

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20222170

· 论 著 ·

上海市医疗机构工作人员手污染金黄色葡萄球菌的分子生物学特征及耐药性

陈泰尧¹, 陈雯杰¹, 常兆玉¹, 田 靓², 葛忆琳¹, 刘 倩¹, 毕 菁¹, 张 幸², 张 曦¹, 张红芝¹

(上海市疾病预防控制中心 1. 病原生物检定所; 2. 传染病防治所, 上海 200336)

[摘要] **目的** 分析上海市医疗机构工作人员手分离金黄色葡萄球菌的分子生物学特征及其耐药性。**方法** 选取 2018—2020 年上海市 16 所不同级别医院工作人员为研究对象, 对医疗机构重点科室工作人员的手进行采样、分离、鉴定金黄色葡萄球菌, 对金黄色葡萄球菌进行药敏试验、脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 和全基因组测序, 利用 BioNumerics 软件对全基因组测序数据组装, 对组装基因组开展多位点序列分型 (MLST)、核心基因组多位点序列分型 (cgMLST)、毒力基因、耐药基因、耐消毒剂基因分析。**结果** 上海市 2018—2020 年医疗机构工作人员手金黄色葡萄球菌分离率为 2.9%。其中 MRSA 占 13.6% (3/22), MSSA 占 86.4% (19/22)。3 株 MRSA 分别来源于医生、护士和护工, 其中 1 株来源于医生的 MRSA 携带 *qacB* 基因。MSSA 对红霉素、环丙沙星、四环素、左氧氟沙星有不同程度的耐药; PFGE 和 cgMLST 显示金黄色葡萄球菌基因多样性, 2 株相同来源的 ST72 型金黄色葡萄球菌的 PFGE 带型高度相似, 且仅有 10 个差异基因, 提示为克隆株。**结论** 医疗机构中工作人员的手可作为金黄色葡萄球菌传播的载体, 医疗机构内存在经手作为载体导致的金黄色葡萄球菌的医院传播。

[关键词] 金黄色葡萄球菌; 工作人员手; 全基因组测序; 耐药性

[中图分类号] R181.3⁺2 R378.1⁺1

Molecular biological characteristics and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* contaminated on hands of medical staff in Shanghai City

CHEN Tai-yao¹, CHEN Wen-jie¹, CHANG Zhao-yu¹, TIAN Liang², GE Yi-lin¹, LIU Qian¹, BI Jing¹, ZHANG Xing², ZHANG Xi¹, ZHANG Hong-zhi¹ (1. Department of Pathogenic Identification; 2. Department of Acute Communicable Disease Control and Prevention, Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the molecular biological characteristics and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* (SA) isolated from hands of medical staff in Shanghai City. **Methods** From 2018 to 2020, medical staff of 16 different levels of hospitals in Shanghai were selected as the research objects, hands of medical staff in key departments of medical institutions were sampled, SA was isolated, identified and performed antimicrobial susceptibility testing, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and whole genome sequencing, the whole genome data were assembled by BioNumerics software, the assembled genomes were conducted multilocus sequence typing (MLST), core genome multilocus sequence typing (cgMLST), virulence genes, drug resistance genes and disinfectant resistance genes analysis. **Results** The isolation rate of SA from hands of medical staff in Shanghai from 2018 to 2020 was 2.9%. Methicillin-resistant SA (MRSA) accounted for 13.6% (3/22), methicillin-susceptible SA (MSSA) accounted for 86.4% (19/22). Three MRSA strains were from doctors, nurses and carers respectively, and 1 MRSA strain from doctors carried *qacB* gene. MSSA has different resistance to erythromycin, ciprofloxacin,

[收稿日期] 2021-11-25

[基金项目] 上海市公共卫生体系建设三年行动计划 (GWV-2); 上海市公共卫生体系建设三年行动计划 - 重点学科建设 [(2020—2022), GWV-10.1-XK03]

[作者简介] 陈泰尧 (1980—), 男 (回族), 副主任技师, 主要从事病原生物学研究。

[通信作者] 张红芝 E-mail: zhanghongzhi@scdc.sh.cn

tetracycline and levofloxacin; PFGE and cgMLST showed the genetic diversity of SA, PFGE bands of 2 strains of ST72 SA from the same source were highly similar, and there were only 10 differential genes, suggesting that they were clonal strains. **Conclusion** Hands of medical staff in medical institutions can be used as a carrier for the transmission of SA, there is transmission of SA through hands as a carrier in medical institutions.

[**Key words**] *Staphylococcus aureus*; hand of medical staff; whole genome sequence; antimicrobial resistance

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*), 尤其是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 是引起医院感染的重要病原菌之一, 可导致菌血症、中毒休克综合征等多种进行性坏死疾病^[1]。据世界卫生组织 (WHO) 报道, 2011 年全世界医院感染发病率为 5.7%~19.1%, 平均发病率为 10.1%^[2], 医院感染将成为日益严重的公共卫生问题。

医务人员手卫生与医院感染的发生密切相关。医院感染通常是直接或间接经手传播, 经医务人员手传播细菌造成的感染约占 30%^[3], 也可因医务人员手携带耐药菌株而导致感染在医院内广泛传播甚至暴发流行^[4]。研究^[5]报道多重耐药菌医院感染的主要传播途径是医务人员的手。胡瑛等^[6]对某儿童医院内新生儿及医务人员分离的 MRSA 进行研究, 发现, 医务人员手是 MRSA 医院感染的主要途径。

为了解上海市各级医院医务人员手部金黄色葡萄球菌的携带情况, 本研究分析 2018—2020 年 16 所不同级别医院工作人员手部分离的金黄色葡萄球菌, 并利用全基因组测序技术 (whole genome sequencing, WGS) 和脉冲场凝胶电泳 (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) 对分离的金黄色葡萄球菌进行同源性分析, 耐药性、耐药基因、抗消毒剂基因、毒力基因及核心基因组多位点序列分型 (cgMLST) 和多位点序列分型 (MLST) 分析, 鉴定 MRSA 菌株, 调查其传播途径, 为医院感染的预防与控制提供依据。

1 材料与方法

1.1 采样方案 本研究中监测点医疗机构均根据 2016 年版《上海市医疗机构耐药菌监测方案》, 对医疗机构重点科室工作人员的手进行采样, 如外科、重症监护病房 (ICU)、呼吸内科、心血管内科等, 每所监测点医疗机构每季度采集工作人员手标本 4 份, 针对医务人员在工作状态时、脱掉手套时暴露的手部皮肤进行采样, 检测金黄色葡萄球菌。

1.2 试剂与仪器 甲酸 (formic acid, FA)、乙腈

(acetonitrile, ACN)、无水乙醇 (色谱纯) 均为美国 Sigma 公司。VITEK MS-CHCA 基质液 (法国梅里埃)。Baird-Parker 平板 (上海申启)、哥伦比亚血平板 (上海申启)。细菌全基因组提取试剂盒 (Takara, 日本)。药敏板 (珠海美华)。基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) 仪器为法国生物梅里埃公司。

1.3 采样及金黄色葡萄球菌检测 将浸有无菌 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液或生理盐水采样液的棉拭子一支在双手指曲面从指根到指端来回涂擦各 2 次, 一只手涂擦面积约 30 cm²。将采样液接种到等体积的双倍 SCDLP 液体培养基中, 于 36℃ 孵育 24 h; 划线接种于金黄色葡萄球菌显色培养基, 于 36℃ 孵育 24 h, 挑取可疑菌落 (圆形、光滑、凸起、紫色的菌落), 革兰染色为阳性、触酶试验为阴性、血浆凝固酶试验阳性, 最后利用微生物质谱鉴定仪进行鉴定。质谱鉴定用参考菌株: ATCC 8739。

1.4 MALDI-TOF MS 鉴定^[7] 挑取适量 (约 5~10 mg) 菌落样品于 1.5 mL 离心管中, 加入 900 μL 无水乙醇, 混匀; 12 000 r/min 离心 2 min, 弃去上清液; 加入 40 μL 70% 甲酸, 混匀, 再加入 40 μL 乙腈, 混匀, 12 000 r/min 离心 2 min, 吸取 1 μL 上清液点在靶板上, 自然晾干后再点 1 μL CHCA 基质覆盖, 晾干后进行质谱分析。30 min 后观察结果。

1.5 药敏试验 采用微量肉汤稀释法进行药敏试验, 采用革兰阳性药敏板检测, 依据说明书的检测原理及操作步骤完成; 每种抗菌药物都设有一系列倍比稀释的浓度, 通过加入待检金黄色葡萄球菌肉汤培养液稀释的菌悬液, 经 18~20 h 孵育后, 肉眼判读药敏板条, 获得其最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 值, 并根据 2020 版美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 的标准获得相应敏感 (S)、中介 (I) 和耐药 (R) 结果。

1.6 全基因组测序 取适量新鲜菌液, 用 Genomic DNA purification kit 试剂盒提取细菌全基因组 DNA。全基因组测序由生工生物工程公司完成, 采用 Illumina Hisexxten PE150 测序仪 (美国 Illumina

公司)进行全基因组分析。测序策略:先将样本 DNA 随机打断,构建 DNA 文库,然后分别进行平行测序。数据处理:测序获得原始数据,进行质控,将合格的数据 Clean data 导入 BioNumerics 7.0 软件进行序列拼接。

1.7 MLST 和 cgMLST 分析 MLST 参考 *S. aureus* 分型的管家基因:*arcC*、*aroE*、*glpF*、*gmk*、*pta*、*tpiA* 和 *yqiL* (<http://pubmlst.org/database/>)。利用 BioNumerics 7.0 软件从上述拼接好的序列中提取相应的管家基因,然后利用 BN 软件的功能分配 ST 型。

cgMLST 分析,根据 BioNumerics Calculation Engine 上的 *Staphylococcus aureus* 数据库,从上述拼接好的序列中选取 1 861 个核心基因,利用 BioNumerics 7.0 软件对其进行聚类分析。

1.8 毒力基因和耐药基因分析 利用 BioNumerics 软件拼接后的序列,通过序列比对分析获得毒力基因谱和耐药基因谱。分别参考官网:Virulence Factor Database (VFDB)、(MOH Key Laboratory of Systems Biology of Pathogen, Institute of Pathogen Biology, Beijing, China)、(<http://www.mgc.ac.cn>)和 CARD (<https://card.mcmaster.ca/>)。

1.9 耐消毒剂基因检测 计算机检索中国知网

(CNKI)、万方数据库、PubMed 等数据库,以金黄色葡萄球菌、消毒剂、主动外排系统、耐消毒剂基因作为检索词,在上述数据库进行检索。检索到的耐消毒剂基因为:*qacA/B*、*qacC*、*qacD*、*qacG*、*qacH*、*qacJ*、*norA*。将这些基因在 NCBI 官网搜索核酸序列,再与本研究中金黄色葡萄球菌拼接序列进行比对,分析耐消毒剂基因。

2 结果

2.1 金黄色葡萄球菌检出情况 2018—2020 年 16 所医疗机构共采样 768 份。经生化和 MALDI-TOF MS 鉴定,工作人员手部共检测出 22 株金黄色葡萄球菌,携带率为 2.9%(22/768),来自 9 所医疗机构(医院 A~I),医生检出 8 株(36.4%),护士检出 9 株(40.9%),护工检出 5 株(22.7%)。来源于 6 个科室:综合 ICU 7 株(31.8%),老年科 7 株(31.8%),呼吸内科、普通外科、烧伤科、神经外科均为 2 株(9.1%)。调查中医务人员使用的手消毒剂有 3 种:醇类消毒剂占 68.2%(15 名)、含氯消毒剂占 9.1%(2 名)、复合型消毒剂占 22.7%(5 名)。见表 1。

表 1 22 株医疗机构工作人员手分离金黄色葡萄球菌的来源情况

Table 1 Sources of 22 strains of SA from hands of medical staff

菌株编码	来源医院编码	医院等级	来源科室	人员类型	使用消毒剂类型	检出年份
SAH01	A	二级甲等	老年科	护士	醇类消毒剂	2019
SAH03	B	三级甲等	综合 ICU	护工	醇类消毒剂	2019
SAH18	B	三级甲等	烧伤科	护士	醇类消毒剂	2018
SAH10	B	三级甲等	烧伤科	护士	醇类消毒剂	2019
SAH06	B	三级甲等	呼吸内科	医生	醇类消毒剂	2019
SAH04	C	三级甲等	综合 ICU	医生	醇类消毒剂	2019
SAH05	D	二级甲等	呼吸内科	医生	醇类消毒剂	2019
SAH08	D	二级甲等	老年科	医生	醇类消毒剂	2019
SAH09	D	二级甲等	老年科	护工	醇类消毒剂	2019
SAH22	D	二级甲等	神经外科	医生	醇类消毒剂	2018
SAH23	D	二级甲等	神经外科	护士	醇类消毒剂	2018
SAH07	E	二级甲等	普通外科	护士	醇类消毒剂	2019
SAH11	F	三级乙等	综合 ICU	护士	醇类消毒剂	2018
SAH19	F	三级乙等	综合 ICU	医生	醇类消毒剂	2018
SAH12	G	三级甲等	普通外科	护士	含氯消毒剂	2018
SAH13	H	二级甲等	老年科	护工	醇类消毒剂	2018

续表 1 (Table 1, Continued)

菌株编码	来源医院编码	医院等级	来源科室	人员类型	使用消毒剂类型	检出年份
SAH21	H	二级甲等	老年科	护工	含氯消毒剂+醇类复方	2018
SAH28	H	二级甲等	老年科	医生	含氯消毒剂+醇类复方	2020
SAH20	I	三级甲等	老年科	医生	含氯消毒剂	2018
SAH24	I	三级甲等	综合 ICU	护工	含氯消毒剂+醇类复方	2020
SAH25	I	三级甲等	综合 ICU	护士	含氯消毒剂+醇类复方	2020
SAH26	I	三级甲等	综合 ICU	护士	含氯消毒剂+醇类复方	2020

2.2 全基因组测序结果 分析 22 株金黄色葡萄球菌全基因组测序的原始数据,满足以下条件:平均测序读长为 200~300 bp,原始数据量≥1.5 G,且 Q20 高质量数据量平均 1.2 G(Clean data≥1 G);基因组整体覆盖深度≥100 X;碱基数据质量值 Q20 ≥95%,Q30 ≥85%,SCAFFOLD 数量<100 个,Contig 数量<200 个,单碱基错误率低于十万分之一。

2.3 耐药性、耐药基因及耐消毒剂基因分析 22 株标本检测出的金黄色葡萄球菌对红霉素、环丙沙星的耐药率较高,分别为 36.3%、22.7%;其次为四环素、左氧氟沙星和奎奴普汀/达福普汀,耐药率均为 18.2%;对头孢西丁和苯唑西林的耐药率均为 13.6%;对米诺环素、庆大霉素和复方磺胺甲噁唑的耐药率分别为 9.1%、4.5%、4.5%。对万古霉素、利奈唑胺、替加环素均敏感,见表 2。22 株金黄色葡萄球菌共携带 10 种耐药基因,其中 13 株(59.1%)携带 *blaZ* 基因;9 株(40.9%)携带氨基糖苷类耐药基因:2 株 *aac(6')-aph(2'')*,2 株 *aph(3')-III*,3 株 *ant(9)-Ia*,2 株 *ant(6)-Ia*;7 株(31.8%)携带红霉素耐药基因:3 株 *erm(A)*、1 株 *erm(B)*、2 株 *erm(C)*、1 株 *erm(T)*;4 株(18.2%)携带甲氧西林耐药基因 *mecA*;2 株(9.1%)携带克林霉素耐药基因 *lnu(A)*,1 株携带夫西地酸耐药基因 *fusB*,1 株携带介导外排泵的 *msr(A)* 基因;1 株携带磺胺类耐药基因 *dfpG*,见表 3。

3 株金黄色葡萄球菌对苯唑西林和头孢西丁耐药,为 MRSA,其中 1 株同时携带 *mecA* 和 *blaZ* 耐药基因,19 株为甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*,MSSA)。3 株 MRSA(SAH18、SAH20、SAH21)分别来自 3 所医院不同科室的护士、医生和护工,均对 7 种及以上抗菌药物耐药。

22 株金黄色葡萄球菌仅 1 株携带耐消毒剂基因 *qacB*,此菌株被鉴定为 MRSA(SAH20),同时携

带 6 种耐药基因,携带多种毒力基因(*lukF-PV*,*seb*,*selk*)。

2.4 携带毒力基因情况 分析 22 株金黄色葡萄球菌携带 *lukF-PV*、*tsst-1* 和肠毒素基因的情况。各毒力基因的携带率:*lukF-PV* 为 72.7%(16 株);*tsst-1* 为 18.2%(4 株);肠毒素基因 *sea* 为 13.6%(3 株);*seb* 为 13.6%(3 株);*sec* 为 18.2%(4 株);*selk* 为 45.5%(10 株);*sell* 为 22.7%(5 株);*selq* 为 9.1%(2 株)。其中 4 株菌(SAH19、SAH21、SAH25 和 SAH26)同时携带 *lukF-PV*、*tsst-1* 和肠毒素基因,见表 3。

表 2 医疗机构工作人员手分离金黄色葡萄球菌对 16 种抗菌药物的耐药情况(%)

Table 2 Resistance of SA from hands of medical staff to 16 kinds of antimicrobial agents (%)

抗菌药物	耐药率	中介率	敏感率
苯唑西林	13.6	0.0	86.4
头孢西丁	13.6	0.0	86.4
庆大霉素	4.5	0.0	95.5
万古霉素	0.0	0.0	100.0
奎奴普汀/达福普汀	18.2	0.0	81.2
利奈唑胺	0.0	0.0	100.0
四环素	18.2	4.5	77.3
红霉素	36.3	0.0	63.6
替加环素	0.0	0.0	100.0
米诺环素	9.1	4.5	86.4
克林霉素	13.6	0.0	86.4
左氧氟沙星	18.2	0.0	81.2
环丙沙星	22.7	0.0	77.3
夫西地酸	4.5	0.0	95.5
复方磺胺甲噁唑	4.5	0.0	95.5
利福平	0.0	4.5	95.5

表 3 医疗机构工作人员手分离金黄色葡萄球菌的耐药性、耐药基因、毒力基因、耐消毒剂基因及 ST 型分析

Table 3 Antimicrobial resistance, resistance genes, virulence genes, disinfectant resistance genes and ST type of SA from hands of medical staff

编码	ST	耐药基因	耐药抗菌药物	中介抗菌药物	毒力基因	耐消毒剂基因
SAH01	ST2631	<i>blaZ</i>	呋喃妥因、夫西地酸	-	<i>lukF-PV, selk</i>	-
SAH03	NA	<i>blaZ, fusB, lnu(A)</i>	-	-	-	-
SAH04	ST398	<i>erm(T)</i> ,	红霉素	-	-	-
SAH05	ST15	<i>blaZ</i>	-	-	-	-
SAH06	ST6	-	-	-	<i>lukF-PV, sea</i>	-
SAH07	ST188	-	环丙沙星、左氧氟沙星	-	<i>lukF-PV</i>	-
SAH08	NA	<i>blaZ, msr(A), lnu(A)</i>	红霉素	-	<i>lukF-PV</i>	-
SAH09	ST188	-	-	-	<i>lukF-PV</i>	-
SAH10	ST15	<i>blaZ</i>	-	-	<i>lukF-PV</i>	-
SAH11	ST59	<i>ant(6)-Ia, aph(3')-III, blaZ, erm(B), tet(K)</i>	红霉素、环丙沙星	-	<i>seb, selk, selq</i>	-
SAH12	ST59	<i>blaZ, mecA, tet(K)</i>	-	四环素	-	-
SAH13	NA	<i>blaZ</i>	-	-	<i>lukF-PV</i>	-
SAH18	ST239	<i>ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, blaZ, mecA, erm(A), tet(M), dfrG</i>	庆大霉素、头孢西丁、苯唑西林、红霉素、克林霉素、环丙沙星、复方磺胺甲噁唑、四环素、左氧氟沙星、奎奴普汀/达福普汀	利福平、莫西沙星	<i>lukF-PV, sea, selk, selq</i>	-
SAH19	ST965	<i>blaZ</i>	-	-	<i>lukF-PV, sec, sell, selk, tsst-1</i>	-
SAH20	ST764	<i>ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), mecA, erm(A), tet(M), tet(K)</i>	头孢西丁、苯唑西林、红霉素、克林霉素、环丙沙星、四环素、左氧氟沙星、米诺环素、奎奴普汀/达福普汀	-	<i>lukF-PV, seb, selk</i>	<i>qacB</i>
SAH21	NA	<i>ant(9)-Ia, mecA, erm(A), tet(M)</i>	头孢西丁、苯唑西林、红霉素、克林霉素、环丙沙星、四环素、左氧氟沙星、米诺环素、奎奴普汀/达福普汀	莫西沙星	<i>lukF-PV, sec, selk, sell, tsst-1</i>	-
SAH22	ST59	-	-	-	<i>sea, seb, selk, sell</i>	-
SAH23	ST630	<i>blaZ, tet(K)</i>	四环素	-	<i>lukF-PV</i>	-
SAH24	ST8	-	-	-	<i>lukF-PV</i>	-
SAH25	ST72	<i>blaZ, erm(C)</i>	红霉素、奎奴普汀/达福普汀	米诺环素	<i>lukF-PV, sec, selk, sell, tsst-1</i>	-
SAH26	ST72	<i>blaZ, erm(C)</i>	红霉素	-	<i>lukF-PV, sec, selk, sell, tsst-1</i>	-
SAH28	ST72	-	-	-	<i>lukF-PV, selk</i>	-

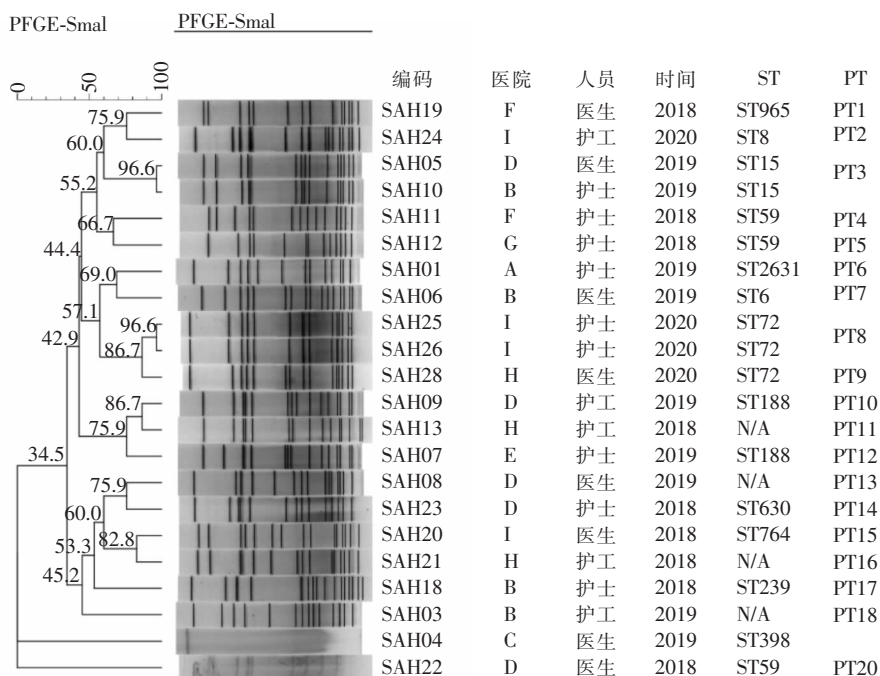
2.5 金黄色葡萄球菌分子分型特征 MLST 结果显示, 22 株金黄色葡萄球菌中 18 株分为 12 个 ST 型, 还有 4 株为新 ST 型。12 个 ST 型中, ST72、ST59 各有 3 株, ST15、ST188 各有 2 株, 其他型别各有 1 株, 分别为 ST2631、ST398、ST6、ST239、ST965、ST764、ST630、ST8。22 株金黄色葡萄球菌除 1 株 ST398 外, 其余菌株均可进行 PFGE 分型。共分为 20 个 PFGE 带型(PT1-PT20), 呈现高度多样

性, 见图 1。PT3 和 PT8 中金黄色葡萄球菌的 PFGE 带型相似度均为 96.6%, 提示 SAH05 和 SAH10 以及 SAH25 和 SAH26 菌株可能为克隆株。SAH05 和 SAH10 分别来自医院 D 的医生和医院 B 的护士, 均为 ST15。SAH25 和 SAH26 均为 ST72, 于 2020 年分离自医院 I 护士的手。

cgMLST 分析结果显示, 22 株金黄色葡萄球菌中除 SAH25 和 SAH26 之间有 1 个差异基因, 其余

金黄色葡萄球菌菌株之间的差异基因个数均>145, 提示这些菌株之间没有亲缘关系, 见图2。cgMLST

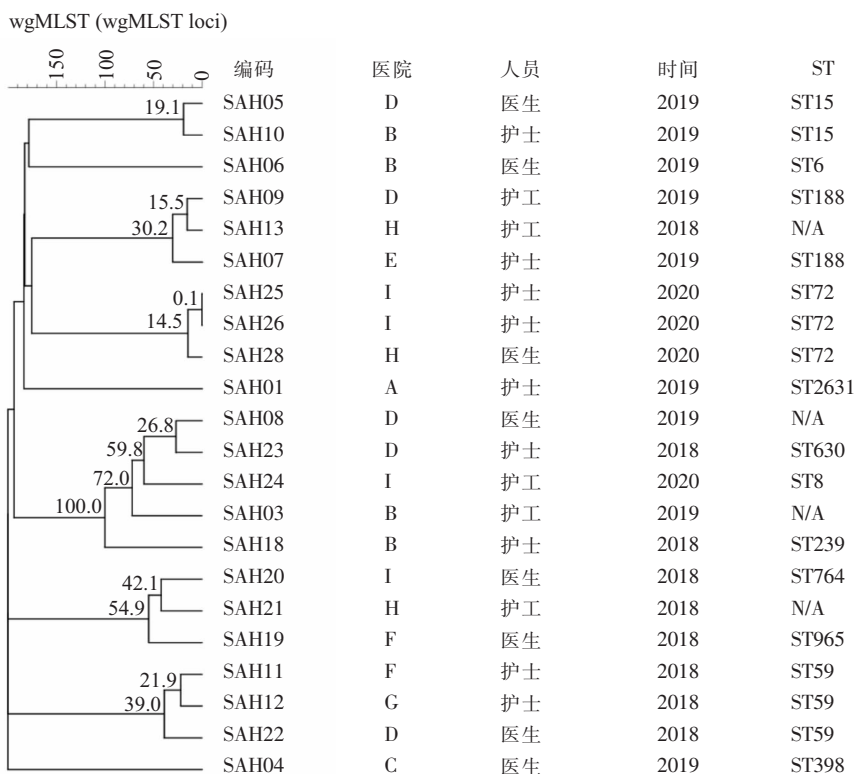
结果与 PFGE 结果一致, 进一步证实 SAH25 和 SAH26 为克隆株。



注: N/A 表示不能分型。

图1 22株医疗机构工作人员手分离金黄色葡萄球菌的PFGE聚类分析

Figure 1 PFGE profiles of 22 strains of SA from hands of medical staff



注: 等位基因差异的个数为图中显示数字的10倍; N/A 表示不能分型。

图2 22株医疗机构工作人员手分离金黄色葡萄球菌cgMLST聚类图

Figure 2 cgMLST clusters of 22 strains of SA from hands of medical staff

3 讨论

研究^[8]证实,医务人员被污染的手在金黄色葡萄球菌传播过程中发挥重要作用。甚至有研究^[9]表明医务人员的手作为重要的细菌传播载体,所造成的医院感染占总医院感染的 30% 左右。本研究中,医疗机构工作人员的手金黄色葡萄球菌分离率为 2.9%。张友平等^[10]报道广东省某医院医务人员手的 MRSA 检出率为 37.5%。综合 ICU 和老年科往往是金黄色葡萄球菌分离率较高的病区,医务人员为患者进行侵入性操作时,可导致医务人员手被污染的概率增加^[11],我国有医务人员手携带 MRSA 并导致 ICU 发生医院感染暴发的报道^[12]。已有研究^[13]显示,该院综合 ICU 和老年科临床住院患者金黄色葡萄球菌的分离率也较高,因此导致护理人员被污染的概率增加。国外研究^[14]发现,提高手卫生依从率可降低医院感染发病率,因此重视手卫生,做好手清洁、消毒,可以有效阻断金黄色葡萄球菌传播,预防医院感染。

根据耐药性和耐药基因携带情况,3 株菌被鉴定为 MRSA,分别来自不同医院、不同科室的护士、护工和医生,同时携带多种耐药基因和多种毒力基因,与医疗机构中 MRSA 的耐药性一致^[11]。值得注意的是,其中 1 株 MRSA 携带 *qacB*,*qacB* 是季铵盐类、双胍类消毒剂的耐药机制,也是细菌对碘伏、戊二醛消毒剂的耐药基因,主要因质子动力的多药外排导致耐药^[15]。由于 *qacA* 和 *qacB* 只有 7~9 个碱基序列不同,聚合酶链反应(PCR)很难将其区分,因此很多研究报道中均是将其作为耐消毒剂基因。*qacA*、*qacB* 尤其在 MRSA 菌株间广泛流行^[16-17],吴建国等^[18]研究表明,某医院中 *qacA*、*qacB* 在 MRSA 中的检出率为 17.1%;国内其他地区 *qacA*、*qacB* 在 MRSA 中的检出率为 38%~92%^[19];2011 年欧洲报道的 *qacA*、*qacB* 在 MRSA 中的检出率为 44%~63%^[20]; *qacA*、*qacB* 检出率的差异可能与地域不同、使用消毒剂的频次、习惯不同有关。*qacA*、*qacB* 位于质粒 pSK23 上,其介导对抗菌药物的耐药性能在细菌间传递,使敏感株获得耐药性^[21],因此 *qac* 基因的出现需引起人们重视。对医疗机构金黄色葡萄球菌进行耐消毒剂基因监测,可以为消毒剂的使用选择提供重要依据。

MLST 显示 22 株金黄色葡萄球菌型别高度多样化,没有优势 ST 型。PFGE 分型显示 PT3(SAH05

和 SAH10)和 PT8(SAH25 和 SAH26)中金黄色葡萄球菌的带型相似度很高(>95%),流行病学资料显示 SAH05 和 SAH10 来自不同医院的不同人员,其相关性较低。而 SAH25 和 SAH26 均为 ST72,于 2020 年 6 月 13 日分离自同一所医院护士的手,而且 cgMLST 结果显示该 2 株菌株的差异基因仅 10 个,进一步证实其为克隆株,可能是护士之间相互传播,也可能是均感染自相同的环节或患者。因此,及时找出病原菌、切断传播途径,是预防控制金黄色葡萄球菌医院感染的重要手段。

22 株金黄色葡萄球菌中 MSSA 比率较高,占 86.4%,尽管 3 株 MRSA 的耐药率远高于 MSSA,但是 MSSA 对红霉素、环丙沙星、四环素、左氧氟沙星也表现出不同程度的耐药性。研究^[22]报道 MSSA 对常用抗菌药物也有不同程度的耐药,因此临床应合理选用抗菌药物。本研究显示金黄色葡萄球菌的耐药性和其携带耐药基因并不完全一致,与笔者对 MRSA 菌株的监测结果一致,可能是由于耐药基因的表达受到各种因素的影响,不一定表现出耐药性。因此在金黄色葡萄球菌的监测中,耐药性和耐药基因的监测同样重要。

本研究中,MRSA 与 MSSA 携带毒力基因无明显差异,均携带较高的 *lukF-PV*(72.7%)和较低比率的 *tsst-1*(18.2%)和肠毒素基因(18.2%)。研究^[23]表明 MSSA 携带较高比例的 *tsst-1* 基因,其编码中毒休克综合征毒素 TSST-1^[24]。这可能与金黄色葡萄球菌的来源不同有关,研究^[25]发现不同疾病类型患者 TSST-1 阳性率比较,差异有统计学意义。

综上所述,上海市医疗机构工作人员手部金黄色葡萄球菌分离率为 2.9%。共检出 3 株 MRSA,且有 1 株携带 *qacB* 基因。PFGE 和 cgMLST 提示在某医院中可能存在以手作为传播载体的金黄色葡萄球菌克隆传播。因此,重视手卫生,合理选用消毒剂,持续加强医疗机构工作人员手部金黄色葡萄球菌的监测,预防与控制医疗机构中由金黄色葡萄球菌引起的医院感染。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of panton-valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia[J]. Clin Infect Dis,

- 1999, 29(5): 1128 - 1132.
- [2] World Health Organization. Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide[EB/OL]. [2021 - 11 - 20]. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/80135/9789241501507_eng.pdf;sequence=1.
- [3] 邵卫东. 手部卫生与医院感染[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(20): 2953 - 2954.
- Shao WD. Hand's hygiene and infection in hospitals[J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2007, 16(20): 2953 - 2954.
- [4] Boyce JM, Pittet D, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, et al. Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the healthcare infection control practices advisory committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA hand hygiene task force[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2002, 23(12 Suppl): S3 - S40.
- [5] 胡瑛, 文飞球, 梁静, 等. 新生儿重症监护病房医院感染肺炎克雷伯菌耐药性与同源性分析[J]. 儿科药学杂志, 2013, 19(11): 7 - 10.
- Hu Y, Wen FQ, Liang J, et al. Antibiotic resistance and homology of *Klebsiella pneumoniae* in hospital-acquired infections in the NICU[J]. Journal of Pediatric Pharmacy, 2013, 19(11): 7 - 10.
- [6] 胡瑛, 文飞球, 刘彝, 等. 新生儿、医务人员及环境分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的同源性[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(2): 142 - 145.
- Hu Y, Wen FQ, Liu B, et al. Homology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from neonates, health care workers, and environment[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2017, 16(2): 142 - 145.
- [7] Stephan R, Ziegler D, Pflüger V, et al. Rapid genus- and species-specific identification of *Cronobacter* spp. by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(8): 2846 - 2851.
- [8] Genç O, Arıkan I. The relationship between hand hygiene practices and nasal *Staphylococcus aureus* carriage in health-care workers[J]. Med Lav, 2020, 111(1): 54 - 62.
- [9] 何梅花. 手卫生在预防和控制医院感染中的作用[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(59): 151.
- He MH. The role of hand's hygiene in prevention and control of infection in hospital[J]. World Latest Medicine Information, 2017, 17(59): 151.
- [10] 张友平, 王凯, 徐敏丽, 等. 医务人员手耐甲氧西林金黄色葡萄球菌带菌状况及消毒效果的研究[J]. 护理学报, 2011, 18(24): 65 - 67.
- Zhang YP, Wang K, Xu ML, et al. MRSA-carrying hands of medical staff and its disinfection[J]. Journal of Nursing(China), 2011, 18(24): 65 - 67.
- [11] 范水英, 龙素芬, 刘艳阳. 医院感染与护理人员手污染的研究[J]. 当代护士, 2018(5): 37 - 38.
- Fan SY, Long SF, Liu YY. Investigation of hands' contamination in hospitals[J]. Modern nurse, 2018(5): 37 - 38.
- [12] 赵文凯. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌暴发流行的调查研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(1): 64.
- Zhao WK. Investigation of outbreak caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2008, 18(1): 64.
- [13] 陈泰尧, 葛忆琳, 刘雪薇, 等. 2017—2018 年上海某医院耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分子生物学特征研究[J]. 中华预防医学杂志, 2020, 54(8): 849 - 853.
- Chen TY, Ge YL, Liu XW, et al. Molecular epidemiological characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during 2017 - 2018 at a hospital in Shanghai[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2020, 54(8): 849 - 853.
- [14] 甘露, 周炼红, 吴之坤, 等. 眼科感染性疾病的病原菌种类及耐药性分析[J]. 临床血液学杂志, 2015, 28(8): 712 - 714.
- Gan L, Zhou LH, Wu ZK, et al. Species and antimicrobial resistance of pathogenic bacteria causing infections in department of ophthalmology[J]. Journal of Clinical Hematology, 2015, 28(8): 712 - 714.
- [15] Putman M, van Veen HW, Konings WN. Molecular properties of bacterial multidrug transporters[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2000, 64(4): 672 - 693.
- [16] Alam MM, Kobayashi N, Uehara N, et al. Analysis on distribution and genomic diversity of high-level antiseptic resistance genes *qacA* and *qacB* in human clinical isolates of *Staphylococcus aureus*[J]. Microb Drug Resist, 2003, 9(2): 109 - 121.
- [17] Noguchi N, Suwa J, Narui K, et al. Susceptibilities to antiseptic agents and distribution of antiseptic-resistance genes *qacA/B* and *smr* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Asia during 1998 and 1999[J]. J Med Microbiol, 2005, 54(Pt 6): 557 - 565.
- [18] 吴建国, 黄余清, 严明, 等. 金黄色葡萄球菌耐消毒剂基因的检测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(3): 340 - 345.
- Wu JG, Huang YQ, Yan M, et al. Detection of disinfectant-resistant gene in *Staphylococcus aureus*[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2016, 16(3): 340 - 345.
- [19] Song Y, Du X, Li TM, et al. Phenotypic and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* recovered from different clinical specimens of inpatients at a teaching hospital in Shanghai between 2005 and 2010[J]. J Med Microbiol, 2013, 62(Pt 2): 274 - 282.
- [20] Fluit AC, Wielders CL, Verhoef J, et al. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(10): 3727 - 3732.
- [21] Nakaminami H, Noguchi N, Nishijima S, et al. Transduction of the plasmid encoding antiseptic resistance gene *qacB* in *Staphylococcus aureus*[J]. Biol Pharm Bull, 2007, 30(8): 1412 - 1415.

- [22] Deasy EC, Brennan GI, Tecklenborg SC, et al. A molecular epidemiological investigation of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infections in Ireland, 2006 – 2017[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38(5): 927 – 936.
- [23] Bonsaglia ECR, Silva NCC, Rossi BF, et al. Molecular epidemiology of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) isolated from milk of cows with subclinical mastitis [J]. Microb Pathog, 2018, 124: 130 – 135.
- [24] Kim HK, Garcia AB, Siu E, et al. Macrophage migration inhibitory factor regulates innate $\gamma\delta$ T-cell responses via IL-17 expression[J]. FASEB J, 2019, 33(6): 6919 – 6932.
- [25] 董秀慧, 范玉, 张树元, 等. 皮肤软组织感染分离的甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 TSST-1 基因及耐药性[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(16): 2498 – 2501.
- Dong XH, Fan Y, Zhang SY, et al. TSST-1 gene in methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* isolated from patients with

skin and soft tissue infection and drug resistance[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2020, 30(16): 2498 – 2501.

(本文编辑:陈玉华)

本文引用格式:陈泰尧,陈雯杰,常兆玉,等.上海市医疗机构工作人员手污染金黄色葡萄球菌的分子生物学特征及耐药性[J].中国感染控制杂志,2022,21(4):368–376. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20222170.

Cite this article as: CHEN Tai-yao, CHEN Wen-jie, CHANG Zhao-yu, et al. Molecular biological characteristics and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* contaminated on hands of medical staff in Shanghai City[J]. Chin J Infect Control, 2022, 21(4): 368 – 376. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20222170.