

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药机制与分子分型研究进展*

陈斌泽,李泽慧,冯强生 综述,彭俊华[△] 审校

(中国人民解放军兰州军区兰州总医院检验科,兰州 730050)

关键词:耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 耐药机制; mec 基因; fem 基因; SCCmec 基因分型
DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2016. 19. 052 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)19-2824-04

自 1961 年 Jevons 首次分离出耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)以来,MRSA 在世界各地的感染率和分离率不断增加,目前已成为医院、社区感染的主要病原菌之一。由于 MRSA 对所有 β -内酰胺类抗菌药物(青霉素类、头孢菌素类和碳青霉烯类)均耐药,因此,MRSA 也被称为“超级细菌”。由于抗菌药物的不合理使用,导致 MRSA 耐药谱越来越广,尤其是多重耐药,给临床治疗带来了极大的困难。近年来,随着 MRSA 研究的深入,苯唑西林边缘耐药的金黄色葡萄球菌(BORSA)、苯唑西林敏感的 MRSA(OS-MRSA)等的发现也给临床微生物实验室检测带来了极大的挑战^[1],不同类型金黄色葡萄球菌的区别见表 1。目前,MRSA 的耐药问题及临床治疗已成为人类健康研究的重点,因此,快速、准确的检测、诊断对于 MRSA 的感染控制和临床治疗具有非常重要的意义。现就 MRSA 的耐药机制和分子分型作一简要综述。

表 1 不同类型金黄色葡萄球菌的区别

细菌种类	mecA/mecC	苯唑西林 *	甲氧西林
MRSA	+	R	R
OS-MRSA	+	S	R
BORSA	—	L~R	R

注:R 为耐药;S 为敏感;L~R 为轻度耐药。

1 MRSA 耐药机制

自 MRSA 出现多重耐药现象以来,MRSA 的耐药机制变得越来越复杂,目前为止 MRSA 的耐药机制主要分为两大类:(1)染色体 DNA 介导的固有耐药,主要与 mec 基因编码的青霉素结合蛋白 2a/2c(PBP2a/2c)有关;(2)质粒介导的获得性耐药,主要与 DNA 的插入、转导和转化等产生的 β -内酰胺酶有关。

1.1 耐药基因

1.1.1 mec 基因 mec 基因是 MRSA 耐药的主要决定因子,为细菌染色体上的一段外源 DNA 插入片段,大小约 30~50 kp,通常位于 pur-nov-his 基因群附近。主要由 3 部分组成(1)mecA 基因;编码 PBP2a,具有细胞壁合成转肽酶基因结构特征;(2)mecI 和 mecR1 基因;位于 mecA 启动子上游,控制 mecA 基因的转录调节;(3)mec 相关基因;大小约 20~45 kb。mecA 基因编码的 PBP2a 蛋白对 β -内酰胺类抗菌药物亲和力较低,当正常的 PBPs 失活以后,MRSA 中的 PBP2a 能够代替 PBPs 发挥正常作用,参与细菌细胞壁的合成,维持细菌的生长,使 MRSA 表现出对 β -内酰胺类抗菌药物的耐药性。

目前新的研究发现,MRSA SCCmec 元件中还存在着一种

mecA 基因的同源基因,即 mecC 基因,它能够编码 PBP2c 蛋白,其功能与 PBP2a 蛋白相似,能够使 MRSA 对 β -内酰胺类抗菌药物耐药^[2]。

1.1.2 fem(或 aux)基因 虽然 mecA 基因是 MRSA 耐甲氧西林的决定因子,但其编码产物 PBP2a 的表达量与 MRSA 耐药水平的高低相关性并不大。研究发现除 mecA 基因外,还有一些辅助因子 fem 基因或 aux 基因参与 MRSA 对甲氧西林的耐药表达过程,这些辅助因子主要分布在细菌染色体的不同位置,直接或间接地参与细菌细胞壁的生物合成^[3]。

目前为止,研究发现的 fem 基因有 20 种之多,但是研究较多的主要有 6 种,分别为 femA、femB、femC、femD、femE 和 femF^[3]。fem 基因的灭活与否,与 MRSA 对甲氧西林耐药水平的高低密切相关。fem 基因灭活后,MRSA 耐药表现主要分为两种情况:(1)耐药性完全丢失,如 femA、femB;(2)基础耐药性降低,如 femC、femD。femA、femB 基因位于 SmaI-A 片段上,其插入失活均会导致 MRSA 对甲氧西林的耐药性完全消失,但 PBP2a 的产生不受影响。femC 基因位于 SmaI-A 片段,femD 基因位于 SmaI-I 片段,二者作用类似,其插入失活会使 MRSA 的基础耐药水平降低,但是会形成高度耐药的亚克隆。femE 基因位于 SmaI-A 片段,其插入失活似乎对 MRSA 基础耐药水平没有显著影响。femF 基因位于 SmaI-B 片段,其插入失活可导致细菌表达异质性耐药。

1.1.3 vanA 基因 近年来,随着 MRSA 对糖肽类抗菌药物(尤其是万古霉素等)敏感性的不断降低,以及万古霉素中介的金黄色葡萄球菌(VISA)、耐万古霉素金黄色葡萄球菌(VR-SA)的出现,MRSA 对糖肽类抗菌药物的耐药机制已成为研究的热点。研究表明位于肠球菌质粒 Tn1546 上的 vanA 基因能够通过结合转移从肠球菌转移到金黄色葡萄球菌中,改变糖肽类抗菌药物的作用位点,从而使金黄色葡萄球菌对糖肽类抗菌药物产生耐药性^[4]。

1.1.4 SCCmec 外源性 SCCmec 元件的获得是 MRSA 多重耐药的主要原因,它是一种葡萄球菌的外源性盒式染色体(SCCmec),因其具有高度多态性,且是大部分耐药基因插入、堆积的部位,因此又将其称作是金黄色葡萄球菌的耐药岛(RI)^[5]。虽然 SCCmec 元件具有高度多态性,但其结构主要由 4 部分组成:(1)mec 基因簇,根据调节基因的完整性和插入序列将其分为 5 种类型(A、B、C、D、E),目前,研究发现 mec 基因簇仅存在于 MRSA 中,与 MRSA 耐药表型密切相关;(2)染色体重组酶基因簇(ccr),根据 ccr 基因型别的不同将其分为 5 型(type-1、2、3、4、5),主要负责 SCCmec 元件的整合和切离;(3)

* 基金项目:甘肃省省青年科技基金计划项目(145RJYA291)。

[△] 通讯作者,E-mail:junhua_p@sohu.com。

保守的末端重复序列;(4)J(junkyard)区,主要起连接作用,功能尚不明确,是区分 SCCmec 亚型的依据之一^[6]。

目前为止,MRSA 分离株中共发现 11 种 SCCmec 类型,见表 2,其中Ⅰ~Ⅴ是主要型别。SCCmec Ⅰ~Ⅲ元件较大,主要分布在 HA-MRSA 中,而 SCCmec Ⅳ~Ⅴ元件较小,更多地分布于 CA-MRSA 中^[7]。研究发现Ⅱ、Ⅲ型 SCCmec 对多种非 β -内酰胺酶类药物耐药,而Ⅳ、Ⅴ型 SCCmec 对非 β -内酰胺酶类药物多为敏感,因为Ⅳ、Ⅴ型 SCCmec 元件除 mecA 基因外,很少整合其他耐药基因,所以只对 β -内酰胺酶类药物耐药,而对非 β -内酰胺酶类药物多敏感。

表 2 MRSA 中 SCCmec 分型依据

SCCmec 类型	ccr 基因型	mec 基因簇	HA-MRSA	CA-MRSA
Ⅰ(1B)	type 1(A1,B1)	B	+	—
Ⅱ(2A)	type 2(A2,B2)	A	+	—
Ⅲ(3A)	type 3(A3,B3)	A	+	—
Ⅳ(2B)	type 2(A2,B2)	B	—	+
Ⅴ(5C2)	type 5(C1)	C2	—	+
Ⅵ(4B)	type 4(A4,B4)	B	—	+
Ⅶ(5C1)	type 5(C1)	C1	—	+
Ⅷ(4A)	type 4(A4,B4)	A	—	+
Ⅸ(1C2)	type 1(A1,B1)	C2	/	/
Ⅹ(7C1)	type 7(A1,B6)	C1	/	/
Ⅺ(8E)	type 8(A1,B3)	E	/	/

注:/表示无数据。

1.2 mecA 基因表达调控系统 虽然关于 MRSA 耐药基因的研究很多,但是目前耐药基因表达调控研究最多的主要是 mecA 基因,其转录表达由两套调控系统控制,即 mecA 调控系统(mecR1-mecI 系统)和 β -内酰胺酶调控系统(blaR1-blaI 系统)^[8]。

1.2.1 mecR1-mecI 系统 mecA 调控系统中,mecI 主要编码抑制蛋白 MecI,它能够结合在 mec 基因的启动子部位,阻遏 mecA 基因转录,不能表达产生耐药性的 PBP2a;而 mecR1 主要负责编码诱导蛋白 MecR1,当有诱导物存在时,MecR1 蛋白能够解除 MecI 蛋白的阻遏作用,使 mecA 基因正常转录、翻译产生 PBP2a 蛋白,增加对抗菌药物的抵抗性。通常情况下,MecI 蛋白能够与 mecA 基因结合,抑制其转录、翻译,只有当诱导物存在时,才能去除其抑制作用,产生 PBP2a。

1.2.2 blaR1-blaI 系统 β -内酰胺酶调控系统中,blaI 负责编码抑制蛋白 BlaI,阻遏 β -内酰胺酶基因转录;而 blaR1 主要编码诱导蛋白 BlaR1,当有 β -内酰胺类抗菌药物存在时,会诱导 β -内酰胺酶基因转录产生 β -内酰胺酶,增强 MRSA 对 β -内酰胺类抗菌药物的耐药性。在高度耐药株中,mecA 基因 mecI 部分缺失,不能调控产生 PBP2a,但是 blaR1、blaI 作用机制和 mecR1、mecI 相似,因此 blaR1-blaI 系统可调节 mecA 基因产生 PBP2a,诱导 MRSA 出现多重耐药性。

总之,mecA 调控系统和 β -内酰胺酶调控系统其功能和调节机制相似,mecA 基因可受两套调控系统的共同调节,但 mecR1-mecI 系统调节作用比 blaR1-blaI 系统要强^[9-10]。

1.3 其他耐药机制 除上述耐药机制外,MRSA 还可通过主动外排系统、产生修饰酶、降低膜通透性以及改变抗菌药物作用靶点等不同机制对抗菌药物形成多重耐药。除此之外,MR-

SA 对甲氧西林的耐药性也与 pH、生长温度、湿度、培养基成分等众多因素有关。

2 MRSA 分子分型

利用分子技术进行的分子流行病学分型方法是当前细菌学研究的重要手段,目前关于 MRSA 分子分型的研究方法已有很多,基因分型是主要的分型手段^[1,11],下面进行详细综述。

2.1 SCCmec 分型 SCCmec 分型是根据 SCCmec 元件中特有位点或序列设计引物,利用多重 PCR 进行扩增得到大小不同的目的片段,从而达到 MRSA 分型的目的。主要分为两大类:(1)根据 mec 复合体和 ccr 复合体的不同组合分型;(2)根据不同类型 SCCmec 元件上的不同特异性位点分型。mec、ccr 基因簇型别,以及 J 区结构差异性为 SCCmec 分型的主要依据,目前为止,MRSA 分离株中共发现Ⅰ~Ⅺ 11 种 SCCmec 类型(<http://www.sccmec.org/>),其中Ⅰ~Ⅴ是主要型别,而多重 PCR 是目前 SCCmec 分型研究的主要方法^[5,12],见表 2。其中 SCCmecⅣ由于 J 区的不同又被分为 8 个亚型(Ⅳa、Ⅳb、Ⅳc、Ⅳd、Ⅳg、Ⅳh、Ⅳi、Ⅳj)^[13]。

SCCmec 分型针对性较强、特异性较高,结果分析具有国际化标准,可进行实验室间比对,而且操作简单快速、能够进行批量处理,已成为目前 MRSA 分型的主要方法,但是此方法分型效率低,价格昂贵,不适合临床实验室使用,适合于临床科研使用。

2.2 Spa 分型 葡萄球菌 A 蛋白(SPA)是金黄色葡萄球菌细胞壁的组成部分,其编码基因 spa 包括三部分:Fc 结合区、X 域和 C 末端。X 区基因具有高度多态性,含有 24 bp 的可变重复序列,其两端相对保守,据此设计引物对 MRSA 的 X 区进行 PCR 扩增,将所得 PCR 产物测序结果与 spa 数据库(<http://spa.ridom.de>)中已有结果进行比对,利用这种 spa 基因的多态性建立的分型方法即为 spa 分型^[14-15]。

spa 分型针对 MRSA 菌株特定序列进行分析,特异性和分辨率高、分型能力较强,具有标准参考数据库,不同实验室间结果可以进行比对分析,并可进行分型结果的网络动态监测,因此,可在临床实验室中广泛使用。

2.3 PVL 分型 杀白细胞素(PVL)是由金黄色葡萄球菌产生的细胞外毒素,其与 γ -溶血素和其他的 PVL 均属于 synergohymenotropic 毒素家族,是 MRSA 主要的致病因子之一。PVL 毒素由 luks-PV 基因和 lukf-PV 基因分别编码的 LukS-PV 蛋白(S 蛋白)和 LukF-PV 蛋白(F 蛋白)组成^[16],经前噬菌体携带,整合到金黄色葡萄球菌染色体上,通过 PCR 技术对金黄色葡萄球菌中 PVL 基因进行检测,从而达到分型的目的,便于及时分离出 MRSA,尽早进行针对性抗菌药物治疗。

此方法操作简单、分析方便,并能够进行实验室间比对分析,适合在临床实验室广泛使用,但是研究发现,PVL 基因并非 CA-MRSA 独有,其特异性不高,需要结合其他分型方法共同确定 MRSA 型别。

根据临床 MRSA 分离株中是否含有 PVL 基因,可将其分为 PVL 阳性 MRSA 和 PVL 阴性 MRSA。有研究表明 PVL 可能仅为 CA-MRSA 其他毒力因子存在的标志,且 CA-MRSA 中 PVL 基因携带率大于 95%^[17],但是最新研究发现 PVL 基因并不能作为 CA-MRSA 研究的可靠标志物^[18],在 HA-MRSA 中 PVL 占 42.61%(20/42),因此对于 CA-MRSA 引起的感染诊断除检测 PVL 基因外,还需要结合其他检测结果进行综合判断。

2.4 PFGE 分型 脉冲场凝胶电泳(PFGE)是指利用限制性

内切酶 Sma I 或 Csp I 对细菌染色体 DNA 片段进行酶切,再将酶切片段置于 PFGE 中进行分离,最后对所得酶切图谱进行比对,比较各菌株间的相关性,从而达到分型目的一种技术。

根据 Tenover 等^[19]提出的标准分为(1)相同:酶切图谱条带数和条带大小相同,可认为是同一型别;(2)紧密相关:酶切图谱有 2~3 个差异条带,主要由点突变、插入或缺失 DNA 等导致,很有可能是同一型别,定为亚型;(3)可能相关:酶切图谱有 4~6 个差异条带,可能由两个独立的基因引起,也许是同一型别,可定为亚型;(4)不相关:酶切图谱有 7 个或 7 个以上的差异条带,可能由 3 个或更多独立基因变异所致,可认为在流行病学上不相关。

PFGE 能够分离超过 1 000 kb 的 DNA 片段,分辨力较强,适用于某一地区暴发流行菌株的同源性分型,被认为是目前金黄色葡萄球菌鉴定的金标准,但是其操作繁琐、耗时较长,需要专用的仪器设备,且缺乏国际化标准,特异性不高,不适合临床实验室广泛使用,适用于临床科研。

2.5 MLST 分型 多位点序列分型(MLST)是指通过对 MRSA 染色体上的 7 个管家基因(arcC、aroE、glpF、gmK、pta、tpi 和 yqiL)分别进行 PCR 扩增,并将测序结果与 MLST 数据库(<http://www.mlst.net>)进行比对,获得序列型号,从而根据碱基序列的差异和等位基因的不同组合类型分析比较 MRSA 菌株间的同源性和进化关系的一种分型方法^[20]。由于这 7 个管家基因相对保守,多态性位点较少,但又可以在局部位点发生点突变,因此,能够长期追踪细菌的遗传变化情况。

此方法具有国际化标准,特异性高,方便实验室间比对分析,但价格昂贵、耗时较长、分型能力较低,不适合在临床实验室使用。相对 PFGE 分型而言,MLST 分型更适于长期追踪、监测 MRSA 流行情况,并可与世界范围 MRSA 流行菌株进行比对,分析其进化关系。

2.6 DNA 多态性(RAPD) 随机扩增 RAPD 分型是建立在 PCR 基础之上,以 MRSA 基因组 DNA 为模板,随机多态核苷酸序列(10 个碱基对)为引物,对 MRSA 未知序列的基因组进行多态性分析的一种分子技术^[21],可用于细菌种属鉴定和菌株流行病学调查研究。

RAPD 操作简单快速、分辨力高,适用于临床菌株暴发的调查研究,但其结果重复性差,与实验条件紧密相关,且不同实验室间缺乏可比性,因此不适用于临床实验室的常规检测。

2.7 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS) MALDI-TOF-MS 分型通过激光照射样品与基质形成的共结晶薄膜,基质把从激光中吸收的能量传递给生物分子,在电离过程中与生物分子发生质子转换,使生物分子发生电离,然后再根据离子在电场作用下到达检测器的飞行时间进行检测。其具有灵敏度高、准确度高、分辨率高三大特点,是迄今为止生物学领域一种强有力的分子检测手段,已在临床微生物检测方面得到了广泛应用。通过结合 3'-外切酶和 5'-外切酶可以准确、快速地对 MRSA 核苷酸全序列进行分析测定^[22]。

此方法操作简单快速、特异性和灵敏度较高,分辨能力较强,但是由于仪器价格昂贵,仅适合在大型临床实验室中广泛使用,而不适用于小实验室。

2.8 dru 分型 dru 序列是 mec 基因的高变区(HVR),由一个 40 bp 的直接重复单位构成,由于其在不同 MRSA 菌株中的重复次数不同,导致 MRSA mec 基因呈现高度多态性,因此,可利用 PCR 方法对不同 MRSA 菌株 dru 序列进行扩增,

分析、比较扩增产物的差异性从而达到分型的目的^[23]。

此方法操作简单、快速,分型结果具有国际化标准,实用性较强,但是其分辨率不如 PFGE 分型法,且分型结果复杂,不适用于临床实验室。

2.9 基因芯片分型 基因芯片又称为 DNA 芯片、生物芯片,是指利用杂交测序原理,通过与一组已知序列的核酸探针杂交,对未知核酸序列进行测定的一种方法^[24-25]。目前,在基因表达分析、突变检测、基因组多态性分析和基因诊断等方面已得到了广泛应用。在病原微生物的检测方面,可以利用基因芯片与已知标记菌株进行杂交,对临床分离菌株的基因表达、诊断进行快速分析。

虽然基因芯片在病原微生物检测中具有快速、特异性和灵敏度高等特点,但是由于仪器昂贵、芯片费用较高,只适合临床科研使用,不能在临床实验室中得到广泛应用。

2.10 附属基因调节子分型 附属基因调节子是一种重要的密度感应信号系统和毒力因子调节系统,由 5 种基因(agrA、agrC、agrD、agrB 和 bld)组成,负责编码 2 种不同的转录物(RNA II 和 RNA III),主要参与 MRSA 生物膜的形成与分散及毒力因子的表达调控。附属基因调节子系统在金黄色葡萄球菌毒力因子调节过程中发挥主要作用,能够下调葡萄球菌生物被膜形成,是生物被膜形成的抑制因子,附属基因调节子不同基因型别与 MRSA 的致病能力及其引起疾病的种类密切相关^[26]。

这种方法以毒力因子检测为目的,操作简单,在 MRSA 致病能力检测方面发挥着重要作用,但其分型结果与 MRSA 菌株遗传背景特征存在相关性,且结果分析具有局限性,仅适合临床科研使用,不适用于在临床实验室广泛使用。

3 小 结

本文主要从 MRSA 耐药机制和分子分型及其优缺点两个方面对 MRSA 目前的研究现状进行了简要阐述,其耐药机制比较复杂,是目前研究的重点。而 MRSA 分子分型方法较多,临床实验室需要结合自身条件,选择合适的分型方法。理想的分子分型方法需要满足以下条件:操作简单、高效;实验结果重复性好;适用范围广,实用性较强;结果分析具有国际化标准,便于实验室间比对分析。

随着分子生物学技术的快速发展和对 MRSA 的深入研究,研究者需要从 MRSA 耐药机制找到新的突破口,开发 MRSA 治疗的新型药物,为临床合理用药、优化治疗方案提供重要的科学依据。同时也要结合现有分子手段,改进或开发 MRSA 检测、分型的方法,为临床实验室检测提供更加合理、高效的检测手段,为 MRSA 的感染控制和临床诊断提供便捷服务。

参考文献

- [1] Hirvonen JJ. The use of molecular methods for the detection and identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Biomark Med*, 2014, 8(9): 1115-1125.
- [2] García-ólvarez L. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study [J]. *Lancet Infect Dis*, 2011, 11(8): 595-603.
- [3] 许文,杨联云. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌流行病学和耐药机制研究进展[J]. *检验医学与临床*, 2013, 10(1): 75-78.
- [4] Clark NC, Weigel LM, Patel JB, et al. Comparison of

- Tn1546-like elements in vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Michigan and Pennsylvania [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49 (1): 470-472.
- [5] Ito T, Hiramatsu K, Oliveira DC, et al. Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(12): 4961-4967.
- [6] Catarina MO, Oliveira DC, Hermínia DL. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of mec element types in *Staphylococcus aureus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(9): 3374-3377.
- [7] Ma XX, Ito T, Tiansasitorn C, et al. Novel type of staphylococcal cassette chromosome mec identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46 (4): 1147-1152.
- [8] Tenover FC, Tickler IA. Is That *Staphylococcus aureus* isolate really methicillin susceptible? [J]. *Clin Microb Newsl*, 2015, 37(10): 79-84.
- [9] McKinney T, Sharma V, Archer WG. Transcription of the gene mediating methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* (mecA) is corepressed but not coinduced by cognate mecA and beta-lactamase regulators[J]. *J Bacteriol*, 2002, 183(23): 6862-6868.
- [10] Safo MK, Zhao Q, Ko TP, et al. Crystal structures of the BlaI repressor from *Staphylococcus aureus* and its complex with DNA: insights into transcriptional regulation of the bla and mec operons[J]. *J Bacteriol*, 2005, 187 (5): 1833-1844.
- [11] Lazarevic V, Beaume M, Corvaglia A, et al. Epidemiology and virulence insights from MRSA and MSSA genome analysis[J]. *Future Microbiol*, 2011, 6(5): 513-532.
- [12] Catarina MO, Oliveira DC, Hermínia DL. Multiplex PCR strategy for subtyping the staphylococcal cassette chromosome mec type IV in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: 'SCCmec IV multiplex' [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60(1): 42-48.
- [13] Nam HK, Kun T, San MJ, et al. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) characterization and molecular analysis for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and novel SCCmec subtype IVg isolated from bovine milk in Korea[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 56(4): 624-632.
- [14] Li V, Chui L, Louie L, et al. Cost-effectiveness and efficacy of spa, SCCmec, and PVL genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as compared to pulsed-field gel Electrophoresis [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (11): 1845-1858.
- [15] Katarzyna WN, Joanna K, Lidia P, et al. Spa types and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* bloodstream isolates obtained from patients of the University Clinical Center in Gdańsk [J]. *Medycyna Dowiadczalna I Mikrobiologia*, 2013, 65(3): 139-147.
- [16] 王璐, 徐元宏. 金黄色葡萄球菌杀白细胞素的研究进展 [J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(9): 1156-1159.
- [17] Jovanka M, Michael O, Barun Mathema, et al. Is panton-valentine leukocidin the major virulence determinant in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease? [J]. *J Infect Dis*, 2006, 194 (12): 1761-1770.
- [18] Patil NR, Ghorpade M, Roy S, et al. Evaluation of panton-valentine leukocidin gene by polymerase chain reaction in community-acquired methicillin resistance *staphylococcus aureus* [J]. *Intern J Recent Scient Res Microb*, 2016, 7 (1): 8132-8135.
- [19] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing [J]. *J Clin Microb*, 1995, 33(9): 2233-2239.
- [20] Saunders NA, Holmes A. Multilocus sequence typing (MLST) of *Staphylococcus aureus* [J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1085(1): 113-130.
- [21] Julianna K, Mariusz G, Krzysztof J, et al. RAPD typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a 7-year experience in a Polish hospital [J]. *Med Sci Monit*, 2007, 13 (6): 13-18.
- [22] Pavlovic M, Huber I, Konrad R, et al. Application of MALDI-TOF MS for the identification of food borne bacteria [J]. *Open Microbiol J*, 2013, 7(1): 135-141.
- [23] Nishi J, Yoshinaga M, Miyanochara H, et al. An epidemiologic survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by combined use of mec-HVR genotyping and toxin genotyping in a university hospital in Japan [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2002, 23(9): 506-510.
- [24] Rieg S, Jonas D, Kaasch AJ, et al. Microarray-based genotyping and clinical outcomes of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: an exploratory study [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71259-e71259.
- [25] Monecke S, Ehrlich R, Slickers P, et al. Microarray-based genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates from camels [J]. *Vet Microb*, 2011, 150(3/4): 309-314.
- [26] Collery MM, Smyth DS, Twohig JM, et al. Molecular typing of nasal carriage isolates of *Staphylococcus aureus* from an Irish university student population based on toxin gene PCR, agr locus types and multiple locus, variable number tandem repeat analysis [J]. *J Med Microb*, 2008, 57(3): 348-358.