子流行病学特征,我们采用PFGE分型方法对沙门菌进行分子分型发现11株肠炎沙门菌分为8个PFGE型别,菌株间相似性>85%,优势带型为JEGX01.CN0007;9株鼠伤寒沙门菌分为9个PFGE带型,且菌株间相似性仅为54%,揭示贵阳市2013—2014年鼠伤寒沙门菌并未形成流行或聚集性病例,而是高度散发。PFGE分型结果提示贵阳市腹泻病例沙门菌分离株PFGE型别呈多样性分布。沙门菌为人兽共患病原菌和食源性病原菌,可通过污染的食物等感染,因此,沙门菌的有效防控应在加强人间病例监测的同时,需加强动物沙门菌病的防控以及食源性沙门菌的监测。由于本研究中监测年限较短,监测地区局限,且仅为感染性腹泻病例的研究,为全面的反映贵州省沙门菌感染状况及分

子流行病学特征,还需加大监测范围,同时对食品和动物来源的沙门菌进行监测分析,以提供全面的监测资料,为沙门菌病的防控提供可靠的防控依据。

### 参考文献:

- [1] 朱超,许学斌.沙门菌属血清型诊断[M].上海:同济大学出版社,2009:1
- [2] 李昱辰,程墨,蔡银强,等.沙门菌分型技术研究进展[J].中国动物检疫,2014,31(6):32-35.
- [3] 毛雪丹,胡俊峰,刘秀梅.用文献综述法估计我国食源性非伤寒沙门氏菌疾病负担[J].中华疾病控制杂志,2011,15(7):622-625.
- [4] 韦小瑜,田克诚,游旅,等.贵阳市2010年感染性腹泻细菌病原学检测分析[J].现代预防医学,2012,19(8):1185-1186.
- [5] 袁华芳,刘志揆,凯金祥,等.一起农村自办宴席引起的混合细菌性食物中毒调查分析[J].疾病预防控制通报,2014,05:63-64. DOI:10.13215/j.cnki.jbyfkztb.1405006
- [6] 吴强,田维丽,谷永香.独山县一起沙门氏菌食物中毒调查[J].微量元素与健康研究,2015,06:41.
- [7] 王艳,张江萍.一起婚宴引发的肠炎沙门氏菌食物中毒调查[J].贵州医药,2014,02:164-16. DOI:10.3969/j.issn.1000-744x.2014.02.030.
- [8] 何冬梅,柯碧霞,邓小玲,等.2010年广东省沙门菌监测及其病原学特征分析[J].中华预防医学杂志,2012,46(5):424-429. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2012.05.010
- [9] 沙丹,李泓,管红霞,等.无锡市腹泻病人沙门菌的病原学特征及分子分型研究[J].中国人兽共患病学报,2017,33(04):378-381. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2017.04.017
- [10] 张新峰,王蕾,徐贵永,等.泰安市感染性腹泻非伤寒沙门菌耐药监测及分型研究[J].中国人兽共患病学报,2017,33(04):337-342. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2017.04.009
- [11] 林文娟,刘渠,白江涛,等.2010—2012年深圳市龙岗区致感染性腹泻沙门菌的流行特征和分子分型[J].中国病原生物学杂志,2014,9(6):519-522. DOI:10.13350/j.cjpb.140611
- [12] 曲梅,黄芳,张新,等.2008—2009年北京市沙门菌流行特征和分子分型[J].中华预防医学杂志,2011,45(2):113-117.

收稿日期:2017-11-15 编辑:张智芳