

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20222067

· 论 著 ·

金黄色葡萄球菌感染的临床特征及毒力基因分布

李 静, 胡同平, 张文兰, 李雅倩, 李洪甫

(包头医学院第一附属医院检验科, 内蒙古 包头 014010)

[摘要] **目的** 研究不同感染类型的金黄色葡萄球菌(SA)临床特征及毒力基因分布情况。**方法** 收集 2018 年 1 月—2020 年 12 月包头市参加全国细菌耐药监测网 11 所成员医院临床分离的 SA。回顾性分析纳入菌株的患者病历资料, 分析其感染临床特征及耐药性。将菌株进行分层抽样, 从中抽取样本作为试验菌株进行毒力基因检测。采用 WHONET 5.6 及 SPSS 22.0 软件进行数据分析。**结果** 共收集 SA 2 452 株。其中外科感染 932 例, 呼吸道感染 504 例, 血流感染 172 例, 其他类型感染 844 例。SA 感染患者以男性为主(68.23%)。不同性别、年龄 SA 感染患者的感染类型分布情况比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)。外科感染、呼吸道感染、血流感染主要以 < 60 岁患者为主。外科感染患者住院时间 > 2 周的比率较高, 占 39.21%。呼吸道感染 SA 患者的病死率较高, 为 76.39%。不同感染类型患者的白细胞数、中性粒细胞、中性粒细胞百分比、血小板计数、凝血酶原时间水平比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。不同感染类型患者的 C 反应蛋白、降钙素原、白细胞介素-6、D-二聚体、纤维蛋白原降解产物水平比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。不同感染类型 MRSA 对环丙沙星、庆大霉素、左氧氟沙星、莫西沙星的耐药率比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。*clfa*、*clfb*、*scn*、*coa*、*nuc*、*hla*、*hld* 基因在不同感染类型中均具有较高的携带率($> 94\%$)。LukED 在外科感染中所占比率高于其他 3 种感染类型, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 临床分离的 SA 携带较多毒力基因, 毒性较强, 且不同感染类型 SA 耐药性存在差异。

[关键词] 金黄色葡萄球菌; 毒力基因; 感染类型; 临床特征

[中图分类号] R378.1⁺1

Clinical characteristics and distribution of virulence genes of *Staphylococcus aureus* infection

LI Jing, HU Tong-ping, ZHANG Wen-lan, LI Ya-qian, LI Hong-fu (Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010, China)

[Abstract] **Objective** To study the clinical characteristics and virulence gene distribution of *Staphylococcus aureus* (SA) of different infection types. **Methods** SA isolated from 11 member hospitals in Baotou which participates the national bacterial resistance monitoring network from January 2018 to December 2020 were collected. Medical records of patients with included strains were analyzed retrospectively, clinical characteristics of infection and antimicrobial resistance were analyzed. The strains were conducted stratified sampling, samples were taken as the tested strains for virulence gene detection. WHONET 5.6 and SPSS 22.0 software were used for data analysis. **Results** A total of 2 452 SA strains were collected. There were 932 cases of surgical infection, 504 cases of respiratory tract infection, 172 cases of blood stream infection and 844 cases of other types of infection. Patients with SA infection were mainly females (68.23%). There were significant differences in the distribution of infection types among SA infected patients of different gender and age (all $P < 0.001$). Surgical infection, respiratory tract infection and blood stream infection mainly occurred in patients < 60 years old. Patients with surgical infection had a higher proportion of hospitalization time > 2 weeks, accounting for 39.21%. The mortality of patients with SA respiratory tract in-

[收稿日期] 2021-12-01

[基金项目] 内蒙古自治区自然科学基金[2016MS(LH)0824]; 包头市医药卫生科技计划项目(wsjj2013080); 包头医学院科学研究基金项目-扬帆计划(BYJJ-YF-201691)

[作者简介] 李静(1996-), 女(汉族), 山东省陵县人, 检验师, 主要从事细菌耐药研究。

[通信作者] 胡同平 E-mail: hutongping1976@126.com

fection was 76.39%. The levels of white blood cell count, neutrophil count, percentage of neutrophils, platelet count, and prothrombin time in patients with different types of infection were all significantly different (all $P < 0.05$). There were significant differences in the levels of C-reactive protein, procalcitonin, interleukin-6, D-dimer, and fibrinogen degradation products of patients with different infection types (all $P < 0.05$). Antimicrobial resistance rates of MRSA causing different types of infection to ciprofloxacin, gentamicin, levofloxacin and moxifloxacin were significant (all $P < 0.05$). Carrying rate of *clfa*, *clfb*, *scn*, *coa*, *nuc*, *hla*, *hld* were all high in different types of infection (>94), proportion of *LukED* in surgical infection was higher than that of the other three types of infection, difference was significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Clinically isolated SA carries more virulence genes and has high toxicity, and there are differences in antimicrobial resistance among different types of SA infection.

[Key words] *Staphylococcus aureus*; virulence gene; infection type; clinical characteristic

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA)作为一种侵袭性细菌,可存在于不同组织类型中而引起多种疾病^[1],从浅表皮肤损伤到危及生命的中毒或菌血症。SA 广泛的致病性和对抗菌药物的耐药性均由所携带的毒力基因所致。毒力基因编码产物可以表达分泌多种与细胞表面相关的毒力因子,从而促进 SA 与宿主细胞外基质成分黏附、对宿主细胞的损伤、与宿主免疫系统的对抗^[2]。已知 SA 至少有 25 种不同的毒素、15 种微生物表面成分、20 种免疫逃避分子和其他几种毒力因子。同时 SA 菌株又是异质性的,不同的耐药性和毒力模式决定宿主不同的临床感染程度和结局。鉴于 SA,尤其是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)对多种抗菌药物的耐药性,给临床治疗带来极大困难,因此,从基因水平阐述 SA 的致病机制,对于制定新的治疗措施至关重要。现将临床分离 SA 的临床特征、毒力基因携带情况及耐药情况报告如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集 2018 年 1 月—2020 年 12 月包头市参加全国细菌耐药监测网 11 所成员医院临床分离的 SA,标本主要来源于上述医院门诊及住院患者的临床送检标本,所有标本均来源于不同患者。将收集到的菌株按照医院进行分层抽样,从中抽取样本作为试验菌株进行毒力基因检测。质控菌株:金黄色葡萄球菌 ATCC 25923,购于卫生部临床检验中心。

1.2 资料来源 回顾性分析纳入菌株来源患者的病历资料,收集临床资料,包括年龄、性别、基础疾病、住院时间、预后和感染相关指标。

1.3 分组 根据患者预后情况的不同将预后分为治愈;治愈出院;未治愈;自动出院(包括转院);死亡。

1.4 仪器及试剂 XN-10(B4)全自动模块式血液体液分析仪、ACLTOP700 全自动血凝仪、PA-990 特定蛋白仪、Cobas e411 罗氏电化学发光仪、PCR 扩增仪(美国 Bio-Rad)、凝胶成像仪及凝胶电泳仪(美国 Bio-Rad)、VITEK 2 Compact 微生物分析仪(法国梅里埃);MH 琼脂和含 5%脱纤维羊血 MH 琼脂为英国 OXOID 公司产品、抗菌药物纸片和利奈唑胺 E 试验条为法国生物梅里埃公司产品、青霉素和万古霉素 E 试验条为郑州安图生物工程股份有限公司产品;基因组提取试剂盒、PCR 试剂、DNA marker 以及 PCR 引物均来自北京瀚海拓新公司产品。

1.5 方法

1.5.1 感染相关指标的检测 采用 XN-10(B4)全自动模块式血液体液分析仪检测白细胞数(WBC)、C 反应蛋白(CRP)、中性粒细胞计数(N)、中性粒细胞百分比(N%)、血小板计数(PLT);ACLTOP700 全自动血凝仪检测纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)、纤维蛋白原降解产物(FDP)、凝血酶原时间(PT);PA-990 特定蛋白仪检测血清淀粉样蛋白(SAA);Cobas e411 罗氏电化学发光仪检测降钙素原(PCT)、白细胞介素-6(IL-6)。

1.5.2 细菌鉴定与药敏试验 参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)2019 年版^[3]文件推荐的方法进行判断,采用 KB 法联合全自动药敏仪法。采用法国生物梅里埃 VITEK 2 Compact 或美国 BD 公司的全自动细菌鉴定和药敏仪及配套检测卡进行细菌鉴定和药敏试验。

1.5.3 DNA 提取 将收集的金黄色葡萄球菌接种到血平板 37℃ 过夜培养,挑取菌落至裂解液中制成菌悬液后,按照基因组提取试剂盒说明提取金黄色葡萄球菌基因组,-20℃ 保存备用。

1.5.4 毒力基因的检测 采用 PCR 法检测毒力基因的表达情况。反应程序为预变性 94℃ 5 min,变性 94℃ 60 s,退火 55℃ 60 s,延伸 72℃ 60 s,共 25

个循环,最后延伸 72℃ 10 min。同时设置阳性对照和阴性对照,阳性对照为人工合成的目标基因 DNA 片段,阴性对照为蒸馏水。PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳,用凝胶成像仪观察和保存扩增结果。PCR 引物序列及产物长度见表 1。

1.5.5 统计学方法 应用 WHONET 5.6 及 SPSS 22.0 统计软件对数据进行分析。采用 χ^2 检验或 χ^2 分割法进行比较;符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差表示,非正态计量资料以中位数表示。 $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

表 1 PCR 引物序列和扩增片段大小

Table 1 PCR primer sequences and size of amplified fragments

毒力基因	引物序列(3'—5')		产物长度 (bp)
<i>scn</i>	P1:ATACTTGC GGGAAC TTTAGCAA	P2:TTTTAGTGCTTCGTCAATTTTCG	320
<i>chp</i>	P1:TTTTTAACGGCAGGAATCAGTA	P2:TGCATATTCATTAGTTTTTCCAGG	404
<i>sak</i>	P1:TGAGGTAAGTGCATCAAGTTCA	P2:CCTTTGTAATTAAGTTGAATCCAGG	403
<i>coa</i>	P1:CCGCTTCAACTTCAGCCTAC	P2:TTAGGTGCTACAGGGGCAAT	204
<i>nuc</i>	P1:AGTTCAGCAAATGCATCACA	P2:TAGCCAAGCCTTGACGAACT	400
<i>ebps</i>	P1:CATCCAGAACCAATCGAAGAC	P2:AGTTACATCATCATGTTTATCTTTTG	188
<i>eno</i>	P1:ACGTGCAGCAGCTGACT	P2:CAACAGCATCTTCAGTACCTTC	301
<i>cna</i>	P1:AAAGCGTTGCCTAGTGGAGA	P2:AGTGCCTTCCCAAACCTTTT	192
<i>bbp</i>	P1:AACTACATCTAGTACTCAACAACAG	P2:ATGTGCTTGAATAACACCATCATCT	574
<i>fnbB</i>	P1:GTAACAGCTAATGGTCAATTGATACT	P2:CAAGTTCGATAGGAGTACTATGTTC	524
<i>clfa</i>	P1:ATTGGCGTGGCTTCAGTGCT	P2:CGTTTCTTCCGTAGTTGCATTTG	292
<i>clfb</i>	P1:GCAGCATTTACTACCGGTTT	P2:CTACAACAGAGCCAGCTTCA	301
<i>seb</i>	P1:ATTCTATTAAGGACACTAAGTTAGGGA	P2:ATCCCGTTTCATAAGGCGAGT	404
<i>seh</i>	P1:CAATCACATCATATGCGAAAGCAG	P2:CATCTACCCAAACATTAGCACC	376
<i>tsst</i>	P1:TTCACTATTTGTAAAAGTGTGACACCCACT	P2:TACTAATGAATTTTTTTATCGTAAGCCCTT	180
<i>eta</i>	P1:ACTGTAGGAGCTAGTGCATTTGT	P2:TGGATACTTTTGTCTATCTTTTTCATCAAC	190
<i>pvl</i>	P1:ATCATTAGGTAATAATGTCTGGACATGATCCA	P2:GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAAGC	433
<i>LukE-LukD</i>	P1:TGAAAAAGGTTCAAAGTTGATACGAG	P2:TGTATTTCGATAGCAAAAAGCAGTGCA	269
<i>hla</i>	P1:CTGATTACTATCCAAGAAATTCGATTG	P2:CTTTCCAGCCTACTTTTTTATCAGT	209
<i>hld</i>	P1:AAGAATTTTTATCTTAATTAAGGAAGGAGTG	P2:TTAGTGAATTTGTTCCTACTGTGTCTCGA	111

2 结果

2.1 收集菌株情况 2018 年 1 月—2020 年 12 月共收集 SA 2 452 株。2 452 例 SA 感染患者中外科感染(包括脓肿、伤口感染)932 例,呼吸道感染 504 例,血流感染 172 例,其他类型感染 844 例。

2.2 不同感染类型患者的临床特征 2 452 例 SA 感染患者以男性为主(68.23%),不同感染类型 SA 的患者人群分布也以男性为主。不同性别、年龄 SA 感染患者的感染类型分布情况比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)。外科感染、呼吸道感染、血流感染主要以 < 60 岁患者为主。外科感染患者住院时间 > 2 周的比率较高,占 39.21%。呼吸道

感染 SA 患者的病死率较高,为 76.39%。见表 2。

2.3 不同感染类型患者的感染相关指标特征 无论何种感染类型,WBC、N%、PLT、CRP、IL-6 均高于正常范围。不同感染类型患者的 WBC、N、N%、PLT、PT 水平比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 3。不同感染类型患者的 CRP、PCT、IL-6、D-D、FDP 水平比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 4。

2.4 不同感染类型 SA 毒力基因检出情况 将 2 452 株 SA 按照医院进行分层抽样,从中抽取一个容量为 80 的样本作为试验菌株进行毒力基因检测。其中 38 株 SA 来源于外科感染标本,9 株来源于呼吸道感染标本,10 株来源于血流感染标本,23 株来源于其他感染标本。80 株菌株几乎都携带 *clfa*(100.00%)、

表 2 不同感染类型 SA 感染患者的临床特征

Table 2 Clinical characteristics of patients with different types of SA infection

基本特征	患者例数 (n = 2 452)	外科感染 (n = 932)	呼吸道感染 (n = 504)	血流感染 (n = 172)	其他感染 (n = 844)	χ^2	P
性别						138.009	<0.001
男性	1 673	587(35.09)	282(16.85)	103(6.16)	701(41.90)		
女性	779	345(44.29)	222(28.50)	69(8.86)	143(18.35)		
年龄(岁)						605.388	<0.001
<60	1 496	615(41.11)	338(22.59)	138(9.23)	405(27.07)		
≥60	956	317(33.16)	166(17.36)	34(3.56)	439(45.92)		
基础疾病							
高血压	550	200(36.36)	124(22.55)	40(7.27)	186(33.82)	2.015	0.569
糖尿病	325	130(40.00)	55(16.92)	30(9.23)	110(33.85)	5.453	0.141
心脏疾病	298	103(34.56)	70(23.49)	20(6.71)	105(35.23)	2.592	0.459
住院时间>2周	1 260	494(39.21)	393(31.19)	120(9.52)	253(20.08)	7.960	0.047
预后						201.615	<0.001
治愈	1 980	858(43.33)	393(19.85)	138(6.97)	591(29.86)		
未治愈	400	74(18.50)	56(14.00)	17(4.25)	253(63.25)		
死亡	72	0(0.00)	55(76.39)	17(23.61)	0(0.00)		

表 3 不同感染类型患者的感染相关指标特征($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Characteristics of infection-related indicators in patients with different types of infection($\bar{x} \pm s$)

感染相关指标	外科感染 (n = 932)	呼吸道感染 (n = 504)	血流感染 (n = 172)	其他感染 (n = 844)	F	P
WBC($\times 10^9/L$)	9.94 ± 4.44	12.00 ± 5.04	12.19 ± 5.44	10.96 ± 4.44	3.683	0.012
N($\times 10^9/L$)	6.36 ± 3.01	10.16 ± 4.11	10.82 ± 4.82	8.36 ± 3.86	17.109	<0.001
N%	68.46 ± 14.05	80.58 ± 14.18	81.34 ± 16.19	72.67 ± 16.06	12.337	<0.001
PLT($\times 10^9/L$)	242.54 ± 73.72	204.20 ± 86.63	150.69 ± 70.01	279.74 ± 114.40	19.285	<0.001
PT(s)	12.29 ± 1.48	13.39 ± 4.29	13.79 ± 4.06	12.22 ± 1.89	3.698	0.012

表 4 不同感染类型患者的感染相关指标特征[M(P_{25} , P_{75})]

Table 4 Characteristics of infection-related indicators in patients with different types of infection (M [P_{25} , P_{75}])

感染相关指标	外科感染 (n = 932)	呼吸道感染 (n = 504)	血流感染 (n = 172)	其他感染 (n = 844)	K	P
CRP(mg/L)	27.30(3.83,65.32)	69.60(26.60,130.75)	103.70(38.33,164.32)	37.45(13.22,85.00)	27.443	<0.001
PCT(ng/mL)	0.09(0.05,0.28)	0.28(0.13,0.94)	2.72(0.50,13.38)	0.13(0.07,0.80)	36.772	<0.001
IL-6(pg/mL)	23.49(10.89,71.63)	40.18(15.79,116.20)	157.70(39.69,953.75)	36.14(18.00,120.35)	14.935	0.002
FIB(g/L)	3.84(3.08,4.84)	4.12(3.18,4.97)	4.20(3.53,7.60)	4.07(3.24,4.96)	2.851	0.415
D-D(μ g/mL)	0.37(0.18,0.980)	1.04(0.58,2.28)	1.00(0.46,1.75)	0.38(0.16,0.80)	33.427	<0.001
FDP(μ g/mL)	2.90(1.37,8.27)	8.54(4.54,14.78)	10.20(5.76,15.41)	3.93(1.29,5.93)	30.458	<0.001
SAA(mg/L)	29.15(15.09,76.10)	124.60(75.05,157.78)	-	99.00(44.69,208.46)	5.376	0.146

clfb(98.75%)、*scn*(93.75%)、*coa*(97.50%)、*nuc*(100.00%)、*hla*(100.00%)、*hld*(100.00%)基因。*sak*基因阳性株72株(90.00%)，*fnbB*基因阳性株

39株(48.75%)，*eno*基因阳性株69株(86.25%)，*ebps*基因阳性株12株(15.00%)，*chp*基因阳性株63株(78.75%)，*cna*基因阳性株24株(30.00%)。

bbp 基因仅存在于外科感染和血流感染(共 3 株, 3.75%),*eta* 基因仅在其他感染中携带(1 株, 1.25%),*pvl* 和 *seb* 基因阳性株分别为 23 株(28.75%)、26 株(32.50%),*tsst* 基因仅在外科感染和呼吸道感染中携带(2 株, 2.50%),*seh* 基因存在于外科感染和

血流感染(5 株, 6.25%)。*LukED* 基因阳性株 26 株(32.50%), 且在外科感染中的检出率高于其他 3 种感染类型, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。毒力基因电泳图见图 1。

表 5 不同感染类型 SA 毒力基因检出情况[株(%)]

Table 5 Detection of SA virulence genes in different infection types (No. of isolates[%])

基因	检出菌株数 (n = 80)	外科感染 (n = 38)	呼吸道感染 (n = 9)	血流感染 (n = 10)	其他类型感染 (n = 23)	χ^2	P
<i>clfa</i>	80	38(47.50)	9(11.25)	10(12.50)	23(28.75)	-	-
<i>clfb</i>	79	38(48.10)	9(11.39)	10(12.66)	22(27.85)	-	-
<i>fnbB</i>	39	17(43.59)	3(7.69)	5(12.82)	14(35.90)	2.460	0.483
<i>eno</i>	69	34(49.28)	7(10.14)	8(11.59)	20(28.99)	1.217	0.749
<i>ebps</i>	12	7(58.33)	1(8.33)	2(16.67)	2(16.67)	1.369	0.713
<i>scn</i>	75	36(48.00)	8(10.67)	10(13.33)	21(28.00)	1.328	0.723
<i>coa</i>	78	37(47.44)	9(11.54)	10(12.82)	22(28.20)	0.812	0.847
<i>chp</i>	63	31(49.21)	7(11.11)	5(7.94)	20(31.74)	6.052	0.109
<i>sak</i>	72	35(48.61)	9(12.50)	8(11.11)	20(27.78)	2.535	0.469
<i>nuc</i>	80	38(47.50)	9(11.25)	10(12.50)	23(28.75)	-	-
<i>cna</i>	24	13(54.17)	2(8.33)	5(20.83)	4(16.67)	4.226	0.238
<i>bbp</i>	3	2(66.67)	0(0.00)	1(33.33)	0(0.00)	2.570	0.463
<i>eta</i>	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(100.00)	-	-
<i>pvl</i>	23	7(30.44)	3(13.04)	5(21.74)	8(34.78)	4.684	0.196
<i>seb</i>	26	10(38.46)	5(19.23)	3(11.54)	8(30.77)	2.926	0.403
<i>tsst</i>	2	1(50.00)	1(50.00)	0(0.00)	0(0.00)	3.587	0.310
<i>hla</i>	80	38(47.50)	9(11.25)	10(12.50)	23(28.75)	-	-
<i>hld</i>	80	38(47.50)	9(11.25)	10(12.50)	23(28.75)	-	-
<i>seh</i>	5	3(60.00)	0(0.00)	2(40.00)	0(0.00)	5.535	0.137
<i>LukED</i>	26	17(65.39)	0(0.00)	4(15.38)	5(19.23)	8.398	0.038

注：- 表示未统计。

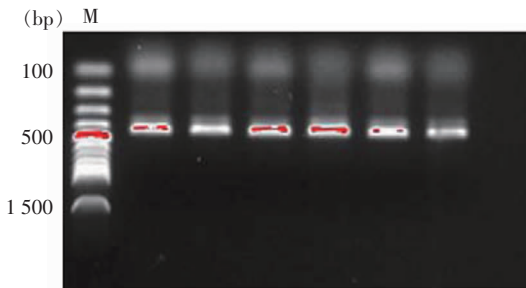


图 1 毒力基因 *pvl* 扩增产物电泳图

Figure 1 Electrophoretic map of amplified product of *pvl* virulence gene

2.5 不同感染类型 MRSA 与 MSSA 的耐药情况

不同感染类型患者检出 MRSA 的耐药率大多高于 MSSA。不同感染类型患者检出 MRSA 对青霉素 G、克林霉素、红霉素的耐药率均高于 72.60%。未发现对万古霉素、利奈唑胺、替考拉宁耐药的菌株。血流感染 MRSA 对环丙沙星、复方磺胺甲噁唑的耐药率较高, 均为 45.8%; 呼吸道感染 MRSA 对庆大霉素、左氧氟沙星、莫西沙星、利福平的耐药率较高, 分别为 31.71%、47.56%、41.46%、20.73%; 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 6。

表 6 不同感染类型检出 MRSA 与 MSSA 对常用抗菌药物的耐药率(%)

Table 6 Resistance rates of MRSA and MSSA causing different types of infection to commonly used antimicrobial agents (%)

抗菌药物	外科感染		呼吸道感染		血流感染		其他类型感染		χ^2	P*
	MRSA (n=109)	MSSA (n=823)	MRSA (n=82)	MSSA (n=422)	MRSA (n=24)	MSSA (n=148)	MRSA (n=102)	MSSA (n=742)		
苯唑西林	100.00	0.00	100.00	0.00	100.00	0.00	100.00	0.00	-	-
青霉素 G	100.00	91.37	100.00	90.28	100.00	81.76	100.00	92.05	-	-
红霉素	80.73	91.25	82.93	67.06	91.67	61.49	89.22	71.16	4.131	0.248
克林霉素	75.23	70.96	72.60 [#]	46.68	73.90 [#]	41.22	80.39	55.26	1.718	0.633
四环素	44.95	55.41	43.90	8.06	54.17	2.70	35.29	5.26	4.233	0.237
环丙沙星	24.77	8.14	40.24	11.37	45.83	11.49	21.57	6.20	10.080	0.018
庆大霉素	18.35	9.11	31.71	17.77	29.17	16.22	14.71	11.05	10.083	0.018
左氧氟沙星	18.35	18.83	47.56	11.14	40.00 [#]	10.81	18.63	5.26	27.536	<0.001
莫西沙星	15.60	8.51	41.46	9.72	25.00	8.11	11.76	3.23	28.316	<0.001
利福平	11.93	23.57	20.73	0.24	16.67	0.20	4.90	0.27	10.051	0.018
万古霉素	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-
利奈唑胺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-
替考拉宁	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-
复方磺胺甲噁唑	14.68	5.95	19.51	29.62	45.83	24.32	16.67	19.27	10.944	0.012

注：* 表示不同感染类型患者检出 MRSA 的耐药率比较；# 表示部分菌株未做该抗菌药物的药敏检测。

3 讨论

本研究中,不同感染类型的 SA 感染患者人群分布以男性为主。Katoulis 等^[4]研究发现,化脓性汗腺炎/痤疮是一种好发于腋窝、腹股沟和肛门生殖器汗腺承载区域的毛囊皮肤病,患有该类疾病的人群,其 SA 定植率略高于普通人群。与女性相比,男性因雄激素作用,毛发长,油脂分泌多,使 SA 定植率更高^[5],从而好发 SA 感染。研究^[6]表明,SA 感染随年龄增长而增加,而 Anderson 等^[7]表明 SA 感染在年轻患者中更常见。本研究发现 SA 感染患者多数<60 岁,此结果是否与 SA 体表携带有关还有待研究。

本研究发现,外科感染 SA 患者住院日数>2 周的比率较高,其次为呼吸道感染;呼吸道感染 SA 患者的病死率较高,其次为血流感染。本研究 2 452 例病例中,血流感染 SA 患者多数患有血液病、免疫缺陷疾病等全身反应性疾病;而呼吸道感染 SA 患者多数合并其他疾病,如脑卒中、脑外伤等,多数长期卧床,易增加治疗难度,延长住院时间。国外研究^[8-9]表明,长时间住院、中心静脉置管等是 MRSA 感染的危险因素,因此呼吸道感染及血流感染 SA 患者增加

了 MRSA 感染的风险,常常预后不佳,病死率高。

血流感染 SA 患者感染时常导致全身炎症反应,使 WBC、N、N%、PT、PLT 等感染指标发生变化。本研究发现,血流感染 WBC、N、N%、PT、CRP、PCT、IL-6 和 FDP 水平均高于其他三种感染类型。研究^[10]表明 PCT 水平能反映脓毒症患者病情的严重程度及评价后续治疗效果;而 D-D、FDP 水平在血流感染中升高后续可预测弥散性血管内凝血(DIC)。因此,积极监测血流感染 SA 患者的 CRP、PCT、IL-6、D-D 和 FDP 等感染指标,对感染的诊断及治疗具有重要意义。

本研究对 80 株 SA 的 20 个毒力基因进行检测,发现 80 株 SA 均携带 *clfa*、*nuc*、*hla*、*hld* 基因,90%以上的菌株携带 *clfb*、*scn*、*coa*、*sak* 基因。其中黏附素基因 *fnbB* 基因检出率为 48.75%,*bbp* 基因检出率为 3.75%,白细胞毒素 *pvl* 基因检出率为 28.75%,*LukED* 基因在外科感染中的检出率高于其他三种感染类型。

SA 生物被膜的形成可以使细菌躲避人体免疫系统的攻击,从而导致慢性感染和复发感染。研究^[11]表明,70%以上的感染与生物膜的形成有关,而致病性的 SA 在表面形成生物膜的能力则更强。生物膜的形成通常被描述为两个主要阶段:黏附和增殖。

黏附阶段主要由黏附素基因所介导,该基因主要包括 *clfa*、*clfb*、*fnbA*、*fnbB*、*cna*、*bbp*、*ebps* 和 *eno*。*clfa* 基因所表达的纤维蛋白原结合蛋白,能够与血小板结合,并促进 SA 在血浆中的聚集^[12]。而 *clfb* 基因的表达使 SA 具有定植于鼻上皮细胞的能力^[13],同时,该基因也是导致脓毒症转移性感染的关键毒力因子。本研究中,*clfa* 基因的检出率为 100%,与研究^[14]结果一致。*clfa* 和 *clfb* 基因的高流行率表明该基因在 SA 的致病性以及不同表面的定植中起决定性作用。

fnbA 和 *fnbB* 基因表达的纤维连接蛋白结合蛋白可以作为信号细胞和肌动蛋白细胞骨架重排的中介物,同时该基因能够促进 SA 在组织中的侵袭^[15]。*fnbB* 基因在角膜炎、骨髓炎、医疗器械表面阳性率较高,在骨科感染患者分离的菌株中也常检测到。本研究 *fnbB* 基因的检出率为 48.75%,在 Soltani 等^[16]的研究中其检出率为 43.6%,而在一项关于血流感染的研究^[17]中其检出率为 29.5%,表明 *fnbB* 基因具有异质性特点,在不同的临床标本中其检出率具有差异。

本研究 *bbp* 基因的检出率仅为 3.75%,与 Kot 等^[18]结论类似。既往研究^[19]表明,SA 携带 *bbp* 基因比携带其他生物膜相关的基因产生更强的生物膜,但由于其流行率较低导致研究受到限制。*bbp* 基因可以编码一种与骨涎蛋白有亲和力的蛋白质,也有研究^[20]表明其与血源性骨髓炎或关节炎显著相关。这一发现也解释了本研究中携带 *bbp* 基因的 3 例患者,其中 2 例腰椎管狭窄,另外 1 例患有急性骨髓炎。

白细胞毒素 *pvl* 是临床感染的内源性宿主,对中性粒细胞有重要的细胞毒作用^[21]。在低浓度时会导致细胞凋亡,高浓度时会导致坏死。相关报道^[22]显示,*pvl* 基因的阳性率为 2%~35%,本研究中 28.75%的阳性率接近类似研究的上限。同时 *pvl* 基因表达水平的提高能增加 MRSA 的毒性,引起病死率高达 75%的坏死性肺炎^[22]。白细胞毒素 *LukED* 通过形成低聚孔隙样结构导致中性粒细胞和淋巴细胞的死亡。研究^[23]表明,*LukED* 基因在不同 SA 感染类型中的检出率存在差异,如血流感染中 *LukED* 基因的检出率高于呼吸道感染。本研究中 *LukED* 基因在外科感染(44.74%)和血流感染(40.00%)中的检出率均高于呼吸道感染(0)和其他类型感染(21.74%)。说明相比于呼吸道感染和其他类型感染,血流感染和外科感染的 SA 更容易携带 *LukED* 基因,可能具有更高的致病性。

分析不同感染类型 MRSA 药敏结果发现,不同感染类型 MRSA 的耐药率大多高于 MSSA 的耐药率。未发现对万古霉素、利奈唑胺、替考拉宁耐药的菌株。同时,不同感染类型 MRSA 对环丙沙星、庆大霉素、左氧氟沙星、莫西沙星等的耐药率比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。在 4 种感染类型中,呼吸道感染 MRSA 患者对多数常用抗菌药物的耐药率最高,表明应重视呼吸道感染 MRSA 的用药情况,同时表明痰培养及多次送检具有重要的参考意义。血流感染患者对多数抗菌药物耐药率较高,对复方磺胺甲噁唑的耐药率在 4 种感染类型中最高,表明发生 MRSA 血流感染时可选用耐药率较低的莫西沙星和利福平作为治疗药物。外科感染相较于血流感染和呼吸道感染,其 MRSA 耐药率较低,因此大环内酯类和喹诺酮类仍是外科感染时经验用药的首选。本研究表明,临床治疗 MRSA 感染时,应根据不同的感染类型、耐药特点,选用不同的治疗方案,针对性用药。

综上所述,不同感染类型 SA 携带多种毒力基因,且对多种抗菌药物耐药。临床医务人员应加强 SA 的耐药及毒力动态监测,合理选择抗菌药物,有效控制 SA 感染流行。同时本研究也存在一定的局限性,进行毒力基因检测的菌株数量少,仅对 SA 的耐药特点、临床特征及毒力基因的携带情况进行阐述,对 SA 产生高毒力的原因仍不明确,还需结合流行病学特征以及毒力调控系统等方面对 SA 致病机制进一步探索。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 纵帅,徐银海,丁兴龙,等. 万古霉素对徐州地区 2015—2019 年 MRSA 最低抑菌浓度值漂移特征[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(11): 991-995.
Zong S, Xu YH, Ding XL, et al. Characteristics of minimum inhibitory concentration drift of vancomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Xuzhou in 2015-2019[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(11): 991-995.
- [2] Atshan SS, Hamat RA, Coolen MJL, et al. The role of subinhibitory concentrations of daptomycin and tigecycline in modulating virulence in *Staphylococcus aureus*[J]. Antibiotics (Basel), 2021, 10(1): 39.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100-S29[S].

- CLSI, 2019.
- [4] Katoulis A, Koumaki V, Efthymiou O, et al. *Staphylococcus aureus* carriage status in patients with hidradenitis suppurativa; an observational cohort study in a tertiary referral hospital in Athens, Greece[J]. *Dermatology*, 2020, 236(1): 31–36.
- [5] Olsen K, Falch BM, Danielsen K, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage is associated with serum 25-hydroxyvitamin D levels, gender and smoking status. The Tromsø staph and skin study[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012, 31(4): 465–473.
- [6] Chen TY, Anderson DJ, Chopra T, et al. Poor functional status is an independent predictor of surgical site infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in older adults[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2010, 58(3): 527–532.
- [7] Anderson DJ, Chen LF, Schmader KE, et al. Poor functional status as a risk factor for surgical site infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2008, 29(9): 832–839.
- [8] Yasmin M, El Hage H, Obeid R, et al. Epidemiology of bloodstream infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a tertiary care hospital in New York[J]. *Am J Infect Control*, 2016, 44(1): 41–46.
- [9] Atmaca O, Zarakolu P, Karahan C, et al. Risk factors and antibiotic use in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in hospitalized patients at Hacettepe University Adult and Oncology Hospitals (2004–2011) and antimicrobial susceptibilities of the isolates; a nested case-control study[J]. *Mikrobiyol Bul*, 2014, 48(4): 523–537.
- [10] Cimmino L, Dolgalev I, Wang YB, et al. Restoration of TET2 function blocks aberrant self-renewal and leukemia progression [J]. *Cell*, 2017, 170(6): 1079–1095. e20.
- [11] Xu YJ, Larsen LH, Lorenzen J, et al. Microbiological diagnosis of device-related biofilm infections[J]. *APMIS*, 2017, 125(4): 289–303.
- [12] Herman-Bausier P, Labate C, Towell AM, et al. *Staphylococcus aureus* clumping factor A is a force-sensitive molecular switch that activates bacterial adhesion[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(21): 5564–5569.
- [13] Ganesh VK, Barbu EM, Deivanayagam CCS, et al. Structural and biochemical characterization of *Staphylococcus aureus* clumping factor B/ligand interactions[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(29): 25963–25972.
- [14] Ghasemian A, Najar Peerayeh S, Bakhshi B, et al. Comparison of biofilm formation between methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates of *Staphylococcus aureus*[J]. *Iran Biomed J*, 2016, 20(3): 175–181.
- [15] Stepanović S, Vuković D, Hola V, et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci[J]. *APMIS*, 2007, 115(8): 891–899.
- [16] Soltani E, Farrokhi E, Zamanzad B, et al. Prevalence and distribution of adhesins and the expression of fibronectin-binding protein (FnbA and FnbB) among *Staphylococcus aureus* isolates from Shahrekord Hospitals[J]. *BMC Res Notes*, 2019, 12(1): 49.
- [17] Li XH, Fang F, Zhao J, et al. Molecular characteristics and virulence gene profiles of *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infection[J]. *Braz J Infect Dis*, 2018, 22(6): 487–494.
- [18] Kot B, Szweda P, Frankowska-Maciejewska A, et al. Virulence gene profiles in *Staphylococcus aureus* isolated from cows with subclinical mastitis in eastern Poland[J]. *J Dairy Res*, 2016, 83(2): 228–235.
- [19] Silva V, Almeida L, Gaio V, et al. Biofilm formation of multidrug-resistant MRSA strains isolated from different types of human infections[J]. *Pathogens*, 2021, 10(8): 970.
- [20] Niek WK, Teh CSJ, Idris N, et al. Investigation of biofilm formation in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with bacteraemia in a tertiary hospital[J]. *Folia Microbiol (Praha)*, 2021, 66(5): 741–749.
- [21] Ying H, Mahmudiono T, Alghazali T, et al. Molecular characterization, virulence determinants, and antimicrobial resistance profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the north of Iran; a high prevalence of ST239-SCCmec III/t037 clone[J]. *Chemotherapy*, 2022, 67: 37–46.
- [22] van der Meeren BT, Millard PS, Scacchetti M, et al. Emergence of methicillin resistance and panton-valentine leukocidin positivity in hospital- and community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in Beira, Mozambique[J]. *Trop Med Int Health*, 2014, 19(2): 169–176.
- [23] He CY, Xu S, Zhao HQ, et al. Leukotoxin and pyrogenic toxin superantigen gene backgrounds in bloodstream and wound *Staphylococcus aureus* isolates from eastern region of China[J]. *BMC Infect Dis*, 2018, 18(1): 395.

(本文编辑:陈玉华)

本文引用格式:李静,胡同平,张文兰,等.金黄色葡萄球菌感染的临床特征及毒力基因分布[J].中国感染控制杂志,2022,21(3): 224–231. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20222067.

Cite this article as: LI Jing, HU Tong-ping, ZHANG Wen-lan, et al. Clinical characteristics and distribution of virulence genes of *Staphylococcus aureus* infection[J]. *Chin J Infect Control*, 2022, 21(3): 224–231. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20222067.