

· 病例报告 ·

幼儿非伤寒沙门菌混合感染一例的病原学调查

沈隽卿¹ 刘玥² 张旭¹ 牛娜¹ 张月娟¹ 许学斌²¹上海市宝山区疾病预防控制中心微生物检验科, 上海 201901;²上海市疾病预防控制中心病原生物检定所, 上海 200336

通信作者: 许学斌, Email: xuxuebin@scdc.sh.cn

【关键词】 病原学; 混合感染; 沙门菌; 全基因组; 行为生态型传染病

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1600100); 宝山区传染病流行病学重点学科项目(BSZK-2023-A20)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20240528-00112

沙门菌是人类重要的感染性食源性疾病的病原, 近年研究表明, 沙门菌多个血清型已在全球五大洲养殖食用动物(畜禽类)与水产品中存在物种与优势菌型的差异化共存现象^[1]。人一旦经粪口途径感染沙门菌后, 因免疫水平不同产生不同的症状, 低年龄幼儿易出现腹泻、腹痛、发烧等典型感染性腹泻症状, 成人多可自限, 罹患基础性疾病者易经肠系膜静脉系统入血形成菌血症、脓毒血症导致重症甚至死亡^[2]。2020 年 10 月, 上海市杨浦区某三甲医院报告 1 例“乙型副伤寒”患儿, 按乙类肠道传染病报至国家大疫情网, 属地公共卫生机构遂上门调查并采样复检, 最终该患儿确诊为 2 种沙门菌血清型的混合感染。本案虽排除乙型副伤寒, 但亦属罕见, 现将病例及调查情况报告如下。

一、病例资料

患儿, 男性, 11 月龄, 2020 年 10 月 14 日因急性腹泻就诊上海市杨浦区某三甲医院, 10 月 22 日临床实验室分离、诊断病原为“乙型副伤寒沙门菌”, 医院防保部门按乙类传染病中的乙型副伤寒上报国家大疫情网, 病例属地公共卫生机构依据传染病法入户对病例进行流行病学调查和采样复检, 分别于 2020 年 11 月 18 日、19 日以及 26 日, 3 次入户采集 3 份患儿粪便肛拭子, 送辖区疾病预防控制中心实验室复检。首次入户作流行病学调查显示, 家长主诉患儿近日已无明显不适, 发病前无外出旅游与聚餐史, 家中无宠物饲养, 但患儿曾居住外婆家(其家中饲养有巴西红耳龟), 患儿偶有用手饲喂乌龟等接触史。

患儿 3 次采送粪便肛拭子均经亚硒酸盐煌绿增菌液(SBG, 安科生物制品上海有限公司)选择性增菌(36±1)°C 培养 16~18 h 接种沙门菌显色(chromogenic agar *Salmonella*,

CAS) 和木糖赖氨酸脱氧胆酸盐(xylose lysine deoxycholate, XLD) 双拼琼脂平板(CAS/XLD, 安科生物制品上海有限公司)、(36±1)°C 培养 18~24 h, 挑选 3~5 个疑似菌落: XLD 为中心有黑心的淡红色湿润菌落; CAS 为淡紫红色圆润菌落, 经生化初筛符合沙门菌定义(葡萄糖+, 甘露醇+, 蔗糖-, 动力+, 硫化氢+, 吲哚-, 尿素-)。纯化培养物测试氧化酶试验为阴性、革兰染色为阴性短杆菌。培养物编号后分别接种哥伦比亚琼脂斜面 and H 相抗原诱导培养基(安科生物制品上海有限公司), (36±1)°C 培养 18~24 h, 经菌体抗原(O 相)和鞭毛抗原(H 相)培养物与特异性抗体血清的凝集反应, 鉴定存在 2 种沙门菌: 圣保罗沙门菌和长湾尼沙门菌。最终确认 3 次送检样本均同时检出 2 种沙门菌的血清型, 并送上海市疾病预防控制中心肠道参比实验室复核无疑。

抗菌药物耐药表型: 微量肉汤稀释法测试 2 株沙门菌菌株对 28 种药物(阿米卡星、庆大霉素、链霉素、氨苄西林/舒巴坦、头孢吡肟、头孢噻肟、头孢西丁、头孢他啶、头孢唑林、头孢呋辛、头孢他啶/克拉维酸、头孢噻肟/克拉维酸、头孢他啶/阿维巴坦、复方磺胺甲异噁唑、阿奇霉素、四环素、替加环素、亚胺培南、美罗培南、厄他培南、氨苄西林、氯霉素、萘啶酸、诺氟沙星、左氧氟沙星、环丙沙星、多黏菌素 E 和氨基糖苷类, 复星诊断科技上海有限公司)的最低抑菌浓度, 依据 2022 年美国临床实验室标准化协会 M100-S32 文件和厂家提供标准判断, 2 株沙门菌除长湾尼沙门菌对多黏菌素 E 为中介耐药外, 对其余抗菌药物皆敏感。

全基因组测序结果显示, 2 株沙门菌的全基因组测试序列经软件预测的血清型与血清分型结果一致, 预测多位点序列型(MLST) 分别为圣保罗沙门菌 ST50 和长湾尼沙门菌

ST3918;resFinder 数据库注释 2 株沙门菌均有和氨基糖苷类抗菌药物相关的耐药基因 *aac(6)-Iaa*, 长湾尼沙门菌存在对喹诺酮类耐药基因 *parC* 点突变;57 位点苏氨酸被丝氨酸替换(T57S)。2 株菌均无可移动元件;基于毒力因子数据库注释(相似度 $\geq 80\%$),共注释 34 种 115 个毒力基因,分泌系统相关毒力基因最多(达 73~77 个),圣保罗沙门菌毒力基因(114 个)多于长湾尼(102 个),均有沙门菌 I 型毒力岛(SP I -1)侵袭蛋白调控基因 *inv*, 圣保罗沙门菌肠毒素基因(Ent、Fep)较长湾尼(Ent)多 1 个,长湾尼沙门菌独有 1 个细胞致死膨胀毒素(类伤寒毒素)基因 *CdtB*。

二、讨论

目前我国沙门菌区域血清型数据库公开 164 种血清型、200 多个 MLST 型(包括伤寒和甲、乙、丙型副伤寒),符合乙型副伤寒序列型仅有 ST86^[2-3]。乙型副伤寒:1,4,5,12:b:[1,2]的 ST86 有引发聚集性疫情能力^[4],其抗原性与圣保罗沙门菌近似,故血清凝集时常易误判,尤其在不掌握沙门菌 H 抗原相位诱导与鉴定操作流程的实验室,类似的错误(如:乙型副伤寒/乙型副伤寒爪哇变种、汤卜逊/猪霍乱)在省级实验室亦常见^[5]。

长湾尼沙门菌(17:a:1,5,ST3918)是我国近年新出现的沙门菌血清型^[6],低龄幼儿易感、生态位和传染源是爬行动物(养殖宠物龟),临床易误判为甲型副伤寒^[6-8]。由于宠物龟是沙门菌的最适宿主^[9],美国食品药品监督管理局警示 5 岁以下幼儿避免接触小于 4 英寸的巴西红耳龟^[10]。本案例中 2 种沙门菌血清型在国内爬行动物皆有报道^[11]。圣保罗沙门菌在我国沙门菌数据库中有 ST27、49 和 ST50 多个序列型,ST50 相对优势,其非人源菌株自 2000 年后多见于甲鱼、水产品 and 鸡肉制品中,提示圣保罗沙门菌与国内养殖乌龟、甲鱼等爬行动物亦有生态关联^[9]。本文 2 株非伤寒沙门菌的混合感染病例极罕见,很难甄别致病性差异,但本次通过基因组预测两者毒力组发现,长湾尼沙门菌因独有类伤寒毒素,相较圣保罗沙门菌致病性更强^[12]。

此次混合感染病例对临床病原诊断与疾病传报造成一定挑战。为避免病原漏检,建议实验室修改分离流程:每个沙门菌选择性平板生长可疑菌落挑选 2 个以上进行表型鉴定,每株沙门菌至少应甄别到血清群,发现确诊罕见血清型病例能提高网络传报的准确性,提高丙类传染病监测数据质量,促进医防合作。此病例分离到 2 株沙门菌,经对症治疗后症状很快减轻,而连续 3 次都分离到 2 种血清型与耐药表型一致的沙门菌证实幼儿沙门菌病易形成无症状带菌的长病程^[13],提示无症状带菌幼儿的社交对幼儿园等特殊场所是潜在环境污染源,需引起重视。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 沈隽卿:撰写初稿;刘玥、张旭、牛娜:提供数据;张月娟:复核数据;许学斌:负责科学问题审阅

参 考 文 献

- [1] Ferrari RG, Rosario D, Cunha-Neto A, et al. Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods: A Meta-analysis[J]. Appl Environ Microbiol, 2019, 85(14): e00591-00519. DOI: 10.1128/AEM.00591-19.
- [2] Wang Y, Liu Y, Lyu N, et al. Thetemporal dynamics of antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* and predominant serovars in China[J]. Natl SciRev, 2023, 10(3): nwac269. DOI: 10.1093/nsr/nwac269.
- [3] Wang Y, Xu X, Zhu B, et al. Genomic analysis of almost 8,000 *Salmonella* genomes reveals drivers and landscape of antimicrobial resistance in China[J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(6): e0208023. DOI: 10.1128/spectrum.02080-23.
- [4] Chattaway MA, Shersby N, Katwa P, et al. Genomic sentinel surveillance: *Salmonella paratyphi* B outbreak in travellers coinciding with a mass gathering in Iraq[J]. Microb Genom, 2023, 9(2): mgen000940. DOI: 10.1099/mgen.0.000940.
- [5] 许学斌, 冉陆, 朱超. 沙门菌分型血清对比研究(上海市,1999 至 2007 年)[J]. 检验医学, 2010, 25 (1): 21-25. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2010.01.011.
- [6] 张建群, 褚爱娟, 袁世杰, 等. 浙江省余姚市首次检出长湾尼沙门菌[J]. 疾病监测, 2017, 32(5): 399-401. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2017.05.011.
- [7] 霍哲, 王永全, 徐俊, 等. 北京市首次检出长湾尼沙门菌[J]. 疾病监测, 2018, 33(3): 251-253. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.03.019.
- [8] 童晶, 吴畏畏, 张传岭, 等. 一起巴西龟引起幼儿长湾尼沙门菌感染的调查研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2020, 36(6): 520-524. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2020.00.070.
- [9] 王闻卿, 王鸣柳, 周晓瑛, 等. 与爬行动物有关的波摩那沙门菌[J]. 疾病监测, 2014, 29 (2): 163-166. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2014.02.020.
- [10] 张婧莹, 黄美恋, 刘玥, 等. 2006-2020 年美国沙门菌跨州暴发案例分析[J]. 疾病监测, 2021, 36(8): 837-844. DOI: 10.3784/jbjc.202103260160.
- [11] 顾桂敏, 覃定勇, 杨自宁, 等. 2018 年-2022 年广西爬行动物沙门菌血清型分布分析[J]. 广西畜牧兽医, 2023, 39(1): 37-40. DOI: 10.3969/j.issn.1002-5235.2023.01.016.
- [12] 曹健, 刘玥, 王熙, 等. 腹泻患者粪便分离出厄班纳沙门菌 ST512 型 1 例[J]. 中华检验医学杂志, 2024, 47(6): 698-700. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20231018-00215.
- [13] 周永明, 张顺先, 古文鹏, 等. 鼠伤寒沙门菌致幼儿腹泻的病例检测与调查分析[J]. 中华预防医学杂志, 2015, 49(11): 1020-1022. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2015.11.019.