

本文引文格式:陈虹宇,祖莹,罗庆礼,等.95例住院患儿耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分离株的分子流行病学特征及药物敏感性[J].右江民族医学院学报,2021,43(4):497-502.

【论著与临床报道】

## 95例住院患儿耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分离株的分子流行病学特征及药物敏感性

陈虹宇<sup>1</sup>,祖莹<sup>2</sup>,罗庆礼<sup>3</sup>,罗小娟<sup>1</sup>,王丹<sup>4</sup>,李德发<sup>5</sup>

1. 广东省深圳市儿童医院检验科,广东 深圳 518026;
2. 广东省深圳市儿童医院伦理委员会办公室,广东 深圳 518026;
3. 安徽病原生物学省级实验室和人兽共患病安徽省重点实验室,安徽 合肥 230032;
4. 广东省深圳市儿童医院党办,广东 深圳 518026;
5. 广东省深圳市儿童医院院办,广东 深圳 518026

**摘要:**目的 研究深圳地区住院患儿耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)分离株的分子分型及对非 $\beta$ 内酰胺类抗菌药物的耐药情况,为临床合理用药提供依据。方法 常规方法分离培养获得金黄色葡萄球菌327株,经鉴定,MRSA 95株;利用分子生物学方法对95株MRSA进行了SCCmec分型、多位点序列分析(MLST)和spa分型,利用仪器法分析其对非 $\beta$ 类酰胺类抗菌药物的耐受情况。结果 95株MRSA共有7种SCCmec基因型,其中SCCmec I型1株,SCCmec II型4株,SCCmec III型17株,SCCmec IV a型65株,SCCmec IV b型2株,SCCmec IV d型4株,SCCmec V型2株。MLST为10种ST型,其中46株为ST59型,占48.42%;另外49株MRSA分别是ST45型13株,占13.68%;ST1型和ST338型各12株,分别占12.63%;ST72型和ST398型各3株,分别占3.16%;ST88型2株,占2.11%;ST25型、ST47型和ST630型各1株,分别占1.05%;还有1株未能分型;eBURSTv3软件分析表明,10种ST型属于6个克隆群,其中CC59约占61.05%(58/95),CC5约占16.84%(16/95),CC45约占14.74%(14/95)。21种spa型,其中t437型51株(53.68%),是最主要的spa型,其次为t114型9株、t116型8株,分别占9.47%和8.42%;ST59-SCCmec IV a-t437共有33株,约占34.74%,是最主要的流行克隆;其次是ST45-SCCmec IV a-t116共有7株,约占7.36%。未发现对环丙沙星、庆大霉素、左氧氟沙星、利奈唑胺、莫西沙星、呋喃妥因、奎奴普汀、替加环素和万古霉素耐药菌株;对克林霉素(82.10%)、红霉素(82.10%)、利福平(15.78%)、四环素(41.05%)和复方磺胺甲噁唑(3.15%)等抗菌药物分别有不同程度的耐药。结论 深圳地区儿童感染MRSA的优势菌株为ST59-SCCmec IV a-t437型;MRSA菌株对 $\beta$ 内酰胺类、林可霉素类、大环内酯类和四环素类呈多重耐药的比率高;未发现对万古霉素、利奈唑胺等耐药菌株。

**关键词:**耐甲氧西林金黄色葡萄球菌;葡萄球菌盒式染色体mec分型;多位点序列分析;葡萄球菌A蛋白分型;抗药物敏感性

中图分类号:R378.1 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2021)04-0497-06  
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.04.011

### Molecular epidemic characteristics and antibiotic susceptibilities of the isolates in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from 95 hospitalized children

Chen Hongyu<sup>1</sup>, Zu Ying<sup>2</sup>, Luo Qingli<sup>3</sup>, Luo Xiaojuan<sup>1</sup>, Wang Dan<sup>4</sup>, Li Defa<sup>5</sup>

1. Department of Laboratory, Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen 518026, Guangdong, China;
2. Office of Ethics Committee, Shenzhen 518026, Guangdong, China;
3. Anhui Provincial Laboratory of Pathogen Biology, Anhui Provincial Key Laboratory of Zoonoses, Hefei 230032, Anhui, China;
4. Office of Party Affairs Committee, Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen 518026, Guangdong, China;
5. Hospital Administration Office, Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen 518026, Guangdong, China

第一作者简介:陈虹宇(1978-),女,本科,主管技师,研究方向:微生物检验及耐药机制研究,E-mail:yama\_chen@163.com  
通讯作者简介:李德发(1973-),男,硕士,主任技师,研究方向:病原生物学研究,E-mail:df\_lszetyy@126.com

**Abstract: Objective** To explore the molecular types and the resistance of MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) to non- $\beta$ -lactam antibiotics. These MRSA were isolated from hospitalized children in Shenzhen area. And this study aims to provide a basis for rational use of antibiotics in clinical practice. **Methods** 327 SA (*Staphylococcus aureus*) isolates were collected after being cultured by routine method. Among them, 95 isolates were identified as MRSA. By molecular biological methods, these MRSA were treated with staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing, multi-locus sequence analysis (MLST) and staphylococcus protein A (spa) typing. And their tolerance to non- $\beta$  lactam antibiotics was analyzed by the instrumental method. **Results** There were 7 kinds of SCCmec genotypes in 95 strains of MRSA, including 1 strain of SCCmec I, 4 strains of SCCmec II, 17 strains of SCCmec III, 65 strains of SCCmec IV a, 2 strains of SCCmec IV b, 4 strains of SCCmec IV d and 2 strains of SCCmec V. The results of MLST showed that there were 10 ST types, among which 46 strains were ST59, accounting for 48.42%. Among the other 49 strains of MRSA, there were 13 strains of ST45 (13.68%), 12 strains of ST1 and 12 strains of ST338 (each accounting for 12.63%), 3 strains of ST72 and 3 strains of ST398 (each 3.16%), 2 strains of ST88 (2.11%), 1 strain of ST25, 1 strain of ST47 and 1 strain of ST630 (each 1.05%). And there was one strain that could not be typed. The results of eBURSTv3 analysis showed that 10 ST types belonged to six clonal complexes, among which CC59 accounted for 61.05% (58/95), CC5 accounted for 16.84% (16/95), and CC45 accounted for 14.74% (14/95). Among 21 spa types, there were 51 strains of t437 (53.68%) which were the main spa type, followed by 9 strains of t114 and 8 strains of t116, accounting for 9.47% and 8.42% respectively. There were 33 strains of ST59-SCCmec IV a-t437, accounting for 34.74%, which was the most prevalent clone, followed by 7 strains of ST45-SCCmec IV a-t116, accounting for about 7.36%. No strains were found to be resistant to ciprofloxacin, gentamicin, levofloxacin, linezolid, moxifloxacin, furantoin, quinuptin, tegacycline and vancomycin. They have different degrees of resistance to clindamycin (82.10%), erythromycin (82.10%), rifampicin (15.78%), tetracycline (41.05%) and compound sulfamethoxazole (3.15%), respectively. **Conclusion** The dominant strain of MRSA infection in children of Shenzhen area is ST59-SCCmec IV a-t437. MRSA strains have high multiple drug resistance to  $\beta$ -lactams, lincomycin, macrolides and tetracycline. No strains are found resistant to vancomycin and linezolid.

**Key words:** methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; staphylococcal cassette chromosome mec typing; multilocus sequence analysis; staphylococcus protein A typing; antibiotic susceptibility

金黄色葡萄球菌 (*staphylococcus aureus*, SA) 广泛分布于自然界,也常定植在人和动物的皮肤及与外界相通腔道中。研究表明<sup>[1]</sup>,有 25%~30% 的健康人群鼻前庭有 SA 定植。细菌在与宿主共进化的数百万年间,不断地修饰和调整对宿主的黏附、侵袭和致病机制,以适应宿主的防御系统。青霉素应用于临床以前,SA 感染死亡率为 80%。20 世纪 40 年代,青霉素应用临床不久就发现了耐药的菌株,其后 20 年左右,80% 以上的 SA 菌株对青霉素耐药。随着耐酶青霉素-甲氧西林上市,Jevons 于 1960 年 10 月又分离到耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *staphylococcus aureus*, MRSA) 菌株。MRSA 可以引起多种感染性疾病,包括皮肤软组织感染、菌血症、坏死性肺炎、感染性心内膜炎和毒素休克综合征等。MRSA 的出现和传播已经成为全球关注的焦点,特别是 2002 年美国报道了耐万古霉素的 SA (vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA) 之后。过去的几十年里,人类与细菌之间的“斗争”从未停止过。任何控制

MRSA 流行和传播的策略,都要建立在对 MRSA 克隆性质和数量的正确认识上。近年来,分子生物学技术突飞猛进,对 MRSA 基因水平的研究更加深入细致,MRSA 的流行状况及其起源进化得到初步阐明。本研究就是利用分子生物学手段对 95 例住院患儿的 MRSA 分离株进行分子分型和序列分析,明确本地区 MRSA 的优势菌株,并根据药物敏感性实验分析 MRSA 菌株的耐药信息,为临床防控和治疗提供理论依据。

## 1 材料与方 法

1.1 菌株来源 收集临床科室送检的各类标本,经常规细菌培养和鉴定分离出 327 株金黄色葡萄球菌,其中 MRSA 95 株(痰标本 64 例、脓液及伤口分泌物 24 例、血培养标本 3 例、关节腔穿刺液 2 例、脑脊液 1 例、尿液标本 1 例)。

1.2 主要试剂和仪器 分离培养用的血平板为郑州安图生物工程股份有限公司产品,VITEK 2 COMPACT 全自动细菌培养鉴定仪及其配套的 GP 鉴定

卡、GP-67 药敏卡为法国生物梅里埃公司产品,鉴定质控菌株铅黄肠球菌 ATCC 700327 和药敏质控菌株金黄色葡萄球菌 ATCC 29213、粪肠球菌 ATCC 29212 由卫生部临检中心提供。细菌基因组 DNA 抽提试剂盒、PCR 预混液及 DNA Marker 购自生工生物工程(上海)有限公司,琼脂糖购自西班牙 GENE 公司,PCR 扩增引物由生工生物工程(上海)有限公司合成。温度梯度基因扩增仪为德国 MIONETRA 公司产品,电泳仪和电泳槽为美国 BIO-RAD 公司产品,凝胶成像系统为江苏省捷达科技发展有限公司产品。

### 1.3 方法

1.3.1 细菌 DNA 提取 取 1 ml 菌液,用细菌基因组 DNA 抽提试剂盒,按照说明书提取样品 DNA,于 -20℃ 保存作为所有 PCR 模板备用。

1.3.2 *mecA* 基因扩增 扩增引物:上游 5'-AGAG-TAGCACTCGAATTAGGCAGT-3';下游 5'-AGT-TCTGCAGTACCGGATTTGC-3';产物大小:404 bp。反应体系:细菌基因组 DNA 模板 2.0 μl,上下游引物各 1.0 μl,PCR Premix Taq 25 μl,总体积为 50 μl。扩增条件:94℃ 预变性 5 min,接着 94℃ 变性 40 s,58℃ 退火 40 s,72℃ 延伸 60 s,共 35 个循环,最后 72℃ 延伸 10 min。

1.3.3 SCCmec 分型 SCCmec 分型扩增的引物和反应条件参照文献<sup>[2]</sup>;PCR 总反应体积为 25 μl。反应条件:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 45 s,65℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 90 s,共 10 个循环;再 94℃ 变性 45 s,55℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 90 s,共 25 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min。见表 1。

表 1 SCCmec 分型引物序列

基因名称	引物序列(5'→3')	产物大小
SCCmec I	F GCTTTAAAGAGTGTGCTTACAGG	613bp
	R GTTCTCATAGTATGACGTCC	
SCCmec II	F CGTTGAAGATGATGAAGCG	398bp
	R CGAAATCAATGGTAATGGACC	
SCCmec III	F CGATATTGTGTACGATGCG	280bp
	R CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG	
SCCmec IV a	F GCCTTATTCGAAGAAACCG	776bp
	R CTACTIONTCTGAAAAGCGTCG	
SCCmec IV b	F TCTGGAATTACTCAGCTGC	493bp
	R AAACAATATTGCTCTCCCTC	
SCCmec IV c	F ACAATATTGTATTATCGGAGAGC	200bp
	R TTGGTATGAGGTATTGCTGG	
SCCmec IV d	F CTCAAAAATACGGACCCCAATACA	881bp
	R TGCTCCAGTAATTGCTAAAAG	
SCCmec V	F GAACATTGTTACTTAATGAGCG	325bp
	R TGAAAGTTGTACCCCTTGACACC	

1.3.4 MLST 分型 使用 PCR 检测 7 个管家基因: *arcC*、*aroE*、*glpF*、*gmk*、*pta*、*tpi* 和 *yqil*。引物设计(见

表 2)参照参考文献<sup>[3]</sup>。扩增条件:94℃ 预变性 5 min,然后 94℃ 变性 50 s,退火温度 50℃ 时间 30 s,72℃ 延伸 50 s,共 30 个循环,最后 72℃ 延伸 10 min。扩增产物由生工生物工程(上海)有限公司进行测序。测序结果在 MLST 数据网站(<http://saureus.mlst.net>)上比对等位基因的序列类型(sequence type, ST)从而判定相应菌株的 ST 类型。应用 eBURSTv3 软件进行菌株亲缘关系分析。

表 2 多位点序列分型引物序列

基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
<i>arcC</i>	F TTGATTCACCAGCGGTATTGTC	456
	R AGGTATCTGCTTCAATCAGCG	
<i>aroE</i>	F ATCGGAAATCCTATTTACATTC	456
	R GGTGTGTATTAATAACGATATC	
<i>glpF</i>	F CTAGGAACCTGCAATCTTAATCC	465
	R TGGTAAAATCGCATGTCCAATTC	
<i>gmk</i>	F ATCGTTTTATCGGGACCATC	429
	R TCATTAACCTACAACGTAATCGTA	
<i>pta</i>	F GTTAAAACTCGTATTACCTGAAGG	474
	R GACCCCTTTTGTGAAAAGCTTAA	
<i>tpi</i>	F TCGTTCATTCTGAACGTCGTGAA	402
	R TTTGCACCTTCTAACAATTGTAC	
<i>yqil</i>	F CAGCATACAGGACCACTATTGGC	516
	R CGTTGAGGAATCGATACTGGAAC	

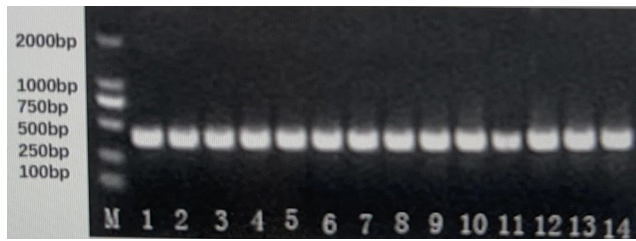
1.3.5 *spa* 分型 利用标准的 *spa* 基因分型方法<sup>[4]</sup>,参照文献<sup>[5]</sup>设计一对引物,上游引物:5'-TAAA-GACGATCCTTCGGTGAGC-3';下游引物 5'-CAG-CAGTAGTGCCGTTTGCTT-3'。PCR 总反应体系为 50 μl:包括 Taq PCR Master MIX 25 μl,DNA 模板 1 μl,10 μM 引物各 2 μl,ddH<sub>2</sub>O 20 μl;PCR 扩增条件:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 45 s,53℃ 退火 60 s,72℃ 延伸 90 s,共 30 个循环;72℃ 延伸 10 min。

1.3.6 药物敏感性分析 样本接种、分离培养严格按《全国临床检验操作规程》的标准流程<sup>[6]</sup>,VITEK 2 COMPACT 全自动细菌培养鉴定仪及其配套的 GP 鉴定卡、GP-67 药敏卡按说明书进行菌种鉴定及药敏试验,药敏试验结果判读参照 CLSI 标准<sup>[7]</sup>。

## 2 结果

2.1 MRSA 菌株的确认 细菌鉴定仪筛选出的 95 株 MRSA 菌株,经 PCR 检测 *mecA* 基因确认。95 株细菌均出现大小为 404bp 的 PCR 扩增产物,说明 *mecA* 基因全部阳性。PCR 扩增结果,见图 1。

2.2 SCCmec 分型结果 PCR 扩增结果(见图 2)显示,95 株 MRSA 共有 5 种 SCCmec 基因型和 3 种亚型,其中 SCCmec I 型 1 株,SCCmec II 型 4 株,SCCmec III 型 17 株,SCCmec IV a 型 65 株,SCCmec IV b 型 2 株,SCCmec IV d 型 4 株,SCCmec V 型 2 株。



注: M: DNA Marker; 1~14 泳道: 待证实金葡萄菌样品。

图 1 mecA 基因 PCR 扩增结果图



注: M: DNA Marker; 1~7 分别是: SCCmec I、SCCmec II、SCCmec III、SCCmec IV a、SCCmec IV b、SCCmec IV d 和 SCCmec V。

图 2 SCCmec 分型 PCR 扩增结果

2.3 MLST 分型 7 对管家基因扩增结果显示, 95 株 MRSA 由 10 种 ST 型组成, 其中 46 株为 ST59 型, 占 48.42%; 另外 49 株 MRSA 分别是 ST45 型 13 株, 占 13.68%; ST1 型和 ST338 型各 12 株, 分别占 12.63%; ST72 型和 ST398 型各 3 株, 分别占 3.16%; ST88 型 2 株, 占 2.11%; ST25 型、ST47 型和 ST630 型各 1 株, 分别占 1.05%; 还有 1 株未能分型。eBURSTv3 软件分析表明, 10 种 ST 型属于 6 个克隆群(CC59、CC5、CC45、CC398、CC88 和 CC25), 其中 CC59(ST59、ST338) 占 61.05% (58/95), CC5(ST1、ST72、ST630) 占 16.84% (16/95), CC45 (ST45、ST47) 占 14.74% (14/95)。

2.4 spa 分型 95 株 MRSA 共鉴定出 19 种 spa 类型, 另有 4 株待确认, 其中 t437 型 51 株、t114 型 9 株、t116 型 8 株, 分别占 53.68%、9.47% 和 8.42%, 是主要的 spa 型; 其他型别占 28.42%, t441 型 3 株, t034、t664、t5935 各 2 株, t4549、t1784、t1764、t189、t011、t3736、t5132、t127、t324、t3527、t078、t6378、t693 和 t026 各 1 株。综合 SCCmec 分型、MLST 分型和 spa 分型三类分型结果, 其中 ST59-SCCmec IV a-t437 共有 33 株, 约占 34.74%, 是最主要的流行克隆; 其次是 ST45-SCCmec IV a-t116 共有 7 株, 约占 7.37%。

2.5 药物敏感试验结果 选用 14 种非  $\beta$  内酰胺类抗菌药物了解 95 株不同分子特征 MRSA 的耐药情况。

药敏结果显示, 所有菌株都对环丙沙星、庆大霉素、左氧氟沙星、利奈唑胺、莫西沙星、呋喃妥因、奎奴普汀、替加环素和万古霉素敏感, 对克林霉素 (82.10%)、红霉素 (82.10%)、利福平 (15.78%)、四环素 (41.05%) 和复方磺胺甲噁唑 (3.15%) 等抗菌药物分别有不同程度的耐药, 多重耐药谱见表 3。其中四种主要克隆 MRSA 的耐药情况是: ST59 对克林霉素、红霉素和四环素的耐药率分别为 89.13%、89.13% 和 60.87%; ST338 对克林霉素、红霉素和四环素的耐药率分别为 91.67%、91.67% 和 41.67%; ST1 对克林霉素、红霉素和四环素的耐药率分别为 75%、75% 和 33.33%; ST45 对克林霉素、红霉素和利福平的耐药率分别为 53.85%、53.85% 和 100%。

表 3 不同分子特征 MRSA 菌株对 14 种非  $\beta$  内酰胺类抗菌药物的耐药情况

CC	MLST(株数)	多重耐药谱(株数)
CC59	ST59(46)	CLI/ERY(17)、CLI/ERY/TET(24)
	ST338(12)	CLI/ERY(6)、CLI/ERY/TET(5)
CC5	ST1(12)	CLI/ERY(7)、CLI/ERY/TET(3)
	ST72(3)	CLI/ERY(3)
	ST630(1)	CLI/ERY(1)
CC45	ST45(13)	CLI/ERY/RIF(7)
	ST47(1)	CLI/ERY/RIF(1)
CC398	ST398(3)	CLI/ERY(2)、CLI/ERY/TET/SXT(1)
CC88	ST88(2)	SXT(1)
CC25	ST25(1)	CLI/ERY/TET/RIF/SXT(1)
未分型	未分型(1)	CLI/ERY(1)

注: CLI(克林霉素)、ERY(红霉素)、TET(四环素)、RIF(利福平)、SXT(复方磺胺甲噁唑)。

### 3 讨论

由于免疫力低, 儿童是 MRSA 的主要易感人群, 而且在感染类型和临床治疗等方面与成人都有较大差异。另外, 不同地区不同医疗机构由于标本类型、收治病例以及用药习惯不同, MRSA 的检出率和药物敏感性也有很大差别<sup>[8-9]</sup>。因此, 监测和研究本地区儿童感染 MRSA 的分子流行病学特征以及药物耐药情况, 对指导儿科临床合理用药、制定 MRSA 流行的防控措施、减少或延缓耐药株的产生有极其重要的临床意义。

MRSA 主要是通过获得编码低亲和力青霉素结合蛋白 2a(PBP2a) 的 mecA 基因表现对甲氧西林耐药。mecA 基因存在于金黄色葡萄球菌染色体盒(SCCmec)上, 主要由 mec 基因的 ccr 基因复合体组成。依据 mec 操纵子类型和 ccr 型别以及 J 区的结构差异性, 分为 I~XI 共 11 种类型, 人源性 MRSA 中常见的 SCCmec 类型有 I~V 型 5 种主要基因型和 IV a、IV b 和 IV c 3 种亚型。根据来源, MRSA 分为医院获得型 MRSA(HA-MRSA) 和社区获得型(CA-MRSA)。两

者在菌株致病性、流行特征及耐药性方面差异明显,正确区分这两种类型对临床治疗和疾病预后具有重要指导意义。一般对 HA-MRSA 和 CA-MRSA 的区分主要采用美国 CDC 的标准<sup>[10]</sup>,然而在临床实践中,很多菌株会因病历资料不全而难以依据这一标准区分。通过对 MRSA 进行 SCCmec 分型发现,全球范围内 HA-MRSA 菌株主要为 SCCmec I、II、III 型,而 CA-MRSA 主要为 SCCmec IV、V 型<sup>[11]</sup>。这种特定的 SCCmec 型别特征为临床 HA-MRSA 和 CA-MRSA 的区分提供了重要的分子水平证据,相对客观。因此,有学者<sup>[12]</sup>提议对 HA-MRSA 和 CA-MRSA 的区分采用临床资料加 SCCmec 分型相结合的方法。本研究的 95 株 MRSA 中 HA-MRSA 和 CA-MRSA 分别约占 23.15% 和 76.84%;其中 SCCmec IV a 型 65 株,占 68.42%,是主要的 SCCmec 基因型。

多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)是 1998 年 Maiden 等首次应用于脑膜炎奈瑟菌分型的一种基于核酸序列的新型分子分型方法,与其他方法相比,具有分辨率高,数据可靠,重复性好,便于不同实验数据比较,有利于全球范围的分子流行病学数据标准化的优势。MLST 通过分析选定的 7 个管家基因序列,将全球金葡菌分为十几个不同的克隆集群(Clone Cluster, CC),每个 CC 都有其独特的流行区域,能较好地分析菌株间亲缘关系<sup>[13]</sup>。本研究结果显示,深圳地区儿童 MRSA 分离株有 10 种 ST 型,分别包含在 6 大克隆群(CC59、CC5、CC5、CC398、CC88 和 CC25)中。其中 ST59、ST45、ST1 和 ST338 共 83 株,占 87.36%,分别属于 CC59(ST59 和 ST338)、CC5(ST1)和 CC45(ST45)3 个主要克隆群。ST59 型共检出 46 株,占 48.42%,是优势序列型,也是我国 CA-MRSA 最见的基因型<sup>[14]</sup>。研究表明<sup>[15]</sup>,ST59 较其他 ST 型有更强致病性,从而导致这一克隆在我国儿童中广泛流行。金黄色葡萄球菌蛋白 A(Staphylococcus aureus Protein A, spa)基因分型方法是基于单个基因位点的扩增测序方法,远远少于 MLST 分型方法的 7 个基因位点,所以具有快速简单、重复性好、分型结果数字化的优点,而且成本较 MLST 分型低很多,便于不同实验室间的比较,spa 分型方法目前已经被广泛应用于许多实验室。本研究的 95 株 MRSA 临床分离株有 19 种 spa 型,其中 t437 型 51 株,占 53.68%,是最主要的 spa 基因型。与国内学者李敏豪<sup>[16]</sup>、李文婷等<sup>[17]</sup>报道广州、北京等地区儿童 MRSA 感染的临床分离株分子类型 ST59-SCCmec IV-t437 基本一致,只是比例不尽相同。Wang Xing 等<sup>[18]</sup>分析了 27 例血流感染社区获得性 MRSA 临床分离株,结果显示,ST59-IV/V-t189 是最主要的克隆。

2012 年,刘颖超等<sup>[19]</sup>报道了 2005~2009 年中国 7 个城市儿童 MRSA 感染分离株的流行克隆为 ST59-MRSA-IV a(t437)和 ST59-MRSA-III(t037),可能分别属于社区获得性 MRSA 与医院获得性 MRSA。Kang S 等<sup>[20]</sup>报道,韩国儿童鼻腔定植的 MRSA 和临床分离株克隆类型都是 ST72-SCCmec-IV,这是在韩国流行的 CA-MRSA 流行株<sup>[21]</sup>。目前,全世界报道的 CA-MRSA 分子型别超过 20 种,其中 ST59-IV 型和 ST59-V 型是中国(包括台湾地区)和其他几个亚洲国家流行的两个主要分子型别<sup>[22]</sup>。

MRSA 的耐药情况越来越严重,本研究的 95 株 MRSA 临床分离株中对  $\beta$  内酰胺类抗菌药物 100% 耐药,呈现多重耐药的有 80 株,高达 84.21%;其中对  $\beta$  内酰胺类抗菌药物、林可霉素类和大环内酯类同时耐药高达 83.15%,同时对  $\beta$  内酰胺类、林可霉素类、大环内酯类和四环素类呈多重耐药的为 32.02%,这当中包含了很多儿科常用抗生素,如阿莫西林、氨苄西林、罗红霉素等;还对利福平和复方磺胺甲噁唑等抗菌药物分别有不同程度的耐药,且不同分子类型对抗菌药物的耐受情况不同,未发现对万古霉素、利奈唑胺等耐药菌株。

目前,儿科临床分离到的多重耐药菌中 MRSA 依然是主要病原菌,给临床治疗带来的严重困难,如果监控不当,可能会引起院内感染或社区暴发。无论抗生素的使用是否合理,都会对细菌产生生存压力,但掌握本地区临床分离株的耐药情况,合理使用抗生素,对耐药菌株比例的减少和出现时间的延长大有帮助。因此,加强对不同地区 MRSA 分子特征的监测以及分析临床分离株的抗菌药物耐受情况对指导临床用药十分必要。

#### 参考文献:

- [1] 李昌崇,林立. 儿童下呼吸道感染常见细菌病原分布及耐药现状[J]. 临床儿科杂志,2010,28(2):106-111.
- [2] Zhang KY, McClure JA, Elsayed S, et al. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant Staphylococcus aureus[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(10):5026-5033.
- [3] Enright MC, Day NP, Davies CE, et al. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of Staphylococcus aureus[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(3):1008-1015.
- [4] 肖盟. 金黄色葡萄球菌 A 蛋白基因 (spa) 分型[EB/OL]. [2012-05-23]. <http://www.pumuf.com/index.php/News/detail/id/29>.
- [5] Strommenger B, Kettlitz C, Weniger T, et al. Assignment

- of *Staphylococcus* isolates to groups by spa typing, Sam I macrorestriction analysis, and multilocus sequence typing[J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 44(7): 2533-2540.
- [6] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程(第 4 版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [7] CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100[S]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
- [8] 李德发, 祖莹, 陈虹宇, 等. 深圳地区儿童耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的临床分布与耐药性特点分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(15): 3563-3566.
- [9] 胡龙华, 熊建球, 余成林, 等. 金黄色葡萄球菌成人与儿童感染株体外抗菌活性的比较[J]. *中国当代儿科杂志*, 2009, 11(12): 961-963.
- [10] Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States[J]. *JAMA*, 2007, 298(15): 1763-1771.
- [11] 王艳, 周丽萍, 巢国祥, 等. 金黄色葡萄球菌 MRSA 分型及分子溯源研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2014, 24(20): 2899-2904, 2907.
- [12] Hu QW, Cheng H, Yuan WC, et al. Pantone-Valentine leukocidin (PVL)-positive healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates are associated with skin and soft tissue infections and colonized mainly by infective PVL-encoding bacteriophages[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(1): 67-72.
- [13] Lindsay JA. Genomic variation and evolution of *Staphylococcus aureus*[J]. *Int J Med Microbiol*. 2010, 300(2-3): 98-103.
- [14] 潘宏升, 田素飞, 年华, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子流行病学研究[J]. *微生物学杂志*, 2011, 31(1): 34-38.
- [15] 董燕红, 李士朋, 乔艳红, 等. 儿童耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染分离株毒力特征研究[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2015, 30(10): 733-737.
- [16] 李敏豪, 董超, 王成兴, 等. 广州地区儿童社区获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分子特征研究[J]. *广州医药*, 2015, 46(3): 25-28.
- [17] 李文婷, 耿文静, 姚开虎, 等. 新生儿重症监护病房新生儿鼻部金黄色葡萄球菌定植和菌株的分子特征[J]. *中国循证儿科杂志*, 2016, 11(5): 365-368.
- [18] Wang X, Liu Q, Zhang H, et al. Molecular characteristics of community-associated *Staphylococcus aureus* isolates from pediatric patients with bloodstream infections between 2012 and 2017 in Shanghai, China[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1211.
- [19] 刘颖超, 耿文静, 吴德静, 等. 中国七城市儿童耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染分离株分子学特征的研究[J]. *中华儿科杂志*, 2012, 50(1): 38-44.
- [20] Kang S, Lee J, Kim M. The association between *Staphylococcus aureus* nasal colonization and symptomatic infection in children in Korea where ST72 is the major genotype: A prospective observational study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(34): e7838.
- [21] 周义正, 李艳. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子分型及流行病学研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(12): 1669-1671, 1738.
- [22] Chuang YY, Huang YC. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Asia[J]. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13(8): 698-708.
- 收稿日期: 2021-04-21; 修回日期: 2021-06-10
- 
- (上接第 496 页)
- [13] Bujang MA, Adnan TH, Hashim NH, et al. Forecasting the Incidence and Prevalence of Patients with End-Stage Renal Disease in Malaysia up to the Year 2040[J]. *Int J Nephrol*, 2017, 2017: 2735296.
- [14] Firoz MN, Shafipour V, Jafari H, et al. Sleep Quality and Depression and Their Association with Other Factors in Hemodialysis Patients[J]. *Glob J Health Sci*, 2016, 8(8): 53485.
- [15] 王娜, 傅希玥, 张帆, 等. 甲状腺激素及脑源性神经营养因子前体水平与抑郁症的关系研究[J]. *中国全科医学*, 2020, 23(9): 1100-1104.
- [16] Tayde PS, Bhagwat NM, Sharma P, et al. Hypothyroidism and Depression: Are Cytokines the Link? [J] *Indian J Endocrinol Metab*, 2017, 21(6): 886-892.
- [17] 李蓉. 抑郁症对维持性血液透析患者炎症状态、氧化应激反应及神经营养因子水平的影响[J]. *中国健康心理学杂志*, 2018, 26(10): 1481-1484.
- [18] Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis[J]. *Psychosom Med*, 2009, 71(2): 171-186.
- [19] 张春华, 申坤, 王世相. 维持性血液透析患者抑郁与微炎症、血锌和营养不良的相关性研究[J]. *中华全科医师杂志*, 2012, 11(5): 354-357.
- [20] 张桦, 贾宁, 郭军利, 等. 慢性肾脏病患者血清脂肪细胞因子水平及其作用的研究[J]. *中国实用医药*, 2009, 4(30): 3-5.
- 收稿日期: 2021-03-22; 修回日期: 2021-05-17