

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.12.018

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分子特征研究

王金波,李海英,张亚妮,孙 敏[△]
宝鸡市人民医院检验科,陕西宝鸡 721000

摘要:目的 了解该地区 2018 年 1 月至 2019 年 12 月耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的分子分型特点、耐药基因和毒力基因的携带特征,为后续 MRSA 分子分型研究提供科学依据。方法 采用布鲁克质谱鉴定系统对临床分离的 MRSA 进行细菌鉴定并行药敏试验,使用 PCR 技术对 MRSA 的管家基因、耐药基因和毒力基因进行检测并进行分组分析。采用 WHONET5.0 等软件对 MRSA 的临床分布等临床特点和药敏结果等进行统计分析。结果 2018 年 1 月至 2019 年 12 月临床分离的 MRSA 菌株共 124 株,其中来自于创面等分泌物标本 50 株,痰液、灌洗液标本 27 株,尿液等标本 31 株,胸腔积液等无菌体液标本 7 株,血液标本等 9 株。124 株 MRSA 进行药敏结果分析,发现对青霉素 G、苯唑西林、红霉素、克林霉素和四环素的耐药率均较高,对喹诺酮类抗菌药物的耐药性亦处在较高水平,但是对利奈唑胺、万古霉素、替考拉宁和奎奴普丁/达托霉素均 100%敏感,有 1 株对呋喃妥因耐药。结论 MRSA 菌株对多种抗菌药物具有较高的耐药性,应加强 MRSA 预防观念的强化培训和监督院内感染措施的执行,以减少院内 MRSA 感染的发生。

关键词:耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 耐药; 多位点序列分型; 毒力基因

中图分类号:R378.11

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)12-1728-06

Study on the molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

WANG Jinbo, LI Haiying, ZHANG Yani, SUN Min[△]

Department of Clinical Laboratory, Baoji People's Hospital, Baoji, Shaanxi 721000, China

Abstract: Objective To study the molecular typing characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in this region from January 2018 to December 2019, and the carrying characteristics of drug resistance genes and virulence genes, so as to provide scientific basis for subsequent molecular typing studies of MRSA. **Methods** The mass spectrometry identification system of Bruker was used to identify clinically isolated MRSA and drug susceptibility tests were executed. The housekeeping genes, drug resistance genes and virulence genes of MRSA were detected using PCR and group analysis was performed. Statistical analysis was performed using WHONET5.0 on the clinical characteristics and drug sensitivity results. **Results** A total of 124 strains of MRSA were clinically isolated from January 2018 to December 2019, including 50 strains from wound and other secretions, 27 strains from sputum and lavage fluid, 31 strains from urine, 7 strains from pleural effusion and other sterile body fluids, 9 strains from blood. 124 strains of MRSA were found to have high resistance rates to penicillin G, oxacillin, erythromycin, clindamycin and tetracycline, and high resistance to quinolones, but were 100% sensitive to linezolid, vancomycin, teicoplanin and quinupristin/daptomycin, and 1 strain was resistant to furantoin. **Conclusion** MRSA strains have high resistance to a variety of antimicrobial agents. It is necessary to strengthen the training of prevention concept of MRSA and supervise the implementation of nosocomial infection control measures, so as to reduce the incidence of nosocomial MRSA infection.

Key words: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; drug resistance; multi-locus sequence typing; virulence gene

金黄色葡萄球菌作为临床感染中最常见的革兰阳性球菌,主要引起皮肤、泌尿道、呼吸道等部位感染,特别是随着高强度抗菌药物的使用、频繁的侵入性操作和多部位静脉通道的开放,金黄色葡萄球菌院内感染率和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)检出率呈上升趋势^[1-2]。MRSA 菌株的耐药产生主要原因是 mecA 基因等的获得,使金黄色葡萄球菌能够产

生青霉素结合蛋白 PBP2a,它干扰了金黄色葡萄球菌对抗菌药物的亲和力进而产生耐药性^[3-4]。本研究使用多位点序列分型(MLST)对金黄色葡萄球菌进行分子分型及耐药机制分析,MLST 分型使用的是 7 个 MRSA 管家基因的独特等位基因谱,MRSA 菌株经过普通扩增测序后确定序列类型,如果其中 6 个 MRSA 的管家基因相同则为同一克隆复合体^[5],对不同

作者简介:王金波,男,副主任技师,主要从事检验科相关工作研究。 [△] 通信作者, E-mail: sunmin202010@126.com.

本文引用格式:王金波,李海英,张亚妮,等.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分子特征研究[J].检验医学与临床,2021,18(12):1728-1732.

分子类型和克隆复合体的菌株进行耐药性分析、毒力特征分析和耐药机制研究成为本研究的重点,以期为本地区的 MRSA 研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集本地区两家大型三甲医院自 2018 年 1 月至 2019 年 12 月临床分离的 MRSA 菌株共 124 株。院内 MRSA 感染的诊断标准参考文献 [3]:入院 48 h 后发生的 MRSA 感染,排除社区获得性 MRSA 感染,排除重复分离菌株等,本次标本的收集获得患者或者家属的口头同意。

1.2 仪器与试剂 使用布鲁克公司的质谱鉴定系统 (MALDI-TOF MS) 及其配套试剂进行细菌鉴定,使用 ABI 公司的聚合酶链反应仪进行基因扩增,使用上海天能公司的电泳仪进行扩增后的产物初步鉴定,使用天根生物公司的 PCR 试剂盒和细菌 DNA 提取试剂,使用 Oxoid 公司的全套药敏纸片。人工设计细菌的耐药基因与毒力基因的扩增引物,并委托华大基因进行引物合成,引物序列根据 Primer5.0 软件设计并在 Pubmed 网站中进行引物 BLAST。质控菌株金黄色葡萄球菌 (ATCC25923 和 ATCC43300) 购自原卫生部临床检验中心。葡萄琼脂平板 (MH) 平板和哥伦比亚血平板购买自迪景公司。

1.3 菌株分离与鉴定方法 菌株从临床标本中进行初步分离,并经过布鲁克质谱鉴定系统进行菌种鉴定,使用标准抗菌药物纸片琼脂扩散法 (K-B 法) 进行药敏试验,药敏结果根据临床实验室标准化协会 2020 年版 (CLSI-2020) 的标准进行判定。MRSA 的判定方法为头孢西丁判定法,即在 0.5 麦氏浊度培养 16 h 后的抑菌圈直径 ≤ 21 mm,则判定为 MRSA 菌株,使用细菌冻存管保存菌株。

1.4 基因扩增

1.4.1 菌株 DNA 的提取 将收集的 MRSA 菌株保存管解冻,使用接种环挑取少量的菌悬液三区划线接种于哥伦比亚血琼脂平板,挑取 3 个 MRSA 菌株的菌落溶于含溶菌酶的核酸溶解溶液中,混匀后 37 °C 消化 30 min,然后 100 °C 15 min,随之高速离心 12 000 r/min 10 min,取上清液即为细菌 DNA 基因组,-20 °C 冰箱保存。

1.4.2 基因扩增体系与条件 使用细菌基因组为模板进行耐药和毒力基因的扩增,扩增体系 25.0 μ L,其中包括 2 倍浓度的预混溶液 12.5 μ L, Taq 酶 1.0 μ L,前向和反向引物各 1.0 μ L,细菌 DNA 模版 1.0 μ L,灭菌的去离子水补足总体积,震荡混匀和离心沉淀后上机进行 PCR 扩增,扩增条件参考文献 [4]。扩增后产物进行 1.5% 凝胶电泳,确定基因阳性菌株,电泳条件为 110 V, 5 min,以扩增产物 5.0 μ L 和 1.0 μ L 的上样缓冲液混匀后上样,以阳性耐药和抗毒力基因作为阳性对照,以无 DNA 模版作为阴性对照,通过紫外线观察扩增产物并记录结果。

1.4.3 基因检测 按照 MLST 扩增常用引物及条件扩增 7 个 MRSA 的管家基因,分别是 *arcC*、*aroE*、*glpF*、*gmk*、*pta*、*tpi* 和 *yqiL*,产物送华大基因测序并在 MLST 官网进行比对,获得序列类型并确定克隆复合体,单个位点如果出现不同则判定为单位点变异体。检测耐药基因的携带情况,包括耐 β -内酰胺酶类基因 *mecA*、耐四环素基因 *tetM*、耐氨基糖苷类基因 *aac* (6')/*aph* (2') 和 *aph3'*-III、耐大环内酯类基因 *erm A* 和 *erm C*,以及耐消毒剂基因 *qacA/B*;同时检测毒力基因携带情况,包括纤连蛋白结合蛋白基因 (*fnbA* 和 *fnbB*)、溶血素基因 (*hla* 和 *hly*)、肠毒素基因 (*sec* 和 *seh*)、杀白细胞素基因 (PVL)。见表 1。

表 1 PCR 引物序列与产物长度

项目	基因	引物	产物长度 (bp)	退火温度 (°C)
耐 β -内酰胺类	<i>mecA</i>	前向引物: 5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGCG-3'	533	55
		反向引物: 5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3'		
耐四环素	<i>tetM</i>	前向引物: 5'-AGTGGAGCGATTACAGAA-3'	158	55
		反向引物: 5'-CATATGTCCTGGCGTGTCTA-3'		
耐氨基糖苷类	<i>aac</i> (6')/ <i>aph</i> (2')	前向引物: 5'-CCAAGAGCAATAAGGGCATA-3'	220	55
		反向引物: 5'-CACTATCATAAACCCTACCG-3'		
	<i>aph3'</i> -III	前向引物: 5'-GCCGATGTGGATTGCGAAAA-3'	292	56
		反向引物: 5'-GCTTGATCCCCAGTAAAGTCA-3'		
耐大环内酯类	<i>erm A</i>	前向引物: 5'-AAGCGGTAAACCCCTCTGA-3'	190	50
		反向引物: 5'-TTCGCAAATCCCTTCTCAAC-3'		
	<i>erm C</i>	前向引物: 5'-AATCGTCAATCCTGCATGT-3'	229	52
		反向引物: 5'-TAATCGTGAATACGGGTTTG-3'		
耐消毒剂类	<i>qac A/B</i>	前向引物: 5'-GCTGCATTTATGACAAATGTTT G-3'	630	55
		反向引物: 5'-AATCCACCTACTAAAGCAG-3'		

1.5 统计学处理 使用 WHONET5.0 软件对 124 株 MRSA 菌株进行耐药性分析, 数据分析使用 SPSS17.0 软件, 计数资料以例数或率表示, 组间比较使用 χ^2 检验或者 Fisher 确切概率法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MRSA 菌株患者的临床特征及 MRSA 菌株科室分布 2018 年 1 月至 2019 年 12 月临床分离的 MRSA 菌株共 124 株, 其中菌株来自创面等分泌物标本 50 株, 痰液、灌洗液标本 27 株, 尿液等标本 31 株, 胸腔积液等无菌体液标本 7 株, 血液标本等 9 株。MRSA 菌株患者年龄 3 d 至 97 岁, 但以 65 岁以上老年人[68 株(54.8%)]为主。性别分布以男性[75 株(60.5%)]为主。124 株 MRSA 的科室分布以呼吸内科[40 株(32.3%)], 神经内科[31 株(25.0%)]和内分泌科[24 株(19.4%)]为主。

2.2 院内感染的 MRSA 的 MLST 结果分析 124 株 MRSA 菌株经过测序比对, 共得到 MLST 分型 15 种, 属于 12 个克隆复合体, 其中克隆复合体 59 中的序列类型 59 分型的菌株[79 株(63.7%)]为主要流行群, 见表 2。还有 4 株 MRSA 无法完成序列类型的鉴定, 可能是未知分型。

2.3 MRSA 和序列类型 59 菌株的药敏结果分析 对 124 株 MRSA 进行药敏结果分析, 发现其对青霉素 G、苯唑西林、红霉素、克林霉素和四环素的耐药率均较高, 对喹诺酮类抗菌药物的耐药性亦处在较高水平, 但是对利奈唑胺、万古霉素、替考拉宁和奎奴普丁/达托霉素均 100% 敏感, 有 1 株对呋喃妥因耐药, 需引起警惕。根据序列类型结果, 分为序列类型 59 菌株和非序列类型 59 菌株, 序列类型 59 的 MRSA 对克林霉素具有更高的耐药率, 较非序列类型 59 的 MRSA 明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 3。

2.4 MRSA 和序列类型 59 菌株的耐药基因结果 对 124 株 MRSA 进行耐药基因的分析, 发现有 4 株菌

株耐 β -内酰胺酶类基因 mecA 为阴性, 携带率 96.8%。有 11 株 MRSA 对四环素耐药, 但是 tetM 为阴性, 携带率 51.6%。有 13 株 MRSA 同时携带耐氨基糖苷类基因 aac(6')/aph(2') 和 aph3'-III。有 16 株 MRSA 同时携带耐大环内酯类基因 erm A 和 erm C。对 124 株 MRSA 进行序列类型 59 和非序列类型 59 的耐药性分析, 序列类型 59 和非序列类型 59 的 4 类耐药基因携带率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 但是在耐消毒剂基因的比较中, 序列类型 59 的克隆株耐消毒剂基因的携带率明显高于非序列类型 59 的克隆株耐消毒剂基因的携带率, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 4。

2.5 MRSA 和序列类型 59 菌株的毒力基因结果 序列类型 59 和非序列类型 59 菌株在毒力基因纤维蛋白结合蛋白基因、溶血素基因和肠毒素基因携带率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 序列类型 59 的克隆株 PVL 携带率明显高于非序列类型 59 的克隆株, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 5。

表 2 医院感染的 MRSA 的 MLST 分型结果分析

克隆分群	序列类型	株数(n)
CC1	ST1	2
	ST188	1
CC3	ST3	1
CC5	ST5	9
CC7	ST7	3
CC8	ST8	2
CC9	ST9	3
CC22	ST217	1
CC25	ST25	5
CC30	ST30	2
CC59	ST714	2
	ST59	79
CC88	ST88	5
CC298	ST214	2
	ST298	3

表 3 MRSA、序列类型 59、非序列类型 59 菌株的药敏结果分析

抗菌药物	MRSA(n=124)		序列类型 59(n=79)		非序列类型 59(n=45)	
	耐药株数(n)	耐药率(%)	耐药株数(n)	耐药率(%)	耐药株数(n)	耐药率(%)
青霉素 G	124	100.0	79	100.0	45	100.0
苯唑西林	124	100.0	79	100.0	45	100.0
庆大霉素	55	44.4	36	45.6	19	42.2
环丙沙星	51	41.1	30	38.0	21	46.6
左氧氟沙星	51	41.1	30	38.0	21	46.6
莫西沙星	44	35.5	29	36.7	15	33.3
复方磺胺甲噁唑	37	29.8	26	32.9	11	24.4
克林霉素	87	70.2	68	86.1	19	42.2
红霉素	109	87.9	68	86.1	41	91.1

续表 3 MRSA、序列类型 59、非序列类型 59 菌株的药敏结果分析

抗菌药物	MRSA(<i>n</i> =124)		序列类型 59(<i>n</i> =79)		非序列类型 59(<i>n</i> =45)	
	耐药株数(<i>n</i>)	耐药率(%)	耐药株数(<i>n</i>)	耐药率(%)	耐药株数(<i>n</i>)	耐药率(%)
呋喃妥因	1	0.8	1	1.3	0	0.0
四环素	75	60.5	46	58.2	29	64.4
利奈唑胺	0	0.0	0	0.0	0	0.0
万古霉素	0	0.0	0	0.0	0	0.0
替考拉宁	0	0.0	0	0.0	0	0.0
奎奴普丁/达托霉素	0	0.0	0	0.0	0	0.0

表 4 MRSA、序列类型 59、非序列类型 59 菌株的耐药基因结果

耐药基因	MRSA(<i>n</i> =124)		序列类型 59(<i>n</i> =79)		非序列类型 59(<i>n</i> =45)		<i>P</i>
	携带株数(<i>n</i>)	携带率(%)	携带株数(<i>n</i>)	携带率(%)	携带株数(<i>n</i>)	携带率(%)	
<i>mecA</i>	120	96.8	78	98.7	42	93.3	>0.05
<i>tetM</i>	64	51.6	40	50.6	24	53.3	>0.05
<i>aac(6')</i> / <i>aph(2')</i>	41	33.1	24	30.4	17	37.8	>0.05
<i>aph3'-III</i>	27	21.8	15	19.0	12	26.7	>0.05
<i>erm A</i>	86	69.4	52	65.8	34	75.6	>0.05
<i>erm C</i>	39	31.5	26	32.9	13	28.9	>0.05
<i>qac A/B</i>	68	54.8	49	62.0	19	42.2	<0.05

表 5 MRSA、序列类型 59、非序列类型 59 菌株的毒力基因结果

毒力基因	MRSA(<i>n</i> =124)		序列类型 59(<i>n</i> =79)		非序列类型 59(<i>n</i> =45)		<i>P</i>
	携带株数(<i>n</i>)	携带率(%)	携带株数(<i>n</i>)	携带率(%)	携带株数(<i>n</i>)	携带率(%)	
<i>hla</i>	117	94.4	74	93.7	43	95.6	>0.05
<i>hlyB</i>	38	30.6	23	29.1	16	35.6	>0.05
<i>fnbA</i>	61	49.2	39	49.4	22	48.9	>0.05
<i>fnbB</i>	55	44.4	39	49.4	16	35.6	>0.05
<i>PVL</i>	74	59.7	57	72.2	17	37.8	<0.05
<i>sec</i>	13	10.5	8	10.1	5	11.1	>0.05
<i>she</i>	13	10.5	8	10.1	5	11.1	>0.05

3 讨 论

随着 MRSA 分子分型方法的广泛使用,MRSA 克隆株的相关研究越来越多地受到研究者的关注,其主要原因是相同克隆株在进化源上相似性更高,遗传背景更加接近,可能具有更加一致的耐药机制和毒力特征^[6]。本研究回顾性的分析了 MRSA 在本地区的分子分型特点和克隆复合体 59 的耐药基因和毒力基因的携带情况,发现本地区的院内感染 MRSA 主要为克隆复合体 59(序列类型 59)克隆株,这与之前研究报道结果存在差异^[5]。有研究报道,克隆复合体 59 也是社区获得性 MRSA 的主要分布类型^[2],从本研究结果可以看出,MRSA 已经出现双向扩散可能,即医院向社区入侵,社区向医院渗透,但是克隆复合体 59 克隆群的社区和医院的流行情况,仍然需要进一步的观察研究,特别是需要即时快速检测,同时也需要

对 MRSA 分型分布进行长时间监测。此外,在本研究中有 4 株 MRSA 的 MLST 分型未知,这说明新的 MLST 分型可能出现,存在暴发流行的可能,更新 MLST 分型和监测其变化趋势具有潜在的重要临床意义。

序列类型是一种常见的基因分型方法,常用来研究菌株之间的传播途径和进化关系^[7]。本研究结果显示,序列类型 59 的 MRSA 菌株在本院流行的主要原因可能为耐消毒剂基因的携带率更高。有研究报道,在世界范围内 MLST 分型的结果具有明显的差异性^[7]。在北美地区 MRSA 的分子分型主要是序列类型 8,虽然与欧洲地区的菌株具有明显的相似进化关系,但是在英国的 MRSA 主要流行株为序列类型 22 和序列类型 36,这与美国地区的 MRSA 分子分型具有明显的差异^[8]。亚洲地区 MRSA 分子分型亦表现

出明显的差异性^[9-14]。

在本研究中,MRSA 对红霉素、克林霉素和四环素的耐药率均高于 60%,这提示红霉素和克林霉素的临床使用已经受到极大地限制。此外,对喹诺酮类抗菌药物的耐药率亦超过 30%,特别是对环丙沙星和左氧氟沙星的耐药率超过 40%,这提示尿路感染患者的用药应该酌情考虑减少喹诺酮类药物的使用,呋喃妥因可能是一个更好的选择^[4]。虽然糖肽类等抗菌药物的敏感率为 100%,但是由于其相对分子质量较大,药物体内分布受到极大限制,皮肤和关节等部位的 MRSA 感染治疗效果较差^[15-16]。此外,序列类型 59 菌株的克林霉素耐药率更高,提示该类菌株的耐药机制可能更加复杂,远期耐药情况更加严峻。本研究发现,有 4 株菌株耐 β -内酰胺酶类基因 *mecA* 为阴性,但是对该类抗菌药物耐药,这提示存在其他的耐药机制,如青霉素结合蛋白再修饰等^[3]。有 11 株菌株对四环素耐药,但是相关耐药基因 *tetM* 为阴性,这提示其他的外排基因参与了四环素耐药^[17]。对于 2 种耐氨基糖苷类基因 *aac(6')*/*aph(2')* 和 *aph3'-III* 的检测和 2 种耐大环内酯类基因 *erm A* 和 *erm C* 的检测,发现同一株菌株可以同时携带两种耐药基因,这提示 MRSA 菌株的耐药机制可能非常复杂,需要更加深入的研究^[16]。

对耐消毒剂基因的检测发现,54.8%的 MRSA 菌株携带 *qac A/B* 基因,该基因能够使 MRSA 菌株在苯扎溴铵等消毒剂的作用下仍存活,这些应当引起院感监测部门和临床医务人员的关注。特别是在序列类型 59 克隆株中,耐消毒剂基因 *qac A/B* 的携带率更高,这提示该类菌株可能具有更强的存活能力和潜在的流行风险。中性粒细胞是血液中含量最多的非特异性免疫细胞,其对多种细菌均有杀伤作用,但是 MRSA 产生的 PVL 能够引起中性粒细胞的损伤和细胞毒作用,导致机体脓肿和 MRSA 的全身扩散^[18-19]。序列类型 59 克隆株的 PVL 携带率高达 72.2%,这提示该类菌株具有明显的全身播散倾向和潜在的脓肿扩大趋势,因而在临床治疗中,应该积极进行感染灶的引流和冲洗,减少播散可能。

综上所述,院内感染 MRSA 的分子分型以序列类型 59 克隆株为主,其克林霉素耐药率更高,消毒剂抗性更强,白细胞毒性更加明显,具有潜在的广泛播散风险,应当引起相关研究者的重视和思考。

参考文献

[1] 廖凤慧,王鹤,刘学佳,等.近 10 年我院金黄色葡萄球菌耐药性研究[J].中国医科大学学报,2018,47(1):42-46.
 [2] 张杰.皮肤软组织感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子特征和耐药性研究[D].南昌:南昌大学,2020.
 [3] 徐晨蕾,郑琳,赵枫.金黄色葡萄球菌临床感染分布及耐药性变迁的探讨[J].中国卫生检验杂志,2020,30(12):1447-1449.

[4] DAI Y X,LIU J L,GUO W,et al. Decreasing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections is attributable to the disappearance of predominant MRSA ST239 clones, Shanghai, 2008—2017[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8(1): 471-478.
 [5] BLOMFELDT A, LARSEN K W, MOGHEN A, et al. Bengal Bay clone ST772-MRSA-V outbreak: conserved clone causes investigation challenges[J]. *J Hosp Infect*, 2017, 95(3): 253-258.
 [6] 崔家旗,许颖,阮子静,等.某院金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药性分析[J].南京理工大学学报,2019,43(6):793-799.
 [7] ROBINSON D A, KEARNS A M, HOLMES A, et al. Re-emergence of early pandemic *Staphylococcus aureus* as a community-acquired methicillin-resistant clone[J]. *Lancet*, 2005, 365(9466): 1256-1258.
 [8] ELLINGTON M J, HOPE R, LIVERMORE D M, et al. Decline of EMRSA-16 amongst methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing bacteraemias in the UK between 2001 and 2007 [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65(3): 446-448.
 [9] STAM-BOLINK E M, MITHOE D, BAAS W H, et al. Spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST80 strain in the community of the northern Netherlands[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2007, 26(1): 723-727.
 [10] HUANG Y C, HWANG K P, CHEN P Y, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization among Taiwanese children in 2005 and 2006 [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(12): 3992-3995.
 [11] CHONGTRAKOOL P, ITO T, MA X X, et al. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCC*mec* elements[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(3): 1001-1012.
 [12] CAMERON D R, LIN Y H, TROUILLET-ASSANT S, et al. Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* isolates are attenuated for virulence when compared with susceptible progenitors[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2017, 23(10): 767-773.
 [13] ALFOUZAN W, UDO E E, MODHAFFER A, et al. Molecular characterization of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary care hospital in Kuwait[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 18527.
 [14] DI RUSCIO F, GUZZETTA G, BJØRNHOLT J V, et al. Quantifying the transmission dynamics of MRSA in the community and healthcare settings in a low-prevalence country[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(29): 14599-14605.
 [15] MADJID A, LAMIA B, KARIM F, et al. Phenotypic characterization of *Staphylococci* causing mastitis in goats and microarray-based genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates [J]. *Small Ruminant Res*, 2018, 26(12): 156-160.

本地居民多,地贫基因携带率高,因此清远地区地贫防控具有重要意义。

清远地区 α 地贫携带率高,其中又以东南亚缺失型[基因型为 $-(SEA)/\alpha\alpha$]居多,东南亚缺失型表示患者缺失两条 α 蛋白基因链,当两个同为东南亚缺失型基因携带者结合有 25% 的概率生育重型 α 地贫患儿,本研究检测到 36 例重型 α 地贫患儿,经调查所有孕妇均终止妊娠。当父母一方为东南亚缺失型和另一方静止型基因携带者时,25% 的概率生育中间型 α 地贫患儿,本研究共检测到 11 例中间型 α 地贫,患者的表型存在个体差异性,本实验室在地贫基因检测中多次检测到成年的中间型 α 地贫患者,因此中间型 α 地贫患儿的去留取决于父母的要求。

β 地贫是由于 β 珠蛋白链突变引起的,与 α 地贫基因分型不同, β 地贫基因突变按照严重程度可以分为 β^+ 和 β^0 两种,当基因型为 β^+/β^+ 时,为中间型 β 地贫,基因型为 β^+/β^0 时,则根据个人表型可以表现出不同表型,可能为中间型 β 地贫或者重型 β 地贫患儿,基因型为 β^0/β^0 时,则为重型 β 地贫患儿,因此产前诊断科医生和实验人员在分析 β 地贫基因诊断结果时需要特别谨慎。父母双方均为 β 地贫基因携带者时,有 25% 的概率生育中重型 β 地贫患儿,本研究中 52 例 β 地贫基因检测中检出中重型 β 地贫 17 例,占 32.08%。

α 地贫复合 β 地贫的患者,临床症状较单种轻,主要原因是为复合型地贫患者,其 α 和 β -珠蛋白基因在体内同时存在缺陷,从而导致 α 珠蛋白链和 β 珠蛋白链合成同时减少,致使 α 链与 β 链的相对不平衡减轻^[13-14]。本研究中检测到 17 例复合型地贫基因,其中 2 例为重型地贫。

地贫目前没有较好的治疗方法,只能进行预防。当父母双方均为同型地贫基因携带者时,可以通过产前咨询和诊断,预防重型地贫患儿的出生。清远地区地贫基因携带率高,地域广阔,因此需要加大地贫的预防宣传,提高民众对该病的知晓率,对指导优生优育具有重要意义。

参考文献

[1] 刘凤芝,钟华,麦富巨. 687 例同型地中海贫血携带者羊水

产前基因诊断分析[J]. 中医临床研究, 2019, 11(33): 121-123.

[2] 廖哈献,黄卫彤,李筱瑜. 广西南宁地区 300 对夫妻同型地中海贫血基因产前诊断结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(6): 659-661.

[3] 徐婉芳,娄季武,林洋洋,等. 东莞地区 672 例地中海贫血高危孕妇的产前诊断[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(5): 578-579.

[4] 郭少云. 北海市 257 例羊水地贫基因产前诊断结果分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(4): 187.

[5] PIRIYAKHUNTORN P, TANTIWORAWIT A, PHIM PHILAI M, et al. Impact of iron overload on bone remodeling in thalassemia[J]. Arch Osteoporos, 2020, 15(1): 143.

[6] 吴莎莎,何志旭,金皎,等. 贵州地区 82 例地中海贫血产前筛查基因诊断结果分析[J]. 中国当代医药, 2018, 25(16): 124-126.

[7] 林娜,黄海龙,王燕,等. 福建地区 269 对同型地中海贫血基因携带者夫妇产前基因诊断结果分析[J]. 中国计划生育学杂志, 2016, 24(6): 395-398.

[8] 姜柯安,刘东云,陈霞,等. 49 例同型地中海贫血携带者产前基因诊断分析[J]. 重庆医学, 2017, 46(10): 1360-1362.

[9] 黄利华,刘冬霞,李伟明,等. 广东省清远地区人群 α -地中海贫血基因型及临床表型特点[J]. 第三军医大学学报, 2017, 39(6): 584-588.

[10] 黄振勇,郭晓燕,吴爱娟,等. 广东清远地区 513 例地中海贫血高危孕妇产前基因诊断分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(2): 145-147.

[11] 郝颖,袁晖,吴晓霞,等. 498 例地中海贫血产前基因诊断结果分析和方法学探讨[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(4): 28-31.

[12] NOPPARATANA C, NOPPARATANA C, SAECHAN V, et al. Prenatal diagnosis of α -and β -thalassemias in southern Thailand[J]. Int J Hematol, 2020, 111(2): 284-292.

[13] 屈艳霞,陈桂兰,李志华,等. 产前地中海贫血基因诊断 257 例分析[J]. 中国计划生育学杂志, 2015, 23(5): 324-327.

[14] 鞠爱萍,刘艳霞,林铿,等. 广州北部地区 $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血基因型和血液学特征[J/CD]. 中华诊断学电子杂志, 2020, 8(2): 121-125.

(收稿日期:2020-06-03 修回日期:2021-04-15)

(上接第 1732 页)

[16] 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.

[17] HOPPE P A, HANITSCH L G, LEISTNER R, et al. Periorbital infections and conjunctivitis due to Pantone-Valentine Leukocidin (PVL) positive Staphylococcus aureus in children[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1): 371.

[18] 王敏,原明明,李树君,等. 成人细菌性皮肤病的病原菌分

布与耐药性研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2020, 15(7): 846-849.

[19] DROUGKA E, FOKA A, LIAKOPOULOS A, et al. A 12-year survey of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in Greece; ST80-IV epidemic[J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(1): 796-803.

(收稿日期:2020-09-30 修回日期:2021-05-20)