

· 论 著 ·

某院金黄色葡萄球菌耐药性分析及毒素基因与耐药基因检测*

刘 玲^{1,2}, 陈晓聪^{3#}, 李 璟³, 范 蕾³, 李卓禧³, 侯竹如³, 杨娅男¹, 严荣荣^{2△}, 徐本锦^{1,2▲}

1. 山西医科大学汾阳学院医学检验系, 山西汾阳 032200; 2. 山西省汾阳医院检验科, 山西汾阳 032200;

3. 山西医科大学汾阳学院基础医学部, 山西汾阳 032200

摘 要:目的 了解山西省汾阳医院金黄色葡萄球菌的临床分布、耐药性及毒素基因携带情况, 为有效防治该菌感染提供思路。**方法** 从山西省汾阳医院收集 20 株金黄色葡萄球菌, 采用试纸条法测定菌株对 15 种抗菌药物的耐药性, 采用 PCR 技术扩增菌株的 8 种外排泵基因、16 种耐药基因和 23 种毒素基因。**结果** 金黄色葡萄球菌对青霉素的耐药率最高(100%), 其次是红霉素和克林霉素(70%)。所有菌株对米诺环素、呋喃妥因、阿米卡星、万古霉素及利奈唑胺敏感, 多重耐药菌占 70%。共检出 6 个外排泵基因、9 个耐药基因和 18 个毒素基因。外排泵基因谱 *norA-norB-norC-sepA-mepA-mdeA*, 耐药基因谱 *ermC-gyrA-grlA-tet(k)*, 毒素基因谱 *nuc-see-selp* 和 *nuc-pvl-sell-selp* 占比最高。**结论** 该院金黄色葡萄球菌耐药性强, 外排泵基因、耐药基因和毒素基因分布广泛, 临床治疗应优先考虑米诺环素、呋喃妥因和阿米卡星等敏感药物。

关键词:金黄色葡萄球菌; 外排泵基因; 耐药基因; 毒素基因

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.16.011

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2023)16-1967-07

文献标志码:A

Analysis of drug resistance and detection of toxin genes and drug resistance genes of *Staphylococcus aureus* in a hospital*

LIU Ling^{1,2}, CHEN Xiaocong^{3#}, LI Jing³, FAN Lei³, LI Zhuoxi³, HOU Zhuru³, YANG Ya'nan¹, YAN Rongrong^{2△}, XU Benjin^{1,2▲}

1. Department of Medical Laboratory, Fenyang College of Shanxi Medical University, Fenyang, Shanxi 032200, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Fenyang Hospital of Shanxi Province, Fenyang, Shanxi 032200, China; 3. Department of Basic Medicine, Fenyang College of Shanxi Medical University, Fenyang, Shanxi 032200, China

Abstract: **Objective** To understand the clinical distribution, drug resistance and toxin gene carrying of *Staphylococcus aureus* in Fenyang Hospital of Shanxi Province, so as to provide ideas for effective prevention and treatment of the infection. **Methods** Twenty strains of *Staphylococcus aureus* were collected from Fenyang Hospital of Shanxi Province, and their resistance to 15 kinds of antibiotics was determined by test strip method. Eight efflux pump genes, 16 drug resistance genes and 23 toxin genes of the strains were amplified by PCR. **Results** *Staphylococcus aureus* had the highest resistance rate to penicillin (100%), followed by erythromycin and clindamycin (70%). All strains were sensitive to minocycline, nitrofurantoin, amikacin, vancomycin and linezolid, and 70% of them were multidrug resistant. A total of 6 efflux pump genes, 9 drug resistance genes and 18 toxin genes were detected. The efflux pump gene profile *norA-norB-norC-sepA-mepA-mdeA*, the drug resistance gene profile *ermC-gyrA-grlA-tet(k)*, the toxin gene profiles *nuc-see-selp* and *nuc-pvl-sell-selp* accounted for the highest proportion. **Conclusion** *Staphylococcus aureus* in a hospital has strong drug resistance, efflux pump genes, drug resistance genes and toxin genes are widely distributed, and sensitive drugs such as minocycline, nitrofurantoin and amikacin should be given priority in clinical treatment.

Key words: *Staphylococcus aureus*; efflux pump gene; drug resistance gene; toxin gene

金黄色葡萄球菌是造成感染性疾病和食物中毒的主要原因, 可引起皮肤和软组织感染、坏死性肺炎、败血症、中毒性休克综合征和血液感染等多种疾病^[1-3]。近年来, 各类抗菌药物的广泛使用及滥用导

* 基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目(20221569); 山西医科大学汾阳学院大学生创新创业训练计划项目(FDC202111); 吕梁市科技计划项目(2020SHFZ29, 2021SHFZ-1-18)。

作者简介: 刘玲, 女, 助教, 主要从事病原分子生物学方面研究。△ 通信作者, E-mail: 1650430117@qq.com; ▲ 通信作者, E-mail: bj0726@sxmu.edu.cn。# 共同第一作者简介: 陈晓聪, 女, 本科在读, 主要从事病原分子生物学方面研究。

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20230731.1535.002.html\(2023-08-01\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20230731.1535.002.html(2023-08-01))

致金黄色葡萄球菌耐药性增强,并出现超级耐药菌耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)。MRSA 比甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌(MSSA)毒性更强。MRSA 不仅对绝大多数 β -内酰胺类抗菌药物耐药,而且对氨基糖苷类、大环内酯类、林可霉素类、四环素类及喹诺酮类等抗菌药物产生多重耐药,目前已成为临床抗感染治疗的棘手问题,常导致治疗失败、医疗费用和病死率增加^[4]。其中,苯唑西林敏感的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(OS-MRSA),因其对苯唑西林的敏感性,常导致药敏试验的错误识别,可能被错误地归类为 MSSA,导致潜在的治疗失败,目前有关山西地区 OS-MRSA 感染现状的数据仍然有限。金黄色葡萄球菌的感染能力与其携带的毒素基因种类和数量有关。这些毒素基因编码肠毒素(SEs)、肠毒素样毒素(SEIs)、杀白细胞素(PVL)、剥脱毒素(Ets)和中毒休克毒素-1(TSST-1)等多种毒力因子。除早期报道的 5 种经典肠毒素基因(sea~see)外,还鉴定到十余种新型肠毒素基因(seg~sej, sel~seq, ser~set)^[5]。杀白细胞素是由 lukS-PV 和 lukF-PV 两个基因编码的蛋白复合体,可引起皮肤、软组织感染和严重的坏死性肺炎^[6]。剥脱毒素主要引起皮肤散热功能失调,对婴幼儿和儿童危害严重,目前已知的剥脱毒素基因主要有 4 种(eta~etd),其中剥脱毒素 ETA 和 ETB 与人类皮肤损伤关系密切^[7]。中毒休克毒素-1 是中毒休克综合征的关键致病因子,可引起发热、皮疹、低血压、皮肤脱皮,并累及身体多个脏器^[8]。掌握金黄色葡萄球菌的分子特征对于鉴别菌株间的亲缘关系、分析传播因素、查找传染源并有效控制感染意义重大。本研究测定了山西省汾阳医院 20 株金黄色葡萄球菌对 15 种常见抗菌药物的耐药性,利用 PCR 技术检测了菌株致病基因的携带情况,确定了菌株的耐药谱、耐药基因谱和毒素基因谱,旨在深入了解山西省汾阳医院金黄色葡萄球菌的流行特点、毒力和耐药机制,为有效防治该菌感染提供了科学依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2021 年 4—9 月在山西省汾阳医院分离到金黄色葡萄球菌 20 株(编号 39~58),主要来自分泌物 12 株(编号 40~45、47、49、51、52、57、58)和脓液 8 株(编号 39、46、48、50、53~56),其中耳鼻咽喉科 5 株(编号 39、45、46、50、57),新生儿科 7 株(编号 40、42、44、47、52、55、56),儿科 3 株(编号 41、53、58),骨科 2 株(编号 49、51),内分泌科(编号 43)、普外科(编号 54)和肛肠科(编号 48)各 1 株。标准菌株 ATCC25923 和 ATCC29213 由本实验室保存。

1.2 仪器与试剂 dNTPs、Taq DNA 聚合酶、10×PCR Buffer 及 DL1 000 DNA 标志物(大连宝生物),PCR 引物(上海生工),6×DNA Loading buffer、Trans2K Plus DNA 标志物及 EasyPure[®] bacteria genomic DNA kit(北京全式金),NA-Green 及 TBE(碧云天),琼脂糖(BIOWEST),PCR 仪(Bio-Rad),NanoDrop One 超微量紫外分光光度计(赛默飞世尔),

VITEK2-Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析仪及配套药敏卡 GP67(法国生物梅里埃股份有限公司),BACTECFX 全自动血培养系统及配套的血培养瓶(碧迪公司),血琼脂平板(郑州安图生物)。

1.3 方法

1.3.1 菌株的分离鉴定及药敏试验 严格按照第 4 版《全国临床检验操作规程》进行,将临床送检的各种分泌物、尿液等标本直接接种到血琼脂平板,培养 18~24 h,挑取可疑的菌落进行分纯鉴定;血液标本注入血培养瓶中机培养,待仪器检测到细菌生长信号后再转种到血琼脂平板上培养 18~24 h,挑取可疑的菌落进行鉴定;采用 VITEK2-Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析仪检测细菌的最低抑菌浓度(MIC)。

1.3.2 基因组 DNA 提取 将分离株接种至血平板,37℃培养过夜后挑取单菌落于 8 mL LB 液体培养基,37℃振荡培养 12 h;取 1 mL 培养的菌液,用革兰阳性菌基因组 DNA 提取试剂盒抽提菌株基因组 DNA, NanoDrop One 超微量紫外分光光度计定量后进行琼脂糖凝胶电泳检测,其余样品置于-20℃冰箱保存。

1.3.3 PCR 反应体系及扩增条件 PCR 体系为 25.0 μ L;灭菌超纯水 17.5 μ L,10×PCR 缓冲液 2.5 μ L,dNTPs 2.0 μ L,DNA 模板 1.0 μ L,正、反向引物各 1.0 μ L,Taq DNA 聚合酶 0.125 μ L。外排泵基因、耐药基因和毒素基因的引物序列和扩增条件分别参照文献[9-11]执行。

2 结果

2.1 耐药率测定 金黄色葡萄球菌对青霉素的耐药率最高(100%),其次是红霉素和克林霉素(70%)。所有菌株对米诺环素、呋喃妥因、阿米卡星、万古霉素和利奈唑胺敏感。见表 1。

表 1 金黄色葡萄球菌的耐药率($n=20$,%)

抗菌药物	敏感	中敏	耐药
青霉素	0	0	100
复方磺胺甲噁唑	85	0	15
庆大霉素	90	5	5
红霉素	20	10	70
克林霉素	30	0	70
四环素	85	5	10
米诺环素	100	0	0
利福平	90	5	5
诺氟沙星	80	10	10
左氧氟沙星	90	0	10
呋喃妥因	100	0	0
苯唑西林	90	0	10
阿米卡星	100	0	0
万古霉素	100	0	0
利奈唑胺	100	0	0

注:苯唑西林对 58 号菌株的 MIC $\leq$ 0.25 μ g/mL,苯唑西林对 41 号菌株的 MIC=2 μ g/mL。

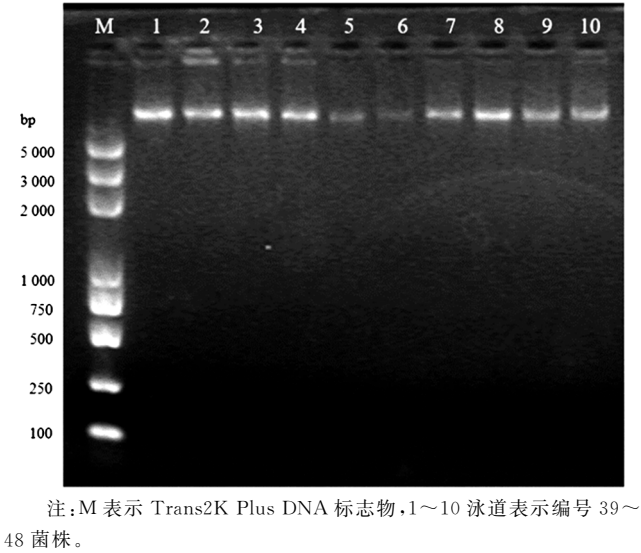
2.2 耐药谱分析 所有菌株对青霉素耐药,有 14 株多重耐药菌(耐药谱 $\geq$ 3 种抗菌药物),占比为 70%,其中四重耐药菌、五重耐药菌和六重耐药菌各有 2 株(10%)。见表 2。

2.3 基因组 DNA 提取 金黄色葡萄球菌是革兰阳性菌,细胞壁较厚,琼脂糖凝胶电泳检测结果显示,DNA 条带清晰、单一,相对分子质量大小符合预期。见图 1。

2.4 耐药基因检测 所有菌株共检出 9 个耐药基因和 3 株 MRSA,其中 1 株为 OS-MRSA(编号 58 菌株)。gyrA 和 grlA 检出率最高,均为 100%;其次是 ermC 和 tet(k),检出率分别为 95%和 80%;再次是 blaZ,检出率为 60%;Lin(A)和 ermB 检出率分别为 30%和 20%;52、57 和 58 号菌株为 mecA 阳性;aacA-aphD 检出率为 5%;所有菌株均不携带 ermA、fexA、tet(L)、tet(M)、tet(O)、optrA 和 cfr。部分检测结果见图 2。

表 2 金黄色葡萄球菌的耐药谱

耐药谱	耐药菌株编号	占比 (%)
PEN	42、43、47、48、49	25
PEN-ERY	40	5
PEN-ERY-CLI	41、46、50、53、54、55、56、58	40
PEN-ERY-CLI-OXA	57	5
PEN-ERY-CLI-RIF	51	5
PEN-SXT-CLI-TET-NOR	39	5
PEN-SXT-ERY-CLI-LVX	45	5
PEN-SXT-GEN-ERY-CLI-TET	44	5
PEN-ERY-CLI-NOR-LVX-OXA	52	5

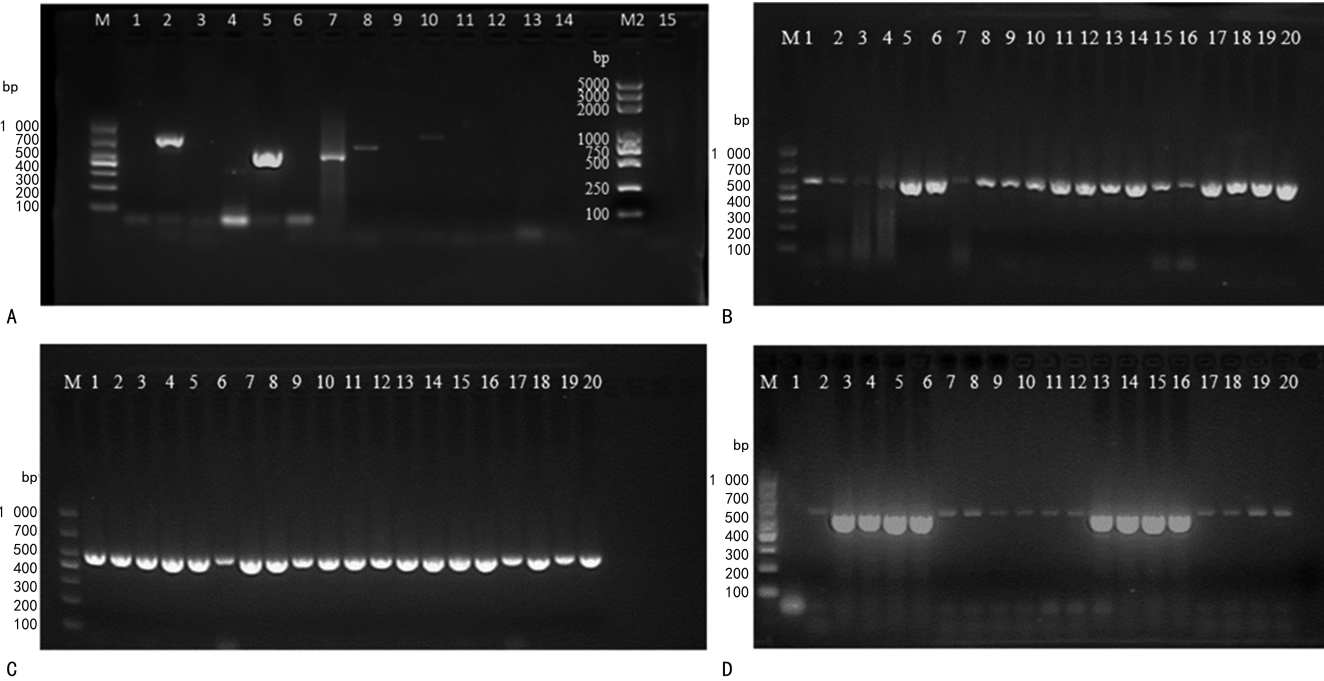


注:M 表示 Trans2K Plus DNA 标志物,1~10 泳道表示编号 39~48 菌株。

图 1 金黄色葡萄球菌基因组 DNA 提取

2.5 耐药基因谱分析 所有菌株至少携带 3 种及以上耐药基因,占比最高的耐药基因谱是 ermC-gyrA-grlA-tet(k),占比为 25%,其次是 blaZ-ermC-gyrA-grlA-tet(k)-Lin(A),占比为 20%。见表 3。

2.6 外排泵基因检测 所有菌株共检出 6 个外排泵基因,其中 norB 和 mepA 检出率最高,均为 100%;其次是 norC 和 mdeA,检出率分别为 95%和 90%;再次是 norA,检出率为 70%;sepA 检出率为 40%;所有菌株均不携带 qacA/B 和 smr,部分检测结果见图 3。



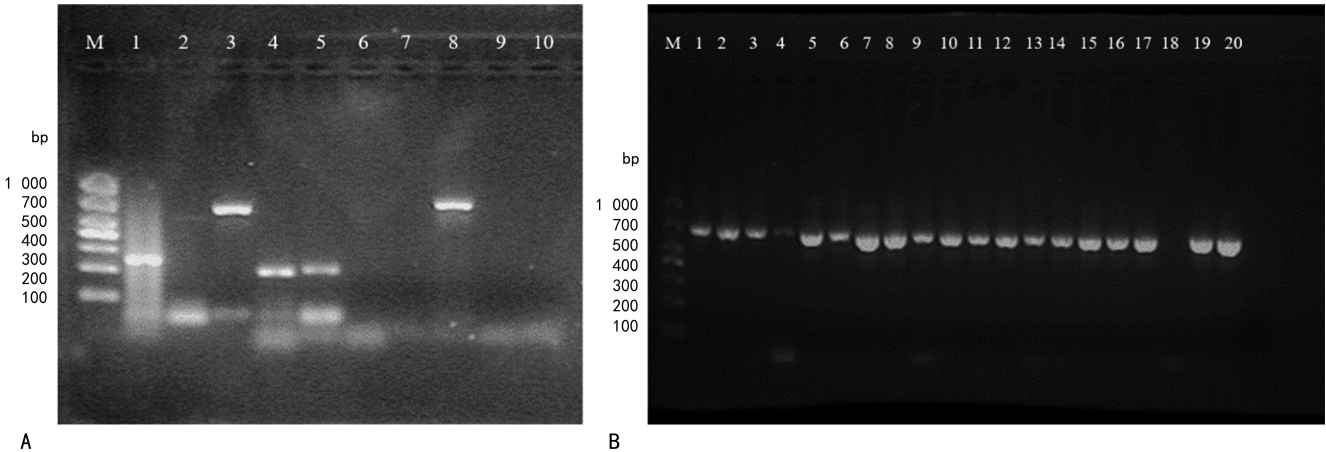
注:A 表示耐药基因 aacA-aphD~optrA 电泳结果,M 为 DL1 000 DNA 标志物,1 为 aacA-aphD,2 为 blaZ,3 为 ermA,4 为 ermB,5 为 ermC,6 为 fexA,7 为 gyrA,8 为 grlA,9 为 tet(L),10 为 tet(k),11 为 tet(M),12 为 tet(O),13 为 Lin(A),14 为 cfr,M2 为 Trans2K Plus DNA 标志物,15 为 optrA;B 表示耐药基因 grlA 电泳结果,M 为 DL1 000 DNA 标志物,1~20 泳道为 grlA 基因,菌株编号 39~48;C 表示耐药基因 gyrA 电泳结果,M 为 DL1 000 DNA 标志物,1~20 泳道为 gyrA 基因,菌株编号 39~48;D 表示耐药基因 ermC 电泳结果,M 为 DL1 000 DNA 标志物,1~20 泳道为 ermC 基因,菌株编号 39~48。

图 2 金黄色葡萄球菌耐药基因检测

2.7 外排泵基因谱分析 所有菌株至少携带 3 个及以上外排泵基因,占比最高的外排泵基因谱是 norA-norB-norC-sepA-mepA-mdeA (35%),其次是 norA-norB-norC-mepA-mdeA,占比为 30%。见表 4。

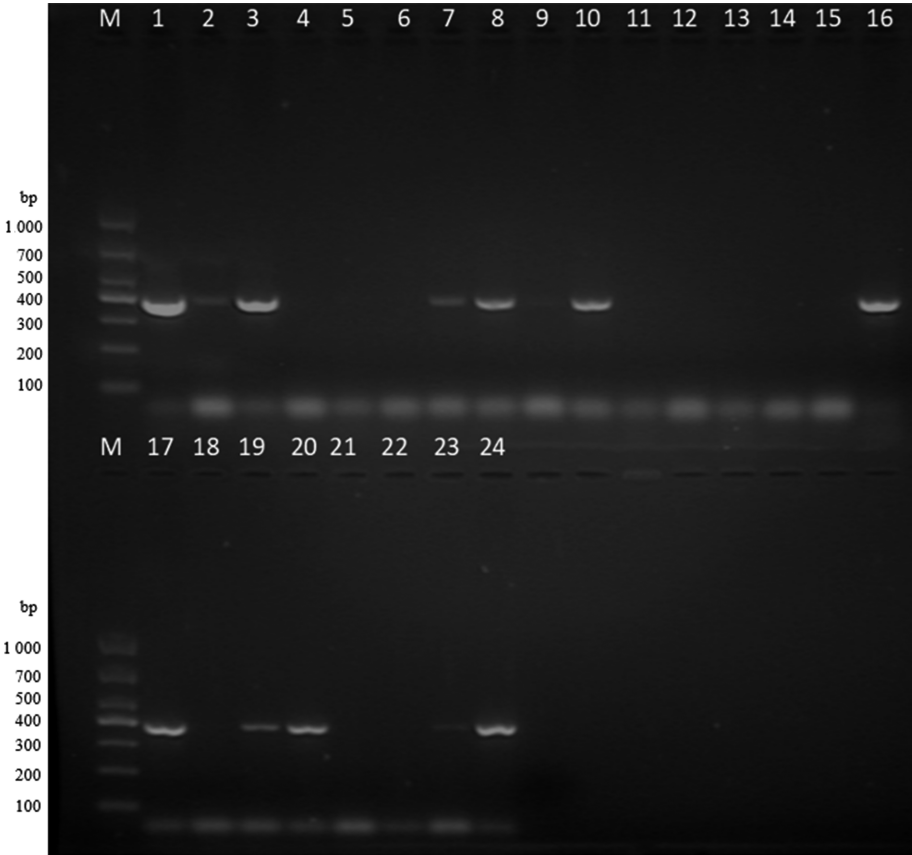
2.8 毒素基因检测 所有菌株共检出 18 个毒素基因,包括耐热核酸酶基因 *nuc*、杀白细胞素基因 *pvl*、表皮剥脱毒素基因 *eta* 及 15 种肠毒素基因。其中 *nuc* 基因的检出率(100%)最高;其次是肠毒素基因 *sei* 和

selo,检出率分别为 55%和 50%;再次是肠毒素基因 *seg* 和 *selp*,检出率分别为 45%和 40%;*selk* 检出率为 35%;*pvl*、*eta*、*seln*、*selq* 检出率均为 30%;*seb*、*see*、*seh*、*sell*、*selm* 检出率均为 20%;*sea* 和 *selu* 检出率均为 10%;*sec* 检出率为 5%;所有菌株均不携带中毒休克症毒素基因 *tst*、表皮剥脱毒素基因 *etb* 及肠毒素基因 *sed*、*selj*、*ser*。部分毒素基因检测结果见图 4。



注:A表示 *nuc*~*smr* 基因电泳结果,M为 DL1 000 DNA 标志物,1 为 *nuc*,2 为 *mecA*,3 为 *norA*,4 为 *norB*,5 为 *norC*,6 为 *sepA*,7 为 *mepA*,8 为 *mdeA*,9 为 *qacA/B*,10 为 *smr*;B 表示外排泵基因 *mepA* 电泳结果,M 为 DL1 000 DNA 标志物,1~20 泳道为 *mepA* 基因,菌株编号 39~48。

图 3 金黄色葡萄球菌外排泵基因检测



注:M表示 DL1 000 DNA 标志物,1~24 泳道为 *seg*,1 为 ATCC29213-1,2 为 ATCC29213-2,3 为 ATCC25923-1,4 为 ATCC25923-2,5~24 泳道为编号 49~58 菌株。

图 4 金黄色葡萄球菌毒素基因检测

表 3 金黄色葡萄球菌的耐药基因谱

耐药基因谱	阳性菌株编号	占比 (%)
ermC-gyrA-grlA	48	5
blaZ-ermC-gyrA-grlA	42	5
ermC-gyrA-grlA-tet(k)	49、50、54、55、56	25
mecA-blaZ-ermB-gyrA-grlA	57	5
blaZ-ermC-gyrA-grlA-tet(k)	40、41、53	15
mecA-blaZ-ermC-gyrA-grlA	58	5
ermB-ermC-gyrA-grlA-tet(k)	51	5
blaZ-ermC-gyrA-grlA-tet (k)-Lin(A)	39、43、45、47	20
mecA-ermB-ermC-gyrA-grlA-tet(k)	52	5
blaZ-ermB-ermC-gyrA-grlA-tet(k)-Lin(A)	44	5
aacA-aphD-blaZ-ermC-gyrA-grlA-tet(k)-Lin(A)	46	5

表 4 金黄色葡萄球菌的外排泵基因谱

外排泵基因谱	阳性菌株编号	占比 (%)
norB-norC-mepA	49	5
norB-mepA-mdeA	54	5
norB-norC-mepA-mdeA	50、53、55	15
norA-norB-norC-mepA	51	5
norA-norB-norC-mepA-mdeA	43、45、52、56、57、58	30
norB-norC-sepA-mepA-mdeA	48	5
norA-norB-norC-sepA-mepA-mdeA	39、40、41、42、44、46、47	35

2.9 毒素基因谱分析 所有菌株至少携带 3 种及以上毒素基因, nuc-see-selp 和 nuc-pvl-sell-selp 在所有毒素基因谱中占比最高, 均占比为 10%, 其他毒素基因谱均占比为 5%。见表 5。

表 5 金黄色葡萄球菌的毒素基因谱

毒素基因谱	阳性菌株编号	占比 (%)
nuc-see-selp	39、43	10
nuc-seln-selp	47	5
nuc-pvl-sell-selp	40、45	10
nuc-eta-seh-sei	49	5
nuc-seg-sei-selm	54	5
nuc-seg-sei-selo	55	5
nuc-sec-seh-sell-selo	53	5
nuc-eta-seb-seh-selk-selq	52	5
nuc-seg-sei-selk-selo-selq	56	5
nuc-seb-sei-selk-selo-selq	57	5

续表 5 金黄色葡萄球菌的毒素基因谱

毒素基因谱	阳性菌株编号	占比 (%)
nuc-pvl-eta-sea-see-seln-selp	42	5
nuc-sea-seb-see-selk-selp-selq	44	5
nuc-pvl-seg-sei-selm-seln-selo	48	5
nuc-pvl-eta-seg-sei-selo-selq	51	5
nuc-eta-seg-sei-selk-selo-selu	58	5
nuc-pvl-seg-sei-selk-selm-seln-selo	46	5
nuc-eta-seg-sei-selk-selm-seln-selo-selq	50	5
nuc-seb-seg-seh-sei-sell-seln-selo-selp-selu	41	5

3 讨 论

中国细菌耐药监测网(CHINET)显示, 中国 MR-SA 分离株的检出率在近五年逐年下降, 从 2005 年的 69.0%降低至 2020 年的 31.0%(<http://www.chinets.com/>)。与 CHINET 数据相比, 本研究 MRSA 检出率(15%)比中国 2020 年的检出率降低了 16.0%。相比之下, 2016 年美国 and 南非的 MRSA 流行率分别为 44%和 27%, 2017 年澳大利亚和英国的 MRSA 流行率分别为 19%和 7% (<https://resistancemap.cddep.org/>)。以上结果表明, 不同国家和省份 MRSA 的流行情况不同。

本研究所有菌株对青霉素耐药(100%), 对红霉素、克林霉素的耐药率为 70%, 这与 LIU 等^[12]的报道基本一致。菌株对青霉素极高的耐药率可能是其作为一种常用药物, 长期以来广泛应用于葡萄球菌感染治疗, 并在金黄色葡萄球菌中建立了相当稳定的耐药性。然而耐药基因检测结果显示, 青霉素酶编码基因 blaZ 的检出率只有 60%, 这一差异提示可能存在其他青霉素耐药机制。

本研究中, 70%的菌株表现出多重耐药, 且大多数对青霉素、红霉素和克林霉素表现出共同耐药, 这与 PAHLAVANZADEH 等^[13]报道结果差异不大, 但比 LIU 等^[12]报道结果低 10%。20 株样本中共检出 3 株 MRSA, 其余 17 株为 MSSA, 其中多重耐药株包括所有 MRSA(100%, 3/3)和 11 株 MSSA(64.7%, 11/17), MRSA 中多重耐药菌株的比例是 MSSA 的 1.5 倍, 低于 GAN 等^[14]报道的结果。这表明 MRSA 耐药严重, 可能是由于 MRSA 在获得可移动遗传元件方面的亲和力增加, 如转座子或携带耐药基因的接合质粒^[15]。值得注意的是, 编号 41 菌株对苯唑西林的 MIC 为 2 μg/mL, 但未检测到 mecA 基因, 这可能 mecA 基因发生了点突变或缺失或由于抑制剂存在而导致 PCR 反应的假阴性^[16], 也可能是该菌携带其他耐药基因如 mecC^[17], 这一现象还在进一步研究中。菌株对利福平和庆大霉素的耐药率仅为 5.0%, 且所有菌株对米诺环素、呋喃妥因、阿米卡星、万古霉素及

利奈唑胺敏感。这与文献[18-19]报道结果相一致,表明这些药物可能会成为临床抗感染治疗的首选。对耐药谱进行分析后发现,PEN-ERY-CLI(占比为40%)是最流行的耐药谱,20%的菌株为五重和六重耐药。因此,临床治疗应合理选用抗菌药物以控制耐药菌的出现和传播。

本研究所有菌株都携带氟喹诺酮类耐药基因 *grrA* 和 *gyrA*,共检出 6 个外排泵基因,其中 *norB* 和 *mepA* 检出率最高(100%),其次是 *norC*(95%)和 *mdeA*(90%),再次是 *norA*(70%),这与张行等^[9]报道结果基本一致。然而菌株对喹诺酮类药物诺氟沙星和左氧氟沙星的耐药率仅为 10%,这种高外排泵基因携带率与较低耐药性之间的差异还有待深入研究。所有红霉素耐药菌除 1 株携带 *ermB* 基因外,其余菌株均携带 *ermC* 基因,说明在本研究中 *ermC* 基因是红霉素耐药的主要决定子,这与文献[20]研究结果相一致。所有菌株的克林霉素耐药基因 *Lin(A)* 检出率为 30%,远低于克林霉素耐药率(70%),提示菌株对克林霉素的耐药可能是多基因联合作用的结果。

本研究还鉴定到 1 株来自儿科分泌物的 OS-MRSA,该菌对苯唑西林和头孢西丁敏感但携带 *mecA* 基因。OS-MRSA 早在多个国家和地区已有报道^[21]。文献[22-23]报道的 OS-MRSA 流行率仅为 1.6%和 1.8%,远低于本研究的 5%,这可能是本研究样本量较小导致的。OS-MRSA 对苯唑西林的敏感性容易导致常规药敏试验的错误识别,从而造成潜在的治疗失败^[24],因此这种非典型 MRSA 值得高度关注。最近有研究报道,*mecA* 基因的启动子区、*gryA/grrA* 基因和 *femA* 基因的突变与边缘耐苯唑西林金黄色葡萄球菌和 OS-MRSA 有关^[25],*mecA* 基因的序列不稳定性和 *bla* 表达调控系统的突变导致苯唑西林和头孢西丁敏感 MRSA 产生^[26-27]。笔者将在后续研究中对这株 OS-MRSA 进行全基因组测序分析,以深入揭示其遗传和分子特征。耐药基因谱统计结果显示,所有菌株至少携带 3 个及以上耐药基因,*ermC-gyrA-grrA-tet(k)* 在所有耐药基因谱中占比最高(25%),其次是 *blaZ-ermC-gyrA-grrA-tet(k)-Lin(A)*,占比为 20%。

毒力因子与细菌的致病性密切相关,毒素基因检测对于金黄色葡萄球菌的流行病学控制具有重要价值。*eta* 和 *etb* 在金黄色葡萄球菌临床株中的携带率较低,为 0.5%~2.0%^[28],而本研究 *eta* 基因的携带率高达 30%,但未检测到 *etb*,提示剥脱毒素相关基因的全球流行趋势可能具有时空和区域差异性。对毒素基因谱进行统计后发现,所有菌株至少携带 3 个及以上毒素基因,其中编号 46、50、41 菌株分别携带 8、9、10 个毒素基因,后续将对这 3 株菌进行深入研究,以揭示其毒力和致病机制。

综上所述,本院金黄色葡萄球菌临床分离株携带

多种外排泵基因、耐药基因和毒素基因,菌株的耐药谱、耐药基因谱和毒素基因谱广,并出现 MRSA 菌株。最主要的耐药谱和耐药基因谱分别是 PEN-ERY-CLI 和 *ermC-gyrA-grrA-tet(k)*,*norA-norB-norC-sepA-mepA-mdeA* 是最主要的外排泵基因谱,*nuc-see-selp* 和 *nuc-pvl-sell-selp* 是最主要的毒素基因谱。临床治疗金黄色葡萄球菌引起的感染应优先考虑米诺环素、呋喃妥因、阿米卡星、万古霉素、利奈唑胺、复方磺胺甲噁唑及庆大霉素。此外,应继续加强医源性金黄色葡萄球菌的监测和基础研究,以深入揭示其致病性和耐药机制。下一步将对编号 41、44、46 和 50 菌株进行深入研究,用这些菌株感染小鼠,筛选合适的抗菌药物进行治疗,并观察治疗前后小鼠各项指标的变化,从而揭示菌株的毒力和致病机制,以及通过全基因组测序、转录组测序和蛋白质组学分析,揭示菌株的分子特征、差异表达基因和关键信号通路,可为开发靶向药物和有效预防金黄色葡萄球菌感染提供科学依据。

参考文献

- [1] TONG S Y, DAVIS J S, EICHENBERGER E, et al. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management[J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28(3): 603-661.
- [2] European Food Safety Authority and 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 2015[J]. EFSA J, 2016, 14(12): 1-231.
- [3] DAYAN G H, MOHAMED N, SCULLY I L, et al. *Staphylococcus aureus*: the current state of disease, pathophysiology and strategies for prevention[J]. Expert Rev Vaccines, 2016, 15(11): 1373-1392.
- [4] WANG X, LIN D, HUANG Z, et al. Clonality, virulence genes, and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from blood in Shandong, China[J]. BMC Microbiol, 2021, 21(1): 281.
- [5] OMOE K, HU D L, ONO H K, et al. Emetic potentials of newly identified staphylococcal enterotoxin-like toxins[J]. Infect Immun, 2013, 81(10): 3627-3631.
- [6] BADUE PEREIRA M F, BANDO S Y, SASAGAWA S M, et al. Panton-valentine positive *Staphylococcus aureus* in community-acquired and hospital-acquired pediatric infections[J]. Pediatr Infect Dis J, 2019, 38(10): 1068-1070.
- [7] OLIVEIRA D, BORGES A, SIMOES M. *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases[J]. Toxins (Basel), 2018, 10(6): 252.
- [8] KULHANKOVA K, KING J, SALGADO-PABON W. Staphylococcal toxic shock syndrome: superantigen-mediated enhancement of endotoxin shock and adaptive immune suppression[J]. Immunol Res, 2014, 59(1/3): 182-

- 187.
- [9] 张行,杨峰,李新圃,等.牛源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性与外排泵相关基因的检测及相关性研究[J].畜牧兽医学报,2019,50(11):2326-2332.
- [10] 陈程,万佳宏,王瞳,等.奶牛源 MRSA 肠毒素基因、耐药基因及分子分型分析[J].基因组学与应用生物学,2020,39(3):1080-1088.
- [11] PELES F, WAGNER M, VARGA L, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary[J]. Int J Food Microbiol, 2007, 118(2): 186-193.
- [12] LIU Y, BAI J, KANG J, et al. Three novel sequence types carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains ST5365, ST5587, ST5647 isolated from two tertiary teaching general hospitals in Shanxi Province, in north China: molecular characteristics, resistance and virulence factors[J]. Infect Drug Resist, 2022, 15(1): 2551-2563.
- [13] PAHLAVANZADEH S, KHOSHBAKHT R, KABOOSI H, et al. Antibiotic resistance and phylogenetic comparison of human, pet animals and raw milk *Staphylococcus aureus* isolates[J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2021, 79(1): 101717.
- [14] GAN T, SHU G, FU H, et al. Antimicrobial resistance and genotyping of *Staphylococcus aureus* obtained from food animals in Sichuan Province, China [J]. BMC Vet Res, 2021, 17(1): 177.
- [15] DEURENBERG R H, VINK C, KALENIC S, et al. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Clin Microbiol Infect, 2007, 13(3): 222-235.
- [16] DHUNGEL S, RIJAL K R, YADAV B, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): prevalence, antimicrobial susceptibility pattern, and detection of *mecA* gene among cardiac patients from a tertiary care heart center in Kathmandu, Nepal [J]. Infect Dis (Auckl), 2021, 14(1): 11786337211037355.
- [17] PATERSON G K, HARRISON E M, HOLMES M A. The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Trends Microbiol, 2014, 22(1): 42-47.
- [18] FU Y, XIONG M, LI X, et al. Molecular characteristics, antimicrobial resistance and virulence gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolates from Wuhan, central China [J]. Infect Drug Resist, 2020, 13(1): 2063-2072.
- [19] GU F, HE W, XIAO S, et al. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infections at Ruijin hospital in Shanghai from 2013 to 2018 [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 6019.
- [20] SCHMITZ F J, PETRIDOU J, FLUIT A C, et al. Distribution of macrolide-resistance genes in *Staphylococcus aureus* blood-culture isolates from fifteen German university hospitals. M. A. R. S. Study Group. Multicentre study on antibiotic resistance in *Staphylococci* [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2000, 19(5): 385-387.
- [21] CONCEIÇÃO T, COELHO C, DE LENCASTRE H, et al. Frequent occurrence of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) strains in two African countries [J]. J Antimicrob Chemother, 2015, 70(12): 3200-3204.
- [22] SONG Y, CUI L, LV Y, et al. Characterisation of clinical isolates of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* in China from 2009 to 2014 [J]. J Glob Antimicrob Resist, 2017, 11(1): 1-3.
- [23] LIU J L, LI T M, ZHONG N, et al. Current status of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* infection in Shanghai, China: a multicenter study [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2021, 54(6): 1070-1077.
- [24] DUARTE F C, DANELLI T, TAVARES E R, et al. Fatal sepsis caused by *mecA*-positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus*: first report in a tertiary hospital of Southern Brazil [J]. J Infect Chemother, 2019, 25(4): 293-297.
- [25] HUANG Y T, LIAO C H, CHEN S Y, et al. Emergence of multidrug-resistant sequence type 45 strains among *mecA*-positive borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing bacteraemia in a medical centre in Taiwan [J]. Int J Antimicrob Agents, 2018, 52(1): 70-75.
- [26] GOERING R V, SWARTZENDRUBER E A, OBRADOVICH A E, et al. Emergence of oxacillin resistance in stealth methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* due to *mecA* sequence instability [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63(8): e00558.
- [27] QUIJADA N M, HERNÁNDEZ M, ONICIUC E A, et al. Oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* associated with processed food in Europe [J]. Food Microbiol, 2019, 82(1): 107-110.
- [28] NHAN T X, LECLERCQ R, CATTOIR V. Prevalence of toxin genes in consecutive clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and clinical impact [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2011, 30(6): 719-725.

(收稿日期:2022-10-11 修回日期:2023-07-02)