

猪体内金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌 耐药性调查及耐药基因分布研究

林大川[†], 刘健华[†], 王 晶, 孙 娜, 郭潇木, 魏鸿堃, 冯言言, 曾振灵

(华南农业大学 兽医学院, 广东省兽药研制与安全评价重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要: 2010年从广东省不同地区230头猪的淋巴结样品中分离鉴定出90株葡萄球菌, 其中金黄色葡萄球菌19株, 凝固酶阴性葡萄球菌71株. 采用琼脂稀释法检测其对14种抗菌药物的敏感性, 并用PCR方法检测13种耐药基因的携带情况, 运用统计学方法分析猪体内金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌的耐药性和耐药基因分布情况的差异. 结果显示葡萄球菌对大环内酯类、林可胺类和四环素类抗生素的耐药率较高(>80%). 金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌对多数药物耐药情况及耐药基因的携带情况差异不显著, 但对苯唑西林的耐药率及linA、ermB基因的携带率差异显著($P < 0.05$), 凝固酶阴性葡萄球菌明显高于金黄色葡萄球菌.

关键词: 金黄色葡萄球菌; 凝固酶阴性葡萄球菌; 耐药性; 耐药基因; 猪

中图分类号: S852.61

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2012)04-0550-06

Antimicrobial Resistance and Resistance Genes in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative *Staphylococci* Isolated from Swine

LIN Da-chuan[†], LIU Jian-hua[†], WANG Jin, SUN Na, GUO Xiao-mu,

WEI Hong-kun, FENG Yan-yan, ZENG Zhen-ling

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutics Development and Safety Evaluation,
College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Ninety *Staphylococcus* strains, including 19 *Staphylococcus aureus* and 71 coagulase-negative *Staphylococci*, were isolated from different swine lymph node samples collected from Guangdong Province in 2010. Antimicrobial susceptibility testing was performed with agar dilution method according to the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). PCR detection was used to screen 13 resistance genes among these strains. Statistical methods were used to analyze the differences in resistance and the distribution of resistance genes in *S. aureus* and coagulase-negative *Staphylococci*. The results showed that resistance rates of *S. aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* to macrolides, lincosamides, tetracycline were very high (>80%). There were no significant differences of antimicrobial resistance and the carriage rates of resistance genes between *S. aureus* and coagulase-negative *Staphylococci*, except that the coagulase-negative *Staphylococci* strains had a higher oxacillin resistance rate and higher limA and ermB gene carriage rates as compared with *S. aureus* ($P < 0.05$).

Key words: *Staphylococcus aureus*; coagulase-negative *Staphylococci*; resistance; resistance genes; swine

收稿日期: 2012-03-22

作者简介: 林大川(1986—), 男, 硕士研究生; 刘健华(1973—), 女, 副教授, 博士; [†]对本文贡献相同; 通信作者: 曾振灵(1963—), 男, 教授, E-mail: zlzeng@scau.edu.cn

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金(201044041100)

葡萄球菌 *Staphylococci* 是一种革兰阳性球菌,其种类繁多,是人畜共患病的重要病原菌之一,可引起人类和动物的感染性疾病,对人类和动物的健康造成危害。此外,动物体内的葡萄球菌还可以作为耐药基因的贮存库,对人类健康构成潜在威胁^[1-2]。葡萄球菌对猪自身的影响很小,但却能通过猪与人类的接触而造成人类感染,尤其是耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌 (Methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, MRSA) ST398, 常见于猪体内及与猪接触过的人类^[3]。近年来有关猪体内金黄色葡萄球菌的研究备受关注,尤其是耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌。多个国家已报道从猪体内不同部位分离到耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌,但其检出率差异很大,如日本 0.9% (鼻腔)^[4]、美国 11.13%^[5] (鼻腔)、印度 3.89% (鼻腔)^[6]、西班牙 85.7% (屠宰场)^[3]。凝固酶阴性葡萄球菌以前被认为致病性不强而被忽视,但近年其引起的感染有上升趋势,此外,凝固酶阴性葡萄球菌还可以作为耐药基因的存储库,将耐药基因转移给致病性强的金黄色葡萄球菌,猪体内的凝固酶阴性葡萄球菌有可能感染人类^[7]。因此,研究猪源凝固酶阴性葡萄球菌的流行性和耐药情况也是十分必要的。近年来,由于抗菌药物长期、不合理应用导致葡萄球菌耐药现象日趋严重,耐药谱越来越广,给临床治疗带来了困扰。目前,国外有关葡萄球菌耐药性和耐药机制的研究报道较多,国内关注度也逐年上升^[8]。猪是一种常与人类接触的动物,对葡萄球菌在动物和人类之间的传播起到重要的作用,所以调查猪体内金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌的耐药情况具有重要的作用。本研究通过调查猪体内金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌对抗菌药物的耐药情况及其主要耐药基因的流行情况,为指导临床用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源 2010年收集来自广州(35)、佛山(42)、江门(17)、珠海(23)、惠州(27)、东莞(12)、清远(13)、肇庆(12)、中山(13)及其他地区(36)的共计230份病猪淋巴结样品。样品于4℃条件保存并于48h内分离葡萄球菌。

1.1.2 培养基和药品 MH琼脂、甘露醇高盐琼脂、BP琼脂、NaCl高盐肉汤、亚碲酸卵黄增菌液、过氧化氢、兔血浆均为青岛海博生物有限公司产品。14种抗

菌药物为杭州天河微生物试剂有限公司产品, w (红霉素)=99%、 w (克林霉素)=99%、 w (环丙沙星)=90%、 w (庆大霉素)=96%、 w (氯霉素)=90%、 w (头孢噻吩)=85%、 w (青霉素G)=92%、 w (氨苄西林)=95%、 w (苯唑西林)=95%、 w (四环素)=93%、 w (阿奇霉素)=95%、 w (万古霉素)=95%、 w (利福平)=99%和 w (利奈唑胺)=99%。

1.1.3 分子试剂 溶葡萄球菌素为美国Sigma公司产品,蛋白酶K、*rTaq*酶、dNTPs、PCR Buffer均为TaKaRa公司产品。引物由北京华大基因公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细菌的分离 将采集的样品置于灭菌的LB肉汤中培养,用接种环挑取菌液在BP琼脂平板和血平板上划线培养^[3]。葡萄球菌在BP培养基琼脂平板上呈圆形、表面光滑、凸起、湿润的菌落,颜色呈灰色至黑色,在血平板上菌落呈白色至金黄色,周围有时有溶血圈。挑取可疑单个菌落进行纯培养和鉴定。

1.2.2 细菌的鉴定 经革兰染色后,镜检选取革兰染色阳性、呈葡萄串状排列的菌落做凝固酶试验,凝固体积大于原体积的1/2,被判定为阳性结果。同时以血浆凝固酶试验阳性和阴性葡萄球菌菌株的肉汤培养物作为对照^[9-10]。采用PCR方法鉴定金黄色葡萄球菌^[11],MRSA按Neeling等^[12]的方法扩增*mecA*基因来确认。按照Hirota等^[13]的方法通过多重PCR方法检测与人相关的9种凝固酶阴性葡萄球菌,并确认其中没有里昂葡萄球菌。

1.2.3 药物敏感性检测 按照CLSI所推荐的琼脂稀释法进行药物敏感性检测^[14],根据CLSI标准判定敏感或耐药,质控菌株为金黄色葡萄球菌ATCC29213。

1.2.4 模板的提取 参考Unal等^[15]的方法提取葡萄球菌DNA模板,挑取单菌落接种于脑心浸液肉汤过夜培养,离心细菌培养液,洗涤后再重新悬浮菌体,100℃水浴密封加热,4℃离心,取上清液作为PCR模板,于-20℃条件保存备用。

1.2.5 耐药基因PCR检测 根据耐药性检测结果,采用PCR方法对大环内酯类、林可胺类、四环素类和β-内酰胺类等药物耐药的葡萄球菌进行13种耐药基因的检测。参考已发表的引物序列^[10, 16-20]分别合成*ermA*、*ermB*、*ermC*、*linA*、*msrA*、*msrB*、*tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetM*、*tetK*、*tetL*和*mecA*基因的引物,引物序列及扩增片段长度见表1。

表1 耐药基因 PCR 引物序列

Tab. 1 Sequences of primers used for PCR

基因	引物	序列(5'→3')	长度/bp
ermA ^[10]	ermA-F	GTTCAGAAC AATCAATACA GAG	421
	ermA-R	GGATCAGGAA AAGGACATTT TAC	
ermB ^[10]	ermB-F	CCGTTTACGA AATTGGAACA GGTAAGGGC	359
	ermB-R	GAATCGAGAC TTGAGTGTGC	
ermC ^[10]	ermC-F	GCTAATATTG TTTAAATCGT CAATTCC	572
	ermC-R	GGATCAGGAA AAGGACATTT TAC	
msrA ^[10]	msrA-F	GGACAATAA GAGTGTTTAA AGG	940
	msrA-R	AAGTTATATC ATGAATAGAT TGTCTGTGTT	
msrB ^[10]	msrB-F	TATGATATCC ATAATAATTA TCCAATC	595
	msrB-R	AAGTTATATC ATGAATAGAT TGTCTGTGTT	
linA ^[10]	linA-F	GGTGGCTGGG GGGTAGATGT ATTAAGTGG	323
	linA-R	GCTTCTTTTG AAATACATGG TATTTTTTCCA TC	
tetK ^[16]	tetK-F	CAGCAGATCCTACTCCTT	168
	tet K-R	TCGATAGGAACAGCACTA	
tetL ^[17]	tetL-F	TCG TTA GCG TGC TGT CAT TC	267
	tet L-R	GTA TCC CAC CAA TGT AGC CG	
tetM ^[16]	tetM-F	GTGGACAAGGTACAACGAG	405
	tetM-R	CGGTAAAGTTCGTCACAC	
tetA ^[18]	tetA-F	GCGCCTTTCCITTTGGGTCT	831
	tetA-R	CCACCCGTCCACGTTGTTA	
tetB ^[19]	tetB-F	CATTAATAGGCGCATCGCTG	930
	tet B-R	TGAAGCTCATCGATAGCAGG	
tetC ^[19]	tetC-F	GCTGTAGGCATAGGCTTGCT	888
	tet C-R	GCCGGAAGCGAGAAGAATCA	
mecA ^[20]	mecA-F	GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATAA	310
	mecA-R	CCA ATT CCA CAT TGT TTC GGT CTA A	

表2 金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌的药物敏感性¹⁾Tab. 2 The antimicrobial susceptibility of the *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci*

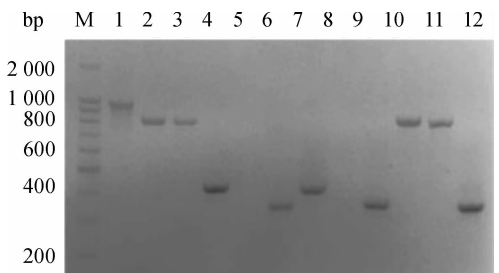
抗生素	金黄色葡萄球菌				凝固酶阴性葡萄球菌			
	MIC 范围	MIC50	MIC90	耐药率/%	MIC 范围	MIC50	MIC90	耐药率/%
青霉素	0.125 ~ 128.000	16.000	64	89.5	0.060 ~ 64.000	2.00	32	88.7
氨苄西林	0.250 ~ 128.000	8.000	32	89.5	0.125 ~ 128.000	2.00	64	74.7
头孢他啶	0.125 ~ 32.000	0.500	8	10.5	0.125 ~ 32.000	0.50	8	7.1
环丙沙星	0.060 ~ 16.000	2.000	4	36.8	0.060 ~ 32.000	4.00	16	54.9
克林霉素	0.500 ~ 128.000	128.000	128	89.5	0.500 ~ 128.000	128.00	128	85.9
阿奇霉素	0.125 ~ 128.000	128.000	128	84.2	0.125 ~ 128.000	128.00	128	87.3
红霉素	0.125 ~ 129.000	128.000	128	89.5	0.125 ~ 129.000	128.00	128	87.3
利奈唑胺	1.000 ~ 2.000	1.000	2	0.0	0.500 ~ 2.000	1.00	2	0
万古霉素	0.500 ~ 2.000	0.500	1	0.0	0.500 ~ 2.000	0.50	1	0
四环素	0.250 ~ 128.000	32.000	128	78.9	0.250 ~ 128.000	64.00	128	90.1
氯霉素	0.625 ~ 64.000	32.000	64	57.9	0.625 ~ 128.000	32.00	64	53.5
庆大霉素	0.500 ~ 256.000	16.000	64	63.2	0.500 ~ 256.000	8.00	32	42.3
利福平	0.060 ~ 32.000	0.125	32	15.8	0.060 ~ 32.000	0.25	32	9.9
苯唑西林	0.125 ~ 64.000	0.250	16	10.5	0.125 ~ 64.000	2.00	32	77.5**

1) **表示金黄色葡萄球菌与凝固酶葡萄球菌的耐药性差异极显著($P < 0.01$, χ^2 检验).

2 结果

2.1 金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌的分离

本次调查共采集猪淋巴样品 230 份,其中金黄色葡萄球菌检出 19 份,检出率为 8.3%;凝固酶阴性葡萄球菌检出 71 份,检出率为 30.7%.在分离鉴定出的 90 株葡萄球菌中,金黄色葡萄球菌占检出总葡萄球菌的 21.1%.和人相关的 9 种葡萄球菌多重 PCR 电泳见图 1. 根据 Hirotaki 等^[13]报道,里昂葡萄球菌多重 PCR 条带大小为 695 bp,本次调查中未检出里昂葡萄球菌.腐生葡萄球菌(843 bp)4 株、沃氏葡萄球菌(999 bp)1 株、溶血葡萄球菌(434 bp)2 株,大部分凝固酶阴性的葡萄球菌不是与人相关的 9 种葡萄球菌.



M:DNA marker DL2000;1:沃氏葡萄球菌;2、3、10、11:腐生葡萄球菌;4、7:溶血葡萄球菌;6、9、12:金黄色葡萄球菌.

图1 检测和人相关的9种葡萄球菌多重PCR电泳图

Fig. 1 Electrophoresis after multiplex PCR for species identification of human-associated *Staphylococci*

2.2 金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌的药物敏感性

金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌的耐药率见表2.从表2可以看出,金黄色葡萄球菌及凝固

酶阴性葡萄球菌对临床常用抗菌药物环丙沙星、庆大霉素、氯霉素、青霉素、氨苄西林、四环素、克林霉素、阿奇霉素、红霉素,多重耐药现象较严重;金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌对苯唑西林的耐药率差异极显著($P < 0.01$),凝固酶阴性葡萄球菌明显高于金黄色葡萄球菌.本研究未检出耐利奈唑胺及万古霉素的葡萄球菌.

2.3 金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌的耐药基因携带率

金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌的耐药基因检测结果见表3.从表3可以看出,大环内酯类耐药基因中金黄色葡萄球菌携带最多的为 *ermC* 基因(36.8%),而凝固酶阴性葡萄球菌携带最多的是 *ermB* 基因(49.3%).金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌 *linA*、*ermB* 基因的携带率差异显著($P < 0.05$),凝固酶阴性葡萄球菌明显高于金黄色葡萄球菌.

表3 金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌菌株中耐药基因的个数¹⁾

Tab. 3 The number of resistance genes in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci*

耐药基因	金黄色葡萄球菌	凝固酶阴性葡萄球菌
<i>mrsA</i>	0	5
<i>msrB</i>	0	2
<i>linA</i>	7	44*
<i>ermA</i>	0	3
<i>ermB</i>	4	35*
<i>ermC</i>	7	26
<i>tetL</i>	5	22
<i>tetM</i>	5	35
<i>tetK</i>	6	35
<i>tetA</i>	1	10
<i>tetB</i>	1	1
<i>tetC</i>	2	4
<i>mecA</i>	9	36

1) * 表示金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌中耐药基因的个数差异显著($P < 0.05$, χ^2 检验).

3 讨论与结论

本次调查中金黄色葡萄球菌在猪体内检出率为8.3%,与Cui等^[21]在中国多省份猪样品中金黄色葡萄球菌检出率(58/509)及Lin等^[22]在台湾调查结果类似,但明显低于常建军^[23]报道的检出率(66.7%),这可能与金黄色葡萄球菌鉴定方法的不同有关.根据全国卫生部细菌耐药监测网2006—2007年度报告,84家三级甲等医院的金黄色葡萄球

菌占总检出葡萄球菌的30.9%^[24],Jenssen等^[25]在3家医院调查中发现金黄色葡萄球菌占总检出葡萄球菌的30.6%,而本研究金黄色葡萄球菌检出占总葡萄球菌的21.1%,由此可见金黄色葡萄球菌的宿主主要是人类.本次鉴定凝固酶阴性葡萄球菌用的是9对与人相关的葡萄球菌引物检测,仅仅检出腐生葡萄球菌、沃氏葡萄球菌和溶血葡萄球菌共7株(7/71),大部分凝固酶阴性葡萄球菌不是与人相关的9种葡萄球菌,与Huber等^[7]在畜禽体内的凝固酶阴性葡萄球菌中松鼠葡萄球菌、福氏葡萄球菌占大多数的调查结果相符.

本研究分离到的猪源葡萄球菌对临床常用抗菌药物均存在一定的耐药性,且对多数药物耐药情况严重,其中对红霉素的耐药率为87.8%(79/90),与人医临床分离葡萄球菌对红霉素的耐药率^[26]相似;对克林霉素的耐药率为86.7%(78/90),与医学临床分离的金黄色葡萄球菌的耐药率^[27]相似.但Lüthje等^[28]调查的奶牛源凝固酶阴性葡萄球菌耐药情况明显低于本研究结果,可能与临床用药有关.

金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌耐药情况类似,仅对苯唑西林的耐药性差异极显著.与孙宏莉等^[29]调查凝固酶阴性葡萄球菌对苯唑西林敏感性远低于金黄色葡萄球菌结果类似.这可能与耐药的评判标准不同有关.根据CLSI的判断标准,苯唑西林MIC ≥ 4 mg/L或检测出*mecA*基因的金黄色葡萄球菌确定为耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA),而对于除里昂葡萄球菌以外的凝固酶阴性葡萄球菌苯唑西林MIC ≥ 0.5 mg/L或检测出*mecA*基因确定为耐甲氧西林的凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS).

目前,有关葡萄球菌耐药机制的研究报道较多,其中广受关注的MRSA主要是获得了外源性*mecA*基因,该基因编码青霉素结合蛋白2a,造成对 β -内酰胺类药物耐药.大环内脂、林可胺类不仅广泛用于畜禽细菌性和支原体感染的化学治疗,同时也是人医临床用于治疗葡萄球菌感染的一线药物.金黄色葡萄球菌主要通过*ermA*、*ermB*和*ermC*基因的产物来甲基化修饰碱基而得到耐药性,*ermA*基因是20世纪70年代以前金黄色葡萄球菌对大环内酯类耐药的主要决定基因,但此后*ermC*基因则取代*ermA*基因成为主要耐药基因,*ermB*基因则少见^[10].林可霉素与克林霉素也主要是由23S rRNA甲基化酶*erm*、编码ATP外排泵的*msrA*基因以及*linA*基因介导耐药.

四环素是一种广谱抗菌药物,被广泛应用于兽

医临床疾病的预防与治疗,四环素的耐药情况及耐药基因流行情况在一定程度上反应了耐药的严重程度.荷兰研究人员 Neeling 等^[30]从猪农及其猪上分离到44株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌对四环素均有耐药性,由此提示猪场普遍使用了四环素类抗生素,与本文调查金黄色葡萄球菌对四环素耐药率78.9%结果相似.本次在猪体内四环素耐药表型及耐药基因调查结果与李宏等^[31]对人医临床患者的金黄色葡萄球菌调查结果及丁兆凤等^[32]对奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌结果类似.

吴伟元等^[33]在溶血葡萄球菌中检测出大环内酯类和林可酰胺类耐药基因 *msrA/msrB*、*linA*,其检出率分别为59.7%和50%,与本研究凝固酶阴性葡萄球菌耐药基因 *linA*(62.0%)和 *ermB*(49.3%)类似.研究表明,不同葡萄球菌菌种其耐药基因型存在明显的差异^[10].本研究中金黄色葡萄球菌以 *ermC* 基因为最主要大环内酯类耐药基因(7/19),而凝固酶阴性葡萄球菌携带最多的是 *ermB* 基因(49.3%),与 Schmitz 等^[34]对德国的医院调查结果类似(68/134;50.7%).同来源的金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌耐药基因的比较在人医领域研究较多^[35],在兽医领域研究则较少.本研究发现金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌 *linA* 基因检出率差异显著,*msrA* 基因检出率虽然差异不显著,但凝固酶阴性葡萄球菌多于金黄色葡萄球菌,与 Lina 等^[10]在法国医院的调查结果相同.

本研究结果表明,目前猪体内葡萄球菌耐药较严重,对临床上常用药物耐药率较高,且为多重耐药;凝固酶阴性葡萄球菌与金黄色葡萄球菌耐药表型和基因型类似,提示凝固酶阴性葡萄球菌不仅作为一种潜在致病菌存在于猪体内,而且为金黄色葡萄球菌提供了大量耐药基因,加剧了耐药金黄色葡萄球菌的产生.

参考文献:

- [1] VAN DEN BROEK I V F, VAN CLEEF B, HAENEN A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms [J]. *Epidemiol Infect*, 2009, 137: 700-708.
- [2] VAN RIJEN M M L, VAN KEULEN P H, KLUYTMANS J A. Increase in a Dutch hospital of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* related to animal farming [J]. *Clin Infect Dis*, 2008, 46(2): 261-263.
- [3] MORCILLO A, CASTRO B, RODRIGUEZ-ÁLVAREZ C, et al. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and pig workers in Tenerife, Spain [J]. *Foodborne Path Dis*, 2012, 9(3): 207-210.
- [4] BABA K, ISHIHARA K, OZAWA M, et al. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from swine in Japan [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2010, 36(4): 352-354.
- [5] MALE M J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in midwestern swine herds and swine workers [D]. Iowa: University of Iowa, 2011.
- [6] CHATTERJEE S S, RAY P, AGGARWAL A, et al. A community-based study on nasal carriage of *Staphylococcus aureus* [J]. *Indian J Med Res*, 2009, 130(6): 742-748.
- [7] HUBER H, ZIEGLER D, PFLÜGER V, et al. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from livestock, chicken carcasses, bulk tank milk, minced meat, and contact persons [J]. *BMC Vet Res*, 2011, 7:6.
- [8] YU Fang, LIU Hua, LI Kang-hua, et al. Causative organisms and their antibiotic resistance patterns for childhood septic arthritis in China between 1989 and 2008 [J]. *Orthopedics*, 2011, 34(3): 179.
- [9] HORGAN M, ABBOTT Y, LAWLOR P G, et al. A study of the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and in personnel involved in the pig industry in Ireland [J]. *Vet J*, 2011, 190(2): 255-259.
- [10] LINA G, QUAGLIA A, REVERDY M E, et al. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(5): 1062-1066.
- [11] MARTINEAU F, PICARD F J, ROY P H, et al. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus* [J]. *J Clin Microbiol*, 1998, 36(3): 618.
- [12] DE NEELING A J, VAN LEEUWEN W J, SCHOOLS L M, et al. Resistance of staphylococci in the Netherlands: surveillance by an electronic network during 1989-1995 [J]. *J Antimicrob Chemother*, 1998, 41(1): 93.
- [13] HIROTAKI S, SASAKI T, KUWAHARA-ARAI K, et al. Rapid and accurate identification of human-associated staphylococci by use of multiplex PCR [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(10): 3627-3631.
- [14] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twentieth informational supplement: CLSI document M100-S20 [M]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.
- [15] UNAL S, HOSKINS J, FLOKOWITSCH J E, et al. Detection of methicillin-resistant staphylococci by using the

- polymerase chain reaction[J]. J Clin Microbiol, 1992, 30(7): 1685.
- [16] WARSA U C, NONOYAMA M, IDA T, et al. Detection of tet (K) and tet (M) in *Staphylococcus aureus* of Asian countries by the polymerase chain reaction[J]. J Antibiot, 1996, 49(11): 1127.
- [17] NG L K, MARTIN I, ALFA M, et al. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes[J]. Mol Cellular Prob, 2001, 15(4): 209-215.
- [18] CHEN Sheng, ZHAO Shao-hua, WHITE D G, et al. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from retail meats[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(1): 1-7.
- [19] BOERLIN P, TRAVIS R, GYLES C L, et al. Antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from swine in Ontario[J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(11): 6753-6761.
- [20] JONAS D, SPECK M, DASCHNER F D, et al. Rapid PCR-based identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from screening swabs[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(5): 1821-1823.
- [21] CUI Sheng-hui, LI Jing-yun, HU Chang-qin, et al. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from swine and workers in China[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 64(4): 680-683.
- [22] LIN J, YEH K S, LIU H T, et al. *Staphylococcus aureus* isolated from pork and chicken carcasses in Taiwan: prevalence and antimicrobial susceptibility[J]. J Food Prot, 2009, 72(3): 608-611.
- [23] 常建军. 猪胴体淋巴结中金黄色葡萄球菌的分离与鉴定[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(1): 120-122.
- [24] 王进, 肖永红. Mohnarin 2006—2007 年度报告: 革兰阳性菌耐药监测结果[J]. 中国抗生素杂志, 2008, 33(10): 592-596.
- [25] JENSSEN W D, THAKKER-VARIA S, DUBIN D T, et al. Prevalence of macrolides-lincosamides-streptogramin B resistance and erm gene classes among clinical strains of staphylococci and streptococci [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1987, 31(6): 883.
- [26] 林广城, 黄烈, 刘键, 等. 葡萄球菌大环内酯类耐药基因检测及其意义[J]. 中国热带医学, 2006, 6(11): 1926-1927.
- [27] 刘庆中, 刘欢乐, 陈志雄, 等. 金黄色葡萄球菌对大环内酯, 林可酰胺和链阳霉素 B 类耐药性检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(2): 207-209.
- [28] LÜTHJE P, SCHWARZ S. Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci from bovine subclinical mastitis with particular reference to macrolide-lincosamide resistance phenotypes and genotypes [J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 57(5): 966.
- [29] 孙宏莉, 王辉, 陈民钧, 等. 2006 年中国七家教学医院革兰阳性球菌耐药性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 31(6): 635-642.
- [30] DE NEELING A J, VAN DEN BROEK M J M, SPALBURG E C, et al. High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs[J]. Vet Microbiol, 2007, 122(3/4): 366-372.
- [31] 李宏, 李伟, 郭秀娟, 等. 金黄色葡萄球菌耐药性及耐药基因检测[J]. 河北医药, 2012, 34(1): 44-46.
- [32] 丁兆凤, 汤炜, 佟春玉, 等. 奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌对四环素耐药性分析[J]. 中国预防兽医学报, 2010, 32(11): 892-894.
- [33] 吴伟元, 潘小梅, 卢月梅, 等. 甲氧西林耐药溶血葡萄球菌大环内酯类和林可酰胺类耐药基因型与表型分析[J]. 中国抗生素杂志, 2008, 33(6): 379-383.
- [34] SCHMITZ F J, PETRIDOU J, FLUIT A C, et al. Distribution of macrolide-resistance genes in *Staphylococcus aureus* blood-culture isolates from fifteen German university hospitals[J]. Eur J Clin Microbiol & Infect Dis, 2000, 19(5): 385-387.
- [35] ZHANG M, O' DONOGHUE M M, ITO T, et al. Prevalence of antiseptic-resistance genes in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci colonising nurses and the general population in Hong Kong[J]. J Hosp Infect, 2011, 78(2): 113-117.

【责任编辑 柴 焯】