

食品动物源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 MLS_B 类 抗生素耐药性调查

李淑敏¹, 方亮星¹, 李亮², 赵孟¹, 陆肖¹, 古伟琪¹, 廖晓萍¹, 孙坚¹, 熊雁琼², 刘雅红¹

(¹华南农业大学兽医学院, 中国广州 510642; ²美国加州大学洛杉矶分校医学院海湾医学中心, 美国托兰斯 CA 90502)

摘要:【目的】调查中国 6 个省食品动物源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, LA-MRSA) 对大环内酯类-林可酰胺类-链阳菌素 B 类 (macrolides, lincosamides and type B streptogramin, MLS_B) 抗生素的耐药情况及 MLS_B 耐药基因的流行情况。【方法】从广东、河南、河北、福建、山东以及湖南等 6 省采集的食品动物源 (猪、鸡以及鸭) 样品约 6 500 份, 分离金黄色葡萄球菌, 通过苯唑西林药物敏感性测定和 *mecA*, *mecC* 基因检测鉴定 MRSA 菌株。采用二倍琼脂稀释法和微量肉汤稀释法测定 LA-MRSA 菌株对 MLS_B 以及其他常见的 10 种抗菌药物的敏感性, 采用 PCR 方法检测 MLS_B 耐药基因 (*ermA-C* 和 *ereA-B*) 以及其他 16 种常见耐药基因。【结果】6 500 份动物源样品中分离出 480 株金黄色葡萄球菌, 其中 101 株为 LA-MRSA, LA-MRSA 分离率为 1.54% (101/6500), 金黄色葡萄球菌中 LA-MRSA 检出率达 21.04% (101/480)。LA-MRSA 菌株对 MLS_B 类抗生素呈现高度耐药的情况, 耐药率高达 99.00% 以上, 对其他常见的抗菌药物氟苯尼考、四环素、头孢噻肟以及庆大霉素等抗菌药物也均呈现高度耐药, 耐药率为 94.00%—99.00%。MLS_B 耐药基因检测结果显示, *ermC* 的检出率最高, 为 100.00%; 其次是 *ereB*, 为 79.20%, 接着是 *ermA* 和 *ereA*, 检出率分别为 45.54% 和 40.59%, 而 *ermB* 的检出率最低, 为 11.88%。其他耐药基因的检测结果显示 *fexA*, *tetL*, *aadA1*, *aph(4')-Ia* 的检出率较高, 分别是 92.10%、97.02%、97.29% 和 83.17%; 其次是 *tet(M)*, 检出率为 71.29%; 而 *aac(6')-Ib*, *aac(3')-Ic*, *aph(3')-II*, *aph(3')-IV*, *optRA*, *tet(A)*, *tet(C)* 的检出率相对较低, 分别是 49.50%、46.53%、39.60%、37.62%、33.67%、29.70% 和 20.79%; 接着检出率更低的是 *cfr*, *tet(K)*, *lnuA* 以及 *lnuF*, 分别为 17.82%、14.85%、5.94% 和 3.96%。进一步分析 LA-MRSA 菌株中 MLS_B 耐药基因检出个数与对受试抗菌药物的耐药数目之间的关系, 发现随着动物源 MRSA 菌株对受试抗菌药物的耐药数目增加时, 菌株中 MLS_B 耐药基因检出个数也在增加。【结论】动物源 MRSA 菌株对 MLS_B 高度耐药, 其与菌株中 *ermC* 基因的高检出率一致, 并且 LA-MRSA 菌株多重耐药情况严重, 这与 MLS_B 耐药基因检出个数以及其他耐药基因的高检出率密切相关。因此, 养殖场中 MLS_B 类药物使用应规范使用, 以减少动物源 MRSA 菌株的多重耐药性。

关键词: 食品动物源; LA-MRSA; MLS_B; *erm*; 多重耐药

Investigation on the Antibiotic Resistance of *Staphylococcus* Methicillin-Resistant MLS_B from Food Animals in Six Provinces of China

LI ShuMin¹, FANG LiangXing¹, LI Liang², ZHAO Meng¹, LU Xiao¹, GU WeiQi¹, LIAO XiaoPing¹,
SUN Jian¹, XIONG YanQiong², LIU YaHong¹

(¹College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; ²LABioMed at Harbor-UCLA
Medical Center, Torrance, CA 90502, USA)

收稿日期: 2018-05-17; 接受日期: 2019-03-06

基金项目: 国家重点研发计划-畜禽重要病原耐药性检测与监控技术研究 (2016YFD0501300)、广东省科技研究项目与国际合作项目 (2016A050502046)

联系方式: 李淑敏, Tel: 13424456875; E-mail: 2297454328@qq.com. 通信作者刘雅红, Tel: 86-20-85280006; E-mail: gale@scau.edu.cn

Abstract: 【Objective】 The aim of this study was to investigate the prevalence of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides and streptogramins (MLS_B) among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from food animals in China. **【Method】** *Staphylococcus aureus* were isolated from about 6 500 samples of pig, chicken and duck origins among six different provinces, including Guangdong, Henan, Hebei, Fujian and so on, in China. LA-MRSA was confirmed from *staphylococcus aureus* through detecting the susceptibility of oxacillin and the presence of *mecA* and *mecC* genes. Susceptibility test of LA-MRSA resistant to MLS_B and other common antibiotics were determined by agar dilution method and microdilution broth method. And the MLS_B resistance genes (*ermA-C* and *ereA-B*) and other common resistant genes were detected by PCR. **【Result】** Four hundred and eighty *Staphylococcus aureus* isolates and 101 LA-MRSA isolates were found among about 6 500 samples, and the isolation rate of *Staphylococcus aureus* and the detection rate of LA-MRSA among *Staphylococcus aureus* isolates were 1.54% (101/6500) and 21.04% (101/480), respectively. Susceptibility test showed high resistance rate of LA-MRSA to MLS_B was found with over 99.00% among LA-MRSA isolates. High resistance rate to other common antibiotics was also found among LA-MRSA, including florfenicol, tetracycline, cefotaxime and gentamycin with the resistance rates of 99.01%, 96.39%, 96.39%, 96.39% and 94.05%, respectively. MLS_B resistance genes detection showed that *ermC* was found in all LA-MRSA isolates, followed by *ereB* (79.20%), *ermA* (45.54%) and *ereA* (40.59%), while, *ermB* was present with a low detection rate (11.88%). Other drug-resistant genes test results showed that *fexA*, *tetL*, *aadA1*, *aph (4') - Ia* detection rate was higher, which was 92.10%, 97.02%, 97.29% and 83.17%, respectively; secondly, *tet (M)*, the detection rate was 71.29%; the detection rate of *aac (6') - Ib*, *aac (3') - Ic*, *aph (3') -II*, *aph (3') -IV*, *optrA*, *tet (A)* and *tet (C)* was relatively low, which was 49.50%, 46.53%, 39.60%, 37.62%, 33.67%, 29.70% and 20.79%, respectively; the detection rate of *cfi*; *tet (K)*, *lnuA* and *lnuF* was the lowest, which was 17.82%, 14.85%, 5.94% and 3.96%, respectively. The relationship of the number of MLS_B resistance genes and the number of resistance to antibiotics was further analyzed, which indicated the increased number of resistance to antibiotics was corresponding with the increased number of MLS_B resistance genes and high detection rate of other resistant genes among the LA-MRSA isolates. **【Conclusion】** In conclusion, in this study, a high resistance to MLS_B was found and it was consistent to the high detection rate of *ermC* gene among LA-MRSA isolates. The multi-drug resistance of LA-MRSA isolates was serious and this was closely related to the number of MLS_B resistance genes. Therefore, it is urgently needed to take action in the rational use of antibiotics, as to reducing the emergence of multi-drug resistance LA-MRSA.

Key words: food animal; LA-MRSA; MLS_B; *erm*; multidrug resistance

0 引言

【研究意义】 抗生素是一种很重要并且被广泛使用的药物,它能够杀灭或是抑制细菌生长,从而避免或克服了许多由于细菌感染疾病的发生;然而随着抗生素的大量使用以及滥用导致各种各样细菌对抗生素产生了严重的耐药性问题,威胁到全球的公共卫生,最终产生的多重耐药细菌成为了病人死亡率增高的一个因素^[1]。比如本文讨论的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *staphylococcus aureus*, MRSA) 菌株,它在人医临床上相比艾滋病、帕金森病或是他杀引起更多人的死亡^[2]。因此,细菌对抗生素的耐药性成为当今世界的研究热点,由于细菌的快速繁殖以及食物链的考虑,科研工作者不仅仅研究医院内分离得到的 MRSA 菌株,还开始研究社区内以及动物源上分离得到的 MRSA 菌株的耐药性。因而,细菌的耐药性机制研究是降低生物死亡率的一个重要研究途径。

【前人研究进展】 金黄色葡萄球菌是人医和兽医临床上重要病原菌,它是导致皮肤和皮肤组织感染、血管感染、肺部、脓毒性关节炎、心内膜炎、骨髓炎等疾

病的感染以及败血症的条件致病菌^[3];随着抗生素-青霉素制剂开始应用于人类疾病治疗,越来越多的抗生素被发现和应用用于抗疾病感染。由于抗生素广泛使用、甚至滥用,开始出现了如甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌 (MRSA)、万古霉素耐药/中介耐药金葡菌 (VRSA/VISA) 等“超级细菌”,这些“超级细菌”在世界各地的不同医院、社区甚至动物养殖场内广泛传播,对公共卫生构成巨大威胁^[4]。1961 年,JEVONS 在英国医院内首次发现 MRSA 菌株^[5],在 1960 年代到 1970 年代期间,欧洲许多国家中也纷纷报道 MRSA 菌株,大部分局限在医院内的菌株爆发,至 80 年代后期,MRSA 菌株已经成为一种世界普遍传播的病原菌^[6]。随着 MRSA 在人医临床的出现越来越普遍,对人类健康的危害也渐渐引起关注。因此人们对 MRSA 的研究也越来越多,不仅针对人医临床,也开始从环境源,动物源等入手^[4]: 上世纪 70 年代,科学家 DEVRIESE 等人首次在牛乳房炎中检测出 MRSA,其被称为与家畜有关的耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌 (livestock-associated MRSA, LA-MRSA)^[7-8]。由于养殖业中抗生素的大量广泛使用,甚至滥用,LA-MRSA

逐渐在世界范围内的许多动物种类中被发现,遍及猪、鸡、牛等动物身上^[8-11],并且呈现多重耐药的情况。大环内酯类-林可胺类-链阳菌素 B 类 (macrolides, lincosamides and type B streptogramin, MLS_B) 药物最开始是应用于葡萄球菌的感染治疗,随着其大量的使用和滥用导致耐药率不断的增高,该现象在人医临床上普遍的存在^[12];在动物源上,MRSA 菌株中的耐药现象也越来越普遍,其耐药程度越来越高^[13-14]。MLS_B 这三类药物在化学结构上是不同的,但是,通过核糖体靶位修饰可导致这三类抗菌药物同时耐药^[15-16]。*erm* 是典型的介导 MRSA 菌株对 MLS_B 耐药的基因,主要是通过编码 rRNA 甲基转移酶进而修饰 23S rRNA 的甲基化来介导耐药^[17-18]。【本研究切入点】目前,以 *erm* 基因介导的 LA-MRSA 的耐药调查是比较少的,并且大都是在意大利、瑞典以及德国等地^[19-21],而 *erm* 在我国食品动物源 MRSA 菌株中的流行率及其与 MLS_B 耐药关系还未见系统和全面的研究报道。【拟解决的关键问题】通过对猪、鸡以及鸭源 MRSA 菌株中的 MLS_B 的耐药性调查以及耐药基因的检测,分析动物源 MRSA 菌株对 MLS_B 的耐药表型及基因型之间的相关性,从而为 MLS_B 抗生素的合理使用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 培养基及试剂 甘露醇氯化钠琼脂培养基、金

黄色葡萄球菌显色培养基、胰蛋白胨大豆肉汤 (tryptical soy broth, TSB)、胰蛋白胨大豆琼脂 (tryptical soy agar, TSA)、脑心浸出液肉汤、脑心浸出液琼脂培养基、水解酪蛋白琼脂 (MH 琼脂)、水解酪蛋白肉汤 (MH 肉汤),均购自广州环凯微生物科技有限公司,CAMH 肉汤购自青岛海博生物技术有限公司。

DNA maker DL2000 (50 ng·μL⁻¹)、dNTP Mixture (2.5 mmol·L⁻¹)、TaKaRa *rTaq* 购自宝生物工程 (大连) 有限公司。红霉素 (erythromycin, ERY)、阿奇霉素 (azithromycin, AZM)、泰乐菌素 (tylosin, TYL)、克林霉素 (Clindamycin, CLDM)、庆大霉素 (Gentamicin, GEN)、头孢噻肟 (cefotaxime, CTX)、氨苄西林 (ampicillin, AMP) 盐酸四环素 (tetracycline, TET)、氟苯尼考 (florfenicol, FFL)、环丙沙星 (ciprofloxacin, CIP)、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶 (sulfamethoxazole, SMZ/trimethoprim, TMP)、利福平 (rifampicin, RIF)、利奈唑胺 (linezolid, LIN)、万古霉素 (vancomycin, VAN) 以及达托霉素 (daptomycin, DAP) 等均购自广州翔博生物科技有限公司。

1.1.2 引物的合成 参考相关文献报道的介导 MLS_B 耐药的主要 5 种耐药基因的 DNA 序列,送往北京六合华大基因科技有限公司进行引物合成,引物序列及 PCR 条件如表 1 所示。

1.2 试验方法

1.2.1 样品的采集 2011—2016 年间从中国广东、

表 1 PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of the detection of MLS_B resistant genes

基因名称 Genes' name	引物序列 (5'→3') Primer sequence	片段长度 Size (bp)	t 退火 (°C)	参考文献 Reference
<i>mecA</i>	F: AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC R: AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC	533	58	[22]
<i>mecC</i>	F: 4GAAAAAAGGCTTAGAACGCCTC R: GAAGATCTTTCCGTTTTCAGC	137	58	[23]
<i>ermA</i>	F: GTTCAAGAACAATCAATACAGAG R: GGATCAGGAAAAGGACATTTTAC	421	52	[24]
<i>ermB</i>	F: CCGTTTACGAAATTGGAACAGGTAAAGGGC R: GAATCGAGAC TTGAGTGTGC	359	55	[24]
<i>ermC</i>	F: GCTAATATTG TTAAATCGT CAATTCC R: GGATCAGGAA AAGGACATTT TAC	572	52	[25]
<i>ereA</i>	F: AACACCCTGAACCCAAGGGACG R: CTTACATCCGGATTCGCTCGA	420	50	[26]
<i>ereB</i>	F: AGAAATGGAGGTTTACTACTTACCA R: CATATAATCATACCAATGGCA	546	50	[26]

河北、福建、山东、江西及河南等 6 个省份的养殖场中采集约 6 500 份样品, 采集动物为猪、鸡和鸭, 采集部位包括动物粪便、鼻拭子、盲肠和肝脏。其中猪是采集活体猪的粪便和鼻拭子, 鸡和鸭是通过解剖死亡的鸡鸭取肝脏和盲肠, 用无菌棉签在相应部位表面蘸取为样品, 再将接触过相应部位的棉签拭子放在提前准备好的 0.90% 的生理盐水中进行稀释保存, 用于分离菌株金黄色葡萄球菌。

1.2.2 菌株的分离与鉴定 菌株分离与鉴定方法如下: 2011—2016 年将从动物源放有采集样品的生理盐水中吸取大约 100 μ L 的液体接种于 3—5 mL 含 6.50% NaCl 的脑心浸出液肉汤 (BHI) 中 37℃ 摇床培养 16—18 h; 再用接种环挑取增菌液在高盐甘露醇固体培养基上划线, 置于 37℃ 恒温培养箱培养 24 h; 接着再从甘露醇培养基上生长良好的金黄色单菌落中挑出一个于金黄色葡萄球菌显色板上划线, 置于 37℃ 恒温培养箱中培养 16—24 h, 观察菌落形态; 金黄色葡萄球菌的菌落形态为粉紫色初步认为是疑似金黄色葡萄球菌; 然后将该疑似金黄色葡萄球菌在细菌生化自动鉴定仪进行鉴定; 接着将确定为金黄色葡萄球菌的菌株进行苯唑西林药物的敏感性测试, 将 MIC 值 $> 4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的菌株初步鉴定为 LA-MRSA。参考相关文献报道的关于 LA-MRSA 基因 *mecA*, *mecC* 基因的双重确定^[22-23]。最后将确定好的 LA-MRSA 菌株置于终浓度为 30.00% 的甘油 BHI 肉汤中, 于 -80℃ 保存备用。

1.2.3 药敏试验 根据美国临床实验室标准委员会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 推荐的琼脂稀释法的执行标准及原则进行, 对分离的 101 株动物源 MRSA 菌株进行 14 种抗菌药物最小抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MICs) 值测定。测定的抗生素包括氨基糖苷类: 硫酸庆大霉素 (gentamicin, GEN); 四环素类: 四环素 (tetracycline, TET); 酰胺醇类: 氟苯尼考 (florfenicol, FFC); 安莎霉素类: 利福平 (rifampicin, RIF); β -内酰胺类: 苯唑西林 (oxacillin, OXA)、头孢噻肟 (cefotaxime, CTX)、氨苄西林 (ampicillin, AMP); 林可胺类: 克林霉素 (clindamycin, CLDM); 大环内酯类: 红霉素 (erythromycin, ERY)、阿奇霉素 (azithromycin, AZM)、泰乐菌素 (tylosin, TYL); 噁唑烷酮类: 利奈唑胺 (linezolid, LIN); 万古霉素类: 万古霉素 (vancomycin, VAN); 脂蛋白抗生素: 达托霉素 (daptomycin, DAP) 均购自广州翔博生物科技有限公司。

根据二倍琼脂稀释法用稀释液将药物储备液稀释到所需浓度, 再分别相应比例量加入已经高压灭菌过的 MH 琼脂在平皿中进行混合均匀琼脂和抗菌药物溶液, 接着进行冷却凝固, 制成所需药液浓度的琼脂平板, 再倒一个不加药液的平皿作为空白对照。按药物浓度从低到高的顺序, 把稀释至含菌量为 1.0×10^6 CFU/mL 的菌液用多点接种仪 (每针直径 3 mm) 蘸取稀释好的菌液接种到琼脂平板表面, 37℃ 培养 16—24 h 后读取结果。结果判定: 以完全不见细菌生长的最低药物浓度为该药物对细菌的 MIC, 参照 CLSI 药敏标准: 质控菌符合 CLSI 标准中的药敏范围时, 判读待测菌株的最小抑菌浓度。

1.2.4 MLS_B 耐药基因的检测 将 LA-MRSA 菌株挑选单菌落接种于 5—10 mL TSB 肉汤中, 37℃ 摇床中培养 24 h; 再将 5—10 mL 的增菌液于离心机 12 000 r/min 离心 5 min, 弃掉上清液进行集菌; 接着根据 promega 基因组提取试剂盒的步骤进行提取 DNA, 最后将提取的 DNA 置于 -20℃ 冰箱保存备用。针对 LA-MRSA 菌株的模板, 主要检测了 MLS_B 的耐药基因: *ermA-C*、*ereA-B* 基因。PCR 扩增体系: 上、下游引物 ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$) 0.5 μ L, $10\times$ rTaq Buffer (Mg^{2+} Plus) 2.5 μ L, dNTP Mixture (各 $2.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 2 μ L, rTaq ($5 \text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 0.125 μ L, 总体积 25 μ L。扩增循环条件: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s, 退火温度如表 1 所示, 延伸 72℃ 45 s, 总共循环 30 个, 接着再 72℃ 延伸 10 min。取适量 PCR 扩增产物经 1.00% 琼脂糖凝胶电泳, 以 DL2000 DNA Marker 分子量标准做参考, 缓冲液为 $0.5\times$ TBE, 在 6 v/cm 电压下电泳 15—30 min, 结束后用凝胶成像系统观察拍照分析。

1.3 试验的时间和地点

本试验是 2015—2017 年期间在华南农业大学兽医学院 502 室进行, 主要是在无菌室和超净台进行。

2 结果

2.1 LA-MRSA 菌株的分离与鉴定

从我国六省养殖场采集约 6 500 份样品都是来源于食品动物源, 从中分离到全国各地采集分离 480 株动物源金黄色葡萄球菌, 进一步筛选与鉴定, 其中 101 株为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA), 这 101 株 MRSA 菌株均为 LA-MRSA, 包括 76 株猪源, 20 份鸡源以及 5 株鸭源, 总的样品中 MRSA 分离率约为 1.54% (101/6500), 金黄色葡萄球菌中 MRSA 检出

率为 21.04% (101/480)，不同动物来源的 MRSA 检出率详见表 2。结果表明，不同来源的样品中金黄色葡萄球菌的检出率在 0.63%—2.17%之间，不同动物源金黄色葡萄球菌的 MRSA 菌株的分离率在 11.90%—27.50% 范围之内，其中猪源中的检出率最大 (27.05%)，其次是鸡源 (12.74%)。

表 2 动物源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分离情况

Table 2 Isolation of LA-MRSA						
样品来源		样品数	金黄色葡萄球菌数(株)	MRSA 菌株数(株)	样品中 MRSA 菌株	金黄色葡萄球菌中
Source		Number	Number of	Number of MRSA	的分离率	MRSA 菌的检出率
			<i>Staphylococcus aureus</i>		The separation rate of	The separation rate of
					MRSA (%)	<i>Staphylococcus aureus</i> (%)
猪源 Pig	粪便 Faeces	3020	177	40	1.32%	22.59%
	鼻拭子 Nose swab	480	104	36	7.50%	34.60%
鸡源 Chicken	盲肠 Cecum	1546	109	14	0.91%	12.84%
	肝脏 Liver	654	48	6	0.92%	12.50%
鸭源 Duck	盲肠 Cecum	436	24	3	0.69%	12.50%
	肝脏 Liver	364	18	2	0.55	11.1%
总数 Total		6500	480	101	1.55%	21.04%

2.2 LA-MRSA 菌株对 MLS_B 及其他抗菌药物的耐药情况

由于 MRSA 菌株是重要人畜共患病原菌，其耐药性问题也愈来愈受到关注。笔者采集的样品均为食品动物源，故只对食品动物源 MRSA 菌株 (LA-MRSA) 中 MLS_B 类抗生素的耐药性进行研究。药敏结果显示，不同来源对克林霉素和红霉素的 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 均达到 256 mg·L⁻¹ 以上，呈现出高度耐药的情况。101 株 LA-MRSA 菌株对克林霉素和红霉素的耐药率均为 100.00%，且 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 均达到 256 mg·L⁻¹ 以上，呈现出高度耐药的情况；其次是对泰乐菌素 (99.01%)、阿奇霉素 (99.01%)、庆大霉素 (94.05%)、

头孢噻肟 (96.39%)、四环素 (96.39%) 和氨苄西林 (91.90%) 的耐药率均达到 90.00% 以上，而对磺胺甲噁唑/甲氧苄啶 (53.46%) 和利福平 (25.74%) 的耐药率较低，所有的 LA-MRSA 菌株对万古霉素、利奈唑胺以及达托霉素均敏感。

动物源 MRSA 菌株共有 17 种耐药谱型，主要谱型为 GEN-TYL-AZM-ERY-FFC-CLDM-TET- S/T-AMP-CTX，有 37 株，占 36.63%，其次为 GEN-TYL-AZM-ERY-FFC-CLDM-TET-AMP-CTX，有 26 株，占 11.88%；接着为 GEN-TYL-AZM-ERY-FFC-RIF-CLDM-TET-S/T-AMP-CTX 有 11 株，占 1.89%。动物源 MRSA 多重耐药情况如表 3 所示，101 株 LA-MRSA 菌株中，除 1

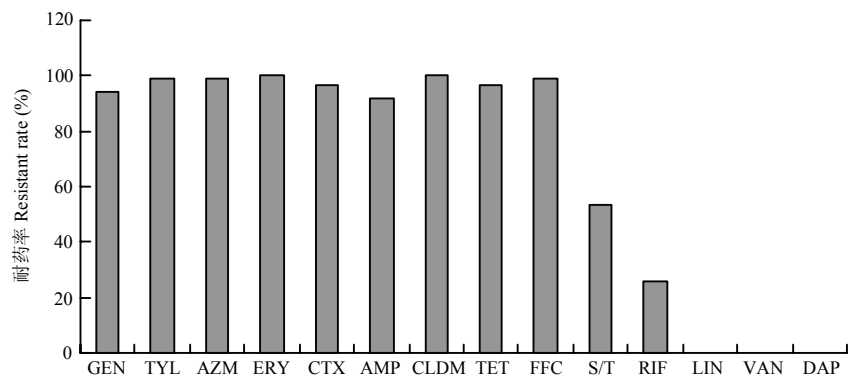


图 1 101 株 LA-MRSA 菌株对 14 种抗生素的耐药率

Fig. 1 Resistant rates to 14 antibiotics in 101 LA-MRSA strains

表 3 动物源 MRSA 菌株的多重耐药情况

Table 3 The result of multiple drug resistance of MRSA from animals

对抗菌药物耐药的数目 Number	2	6	7	9	10	11	12
菌株数（株） The number of strain	1	1	2	3	35	48	11
百分率 Percentage (%)	0.98	0.98	1.98	3.96	34.65	47.52	10.89

株外,其余均表现为对三类及三类以上抗菌药物耐药,且以 11 耐(48/101, 47.52%)和 10 耐(35/101, 34.65%)为主,其次为 12 耐(11/101, 10.89%)。

2.3 LA-MRSA 菌株对 MLS_B 耐药基因的检出情况

101 株 LA-MRSA 菌株中,均携带有 *mecA*, *mecC* 基因,MLS_B 耐药基因检出率最高为 *ermC*,为 100.0%;其次是 *ereB*, 检出 80 株,检出率为 79.20%,接着是 *ermA* 和 *ereA* 检出率分别为 45.54% (46/101) 和 40.69% (41/101), 而 *ermB* 检出率最低为 11.89% (12/101)。

2.4 MLS_B 耐药的 LA-MRSA 菌株对其他耐药基因的检出情况

进一步调查了携带 MLS_B 耐药基因的动物源 MRSA 菌株中其它耐药基因携带情况。结果如图 2 所

示,携带 MLS_B 耐药基因阳性的动物源 MRSA 菌株中, *fexA*、*tetL*、*aadA1*、*aph(4')-Ia* 的检出率较高,分别是 92.10%、97.02%、97.29%和 83.17%; 其次是 *tet(M)*, 检出率为 71.29%; 而 *aac(6')-Ib*、*aac(3')-Ic*、*aph(3')-II*、*aph(3')-IV*、*optrA*、*tet(A)*、*tet(C)* 的检出率相对较低,分别是 49.50%、46.53%、39.60%、37.62%、33.67%、29.70%和 20.79%; 接着检出率更低的是 *cfr*、*tet(K)*、*lnuA* 以及 *lnuF*, 分别为 17.82%、14.85%、5.94%和 3.96%。从图 1 和图 2 结果可以看出,除了 MLS_B 的耐药率大于 90%, 氟苯尼考, 四环素, 庆大霉素, 头孢噻肟, 氨苄西林的耐药率也大于 90%, 介导这些抗菌药物耐药的耐药基因分别是 *fexA*、*tetL*、*aadA1*、*aph(4')-Ia*, 检出率也大于 90%, 基因型与表型保持一致。

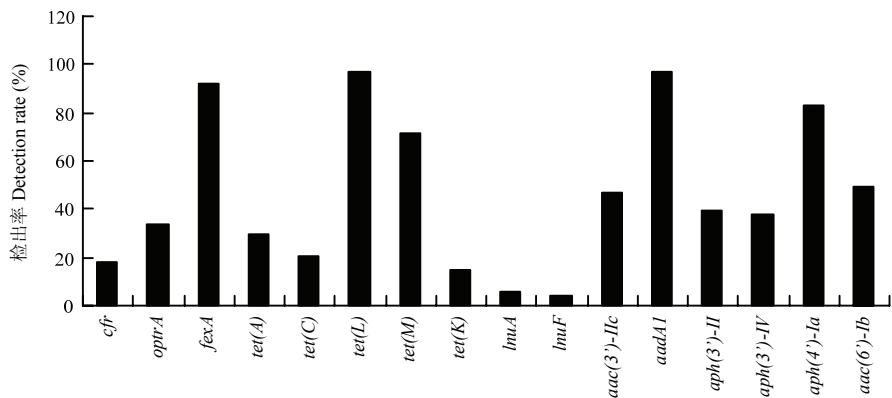


图 2 MLS_B 耐药 LA-MRSA 菌株对其他耐药基因的检出率

Fig. 2 The detection rates of other drug resistance genes among MLS_B resistant LA-MRSA

2.5 LA-MRSA 菌株中 MLS_B 耐药基因检出个数与多重耐药情况之间的关系分析

为探讨动物源 MRSA 菌株中多重耐药的程度与其携带的 MLS_B 耐药基因检出个数是否存在联系,进一步分析了 LA-MRSA 菌株中 MLS_B 耐药基因检出个数与对受试抗菌药物的耐药数目之间的关系,结果如表 4 所示。对受试抗菌药物表现为 12 耐的 11 株 LA-MRSA 菌株中,共检出 6 种不同的 MLS_B 耐药基

因组合,其中以 4 种和 3 种 MLS_B 耐药基因组合为主导,分别占 45.45% (5/11) 和 36.36% (4/11), 还有一株菌株中检出 5 种 MLS_B 耐药基因。对受试菌株为 11 耐的 48 株 LA-MRSA 菌株中,共检出 9 种不同的 MLS_B 耐药基因组合,其中以 2 种和 3 种 MLS_B 耐药基因组合为主导,分别占 39.58% (19/48) 和 35.42% (17/48), 其次为 4 种 MLS_B 耐药基因组合,占 22.92% (11/48)。对受试菌株为 10 耐的 35 株 LA-MRSA 菌株中,共检

出 9 种不同的 MLS_B 耐药基因组合，其中以 3 种和 2 种 MLS_B 耐药基因组合为主导，分别占 42.86%(15/35) 和 25.71% (9/35)，其次为 4 种 MLS_B 耐药基因组合，占 19.44% (7/36)。而对受试菌株为 2、6、7 和 9 耐的 7 株菌中，检出 9 种不同的 MLS_B 耐药基因组合，

主要是以两个 MLS_B 耐药基因组合为主，占 57.14% (4/7)。对动物源 MRSA 菌株 MLS_B 耐药基因检出个数与受试抗菌药物的耐药数目之间的关系分析结果表明，伴随着菌株对受试抗菌药物的耐药数目增加时，菌株中 MLS_B 耐药基因检出个数也在增加。

表 4 LA-MRSA 中 MLS_B 耐药基因的基因组合与多重耐药谱型之间的关系

Table 4 The relationship between genetic combination of MLS_B and multiple drug resistance of LA-MRSA

多重耐药（菌株数）	基因组合	菌株数	携带相同个数耐药基因所占比例
Multi-drug (Number of strain)	Assortment of genes	The number of strain	Percentage (%)
12 耐（11）	<i>ermC-ereB-ermA-ermB-ereA</i>	1	1（9.09%）
	<i>ermC-ereB-ermA-ermB</i>	2	5（45.45%）
	<i>ermC-ereB-ermA-ereA</i>	2	
	<i>ermC-ereB-ermB-ereA</i>	1	
	<i>ermC-ereB-ermA</i>	4	4（36.36%）
	<i>ermC-ereB</i>	1	1（9.09%）
11 耐（48）	<i>ermC-ereB-ermA-ereA</i>	11	11（22.92%）
	<i>ermC-ereB-ereA</i>	6	17（35.42%）
	<i>ermC-ereB-ermA</i>	9	
	<i>ermC-ereB-ermB</i>	1	
	<i>ermC-ereA-ermA</i>	1	
	<i>ermC-ereB</i>	11	19（39.58%）
	<i>ermC-ermA</i>	5	
	<i>ermC-ereA</i>	3	
	<i>ermC</i>	2	2（4.17%）
10 耐（35）	<i>ermC-ereB-ermA-ereA</i>	3	7（20.00%）
	<i>ermC-ereB-ermA-ermB</i>	4	
	<i>ermC-ermB-ermA</i>	2	15（42.86%）
	<i>ermC-ereB-ereA</i>	4	
	<i>ermC-ereB-ermA</i>	8	
	<i>ermC-ereA-ermA</i>	1	
	<i>ermC-ereB</i>	7	9（25.71%）
	<i>ermC-ermB</i>	2	
	<i>ermC</i>	4	4（11.43%）
9 耐（3）	<i>ermC-ereB-ereA</i>	1	1(33.33%)
	<i>ermC-ereA</i>	1	2(66.67%)
	<i>ermC-ereB</i>	1	
7 耐（2）	<i>ermC-ereB-ermA-ermB</i>	1	1(50.00%)
	<i>ermC-ermA</i>	1	1(50.00%)
6 耐（1）	<i>ermC-ereB</i>	1	1(100.00%)
2 耐（1）	<i>ermC-ereB-ereA</i>	1	1(100.00%)

3 讨论

本研究中的 101 株动物源的 MRSA 菌株分离于猪源、鸡源以及鸭源, 分离率均在 0.60% 以上, 2017 年, LI 等^[27]报道在 2014 年从中国许多省份地区采集分离的 2 420 份猪源样品中分离出了 270 株 LA-MRSA 菌株, 分离率达到 11.20%, 相比本文研究结果较高。MLS_B 在全球范围内 MRSA 菌株中的耐药情况已经有较多报道, 这些报道出现在人源、动物源的 MRSA 菌株中, 也出现在其他葡萄菌属中^[20, 28-30]。目前, 我国对 MLS_B 的耐药性调查主要在人医临床上比较多, 并且研究的菌种各有不同。2016 年, 我国一家医院从 62 位病人身上分离出的 18 株 MRSA 菌株中, 有 10 株的 MRSA 对 MLS_B 耐药, 耐药率达到 55.60%^[31]; 在其他菌种中, 2013 年研究报道, 在我国 7 家不同的医院病人身上分离出的肺炎双链球菌对红霉素的耐药率为 89.70%^[32]; 2014 年, 我国上海的一家医院的病人身上分离出的 94 株艰难梭菌对 MLS_B 呈现出高水平的耐药^[28]; 我国在动物源上对 MLS_B 的耐药性调查较晚, 报道也相对较少, 2012 年, HO 等^[33]报道从我国香港地区的屠宰猪身上采集的 400 份鼻拭子中分离出 157 株 LA-MRSA 其中对克林霉素的耐药率为 99.00%, 红霉素的耐药率为 89.00%; 2017 年, LIU 等^[34]报道, 在我国北部地区牛群中未加工的牛奶中分离出的 16 株 LA-MRSA 中, 有 46.3% 的 LA-MRSA 菌株对红霉素耐药; 在其他菌种中, 2015 年, ZHANG 等^[30]研究报道在 62 只健康母猪和 34 只病猪身上采集分离的 37 株猪链球菌中, 有 35 株菌对 MLS_B 产生耐药, 分离率达到 94.60%。本研究通过对动物源 MRSA 菌株的敏感性检测结果显示, 101 株动物源的 MRSA 菌株对 MLS_B 的 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 都大于 256 mg·L⁻¹, 耐药率达到 99.00% 以上。由此可见, MLS_B 在动物源上的耐药率相比人源分离的菌株高, 而本研究中的 LA-MRSA 对 MLS_B 的耐药率又略高于其他在人源或是动物源上分离的菌株。结果提示, LA-MRSA 中 MLS_B 菌株中呈现高水平的耐药, 给临床上治疗细菌感染疾病带来困扰, 因而合理的使用抗生素在养殖生产中非常的有必要。

除 MLS_B 药物外, 本研究还对其他 11 种抗菌药物如四环素、庆大霉素、氟苯尼考等进行 MIC 检测, 基本上呈现出高度耐药的情况, 对四环素、庆大霉素、头孢噻肟、氨苄西林、氟苯尼考等 5 种抗菌药物的耐药率均达到 91.00% 以上, 而对其他受试药物如复方新

诺明和利福平耐药水平相对较低。2015 年, WANG 等^[35]报道中分离的 20 株葡萄球菌的 MIC 结果显示其对四环素、克林霉素以及红霉素均产生耐药, 而对氯霉素、泰妙菌素和沃尼妙林高水平耐药, 对复方新诺明呈现低水平耐药, 本研究结果与其一致。欧洲、澳大利亚等地区分离的 LA-MRSA 的敏感测试结果显示对四环素的耐药率为 50.00%, 红霉素的耐药率为 35.70%, 只有 1 株对利福平耐药^[36-37], 低于本研究结果。本研究发现动物源 MRSA 菌株对 MLS_B 及其他抗菌药物耐药严重, 存在的耐药谱型较多, 主要集中在 10 耐、11 耐以及 12 耐谱型, 原因可能在于养殖场人员对抗生素的大量不合理的应用, 造成一定的药物选择型压力, 导致耐药; 还有原因在于一些人医临床上的药物在动物身上的应用, 用药主体的不适用也是耐药的原因。因此, 在养殖生产过程中应合理规范使用抗菌药物, 不使用高度耐药的抗菌药物, 应用敏感性较强的抗菌药物如复方新诺明、利福平等来治疗 MRSA 菌株的感染, 交替使用, 避免交叉耐药和防止耐药细菌的产生和传播。

本研究发现, 101 株 MRSA 菌株对 MLS_B 抗菌药物表现出较高水平耐药, 同时, 发现典型的介导 MRSA 菌株对 MLS_B 产生耐药的基因 *erm* 和 *ere* 存在较高的流行率, 尤其是 *ermC* 基因检出率达 100.00%, 另外, *ereB* 检出率将近 80.00%, 此外 *ermA* 和 *ereA* 检出率也超过 40.00%。2005 年, 孔海深等^[38]报道中 *erm* 的检出率是 100.00%; 2013 年, SHEN 等^[39]在动物源上的相关报道 *erm* 基因在分离的葡萄球菌中基本上都检出, 本研究结果与之类似。由此可见, 耐药基因 *ermA-C* 和 *ereA-B* 是介导 MLS_B 产生耐药的主要成因之一, 其在人源或是动物源上的 MRSA 菌株中都能够检测到^[40-42]。本研究还进一步探讨了动物源 MRSA 菌株中多重耐药的程度与其携带的 MLS_B 耐药基因检出个数之间的关联性, 发现伴随着菌株对受试抗菌药物的耐药数目增加时, 菌株中 MLS_B 耐药基因检出个数也在增加, 暗示动物源 MRSA 菌株 MLS_B 耐药基因的携带情况可能与菌株的多重耐药情况关系密切, 从而有利于多种抗生素压力下细菌的存活能力。

进一步分析携带 MLS_B 耐药基因的 LA-MRSA 菌株中其它耐药基因检出情况, 发现多种非 MLS_B 耐药基因也存在较高检出率。这表明 LA-MRSA 菌株中的 MLS_B 耐药基因与某些非 MLS_B 抗生素的耐药表型存在的密切关系很可能是由于菌株中同时存在其他耐药

基因。耐药基因经常出现两种或多种协同传播现象,即介导同一类或不同类抗菌药物的耐药基因可存在于同一个移动元件上,例如质粒,转座子,整合子等,这些元件可介导它们共同传播,从而导致多重耐药菌株的扩散^[43]。

4 结论

本研究发现耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株对大环内酯类-林可酰胺类-链阳菌素 B 类呈现高度耐药且多重耐药情况严重,介导大环内酯类-林可酰胺类-链阳菌素 B 类耐药的 *ermC* 检出率高,大环内酯类-林可酰胺类-链阳菌素 B 类耐药基因个数与菌株的多重耐药情况密切相关,同时还发现其他抗菌药物耐药的耐药基因检出率也相对较高,可能是本研究中菌株呈现多重耐药现象的主要原因。值得注意的是,食品动物源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药菌可通过食物链以及环境污染等途径传播给人,从而对人的健康造成威胁。因此,需进一步监测食品动物源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌菌株对大环内酯类-林可酰胺类-链阳菌素 B 类抗生素耐药情况及大环内酯类-林可酰胺类-链阳菌素 B 类耐药基因的流行分布情况。

References

- [1] PAYNE D J. *Microbiology. Desperately seeking new antibiotics*. *Science*, 2008, 321(5896): 1644-1645.
- [2] KLEIN E, SMITH D L, LAXMINARAYAN R. Hospitalizations and deaths caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999-2005. *Emerging Infectious Diseases*, 2007, 13(12): 1840-1846.
- [3] FERNANDO S A, GRAY T J, GOTTLIEB T. Healthcare-acquired infections: prevention strategies. *Internal Medicine Journal*, 2017, 47(12): 1341-1351.
- [4] DEURENBERG R H, VINK C, KALENIC S, FRIEDRICH A W, BRUGGEMAN C A, STOBBERINGH E E, STOBBERINGH E E. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 2007, 13(3): 222-235.
- [5] DE SOUSA A, DE LENCASTRE M H. Evolution of sporadic isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitals and their similarities to isolates of community-acquired MRSA. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 41(8): 3806-3815.
- [6] ENRIGHT M C, ROBINSON D A, RANDLE G, FEIL E J, GRUNDMANN H, SPRATT B G. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(11): 7687-7692.
- [7] DE NEELING A J, VAN DEN BROEK M J, SPALBURG E C, VAN SANTEN-VERHEUVEL M G, DAM-DEISZ W D, BOSHUIZEN H C, VAN DE GIESSEN A W, VAN DUIJKEREN E, HUIJSDENS X W. High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Veterinary Microbiology*, 2007, 122(3-4): 366-372.
- [8] FRANA T S, BEAHM A R, HANSON B M, KINYON J M, LAYMAN L L, KARRIKER L A, RAMIREZ A, SMITH T C. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from pork farms and visiting veterinary students. *PLoS ONE*, 2013, 8(1): e53738.
- [9] VAN DUIJKEREN E, HENGVELD P D, ALBERS M, PLUISTER G, JACOBS P, HERES L, VAN DE GIESSEN A W. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying *mecA* or *mecC* in dairy cattle. *Veterinary Microbiology*, 2014, 171(3/4): 364-367.
- [10] VOSS A, LOEFFEN F, BAKKER J, KLAASSEN C, WULF M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerging Infectious Diseases*, 2005, 11(12): 1965-1966.
- [11] WULF M, van NES A, EIKELBOOM-BOSKAMP A, de VRIES J, MELCHERS W, KLAASSEN C, VOSS A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in veterinary doctors and students, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*, 2006, 12(12): 1939-1941.
- [12] WULF M, van NES A, EIKELBOOM-BOSKAMP A, de VRIES J, MELCHERS W, KLAASSEN C, VOSS A. Inducible clindamycin resistance in *staphylococci* isolated from clinical samples. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 2005, 58(2): 104-106.
- [13] LO Y P, WAN M T, CHEN M M, SU H Y, LAUDERDALE T L, CHOU C C. Molecular characterization and clonal genetic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of pig origin in Taiwan. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2012, 35(6): 513-521.
- [14] WAN T W, TOMITA Y, SAITA N, KONNO K, IWAO Y, HUNG W C, TENG L J, YAMAMOTO T. Emerging ST121/agr4 community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with strong adhesin and cytolytic activities: trigger for MRSA pneumonia and fatal aspiration pneumonia in an influenza-infected elderly. *New Microbes New Infect*, 2016, 13: 17-21.
- [15] da PAZ PEREIRA J N, RABELO M A, da COSTA LIMA J L, NETO A M B, de SOUZA LOPES A C, MACIEL M A V. Phenotypic and molecular characterization of resistance to macrolides, lincosamides and type B streptogramin of clinical isolates of *Staphylococcus spp.* of a university hospital in Recife, Pernambuco, Brazil. *Brazilian Journal*

- of *Infectious Diseases*, 2016, 20(3): 276-281.
- [16] SZEMRAJ M, KWASZEWSKA A, PAWLAK R, SZEWCZYK E M. Macrolide, lincosamide, and streptogramin B resistance in lipophilic *Corynebacteria* inhabiting healthy human skin. *Microbial Drug Resistance*, 2014, 20(5): 404-409.
- [17] MISIC M, CUKIC J, VIDANOVIC D, SEKLER M, MATIC S, VUKASINOVIC M, BASKIC D. Prevalence of genotypes that determine resistance of *staphylococci* to macrolides and lincosamides in serbia. *Frontier in Public Health*, 2017, 5: 200.
- [18] MIYAHIRA R F, SANTOS E A, LEO R S, DE FREITAS-ALMEIDA A C, QUEIROZ M L. Antimicrobial susceptibility and enterotoxin-encoding genes in *Staphylococcus spp.* recovered from kitchen equipment from a university hospital in rio de janeiro, Brazil. *Microbial Drug Resistance*, 2018, 24(7): 995-1001.
- [19] FELTRIN F, ALBA P, KRAUSHAAR B, IANZANO A, ARGUDIN M A, DI MATTEO P, PORRERO M C, AARESTRUP F M, BUTAYE P, FRANCO A, BATTISTI A. A livestock-associated, multidrug-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal complex 97 lineage spreading in dairy cattle and pigs in Italy. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 82(3): 816-821.
- [20] CUNY C, LAYER F, KOCK R, WERNER G, WITTE W. Methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) of clonal complex cc398, t571 from infections in humans are still rare in Germany. *PLoS ONE*, 2013, 8(12): e83165.
- [21] WETTSTEIN ROSENKRANZ K, ROTHENANGER E, BRODARD I, COLLAUD A, OVERESCH G, BIGLER B, MARSCHALL J, PERRETEN V. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among Swiss veterinary health care providers: detection of livestock- and healthcare-associated clones. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 2014, 156(7): 317-325.
- [22] LOUIE L, GOODFELLOW J, MATHIEU P, GLATT A, LOUIE M, SIMOR A E. Rapid detection of methicillin-resistant staphylococci from blood culture bottles by using a multiplex PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, 40(8): 2786-2790.
- [23] BECKER K, DENIS O, ROISIN S, MELLMANN A, IDELEVICH E A, KNAACK D, VAN ALEN S, KRIEGESKORTE A, KOCK R, SCHAUMBURG F, PETERS G, BALLHAUSEN B. Detection of *mecA*- and *mecC*-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates by the new xpert MRSA gen 3 per assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 2016, 54(1): 180-184.
- [24] TRIEU-CUOT P, POYART-SALMERON C, CARLIER C, COURVALIN P. Nucleotide sequence of the erythromycin resistance gene of the conjugative transposon Tn1545. *Nucleic Acids Research*, 1990, 18(12): 3660.
- [25] WENDLANDT S, KADLEC K, FESSLER A T, VAN DUIJKEREN E, SCHWARZ S. Two different *erm(C)*-carrying plasmids in the same methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 isolate from a broiler farm. *Veterinary Microbiology*, 2014, 171(3/4): 382-387.
- [26] SUTCLIFFE J, GREBE T, TAIT-KAMRADT A, WONDRAK L. Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1996, 40(11): 2562-2566.
- [27] LI J, JIANG N, KE Y, FESSLER A T, WANG Y, SCHWARZ S, WU C. Characterization of pig-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Microbiology*, 2017, 201: 183-187.
- [28] DONG D, PENG Y, ZHANG L, JIANG C, WANG X, MAO E. Clinical and microbiological characterization of *Clostridium difficile* infection in a tertiary care hospital in Shanghai, China. *Chinese Medical Journal (Engl.)*, 2014, 127(9): 1601-1607.
- [29] SILVEIRA A C, CUNHA G R, CAIERAO J, CORDOVA C M, D'AZEVEDO P A. Molecular epidemiology of heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 2015, 19(5): 466-472.
- [30] ZHANG C, ZHANG Z, SONG L, FAN X, WEN F, XU S, NING Y. Antimicrobial resistance profile and genotypic characteristics of *streptococcus suis* capsular type 2 isolated from clinical carrier sows and diseased pigs in China. *Biomed Research International*, 2015, 2015: 284303.
- [31] CHEN X, SUN K, DONG D, LUO Q, PENG Y, CHEN F. Antimicrobial resistance and molecular characteristics of nasal *Staphylococcus aureus* isolates from newly admitted inpatients. *Annals of Laboratory Medicine*, 2016, 36(3): 250-254.
- [32] ZHANG Y J, CHEN Y S, WANG Z W, LI Y Q, WANG D X, SHANG Y, FU R R, HU Y H, GENG R, WEI L P, YANG J P, LI J S, YU Q, DU J, GAO Z C. Serological and molecular capsular typing, antibiotic susceptibility and multilocus sequence typing of *Streptococcus pneumoniae* isolates from invasive and non-invasive infections. *Chinese Medical Journal (Engl.)*, 2013, 126(12): 2296-2303.
- [33] HO J, O'DONOGHUE M, GUARDABASSI L, MOODLEY A, BOOST M. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from pig carcasses in Hong Kong. *Zoonoses Public Health*, 2012, 59(6): 416-423.
- [34] LIU H, LI S, MENG L, DONG L, ZHAO S, LAN X, WANG J, ZHENG N. Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy herds in northern China. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(11): 8796-8803.
- [35] WANG J, LIN D C, GUO X M, WEI H K, LIU X Q, CHEN X J,

- GUO J Y, ZENG Z L, LIU J H. Distribution of the multidrug resistance gene *cfr* in *staphylococcus* isolates from pigs, workers, and the environment of a hog market and a slaughterhouse in Guangzhou, China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2015, 12(7): 598-605.
- [36] BOSCH T, VERKADE E, VAN LUIT M, LANDMAN F, KLUYTMANS J, SCHOULS L M. Transmission and persistence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians and their household members. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(1): 124-129.
- [37] RODRIGUEZ-LAZARO D, ONICIUC E A, GARCIA P G, GALLEGO D, FERNANDEZ-NATAL I, DOMINGUEZ-GIL M, EIROS-BOUZA J M, WAGNER M, NICOLAU A I, HERNANDEZ M. Detection and characterization of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in foods confiscated in EU borders. *Frontier in Microbiology*, 2017, 8: 1344.
- [38] 孔海深, 徐根云, 李雪芬. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌多重耐药基因检测. 中华检验医学杂志, 2005, 28(10): 1027-1028.
- KONG H S, XU G Y, LI X F. Detection of multiple drug resistance genes in MRSA. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2005, 28(10): 1027-1028. (in Chinese)
- [39] SHEN J, WANG Y, SCHWARZ S. Presence and dissemination of the multiresistance gene *cfr* in Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2013, 68(8): 1697-1706.
- [40] NETO A E D, PEREIRA R F A, SNYDER R E, MACHADO T S, ANDRE L S P, CARDOSO C A A, AGUIAR-ALVES F. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from clonal complex 398 with no livestock association in Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2017, 112(9): 647-649.
- [41] KLIBI A, JOUINI A, GOMEZ P, SLIMENE K, CEBALLOS S, TORRES C, MAAROUFI A. Molecular characterization and clonal diversity of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* isolates of milk of cows with clinical mastitis in Tunisia. *Microbial Drug Resistance*, 2018, 24(8): 1210-1216.
- [42] ROBERTS M C, JOSHI P R, GRENINGER A L, MELENDEZ D, PAUDEL S, ACHARYA M, BIMALI N K, KOJU N P, NO D, CHALISE M, KYES R C. The human clone ST22 SCCmec IV methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from swine herds and wild primates in Nepal: is man the common source? *FEMS Microbiology Ecology*, 2018. 94(5).doi: 10.1093/femsec/fiy052.
- [43] SCHLUTER A, SZCZEPANOWSKI R, PUHLER A, TOP E M. Genomics of IncP-1 antibiotic resistance plasmids isolated from wastewater treatment plants provides evidence for a widely accessible drug resistance gene pool. *FEMS Microbiology Reviews*, 2007, 31(4): 449-477.

(责任编辑 林鉴非)