

DOI: 10. 3969/j. issn. 1671—9638. 2013. 01. 003

· 论 著 ·

一对母婴同时携带的金黄色葡萄球菌同源性分析

潘伟光, 陈 重, 邓启文

(广东医学院附属深圳南山医院, 广东 深圳 518052)

[摘 要] 目的 分析一对母婴同时携带的金黄色葡萄球菌的同源性, 了解金黄色葡萄球菌在母婴之间传播的可能性。方法 对分离的 3 株金黄色葡萄球菌(其中 1 株分离自受母乳喂养, 患有脐炎的新生儿脐分泌物; 另 2 株分别分离自该新生儿健康母亲左右两侧乳房分泌的乳汁)进行药敏试验表型分型和脉冲场凝胶电泳(PFGE)基因分型, 分析其同源性。结果 此对母婴携带的 3 株金黄色葡萄球菌对常用抗菌药物的药敏试验结果完全相同, PFGE 图谱具有 100% 的相似度, PFGE 结果聚类图处于同一分支。结论 此对母婴携带的金黄色葡萄球菌是相同型别菌株, 推测金黄色葡萄球菌在母婴之间传播的可能性大。

[关 键 词] 金黄色葡萄球菌; 母婴传播; 脉冲场凝胶电泳; 基因分型; 同源性; 母乳喂养

[中图分类号] R378. 1⁺1 R181. 3⁺2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2013)01-0012-04

Analysis on homology of *Staphylococcus aureus* carried by a mother and her newborn

PAN Wei-guang, CHEN Zhong, DENG Qi-wen (The Affiliated Shenzhen Nanshan Hospital of Guangdong Medical College, Shenzhen 518052, China)

[Abstract] **Objective** To study the homology of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) isolated from a mother and her newborn, and to explore the possibility of transmission of *S. aureus* infection between mother and newborn. **Methods**

Three *S. aureus* isolates from the umbilical secretion of a newborn with omphalitis and from the breast milk of the newborn's healthy mother were performed antimicrobial susceptibility testing, homology of *S. aureus* was analyzed through antimicrobial susceptibility testing phenotyping and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) genotyping. **Results** Three *S. aureus* isolates from the mother and newborn had the same antimicrobial susceptibility pattern and PFGE type. **Conclusion** *S. aureus* isolated from the mother and newborn were identical strains, suggesting a possibility of *S. aureus* transmission between mother and newborn.

[Key words] *Staphylococcus aureus*; mother-newborn transmission; pulsed-field gel electrophoresis; genotyping; homology; breastfeeding

[Chin Infect Control, 2013, 12(1): 12-15]

金黄色葡萄球菌是一种革兰阳性菌, 广泛分布于自然界, 在人体主要定植于咽部、鼻前庭、脐部、腹股沟、会阴部, 可引起化脓性炎症、食物中毒、假膜性肠炎等。据文献^[1]报道, 金黄色葡萄球菌可在健康的母亲和婴儿间传播。笔者从 1 例受母乳喂养, 患有脐炎的新生儿脐分泌物和其健康母亲的乳汁中分离出金黄色葡萄球菌, 并用脉冲场凝胶电泳

(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) 技术分析了两者的同源性, 现将实验结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 3 株金黄色葡萄球菌, 1 株分离

[收稿日期] 2012-04-22

[作者简介] 潘伟光(1973-), 男(瑶族), 广东省清远市人, 副主任技师, 主要从事临床微生物检验及细菌耐药性研究。

[通讯作者] 潘伟光 E-mail: 13692225809@163.com

自一例受母乳喂养,患有脐炎的新生儿(日龄 26 d)脐分泌物;另 2 株分别分离自该新生儿健康母亲左右两侧乳房分泌的乳汁。

1.1.2 主要试剂 哥伦比亚血琼脂平板,购自广州迪景生物有限公司;革兰阳性菌鉴定/药敏板与药敏指示剂,购自美国 BD 公司;蛋白酶 K,购自德国 CALBIOCHEM 公司;溶葡萄球菌酶,购自美国 SIGMA 公司;Seakem Gold 琼脂糖,购自美国 LONZA 公司;Sma I 酶,购自大连 TaKaRa 公司;Xba I 酶,购自英国 NEB 公司。

1.1.3 主要仪器 美国 BD 公司细菌鉴定/药敏分析仪,型号为 PhoenixTM 100;美国 Bio-Rad 公司脉冲场凝胶电泳仪,型号为 GenePath;美国 Bio-Rad 公司凝胶成像系统,型号为 GelDocXR。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集 用无菌生理盐水清洗患儿脐部表面,然后用无菌棉拭子,自脐窝深处采集分泌物于无菌试管内送检。用碘伏消毒患儿母亲两侧乳头及乳晕 3~5 min,75%医用乙醇脱碘,干燥后轻轻挤压乳腺,弃去前段乳汁,分别留取数毫升中段乳汁至无菌杯送检。

1.2.2 细菌培养、鉴定和药敏试验 参照《全国临床检验操作规程》进行细菌的培养分离;菌株鉴定和药敏试验,按照细菌鉴定/药敏分析仪操作规程进行。质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC 29213。

1.2.3 PFGE 参考文献[2]中方法和国家疾病预防控制中心提供的金黄色葡萄球菌 PFGE 标准操作程序操作,Marker 为沙门菌 H9812 株,要点如下:(1)菌种的复活;(2)胶块制备:从培养皿上刮取适量新鲜菌落,悬浊于 TE 中,用 Eppendorf 分光光度计测吸光度 A 值,调整 A 值至 6.10~6.30,取 250 μ L 菌悬液于 1.5 mL Eppendorf 管中,加入 2 μ L 溶葡萄球菌酶 1 mg/mL 混匀,加入等体积 1%

低熔点琼脂糖凝胶,混匀,加入模具孔中制成胶块,4℃冷却;(3)细胞裂解:将胶块放入 4 mL 蛋白酶 K 溶液(20 mg/mL)中,54℃水浴轻摇 2 h,用纯水洗胶块 1 次,TE 洗胶块 3 次;(4)酶切:切 2 mm 宽的胶块,加入 200 μ L 缓冲液,样品管和 Marker 管分别以 30℃和 37℃水浴 12 min,吸出缓冲液,分别加入 200 μ L Sma I 酶切混合液和 Xba I 酶切混合液,于 30℃和 37℃酶切 3 h;(5)电泳:制备 1%琼脂糖凝胶,将胶块置于胶槽内,进行 PFGE 电泳,参数:初始转换时间 4 s,最终转换时间 40 s,14 cm×13 cm 胶电泳时间为 19 h,电泳温度 14℃;(6)染胶和图像的获取:Gel-red 溶液染色 20 min,纯水冲洗胶至少 3 遍以上,每次约 20~30 min,凝胶成像系统获取图像;(7)结果分析:采用 Bionumerics 分析图像,选择 Dice 相关系数和 UPGMA 方法进行 PFGE 结果处理和聚类分析。条带位置容许度(position tolerance)选择 1.50%,优化值(optimization)选择 1.50%,将 80%相似度作为分组的临界值。

1.2.4 PFGE 图谱分型标准 采用 Tenover 等^[2]提出的标准对 PFGE 图谱进行分型。相同(indistinguishable):酶切图谱间有同样的条带数,且相应条带大小相同,认为是同一型别;紧密相关(closely related):由于突变、插入、缺失或倒置的遗传改变,导致 1~3 条条带有差异,定为亚型;可能相关(possibly related):带型中有 4~6 条条带有差异,认为是不同型别;不相关(unrelated):有 7 条或更多的条带有差异,认为在流行病学上无相关性。

2 结果

2.1 药敏试验 3 株金黄色葡萄球菌对常用抗菌药物的药敏试验结果一致,见表 1。

表 1 3 株金黄色葡萄球菌对常用抗菌药物的药敏结果

Table 1 Antimicrobial susceptibility testing results of three *Staphylococcus aureus* isolates

| Antimicrobial agent | Source of <i>Staphylococcus aureus</i> | | |
|-------------------------|--|---------------------|---------------------|
| | Breast milk (left) | Breast milk (right) | Umbilical secretion |
| Amikacin | S | S | S |
| Amoxicillin/Clavulanate | R | R | R |
| Ampicillin | R | R | R |
| Cefoxitin | R | R | R |
| Ciprofloxacin | S | S | S |
| Clindamycin | R | R | R |
| Gentamicin | S | S | S |
| Linezolid | S | S | S |

续表 1 (Table 1, continued)

| Antimicrobial agent | Source of <i>Staphylococcus aureus</i> | | |
|-------------------------------|--|---------------------|---------------------|
| | Breast milk (left) | Breast milk (right) | Umbilical secretion |
| Nitrofurantoin | S | S | S |
| Oxacillin | R | R | R |
| Penicillin | R | R | R |
| Quinupristin/Dalfopristin | S | S | S |
| Rifampin | S | S | S |
| Teicoplanin | S | S | S |
| Tetracycline | R | R | R |
| Tobramycin | S | S | S |
| Trimethoprim | S | S | S |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazole | S | S | S |
| Vancomycin | S | S | S |
| Erythromycin | R | R | R |

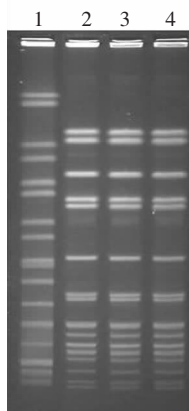
S; Sensitive; R; Resistant

2.2 PFGE 结果 PFGE 图谱具有 100% 的相似度, PFGE 结果聚类图处于同一分支。见图 1~2。

3 讨论

PFGE 是一种分离大片段 DNA 的电泳技术, 因其重复性好, 分辨力强, 被认为是细菌分子分型技术的金标准, 并推荐作为金黄色葡萄球菌等病原微生物分型的标准技术^[3-4]; 目前广泛应用于食源性疾病溯源^[5]和医院感染暴发的调查^[6]。

本组 3 株金黄色葡萄球菌具有相同的药敏结果, PFGE 分析及电泳图谱完全相同, 具有 100% 的相似度, 确定是相同型别菌株。金黄色葡萄球菌通过接触传播。母乳喂养是一种接触行为, 母婴之间存在广泛的亲密接触, 具有密切相关的流行病学特性, 推测金黄色葡萄球菌母婴间传播可能性大, 但不能确定是母亲传给婴儿, 还是婴儿传给母亲; 同时, 也不排除是由第三方同时或相继传播获得。通过查阅中国医院知识仓库和万方医学知识服务系统, 未见该案例报道。在国外, 有学者应用 PFGE 技术分析 8 对母婴携带的金黄色葡萄球菌, 菌株分离自健康



1; Marker; 2; Breast milk from left; 3; Breast milk from right; 4; Umbilical secretion

图 1 3 株金黄色葡萄球菌 PFGE 分型图谱

Figure 1 PFGE typing patterns of three *Staphylococcus aureus* isolates

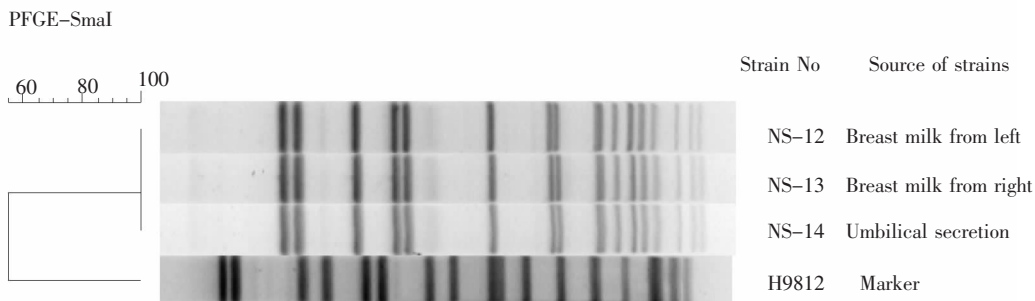


图 2 3 株金黄色葡萄球菌 PFGE 结果聚类图

Figure 2 Dendrogram of PFGE results of three *Staphylococcus aureus* isolates

母亲的乳汁、乳头和婴儿的鼻腔、口腔,有 4 对母婴之间携带相同型别菌株,推测金黄色葡萄球菌在健康的母亲和她们的婴儿之间传播可能性最大,但未能确定是母亲传给婴儿还是婴儿传给母亲^[1]。Behari 等^[7]应用 PFGE 技术,分析引起一对早产儿败血症或结膜炎的金黄色葡萄球菌和她们吸食的乳汁分离的金黄色葡萄球菌,结果是相同型别菌株,并且排除了患儿从医护人员和环境物体表面传播的可能,认为金黄色葡萄球菌是通过母乳,由母亲传给早产儿。

新生儿出生后,从断脐至脐带脱落前后,其脐断端是一个开放性创面,易被细菌侵入繁殖,造成脐部感染;在感染的病原菌中,以金黄色葡萄球菌常见,李慧等^[8]报道金黄色葡萄球菌占病原菌的 26.90%,丁金龙等^[9]报道为 34.24%。在母乳中,金黄色葡萄球菌也是最为常见的细菌。有文献^[10]报道,健康母亲的乳汁和患乳腺炎母亲的乳汁中,金黄色葡萄球菌的检出率分别是 31.00%和 45.00%。

综上所述,建议在今后的工作中进行系统的、大样本的调查研究,为有效防止金黄色葡萄球菌在母婴间传播,提供更准确、可靠的数据资料。

[参考文献]

[1] Kawada M, Okuzumi K, Hitomi S, et al. Transmission of *Staphylococcus aureus* between healthy, lactating mothers and their infants by breastfeeding[J]. J Hum Lact, 2003, 19(4): 411 - 417.

[2] Tenover F C, Arbeit R D, Goering R V, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strains typing [J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(9): 2233 - 2239.

[3] Chiou C S, Wei H L, Yang L C. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and coagulase gene restriction profile analysis techniques in the molecular typing of *Staphylococcus aureus* [J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(6): 2186 - 2190.

[4] Murchan S, Kaufmann M E, Deplano A, et al. Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(4): 1574 - 1585.

[5] 金永富, 王虹玲. 一起金黄色葡萄球菌肠毒素引起食物中毒的病原学检测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(5): 1253 - 1255.

[6] 赵彩芸, 肖永红, 王珊, 等. 临床分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药性及分子流行病学研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(2): 96 - 99.

[7] Behari P, Englund J, Alcasid G, et al. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to preterm infants through breast milk [J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2004, 25(9): 778 - 780.

[8] 李慧, 孙迎娟, 孙美玲, 等. 70 例脐部分泌物细菌学分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(23): 3816 - 3818.

[9] 丁金龙, 杨丽, 应群华, 等. 新生儿脐炎病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(15): 2342 - 2343.

[10] Kvist L J, Larsson B W, Hall-Lord M L, et al. The role of bacteria in lactational mastitis and some considerations of the use of antibiotic treatment [J]. Int Breastfeed J, 2008, 3: 6.

(上接第 67 页)

医院获得性肺炎患者中相当一部分属于高龄群体且常伴有严重的基础疾病^[3-4]。医院内各个环节都会不同程度地影响患者的呼吸道健康,我们应该将日常护理和抗感染治疗充分结合起来,着眼每个医护细节,加强重点环节的监控和消毒管理措施,实施有效的干预^[5],降低患者呼吸道感染的可能性^[6]。患者进入 ICU 后,经验性治疗尽量控制在 72 h 内,之后根据微生物培养和药敏结果,给予患者更有效的治疗。

[参考文献]

[1] 梁贤明, 吴玲玲, 姚艺辉. 重症监护病房下呼吸道感染主要病原菌分布及耐药性[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(4): 248 - 249.

[2] 高荣香. 重症监护病房呼吸道感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2010, 13(3): 333 - 334.

[3] 王爱平. 卒中患者院内肺部感染危险因素和预防分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2008, 11(5): 47 - 49.

[4] 朱士俊. 现代医院感染学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1998: 73 - 93.

[5] Costa D, Toledo A, Silva A B, et al. Influence of noninvasive ventilation by BiPAP on exercise tolerance and respiratory muscle strength in chronic obstructive pulmonary disease patients (COPD) [J]. Rev Lat Am Enfermagem, 2006, 14(3): 378 - 382.

[6] 刘晓青, 陈思蓓, 何国清, 等. 重症传染性非典型性肺炎的治疗及死亡危险因素的分析[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2003, 26(6): 329 - 333.