维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2000)02-0128-03

重庆市区(1997～1998)痢疾流行菌株的分子流行病学研究

王　琼，卢仙娥

（重庆医科大学临床学院流行病学教研室 400016）

摘　要　**目的**：了解近年来重庆市区志贺菌的流行菌型。方法：对近两年收集的349株志贺菌进行血清学分型，质粒图谱分析和药敏试验。结果：334株细菌的质粒图谱显示：98.8%的菌株含有质粒，其中279株福氏志贺菌共有8种质粒，分为12种质粒图谱模式。所有菌株对常用抗生素均为三重及三重以上耐药，且显示福氏志贺菌的多重耐药较宋内志贺菌更为严重。结论：福氏志贺菌和宋内志贺菌是本地区当前流行的两大菌群，福氏2a血清型占93.9%，为重庆市区目前的主要流行菌型。

关键词　志贺菌；质粒图谱；药敏试验；血清型

中国图书分类法分类号：R181.2+3　　**文献标识码**：A　　**收稿日期**：1999-07-17

A Molecular epidemic study of strains of shigellosis in Chongqing urban district from 1997 to 1998

WANG Qiong, et al

Department of Epidemiology, College of Clinical Medicine

Abstract　**Objective**: The study is to research the prevalence of Shigella in Chongqing. **Methods**: A total of 349 strains of Shigella isolated from 1997 to 1998 in Chongqing urban district were detected for serotype and plasmid profiles as well as antibiotic resistance. **Results**: The plasmid profiles of 334 strains showed that 98.8% of the isolates harboured plasmid.Among them 279 Shigella flexneri harboured at least 3 and up to 8 plasmids and contained 7 distinct plasmid patterns.51 Shigella sonnei contained 12 plasmids and were typed 12 plasmid patterns. Antibiotic resistance tests demonstrated that the problem of antibiotic resistance of Shigella was very severe.All isolates had resistance to ten kinds of antibiotics in different degrees;the highest resistance was encountered to rifampin(100%),followed by tobramycin (96.4%) amikacin (95.8%) norfloxacin (91%),while the least resistance was observed to caftriazone (1.8).All strains were resistant to at least 3 antibiotics and the multiple resistance of Shigella flexneri was more serious than that of Shigella sonnei. **Conclusion**: According to the result,Shigella flexneri and Shigella sonnei were the two main epidemic groups in this area currently.The most predominant subtype(93.9%)was 2a serotype of B group.

Key Words　Shigella; Plasmid profile; Serotype; Antibiotic resistance test

志贺菌是急性感染性腹泻的主要病原体，其菌群分布复杂，且有随时间和地点的不同而变迁的特点。为了解近年来重庆市区志贺菌的流行情况，给防治工作提供一定参考，于1997年开始，收集重庆市区近两年夏秋季的痢疾流行菌株并进行了初步研究，现将结果报告如下。

1　材料和方法

1.1　菌株来源　分别于1997年6月至1997年12月、1998年5月至1998年11月收集重庆医科大学附属儿童医院等单位分离的志贺菌共349株。

1.2　细菌的血清学分型　采用志贺菌20种标准抗血清：兰州生物制品研究所，批号980101。

1.3　药敏试验　采用K-B纸片法，以NCCLS标准作为判断标准。

1.4　质粒图谱分析　参照《分子克隆》第二版等的方法。

1.5　统计处理　采用 χ^2 检验，以 $P<0.05$ 为差异显著。所有数据用SAS软件包处理。

2　结　果

2.1　血清学分型　本次收集的349株志贺菌，共分两大血清群，5种血清型。（表1）

作者介绍：王　琼（1972—09出生），女，硕士生

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.2 药敏试验 将1998年收集到的167株志贺菌对10种抗生素作药敏试验，结果见表2、表3。

2.3 质粒图谱分析 349株志贺菌在保存过程中死亡15株(其中福氏2a血清型13株，宋内志贺菌2株)，对存活的334株细菌采用质粒图谱分析，仅有4株福氏2a型菌痢未检出质粒，其余菌株均检出质粒，总检出率为98.8%。

2.3.1 福氏2a血清型志贺菌的质粒图谱分析 261株福氏2a志贺菌的质粒图谱可分为7 种模式(表4)

2.3.2 其它福氏志贺菌质粒图谱分析 除2a血清型外的其它18株福氏志贺菌，其所含质粒大小与福氏2a血清型相同。根据质粒图谱可将这18株细菌归类于福氏2a血清型的7 种质粒分型模式之中。其中11株属于1型模式，4株属5型模式，3株为3型模式。

2.3.3 宋内志贺菌的质粒图谱分析 51 株存活的宋内志贺菌其质粒图谱可分为12种模式(表5)。

表1 349株志贺菌的血清学型结果

血清群	株数(%)	血清型	株数(%)
B	296(84.8)	IIa	278(79.7)
		Ia	15(4.3)
		IIIa	2(0.5)
		Y	1(0.3)
D	53(15.2)	D	53(15.2)
合计	349		349

表2 167株志贺菌对10种抗生素的药敏情况

抗生素	敏感数	耐药数	敏感率(%)
菌必治	164	3	98.2
先锋必	119	48	71.3
悉复欢	116	51	69.5
凯复隆	103	64	61.7
先锋V	90	77	53.9
头孢拉啶	37	130	22.2
氟哌酸	15	152	9.0
丁胺卡那	7	160	4.2
妥布霉素	6	161	3.6
利福平	0	167	0.0

表3 167株志贺菌的多重耐药情况

耐药种数	B群株数(%)	D群株数(%)	合计(%)
10	2(1.5)	1(2.8)	3(1.8)
9	11(8.3)	0(0.0)	11(6.6)
8	12(9.1)	1(2.8)	13(7.8)
7	23(17.4)	3(8.6)	26(15.6)
6	42(31.8)	7(20.0)	49(29.3)
5	33(25.0)	15(42.8)	48(28.7)
4	8(6.1)	5(14.2)	13(7.8)
3	1(0.8)	3(8.6)	4(2.4)
合计	132(100.00)	35(100.0)	167(100.0)

确切概率法$P=5.85\times10^{-3}$

表4 重庆市福氏2a志贺菌的质粒模式

模式	质粒大小与构成(kb)	菌株数
1	23.1 5.7 3.7 2.3 1.8	176
2	23.1 5.7 3.7 2.3 1.8 1.5	20
3	23.1 5.7 3.7	25
4	23.1 5.7 3.7 3.0	23
5	23.1 5.7 3.7 3.0 2.3 1.8 1.5	6
6	23.1 5.7 3.7 2.3 1.8 1.5 1.0	3
7	23.1 5.7 3.7 3.0 2.3 1.8	8

表5 重庆市宋内志贺菌的质粒模式

模式	质粒大小与构成(kb)	菌株数
1	23.1 1.5 1.0	8
2	23.1 1.5	3
3	23.1 6.4	1
4	23.1 10.0 6.4	2
5	50.0 23.1 10.0 6.4 4.2 3.6 2.2 1.7 1.3	7
6	23.1 6.4 1.5	5
7	23.1	3
8	50.0 23.1 7.6 1.5	1
9	23.1 4.2 3.6 2.2 1.5 1.0	4
10	23.1 3.6 1.5 1.0	2
11	50.0 23.1 7.6 4.2 3.6 2.2 1.7 1.3	8
12	23.1 3.6	7

3 讨 论

3.1 本次研究结果提示近年来重庆市区流行的痢疾菌群只有福氏志贺菌(B)和宋内志贺菌(D)两种血清群，其中福氏菌群占84.8%，是重庆市的主要流行菌群，宋内菌群仅占15.2%，而在福氏菌群的13种血清型中又以福氏2a血清型为主，占志贺菌总数的79.7%，占福氏菌群的93.9%。在八十年代末，有统计数据表明我国志贺菌菌群分布总的特征是以B群为主，D群次之。本次研究结果表明重庆市区痢疾流行菌株其菌群分布符合此特征，但也有一定的特点。(1)B群占据绝对优势(84.8%)，D群比例较低(15.2%)。(2)B群中，福氏2a血清型占93.9%，较往年有较大幅度增高。(3)只检出B群和D群未发现A群与C

维普资讯 http://www.cqvip.com

群。1992年，聂青和等人在对北京部分地区1987-1991年志贺菌菌群分布的研究中发现，福氏2a血清型所占比例呈上升趋势，而A群和C群则明显下降。本次实验福氏2a血清型占福氏志贺菌的93.9%，而A群和C群未曾检出。并且，在福氏志贺菌13种血清型中，只发现4种血清型，即IIa、Ia、IIIa及y变种，未见其它型别，这一结果似提示，志贺菌流行菌株的菌群分布正从复杂化、多样化转向简单化、单一化。而只有一种血清型的D群所占比例的不断上升似乎也反映了这一变化。

3.2 细菌的质粒图谱分析已成为流行病学研究中细菌分型、寻找传染源及传播途径的一种较好方法。从本次实验结果看，具有同种血清型的志贺菌，可凭质粒图谱分为不同型别，表明质粒图谱分析更能识别不同菌株。对于不同来源的菌株，其质粒模式越多，则说明它们在遗传学上的同源相关性越远，区别不同来源菌株的特异性越好。本次收集的279株福氏志贺菌共包含有8种质粒，分为7种质粒分型模式。其中3种质粒普遍存在于每一株含有质粒的菌株中，而另两种质粒(2.3kb，1.8kb)在检测中均同时存在或同时消失，这5种质粒在所研究的福氏志贺菌中的检出率为73.5%，显示7种模式的质粒构成有较明显的同源性。而以这5种质粒作为质粒构成的1型质粒模式，其菌株数占所检福氏志贺菌的66.1%，为重庆市当前流行的主要质粒模式。上述数据亦提示重庆市当前流行的福氏志贺菌在遗传学上有较近的同源相关性。

只有一种血清型的宋内志贺菌，在流行病学调查中，有必要采用一种新的分型方法，特别在D群比例不断上升的现阶段，更有其特殊意义。从本次实验结果看，所检测的51株宋内志贺菌，共含有12种质粒，分为12种质粒模式，显示质粒图谱分析是宋内志贺菌进一步识别的较好方法。

从志贺菌质粒分型模式可以看出：B群和D群之间只有2.3kb、1.5kb、1kb质粒是共有的，其余质粒DNA大小完全不同，它们之间无交叉的质粒分型模式。而B群中不同血清型的菌株，由于所含质粒构成相同，可归类于同一种质粒分型模式。香港地区也有报道：在福氏志贺菌中发现的4种质粒(3.9，2.8，2.2，1，8kb)未在宋内志贺菌中检出，提示志贺菌的抗原分群与其质粒组成之间有明显的相关性。由于本次实验只涉及B群和D群的菌株，至于A群与C群是否也有这种关系有待进一步了解。

根据临床资料，有19例病人为中毒性菌痢，引起毒痢的19株细菌与其它细菌在血清学分型和质粒图谱分型中均未发现有明显的差异，这提示毒痢与细菌的血清型和质粒组成并无密切关系。

3.3 现有研究表明，志贺菌耐药问题相当严重，一般都存在三重及三重以上的耐药，且耐药产生迅速，曾有报道我国三重以上耐药的痢疾菌株占94.67%；有些药物如磺胺在使用一两年内就产生了严重耐药。本次实验结果也反映了这一现象。根据临床用药而选定的10种抗生素都分别不同程度地出现了耐药情况。其中最严重的是利福平，耐药率达100%，其次为妥布霉素和丁胺卡那霉素。最敏感的抗生素是菌必治，耐药率仅为1.8%，对所检测的167株志贺菌，三重耐药率达100%，五重及五重以上耐药占89.8%，其中福氏志贺菌的多重耐药多集中于五重及五重以上(占93.1%)，宋内志贺菌的多重耐药多集中于五重及五重以下(占65.6%)，χ^2检验表明这种差异有显著性，提示福氏志贺菌的多重耐药情况较宋内志贺菌更为严重，这可能与宋内血清群在重庆市所占比例较小，所受抗生素压力较小有关。

参 考 文 献

[1] 崔涵英，李国光．我国37年来细菌性痢疾菌群分布的分析[J].中华流行病学杂志，1988;6:339~341

[2] 聂青和，张开瑞，党颖徐，等．北京部分地区1987～1991年痢疾杆菌菌群分布与药敏试验[J]．中华传染病杂志，1994;1:52~53

[3] Ling JM.,Shaw PC,Kam KM,et al.Molecular studies of plasmid of multiply-resistant Shigella,spp in Hong Kong[J]. Epidemiol Infect.1993.110:437~442

[4] 徐兆炜．腹泻病原菌耐药质粒的监测研究，1987~1988年我国某些地区痢疾杆菌和大肠耐药性监测报告[J]．中华流行病学杂志，1989;10(s11);47~48

[5] Farrar WE,et al.Antibiotic resistance in developing countries [J].J Infect Dis ,1985 152(6):1103~1109