

一株猪源新型ST9-MRSA-SCCmecXII菌株进化及可移动耐药基因元件分析

陈亚琳¹, 周圆圆¹, 王小茹², 赖毅东², 闫鹤^{1*}

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

(2. 广东省东莞市质量监督检测中心, 广东东莞 523808)

摘要: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 被 WHO 列为高度优先级细菌病原体, 广泛存在于畜产品中, 并通过食品加工链传播。笔者从病猪脾脏分离出一株新型多重耐药 ST9-MRSA-SCCmecXII 菌株 HP。为了解该新型 MRSA 的耐药性和遗传进化特征, 采用 K-B 纸片扩散法、PCR 扩增、全基因组测序 (二代+三代) 及比较基因组学分析 HP 的耐药表型、耐药基因 (Antibiotic Resistance Gene, ARG)、可移动遗传元件 (Mobile Genetic Element, MGE) 及进化关系。结果显示, HP 对 β -内酰胺类、氟喹诺酮类等 11 种抗生素耐药, 而对万古霉素、替考拉宁和利奈唑胺等敏感。PCR 检测到 9 种 ARGs, 全基因组测序和数据库比对出 42 种 ARGs, 主要包括 β -内酰胺类、氨基糖苷类及 MLS 类等, 其中 9 个 ARGs 位于基因岛 HPGII 上, 1 个 ARG 位于质粒 plasmid 2 上。进化分析显示, HP 与 1 株牛奶源和 2 株猪源 ST9-MRSA-SCCmecXII 亲缘关系较近, 且携带相似的 MGEs (SCCmecXII、转座子及基因岛)。该结果表明新型菌株 HP 耐药谱复杂, 携带多种 ARGs 和 MGEs, 具有沿不同宿主及食品加工链传播的风险。该文为 ST9-SCCmecXII 新型 MRSA 在食品加工链传播的早期预警及有效控制提供科学信息和遗传学依据。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 耐药基因; 可移动遗传元件; 全基因组测序; 进化分析

文章编号: 1673-9078(2025)09-73-85

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.1022

Evolution and Mobile Antibiotic Resistance Genetic Element Analysis of Novel Porcine ST9-MRSA-SCCmecXII Strain

CHEN Yalin¹, ZHOU Yuanyuan¹, WANG Xiaoru², LAI Yidong², YAN He^{1*}

(1.College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2.Dongguan Quality Supervision and Testing Center, Dongguan 523808, China)

Abstract: Classified as a high-priority pathogen by the World Health Organization, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has been widely found in livestock products and is transmitted along the food processing chain. A novel multidrug-resistant ST9-MRSA-SCCmecXII strain, HP, was isolated from the spleen of a diseased pig with the aim to

引文格式:

陈亚琳,周圆圆,王小茹,等.一株猪源新型ST9-MRSA-SCCmecXII菌株进化及可移动耐药基因元件分析[J].现代食品科技,2025,41(9):73-85.

CHEN Yalin, ZHOU Yuanyuan, WANG Xiaoru, et al. Evolution and mobile antibiotic resistance genetic element analysis of novel porcine ST9-MRSA-SCCmecXII strain [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(9): 73-85.

收稿日期: 2024-07-17; 修回日期: 2024-08-31; 接受日期: 2024-09-13

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFD0500606); 东莞市社会发展科技项目 (20211800905272)

作者简介: 陈亚琳 (2000-), 女, 硕士, 研究方向为食品安全微生物, E-mail: cyl3141592022@163.com

通讯作者: 闫鹤 (1972-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向为食品安全微生物, E-mail: yanhe@scut.edu.cn

gain insight into the antibiotic resistance and genetic evolutionary characteristics of this MRSA. Its resistance phenotypes, antibiotic resistance genes (ARGs), mobile genetic elements (MGEs), and evolutionary relationships with other strains were comprehensively analyzed using the Kirby-Bauer disc diffusion method, PCR amplification, whole-genome sequencing (second- and third-generation), and comparative genomics. The results showed that HP exhibited resistance to 11 antibiotics, such as β -lactams and fluoroquinolones. In contrast, it demonstrated susceptibility to vancomycin, teicoplanin, and linezolid. Nine ARGs were identified using PCR, whereas whole-genome sequencing and database comparison led to the detection of 42 ARGs, predominantly comprising β -lactams, aminoglycosides, and macrolide-lincosamide-streptogramins. Of these, nine ARGs were on the genomic island HPGI1 and one ARG was on plasmid 2. Evolutionary analysis revealed that HP exhibited a strong correlation with one milk-derived and two porcine ST9-MRSA-SCCmecXII strains and carried similar MGEs, including SCCmecXII, transposons, and genomic islands. The novel strain HP exhibits a complex resistance profile with multiple ARGs and MGEs, indicating potential risks of transmission between different hosts and throughout the food processing chain. These findings provides a genetic basis for early warning and effective control of ST9-MRSA-SCCmecXII transmission in the food processing chain.

Key words: *Staphylococcus aureus*; resistance gene; mobile genetic element; evolutionary analysis; whole-genome sequence

“超级细菌”耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 被 WHO 列为最严峻的多重耐药威胁之一, 近年来, 其在猪养殖业中流行率不断上升^[1,2]。相关报道显示, 中国作为世界最大的猪肉生产和消费国之一, 其猪鼻 MRSA 平均携带率已达 11.2%, 高于日本、马来西亚等其他亚洲国家^[3,4]。且猪源 MRSA 可通过养殖环境或猪肉食品加工链传播给人类, 从而对食品安全和人类健康造成潜在威胁^[5-7]。然而, 我国新型猪源 MRSA 的耐药特征和溯源研究仍有待完善。因此, 进一步研究猪源 MRSA 的耐药特征和进化关系对食品安全和公共卫生具有重要意义。

近年来, 猪源 MRSA 的分型方式越来越多样化^[4,8]。多位点序列分型 (Multilocus Sequence Typing, MLST)、葡萄球菌蛋白 A 分型 (*Staphylococcal protein A*, SPA) 和染色体盒式元件分型 (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*, SCCmec) 是目前常用的猪源 MRSA 分型方法^[8-10]。多项报道显示, 在中国猪源 MRSA 中最流行的 MLST 型别为 ST9 型, 占我国养猪场 MRSA 分离株的 70%~95%^[4,11]。而中国猪源 MRSA 最常见的 SCCmec 类型为 III 型和 IV 型, 其中 III 型常见于陕西、四川等地, IV 型常见于哈尔滨等地^[8,12]。然而, 本研究从腹泻猪脾脏中分离出一株 ST9-MRSA-SCCmecXII 新型菌株, 该类型菌株已在动物源食品生产和销售链中屡次出现, 且具有感染人类的风险。一项评估厦门市猪肉生产加工链 MRSA 分离株流行率的研究表明, SCCmecXII

型 MRSA 在养猪场和屠宰场中普遍存在^[13]。Zhu 等^[7]对中国武汉市猪肉批发和零售市场 MRSA 分离株进行鉴定, 发现 SCCmecXII 型 MRSA 在猪肉中流行, 表明 SCCmecXII 型 MRSA 菌株可能参与猪肉加工链的传播。此外, Wu 等^[14]在中国西北部乳腺炎奶牛的牛奶样本中也分离出了 SCCmecXII 型 MRSA 菌株。值得注意的是, 一项针对亚洲猪源 MRSA 流行菌株与人类临床感染菌株间进化关系的报道称, 猪源 SCCmecXII 型 MRSA 分离株不仅具有多重耐药性, 还可能引起严重的人类临床感染和致命疾病^[15]。然而, 对该新型猪源流行株的耐药遗传背景和进化关系仍知之甚少。

此外, 染色体盒式元件、基因岛、转座子和质粒等可移动遗传元件 (Mobile Genetic Element, MGE) 在猪源 MRSA 的耐药性和毒力传播以及进化过程中发挥至关重要的作用^[16]。MGE 常携带多种抗生素耐药基因和毒力因子在 MRSA 种群间快速转移, 使得其基因组具有可变性, 是 MRSA 菌株致病性和多重耐药性的重要基础^[6,17,18]。因此, 了解猪源新型 MRSA 基因组获得和维持 MGE 的特征可为预测新型多重耐药 MRSA 的出现和进化提供理论依据。然而, 目前关于猪源 SCCmecXII 新型 MRSA 的报道中, 从基因组水平分析耐药相关可移动遗传元件的研究仍有待补充。

本研究前期从广东省某猪场的一只腹泻猪脾脏中分离到一株新型多重耐药 SCCmecXII 型 MRSA 菌株 HP, 采用分子生物学技术和生物信息学手段,

从基因组学和流行病学等角度,应用 SCCmec 分型、MLST 分型等多种分型方法,从基因组学和表现型方面揭示该新型猪源 MRSA 的耐药特征,解析其全基因组序列,探讨该新型 MRSA 的耐药基因遗传背景、传播以及遗传谱系的进化特征。本研究为猪源新型 MRSA 的多重耐药和传播风险监测提供基础数据,为猪养殖业抗生素的合理使用及制定新型 MRSA 感染的控制策略提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

多重耐药 MRSA 菌株 HP 分离自广东省某养猪场的腹泻猪脾脏,经检测发现其对氨基糖苷类、 β -内酰胺类、及四环素类等多类抗生素耐药。后对 HP 进行全基因组测序,通过 MLST 和 SCCmecXII 分型确定其为 ST9-SCCmecXII 新型菌株。

1.1.2 相关试剂及设备

脑心浸出液肉汤 (Brain Heart Infusion Broth, BHI), 广州环凯微生物科技有限公司; 抗生素药敏纸片, 杭州微生物试剂有限公司; 细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒, 北京博迈德生物技术有限公司; rTaq 酶 (5 U/ μ L)、dNTP Mixture、10 $\times$ PCR Buffer、琼脂糖, 日本 TaKaRa 公司; 5 $\times$ Loading Buffer、DL2000 DNA marker, 艾迪生物科技有限公司; 引物, 由英潍捷基 (上海) 贸易有限公司合成。Pacbio RS II 测序仪, Pacific Biosciences 公司。摇床培养箱, 上海堪鑫仪器设备有限公司; 高温高压灭菌锅, 日本三洋公司; PCR 扩增仪, 美国 ABI 公司; 凝胶成像仪, 美国 Bio-rad 公司; 电泳成套设备, 美国 Bio-rad 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 抗生素药敏试验

采用美国临床实验室标准化协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 推荐的纸片扩散法测定菌株 HP 对 25 种 13 类抗生素的敏感性, 供试抗生素纸片含量及耐药折点如下: 青霉素 (10 μ g, $\leq$ 28 mm)、苯唑西林 (1 μ g, $\leq$ 12 mm)、头孢西丁 (30 μ g, $\leq$ 21 mm)、头孢噻吩 (30 μ g, $\leq$ 17 mm)、头孢噻肟 (30 μ g, $\leq$ 22 mm)、头孢他啶 (30 μ g, $\leq$ 17 mm)、庆大霉素 (10 μ g, $\leq$ 14 mm)、卡那霉

素 (30 μ g, $\leq$ 17 mm)、四环素 (30 μ g, $\leq$ 18 mm)、米诺环素 (30 μ g, $\leq$ 18 mm)、呋喃妥因 (30 μ g, $\leq$ 16 mm)、氯霉素 (30 μ g, $\leq$ 17 mm)、克林霉素 (2 μ g, $\leq$ 20 mm)、克拉霉素 (15 μ g, $\leq$ 17 mm)、红霉素 (15 μ g, $\leq$ 22 mm)、万古霉素 (30 μ g, $\leq$ 14 mm)、替考拉宁 (30 μ g, $\leq$ 13 mm)、环丙沙星 (5 μ g, $\leq$ 20 mm)、左氧氟沙星 (5 μ g, $\leq$ 18 mm)、莫西沙星 (5 μ g, $\leq$ 23 mm)、加替沙星 (5 μ g, $\leq$ 22 mm)、复方新诺明 (19.4 μ g, $\leq$ 15 mm)、利福平 (5 μ g, $\leq$ 19 mm)、喹奴普汀-达福普汀 (15 μ g, $\leq$ 18 mm) 及利奈唑胺 (30 μ g, $\leq$ 20 mm), 质控菌株为 *S. aureus* ATCC25923, 按照 CLSI 的标准及参考文献判断药敏结果^[19]。

1.2.2 基于PCR反应的耐药基因检测

将菌株 HP 在 BHI 营养肉汤中培养 18~24 h, 按照 DNA 提取试剂盒的说明提取 DNA。PCR 扩增条件如下: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 适当温度退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 (延伸时间按 1 Kb-1 min 计算); 72 $^{\circ}$ C 终延伸 5 min。反应体系见表 1。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳法验证后送至上海美吉生物医药科技有限公司进行双向测序。检测了如下耐药基因: *mecA*, *mecC*, *blaZ*, *aac(6)/aph(2'')*, *aph(3'')*-IIIa, *aadE*, *tet(K)*, *tet(L)*, *tetM*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA*, *msrB*, *fexA*, *dfrG*, *linA*, *lnu(B)*, *lsa(E)*, *cfr(B)* 及 *sulII*, 引物序列参考先前研究^[13,19], 见表 2。

1.2.3 全基因组测序与耐药基因注释

将 HP 菌株划线接种于 BHI 琼脂固体培养基, 37 $^{\circ}$ C 培养获得单菌落, 将单菌落接种到 BHI 液体培养基中, 37 $^{\circ}$ C 培养 14 h。按照 DNA 提取试剂盒的说明提取 DNA, 利用 Illumina MiSeq 和 Pacbio RS II 测序平台进行全基因组测序, 获得 HP 的基因组信息。利用 SPAdes v3.9.0 和 Canu v1.4 软件组装测序数据, 并使用 Glimmer 3.02 软件进行开放阅读框 (Open Reading Frame, ORF) 预测。采用 BLAST 软件将所有预测蛋白序列与 eggNOG 数据库比对鉴定蛋白功能, 比对判别规则为: E-value 临界值为 1e-6, 序列一致性达 30% 以上, 且序列比对长度与其序列长度之比不低于 70%。采用 BLAST 软件将所有预测蛋白序列与抗生素耐药综合数据库 (Comprehensive Antibiotic Resistance Database, CARD) 进行比对, E-value 临界值为 1e-6, 氨基酸序列一致性达 45% 以上, 且序列比对长度与其序列长度之比不低于 70%。

表 1 PCR反应体系

Table 1 PCR reaction system

成分	上引物	下引物	10×PCR Buffer	dNTP	Taq	dd H ₂ O	模板 DNA	总共
体积 (μL)	1	1	2.5	0.5	0.25	18.75	1	25

表 2 耐药基因PCR及spa分型扩增引物

Table 2 PCR and spa typing amplification primers

耐药基因	引物名称	引物序列 (5'-3')
<i>mecA</i>	<i>mecA</i> -fw	GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA
	<i>mecA</i> -rv	CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTA
<i>mecC</i>	<i>mecC</i> -fw	GAAAAAAAGGCTTAGAACGCCTC
	<i>mecC</i> -rv	GAAGATCTTTCCGTTTTCAGC
<i>blaZ</i>	<i>blaZ</i> -fw	ACTTCAACACCTGCTGCTTTC
	<i>blaZ</i> -rv	TGACCACTTTTATCAGCAACC
<i>aac(6')/aph(2'')</i>	<i>aac(6')/aph(2'')</i> -fw	ACATGGCAAGCTCTAGGA
	<i>aac(6')/aph(2'')</i> -rv	GAAGTACGCAGAAGAGA
<i>aph(3')-IIIa</i>	<i>aph(3')-IIIa</i> -fw	CTTTAAAAAATCATACAGCTCGCG
	<i>aph(3')-IIIa</i> -rv	GGCTAAAATGAGAATATCACCGG
<i>aadE</i>	<i>aadE</i> -fw	GCAGAACAGGATGAACGTATTTCG
	<i>aadE</i> -rv	TTATCCCAACCTTCCACGAC
<i>tet(K)</i>	<i>tet(K)</i> -fw	GTAGCGACAATAGGTAATAGT
	<i>tet(K)</i> -rv	GTAGTGACAATAAACCTCCTA
<i>tet(L)</i>	<i>tet(L)</i> -fw	TCGTTAGCGTGCTGTCAATTC
	<i>tet(L)</i> -rv	GTATCCCACCAATGTAGCCG
<i>tetM</i>	<i>tetM</i> -fw	AGT GGA GCG ATT ACA GAA
	<i>tetM</i> -rv	CAT ATG TCC TGG CGT GTC TA
<i>ermA</i>	<i>ermA</i> -fw	AAGCGGTAAACCCCTCTGA
	<i>ermA</i> -rv	TTCGCAAATCCCTTCTCAAC
<i>ermB</i>	<i>ermB</i> -fw	CATTTAACGACGAAACTGGC
	<i>ermB</i> -rv	GGAACATCTGTGGTATGGCG
<i>ermC</i>	<i>ermC</i> -fw	ATCTTTGAAATCGGCTCAGG
	<i>ermC</i> -rv	CAAACCCGTATTCCACGATT
<i>msrA</i>	<i>msrA</i> -fw	TCCAATCATTGCACAAAATC
	<i>msrA</i> -rv	AATTCCCTCTATTTGGTGGT
<i>msrB</i>	<i>msrB</i> -fw	TATGATATCCATAATAATTA TCCAATC
	<i>msrB</i> -rv	AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCTGTT
<i>fexA</i>	<i>fexA</i> -fw	GTA CT TGTAGGTGCAATTACGGCTGA
	<i>fexA</i> -rv	CGCATCTGAGTAGGACATAGCGTC
<i>dfrG</i>	<i>dfrG</i> -fw	TGCTGCGATGGATAAGAA
	<i>dfrG</i> -rv	TGGGCAAATACCTCATTCC
<i>linA</i>	<i>linA</i> -fw	GGTGGCTGGGGGGTAGATGTATTAAGTGG
	<i>linA</i> -rv	GCTTCTTTTGAAATACATGGATTTTTC GATC
<i>lnu(B)</i>	<i>lnu(B)</i> -fw	CCTACCTATTGTTTGTGGAA
	<i>lnu(B)</i> -rv	ATAACGTTACTCTCCTATTC
<i>lsa(E)</i>	<i>lsa(E)</i> -fw	TTGTACGGAATGTATGG
	<i>lsa(E)</i> -rv	TTCGCTTCTATTAAGCACTCTT
<i>cfr(B)</i>	<i>cfr(B)</i> -fw	AAAAGCACAACAATCTACACAA
	<i>cfr(B)</i> -rv	TCACATGATACAAGTTCCCACT
<i>sulII</i>	<i>sulII</i> -fw	CGGCATCGTCAACATAACC
	<i>sulII</i> -rv	GTGTGCGGATGAAGTCAG
<i>spa</i>	<i>spa</i> -fw	GACGATCCTTCGGTGAGC
	<i>spa</i> -rv	CAGCAGTAGTGCCGTTTG

1.2.4 分子分型

利用 PasteurMLST 数据库 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/>), 确定 *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* 和 *yqiL7* 个管家基因的等位基因号, 从而获得菌株 HP 的 MLST 分型。将 HP 的全基因组信息上传至 SCCmecFinder 数据库 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SCCmecFinder>) 进行分析以确定其 SCCmec 元件位置和分型。按照文献报道的方法通过 PCR 扩增 *spa* 分型引物 (如表 2 所示), 将所得 PCR 产物进行双向测序后拼接, 寻找其 5' 端标志序列 (RCAMCAAAA) 以及 3' 端标志序列 (TAYATGTCGT), 中间序列按照 24 bp 分割成不同的重复单元, 提交到数据库 (<http://www.ridom.de/spaserver/>) 中, 得到各重复单元的序列号。将所有重复单元的序列号串联后再次提交到数据库以确定菌株 HP 的 *spa* 分型^[13]。

1.2.5 进化分析

从 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中选取来自不同国家和宿主且与 HP 菌株高度相似的 88 株金黄色葡萄球菌。利用 PATRIC 数据库 (Pathosystems Resource Integration Center, PATRIC) (<https://docs.patricbrc.org/>) 全球蛋白家族 (PGFams) 中的氨基酸和核苷酸序列对 89 株菌进行比较, 其中使用 MUSCLE 比较蛋白质序列, 使用 BioPython 的 Codon_align 函数比较核苷酸序列, 使用 RaxML 程序构建系统发育树。进一步通过 BacWGSTdb 数据库 (<http://bacdb.cn/BacWGSTdb/index.php>) 对菌株 HP 所在子分支的 8 株近缘菌株进行全基因组水平的单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) 分析。以菌株 HP 为参考菌株, 采用数据库提供的默认参数确定每株菌的 SNPs 数量。基于邻接法构建 SNP 进化树, 并使用 MEGA 5.0 和 Adobe Illustrator 软件进行优化。

1.2.6 近缘菌株全基因组比对分析

利用 BRIG 软件, 以菌株 HP 的全基因组序列为参考序列, 使用默认参数与 1.2.5 中得出的近缘菌株进行全基因组比对分析, 并对差异区域进行注释。

1.2.7 基因岛预测分析

利用 IslandViewer 软件, 采用 IslandPath-DIMOB、SIGI-HMM 和 IslandPick 三种预测方法对 HP 菌株的全基因组序列进行基因岛预测和整合, 并利用 IBS 软件绘制基因岛结构图。

1.3 数据分析

将 PCR 检测结果及注释得到的耐药基因分别按照抗生素类别进行汇总统计, 根据每类抗生素耐药基因的亚型数使用 Excel 软件绘制柱形图和 Venn 图。基于全基因组序列和 SNP 分析分别进行进化分析, 将分析结果以进化树的形式呈现。利用 IBS (Illustrator for Biological Sequences, IBS) 软件对 SCCmec 和基因岛分析结果绘制结构对比图, 通过 Adobe Illustrator 软件对各类图形进行优化。

2 结果与讨论

2.1 菌株 HP 对 25 种抗生素的药敏情况

猪源 MRSA 的耐药模式与养殖业抗生素的使用密切相关, 抗生素在养殖业中的广泛使用对猪源 MRSA 造成选择压力, 促进其耐药性的产生和发展。大数据表明, 中国养猪业常用的抗生素包括恩诺沙星、四环素、土霉素、金霉素、林可霉素和泰妙菌素等, 分别属于氟喹诺酮类、四环素类、林可胺类和截短侧耳素类抗生素^[4]。检测了菌株 HP 对 25 种常用抗生素的耐药性, 药敏试验结果显示 (如表 3 所示), 菌株 HP 对氟喹诺酮类 (环丙沙星)、 β -内酰胺类 (青霉素、苯唑西林、头孢西丁、头孢噻肟)、四环素类 (四环素)、利福霉素类 (利福平)、酰胺醇类 (氯霉素)、林可胺类 (克林霉素)、磺胺类 (复方新诺明) 以及链阳性菌素类 (喹奴普汀-达福普汀) 等抗生素耐药, 对万古霉素、替考拉宁和利奈唑胺等抗生素敏感。该结果表明菌株 HP 作为 ST9-SCCmecXII 新型 MRSA 已进化出对多种抗生素的耐药性, 而在治疗由该新型 MRSA 引起的感染和疾病时可以选择万古霉素和利奈唑胺等抗生素药物。

该结果与先前报道一致: 一项针对中国山东农村猪源 MRSA 抗生素耐药性的研究结果显示所有 ST9 型 MRSA 菌株均对四环素、庆大霉素、环丙沙星和复方新诺明等抗生素耐药, 部分菌株对利福平耐药, 所有菌株均对万古霉素和利奈唑胺敏感^[5]。李淑敏等^[6]对中国 6 个省养殖源 MRSA 分离株抗生素耐药性的分析显示, 分离株对克林霉素和红霉素 100% 耐药, 对四环素和头孢噻肟等抗生素耐药率也达 90% 以上, 而对万古霉素、利奈唑胺及达托霉素敏感。Amoako 等^[17]对南非农场家禽 MRSA 分离株的耐药表型分析也显示出对庆大霉素、环丙沙星、四环素和利福平等抗生素的耐药性和对万古霉素、利奈唑胺和替加环素的敏感性。

表 3 菌株HP耐药表型和耐药基因
Table 3 Resistance phenotypes and resistance genes of HP

抗生素类别	抗生素	耐药折点/mm	耐药表型	PCR 耐药基因检测结果	CARD 耐药基因比对结果
β-内酰胺类	青霉素	≤28	R	<i>blaZ, mecA</i>	<i>blaZ, blaR1, blaI, mecA, mecR1</i>
	苯唑西林	≤12	R		
	头孢西丁	≤21	R		
	头孢噻吩	≤17	S		
	头孢噻肟	≤22	S		
	头孢他啶	≤17	S		
氨基糖苷类	庆大霉素	≤14	S	<i>aac(6')/aph(2''), aadE</i>	<i>aph(3')-IIIa, ant(6), ant(6)-Ia, aac(6')/aph(2''), aph(2'')-Ia, aadE, spw</i>
	卡那霉素	≤17	S		
四环素类	四环素	≤18	R	<i>tetL</i>	<i>tetL, tet38</i>
	米诺环素	≤18	S		
硝基呋喃类	呋喃妥因	≤16	S	/	/
酰胺醇类	氯霉素	≤17	R	<i>fexA</i>	<i>fexA</i>
大环内酯-林可酰胺-链阳性菌素类	克拉霉素	≤17	R	<i>lnu(B), lsa(E)</i>	<i>ermA, ermC, lnu(B), lsa(E)</i>
	红霉素	≤22	S		
	克林霉素	≤20	R		
	喹奴普汀-达福普汀	≤18	R		
糖肽类	万古霉素	≤14	S	/	/
	替考拉宁	≤13	S		
氟喹诺酮类	环丙沙星	≤20	R	/	<i>grlA, grlB, gyrA, gyrB, norA, norB, arlS, arlR</i>
	左氧氟沙星	≤18	S		
	莫西沙星	≤23	S		
	加替沙星	≤22	S		
磺胺类	复方新诺明	≤15	R	<i>dfrG</i>	<i>dfrC, dfrE, dfrG, folP</i>
利福霉素类	利福平	≤19	R	/	<i>rpoB, rpoC</i>
恶唑烷酮类	利奈唑胺	≤20	S	/	/
其他	/	/	/	/	<i>bacA, fosB, LuxR, tufA, mepA, mepR, mgrA, mprF, pgsA</i>

注：表中 R 代表耐药，S 代表敏感。

2.2 菌株HP基因组的基本特征及分型

菌株 HP 的基因组总长度为 2 850 509 bp，平均 GC 含量为 32.82%，共有 2 938 个编码基因。与 eggNOG 数据库比对结果显示，2 938 个编码基因中有 2 280 个基因编码的蛋白获得 COG（直系同源蛋白簇）功能注释，占比 77.60%。COG 功能注释分布于 22 个 COG 的条目中，大多数注释基因与菌株代谢相关，占比 36.886%。质粒预测结果显示，菌株 HP 含有 2 种质粒复制子类型（plasmid 1 和 plasmid 2）。根据 PasteurMLST 数据库比对得出菌株 HP 的 7 个管家基因号分别为 *arcC*-3、*aroE*-3、

glpF-1、*gmk*-1、*pta*-1、*tpi*-1、*yqiL*-10，确定其 MLST 分型为 ST9。根据 *spa* 分型数据库比对结果，菌株 HP 的 *spa* 分型为 t899。先前研究表明，ST9-t899 型 MRSA 为中国猪源 MRSA 的主要流行菌株^[4]。将菌株 HP 的全基因组信息上传至 SCCmecFinder 数据库进行分析，确定其 SCCmec 分型为 XII 型。SCCmecXII 型 MRSA 菌株为近几年出现的新型猪源 MRSA 菌株^[14]。

2.3 菌株HP的抗生素耐药基因分析

采用传统的 PCR 扩增法和全基因组水平与 CARD 数据库比对两种方法确定 HP 的抗生素耐药

基因。通过 PCR 扩增了 21 个耐药基因, 检测到其中 9 个 (表 3), 包括 β -内酰胺类 (*blaZ*、*mecA*)、氨基糖苷类 [*aac*(6')/*aph*(2'')、*aadE*]、MLS 类 [*lnu*(B)、*lsa*(E)]、四环素类 (*tetL*) 等 (图 1a)。在全基因组水平上, 通过与 CARD 数据库比对, 鉴定出 42 个抗生素耐药基因 (表 3), 包括 41 个染色体耐药基因和 1 个质粒耐药基因, 主要包括氨基糖苷类 [*aph*(3')-IIIa、*ant*(6)、*ant*(6)-Ia、*aac*(6')/*aph*(2'')、*aph*(2'')-Ia、*aadE*]、 β -内酰胺类 (*blaZ*、*blaR1*、*blaI*、*mecA*、*mecR1*)、氟喹诺酮类 (*griA*、*griB*、*gyrA*、*gyrB*、*norA*、*norB*、*arlS*、*arlR*)、四环素类 (*tetL*、*tet38*)、MLS 类 [*ermA*、*ermC*、*lnu*(B)、*lsa*(E)] 以及其他抗生素耐药基因 (图 1b)。

将菌株 HP 的抗生素耐药表型和基因型进行比较发现, 菌株 HP 对氟喹诺酮类、 β -内酰胺、四环素类 (四环素)、利福霉素类、酰胺醇类、林可胺类、磺胺类以及链阳性菌素类等 8 大类抗生素表现出耐药性, PCR 共检测到其中 6 类抗生素耐药基因, 基于高通量测序的 CARD 数据库比对出 14 类。菌株 HP 对氟喹诺酮类抗生素耐药但并未显示出对氨基糖苷类抗生素的耐药, 而在 PCR 扩增结果中并未发现氟喹诺酮类耐药基因, 却发现了氨基糖苷类耐药基因。耐药表型与 PCR 扩增结果之间出现这一偏差的原因可能是抗生素药敏试验选取的抗生素种类有限, 且 PCR 作为一种靶向检测手段只能针对性检测到有限的耐药基因。然而, 基于高通量测序的 CARD 数据库的比对结果则与菌株耐药表型具有较高的一致性。菌株 HP 表现为耐药的 8 大类抗生素在 CARD 数据库比对结果中均发现了相应的抗生素耐药基因。

该研究结果与先前报道一致, Yu 等^[11]对亚洲多地人和动物相关的 ST9 型 MRSA 进行全基因组测序和数据库比对, 发现多种抗生素耐药基因, 包括 β -内酰胺类 (*mecA*、*blaZ*)、氨基糖苷类 [*aac*(6')-Ie/*aph*(2'')-Ia]、MLS 类 [*lnu*(B)、*lsa*(E)]、利福霉素类 (*rpoB*)、四环素类 [*tet*(L)、*tet*(M)] 和氟喹诺酮类 (*gyrA*)。Li 等^[4]通过 PCR 扩增对猪场和屠宰场分离的 MRSA 进行耐药基因检测, 除 β -内酰胺类 (*mecA*) 耐药基因外也发现 *lsa*(E) 多重耐药基因簇的存在。值得注意的是, 无论是基于 PCR 产物测序结果还是全基因组水平耐药数据库比对均发现多重耐药基因 *lsa*(E) 的存在。*lsa*(E) 是编码 ABC 转运蛋白的基因, 可介导对大环内酯、林可酰胺及链球菌素等多种抗生素的抗性^[20]。*lsa*(E) 通常与

aadE、*spw* 和 *lnu*(B) 构成多重耐药基因簇, 具有较高的耐药风险^[21]。

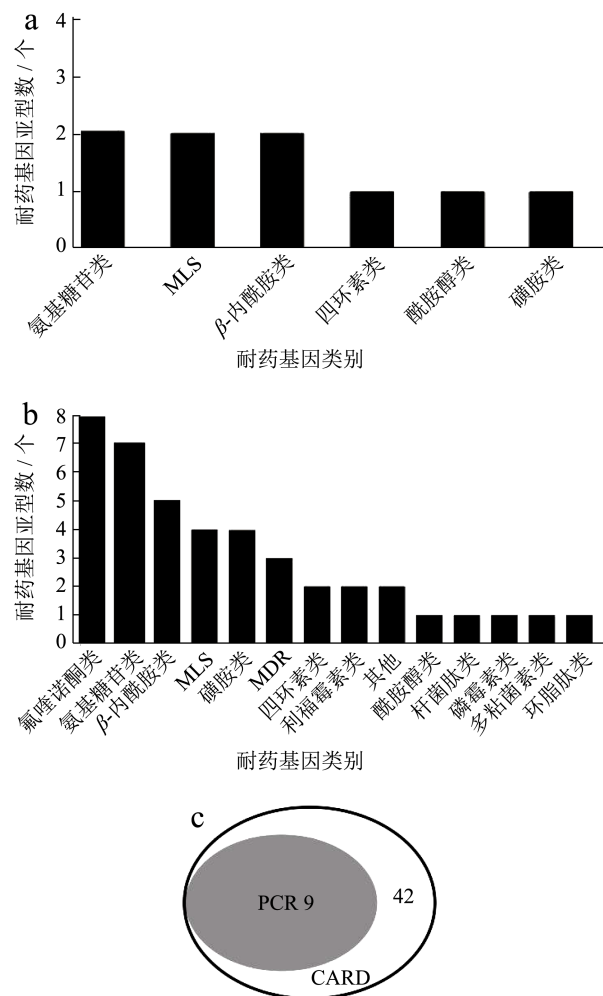


图 1 菌株 HP 所携带的抗生素耐药基因

Fig.1 The antibiotic resistance genes (ARGs) of HP identified by

注: a 为 PCR 检测结果, b 为 CARD 数据库比对结果, c 为 PCR 和 CARD 结果中独有和共有的耐药基因亚型数。MDR 表示多重耐药类, MLS 表示大环内酯-林可酰胺-链阳性菌素类。

2.4 进化分析

2.4.1 基于全基因组氨基酸和核苷酸序列的进化分析

MRSA 具有较强的跨宿主传播能力, 系统发育分析有助于深入了解 MRSA 在不同宿主间的种群结构和传播率^[22]。先前研究表明, ST9 型和 ST398 型分别是中国和欧洲畜相关 MRSA 中的优势谱系^[23,24]。ST59 是中国人源社区相关 MRSA 分离株的主要类型, 而 ST5 和 ST239 是中国人源医院相关 MRSA 分离株的主要类型^[25,26]。为探究菌株 HP 与

来自不同国家和宿主金黄色葡萄球菌之间的系统发育关系，根据 NCBI 数据库的相似性报告下载了 88 株与 HP 全基因组相似度较高的金黄色葡萄球菌基因组序列。这 88 株菌分别来自 17 个不同国家，包括猪、牛、人类等不同宿主来源以及 22 种不同 MLST 分型。

基于 PATRIC 数据库，根据 89 株金黄色葡萄球菌的氨基酸和核苷酸序列构建进化树（如图 2 所示）。进化树主要由三个分支构成，分别为分支 I-III，菌株 HP 位于分支 I 上，分离自不同国家和宿主的菌株亲缘关系较近。例如，菌株 HP 所在子分支 Ia 包括 3 株印度牛源菌株（K5、K3、K17）、3 株中国猪源菌株（HP、NX-T55、QD-CD9）、1 株中国牛源菌株（BA01611）、1 株丹麦牛源菌株（CFSAN018750）及 1 株德国人源菌株（RK14）。其中，菌株 HP 分离自中国广东省，NX-T55 分离自中国宁夏省，QD-CD9 分离自中国山东省，BA01611 分离自中国

西北地区，且均为 ST9-SCCmecXII 型 MRSA^[21]。这说明分离自不同地点和不同宿主金黄色葡萄球菌可能具有较近的亲缘关系，也表明 ST9-SCCmecXII 新型 MRSA 菌株可能在猪、牛及人类等不同宿主之间传播。

该结果与先前研究类似，Bi 等^[5]对人和猪相关 MRSA 分离株的基因型进行比较时，在猪和人样本中发现了基因特征相同的 ST59 和 ST9 型 MRSA 分离株，这表明 MRSA 可能在人和动物之间双向传播。研究表明养殖业和贸易的发展可能促进 ST9 型菌株的基因交换，使其具有跨物种和跨区域传播的能力^[11,27]。迄今为止 ST9-SCCmecXII 新型 MRSA 已在我国多地猪肉生产和销售链中屡次被检出^[7,13]，在牛奶样本和临床样本中也有报道^[14,15]。这表明 ST9-SCCmecXII 新型 MRSA 菌株已成为威胁食品安全和人类健康的重要病原体，有必要持续监测其流行病学特征及采取一定控制策略。

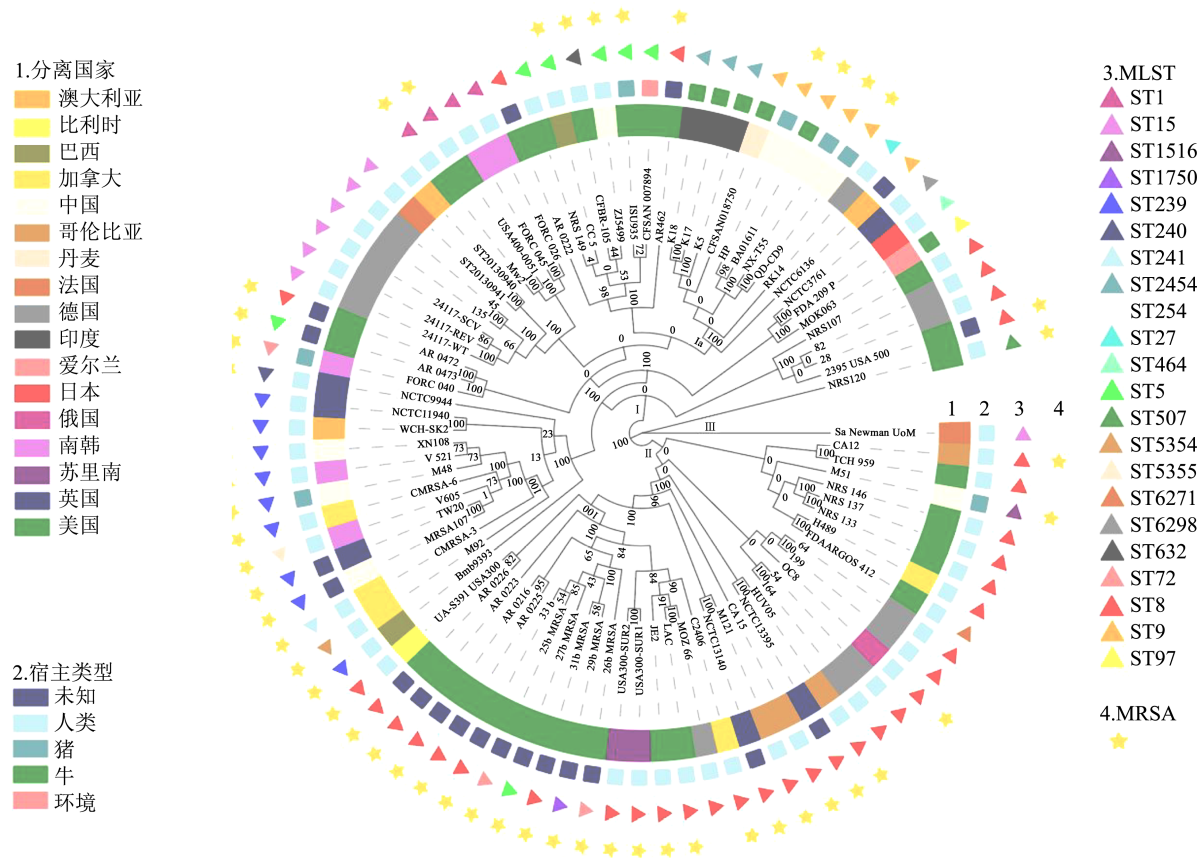


图 2 89 株金黄色葡萄球菌的系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of 89 *Staphylococcus aureus* strains

2.4.2 基于全基因组SNP的进化分析

SNP 分析用于区分同一进化谱系的菌株时具有较高的准确性和分辨率^[28]。以菌株 HP 为参考菌株，对 HP 所在子分支 Ia 的 2 株牛源和 5 株猪源金黄色葡萄球菌进行全基因组水平的 SNP 分析，并根据分析结果绘制进化树（如图 3 所示）。结果显示，菌株 HP 单独为一个分支，5 株分离自不同国家的牛源菌株聚为一个分支，2 株中国猪源菌株聚为一个分支。这表明，这 8 株菌的 SNP 聚类结果与宿主类型的相关程度更高。此外，菌株 HP 与分离自中国西北部乳腺炎奶牛乳汁样本的 SCCmecXII 型菌株 BA01611 之间检出的 SNPs 数量最少，为 886 个，其次是中国猪源菌株 NX-T55 和 QD-CD9，与 HP 之间的 SNPs 数量分别为 1 097 和 1 144 个。这说明菌株 HP 与这三株菌之间的基因组差异较小，亲缘关系相对更近，并进一步提示 ST9-SCCmecXII 新型 MRSA 可能具有跨猪、牛等宿主以及在畜产品生产链传播的风险。该结果与 Jiang 等^[27]对 131 株 ST9 型 MRSA 的 SNP 进化分析结果相似。Kittl 等^[28]通过 SNP 分析农场 MRSA 分离株的种群结构时也发现分离自不同宿主（猪源和）的 MRSA 聚集在不同的分支。

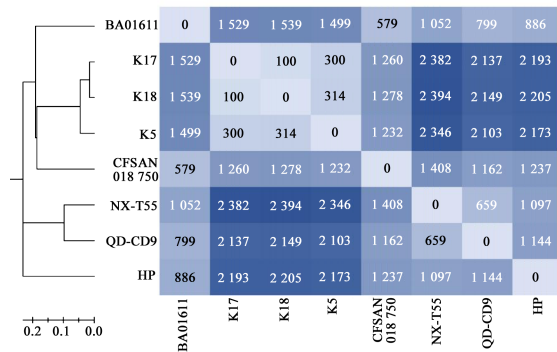


图 3 菌株 HP 与近缘菌株的全基因组 SNP 进化分析
Fig.3 Whole genome SNPs phylogenetic analysis of HP and its relative strains

2.5 与近缘菌株的全基因组比对分析

为进一步探究菌株 HP 及其近缘菌株在全基因组水平上的差异，对其进行了全基因组序列比对分析，并对差异区域进行了注释（如图 4 所示）。结果显示，这 8 株菌的全基因组相似度超过 96%，主要差异区域为：SCCmec（33 585~80 000），原噬菌体（713 406~729 089；810 702~863 099），基因岛（104 653~116 228；749 649~761 337；912 404~940 240；1 101 925~1 111 259；2 702 461~2 731 962），致病岛 vSaa（2 333 743~2 380 355）。由此可见，尽管

这 8 株菌分离自不同国家和宿主，但其全基因组组成高度相似，且差异主要集中在可移动遗传元件上。这也进一步说明了菌株 HP 与这些牛源和猪源 MRSA 具有较近的亲缘关系，并具有高度相似的核心基因组，而可移动遗传元件在其进化过程中起着不可忽视的作用。先前也有研究表明，MRSA 的核心基因组占比仅 75% 左右，其余 25% 的附属基因组包含多种可移动遗传元件，携带多种抗生素耐药基因和毒力基因，使得 MRSA 在定殖和进化过程中具有高度可变性和适应性^[16,29]。因此，有必要对菌株 HP 附属基因组中的可移动遗传元件携带情况进行进一步分析。

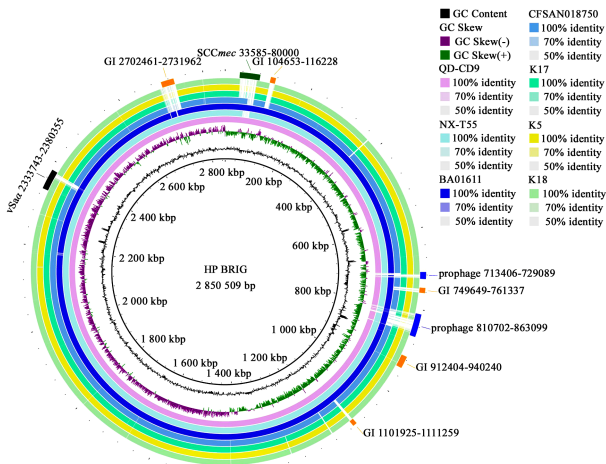


图 4 菌株 HP 与近缘菌株的全基因组比对分析
Fig.4 Whole genome sequence comparison of HP and its relative strains

2.6 可移动遗传元件分析

2.6.1 SCCmec分析

MRSA 的可移动遗传元件包括基因岛、SCCmec、转座子和质粒等，与 MRSA 的耐药性、致病性及遗传进化密切相关^[16,18]。其中，SCCmec 是 MRSA 获得甲氧西林耐药性的重要分子基础，且可携带多种耐药基因在金葡菌染色体间进行转移^[30,31]。SCCmec 元件通常由 mec 基因复合物、染色体重组酶基因复合物（ccr）和连接区域（J 区）组成^[32]。mec 基因复合物负责编码和调控 PBP2a 蛋白的合成从而产生对大多数 β -内酰胺类药物的耐药性，而 ccr 基因复合物负责 SCCmec 的整合或切除^[33,34]。根据不同类型的 mec 基因复合物和 ccr 基因复合物的组合方式，可分成不同类型的 SCCmec 元件^[8]。目前已报道了 15 种类型的 SCCmec，即 I-XV 型^[35,36]。其中，SCCmecI-SCCmecXI 型在 1999~2011 年

陆续被发现^[1]。2015年, Wu等^[14]在中国西北部乳腺炎奶牛的乳汁样本中首次发现了 SCCmecXII。SCCmecXII 与 I-XI 型的本质区别在于, 它携带一种被称为 *ccrC2* 的新型 *ccrC* 同种异型基因。

将菌株 HP 的全基因组序列上传至 SCCmecFinder 数据库进行分析确定 HP 携带 SCCmecXII 元件, 并使用 IBS 软件绘制菌株 HP 与其近缘菌株的 SCCmec 结构对比图。结果显示 (如图 5 所示), HP 菌株的 SCCmec 总长度为 46 388 bp, GC 含量为 32%, 包含 59 个 ORF。从结构上看, 菌株 HP 与猪源菌株 QD-CD9 和牛源菌株 BA01611 的 SCCmec 相似度均在 90% 以上。区别在于菌株 HP 的 ORF8-ORF17 区域发生了倒位, 菌株 HP 和 QD-CD9 的 *mec* 复合体区域也发生了倒位。从组成上看, 菌株 HP 的 SCCmecXII 元件的 *mec* 基因复合体由 *mec* 基因和调控基因 *mecR1* 组成, *ccr* 基因复合体包括 *ccrA1* 和 *ccrC2* 两种 *ccr* 基因。*ccrC2* 是 2015 年在乳腺炎奶牛样本中分离出的 MRSA 中发现的一种新型 *ccr* 基因, 它与以往发表的 *ccrC* 基因序列同源性小于 70%, 也是区分 XII 型与其他类型 SCCmec 元件的关键^[14]。

此外, 在菌株 HP 的 SCCmecXII 元件的 J 区还发现了 6 个 IS 插入序列 (IS30、IS3、IS431)。IS 插入序列是一种转座子元件, 具有很高的转位活性, 能够促进耐药基因的迁移与传播^[37,38]。SCCmec 元件的 J 区通常包含多种转座子和抗生素耐药决定簇, 在介导 MRSA 对除甲氧西林外其他抗生素的耐药方面发挥关键作用^[36]。该结果与 Amoako 等^[17]对南非农场 MRSA 分离株研究结果相一致, 他们在农场分离株的 SCCmecIV 的 J 区也发现了 IS431。一项分析中国养猪场 ST398 型 MRSA 菌株 MGE 携带情况的研究显示, 在 SCCmecIX 上也存在转座子 IS431^[22]。不同的是, 在 HP 菌株的 SCCmecXII 上

还存在 IS3 和 IS30 等多种转座子, 原因可能是在 MRSA 的进化演变过程中不同类型的 SCCmec 在结构和组成上形成了差异。

2.6.2 基因岛分析

基因岛在猪源 MRSA 耐药性的获得和传播中的作用也不容忽视。基因岛通常携带不同的基因, 这些基因可编码多种功能蛋白, 从而提高菌株的适应性^[39]。根据携带的基因类型, 基因岛又可分为“耐药岛”和“毒力岛”等^[40]。结合 IslandPath-DIMOB, SIGI-HMM 和 IslandPick 三种预测方法对 HP 基因组中的基因岛进行预测得到整合结果。在菌株 HP 基因组中共预测出 17 个基因岛, 有两个基因岛较为特殊 (如图 6 所示), 分别命名为 HPGI1 和 HPGI2。其中 HPGI1 为耐药岛, HPGI2 为毒力岛, 这里着重分析耐药岛 HPGI1。HPGI1 全长 30 782 bp, 包含 37 个 ORF。比对结果显示, 与 HPGI1 结构最相似的为猪源菌株 QD-CD9 和 NX-T55 的基因岛, 相似度分别为 100% 和 88%。区别在于 HPGI1 的 ORF 22-ORF 25 片段出现倒位, 且其上游失去了一个耐药基因 *ermC* 和 IS6 插入序列。

从组成上来看, 基因岛 HPGI1 包含 6 个转座子 (*tnp*、IS6、IS256、ISL3) 和 9 个抗生素耐药基因, 与多类抗生素相关, 如氨基糖苷类 [*ant*(6)-Ia、*aac*(6')/*aph*(2''), *spw*]、 β -内酰胺类 (*blaZ*、*blaR1*、*blaI*)、MLS 类 [*lnu*(B)、*lsa*(E)] 及四环素类 (*tetL*)。该结果与先前研究类似, Zou 等^[22]在分析养猪场 ST398 型 MRSA 的基因岛结构时, 在基因岛上也发现了四环素类耐药基因 *tetL* 和氨基糖苷类耐药基因 *aac*(6')/*aph*(2'')。此外, 他们在 ST398 型菌株的基因岛上还发现了 HPGI1 所不具有的大环内酯类耐药基因。出现这一差异的主要原因可能是不同 MRSA 克隆群体基因组内耐药基因分布存在差异, 因而具有不同的耐药特征。

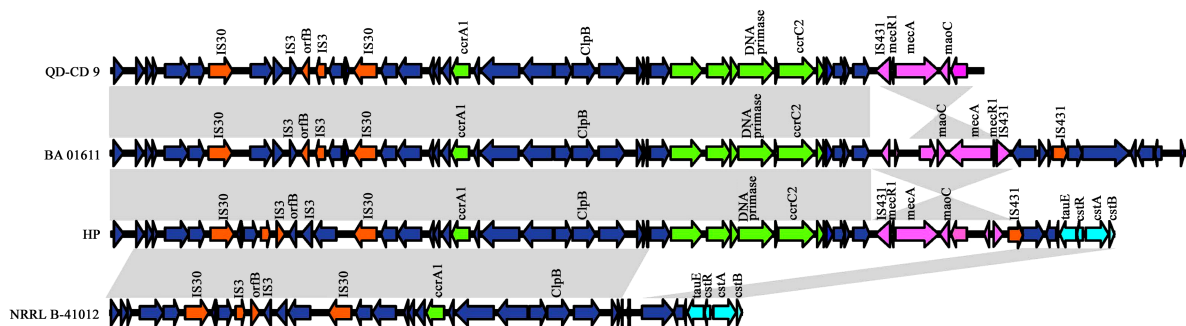


图 5 菌株 HP 与近缘菌株的 SCCmec 元件结构对比

Fig.5 The SCCmec structure of HP and its relative strains

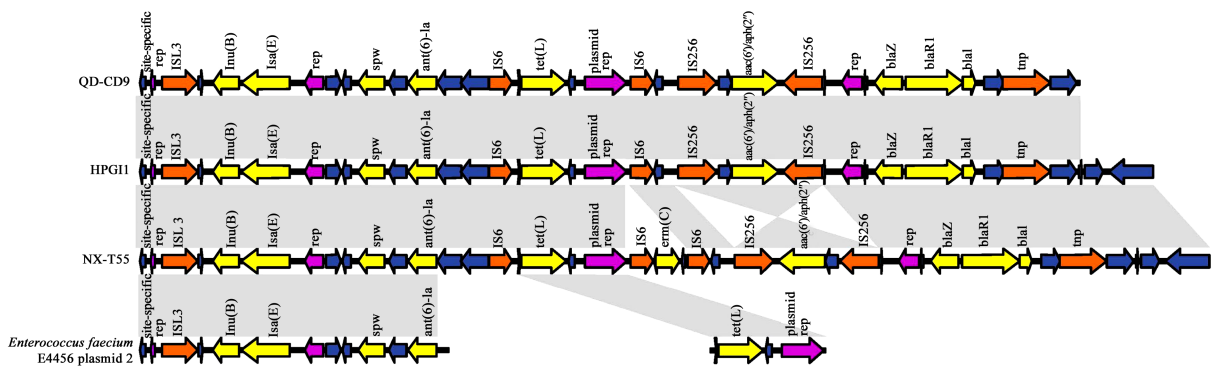


图 6 菌株 HP 与其他菌株的基因岛结构对比

Fig.6 The gene island structure of HP and its relative strains

值得注意的是，转座子 *tnp* 与耐药基因 *spw*、*lnu(B)*、*lsa(E)* 是多重耐药基因簇 *aadE*-*spw*-*lsa(E)*-*lnu(B)*-*tnp* 的重要组成部分。该基因簇包含多个耐药基因，可介导菌株对氨基糖苷类（*aadE*、*spw*）、林可酰胺类（*lnu(B)*）和林可酰胺-截短侧耳素-链阳菌素 A 类（*lsa(E)*）抗生素的耐药性^[21]。在 HP 菌株的基因岛上检测到了多个与该多重耐药基因簇相关的耐药基因，这进一步突出了菌株 HP 的多重耐药性。由于基因岛的迁移能力使得菌株 HP 相比普通耐药株具有更高的耐药和传播风险。Ji 等^[23]在分析中国 ST9 型 MRSA 的耐药性时也检测到了该多重耐药基因簇。与之不同的是，本研究发现的多重耐药基因簇位于基因岛上，基因岛的可移动性会促进多个耐药基因的协同传播，从而加速多重耐药菌株的产生和扩散。这提示后续研究务必持续重视猪源 ST9-SCCmecXII 新型 MRSA 的可移动遗传元件对其耐药性传播的作用以及可能造成的潜在威胁。

3 结论

前期从病猪脾脏中分离出一株新型 ST9-MRSA-SCCmecXII 菌株 HP，通过抗生素药敏试验、全基因组测序及一系列生物信息学工具分析其耐药表型、可移动耐药基因携带情况及遗传进化特征。结果表明，HP 对多类抗生素（包括氟喹诺酮类、β-内酰胺类、四环素类等）具有耐药性，并携带相应的抗生素耐药基因。此外，HP 菌株与 1 株牛奶源和 2 株猪源的 ST9-SCCmecXII 型 MRSA 分离株亲缘关系较近，且携带相似的可移动遗传元件（如新型 SCCmecXII 元件、基因岛 HPG11 和转座子）使其具有在猪、牛等不同宿主间及畜相关食品加工链传播的潜力。这说明菌株 HP 不仅具有多重耐药性，而且具有沿牲畜养殖和肉制品加工链传播及感染人类的潜在风险，对食品安全和公共卫生造成潜在威

胁。猪源新型 MRSA 携带的可移动遗传元件的传播效果还需进一步探究，该研究有望为预防和控制新型 MRSA 在养殖环境、肉制品加工链及社区的广泛流行提供科学依据。

参考文献

[1] LAKHUNDI S, ZHANG K Y. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2018, 31(4): e00020-18.

[2] World Health Organization. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance [EB/OL]. 2024: 13 (2024-05-17)[2024-07-17].<https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>.

[3] ZHOU Y Y, LI X H, YAN H. Genotypic characteristics and correlation of epidemiology of *Staphylococcus aureus* in healthy pigs, diseased pigs, and environment [J]. Antibiotics (Basel), 2020, 9(12): 839.

[4] LI J, JIANG N, KE Y, et al. Characterization of pig-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Veterinary Microbiology, 2017, 201: 183-187.

[5] BI Z, SUN C, BORJESSON S, et al. Identical genotypes of community-associated MRSA (ST59) and livestock-associated MRSA (ST9) in humans and pigs in rural China [J]. Zoonoses Public Health, 2018, 65(3): 367-371.

[6] 李淑敏,方亮星,李亮,等.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[J].中国农业科学,2019,52(9):1646-1656.

[7] ZHU Z, LIU X, CHEN X, et al. Prevalence and virulence determinants of *Staphylococcus aureus* in wholesale and retail pork in Wuhan, central China [J]. Foods, 2022, 11(24): 4114.

[8] 武杰,赵建平.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分型方法研究进展[J].中国感染与化疗杂志,2021,21(2):235-240.

- [9] 张鹏飞,张杰,刘心雨,等.上海市食源性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子特征及耐药性[J].食品科学,2020,41(20):285-291.
- [10] HWANG Y. Comparing the phylogenetic distribution of multilocus sequence typing, *Staphylococcal* protein A, and *Staphylococcal* cassette chromosome *mec* types in methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) in Korea from 1994 to 2020 [J]. Antibiotics, 2023, 12 (9): 1397-1397.
- [11] YU F, CIENFUEGOS-GALLET A V, CUNNINGHAM M H, et al. Molecular evolution and adaptation of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) sequence type 9 [J]. Msystems, 2021, 6(3): e49221.
- [12] ZHOU W Y, LI X H, OSMUNDSON T, et al. WGS analysis of ST9-MRSA-XII isolates from live pigs in China provides insights into transmission among porcine, human and bovine hosts [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2018, 73(10): 2652-2661.
- [13] ZHOU W Y, LI X H, SHI L, et al. Novel SCC*mec* type XII methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates identified from a swine production and processing chain [J]. Veterinary Microbiology, 2018, 225: 105-113.
- [14] WU Z W, LI F, LIU D L, et al. Novel type XII *staphylococcal* cassette chromosome *mec* harboring a new cassette chromosome recombinase, *ccrC2* [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015, 59: 7597-7601.
- [15] CHEN C J, LAUDERDALE T Y, LU C T, et al. Clinical and molecular features of MDR livestock-associated MRSA ST9 with *staphylococcal* cassette chromosome *mec* XII in humans [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2018, 73(1):33-40.
- [16] NADEEM S, GOHAR U, TAHIR S, et al. Antimicrobial resistance: more than 70 years of war between humans and bacteria [J]. Critical Reviews in Microbiology, 2020, 46(5): 578-599.
- [17] AMOAKO D, SOMBORO A, ABIA A, et al. Genomic analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from poultry and occupational farm workers in Umgungundlovu District, South Africa [J]. Science of the Total Environment, 2019, 670: 704-716.
- [18] MATUSZEWSKA M, MURRAY G, BA X, et al. Stable antibiotic resistance and rapid human adaptation in livestock-associated MRSA [J]. Elife, 2022, 11: e74819.
- [19] 周文渊.猪源SCC*mec*XII型耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性、分子分型及全基因组序列分析[D].广州:华南理工大学,2018.
- [20] ZHANG F, WU S, LEI T, et al. Presence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* co-carrying the multidrug resistance genes *cfr* and *lsa(E)* in retail food in China [J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 363: 109512.
- [21] 谷立慧,周文渊,王丽,等.猪源金黄色葡萄球菌*lsa(E)*基因的流行性研究[J].现代食品科技,2018,34(7):50-55.
- [22] ZOU G, MATUSZEWSKA M, JIA M, et al. A survey of Chinese pig farms and human healthcare isolates reveals separate human and animal methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* populations [J]. Advanced Science, 2022, 9(4): e2103388.
- [23] JI X, KRUGER H, TAO J, et al. Comparative analysis of genomic characteristics, fitness and virulence of MRSA ST398 and ST9 isolated from China and Germany [J]. Emerging Microbes and Infections, 2021, 10(1): 1481-1494.
- [24] 庞璐,徐进,林兰,等.动物源性甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌的研究进展[J].中国药事,2012,26(11):1249-1254.
- [25] SONG Q, WU J, RUAN P. Predominance of community-associated sequence type 59 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a paediatric intensive care unit [J]. Journal of Medical Microbiology, 2018, 67:408-414.
- [26] DAI Y, LIU J, 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: 471-478.
- [27] JIANG N S, WYRES K L, LI J, et al. Evolution and genomic insight into methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST9 in China [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2021, 76(7): 1703-1711.
- [28] KITTL S, BRODARD I, HEIM D, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Swiss pigs and their relation to isolates from farmers and veterinarians [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(5): e01865-19.
- [29] PIPER KR, IKHIMIUKOR O O, SOUZA S S R, et al. Evolutionary dynamics of the accessory genomes of *Staphylococcus aureus* [J]. Msphere, 2024, 9(4): e0075123.
- [30] HUANG J, XIAO J, WANG X, et al. Unearthing new *ccr* genes and SCC elements in *staphylococci* through genome mining [J]. Journal of Infectious Diseases, 2024, 230(1):231-238.
- [31] NGASSAM T C, DUPREZ J N, LUCAS P, et al. Comparison of the *Staphylococcal* chromosome cassette (SCC) *mec* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and non-*aureus* *Staphylococci* (MRNAS) from

- animals and humans [J]. *Antibiotics* (Basel), 2021, 10(3): 256.
- [32] 于俊媛,张雯庆,祁琳,等.甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌 *SCCmec* 耐药元件及其菌株间水平转移机制[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2015, 15(2): 180-183.
- [33] URUSHIBARA N, AUNG M S, KAWAGUCHIYA M, et al. Genome analysis of a *SCCmec* element in ST9-MRSA from Myanmar with a unique *mec* gene complex and two *ccr* gene complexes (*ccrA1B1* and *ccrA5B7*) [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2023, 78(7): 1805-1806.
- [34] MAREE M, THI N L T, OHNIWA R L, et al. Natural transformation allows transfer of *SCCmec*-mediated methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 2477.
- [35] URUSHIBARA N, AUNG MS, KAWAGUCHIYA M, et al. Novel *staphylococcal* cassette chromosome *mec* (*SCCmec*) type XIV (5A) and a truncated *SCCmec* element in SCC composite islands carrying *speG* in ST5 MRSA in Japan [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, 75(1): 46-50.
- [36] WANG W, HU Y, BAKER M. Novel *SCCmec* type XV (7A) and two pseudo-*SCCmec* variants in foodborne MRSA in China [J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2022, 77(4): 903-909.
- [37] LIN Y T, TSENG S, HUNG W W, et al. A possible role of insertion sequence IS1216V in dissemination of multidrug-resistant elements MESPM1 and MES6272-2 between *Enterococcus* and ST59 *Staphylococcus aureus* [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(12): 1905.
- [38] KLEINERT F, KALLIES R, HORT M, et al. Influence of IS256 on genome variability and formation of small-colony variants in *Staphylococcus aureus* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2017, 61(8): e00144-17.
- [39] 万佳宏,常佳伟,魏彦琴,等.2016-2017年宁夏地区牛源金黄色葡萄球菌的全基因组分析[J]. *微生物学报*, 2021, 61(5): 1315-1327.
- [40] 陈程,王瞳,常佳伟,等.宁夏地区一株奶牛源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌流行株的高通量测序分析[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(7): 1636-1644.