

近 5 年某院 MRSA 检出率、流行病学及耐药机制研究*

何建春¹, 裴昌贞², 杨雷¹, 赵峻英¹, 谢娇¹, 李雪^{2△}

重庆市大足区人民医院: 1. 检验科; 2. 睡眠心身中心, 重庆 402360

摘要:目的 探讨近 5 年该院耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)检出率、流行病学及耐药机制。方法 回顾性收集该院 2016—2020 年检出的非重复金黄色葡萄球菌共 762 株。其中甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)为 392 株(MSSA 组), MRSA 为 370 株(MRSA 组), 进一步将 2020 年总分离检出的 95 株 MRSA 用于耐药机制检测。金黄色葡萄球菌经 Vitek 2 全自动微生物系统进行鉴定和药敏试验, 多位点序列分型测定分子流行病学分型, 结晶紫染色法检测生物膜形成, PCR 扩增检测耐药基因、毒力基因及生物膜相关基因, 并采用 Logistic 回归分析调查其发生的独立危险因素。结果 5 年间 MRSA 检出率为 48.56%, 标本类型以脓液和分泌物标本较多(分别为 38.38% 和 33.51%), 检出科室主要为普外科(18.65%)和耳鼻喉科(12.70%)。多位点序列分型以 ST88 最为常见(37.89%), 其次为 ST951(24.21%)。生物膜形成能力以中等生物膜形成最为常见, 占 74.73%。多因素回归分析显示: 与 MSSA 组患者相比, 低蛋白血症、内分泌系统疾病、创面感染和半年内抗菌药物使用史是 MRSA 组患者感染的独立危险因素。与对照组患者相比, 转院、创面感染和肿瘤是 MRSA 组患者感染的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 该院 MRSA 检出率高, 各种耐药基因携带率高, 该院应关注 MRSA 流行情况及其相关高危因素, 从而及早预防。

关键词:耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 生物膜; 多位点序列分型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.04.019 **中图法分类号:**R446.5

文章编号:1673-4130(2024)04-0480-06

文献标志码:A

Study on the detection rate, epidemiology and resistance mechanism
of MRSA in a hospital in recent 5 years*

HE Jianchun¹, PEI Changzhen², YANG Lei¹, ZHAO Junying¹, XIE Jiao¹, LI Xue^{2△}1. Department of Clinical Laboratory; 2. Sleep Psychosomatic Center,
Dazu District People's Hospital, Chongqing 402360, China

Abstract: Objective To investigate the detection rate, epidemiology and resistance mechanism of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in a hospital in recent 5 years. **Methods** A total of 762 strains of non repetitive Staphylococcus aureus detected from 2016 to 2020 in a hospital were collected retrospectively. Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus (MSSA) was 392 strains (MSSA group) and 370 strains caused by MRSA (MRSA group), and 95 strains of MRSA isolated in 2020 were further used for resistance mechanism. Staphylococcus aureus was identified and tested for drug sensitivity by Vitek 2 automatic microbial system. Molecular epidemiological typing was determined by multilocus sequence typing. The biofilm formation was performed by crystal violet staining. PCR amplification was used to detect drug resistance genes, virulence genes and biofilm related genes, and logistic regression analysis was used to investigate the independent risk factors of its occurrence. **Results** The detection rate of MRSA in past five years was 48.56%, mainly was from pus samples and secretion samples (38.38%, 33.51% respectively). MRSA was found in the general surgery (18.65%) and otorhinolaryngology (12.70%). ST88 was the most common multilocus sequence typing (37.89%), and followed by ST951 (24.21%). Moderate biofilm formation was the most common, accounting for 74.73%. Multivariate regression analysis showed that compared with MSSA group, hypoproteinemia, endocrine system diseases, wound infection and history of antibiotic use within six months were the independent risk factors for infection in MRSA group. Compared with the control group, hospital transfer, wound infection and tumor were independent risk factors for infection in MRSA group ($P < 0.05$). **Conclusion** The detection

* 基金项目: 重庆市科卫联合医学科研项目(2020MSXM072); 大足区科卫联合医学科研项目(DZKJ2023JSYJ-KWXM1005、DZKJ2022JSYJ-KWXM1045)。

作者简介: 何建春, 男, 主管技师, 主要从事临床微生物研究。△ 通信作者, E-mail: 346359354@qq.com。

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20240104.1728.002.html\(2024-01-08\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20240104.1728.002.html(2024-01-08))

rate of MRSA in a hospital is high, and the carrying rate of various drug-resistant genes is high. The hospital should pay attention to the prevalence of MRSA and related risk factors, so as to prevent it early.

Key words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; biofilm; multilocus sequence typing

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)是一种具有易感性、多重耐药性及强致病性的病原菌^[1]。常常引起软组织创口感染和肺部感染等,甚至引起血流感染等严重感染^[2]。因其耐药性及致病性等特性引起临床治疗难度大,预后更差,导致患者住院时间更长,患者病死率也更高。有研究报道,MRSA 耐药及毒力基因可通过 SCCmec 基因盒在菌株间转移和传播,使敏感菌获得耐药性,毒力弱的菌通过这种方式获得更强的致病能力,不仅引起高致病性 MRSA 出现,增加治疗难度,而且易造成 MRSA 暴发流行,导致不同地区 MRSA 流行株呈现出区域性分布,各地流行克隆株也不同,加上该菌耐药性在转移传播过程中易出现变异,极大增加其治疗难度,应引起临床高度重视^[3]。据中国细菌耐药性监测网(CHINET)公布数据显示,MRSA 检出率由 2005 年的 69.0% 下降到 2020 年的 31.0%,同时其他研究也表明,MRSA 检出率也呈现下降趋势^[4-5]。因此,本研究通过对本院 MRSA 临床特征、生物膜、多位点序列分型(MLST)、耐药机制、毒力机制及危险因素等多角度多方向进行综合性研究,旨在为预防和控制 MRSA 感染提供科学依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 以本院 2016—2020 年检出感染金黄色葡萄球菌患者(762 例)为研究对象。共培养出非重复金黄色葡萄球菌为 762 株,其中,甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA) 392 株(MSSA 组),MRSA 370 株(MRSA 组);另选择同期临床基本资料及临床特征相匹配的住院患者送检细菌培养,其培养结果为无细菌生长的患者(370 例)作为对照组用于危险因素分析。对于生物膜、MLST、耐药及毒力机制研究,本研究选择 2020 年分离检出的共 95 株 MRSA 用于此研究。

1.2 细菌鉴定和药敏试验 标本采集、运送和检验均按照《全国临床检验操作规程》第 4 版要求完成,金黄色葡萄球菌经 Vitek 2 全自动微生物系统对其进行鉴定和药敏试验,药敏结果判读参考美国临床和实验室标准协会(CLSI)。质控菌株是金黄色葡萄球菌 ATCC29213,购自国家卫生健康委临床检验中心。

1.3 菌株 DNA 提取 选择天根细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取 MRSA 的 DNA。先向菌体中加入 110 μL 缓冲液 GA 和 70 μL 溶菌酶,混匀后 37 $^{\circ}\text{C}$ 处理 60 min;再加入 20 μL 蛋白酶 K 和 220 μL 缓冲液 GB,70 $^{\circ}\text{C}$ 放置 10 min 后加入 220 μL 无水乙醇,混匀后加入吸附柱中,离心;再加入 500 μL 缓冲液 GD 离心,最后加入无菌蒸馏水,离心得到 DNA 溶液,分装并保存在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.4 MLST 及构建进化树 MLST 分析需进行 PCR 扩增,其步骤为按照文献[6]中引物序列分别合成金黄色葡萄球菌 7 个管家基因引物,反应体系为 50 μL 体系,反应条件为预变性(94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min)、变性(94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s)、退火(55 $^{\circ}\text{C}$ 90 s)、延伸(72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s)、30 次循环和再次延伸(72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min),PCR 产物于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存并送公司测序。将上述测序结果在 MLST 官方网站上进行序列比对,得到每个菌的 ST 型别。最后通过 MEGA7.0 软件进行 MRSA 系统进化树的构建,得到对应图表。

1.5 PCR 检测相关基因 PCR 扩增所需模板为上述 DNA,引物参考文献[6]设计并送生工公司合成,扩增基因包括耐药基因[mecA、mecC、aac(6')/aph(2'')、Aph(3)-III、ant(4')-I a、tetM 和 qnrA]、毒力基因(PVL、fnbA、SEA、SEB 和 hla)和生物膜基因(icaA、sarA 和 fnbB),扩增体系为 25 μL 体系,具体操作如上述 1.4,将 PCR 产物进行电泳并用凝胶成像观察。

1.6 生物膜形成能力检测 用结晶紫染色法在 96 孔板中进行生物膜测定。将菌比浊到 0.5 麦氏,后加入 200 μL 菌悬液到 96 孔板中,做 3 个平行孔。37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 48 h;吸掉培养液,加 200 μL PBS 冲洗 3 次,再加入 100 μL 甲醇固定 15 min,风干,再用 1% 结晶紫染色 5 min,移除染液并反复冲洗,风干,随后加冰乙酸 100 μL 作用 30 min,溶解结晶紫。用酶标仪在 570 nm 测定反应孔吸光度。其中,阴性对照仅加培养液,A 值为每个菌 3 个平行孔吸光度的平均值,而临界 Ac 值为阴性对照平均值+其 3 倍标准差。生物膜形成能力可分为 4 种,分别为无生物膜形成($A \leq Ac$),弱生物膜形成($Ac < A \leq 2Ac$),中等生物膜形成($2Ac < A \leq 4Ac$)和强生物膜形成($A > 4Ac$)^[7]。

1.7 采集病例资料 采用病例-病例-对照方式分析 MRSA 感染危险因素,统计临床病历系统和检验科实验室信息系统中关于金黄色葡萄球菌感染患者相关资料,包括年龄、性别、基础疾病(肺部疾病、肝胆疾病、肿瘤、内分泌系统疾病、心血管疾病和泌尿系统疾病)、低蛋白血症、相关感染(创面感染、导管相关感染、尿路感染、肺部感染和腹腔感染)、侵入性操作(感染前手术史、呼吸机辅助通气、导尿管和引流管)和半年内抗菌药物使用史等情况。

1.8 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据分析。计数资料用 $n(\%)$ 表示,并行 χ^2 检验,多因素分析采用 Logistic 回归模型(逐步前进法), $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MRSA 检出率分布 2016—2020 年本院共检出金黄色葡萄球菌 824 株,去重后,得到 762 株金黄

色葡萄球菌,其中 MRSA 共 370 株,占 48.56%(370/762)。2016—2020 年 MRSA 每年检出率依次为 48.25%(69/143)、54.35%(75/138)、42.50%(51/120)、48.19%(80/166)和 48.72%(95/195),除 2018 年 MRSA 检出率稍低外,其他年的 MRSA 检出率均在 48.00%以上。

2.2 MRSA 检出科室及标本类型分布 从科室分布看,MRSA 检出最多的前 5 个科室依次为普外科 69 株(18.65%,69/370)、耳鼻喉科 47 株(12.70%)、儿科 43 株(11.62%)、骨科 40 株(10.81%)和内分泌科 27 株(7.3%)。从标本种类看,脓液标本最多,为 142 份(38.38%),其次为分泌物,为 124 份(33.51%),最后为痰液,为 66 份(17.84%)。

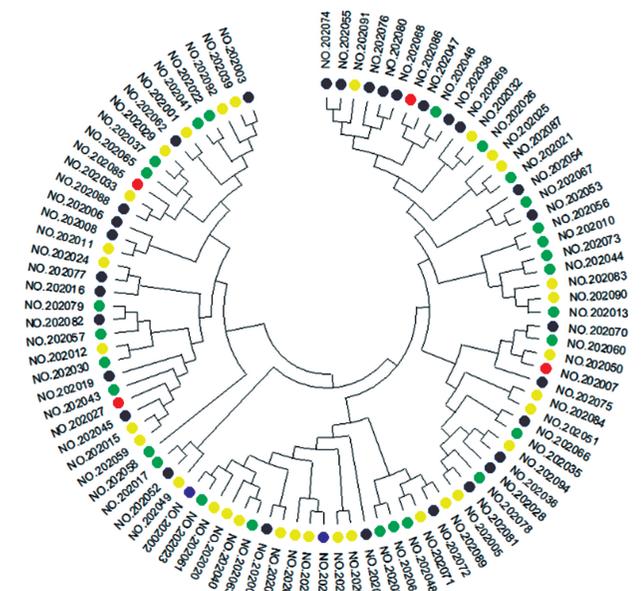
2.3 MRSA 药敏试验分析 金黄色葡萄球菌对各种抗菌药物耐药率明显不同,耐药率在 80%以上的抗菌药物为青霉素、头孢西丁、苯唑西林和红霉素,对利奈唑胺、替考拉宁和万古霉素均敏感。两组间青霉素、红霉素、克林霉素和四环素的耐药率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 2016—2020 年 MRSA 对常见抗菌药物的药敏情况[n(%)]

抗菌药物	MRSA 组 (n=370)	MSSA 组 (n=392)	χ^2	P
青霉素	370(100.00)	352(89.80)	39.85	<0.001
苯唑西林	370(100.00)	0(0.00)	—	—
头孢西丁	370(100.00)	0(0.00)	—	—
红霉素	312(84.32)	212(54.08)	81.05	<0.001
克林霉素	204(55.14)	105(26.79)	63.46	<0.001
四环素	135(36.49)	69(17.60)	34.63	<0.001
复方磺胺甲噁唑	29(7.84)	37(9.44)	0.62	0.432
环丙沙星	28(7.57)	27(6.89)	0.13	0.717
左氧氟沙星	28(7.57)	27(6.89)	0.13	0.717
庆大霉素	16(4.32)	26(6.63)	1.95	0.163
利福平	4(1.08)	3(0.77)	0.21	0.648
替考拉宁	0(0.00)	0(0.00)	—	—
万古霉素	0(0.00)	0(0.00)	—	—
利奈唑胺	0(0.00)	0(0.00)	—	—

注:—表示无数据。

2.4 95 株 MRSA 的 ST 分型结果分析 95 株 MRSA 的 MLST 结果共检出 16 个 ST 型别。3 个 ST 型别检出率在 10%以上,分别是 ST88 占 37.89%(36/95)、ST951 占 24.21%(23/95)和 ST59 占 17.89%(17/95),累计占全部菌株的 80%(76/95),剩余菌 ST 型别仅占 20%,新的 ST 型别未检出。见表 2。将 MRSA 的 ST 型别进行遗传进化树构建,从遗传进化树可以看出未出现明显的聚类现象。见图 1。



注:不同的标本种类用对应颜色的圆圈显示,分别为痰液用黄色显示,脓液用蓝色显示,分泌物用绿色显示,血液用红色显示,引流物用紫色显示。

图 1 95 株 MRSA 的 ST 型别遗传进化树

2.5 95 株 MRSA 生物膜形成能力检测 将 95 株 MRSA 进行生物膜形成能力检测,结果发现,强生物膜形成的菌为 8 株,占 8.42%;中等生物膜形成的菌最多,为 71 株(74.73%);弱生物膜形成的菌为 10 株(10.53%);无生物膜形成的为 6 株(6.32%)。见图 2。

2.6 95 株 MRSA 相关基因检测结果分析 PCR 结果显示:在耐药基因中,95 株 MRSA 均携带 mecA 基因(100%),然后依次为:Aph(3)-III 基因 57 例(60.00%),aac(6′)/aph(2′′)基因 27 例(28.42%),未检出 mecC 及 qnrA 基因;在毒力基因中,FnbA 基因携带最多,为 93 例(97.89%),然后是 Hla 基因为 90 例(94.74%),SEB 基因为 83 例(87.37%),PVL 基因最少为 9 例(9.47%);在生物膜基因中,SarA 基因携带最多,为 93 例(97.89%),然后是 icaA 基因为 90 例(94.74%),最少为 fnbB 基因,为 88 例(92.63%)。

2.7 MRSA 感染的单因素分析 单因素分析结果显示,MRSA 组患者吸烟、低蛋白血症、转院、内分泌系统疾病、创面感染、肺部感染、感染前手术史、引流管和半年内抗菌药物使用史的构成比显著高于 MSSA 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。MRSA 组患者吸烟、转院、低蛋白血症、肿瘤、创面感染、腹腔感染、感染前手术史、和呼吸机辅助通气的构成比显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.8 MRSA 组患者感染的 Logistic 回归分析 将 2.7 中 $P < 0.05$ 单因素变量纳入 Logistic 回归分析,与 MSSA 组患者相比,低蛋白血症、内分泌系统疾病、创面感染和半年内抗菌药物使用史是 MRSA 组患者感染的独立危险因素($P < 0.05$)。与对照组患者相比,转院、创面感染和肿瘤是 MRSA 组患者感染的独

立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4、5。

表 2 95 株 MRSA 等位基因编码和序列型

ST 型别	MLST 等位基因谱 (n)							菌株数 (n)	构成比 (%)
	arcC	aroE	glpF	Gmk	pta	tpi	yqiL		
ST88	22	1	14	23	12	4	31	36	37.89
ST951	19	23	15	89	19	20	15	23	24.21
ST59	19	23	15	2	19	20	15	17	17.89
ST2140	3	35	19	1	20	26	39	5	5.27
ST7	5	4	1	4	4	6	3	2	2.12
ST965	1	4	1	4	119	1	10	2	2.12
ST45	10	14	8	6	10	3	2	1	1.05
ST60	7	6	1	7	8	8	6	1	1.05
ST81	1	1	1	9	1	1	1	1	1.05
ST338	19	23	15	48	19	20	15	1	1.05
ST475	1	97	1	1	1	1	1	1	1.05
ST944	18	18	6	59	13	15	18	1	1.05
ST1240	1	4	1	1	4	4	3	1	1.05
ST2547	4	1	4	1	276	5	4	1	1.05
ST3355	19	23	15	283	19	20	15	1	1.05
ST6180	3	3	1	1	4	86	9	1	1.05

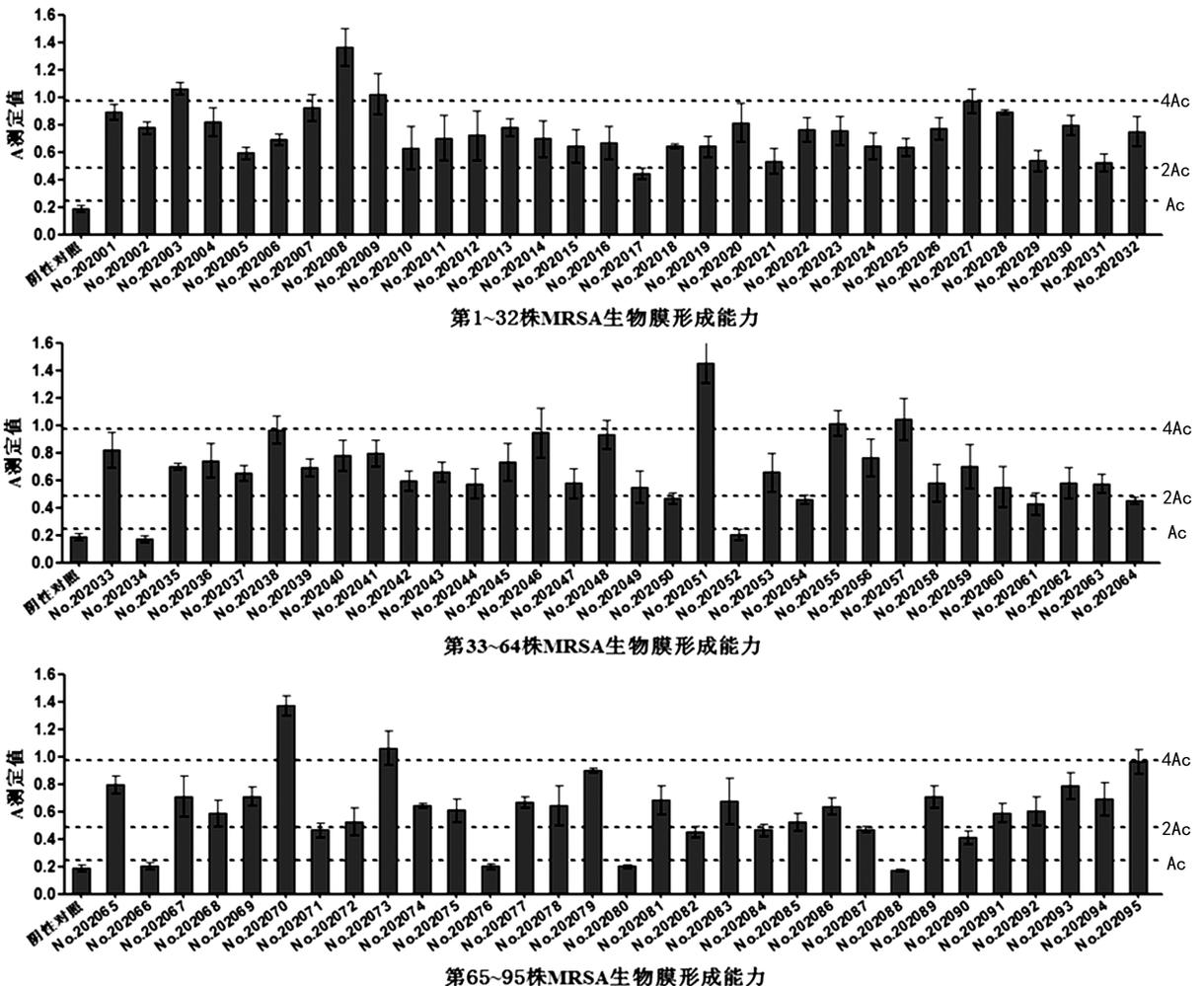


图 2 MRSA 的生物膜形成能力情况

表 3 MRSA 感染的单因素分析[n(%)]

相关危险因素	MRSA 组 (n=370)	MSSA 组 (n=392)	对照组 (n=370)	MRSA 组 vs. MSSA 组		MRSA 组 vs. 对照组	
				OR(95%CI)	P	OR(95%CI)	P
年龄>70 岁	54(14.6)	48(12.2)	52(14.1)	1.23(0.81~1.86)	0.341	1.05(0.63~1.58)	0.834
男性	201(54.3)	209(53.3)	196(53.0)	1.04(0.78~1.39)	0.780	1.06(0.79~1.41)	0.712
吸烟	96(25.9)	77(19.6)	73(19.7)	1.43(1.02~2.02)	0.038	1.43(1.01~2.01)	0.044
饮酒	118(31.9)	120(30.6)	133(35.9)	1.06(0.78~1.44)	0.703	0.83(0.62~1.13)	0.244
转院	78(21.1)	61(15.6)	28(7.6)	1.45(1.00~2.10)	0.049	3.26(2.06~5.16)	0.001
低蛋白血症	161(43.5)	143(36.5)	133(35.9)	1.34(1.00~1.79)	0.048	1.37(1.02~1.85)	0.035
肺部疾病	114(30.8)	110(28.1)	112(30.3)	1.14(0.84~1.56)	0.405	1.03(0.75~1.40)	0.873
肝胆疾病	72(19.5)	67(17.1)	88(23.8)	1.17(0.81~1.69)	0.398	0.77(0.55~1.10)	0.153
肿瘤	39(10.5)	38(9.7)	19(5.1)	1.10(0.69~1.76)	0.698	2.18(1.23~3.84)	0.006
内分泌系统疾病	100(27.0)	77(19.6)	95(25.7)	1.52(1.08~2.13)	0.016	1.07(0.77~1.49)	0.677
心血管疾病	102(27.6)	96(24.5)	118(31.9)	1.17(0.85~1.62)	0.333	0.81(0.59~1.12)	0.198
泌尿系统疾病	53(14.3)	47(12.0)	64(17.3)	1.23(0.81~1.87)	0.340	0.80(0.54~1.19)	0.268
创面感染	155(41.9)	132(33.7)	125(33.8)	1.42(1.06~1.91)	0.019	1.41(1.05~1.90)	0.023
导管相关感染	64(17.3)	65(16.6)	58(15.7)	1.05(0.72~1.54)	0.792	1.13(0.76~1.66)	0.552
肺部感染	98(26.5)	80(20.4)	87(23.5)	1.41(1.00~1.97)	0.047	1.17(0.84~1.64)	0.350
腹腔感染	61(16.5)	62(15.8)	42(11.4)	1.05(0.71~1.55)	0.802	1.54(1.01~2.35)	0.044
尿路感染	43(11.6)	39(9.9)	41(11.1)	1.19(0.75~1.88)	0.456	1.06(0.67~1.66)	0.817
感染前手术史	109(29.5)	91(23.2)	85(23.0)	1.38(1.00~1.91)	0.050	1.40(1.01~1.95)	0.045
呼吸机辅助通气	108(29.2)	97(24.7)	84(22.7)	1.25(0.91~1.73)	0.167	1.40(1.01~1.95)	0.044
引流管	94(25.4)	74(18.9)	82(22.2)	1.46(1.04~2.07)	0.030	1.20(0.85~1.68)	0.300
导尿管	43(11.6)	41(10.5)	54(14.6)	1.13(0.72~1.77)	0.609	0.77(0.50~1.18)	0.231
半年内抗菌药物使用史	174(47.0)	155(39.5)	154(41.6)	1.36(1.02~1.81)	0.037	1.25(0.93~1.67)	0.139

表 4 MRSA 组 vs. MSSA 组患者感染的 Logistic 回归分析

危险因素	OR	95%CI	P
低蛋白血症	1.54	1.13~2.09	0.006
内分泌系统疾病	1.45	1.01~2.06	0.042
创面感染	1.38	1.02~1.88	0.039
半年内抗菌药物使用史	1.52	1.12~2.06	0.007

表 5 MRSA 组 vs. 对照组患者感染的 Logistic 回归分析

危险因素	OR	95%CI	P
转院	3.05	1.90~4.88	0.001
创面感染	1.42	1.04~1.94	0.027
肿瘤	1.84	1.02~3.32	0.044

3 讨 论

由于有研究已检出耐万古霉素金黄色葡萄球菌,因此 MRSA 已成为临床抗感染治疗重难点^[8-9]。本研究结果显示,近 5 年本院 MRSA 检出率为 48.56%(370/762),明显高于文献[4]结果,也高于杨斌等^[10]报道陕西省榆林市 8 家医院的 MRSA 检出率(20.2%)。产生这种差异结果原因可能与各地区临床医生使用不同抗菌药物种类等有一定关系,提示今后工作中应加强监控以减少 MRSA。本研究还发现 MRSA 检出与标本来源有关。脓液和分泌物分别占 38.38%和 33.51%,合计达 71.00%以上,显示 MRSA 感染主要以伤口感染为主,与有关报道结果一致^[11]。MRSA 检出率最高科室为普外科,可能与 MRSA 常引起创口感染特性有关。从药敏结果来看,MRSA 对青霉素和红霉素的耐药率均在 80%以上,

也与 MRSA 携带 100% mecA 相符合,因 mecA 编码的 PBP-2a 不仅能促进细胞壁形成,还与 β-内酰胺类抗菌药物低亲和性,导致对青霉素普遍耐药。未发现对万古霉素和利奈唑胺耐药细菌,由于万古霉素有肾毒性及耳毒性等不良反应,治疗时通过时间-依赖性杀菌,需监测血药浓度。利奈唑胺具有不发生交叉耐药特性,治疗 MRSA 效果明显,可优先考虑,也可与万古霉素联合用药,以防止耐万古霉素 MRSA 出现。院感暴发是 MRSA 最重要的关注点之一,而监管院感暴发最常用手段是进行分子同源性分析,对分析 MRSA 传播源头和发现主要流行株有重要作用。MLST 是同源性分析方法之一,适用于长时间全球分子流行病学监控,准确反映各地 MRSA 主要流行株^[12]。本研究发现,本院 MRSA 流行型别是 ST88、ST951 和 ST59,与文献[13]结果基本相同,而与文献[14]结果有些差异。

mecA 基因检出率为 100%,而未检出 mecC 基因,这与国内的研究结果相一致^[15]。说明本院 MRSA 对 β-内酰胺类药物耐药机制是由于 mecA 引起。Aph(3)-III 携带率为 60%,氨基糖苷类抗菌药物是临床常用抗菌药物,其主要耐药机制是通过产生氨基糖苷乙酰转移酶等酶修饰该类药物的羟基或氨基,使 MRSA 核糖体与之亲和力下降而引起耐药^[15]。而毒力基因中,fnbA 基因和 hla 基因检出率最高,达 97.89%和 94.74%。黏附因子 FnbA 由 FnbA 基因编码,主要为黏附聚集作用,在 MRSA 感染机体时发挥功能,同时还有助于帮助微生物识别机体某些免疫系统位点并起封闭作用^[16]。而 Hla 基因编码的毒力

因子为一种常见外毒素,主要功能为收缩血管平滑肌,破坏机体溶酶体和红细胞,使血流缓慢,引起局部组织缺血坏死而致病。生物膜分析发现,中等生物膜形成能力占 74.73%,提示绝大部分 MRSA 能形成生物膜,生物膜引起 MRSA 与定植部位不能直接接触,而减轻机体炎症反应,有助于 MRSA 逃避抗菌药物和机体免疫系统杀灭。从生物膜基因分析发现 SarA、icaA 和 fnbB 携带率均在 92% 以上,与生物膜形成能力结果相一致。葡萄球菌辅助调节子 SarA 是一种调控因子,起黏附作用而促进 MRSA 形成生物膜;而 icaA 是胞间黏附基因操纵子之一,主要在生物膜形成过程中发挥作用。

本研究结果显示,与 MSSA 组患者相比,MRSA 组患者更易发生低蛋白血症,是 MRSA 组患者感染的独立危险因素之一。机体营养状况常依照血清中白蛋白水平来评估,白蛋白水平越低代表机体营养状况越差,患者免疫力低下。有研究发现,存在感染的患者常伴有低蛋白血症,从而易引发患者发生 MRSA 感染^[17]。本研究结果显示,创面感染也是 MRSA 组患者感染的独立危险因素,MRSA 常存在于环境中各个角落,当患者创面未做好消毒,或临床医生在进行清创过程中,未做好无菌操作特别是手卫生消毒时,定植在物表上的 MRSA 就容易侵犯创面,引起创面感染。提示应重点关注手卫生消毒和无菌操作等环节,从而切断 MRSA 感染途径,降低 MRSA 机会性感染。半年内抗菌药物使用史也是 MRSA 组患者感染的独立危险因素。有研究表明,MRSA 感染与抗菌药物种类和使用次数有一定关系^[18]。一方面,抗菌药物反复使用使细菌在抗菌药物选择压力下逐步诱导耐药基因产生而引起耐药;另外,在抗菌药物反复使用下,敏感菌不断被杀灭,耐药菌被保留而大量繁殖,使 MRSA 逐步取代成为优势菌和致病菌。

总之,本院 MRSA 检出率高,以普外科检出最多,脓液标本最常见,ST88 为主要流行型别,中等生物膜形成最为常见,耐药基因(主要携带 mecA)、毒力基因(主要携带 FnA)和生物膜基因(主要携带 SarA)携带率高,低蛋白血症、创面感染和半年内抗菌药物使用史是 MRSA 组患者感染的独立危险因素。建议临床减少各种侵入性操作,合理使用抗菌药物,加强 MRSA 监控,定期消毒,以期达预防和控制 MRSA 感染和传播目的。

参考文献

[1] 田本顺,凌勇,吕婧雯,等. 152 例金黄色葡萄球菌血流感染的临床特征及预后分析[J]. 中华预防医学杂志, 2023, 57(2): 241-246.

[2] 董士华,杨秀英,邵弘,等. 烧伤患者 MRSA 感染的影响因素及其耐药基因与毒力基因[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(3): 401-405.

[3] 刘家祺. 羊肉生产中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药

性和散播研究[D]. 晋中:山西农业大学, 2019.

[4] 胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2021 年 CHINET 中国细菌耐药药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(5): 521-530.

[5] CHO E D, SZUBIN R, DAHESH S, et al. Genome-scale analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 reveals a tradeoff between pathogenesis and drug resistance[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2215.

[6] 储丹丹. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药、毒力、生物膜相关基因分析及分子分型研究[D]. 昆明:昆明医科大学, 2020.

[7] 李文婷,耿文静,姚开虎,等. 新生儿重症监护室金黄色葡萄球菌定植菌株的耐药性及生物膜形成能力研究[J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(3): 289-294.

[8] WOL H, NAV S, WILLIAM L, et al. Genomic analysis of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the 3rd case identified in the United States reveals chromosomal integration of the vanA Locus[J]. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(2): e0431722.

[9] 孙法同,吕琳,褚风龙,等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药机制及检测方法研究进展[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(11): 1751-1755.

[10] 杨斌,李华. 2016—2019 年陕西省榆林市细菌耐药监测网成员单位金黄色葡萄球菌的临床分布与耐药性变迁[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(1): 81-84.

[11] 徐国超,关若为,朱明武,等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌院内感染分布及耐药机制研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2020, 15(4): 477-482.

[12] 缪雯. 糖尿病足感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌危险因素及基因分布和同源性分析[D]. 合肥:安徽医科大学, 2021.

[13] 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.

[14] JEON H, MA S H, JO H J, et al. Long-term persistence of sequence type 89 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from cases of staphylococcal scalded skin syndrome in a Korean community[J]. *J Med Microbiol*, 2016, 65(12): 1542-1544.

[15] HAUSCHILD T, SACHA P, WIECZOREK P, et al. Aminoglycosides resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from a university hospital in Białystok, Poland[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2008, 46(2): 225-228.

[16] 何建春,裴昌贞,杨雷,等. 某院普外科高 MRSA 检出率及其分子流行病学调查[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2022, 29(7): 897-903.

[17] 俞国燕,余军,李珍. 老年重症耐甲氧西林金黄色葡萄球菌肺炎患者血清白蛋白、总蛋白水平与短期预后的关系[J]. 中国卫生检验杂志, 2023, 33(1): 66-70.

[18] 尧志建,曹存巍,许洪铭,等. 皮肤科创面 MRSA 感染的临床诊断及危险因素分析[J]. 皮肤科学通报, 2023, 40(1): 117-122.