

2015~2018年北京市食源性金黄色葡萄球菌耐药性分析

崔霞, 张晓媛, 王迪, 张诣, 刘玉竹, 陈倩*

(北京市疾病预防控制中心, 北京市预防医学研究中心, 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室,
北京 100013)

摘要: **目的** 掌握北京市食源性金黄色葡萄球菌对常用抗生素的耐药谱和耐药趋势。**方法** 收集 2015–2018 年北京市食源性致病菌监测网分离到的金黄色葡萄球菌 103 株, 采用 CLSI 推荐的微量肉汤稀释法检测金黄色葡萄球菌对 11 种常用抗生素的敏感性。**结果** 103 株菌中有 102 株表现为对至少 1 种抗生素耐药, 耐药率排在前三位的是青霉素、红霉素和克林霉素, 其中对青霉素的耐药率最高, 为 99.0%。检出耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 8 株, 占 7.8%, 未见万古霉素耐药株。45.6%(47/103)的菌株同时耐受 3 类和 3 类以上抗生素, 表现为多重耐药, 同时耐受抗生素种类最高为 7 类。共存在 26 种耐药谱, 优势耐药谱为青霉素、青霉素-红霉素-克林霉素-复方新诺明-庆大霉素和青霉素-红霉素。**结论** 2015–2018 年北京市食源性金黄色葡萄球菌整体耐药水平较高, 且多重耐药情况严重, 并出现 MRSA 株, 应继续加强北京市食源性金黄色葡萄球菌的耐药性监测。

关键词: 食源性金黄色葡萄球菌; 耐药性; 多重耐药; 耐药谱

Surveillance on antibiotic resistance of food-borne *Staphylococcus aureus* in Beijing from 2015 to 2018

CUI Xia, ZHANG Xiao-Ai, WANG Di, ZHANG Yi, LIU Yu-Zhu, CHEN Qian*

(Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing Center for Prevention Medicine Research, Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing 100013, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the trend of antibiotic resistance and antibiotic resistance spectrum of foodborne *Staphylococcus aureus* in Beijing. **Methods** Totally 103 *Staphylococcus aureus* stains isolated from foodborne pathogenic bacteria monitoring network in Beijing from 2015–2018 were tested against 11 commonly used antibiotics using broth micro-dilution method recommended by CLSI. **Results** The 102 strains of 103 strains of *Staphylococcus aureus* showed resistance to at least 1 antibiotic. Resistance rates to penicillin, erythrocin and clindamycin ranked in the top three, among which penicillin had the highest resistance rate (99.0%), 8 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains were detected, accounting for 7.8%, vancomycin-resistant strains were not found. A total of 45.6%(47/103)of them were identified as multiple antibiotic resistance strains and were resistant to as much as 7 classes of antibiotics. There were 26 antibiotic resistance spectrums with penicillin, penicillin-erythrocin-clindamycin-trimethoprim-sulfamethoxazole-gentamicin and penicillin-erythrocin as the top

基金项目: 科技部“食品安全关键技术研发”重点专项项目(2017FYC1601400)

Fund: Supported by the Special Program for Key Technology in Food Safety of the Ministry of Science and Technology of China (2017FYC1601400)

*通讯作者: 陈倩, 主任技师, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: cchenqian@263.net

*Corresponding author: CHEN Qian, Chief Technician, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing Center for Prevention Medicine Research, Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing, 100013, China, No.16, Hepingli, East District, Beijing 100013, China. E-mail: cchenqian@263.net

three spectrums. **Conclusion** From 2015 to 2018, the overall level of drug resistance of foodborne staphylococcus aureus in Beijing is relatively high, and the situation of multiple drug resistance is serious, and MRSA strain appears, so the monitoring of drug resistance of foodborne staphylococcus aureus in Beijing should be further strengthened.

KEY WORDS: foodborne *Staphylococcus aureus*; antibiotics resistance; multiple antibiotics resistance; antibiotic resistance spectrum

1 引言

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)广泛分布于自然环境中,是造成人类食物中毒常见致病菌之一^[1-3]。我国每年 20%~25%的细菌性食物中毒事件是由金黄色葡萄球菌引起的^[3]。金黄色葡萄球菌极易产生耐药性,大多数菌株都有不同程度的耐药,甚至出现了多重耐药菌株,及超级耐药菌株。有研究表明^[4],食品中的耐药菌、耐药基因可以通过食物链传播到人,从而对食品安全和人类健康造成严重危害。因此多重耐药金黄色葡萄球菌菌株的出现已经危及到对该菌引发的食源性疾病的治疗和控制。

为了解北京市食源性金黄色葡萄球菌的耐药谱和耐药趋势,本研究拟对 2015-2018 年北京市食源性致病菌监测网络分离到的 103 株食源性金黄色葡萄球菌进行耐药性分析。以掌握近年来北京市食源性金黄色葡萄球菌的耐药谱和耐药趋势,为临床合理用药提供参考依据,避免细菌耐药性的进一步加重。

2 材料与amp;方法

2.1 菌株来源

本研究所用 103 株金黄色葡萄球菌均为 2015-2018 年北京市食源性致病菌监测网收集的食品分离株。全部菌株均已经生化鉴定复核确认为金黄色葡萄球菌。

2.2 主要仪器

VITEK 2 Compact 生化鉴定仪、VITEK 浊度仪(法国 BioMerieux 公司); Milli-Q 去离子水系统(美国 Millipore 公司); MSC-ADRANTAGE 生物安全柜(美国 Thermal 公司); (36 ± 1) °C 恒温培养箱(美国 SANYO 公司)。

2.3 主要试剂

培养基脑心浸液和琼脂粉(北京陆桥技术股份有限公司); Vitek 2 革兰阳性细菌鉴定卡(法国 BioMerieux 公司); 革兰氏阳性菌微量肉汤药敏板、MH 肉汤、细菌稀释液(上海星佰生物技术有限公司)。

2.4 测试抗生素种类

测试抗生素包括:青霉素(penicillin, PEN, 青霉素类, 0.06~4 μg/mL)、苯唑西林(oxacillin, OXA, 青霉素类, 0.25~16 μg/mL)、红霉素(erythromycin, ERY, 大环内酯类, 0.25~16 μg/mL)、克林霉素(clindamycin, CLI, 林可霉素类,

0.125~8 μg/mL)、环丙沙星(ciprofloxacin, CIP, 氟喹诺酮类, 0.125~8 μg/mL)、达托霉素(daptomycin, DAP, 脂肽类, 0.125~8 μg/mL)、复方新诺明(trimethoprim-sulfamethoxazole, SXT, 磺胺类, 0.125/2.3~8/152 μg/mL)、万古霉素(vancomycin, VAN, 糖肽类, 0.5~32 μg/mL)、四环素(tetracycline, TET, 四环素类, 0.5~32 μg/mL)、氯霉素(chloramphenicol, CHL, 苯丙醇类, 1~64 μg/mL)、庆大霉素(gentamicin, GEN, 氨基糖肽类, 1~64 μg/mL)(上海星佰生物技术有限公司)。

2.5 抗生素敏感性测试

采用冻干型细菌定量药敏测试盒定量测定金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)。使用一次性无菌接种环,将经复合鉴定后保存的菌株,划线接种于 BHA 平板 37 °C 过夜培养复苏,挑取单菌落,再次划线接种 BHA 平板 37 °C 过夜培养纯化。挑取数个新鲜菌落至 3 mL 细菌稀释液,调制成 0.5 麦氏浊度的菌悬液,取上述菌悬液 60 μL 至含有 12 mL MH 肉汤中,混匀,然后倒入 V 型无菌槽内,按照 100 μL/孔加至药敏板中,同时设阴、阳性对照孔,置于恒温培养箱内 37 °C 孵育 18~20 h。同时将质控菌株进行相同的处理。质控菌株为本实验室保存的金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)。

2.6 结果判读

依据美国临床实验室标准化委员会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)的相应标准对抗生素敏感性结果进行判读^[5]。当同时满足以下条件:生长对照孔中的细菌有明显生长;空白对照孔无细菌生长;质控菌株的 MIC 值在规定的范围内时,目测结果可接受。

3 结果与分析

3.1 金黄色葡萄球菌对 11 种抗生素的敏感性分析

103 株金黄色葡萄球菌分别用 11 种抗生素做耐药性测试,测试结果显示,只有 1 株菌对所有受试抗生素敏感,占 1.0%,其余 102 株菌对至少 1 种抗生素呈现不同程度的耐药,占 99.0%。其中对青霉素的耐药率最高,为 99.0%,其余依次为红霉素 59.2%、克林霉素 31.1%、复方新诺明 23.3%、四环素 22.3%、庆大霉素 19.4%、环丙沙星 7.9%、苯唑西林 7.8%、氯霉素 5.9%、达托霉素 1.9%,没有检测到万古霉素耐药菌株,详细结果见表 1。

表 1 103 株金黄色葡萄球菌对 11 种抗生素敏感性测试结果
Table 1 Antimicrobial susceptibility testing results for 103 *Staphylococcus aureus* strains against 11 antibiotics

抗生素	耐药		中介		敏感	
	株数	%	株数	%	株数	%
青霉素	102	99.0	0	0.0	1	1.0
红霉素	61	59.2	4	3.9	38	36.9
克林霉素	32	31.1	1	1.0	70	68.0
复方新诺明	24	23.3	0	0.0	79	76.7
四环素	23	22.3	7	6.8	73	70.9
庆大霉素	20	19.4	4	3.9	79	76.7
环丙沙星	8	7.8	12	11.7	83	80.6
苯唑西林	8	7.8	2	1.9	93	90.3
氯霉素	6	5.8	3	2.9	94	91.3
达托霉素	2	1.9	0	0.0	101	98.1
万古霉素	0	0.0	3	2.9	100	97.1

3.2 金黄色葡萄球菌耐药谱分布情况

多重耐药株有 47 株, 占有耐药菌株的 46.1%。耐受 1 类抗生素, 即单重耐药的菌株数量最多(29.1%, 30/103), 其次为同时耐受 2 类抗生素的菌株(24.3%, 25/103)。102 株耐药金黄色葡萄球菌共有 26 种耐药谱, 单重耐药金黄色葡萄球菌只有一种耐药谱为青霉素(30 株), 多重耐药金黄色葡萄球菌中优势耐药谱为青霉素-红霉素-克林霉素-复方新诺明-庆大霉素(16 株)。检出 1 株 7 重耐药金黄色葡萄球菌, 可以同时耐受除脂肽类、糖肽类及氨基糖肽类以外的其他 7 类抗生素。受试金黄色葡萄球菌耐药谱情况见表 2。通过对 2015-2018 年分离菌株多重耐药率进行比较发现, 近 4 年来北京市食源性金黄色葡萄球菌多重耐药率呈逐年下降趋势, 见图 1。

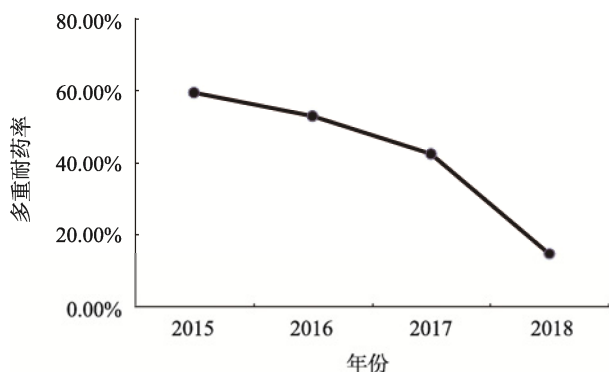


图 1 2015-2018 年北京市食源性金黄色葡萄球菌多重耐药率
Fig.1 Multiple antibiotic resistance rate of food-borne *Staphylococcus aureus* in Beijing in 2015-2018

表 2 金黄色葡萄球菌耐药谱
Table 2 Antibiotic resistance spectrums of *Staphylococcus aureus*

同时耐药种类	耐药谱	菌株数
1	PEN	30
	PEN-ERY	14
	PEN-TET	5
	PEN-CHL	2
2	PEN-CLI	1
	PEN-SXT	1
	PEN-CIP	1
	PEN-OXA-ERY	1
	PEN-ERY-TET	7
	PEN-ERY-CLI	4
	PEN-OXA-ERY-CLI	4
3	PEN-ERY-SXT	1
	PEN-TET-CHL	1
	PEN-OXA-ERY-CIP	1
	PEN-ERY-TET-CHL	2
	PEN-ERY-SXT-TET	1
4	PEN-ERY-CLI-TET	1
	PEN-ERY-DAP-GEN	1
	PEN-OXA-ERY-DAP-SXT	1
	PEN-ERY-CLI-SXT-GEN	16
5	PEN-ERY-CLI-CIP-TET	2
	PEN-ERY-CIP-SXT-TET	1
	PEN-ERY-CLI-SXT-TET-GEN	1
6	PEN-ERY-CLI-CIP-SXT-GEN	1
	PEN-ERY-CLI-CIP-TET-GEN	1
7	PEN-OXA-ERY-CLI-CIP-SXT-TET-CHL	1

注: PEN: 青霉素, ERY: 红霉素, CLI: 克林霉素, SXT: 复方新诺明, TET: 四环素, GEN: 庆大霉素, CIP: 环丙沙星, OXA: 苯唑西林, CHL: 氯霉素, DAP: 达托霉素, VAN: 万古霉素。

3.3 MRSA 检出率

根据菌株对苯唑西林耐药测试, 103 株受试菌中鉴定出耐甲氧西林金黄色葡萄菌 (methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*, MRSA)8 株, 占 7.8%。通过对 2015-2018 年 MRSA 检出率进行比较发现, 与 2015 年相比, 2016 年 MRSA 检出率上升, 从 2017 年开始 MRSA 检出率逐渐下降, 见图 2。

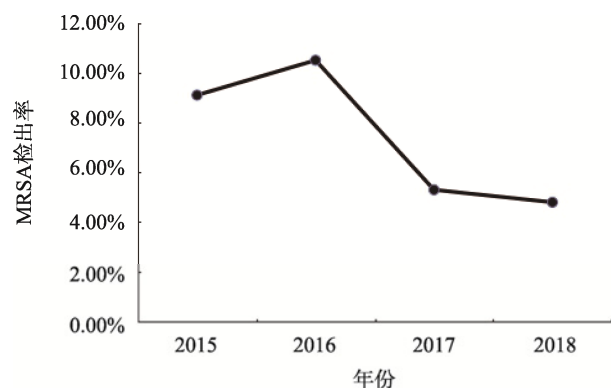


图 2 2015–2018 年 MRSA 检出率

Fig.2 Detection rate of MRSA in 2015–2018

4 讨论与结论

本研究对 2015–2018 年北京市分离的 103 株食源性金黄色葡萄球菌进行了 11 种常用抗生素的药敏测试, 以了解北京市近几年食源性金黄色葡萄球菌的耐药谱及耐药趋势。研究结果显示受试菌对除万古霉素外的其他 10 种受试抗生素均有不同程度的耐药。其中青霉素耐药率最高为 99.0%, 除青霉素外, 耐药率排在前三位的是红霉素 (59.2%)、克林霉素 (31.1%) 和复方新诺明 (23.3%), 这与多数文献报道的食源性金黄色葡萄球菌耐药结果一致^[6-8]; 受试菌对环丙沙星、氯霉素和达托霉素相对敏感, 提示此 3 种抗生素仍可作为优先选择的抗生素用于治疗金黄色葡萄球菌引起的食源性疾病。同 2015 年之前北京市食品源金黄色葡萄球菌耐药结果比较, 本研究中红霉素、克林霉素、四环素的耐药率均有所提升, 因此应降低此 3 种抗生素的使用量, 同时继续加强耐药性监测。近年来我国食源性 MRSA 的报道也越来越多^[9-12], 本研究结果显示 2015–2018 年北京市食源性 MRSA 检出率为 7.8%, 低于 2010–2012 年北京市食源性 MRSA 检出率 (27.8%)^[13], 并且从 2015 年以来, 北京市食源性 MRSA 检出率总体上呈逐年下降趋势。虽然长期以来, 万古霉素被认为是治疗 MRSA 感染的基石和金标准^[14,15], 但是临床上已经分离出万古霉素敏感性降低的中介耐药株^[16], 并出现了耐万古霉素的金黄色葡萄球菌感染病例^[17], 引起了全世界科学家的高度关注, 耐万古霉素的 MRSA 被列为未来 10 年的超级细菌, 在本研究中虽未出现万古霉素耐药菌株, 但是检测到 3 株万古霉素中介耐药菌株, 该结果提示需要加强注意并继续监测。

在受试的 11 种抗生素中, 有 10 种出现了耐药菌。受试菌株中有 99.0% (102/103) 出现了耐药性, 有 45.6% (47/103) 为多重耐药菌。整体而言, 102 株耐药菌共有 26 种耐药表型谱, 耐药谱广, 主要是对青霉素类、大环内酯类、林可霉素、磺胺类、氨基糖苷类等多种不同类型抗

生素同时耐药。其中对耐 5 种抗生素中的青霉素-红霉素-克林霉素-复方新诺明-庆大霉素耐药谱菌株数对多, 这与国内文献报道的研究结果相同^[7,18]。此外受试菌株中存在可同时耐受 7 类抗生素的金黄色葡萄球菌, 表现出严重的耐药性, 建议加强耐药监测的同时, 精准用药, 在非紧急用药时, 尽量明确金黄色葡萄球菌的耐药特征后选择敏感抗生素, 降低抗生素用量。

通过对北京市 2015–2018 年食源性金黄色葡萄球菌分离株进行耐药性分析, 发现自 2016 年我国开始实施《遏制细菌耐药国家行动计划 (2016–2020 年)》以来, 北京市食源性金黄色葡萄球菌耐药情况有所缓解。但是总体而言, 近 4 年来北京市食源性金黄色葡萄球菌的整体耐药水平较高, 且出现 MRSA 及万古霉素中介耐药菌株, 有必要对食源性金黄色葡萄球菌开展持续监测, 即时通报监测结果, 为临床合理用药提供参考依据, 以避免细菌耐药性的进一步加重。

参考文献

- [1] Argudin MA, Mendoza MC, Rodicio MR. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins [J]. *Toxins*, 2010, 2(7): 1751–1773.
- [2] Vitale M, Scatassa ML, Cardamone C, et al. *Staphylococcus* food poisoning case and molecular analysis of toxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from food in Sicily, Italy [J]. *Food-borne Pathog Dis*, 2015, 12(1): 21–23.
- [3] Paudyal N, Pan H, Liao X, et al. A meta-analysis of major food-borne pathogens in Chinese food commodities between 2006 and 2016 [J]. *Food-borne Pathog Dis*, 2018, 15(4): 187–197.
- [4] Johler S, Layer F, Stephan R. Comparison of virulence and antibiotic resistance genes of food poisoning outbreak isolates of *Staphylococcus aureus* with isolates obtained from bovine mastitis milk and pig carcasses [J]. *J Food Prot*, 2011, 74(11): 1852–1859.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty third informational supplement [S].
- [6] 顾其芳, 张红芝, 刘玥, 等. 金黄色葡萄球菌食品分离株肠毒素基因及耐药性研究 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2018, 28(11): 1321–1323.
Gu QF, Zhang HZ, Liu Y, et al. Study of enterotoxin gene and drug resistance in food borne *Staphylococcus aureus* [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2018, 28(11): 1321–1323.
- [7] 牛恒彩, 舒高林, 刘国蓉, 等. 80 株食源性金黄色葡萄球菌药敏结果分析 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(15): 2259–2261.
Niu HC, Shu GL, Liu GR, et al. Analysis of susceptibility test results of 80 strains of food borne *Staphylococcus aureus* [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2015, 26(15): 2259–2261.
- [8] 王小龙, 崔家瑞, 朱莉勤, 等. 苏州市食源性金黄色葡萄球菌耐药分析及基因分型 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(23): 6101–6106.
Wang XL, Cui JR, Zhu LQ, et al. Antimicrobial resistance analysis and genotyping of foodborne *Staphylococcus aureus* in Suzhou [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(23): 6101–6106.
- [9] 李玥婷, 龚云伟, 刘桂华. 吉林省 2014 年食源性金黄色葡萄球菌的耐药性分析 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2015, 25(21): 3772–3774.
Li YT, Gong YW, Liu GH. Analysis of drug resistance of food-borne

- Staphylococcus aureus* in Jilin in 2014 [J]. Chin J health Lab Technol, 2015, 25(21): 3772-3774.
- [10] 张健, 陈慧玲, 邓志爱, 等. 广州市食源性金黄色葡萄球菌肠毒素及耐药分析[J]. 实用预防医学, 2018, 25(4): 398-340.
- Zhang J, Chen HL, Deng ZA, *et al.* Enterotoxins and drug resistance of foodborne *Staphylococcus aureus* in Guangzhou city [J]. Pract Prev Med, 2018, 25(4): 398-340.
- [11] 吕国平, 王菟, 魏秀萍, 等. 食源性金黄色葡萄球菌耐药性和 *mecA* 基因分析[J]. 环境与健康杂志, 2013, 30(12):1089-1090.
- Lv GP, Wang X, Wei XP, *et al.* Drug resistance and *mecA* gene analysis in foodborne *Staphylococcus aureus* [J]. J Environ Health, 2013, 30(12): 1089-1090.
- [12] 王迪, 张晓媛, 陈倩, 等. 北京市食源性耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌的分子特征研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(22): 3286-3288.
- Wang D, Zhang XA, Chen Q, *et al.* Research on molecular characteristics of food-borne methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Beijing [J]. Chin J health Lab Technol, 2014, 24(22): 3286-3288.
- [13] 王迪, 张晓媛, 陈倩, 等. 北京市食源性金黄色葡萄球菌耐药及分子分型研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(5): 428-434.
- Wang D, Zhang XA, Chen Q, *et al.* Study of antimicrobial resistance and molecular characteristics in foodborne *Staphylococcus aureus* in Beijing [J]. Chin J Food Hyg, 2014, 26(5): 428-434.
- [14] 崔巧珍, 张燕军, 郭慧芳. 金黄色葡萄球菌的耐药变迁[J]. 中国药物与临床, 2013, 13(10): 1374-1376.
- Cui QZ, Zhang YJ, Guo HF. Antibiotic resistance changes of *Staphylococcus aureus* [J]. Chin Remed Clin, 2013, 13(10): 1374-1376.
- [15] 魏利, 李桂秋. 万古霉素在金黄色葡萄球菌中的耐药性研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(1): 119-125.
- Wei L, Li GQ. Research progress of drug resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* [J]. Med Recapit, 2019, 25(1): 119-125.
- [16] Li HT, Zhang TT, Huang J, *et al.* Factors associated with the outcome of life-threatening necrotizing pneumonia due to community-acquired *Staphylococcus aureus* in adults and adolescent patients [J]. Respiration, 2011, 81(6): 448-460.
- [17] Jones TF, Kellum ME, Porter SS, *et al.* An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicillin resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Emerg Infect Dis, 2002, 8(1): 82-84.
- [18] 白瑶, 王伟, 闫琳, 等. 食源性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分子分型研究[J]. 中华预防医学杂志, 2018, (4): 364-371.
- Bai Y, Wang W, Yan L, *et al.* Molecular typing characterization of food-borne methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in China [J]. Chin J Prev Med, 2018, (4): 364-371.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



崔霞, 助理研究员, 主要研究方向为食品安全
E-mail: cuixiastyle@163.com



陈倩, 主任技师, 主要研究方向为食品微生物。
E-mail: cchenqian@263.net