

研究报告

禽源多重耐药金黄色葡萄球菌耐药基因检测及分子分型

刘茜 秦祥 刘丹丹 王佳明 王菊花 方富贵 潘玲 王勇 周杰*

(安徽农业大学动物科技学院 安徽 合肥 230036)

摘要:【背景】金黄色葡萄球菌是革兰氏阳性菌，在动物和人身上能引起一系列疾病。【目的】了解安徽省不同地区禽源多重耐药金黄色葡萄球菌耐药性的情况及基因分型特征。【方法】以安徽不同地区的病禽肝脏作为标本，分离鉴定得到 103 株多重耐药金黄色葡萄球菌，并进行耐药基因型检测和 ERIC-PCR 分子分型。【结果】耐药菌株从三重到八重耐药均有分布，主要集中在五重(43/103)、四重(21/103)和六重耐药(22/103)。药敏结果显示， β -内酰胺类的耐药率最高(79.6%)，氨基糖苷类次之(71.8%)。耐药基因检出率由高到低分别为 *mecA* (92.2%)、*aac(6)/aph(2)* (76.7%)、*ermC* (37.9%)、*ermA* (13.6%)和 *femA* (3.9%)。ERIC-PCR 分子分型获得 6 种不同类群，优势流行菌群为类群 II (38/103)。【结论】安徽地区金黄色葡萄球菌存在较严重的耐药性，氨基糖苷类、 β -内酰胺类和大环内酯类抗生素的耐药基因携带率较高。分型结果表明安徽部分区域耐药金黄色葡萄球菌具有遗传多样性，但耐药谱与 ERIC-PCR 分子分型无明显关联。

关键词: 金黄色葡萄球菌，耐药性，多重耐药，耐药基因，ERIC 分子分型

Resistance genetic testing and molecular typing of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry

LIU Qian QIN Xiang LIU Dan-Dan WANG Jia-Ming WANG Ju-Hua
FANG Fu-Gui PAN Ling WANG Yong ZHOU Jie*

(College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China)

Abstract: [Background] *Staphylococcus aureus* is a Gram-positive bacterium that can become a pathogen causing an array of diseases in animals and people. [Objective] To understand the multiple drug resistant situation of poultry *Staphylococcus aureus* in different areas of Anhui Province, and its characteristics of drug resistance and genotyping. [Methods] Sick poultry livers collected from different areas of Anhui Province as inoculation materials. In total, 103 multiple drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* were isolated. Then the resistant genotypes and molecular typing of *Staphylococcus aureus* were detected by PCR and ERIC-PCR respectively. [Results] The strains were resistant to 3 to 8 antibiotics. Most strains demonstrated multi-drug

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31602063); University Natural Science Foundation of Anhui Province (kj2016A839)

*Corresponding author: Tel: 86-551-65786328; E-mail: zhoujie@ahau.edu.cn

Received: September 27, 2017; Accepted: January 25, 2018; Published online (www.cnki.net): February 13, 2018
基金项目: 国家自然科学基金(31602063); 安徽省高校自然科学基金重点项目(kj2016A839)

*通信作者: Tel: 86-551-65786328; E-mail: zhoujie@ahau.edu.cn

收稿日期: 2017-09-27; 接受日期: 2018-01-25; 网络首发日期(www.cnki.net): 2018-02-13

resistance to 5 antibiotics (43/103), followed by 4 antibiotics (21/103) and 6 antibiotics (22/103). The drug resistance rate of *Staphylococcus aureus* to β -lactam was the highest (79.6%), followed by aminoglycosides (71.8%). The detection rate of drug resistance gene from high to low were *mecA* (92.2%), *aac(6')/aph(2'')* (76.7%), *ermC* (37.9%), *ermA* (13.6%) and *femA* (3.9%). Six different groups were obtained by ERIC-PCR molecular typing, and the dominant epidemic flora was the group II (38/103). **[Conclusion]** Drug resistant genes of aminoglycosides, β -lactam and macrolides had high detection rates. There were genetic diversities among avian *Staphylococcus aureus* in areas of Anhui Province according to molecular typing. There was no significant correlation between ERIC-PCR molecular typing and drug resistance spectrum.

Keywords: *Staphylococcus aureus* (SA), Drug resistance, Multiple drug resistance, Drug resistance gene, ERIC molecular typing

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA)简称金葡菌,是葡萄球菌属的代表菌。最初由 Newsom 等在 19 世纪 80 年代研究脓肿时发现并命名,广泛分布于自然界^[1]。作为一种严重的人畜共患病原菌,该菌可以引起人和多种动物的黏膜、皮肤及上皮组织感染,也可导致化脓性关节炎、坏死性肺炎和败血症等疾病的发生^[2-5]。早在 1941 年 Skinner 和 Keefer 就报道过抗生素发现之前由金葡菌引起的疾病死亡率超过 80%,其中 70% 多的病例形成迁移性感染。虽然随着抗生素的发现和使用该菌感染病例有了大幅度下降,然而自 1961 年发现耐甲氧西林金葡菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)以来,金葡菌的耐药感染一直备受关注^[6-7]。越来越多的耐药性监测数据显示,多重耐药葡萄球菌的检出率呈逐年上升趋势^[8-12]。耐药葡萄球菌不仅给临床治疗带来了困扰,而且其耐药性还能通过食物链传递给人体内其他病原菌^[13],更严重的是,动物体内的葡萄球菌可以作为耐药基因的贮存库对人类健康构成潜在威胁^[14-15]。

近年来国内关于 SA 耐药基因的报道多集中在牛源^[16-18]、猪源^[19-21]等,而禽源较少。本文以 103 株分离自安徽地区病禽肝脏的多重耐药 SA 菌株为研究对象,汇总菌株表型耐药结果,PCR 扩增各菌株相关耐药基因,旨在了解安徽地区禽源多重耐药 SA 的表型耐药特征及耐药基因检出率。采用 ERIC-PCR 技术对 103 株多重耐药菌株进行分子分型,以初步了解安徽地区多重耐药 SA 的优势菌株及菌株流行性,为安徽地区 SA 耐药菌株流行病

学的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验菌株

2015 年 3 月至 2016 年 6 月,从安徽农业大学禽病诊断室收集病禽作为接种病料(问诊知大部分农户选择无添加抗生素的自配料,少部分农户会另加黄霉素或抗球虫药)。经药敏试验分离得到 103 株耐药金黄色葡萄球菌,均从形态学^[22]、生化反应及 PCR 鉴定^[23]确定。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

却普曼琼脂培养基、Baird-Paker 琼脂基础选择培养基和 LB 肉汤培养基,青岛海博生物技术有限公司;药敏纸片,杭州微生物试剂有限公司;2×Taq Master Mix 聚合酶,南京诺唯赞生物科技有限公司;细菌基因组 DNA 提取试剂盒购于 Biomiga 公司。恒温培养箱,上海智城分析仪器制造有限公司;PCR 仪、凝胶成像系统,美国 Bio-Rad 公司。

1.3 细菌分离及药敏试验

取病禽肝脏组织接种于 Baird-Paker 琼脂基础选择培养基分离细菌。挑取形态为灰黑色或黑色圆形、表面光滑凸起湿润有光泽、常有浅色(非白色)的边缘、周围绕以不透明圈、其外常有一清晰带的单菌落于液体 LB 培养基增菌。接种环取菌液米字划线法接种于固体 LB 培养基,10 种药敏纸片轻轻地均匀贴在板上,8 h 后观察结果,参照 2009 年美国临床实验室标准化研究所(CLSI)执行标准取抑菌圈 ≤ 12 mm 为耐药^[24]。

1.4 PCR 扩增

1.4.1 耐药基因检测

采用试剂盒提取细菌基因组 DNA, 引物设计参照文献[25]及 GenBank 中登录的基因序列设计引物 *aac(6')/aph(2'')*、*mecA*、*femA*、*ermA*、*ermC* (表 1), 由上海捷瑞公司合成。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4.2 ERIC-PCR

引物选择参考 van 等的报道^[26]。ERIC1: 5'-ATGT AAGCTCCTGGGGATTCA-3'; ERIC2: 5'-AAGTAA GTGACTGGGGTGAGC-3', 由上海捷瑞公司合成。反应体系: DNA 模板(50 ng/ μ L) 1 μ L, ERIC1 和 ERIC2 (10 μ mol/L)各 1 μ L, 2 \times Taq Master Mix 10 μ L, ddH₂O 加至 20 μ L。反应条件: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 35 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 4 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳, 凝胶成像系统拍照。

2 结果与分析

2.1 药敏试验结果

采用 K-B 法进行药敏试验, 药敏结果依据 CLSI 标准判定抑菌圈 ≤ 12 mm 为耐药。共筛选出 103 株耐药金葡菌, 并按照菌株耐药数目分类(图 1)。由图 1 明显看到, 菌株的耐药情况集中在四重(21/103)、五重(43/103)和六重(22/103)耐药。五重耐药最多

(41.7%), 主要耐 β -内酰胺类(31/43)、大环内酯类(27/43)、氨基糖苷类(29/43)。其次是六重耐药, 主要耐 β -内酰胺类(19/22)、氨基糖苷类(19/22)和利福平(19/22); 四重耐药, 主要耐 β -内酰胺类(17/21)、磺胺类(17/21)和氨基糖苷类(15/21)。三重、七重和八重耐药较少, 而八重仅有 3 株。

2.2 菌株来源情况

2.2.1 菌株地域分布情况

从表 2 可看出, 103 株菌分别来自皖北、皖中、皖南 3 个地区及其他地区, 其中皖中地区菌株数最多; β -内酰胺类的耐药率近 80%; 氨基糖苷类次之, 耐药率超过 70%; 半合成广谱抗菌药利福平和大环内酯类的耐药率也在 60% 左右; 其余耐药率均在 20%–50%。

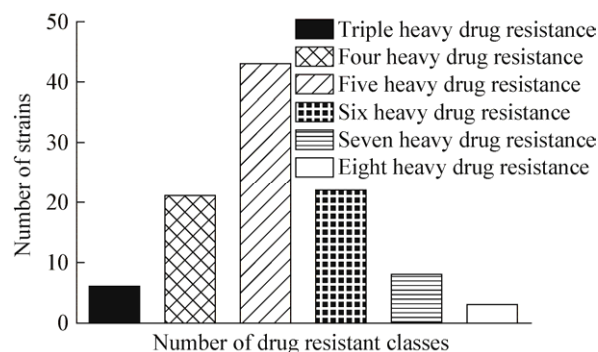


图 1 耐药菌株耐药数目分类

Figure 1 Drug resistant strains of drug number classification

表 1 PCR 扩增所用引物

Table 1 The primers of PCR

耐药基因	序列号	引物序列	扩增片段	退火温度
Resistance genes	Accession No.	Primers sequence (5'→3')	Amplified products (bp)	Temperature ($^{\circ}$ C)
<i>aac(6')/aph(2'')</i>	NC_022598.1	F: CCAAGAGCAATAAGGGCATA R: CACTATCATAACCACTACTACCG	220	59.0
<i>mecA</i>	NZ_CP009828.1	F: GCAATCGCTAAAGAATAAG R: ATGGGACCAACATAACCTA	224	59.2
<i>femA</i>	NZ_CP009828.1	F: TTACTACGCTGGTGGAACCTCA R: CATCGGCATCATAGCCCTTT	191	60.0
<i>ermA</i>	NC_001395.1	F: AGAAGCGGTAAACCCCTCTGAGA R: CTTTTCGAAATCCCTTCTCAACGA	194	64.9
<i>ermC</i>	NC_019143.1	F: CGTAACTGCCATTGAAATAGACC R: AATAATCTTTTAGCAAACCCGTA	246	57.0

表 2 菌株来源地区统计

Table 2 Source area statistics of the strain

抗生素种类 Kinds of antibiotics	皖北地区 Northern Anhui (14 株)	皖中地区 Center Anhui (74 株)	皖南地区 Southern Anhui (14 株)	其他地区 Other regions (3 株)	总计 Total (103 株)	百分比 Percentage (%)
氨基糖苷类 Aminoglycosides	12	52	10	1	74	71.8
β-内酰胺类 β-lactam	10	60	10	2	82	79.6
大环内酯类 Macrolides	12	39	8	2	61	59.2
四环素类 Tetracycline	3	16	3	0	22	21.4
酰胺醇类 Amphenicols	5	27	6	2	40	38.8
磺胺类 Sulfonamides	3	36	3	0	42	40.8
利福平 Rifampicin	6	51	7	1	65	63.1
磷霉素 Fosfomycin	5	34	7	1	47	45.6

2.2.2 菌株来源动物情况

从来源动物上分, 103 株金黄色葡萄球菌中, 陆禽有 67 株, 水禽有 36 株, 即陆禽标本来源大于水禽, 在陆禽中, 菌株在鸡源中所占比例最大(表 3)。

2.3 耐药基因检测

对 103 株分离株分别进行上述基因的 PCR 检测。各基因扩增产物的大小均与预期一致(图 2),

图中 1-4 号分别为随机选取的鸡、鸡、鸭和鹅的分离株检出结果。检出率由高到低分别为 *mecA*、*aac(6′)/aph(2′)*、*ermC*、*ermA* 和 *femA* (表 4)。

2.4 金葡菌分离株 ERIC-PCR

利用 ERIC-PCR 技术对 103 株耐药金葡菌进行扩增。凝胶电泳图(图 3)显示, ERIC-PCR 指纹图谱扩增条带清晰, 呈现多态性, 条带大小在

表 3 菌株来源类别及比例

Table 3 Source category and proportion of the strain

类别 Classes	菌株来源 Sources of strains	菌株数 Number of strains	总计 Total	比例 Percentage (%)
陆禽 Landfowls	鸡 Chicken	67	67	65
水禽 Waterfowls	鸭 Ducks	15	36	35
	鹅 Geese	21		

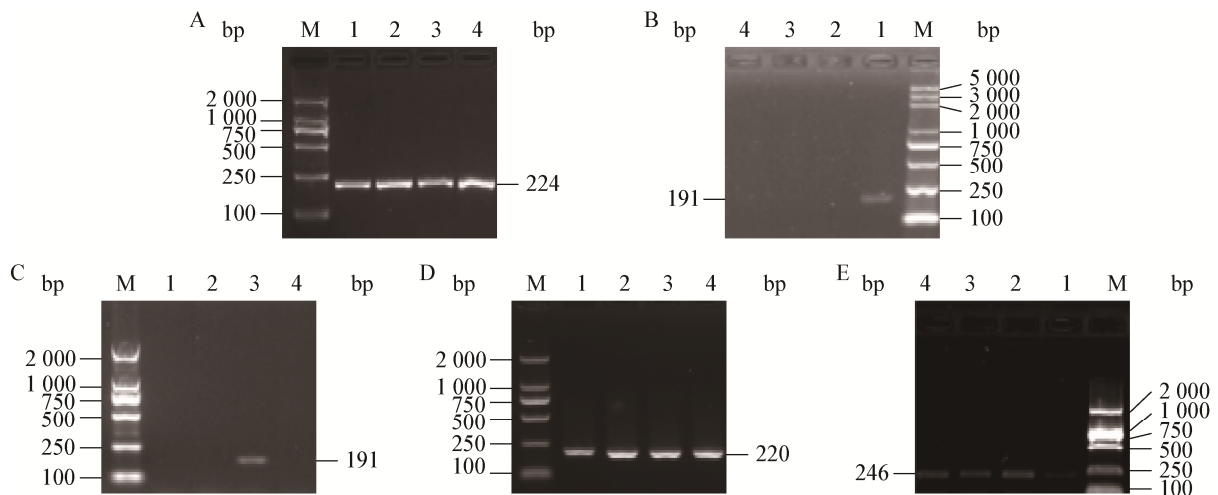


图 2 PCR 扩增片段

Figure 2 The detections of drug resistance gene in the isolates by PCR

注: M: DL2000 DNA marker; 1-4: 分别为鸡、鸡、鸭、鹅分离株 PCR 产物. A: *mecA*; B: *femA*; C: *ermA*; D: *aac*; E: *ermC*.
 Note: M: DL2000 DNA marker; 1-4: PCR products of chick, chick, duck, and goose. A: *mecA*; B: *femA*; C: *ermA*; D: *aac*; E: *ermC*.

表 4 耐药基因检出情况

Table 4 Detection of drug resistance genes

抗生素 Antibiotics	耐药基因 Resistant gene	阳性菌株总和 Positive strains	携带率 Percentage (%)
氨基糖苷类 Aminoglycosides	<i>aac(6')/aph(2'')</i>	79	76.7
β -内酰胺类 β -lactam	<i>mecA</i>	95	92.2
	<i>femA</i>	4	3.9
大环内酯类 Macrolides	<i>ermA</i>	14	13.6
	<i>ermC</i>	39	37.9

50–2 000 bp 之间, 扩增条带数介于 3–10 之间不等。

利用 NTSYS2.1 软件对 ERIC 指纹图谱进行聚类分析, 获得了金葡菌基于 ERIC-PCR 的系统进化树(图 4)。该进化树显示, 103 株金葡菌依据 ERIC 图谱的不同, 相似性在 57%–100%。在 62% 的相似水平上, 103 株菌可分为 6 个类群, 其中类群 I 包括 23 株菌; 类群 II 包括 38 株菌; 类群 III 包括 20 株菌; 类群 IV 包括 19 株菌; 类群 V 包括 2 株菌, 分别为 V90 和 V96; 类群 VI 包括 1 株菌 V70。

3 讨论与结论

长期以来, 临床上对金葡菌引起的感染通常采用抗生素疗法, 使金葡菌的耐药问题日益突出, 给其感染的治疗带来很大困难^[27]。本实验分离并鉴定了 103 株不同来源地的耐药金葡菌, 从来源地可

以看出皖中地区最多, 可能是因为皖中地区养殖家禽的农户较其他地区多, 而且养殖规模较大, 导致家禽易感染金黄色葡萄球菌, 也可能农户给家禽看病选择就近原则, 因此病例基数大。从来源物种可以看出, 陆禽明显高于水禽, 与谿杏花等的报道一致^[28], 可能是农户饲养的陆禽多、密度大, 因此感染数大于水禽。

禽类细菌日益严重的耐药现象与耐药基因的普遍存在有着密切的关系^[29]。本文将金黄色葡萄球菌 3 种抗生素的耐药基因和耐药表型进行比较, 分析两者之间的相关性。 β -内酰胺类的耐药率及 *mecA* 的检出率均最高, 与颜敏^[30]和周薇薇等^[31]报道的结果相近; *femA* 检出率较低且都伴随 *mecA* 出现, 这或许说明 *femA* 不是引起金葡菌耐此类抗生素的主要基因, 有报道指出, 由于 *femA* 是金葡菌的功能基因, 辅助耐药性与其是否存在无关, 而可能与 *femA* 表达水平有关^[32]。氨基糖苷类基因检出率及 *aac(6')/aph(2'')* 检出率均较高, 与周永安等^[33]和邓钊宾等^[29]的报道相似, 表明金葡菌对氨基糖苷类耐药可能主要由 *aac(6')/aph(2'')* 所介导。大环内酯类抗生素的耐药检出率为 59.2%, 其中, *ermC* 是主要的耐药基因, 其次为 *ermA*, 这与黄烈等^[34]的研究结果相似, 同时匡秀华^[35]研究结果显示 *ermC*

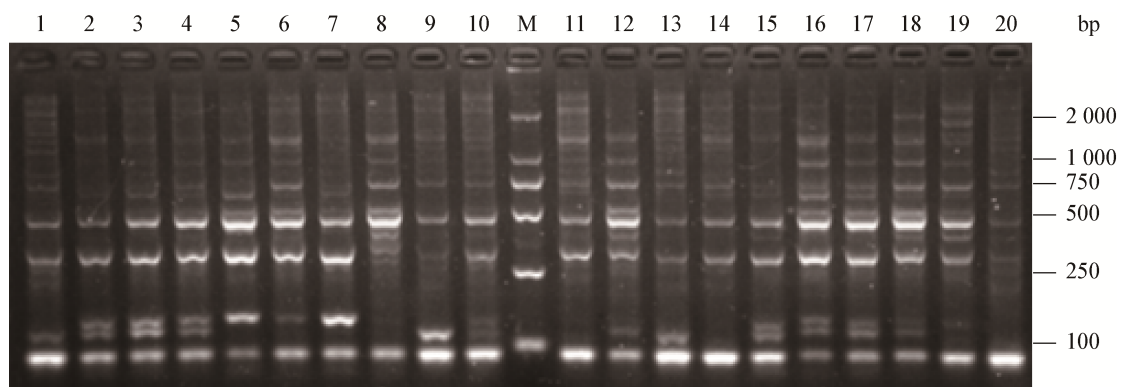


图 3 部分菌株 ERIC-PCR 指纹图谱

Figure 3 Electropherogram of part products of *S. aureus* with ERIC-PCR

注: 1–20: 分离株的 PCR 产物; M: DL2000 DNA marker.

Note: ERIC-PCR products of 1–20; M: DL2000 DNA marker.

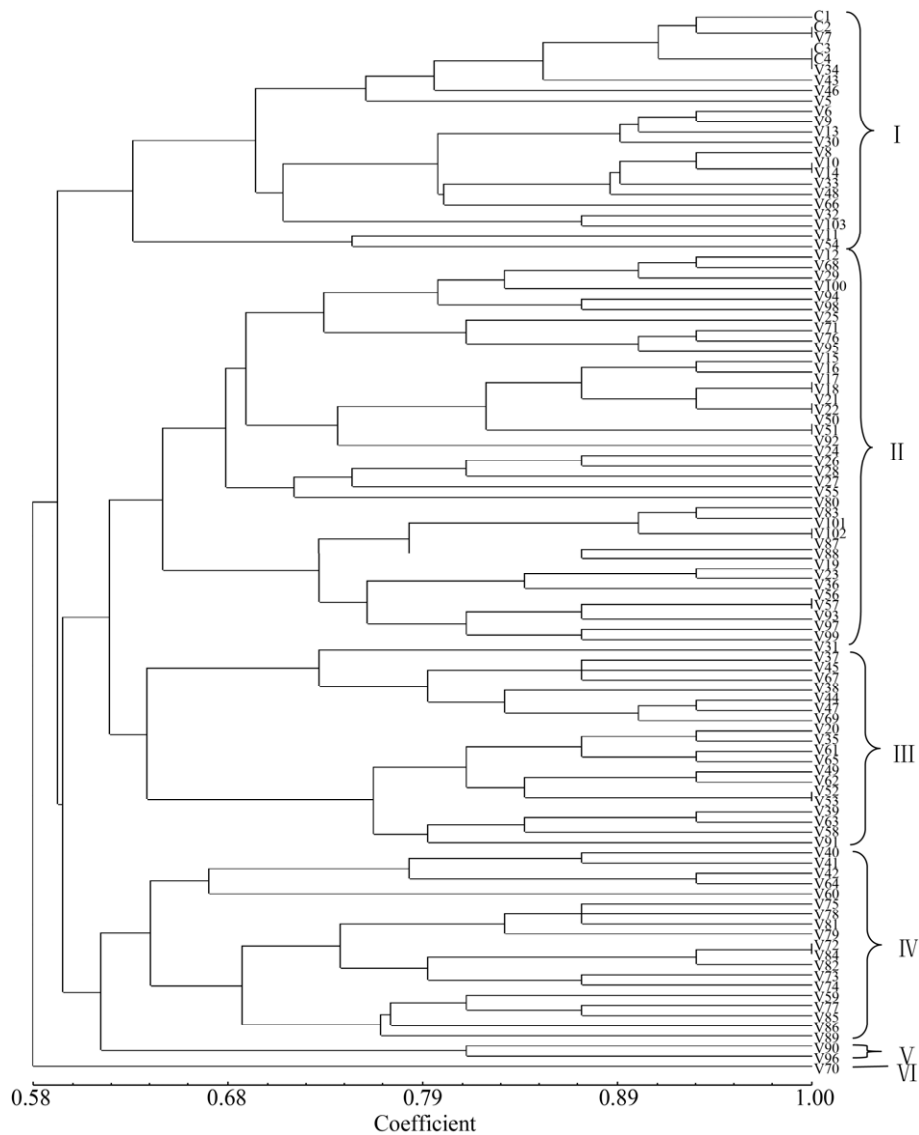


图4 耐药葡萄球菌基因 ERIC-PCR 的系统进化树

Figure 4 Dendrogram of *S. aureus* fingerprint by cluster analysis

注: I-VI表示 *S. aureus* 的7个类群.

Note: I-VI means 7 groups of *S. aureus*.

检出率最高。然而,姚健等^[36]报道在大环内酯类抗生素的耐药中, *ermA* 为最主要的耐药基因,其次为 *ermC*。该类抗生素的耐药特性是:携带至少一种 *erm* 的金葡萄菌表现对大环内酯类抗生素的耐药性^[37]。此外,也可能与饲养过程中抗生素的使用方法用量等因素有关^[28]。本实验结果显示,金葡萄菌耐药性严重呈多样性,氨基糖苷类、 β -内酰胺类和大环内酯类抗生素的耐药基因携带率较高,

明确了安徽地区金葡萄菌分离株的耐药情况。

ERIC-PCR 与其他分子分型方法如 ISR-RFLP、REP-PCR 相比,具有快速,简单、分辨力更高等优点^[38]。本研究发现,在安徽省同一地区不同动物来源的分离株或不同地区相同来源的分离株存在相同基因型,也存在不同基因型;而不同地区分离株的基因型也存在属于同一基因型的情况。同时也出现了个别遗传距离较远的、亲缘关系相差较大

的菌株。结果显示,安徽省耐药金葡菌的遗传多样性优势株不明显,在同一地区和环境条件下分离的同一病原菌的基因型也存在一定的差异。这一结论与2009年杨波等^[39]结果相似,但条带数更多,条带范围更广,可能是地域差异导致,或是金葡菌经过多年进化更具有多样性。具体的规律还有待于大量收集分离试验菌株继续进一步的试验验证。随着更多的临床致病菌被分离以及菌谱信息和菌谱中各菌株分子分型信息的建立和不断完善,将有助于通过分子分型信息了解安徽地区金葡菌流行趋势,为防治该菌引起的疾病提供依据。

REFERENCES

- [1] Newsom, SWB. Ogston's coccus[J]. *Journal of Hospital Infection* 2008,70(4): 369-372
- [2] Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections[J]. *New England Journal of Medicine*, 1998, 339(8): 520-532
- [3] Ren SY, Geng Y, Wang KY, et al. *Streptococcus agalactiae* infection in domestic rabbits, *Oryctolagus cuniculus*[J]. *Transboundary & Emerging Diseases*, 2014, 61(6): e92-e95
- [4] Krupa P, Bystroń J, Bania J, et al. Genotypes and oxacillin resistance of *Staphylococcus aureus* from chicken and chicken meat in Poland[J]. *Poultry Science*, 2014, 93(12): 3179-3186
- [5] Breen JE, Hudson CD, Green MJ, et al. Diagnosis and management of intramammary infection caused by *Staphylococcus aureus* for dairy cows and herds[J]. *Cattle Practice*, 2013, 21: 189-197
- [6] Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2012, 39(4): 273-282
- [7] Enright MC, Robinson DA, Randle G, et al. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(11): 7687-7692
- [8] Li J, Han Y. Surveillance of antibiotics resistance of *Staphylococcus aureus* in 5 years[J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2010, 20(24): 4008-4010 (in Chinese)
李娟, 韩艳. 连续5年金黄色葡萄球菌耐药性监测[J]. *中华医院感染学杂志*, 2010, 20(24): 4008-4010
- [9] Lin JC, Ma C, Chen YL, et al. Detection of resistance to *Staphylococcus aureus* in poultry[A]//Summary of Abstracts of the Symposium of the Veterinary Pharmacology Toxicology Branch of China Animal husbandry and Veterinary Society[C]. Beijing: Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine, 2009 (in Chinese)
林居纯, 马驰, 陈雅莉, 等. 禽源金黄色葡萄球菌耐药性检测[A]//中国畜牧兽医学学会兽医药理毒理学会第十次研讨会论文集[C]. 北京: 中国畜牧兽医学学会, 2009
- [10] Xu LF. Diagnosis and treatment of *Staphylococcal* disease in chickens[J]. *Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2011, 32(11): 43 (in Chinese)
徐龙芬. 鸡葡萄球菌病的诊治[J]. *山东畜牧兽医*, 2011, 32(11): 43
- [11] Hu FP, Zhu DM, Wang F, et al. Report of CHINET antimicrobial resistance surveillance program in 2015[J]. *Chinese Journal of Infection and Chemotherapy*, 2016, 16(6): 685-694 (in Chinese)
胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2015年CHINET细菌耐药性监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2016, 16(6): 685-694
- [12] Dai PF. The detection of phenotypes and mechanisms of resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from animals in Sichuan[D]. Ya'an: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2016 (in Chinese)
代鹏飞. 四川省动物源金黄色葡萄球菌耐药表型检测及主要耐药机制研究[D]. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 2016
- [13] Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 115(3): 290-296
- [14] van Den Broek IVF, van Cleef BAGL, Haenen A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms[J]. *Epidemiology & Infection*, 2009, 137(5): 700-708
- [15] van Rijen MML, van Keulen PH, Kluytmans JA. Increase in a Dutch hospital of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* related to animal farming[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2008, 46(2): 261-263
- [16] Wang QD, Liu Q, Dong ZM, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus chromogenes* from dairy cow in the Inner Mongolia[J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2017(4): 257-261 (in Chinese)
王秋东, 刘琪, 董志民, 等. 内蒙古部分地区致奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌和产色葡萄球菌的分子流行病学及耐药性研究[J]. *中国预防兽医学报*, 2017(4): 257-261
- [17] Xu N, Shi GL, Chen XF, et al. Antimicrobial resistance and PFGE profiles of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from subclinical mastitis milk[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(9): 33-41 (in Chinese)
许女, 史改玲, 陈旭峰, 等. 乳源凝固酶阴性葡萄球菌的PFGE分型及耐药性研究[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(9): 33-41
- [18] Dong ZM, Zhang WJ, Liu Q, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* and *S. saprophyticus* of dairy cow in the Northeast China[J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2016, 38(4): 307-311 (in Chinese)
董志民, 张万江, 刘琪, 等. 东北地区奶牛乳房炎表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌的分子流行病学及耐药性研究[J]. *中国预防兽医学报*, 2016, 38(4): 307-311
- [19] Li J. Epidemiological characteristics and phylogenetic analysis of pig associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China Agricultural University, 2017 (in Chinese)
李君. 猪源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌流行病学特征及遗传

- 进化分析[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2017
- [20] Lin DC, Liu JH, Wang J, et al. Antimicrobial resistance and resistance genes in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative *Staphylococci* isolated from swine[J]. Journal of South China Agricultural University, 2012, 33(4): 550-555 (in Chinese)
林大川, 刘健华, 王晶, 等. 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[J]. 华南农业大学学报, 2012, 33(4): 550-555
- [21] Yang SS, Wang J, Fan KW, et al. Antimicrobial resistance analysis and resistance genes detection in *Staphylococcus* isolated from swine in Fujian Province, China[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2016, 32(11): 976-982 (in Chinese)
杨守深, 王晶, 范克伟, 等. 福建地区猪源葡萄球菌耐药性分析及耐药基因检测[J]. 中国人兽共患病学报, 2016, 32(11): 976-982
- [22] Morcillo A, Castro B, Rodríguez-Álvarez C, et al. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and pig workers in Tenerife, Spain[J]. Foodborne Pathogens & Disease, 2012, 9(3): 207-210
- [23] Martineau F, Picard FJ, Roy PH, et al. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1998, 36(3): 618-623
- [24] Wayne PA. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[C]. Ninth informational supplement NCCLS document M100-S9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2009
- [25] Ma XL. Study on the mechanism and molecular epidemiology of drug resistance in *Staphylococcus aureus*[D]. Hefei: Doctoral Dissertation of Medical University of Anhui, 2009 (in Chinese)
马筱玲. 金黄色葡萄球菌耐药性、耐药机制与分子流行病学研究[D]. 合肥: 安徽医科大学博士学位论文, 2009
- [26] van Belkum A, Bax R, Peerbooms P, et al. Comparison of phage typing and DNA fingerprinting by polymerase chain reaction for discrimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1993, 31(4): 798-803
- [27] Che SG, Yu ZS. Diagnosis and treatment of *Staphylococcal* disease in chickens[J]. Chinese Animal Husbandry Veterinary Digest, 2016, 32(9): 207 (in Chinese)
车树广, 于治山. 鸡葡萄球菌病的诊断与治疗[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2016, 32(9): 207
- [28] Lu XH, Pan L. Isolation, identification and drug resistance analysis of *Staphylococcus aureus* from poultry[J]. Chinese Poultry, 2014, 36(20): 63-64 (in Chinese)
逯杏花, 潘玲. 禽源金黄色葡萄球菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国家禽, 2014, 36(20): 63-64
- [29] Deng ZB, Yu T, Geng Y, et al. Antibiotic resistance phenotype and genes detection of *Staphylococcus aureus* isolated from rabbits[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2016, 38(1): 45-48 (in Chinese)
邓钊宾, 余滔, 耿毅, 等. 兔源金黄色葡萄球菌的耐药性及耐药基因分析[J]. 中国预防兽医学报, 2016, 38(1): 45-48
- [30] Yan M. Isolation, identification and pathogenicity of duck-origin *Staphylococcus aureus*[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2015 (in Chinese)
颜敏. 鸭源金黄色葡萄球菌的分离鉴定及致病性研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2015
- [31] Zhou WW, Luo YP, Zhang XJ. Resistance of 516 *Staphylococcus aureus* isolates of to 9 kinds of antibiotics[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2005, 15(9): 1054-1055 (in Chinese)
周薇薇, 罗燕萍, 张秀菊. 516株金黄色葡萄球菌对9种抗生素的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(9): 1054-1055
- [32] Chen ZH, Fan XJ, Lü XJ. Combination PCR of *mecA*, *femA* genes for detection of MRSA[J]. Journal of Sichuan University (Medical Sciences Edition), 2003, 34(4): 663-666 (in Chinese)
陈智鸿, 范昕建, 吕晓菊. *mecA*、*femA* 基因 PCR 联合扩增法检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌[J]. 四川大学学报: 医学版, 2003, 34(4): 663-666
- [33] Zhou YA, Zhang JP, Jin L, et al. Drug-resistance genes and disinfectant-resistance genes in *Staphylococcus aureus*[J]. Chinese Journal of Clinicians (Electronic Edition), 2010, 4(11): 98-102 (in Chinese)
周永安, 张景萍, 金柳, 等. 金黄色葡萄球菌耐消毒剂基因及5类抗生素耐药相关基因检测[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2010, 4(11): 98-102
- [34] Huang L, Xia CJ, Zhang YH, et al. Rapid detection and analysis of drug resistance genes of *Staphylococcus aureus* in large ring[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2010, 31(11): 1299-1301 (in Chinese)
黄烈, 夏成静, 张银辉, 等. 金黄色葡萄球菌常见大环内酯类耐药基因快速检测和分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1299-1301
- [35] Kuang XH. Prevalence and molecule characteristic of resistance and virulence of three different livestock and poultry pathogen bacteria in Central China[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2015 (in Chinese)
匡秀华. 华中地区三种畜禽病原菌耐药和毒力的流行性及分子特征研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2015
- [36] Yao J, Shao L, Liu PY, et al. Analysis of the drug resistance and drug resistance genes of *Staphylococcus aureus* in clinical isolates[J]. Drug Biotechnology, 2016(4): 291-295 (in Chinese)
姚健, 邵雷, 刘鹏宇, 等. 临床分离金黄色葡萄球菌对大环内酯类抗生素耐药性及耐药基因的分析[J]. 药物生物技术, 2016(4): 291-295
- [37] Lina G, Quaglia A, Reverdy ME, et al. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among *Staphylococci*[J]. Antimicrobial Agents & Chemotherapy, 1999, 43(5): 1062-1066
- [38] Soler L, Figueras MJ, Chacón MR, et al. Comparison of three molecular methods for typing *Aeromonas popoffii* isolates[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2003, 83(4): 341-349
- [39] Yang B, Zhang XM, Luo SP, et al. Investigation on virulence determinants and genetic typing of *Staphylococcus aureus* isolated from mastitis milk[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2009, 18(5): 1-6 (in Chinese)
杨波, 张雪梅, 罗淑萍, 等. 奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌毒力因子检测与基因分型[J]. 西北农业学报, 2009, 18(5): 1-6