

论著·临床研究

重庆地区金黄色葡萄球菌临床株的分子型别与耐药性检测

林 君¹, 曹 利²

(1. 重庆市第七人民医院检验科, 重庆 400054; 2. 陆军军医大学西南医院, 重庆 400038)

摘要:**目的** 了解重庆地区金黄色葡萄球菌临床菌株的分子型别及其对常用抗菌药物的耐药情况, 为防控该地区金葡菌感染提供理论依据。**方法** 收集 2013 年 6 月至 2014 年 12 月期间重庆地区西南医院临床分离的 110 株金黄色葡萄球菌, 利用特征性基因扩增区分甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA) 和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA), 再采用多位点序列分型(MLST)、spa 分型、SCCmec 分型、agr 分型等方法检测金葡萄的型别, 采用 PCR 检测 pvl 毒力基因, 药敏试验分析菌株对苯唑西林、万古霉素、四环素等 13 种临床常用抗菌药物的耐药性, 分析菌株的耐药谱。**结果** 110 株金葡萄中有 59 株为 MRSA, 51 株为 MSSA, MRSA 阳性率为 53.6%。59 株 MRSA 分为 11 种 spa 型和 8 种 ST 型, 优势流行克隆为 ST239-MRSA-III (57.6%, 34/59), pvl 毒力基因检出率为 23.7%(14/59)。51 株 MSSA 分为 27 种 spa 型和 18 种 ST 型, agrI 型占 68.6% (35/51), pvl 检出率为 7.8%(4/51)。药敏结果显示 59 株 MRSA 均为多重耐药(MDR)菌株, 51 株 MSSA 中有 24 株为 MDR 菌株。**结论** 重庆地区流行的 MRSA 以 ST239-MRSA-III 为主, 而 MSSA 表现出较高遗传多样性, 发现 ST121 等高毒力、高耐药性菌株, 值得高度重视。

关键词:金黄色葡萄球菌; 分子分型; 耐药谱; 多重耐药
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.03.021 **中图法分类号:**R181.34,R372,R378.11
文章编号:1673-4130(2019)03-0342-06 **文献标识码:**A

Detection of molecular types and antimicrobial susceptibilities of Staphylococcus aureus strains isolated in Chongqing

LIN Jun¹, CAO Li²

(1. Department of Clinical Laboratory, the Seventh People's Hospital, Chongqing 400054, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Southwest Hospital of Army Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract:**Objective** To detect the molecular types and drug susceptibilities of Staphylococcus aureus strains isolated in Chongqing. **Methods** A total of 110 S. aureus isolates were collected between June 2013 and December 2014 from Southwest hospital in Chongqing. The methicillin-susceptible S. aureus (MSSA) and methicillin-resistant S. aureus (MRSA) were determined. The molecular typing methods such as multilocus sequence typing (MLST), staphylococcal protein A (spa) gene typing, staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing, and accessory gene regulator (agr) typing were applied for the strains. The carriage of Pantone-Valentine Leukocidin gene (pvl) and drug susceptibilities of S. aureus strains against 13 common used antibiotics were determined. **Results** In the 110 S. aureus isolates, 59 were MRSA (53.6%) and 51 were MSSA (46.4%). The MRSA strains were divided into 11 spa types and 8 ST types, ST239-MRSA-III was the most prevalent clone (57.6%, 34/59). The frequency of pvl carriage was 23.7%(14/59) in MRSA strains. Among 51 MSSA strains, 27 spa types and 18 ST types were found. Most MSSA strains were agr I types (68.6%, 35/51). The pvl carriage was 7.8%(4/51). All MRSA strains were multidrug resistant (MDR), whereas 24 out of the 51 MSSA strains (47.1%) belonged to MDR. **Conclusion** ST239-MRSA-III is the most predominant MRSA in Chongqing. MSSA isolates show wide genetic diversity. The MSSA isolates show high resistance to multiple antibiotic drugs, which indicate that efforts to fight infections caused by MSSA in certain region, such as Chongqing need to be intensified.

Key words: Staphylococcus aureus; molecular typing; drug susceptibility testing; multidrug-resistance

作者简介:林君,女,主管技师,主要从事微生物方向的研究。
本文引用格式:林君,曹利. 重庆地区金黄色葡萄球菌临床株的分子型别与耐药性检测[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(3): 342-347.

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*,简称金葡菌)是一种重要的人兽共患病原菌,常引起人皮肤软组织感染、肺炎、心内膜炎、败血症,动物乳房炎等疾病,死亡率高^[1]。金葡菌的播散主要以特定的克隆群传播为主。检测和明确特定区域的金葡菌主要流行克隆及其菌株的耐药水平,对切断其传播途径,终止耐药金葡菌感染具有重要的现实意义。

按菌株耐药性的差异,金葡菌通常分为耐甲氧西林金葡菌(MRSA)和甲氧西林敏感金葡菌(MSSA),这两者的主要区别在于前者染色体中携带一葡萄球菌盒式染色体(SCCmec),其中的耐药基因 *mecA* 可编码对甲氧西林等 β -内酰胺类抗菌药物耐药的决定簇 PBP2a,介导 MRSA 的耐药性^[1-2]。多种分子分型技术,如多位点序列分析(MLST)、葡萄球菌 A 蛋白(*spa*)基因分型以及附属基因调节子(*agr*)分型等已被广泛应用于 MRSA 的进化和流行病学研究^[3]。研究证实,ST5、ST239 和 ST8 是世界范围内流行的主要 MRSA 克隆群^[4]。在我国,MRSA 分离率虽因地区不同而有较大差异,总体上约占金葡菌感染的 60%左右,ST239、ST5 和 ST59 也是我国 MRSA 优势流行克隆^[4];MSSA 在我国占金葡菌感染的 40%左右,但目前对 MSSA 的研究报道较少。相对于 MRSA 而言,通常认为 MSSA 不存在优势克隆,而表现出更高的遗传多样性及更高的毒力因子表达^[5],并且与菌血症、心内膜炎以及败血症关联更密切^[6]。在 MRSA 和 MSSA 的菌株进化分析中发现,MSSA 获得 SCC-

mec 遗传元件是 MRSA 的重要来源,MSSA 可作为 MRSA 毒力因子的资源库。葡萄球菌杀白细胞毒素(*pvl*)是金葡菌重要的毒力因子,在金葡菌感染中性粒细胞、巨噬细胞和单核细胞等过程中发挥重要作用^[7]。流行病学研究证实,ST8、ST59、ST121、ST398 是主要的携带 *pvl* 基因的克隆^[8]。

分子分型是金葡菌分子型别确定的重要方法,笔者采用多种金葡菌分子分型方法,结合 *pvl* 毒力基因检测和耐药谱分析,对 2013 年 6 月至 2014 年 12 月从重庆西南医院分离的 110 株金葡菌进行了分子型别检测研究,一方面从一定程度上揭示了重庆地区金葡菌的流行特征和耐药状态,另一方面也为我国其他地区金葡菌感染和流行的检测分析提供了参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 110 株金葡菌分离自重庆西南医院,主要源自 2013 年 6 月至 2014 年 12 月期间 110 位住院患者的痰液、脓液、血液、穿刺液、分泌物等标本。

1.1.2 仪器与试剂 PCR 仪、垂直电泳仪、凝胶成像仪为 Bio-Rad 设备,Bio-Fosum 微生物鉴定药敏分析仪为上海复星佰璐公司产品;TSB、BHI 培养基为 OXOID 产品。

1.1.3 引物 金葡菌分子分型及 *pvl* 毒力基因检测引物均参照文献设计^[9-14],由华大基因合成。具体引物序列见表 1。

表 1 分子分型及毒力基因检测所用引物序列及扩增大小

方法	基因	引物序列(5'→3')	大小(bp)	参考文献
菌株鉴定	<i>mecA</i>	GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATA A	190	[9]
		CCA ATT CCA CAT TGT TTC GGT CTA A		
	<i>femB</i>	TTA CAG AGT TAA CTG TTA CC	629	
		ATA CAA ATC CAG CAC GCT CT		
<i>spa</i> 分型	<i>spa</i>	GAC GAT CCT TCG GTG AGC	300	[10]
		CAG CAG TAG TGC CGT TTG		
MLST 分型	<i>arcC</i>	TTG ATT CAC CAG CGC GTA TTG TC	456	[11]
		AGG TAT CTG CTT CAA TCA GCG		
	<i>aroE</i>	ATC GGA AAT CCT ATT TCA CAT TC	456	
		GGT GTT GTA TTA ATA ACG ATA TC		
	<i>glpF</i>	CTA GGA ACT GCA ATC TTA ATC C	465	
		TGG TAA AAT CGC ATG TCC AAT TC		
	<i>gmk</i>	ATC GTT TTA TCG GGA CCA TC	429	
		TCA TTA ACT ACA ACG TAA TCG TA		
	<i>pta</i>	GTT AAA ATC GTA TTA CCT GAA GG	474	
		GAC CCT TTT GTT GAA AAG CTT AA		
	<i>tpi</i>	TCG TTC ATT CTG AAC GTC GTG AA	402	
		TTT GCA CCT TCT AAC AAT TGT AC		
	<i>yqiL</i>	CAG CAT ACA GGA CAC CTA TTG GC	516	
		CGT TGA GGA ATC GAT ACT GGA AC		

续表 1 分子分型及毒力基因检测所用引物序列及扩增大小

方法	基因	引物序列(5'→3')	大小(bp)	参考文献
SCCmec 分型	ccrA2-B	ATT GCC TTG ATA ATA GCC YTC T	937	[12]
		TAA AGG CAT CAA TGC ACA AAC ACT		
	ccrC	CGT CTA TTA CAA GAT GTT AAG GAT AAT	518	
		CCT TTA TAG ACT GGA TTA TTC AAA ATA T		
	IS1272	GCC ACT CAT AAC ATA TGG AA	415	
		CAT CCG AGT GAA ACC CAA A		
	MecA-IS431	TAT ACC AAA CCC GAC AAC TAC	359	
		CGG CTA CAG TGA TAA CAT CC		
	agr 分型	ATG CAC ATG GTG CAC ATG C	441	[13]
		GTC ACA AGT ACT ATA AGC TGC GAT		
		TAT TAC TAA TTG AAA AGT GGC CAT AGC		
		GTA ATG TAA TAG CTT GTA TAA TAA TAC CCA G		
		CGA TAA TGC CGT AAT ACC CG		
pvl 检测	pvl	ATC ATT AGG TAA AAT GTC TGG ACA TGA TCC A	433	[14]
		GCA TCA AST GTA TTG GAT AGC AAA AGC		

1.2 方法

1.2.1 细菌培养、基因组提取及菌株鉴定 细菌的分离培养按《全国临床检验操作规程》进行,基因组提取参照文献[9]所述方法进行。金葡菌及 MRSA、MSSA 的鉴定通过 PCR 方法分别检测金葡菌分离菌株的 mecA 与 femB 基因^[9]。若 femB 基因为阳性, mecA 基因为阴性判断为 MSSA 菌; mecA 与 femB 基因皆阳性者,判为 MRSA 菌。

1.2.2 spa 分型 用特异性引物通过 PCR 扩增出金葡菌 spa 基因的 X 区^[10],对 PCR 产物进行测序分析,将获得的序列提交 spa 基因分型数据库(<http://www.ridom.de/spaserver>),参照已公布的重复序列,根据重复序列出现的次数和排列方式确定型别^[26]。

1.2.3 MLST 分型 分别扩增金葡菌 7 个管家基因(arcc, aroe, glp, gmk, pta, tpi, yqil)序列,产物进行 DNA 测序,所获序列提交 MLST 数据库(<http://saureus.mlst.net/>)进行分析得出其 MLST 型别,即序列型(ST)^[11]。

1.2.4 MRSA 菌株的 SCCmec 分型 根据文献[12]所述方法,通过 PCR 方法进行金葡菌 I、II、III、IV 和 V 型的 SCCmec 分型。

1.2.5 MSSA 菌株的 agr 分型 参照文献[13]所述方法,通过多重 PCR 扩增 MSSA 菌株基因组,PCR 产物进行电泳,441、575、323、和 659 bp 大小的条带分别代表 agr I 型、II 型、III 型、和 IV 型。

1.2.6 pvl 毒力基因及耐药基因检测 通过 PCR 方法,用特异性引物扩增所有金葡菌的 pvl 基因^[14],判断菌株的毒力基因携带情况。

1.2.7 药敏试验 用 Bio-Fosum 微生物鉴定药敏分析仪(上海复星佰络公司)对菌株的耐药情况进行测定,按照美国临床实验室标准化协会(CLSI) 2015 年

出版的琼脂稀释法药敏试验解释标准判断菌株对抗菌药物的耐药状态^[15],以耐药(R)、敏感(S)表示。

1.2.8 多重耐药菌的判定 按照文献[16],某株金葡菌如果对至少 3 类抗菌药物耐药(每类抗菌药物中至少有一种代表药物耐药),则定义该菌株为多重耐药(MDR)菌株。

2 结果

2.1 MRSA 与 MSSA 鉴定 110 株临床金葡菌经 PCR 扩增 mecA 和 femB 基因检出 MRSA 菌株 59 株,占 53.6%,MSSA 菌株 51 株,占 46.4%。

2.2 分子分型

2.2.1 spa 分型 对 PCR 扩增产物的测序结果进行分析,110 株金葡菌株可分为 38 种 spa 基因型(表 2)。其中 59 株 MRSA 分为 11 种 spa 基因型,优势型别为 t037(28.8%, 17/59), t437(27.1%, 16/59), t138(16.9%, 10/59)和 t030(11.9%, 7/59); 51 株 MSSA 分为 27 种 spa 基因型,主要型别有 t7146(13.7%, 7/51), t3297(7.8%, 4/51)和 t189(5.9%, 3/51)。另外有 9 株 MSSA 菌未能分型,可能为新的 spa 型别。

2.2.2 MLST 分型 110 株金葡菌可分为 26 种 ST 型(表 2)。在 59 株 MRSA 中,优势型别为 ST239(57.6%, 34/59)和 ST59(28.8%, 17/59),另外发现 1 株不能分型,可能为新的 ST 型; 51 株 MSSA 分为 18 种 ST 型,主要型别有 ST7(19.6%, 10/51), ST15(11.8%, 6/51), ST25(7.8%, 4/51), ST1188(7.8%, 4/51), ST398(7.8%, 4/51), ST5(5.9%, 3/51)、ST464(5.9%, 3/51)和 ST943(5.9%, 3/51)。

2.2.3 MRSA 菌株的 SCCmec 分型 经多重 PCR 扩增, 59 株 MRSA 菌株检出 SCCmec III 型 34 株(57.6%), SCCmec I 型 12 株(20.3%), SCCmec IV 型 7 株(11.9%), SCCmec V 型 6 株(10.2%), 结果见

表 2。

2.2.4 MSSA 菌株的 agr 分型 将 51 株 MSSA 菌株进行 agr 分型,检测出 agr I 型 35 株,占 68.6%, agr II 型 9 株(17.7%), agr III 型 4 株(7.8%), agr IV 型 3 株(5.9%)。见表 2。

2.2.5 pvl 基因检测 59 株 MRSA 菌株中,pvl 毒力基因检出率为 23.7%(14/59),14 株 pvl 阳性菌株中有 8 株为 ST239 型,另 6 株为 ST59 型;51 株 MSSA 菌株中有 4 株为 pvl 阳性(7.8%),分别为 ST1、ST88、ST398 和 ST938 型(表 2)。

表 2 110 株金葡萄菌的分子特征(括号内为菌株数)

菌株类型	MLST 型别(n)	spa 型别(n)	SCCmec 型别(n)	agr 型别(n)	pvl+
MRSA(59)	ST239(34)	t037(17)、t138(10)、t030(7)	Ⅲ(34)		8
	ST59(17)	t437(16)、t138(1)	I(7)、Ⅳ(7)、V(3)		6
	ST388(2)	T441(2)	I(1)、V(1)		0
	ST5(1)	t010(1)	I(1)		0
	ST45(1)	t116(1)	I(1)		0
	ST88(1)	t2310(1)	I(1)		0
	ST398(1)	t034(1)	V(1)		0
	ST488(1)	t8660(1)	V(1)		0
	new(1)	t2592(1)	I(1)		0
MSSA(51)	ST7(10)	t7164(4)、t2663(2)、new(4)		I(10)	0
	ST15(6)	t693(1)、t2325(1)、t10092(1)、new(3)		Ⅱ(6)	0
	ST25(4)	t078(2)、t5231(1)、t9506(1)		I(4)	0
	ST188(4)	t189(3)、t8914(1)		I(4)	0
	ST398(4)	t571(2)、t034(1)、t7160(1)		I(4)	1
	ST5(3)	t002(2)、t062(1)		Ⅱ(3)	0
	ST464(3)	t3297(3)		I(3)	0
	ST943(3)	t7164(2)、t2663(1)		I(3)	0
	ST1(2)	t114(1)、t127(1)		Ⅲ(2)	1
	ST121(2)	t2086(1)、t2092(1)		Ⅳ(2)	0
	ST1281(2)	t164(2)		I(2)	0
	ST59(2)	t163(1)、t437(1)		I(2)	0
	ST20(1)	new(1)		I(1)	0
	ST88(1)	t1376(1)		Ⅲ(1)	1
	ST239(1)	t10029(1)		I(1)	0
	ST938(1)	t318(1)		Ⅲ(1)	1
	ST630(1)	t377(1)		I(1)	0
	ST946(1)	new(1)		Ⅳ(1)	0

表 3 金葡萄菌临床分离株抗菌药物药敏试验结果

抗菌药物类别	抗菌药物	MRSA 耐药率 [% (n/n)]	MSSA 耐药率
β-内酰胺类	苯唑西林(OXA)	100(59/59)	0
	PEN	100(59/59)	82.4(42/51)
氨基糖苷类	GEN	59.3(35/59)	23.5(12/51)
糖肽类	VAN	0	0
	TEC	0	0
利福霉素类	利福平(RIF)	45.8(27/59)	0
四环素类	TET	66.1(39/59)	19.6(10/51)
喹诺酮类	CIP	61.0(36/59)	39.2(20/51)
	左氧氟沙星(LEV)	54.2(32/59)	1.8(1/55)
林可胺类	CLI	88.1(52/59)	54.9(28/51)
大环内酯类	ERY	89.8(53/59)	45.1(23/51)
磺胺类	SXT	57.6(34/59)	39.4(15/51)
唑烷酮类	LZD	0	0

2.3 药敏试验分析 110 株金葡萄菌对 13 种抗菌药物的药敏试验结果见表 3。MRSA 对糖肽类抗菌药物[万古霉素(VAN)、替考拉宁(TEC)]和唑烷酮类抗菌药物[利奈唑胺(LZD)]全部敏感,但是对其余被检抗菌药物的耐药率则较高。相对于 MRSA 菌株而言,MSSA 菌株对大多数抗菌药物敏感,但对青霉素(PEN)、红霉素(ERY)、克林霉素(CLI)、环丙沙星(CIP)、复方新诺明(SXT)、庆大霉素(GEN)和四环素(TET)等均表现出一定的耐药性。

2.4 MDR 菌株的耐药谱及分子特点 所有的 MRSA 菌株均为 MDR 菌株,而 51 株 MSSA 菌株中有 24 株为 MDR 菌株。34 株 ST239 MRSA 菌株有共同的耐药谱 PEN/CIP/GEN/RIF/TET/LEV。24 株 MSSA 多重耐药菌株中,有 12 株对 3 类抗菌药物耐药,其耐药谱见表 4;有 50%的 MSSA 菌株对 3 种以上的抗菌药物耐药,其中 1 株对 6 类抗菌药物耐药(PEN/ERY/

CLI/SXT/CIP/TET),表明敏感菌 MSSA 中的多重耐药性也不容忽视。

表 4 MSSA 多重耐药菌株耐药谱及其分子特点

耐药谱	MLST 型别	spa 型别	agr 型别	pvl+
PEN/ERY/CLI(6)	ST398(1),ST1(1),ST188(1),ST7(1),ST121(1),ST5(1)	T571(3),New(1),t2092(1),t002(1)	I(3),II(1),III(1),IV(1)	1
PEN/SXT/TET(1)	ST7(1)	T7164(1)	I(1)	0
PEN/ERY/TET(1)	ST15(1)	New(1)	II(1)	0
ERY/SXT/TET(1)	ST943(1)	T7164(1)	I(1)	0
PEN/ERY/GEN(1)	ST59(1)	T163(1)	I(1)	0
PEN/CLI/GEN(1)	ST7(1)	T7164(1)	I(1)	0
PEN/ERY/SXT(1)	ST25(1)	t078(1)	I(1)	0
PEN/ERY/CLI/TET(1)	ST7(1)	New(1)	I(1)	0
PEN/ERY/CLI/GEN(3)	ST7(3)	T2663(1),t7164(1),		
new(1)	I(3)	0		
PEN/ERY/CLI/SXT/GEN(3)	ST7(1),ST15(1),ST88(1)	T002(1),T2663(1),t1376(1)	I(1),II(1),III(1)	1
PEN/ERY/CLI/SXT/GEN(3)	ST15(1),ST943(2)	T7146(2),t10092(1)	I(2),II(1)	0
PEN/ERY/CLI/SXT/TET/GEN(1)	ST5(1)	T062(1)	II(1)	0
PEN/ERY/CLI/SXT/CIP/TET/GEN(1)	ST398(1)	t034(1)	I(1)	0

3 讨 论

自 20 世纪 80 年代以来,MRSA 因具有较强的定植能力和外界环境适应能力,在全球范围内迅速传播,成为医院和社区获得性感染的重要病原菌。在我国,临床金葡菌中的 MRSA 检出率从 1980 年的 20%迅速升高到 2008 年的约 60%^[17],引起了我国医务工作者的高度关注。流行病学研究表明,ST239-MRSA-Ⅲ和 ST5-MRSA-Ⅱ是我国 MRSA 优势流行型别^[4]。本研究中,来自重庆地区的 MRSA 检出率为 53.6%(59/110),接近全国平均水平,该地区的 MRSA 优势流行型别为 ST239-MRSA-Ⅲ(57.6%,34/59)和 ST59-MRSA-I/Ⅳ/V(28.8%,17/59),这一结果与以往报道的对重庆 MRSA 的分析结果相一致^[4,18]。ST239 是亚洲国家的主要流行克隆^[19],有研究证实,ST239-MRSA-Ⅲ-t037,是我国北京地区 2000 年之前的主要克隆,之后逐渐被 ST239-MRSA-Ⅲ-t030 取代^[20],本研究中 ST239-MRSA-Ⅲ-t037 仍然是最优势克隆(50.0%,17/34),而 ST239-MRSA-Ⅲ-t030 占 20.6%(7/34),表明 ST239-MRSA-Ⅲ-t037 型菌株在重庆地区有更强的适应能力和传播能力。药敏试验结果表明,MRSA 菌株全部为多重耐药菌。

和 MRSA 相比,MSSA 菌株通常拥有更高的遗传多样性^[21],在我国的研究报道中,主要的 MSSA 型别因地区不同而差异较大^[20,22]。本研究中鉴定的 51 株 MSSA 菌可分为 18 种 ST 型别和 27 种 spa 型,相对于 MRSA 菌株(8 种 ST 型别,11 种 spa 型)而言,MSSA 具有更多的克隆多态性。ST7、ST15、ST25、ST88、ST188、ST398、ST5、ST464 和 ST943 是该地区主要的 MLST 型别。ST121 是在全球广泛分布的社区获得性克隆群,因其高毒力而引起研究者关

注^[23]。我国对于 ST121 金葡菌的报道较少,在本研究中,有 2 株 MSSA 菌株检测为 ST121 型(3.9%,2/51),此 2 株菌虽未携带 pvl 毒力基因,但其高毒力特征值得深入研究。

在欧美地区,临床分离的 MSSA 对除青霉素之外的大多数常用抗菌药物敏感^[21,24],因此 MSSA 的耐药情况在国外并未引起关注。在我国的报道中,已发现 MSSA 除对 PEN 耐药外,还对 ERY、CLI 等存在不同程度的耐药^[25]。在本研究的 51 株 MSSA 菌株中检出了高比例的多重耐药菌株(47.1%,24/51),这些 MDR 菌有不同的耐药谱,但多数对 PEN、ERY 和 CLI 耐药(75.0%,18/24)。在这些 MDR 型 MSSA 中,有 3 株对五类抗菌药物耐药,另外有 1 株菌株对 6 类抗菌药物耐药,提示 MSSA 的耐药性在重庆地区不容乐观,值得临床高度关注。

4 结 论

本研究在一定程度上揭示了重庆地区 MRSA 和 MSSA 的种群分子特征及耐药谱,其中 MRSA 以 ST239-MRSA-Ⅲ占绝对优势;而 MSSA 分子型别则呈现出多样性。ST121 等高毒力、多重耐药菌株的检出,提示在我国金葡菌感染的防控中,除关注 MRSA 外,MSSA 以其较高的毒力以及越来越严峻的耐药形势同样需要给予高度关注。

参考文献

[1] HOLMES N E,ROBINSON J O,VAN HAL S J,et al. Morbidity from in-hospital complications is greater than treatment failure in patients with Staphylococcus aureus bacteraemia[J]. BMC Infect Dis,2018,18(1):107.

[2] MOOSAVIAN M,SHAHIN M,NAVIDIFAR T,TOR-ABIPOUR M. Typing of staphylococcal cassette chromo-

- some mec encoding methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates in Ahvaz, Iran[J]. *New Microbes New Infect*, 2017, 21: 90-94.
- [3] STEFANI S, CHUNG D R, LINDSAY J A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2012, 39(4): 273-282.
- [4] CHENG H, YUAN W C, ZENG F Y, et al. Molecular and phenotypic evidence for the spread of three major methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones associated with two characteristic antimicrobial resistance profiles in China[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2013, 68(11): 2453-2457.
- [5] GRUNDMANN H, AANENSEN D M, VAN DEN WIJNGAARD C C, et al. Geographic distribution of *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in Europe: a molecular-epidemiological analysis[J]. *PLoS Medicine*, 2010, 7(1): e1000215.
- [6] DAVID M Z, BOYLE-VAVRA S, ZYCHOWSKI D L. Methicillin-Susceptible *staphylococcus aureus* as a predominantly Healthcare-Associated pathogen: a possible reversal of roles? [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18217.
- [7] YOONG P, TORRES V J. The effects of *Staphylococcus aureus* leukotoxins on the host: cell lysis and beyond[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2013, 16(1): 63-69.
- [8] SAWANOBORI E, HUNG W C, TAKANO T, et al. Emergence of Pantone-Valentine leukocidin-positive ST59 methicillin-susceptible *staphylococcus aureus* with high cytolytic peptide expression in association with community-acquired pediatric osteomyelitis complicated by pulmonary embolism[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2015, 48(5): 565-573.
- [9] EED E M, GHONAIM M M, HUSSEIN Y M, et al. Molecular characterisation of Pantone-Valentine leucocidin-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones isolated from the main hospitals in Taif, KSA [J]. *Indian J Med Microbiol*, 2016, 34(4): 476-482.
- [10] GARBACZ K, PIECHOWICZ L, PODKOWIK M, et al. Emergence and spread of worldwide *Staphylococcus aureus* clones among cystic fibrosis patients[J]. *Infect Drug Resist*, 2018(11): 247-255.
- [11] ZHOU Z, ZHANG M, LI H, et al. Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from goats in Chongqing, China[J]. *BMC Vet Res*, 2017, 13(1): 352.
- [12] EL-BAZ R, RIZK D E, BARWA R, HASSAN R. Virulence characteristics and molecular relatedness of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* harboring different staphylococcal cassette chromosome mec [J]. *Microb Pathog*, 2017(113): 385-395.
- [13] HARRIS L G, DUDLEY E, ROHDE H, et al. Limitations in the use of PSMγ, agr, RNA III, and biofilm formation as biomarkers to define invasive *Staphylococcus epidermidis* from chronic biomedical device-associated infections[J]. *Int J Med Microbiol*, 2017, 307(7): 382-387.
- [14] LI S, WANG P, ZHAO J, et al. Characterization of Toxin Genes and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* from Retail Raw Chicken Meat [J]. *J Food Protect*, 2018, 81(4): 528-533.
- [15] CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[Z], 2015.
- [16] MAGIORAKOS A P, SRINIVASAN A, CAREY R B, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18(3): 268-281.
- [17] XIAO Y H, GISKE C G, WEI Z Q, et al. Epidemiology and characteristics of antimicrobial resistance in China [J]. *Drug Resist Updat*, 2011, 14(4/5): 236-250.
- [18] 程航, 曾方银, 胡启文, 等. 广州地区耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子分型及耐药性分析[J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35(8): 696-701.
- [19] WANG Z, ZHOU H, WANG H, et al. Comparative genomics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST239: distinct geographical variants in Beijing and Hong Kong[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 529.
- [20] CHEN H B, LIU Y D, JIANG X H, et al. Rapid change of Methicillin-Resistant *staphylococcus aureus* clones in a Chinese tertiary care hospital over a 15-Year period[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(5): 1842-1847.
- [21] MIKO B A, HAFER C A, LEE C J, et al. Molecular characterization of Methicillin-Susceptible *staphylococcus aureus* clinical isolates in the United States, 2004 to 2010 [J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(3): 874-879.
- [22] LIU C, CHEN Z J, SUN Z, et al. Molecular characteristics and virulence factors in methicillin-susceptible, resistant, and heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* from central-southern China [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2014, 48(5): 490-496.
- [23] RAO Q, SHANG W, HU X, et al. *Staphylococcus aureus* ST121: a globally disseminated hypervirulent clone [J]. *J Med Microbiol*, 2015, 64(12): 1462-1473.
- [24] RASMUSSEN G, MONECKE S, BRUS O, et al. Long term molecular epidemiology of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia isolates in Sweden [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e114276.
- [25] SUN D D, MA X X, HU J, et al. Epidemiological and molecular characterization of community and hospital acquired *Staphylococcus aureus* strains prevailing in Shenyang, Northeastern China [J]. *Braz J Infect Dis*, 2013, 17(6): 682-690.
- [26] SHOPSIN B, GOMEZ M, MONTGOMERY S O, et al. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains [J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37(11): 3556-3563.