

· 实验技术及其应用 ·

# 淮安市临床分离金黄色葡萄球菌耐药性及全基因组测序分析

李兵兵<sup>1,3</sup>, 汪浩<sup>2,3</sup>, 杨鹏飞<sup>1,3</sup>, 宋志洲<sup>2</sup>, 孙敏<sup>1,3</sup>, 邢亚东<sup>1,3</sup>

1. 淮安市疾病预防控制中心, 江苏 淮安 223001; 2. 涟水县疾病预防控制中心, 江苏 淮安 223400;

3. 淮安市突发公共卫生事件应急检测重点实验室, 江苏 淮安 223001

**摘要:**目的 探究淮安市临床分离金黄色葡萄球菌的耐药性及分子流行病学特征, 为其感染的诊治和防控提供参考。方法 收集从临床标本中分离的金黄色葡萄球菌, 通过头孢西丁或苯唑西林耐药表型或 *mecA* 基因检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)。采用微量肉汤稀释法进行药敏试验。基于全基因组测序, 对菌株进行单核苷酸多态性分析和多位点序列分型。利用在线数据库鉴定菌株携带的毒力和耐药基因。结果 从 7 种类型临床标本中共分离到 83 株金黄色葡萄球菌, MRSA 占 59.04%。分离菌株对青霉素耐药率最高, 为 97.59%, 对奈唑胺、替加环素、万古霉素、替考拉宁和呋喃妥因均敏感, 多重耐药菌株占 57.83%。83 株金黄色葡萄球菌有 20 个 ST 型, ST398 (21.69%) 为主要型别。83 个基因组存在 187 292 个 SNPs 位点。这些菌株携带有 38 种耐药基因, 其中 *tet*(38)、*blaZ*、*arlR*、*arlS*、*mgrA*、*norA*、*mepA*、*ErmC*、*LmrS*、*mepR* 携带率较高。携带 *sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*seh*、*selk*、*sell*、*selq* 8 种肠毒素基因, *selk* 和 *selq* 携带率最高, 均为 32.53%, ST1 菌株携带肠毒素基因种类最多。杀白细胞素 PVL 编码基因 *lukF-PV* 和 *lukS-PV* 携带率分别为 49.40% 和 6.02%。中毒性休克综合征毒素 TSST-1 编码基因 *tsst-1* 的携带率为 3.61%。结论 淮安地区临床分离金黄色葡萄球菌的耐药性较强, MRSA 检出率较高。菌株 ST 型别丰富, ST 型别与致病性存在一定相关性。

**关键词:**金黄色葡萄球菌; 耐药性; 分子流行病学

中图分类号: R378.11; R446.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)09-1689-07

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202312350

## Drug resistance and genome sequencing analysis of staphylococcus aureus isolated from clinical isolates in Huai'an city

LI Bing-bing\*, WANG Hao, YANG Peng-fei, SONG Zhi-zhou, SUN Min, XING Ya-dong

\*Huai'an Center for Disease Control and Prevention, Huai'an, Anhui 223001, China

**Abstract: Objective** To investigate the drug resistance and molecular epidemiological characteristics of clinically isolated *Staphylococcus aureus* in Huai'an city, so as to provide references for the diagnosis, treatment, prevention and control of infection. **Methods** *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples were collected and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was detected by cefoxitin or oxacillin resistance phenotype or *mecA* gene. The drug sensitivity test was carried out by microbroth dilution method. Based on the whole genome sequencing, the strains were analyzed by single nucleotide polymorphism and multi-locus sequence typing. The virulence and drug resistance genes of the strains were identified by online database. **Results** A total of 83 strains of *Staphylococcus aureus* were isolated from 7 types of clinical specimens, and MRSA accounted for 59.04%. The isolated strains had the highest resistance to penicillin (97.59%) and were sensitive to Nez Olamide, tigeicyclines, vancomycin, teicoplanin, and nitrofurantoin, and multiple drug-resistant strains accounted for 57.83%. There were 20 ST types in 83 strains of *Staphylococcus aureus*, and ST398 (21.69%) was the main type. There were 187 292 SNP loci in 83 genomes. These strains carried 38 kinds of drug resistance genes, among which *tet* (38), *blaZ*, *arlR*, *arlS*, *mgrA*, *norA*, *mepA*, *ErmC*, *LmrS*, and *mepR* had higher carrying rates. These strains carried 8 enterotoxin genes including *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *seh*, *selk*, *sell*, and *selq*, among which *selk* and *selq* (both 32.53%) had the highest carrying rate, and ST1 strain carried the largest number of kinds of enterotoxin genes. The carrying rates of *lukF-PV* and *lukS-PV* genes encoded by PVL were 49.40% and 6.02%, respectively. The carrying rate of *tsst-1* gene encoded by toxic shock syndrome toxin TSST-1 was 3.61%. **Conclusion** The drug resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from Huai'an area is strong and the detection rate

基金项目: 江苏省预防医学科研课题(Y2018047); 淮安市创新能力建设计划(HAP201906)

作者简介: 李兵兵(1986—), 男, 硕士, 副研究员, 研究方向: 病原微生物溯源研究; 汪浩(1987—), 男, 本科, 副主任技师, 研究方向: 病原微检验; 李

兵兵和汪浩为共同第一作者

通信作者: 邢亚东, E-mail: 820042309@qq.com

of MRSA is high. The ST types of strains are rich, and there is a certain correlation between ST types and pathogenicity.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*; Drug resistance; Molecular epidemiology

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 是一种人畜共患病病原体, 严重者会导致人和动物死亡<sup>[1-2]</sup>。抗生素大量使用造成的选择性压力导致金黄色葡萄球菌的耐药性逐渐增强<sup>[3]</sup>。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 是一种广泛耐药金黄色葡萄球菌, 相较于甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 (methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA) 耐药性更强、致死率更高, 并且在临床上的检出率呈不断上升态势<sup>[4-6]</sup>。研究表明, 不同地域、不同样本来源金黄色葡萄球菌的耐药性存在差异<sup>[7-9]</sup>, 耐药性监测是有效控制耐药性发展以及为金黄色葡萄球菌感染疾病的临床用药提供指导的重要手段。

本研究对淮安市临床分离的金黄色葡萄球菌进行了耐药性测试, 并通过全基因组测序分析了其遗传进化、耐药基因、毒力因子携带情况, 以期能为金黄色葡萄球菌的预防和控制提供理论指导。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株来源与鉴定** 收集 2020—2021 年淮安市国家致病菌识别网监测哨点医院从临床标本中分离的金黄色葡萄球菌 83 株。金黄色葡萄球菌鉴定使用 VITEK 2 Compat 全自动生化鉴定仪; 微量肉汤稀释法筛选 MRSA 菌株, 根据美国国立临床标准实验室委员会 (CLSI) 标准 (2022), 苯唑西林 MIC > 4 μg/ml 的菌株判定为 MRSA; 荧光 PCR 法检测 83 株菌携带 *mecA* 基因的情况。

**1.2 核酸提取及基因组测序** 使用天根生化科技 (北京) 有限公司细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取菌株核酸, 用 Nanodrop 对提取核酸的质量进行检测, 经质控合格后送上海伯杰医疗科技有限公司进行基因组二代测序, 测序平台为 Illumina NovaSeq, 测序深度大于 100 ×。下机数据经过滤 (fastp, v0.23.2)、组装拼接 (SPAdes, v3.15.5), 最终交付数据质量达到 Coverage ≥ 95%、Mismatch ≤ 20、Q20 ≥ 1Gb、Q30 ≥ 85%。

**1.3 MLST 分子分型** 获得菌株基因组序列后, 与 MLST 在线数据库 (<https://pubmlst.org/saureus/>) 中已知序列比对, 获取 7 个管家基因 (*arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmK*, *pta*, *tpi*, *yqiL*) 的等位基因编号, 根据等位基因编号得出菌株 ST 型。使用 Bionumerics 软件进行聚类分析, 设定克隆复合群最小相同等位基因数为 6, 并绘制最小生成树。

**1.4 遗传进化分析** 以 NC007795.1 基因组为参考, 利用在线软件 CSI Phylogeny<sup>[9]</sup> (<https://cge.cbs.dtu.dk/>)

进行 SNP 分析并构建系统进化树, 使用 iTOL (<https://itol.embl.de/>)<sup>[10]</sup> 对进化树进行美化。

**1.5 耐药基因及毒力基因注释** 分别将菌株基因组序列与 CARD 数据库 (<http://arpcard.mcmaster.ca>) 和 VFDB 数据库 (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/>) 中已知序列进行比对, 分析菌株携带的耐药基因和毒力基因。

**1.6 药敏试验** 采用微量肉汤稀释法检测菌株对复方新诺明、头孢西丁、阿奇霉素、克拉霉素、青霉素、苯唑西林、红霉素、克林霉素、利奈唑胺、替加环素、四环素、万古霉素、利福平、氯霉素、庆大霉素、莫西沙星、左氧氟沙星、替考拉宁、呋喃妥因、诺氟沙星 20 种抗生素的敏感性, 根据 CLSI 标准 (2022) 进行折点判读。ATCC25923 为质控菌株。

**1.7 统计方法** 应用 SPSS (19.0) 软件对数据进行统计分析 (理论频数 T ≥ 5 时用  $\chi^2$  检验; 理论频数 1 ≤ T < 5 时用  $\chi^2$  检验校正; 理论频数 T < 1 时, 用 Fisher 确切概率法进行统计), 以  $\alpha=0.05$  为检验水准。

## 2 结果

**2.1 菌株来源分布** 83 株金黄色葡萄球菌分离自 7 种类型临床标本, 开放部位标本和无菌部位标本分别分离 52 和 31 株。分离自分泌物 (53.01%)、痰液 (21.69%) 和血液 (9.64%) 三种标本的菌株合计占比 84.34%, 具体菌株来源信息见表 1。83 株金黄色葡萄球菌中检出 49 株 MRSA, 检出率为 59.04%。49 株 MRSA 中 8 株分离自无菌部位, 41 株分离自开放部位。MRSA 中具有苯唑西林和头孢西丁耐药表型的有 28 株, 其中有 3 株不携带 *mecA* 基因; 携带 *mecA* 基因的有 46 株, 其中 21 株对苯唑西林和头孢西丁敏感, 见图 1 和图 2B。

**2.2 耐药表型** 20 种抗生素中, 除利奈唑胺、替加环素、万古霉素、替考拉宁和呋喃妥因外, 其余抗生素均有耐药菌株存在, 耐药率最高的为青霉素, 为 97.59%; 耐药率超过 50% 的有阿奇霉素、克拉霉素、红霉素, 分别为 61.45%、61.45%、62.65%; 对头孢西丁、苯唑西林、克林霉素、左氧氟沙星和诺氟沙星的耐药率超过 20%, 分别为 33.73%、33.73%、21.69%、22.89%、36.14%, 其余抗生素耐药率较低, 见图 1。对三种及以上抗生素耐药的三重耐药菌株占 57.83%, 三耐菌株、四耐菌株、五耐菌株、六耐菌株分别有 22 株、15 株、9 株、2 株。MSSA 对复方新诺明、氯霉素和庆大霉素的耐药率高于 MRSA, 对其余抗生素的耐药率低于 MRSA, 但是除了头孢西丁和苯唑西林 (均

$\chi^2=29.319, P<0.001$ ) 外, MRSA 和 MSSA 对其余抗生素耐药率的差异不显著(均  $P>0.05$ )。

表 1 菌株信息表

Table 1 Information table of strains

标本类型		菌株数量(株)			占比(%)
		MRSA	MSSA	合计	
无菌部位标本	血液	4	4	8	9.64
	透析液	2	3	5	6.02
	胸腹水	2	0	2	2.41
开放部位标本	痰液	10	8	18	21.69
	分泌物	30	14	44	53.01
	脓液	1	4	5	6.02
	尿液	0	1	1	1.20
合计		49	34	83	100.00

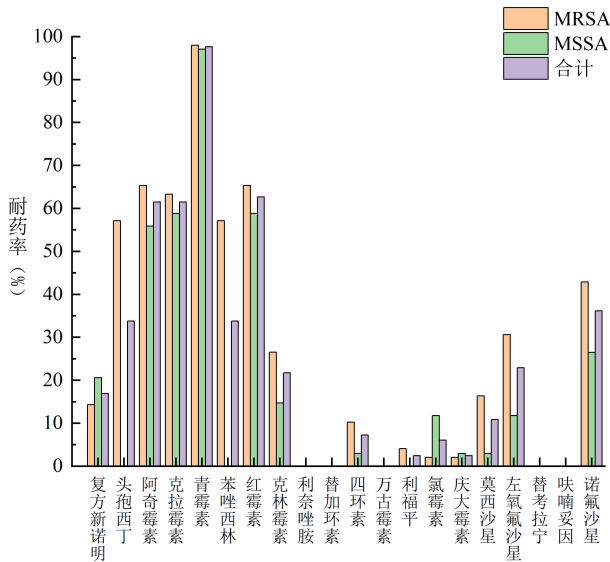


图 1 金黄色葡萄球菌耐药表型

Figure 1 Drug-resistant phenotype of *Staphylococcus aureus*

2.3 MLST 分子分型 83 株金黄色葡萄球菌分属 18 个已知 ST 型和 2 个新的 ST 型, ST 型占比由高到低依次为 ST398、ST1、ST59、ST630、ST22、ST188、ST4513、ST7、ST15、ST25、ST88、ST1281, 分别为 21.69%、

13.25%、12.05%、9.64%、8.43%、4.82%、4.82%、3.61%、3.61%、3.61%、2.41%、2.41%, 其余 ST 型均只有 1 株菌。

MRSA 存在 9 个已知 ST 型和 2 个新的 ST 型, 以 ST398、ST1 和 ST59 为主; MSSA 存在 14 个已知 ST 型, 以 ST22、ST398 和 ST188 为主。ST4513、ST6、ST7、ST88 仅存在于 MRSA, ST188、ST15、ST25、ST1281、ST2315、ST30、ST4071、ST5、ST8 仅存在于 MSSA。最小生成树上, 以 ST1、ST22、ST59、ST398、ST630 为节点聚类成 5 个克隆复合群, 见图 3。

2.4 wg-SNP 遗传进化分析 83 株金黄色葡萄球菌全基因组测序数据组装到参考基因组上, 共获得 187 292 个 SNPs 位点(过滤阈值  $MAF>0.05$ )。MSSA 进化树有 4 个分支, 见图 2A, 相同 ST 型菌株在进化树上的距离较近; 部分相同类型标本来源菌株聚在一起。MRSA 进化树有 3 大分枝, 见图 2B, 相同 ST 型菌株在进化树上的距离较近, 其中 ST398 菌株单独聚为一个分支, ST59 和 ST4513 菌株在同一分支上, 其余 ST 型菌株聚为一个分支。

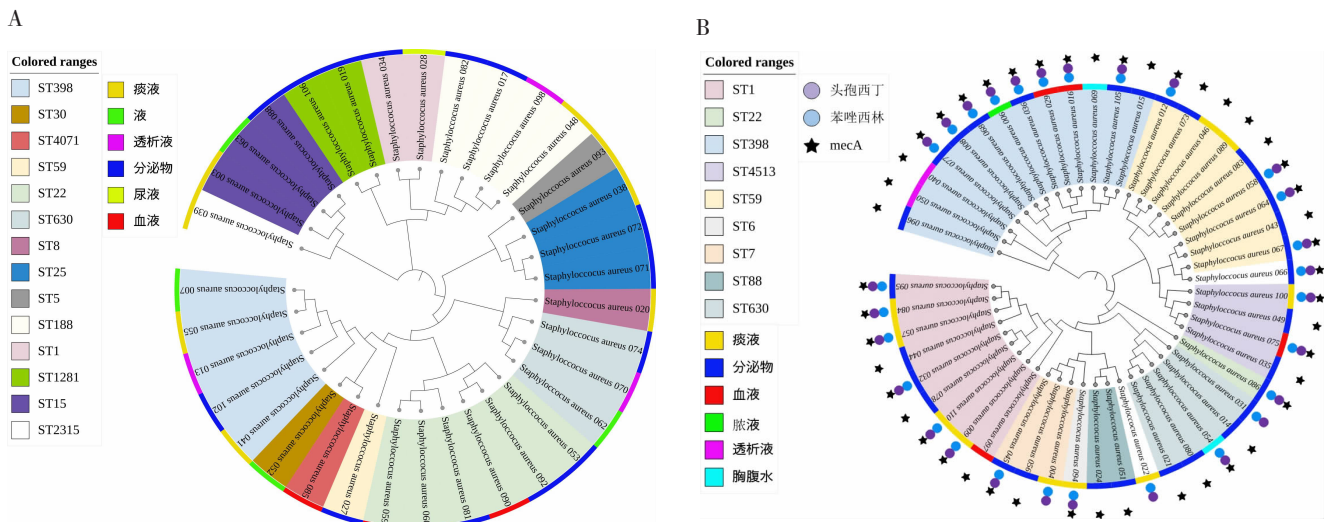


图 2 金黄色葡萄球菌 wg-SNP 进化树

Figure 2 The wg-SNP evolution tree of *Staphylococcus aureus*

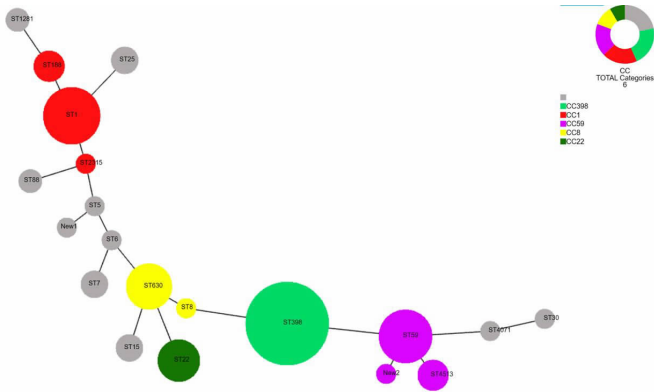


图 3 金黄色葡萄球菌 MLST 分型最小生成树  
Figure 3 Minimum spanning tree for MLST typing of *Staphylococcus aureus*

2.5 耐药基因分析 如表 2 所示,83 个基因组共携带 38 种耐药基因, 这些菌株最多携带 17 种耐药基因,最少携带 4 种耐药基因,这些耐药基因主要介导对四环素类、β-内酰胺类、喹诺酮类、大环内酯类、林可酰胺类、磷霉素类等 13 类抗生素的耐药。携带率超过 50% 的耐药基因有 *tet* (38)、*blaZ*、*arlR*、*arlS*、*mgrA*、*norA*、*mepA*、*ErmC*、*LmrS*、*mepR*。菌株携带耐药基因情况与其耐药表型之间存在一定差异,甘氨酸环素类耐药基因、四环素类耐药基因、喹诺酮类耐药基因、β-内酰胺类耐药基因携带率较高,但本研究中的菌株对上述 3 类抗生素耐药率并不高。除磷霉素耐药基因 *FosB*( $\chi^2=9.170, P=0.002$ )外,MRSA 和 MSSA 携带耐药基因差异不显著(均  $P>0.05$ )。

表 2 耐药基因携带情况

Table 2 Carriage of drug-resistance genes

耐受抗生素	耐药基因	携带情况[n (%)]		$\chi^2$ /Fisher 确切概率法	P 值
		MRSA (n=49)	MSSA (n=34)		
四环素类抗生素	<i>tet(38)</i>	48 (97.96)	33 (97.06)	c	1.000
	<i>tet(K)</i>	6 (12.24)	6 (17.65)	0.138 <sup>b</sup>	0.711
	<i>tetM</i>	1 (2.04)	1 (2.94)	c	1.000
	<i>TEM-116</i>	1 (2.04)	1 (2.94)	c	1.000
	<i>tet(L)</i>	0 (0)	1 (2.94)	c	0.410
β-内酰胺类抗生素	<i>blaZ</i>	40 (81.63)	33 (97.06)	3.169 <sup>b</sup>	0.075
	<i>OXA-444</i>	1 (2.04)	0 (0)	c	1.000
	<i>OXA-22</i>	1 (2.04)	0 (0)	c	1.000
喹诺酮类抗生素	<i>arlR</i>	48 (97.96)	33 (97.06)	c	1.000
	<i>arlS</i>	48 (97.96)	33 (97.06)	c	1.000
	<i>mgrA</i>	49 (100.00)	34 (100.00)	—	—
	<i>norA</i>	49 (100.00)	33 (97.06)	c	0.410
	<i>mepA</i>	48 (97.96)	33 (97.06)	c	1.000
	<i>qacA</i>	0 (0)	1 (2.94)	c	0.410
大环内酯类抗生素	<i>ErmC</i>	44 (89.80)	28 (82.35)	0.428 <sup>b</sup>	0.513
	<i>ErmB</i>	8 (16.33)	2 (5.88)	1.198 <sup>b</sup>	0.274
	<i>ErmA</i>	0 (0)	2 (5.88)	c	0.165
	<i>LmrS</i>	48 (97.96)	34 (100.00)	c	1.000
	<i>mel</i>	0 (0)	1 (2.94)	c	0.410
甘氨酸环素类抗生素	<i>mepR</i>	49 (100.00)	34 (100.00)	—	—
林可酰胺类抗生素	<i>lnuG</i>	8 (16.33)	2 (5.88)	1.198 <sup>b</sup>	0.274
	<i>cfrA</i>	1 (2.04)	1 (2.94)	c	1.000
	<i>lnuA</i>	1 (2.04)	3 (8.82)	0.806 <sup>b</sup>	0.369
	<i>lsaE</i>	1 (2.04)	1 (2.94)	c	1.000
磷霉素	<i>FosD</i>	9 (18.37)	1 (2.94)	3.169 <sup>b</sup>	0.075
	<i>FosB</i>	7 (14.29)	15 (44.12)	9.170 <sup>a</sup>	0.002
	<i>FosB1</i>	1 (2.04)	3 (8.82)	0.806 <sup>b</sup>	0.369
核苷类抗生素	<i>sta</i>	1 (2.04)	1 (2.94)	c	1.000
夫西地酸	<i>fusB</i>	4 (8.16)	0 (0)	1.408 <sup>b</sup>	0.235
氨基糖苷类抗生素	<i>ANT(4′)-Ib</i>	1 (2.04)	2 (5.88)	0.105 <sup>b</sup>	0.746
	<i>ANT(6)-Ia</i>	0 (0)	1 (2.94)	c	0.410
	<i>APH(3′)-IIIa</i>	5 (10.20)	1 (2.94)	0.682 <sup>b</sup>	0.409
	<i>AAC(6′)-Ie-APH(2′)-Ia</i>	3 (6.12)	2 (5.88)	0.000 <sup>b</sup>	1.000
	<i>aad(6)</i>	5 (10.20)	1 (2.94)	0.682 <sup>b</sup>	0.409
苯尼考抗生素	<i>catQ</i>	0 (0)	1 (2.94)	c	0.410
	<i>fexA</i>	1 (2.04)	1 (2.94)	c	1.000
二氨基嘧啶类抗生素	<i>dfrG</i>	1 (2.04)	1 (2.94)	c	1.000
氯霉素	<i>catA8</i>	0 (0)	2 (5.88)	c	0.165

注:<sup>a</sup>为  $\chi^2$  检验;<sup>b</sup>为  $\chi^2$  检验校正;<sup>c</sup>为 Fisher 确切概率法;—为无数值。

2.6 毒力基因注释 83 株金黄色葡萄球菌基因组携带 *sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*seh*、*selk*、*sell*、*selq* 8 种肠毒素基因。携带率由高到低依次为 *selk*、*selq*、*sea*、*seb*、*sec*、*sell*、*seh*、*sed*，分别为 32.53%、32.53%、28.92%、20.48%、18.07%、18.07%、13.25%、3.61%。携带肠毒素的 42 株菌株有(30 株 MRSA, 12 株 MSSA)12 种肠毒

素谱,以 *seh-sec-sell-sea-selq-selk*、*selk-selq-seb*、*seb-selq-selk-sea* 和 *sea* 为主。肠毒素基因谱与菌株 ST 型有一定相关性,例如携带 *seh-sec-sell-sea-selq-selk* 肠毒素谱的菌株均为 ST1 型,携带 *seb-selq-selk-sea* 的菌株均为 ST59 型,毒力基因携带情况见表 3。

表 3 毒力基因携带情况

Table 3 Carriage of virulence genes

毒力因子名称	相关毒力基因谱	ST 型	菌株数			
			MRSA(株)	MSSA(株)	合计(株)	占比(%)
肠毒素	<i>seh-sec-sell-sea-selq-selk</i>	ST1	9	1	10	12.05
	<i>sed-selk-selq-sell-sec</i>	ST5	0	1	1	1.20
	<i>seb-selq-selk-sea</i>	ST59	6	0	6	7.23
	<i>sea-sell-sec</i>	ST88	1	0	1	1.20
	<i>selk-selq-seb</i>	ST59、ST4513、N2	8	1	9	10.84
	<i>sec-sell</i>	ST188、ST2315	0	3	3	3.61
	<i>selk-selq</i>	ST398	1	0	1	1.20
	<i>sea-sed</i>	ST7	1	0	1	1.20
	<i>sed</i>	ST8	0	1	1	1.20
	<i>sea</i>	ST7、ST88、ST30、ST4071、ST6	4	2	6	7.23
	<i>seh</i>	ST1	0	1	1	1.20
<i>seb</i>	ST25	0	2	2	2.41	
杀白细胞素 PVL	<i>lukF-PV</i>	ST15、ST7、ST1、ST188、ST1281、ST8、N1、ST88、ST1、ST25、ST630、ST4071、ST5、ST6	16	20	36	43.37
	<i>lukF-PV-lukS-PV</i>	ST398、ST22	1	4	5	6.02
中毒性休克综合征毒素 TSST-1	<i>tsst-1</i>	ST1281、ST30、ST188	0	3	3	3.61

杀白细胞素 PVL 编码基因 *lukF-PV* 和 *lukS-PV* 携带率分别为 49.40%和 6.02%。36 株菌株只携带 *lukF-PV* 基因,无单独携带 *lukS-PV* 基因的菌株,同时携带 *lukF-PV* 和 *lukS-PV* 的菌株有 5 株,ST 型别为 ST398 和 ST22,其中 4 株为 MSSA,1 株为 MRSA。中毒性休克综合征毒素 TSST-1 的编码基因 *tsst-1* 的携带率较低,仅为 3.61%,ST 型别分别为 ST1281、ST30、ST188,均为 MSSA。

### 3 讨论

耐药性金黄色葡萄球菌已被世界卫生组织列为需重点关注的细菌之一,对金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药情况进行调查分析,可减少其所致感染的发生和暴发流行,并对提高抗感染治疗具有重要的临床意义。本研究中收集的金黄色葡萄球菌的主要标本来源与谭艳<sup>[11]</sup>报道的结果相同,这可能与金黄色葡萄球菌的分布特征以及医院送检标本类型有关。83 株金黄色葡萄球菌中 MRSA 检出率为 59.04%,与洪捷<sup>[12]</sup>报道的江苏省临床样本中 MRSA 的检出率基本一致,MRSA 菌株主要分离自分泌物,与李洁群<sup>[13]</sup>报道

结果相同。部分 MRSA 对苯唑西林和头孢西丁耐药表型与其携带 *mecA* 基因情况不一致,这提示 *mecA* 基因介导的 MRSA 耐药机制还受其他一些因素的影响,值得我们进一步去研究。

本研究中的金黄色葡萄球菌的耐药表型与陈培超<sup>[14]</sup>报道的医院环境中分离的金黄色葡萄球菌的耐药表型相似,均对青霉素的耐药率最高,对利奈唑胺、万古霉素、替考拉宁和呋喃妥因敏感;与孙盼盼<sup>[3]</sup>、李雅倩<sup>[15]</sup>报道的临床标本分离金黄色葡萄球菌的耐药表型均有较大差异,这可能与长期以来不同地区临床用药差异或不同研究中选择菌株的主要来源标本以及人群存在差异有关。本研究中多重耐药菌株占比较高,除复方新诺明、氯霉素和庆大霉素外,MRSA 的耐药率高于 MSSA,本耐药数据可为本地临床治疗金黄色葡萄球菌所致感染用药提供数据支撑。

金黄色葡萄球菌的 ST 型别丰富,多达几千种,并还在不停的增加中。本研究中 83 株菌有 20 种 ST 型,其中两个为新 ST 型,说明本地金黄色葡萄球菌种群结构丰富。MRSA 以 ST398、ST1 和 ST59 为主,主

要聚集在 CC1、CC398 和 CC59 克隆群上,与徐娅雯<sup>[16]</sup>报道的扬州地区 MRSA 以 ST398 和 ST59 为主相似; MSSA 以 ST22、ST398 和 ST188 为主。ST398 是本地主要流行型别,该型别金黄色葡萄球菌是全球最主要的家畜养殖相关 ST 型之一,在社区和医院中广泛传播,该型别菌株的毒力和耐药性在不断增强,需引起足够重视<sup>[4,17]</sup>。

通过基因注释发现本研究中菌株携带的耐药基因类型丰富,83 个基因组中共鉴定出 38 种耐药基因,除 *FosB* 外 MRSA 和 MSSA 耐药基因携带情况差异不显著(均  $P>0.05$ )。菌株携带耐药基因情况与其耐药表型之间存在一定差异,这可能与基因注释的算法或存在新的耐药机制有关,菌株耐药机制需进一步验证。

肠毒素是导致金黄色葡萄球菌食物中毒的主要原因,目前已知的肠毒素或类肠毒素已有 20 余种。本研究中菌株共检测到携带 8 种肠毒素基因,*selk* 和 *selq* 携带率最高(均 32.53%)。5 种经典肠毒素中 *sea* (28.92%)、*seb* (20.48%)、*sec* (18.07%) 携带率较高,这几种肠毒素主要由 ST1 和 ST59 型菌株携带。携带 *seh-sec-sell-sea-selq-selk* 肠毒素菌株均为 ST1,携带 *seb-selq-selk-sea* 菌株均为 ST59,与李辉<sup>[4]</sup>报道结果一致。MRSA 肠毒素携带率高于 MSSA,MRSA 肠毒素谱主要为 *seh-sec-sell-sea-selq-sel-seb-selq-selk-sea* 和 *selk-selq-seb*,MSSA 肠毒素谱主要为 *sec-sell*。杀白细胞素 PVL 由 *lukF-PV* 和 *lukS-PV* 基因共同编码合成,可诱导细胞凋亡,使金黄色葡萄球菌具有更强的侵袭性和毒力<sup>[18]</sup>,本研究中大部分菌株只携带 *lukF-PV* 基因,同时携带 2 种基因的菌株只有 6.02%,只携带 *lukF-PV* 基因菌株产杀白细胞素 PVL 能力还需进一步进行验证。中毒性休克综合征毒素 TSST-1 的编码基因 *tsst-1* 的携带率较低(3.61%),由 ST1281、ST30、ST188 型 MSSA 菌株携带。

综上,通过对本市临床分离金黄色葡萄球菌的耐药性和基因组特征分析,丰富了金黄色葡萄球菌相关病原学数据,为更好地为遏制金黄色葡萄球菌感染传播和暴发流行提供了数据支撑。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

## 参考文献

[1] Aziz TA, Lafta IJ. Developing multiplex PCR for the rapid and simultaneous detection of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* associated with sheep respiratory tract infections[J]. *Biologia*, 2022, 77(5): 1415-1421.

[2] 李红恩,李永红,习静,等. 2015~2019 年某院耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分布及耐药性分析[J]. *安徽医学*, 2021, 42(8):

949-952.

Li HE, Li YH, Xi J, et al. Distribution and drug resistance of methicillin resistant staphylococcus aureus(MRSA)in a hospital from 2015 to 2019[J]. *Anhui Medical Journal*, 2021, 42(8): 949-952.

- [3] 孙盼盼,菅记涌. 2009-2019 年北京世纪坛医院金黄色葡萄球菌临床感染分布及耐药性分析 [J]. *现代预防医学*, 2021, 48(7): 1305-1309.
- Sun PP, Jian JY. Distribution and drug resistance of *Staphylococcus aureus* in a hospital, 2009-2019 [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2021, 48(7): 1305-1309.
- [4] 李辉,闫琳,陈伟伟,等. 我国食源性金黄色葡萄球菌耐药及遗传特征情况研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2023, 35(6): 801-806.
- Li H, Yan L, Chen WW, et al. Resistance and genotype characterization of foodborne *Staphylococcus aureus* in China[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2023, 35(6): 801-806.
- [5] 诸葛石养,马海芳,苏爱荣,等. 从业人员金黄色葡萄球菌分离株耐药表型和分子分型研究[J]. *现代预防医学*, 2021, 48(15): 2846-2849, 2880.
- Zhu Ge SY, Ma HF, Su AR, et al. Antibiotic resistance spectrum and molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from catering employees [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2021, 48(15): 2846-2849, 2880.
- [6] R D, Khanum S, R SS, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage among health care personnel in nonoutbreak settings in tertiary care hospital in Mysore [J]. *American Journal of Infection Control*, 2021, 49(12): 1499-1502.
- [7] 朱云颖,王媛,肖婷婷,等. 杭州地区 2012-2018 年耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子流行病学特征及其变化趋势[J]. *遗传*, 2023, 45(11): 1074-1084.
- Zhu YY, Wang Y, Xiao TT, et al. Molecular epidemiology and change trend of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from invasive infections of a hospital in Hangzhou from 2012 to 2018[J]. *Hereditas*, 2023, 45(11): 1074-1084.
- [8] 丁新玲,李曼. 金黄色葡萄球菌标本分布及耐药情况分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2022, 17(12): 1442-1445.
- Ding XL, Li M. Epidemiological study on *Staphylococcus aureus*[J]. *Journal of Pathogen Biology*, 2022, 17(12): 1442-1445.
- [9] 胡小骞,王琴. 基于全基因组测序的耐碳青霉烯类抗生素鲍曼不动杆菌耐药基因、毒力因子及同源性分析[J]. *中国抗生素杂志*, 2022, 47(9): 939-945.
- Hu XQ, Wang Q. Analysis of resistance genes, virulence factors and homology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* based on whole-genome sequencing [J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2022, 47(9): 939-945.
- [10] Letunic I, Bork P. Interactive tree of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(W1): W293-W296.
- [11] 谭艳,傅建国,岳蓓. 成人耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的临床特征和耐药性分析 [J]. *中国现代医生*, 2021, 59(13): 111-114.
- Tan Y, Fu JG, Yue B. Analysis on the clinical characteristics and drug resistance of adult methicillin resistant staphylococcus aureus infection[J]. *China Modern Doctor*, 2021, 59(13): 111-114.
- [12] 洪捷,曹阳,谈忠鸣,等. 江苏地区金黄色葡萄球菌耐药及分子分型研究[J]. *中国人兽共患病学报*, 2019, 35(7): 604-609.

- [ 9 ] Song XY, Li TC. Ripk3 mediates cardiomyocyte necrosis through targeting mitochondria and the JNK-Bnip3 pathway under hypoxia-reoxygenation injury [J]. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*, 2019, 39(4): 331-340.
- [ 10 ] Ma F, Zhu Y, Chang L, et al. Hydrogen sulfide protects against ischemic heart failure by inhibiting RIP1/RIP3/MLKL-mediated necroptosis [J]. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 2022, 71(6): 771-781.
- [ 11 ] Qin YT, Lv C, Zhang XX, et al. Neuraminidase1 inhibitor protects against Doxorubicin-Induced cardiotoxicity via suppressing Drp1-Dependent mitophagy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 802502.
- [ 12 ] Yu B, Ma J, Li J, et al. Mitochondrial phosphatase PGAM5 modulates cellular senescence by regulating mitochondrial dynamics [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 2549.
- [ 13 ] 张乾卉. PGAM5/Drp1 信号通路在神诱导小鼠海马神经元 HT-22 细胞线粒体损伤及凋亡中的作用[D]. 沈阳:中国医科大学, 2020.
- Zhang QH. The role of PGAM5/ Drp1 in Mitochondrial Damage and Apoptosis in HT-22 Cells upon arsenite exposure [D]. Shenyang: China Medical University, 2020.
- [ 14 ] Wu HY, Wang D, Shi H, et al. PM2.5 and water-soluble components induce airway fibrosis through TGF- $\beta$  1/Smad3 signaling pathway in asthmatic rats [J]. *Molecular Immunology*, 2021, 137: 1-10.
- [ 15 ] Zhang YM, Xu XM, Zhang GL, et al. The association between PM2.5 concentration and the severity of acute asthmatic exacerbation in hospitalized children: A retrospective study in Chongqing, China [J]. *Pediatric Pulmonology*, 2023, 58(10): 2733-2745.
- [ 16 ] Gao JL, Lei T, Wang HY, et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 protects PM2.5 exposure-induced lung injury in mice by repressing inflammation and oxidative stress [J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2022, 19(1): 64.
- [ 17 ] 王彩红. 外泌体 miR--129--2--3p 在 PM2.5 加重哮喘中对气道上皮屏障功能的调控研究[D]. 太原:山西医科大学, 2023.
- Wang CH. Regulation of exosomal miR-129-2-3p on airway epithelial barrier function in PM2.5 aggravated asthma [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2023.
- [ 18 ] Wang H, Wang T, Rui W, et al. Extracellular vesicles enclosed-miR-421 suppresses air pollution (PM2.5)-induced cardiac dysfunction via ACE2 signalling [J]. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2022, 11(5): e12222.
- [ 19 ] Krittanawong C, Qadeer YK, Hayes RB, et al. PM2.5 and cardiovascular health risks [J]. *Current Problems in Cardiology*, 2023, 48(6): 101670.
- [ 20 ] Wu TT, Tong MH, Chu AA, et al. PM2.5-Induced programmed myocardial cell death via mPTP opening results in deteriorated cardiac function in HFpEF mice [J]. *Cardiovascular Toxicology*, 2022, 22(8): 746-762.
- [ 21 ] Chen YL, Ren WQ, Wang QS, et al. The regulation of necroptosis by ubiquitylation [J]. *Apoptosis*, 2022, 27(9/10): 668-684.
- [ 22 ] Maslov LN, Popov SV, Naryzhnaya NV, et al. The regulation of necroptosis and perspectives for the development of new drugs preventing ischemic/reperfusion of cardiac injury [J]. *Apoptosis*, 2022, 27(9/10): 697-719.
- [ 23 ] Chan DC. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease [J]. *Annual Review of Pathology*, 2020, 15: 235-259.
- [ 24 ] He GW, Günther C, Kremer AE, et al. PGAM5-mediated programmed necrosis of hepatocytes drives acute liver injury [J]. *Gut*, 2017, 66(4): 716-723.

收稿日期: 2023-11-22

## (上接第 1694 页)

- Hong J, Cao Y, Tan ZM, et al. Antimicrobial resistance features and molecular typing of staphylococcus aureus in Jiangsu province, China [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2019, 35(7): 604-609.
- [ 13 ] 李洁群, 余静贵, 饶洁, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的临床分布和耐药性分析 [J]. *中国当代医药*, 2023, 30(22): 120-123.
- Li JQ, Yu JG, Rao J, et al. Analysis of drug resistance and clinical distribution in Methicillin-resistant Staphylococcus aureus [J]. *China Modern Medicine*, 2023, 30(22): 120-123.
- [ 14 ] 陈培超, 黄强, 毛育华, 等. 上海嘉定区某医院 2018-2022 年环境中金黄色葡萄球菌的分布及其耐药性 [J]. *中国感染控制杂志*, 2023, 22(7): 758-764.
- Chen PC, Huang Q, Mao YH, et al. Distribution and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus from the environment of a hospital in Jiading District, Shanghai, 2018-2022 [J]. *Chinese Journal of Infection Control*, 2023, 22(7): 758-764.
- [ 15 ] 李雅倩, 胡同平, 张文兰, 等. 2016-2018 年内蒙古包头地区金黄色葡萄球菌耐药监测结果分析 [J]. *现代预防医学*, 2020, 47(13): 2461-2465.
- Li YQ, Hu TP, Zhang WL, et al. Analysis of staphylococcus aureus antimicrobial resistance monitoring results in Baotou, Inner Mongolia, 2016-2018 [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2020, 47(13): 2461-2465.
- [ 16 ] 徐娅雯, 黄瑶, 王艳, 等. 扬州地区克林霉素耐药金黄色葡萄球菌遗传进化特征 [J]. *公共卫生与预防医学*, 2023, 34(3): 56-60.
- Xu YW, Huang Y, Wang Y, et al. Genetic and evolutionary characteristics of clindamycin-resistant Staphylococcus aureus in Yangzhou [J]. *Journal of Public Health and Preventive Medicine*, 2023, 34(3): 56-60.
- [ 17 ] Laumay F, Benchetrit H, Corvaglia AR, et al. The staphylococcus aureus CC398 lineage: an evolution driven by the acquisition of prophages and other Mobile genetic elements [J]. *Genes*, 2021, 12(11): 1752.
- [ 18 ] Balakirski G, Hischebeth G, Altengarten J, et al. Recurrent mucocutaneous infections caused by PVL-positive Staphylococcus aureus strains: a challenge in clinical practice [J]. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 2020, 18(4): 315-322.

收稿日期: 2023-12-18