

DOI:10.13350/j.cjpb.231001

• 论著 •

鸡肉源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌全基因组测序 及生物信息学分析*

姜华,何晓娟,卢星辰,李晨程**,李远宏**

(徐州医科大学公共卫生学院,江苏徐州 221004)

【摘要】 目的 了解鸡肉源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的全基因组特征。方法 收集7株鸡肉源MRSA菌进行全基因组测序,利用比较基因组学分析MRSA的基因特征、抗生素耐药基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)和毒力基因携带情况,并构建基于MRSA全基因组SNP的系统发育树以分析不同菌株间的进化关系。结果 7株MRSA染色体基因组长度约为2.8 Mbp,鉴定出2 499~2 735个基因,基因组的平均GC含量为33.58%。基因功能注释结果显示测序MRSA菌株基因组中包含大量与营养物质代谢功能和环境响应相关的基因,可能为其在不同环境下的生长繁殖提供有利条件。7株鸡肉源MRSA菌的基因组中检出12~21种ARGs以及53~71种毒力基因。系统发育树显示不同ST型MRSA菌株分别处于不同的分支,而相同ST型MRSA菌株的进化距离较近,遗传进化关系较近。结论 鸡肉源MRSA菌株基因组中存在大量的ARGs和毒力基因,对人类健康造成巨大威胁,因此应持续监测并采取有效措施降低鸡肉制品中MRSA的污染水平,以确保食品安全。

【关键词】 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌;全基因组测序;抗生素耐药基因;毒力基因

【中图分类号】 R378.11

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)10-1117-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Oct;18(10):1117-1121,1126.]

Whole genome sequencing and bioinformatics analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from chicken

JIANG Hua, HE Xiaojuan, LU Xingchen, LI Chencheng, LI Yuanhong (School of Public Health, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221004, Jiangsu, China)

【Abstract】 **Objective** To understand the whole-genome characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from chicken. **Methods** The whole-genome sequence (WGS) of seven MRSA strains isolated from chicken was sequenced, and the genetic characteristics, antibiotic resistance genes (ARGs) and virulence genes were analyzed. Meanwhile, the phylogenetic tree, based on whole-genome SNP analysis, was constructed to analyze the evolutionary relationships among different MRSA strains. **Results** The results indicated that the full-length genomic sequence of the seven MRSA strains was about 2.8 Mbp, of which 2 499-2 735 genes were identified, and the average GC content of the genes in the seven genomes was 33.58%. The results of gene function annotation indicated that the genome of sequenced MRSA strains contains a large number of genes related to nutrient metabolism and environmental response, which may provide favorable conditions for their growth and reproduction in different environments. A total of 12-21 ARGs and 53-71 virulence genes were detected in the genomes from seven MRSA strains isolated from chicken. Phylogenetic tree analysis revealed that MRSA strains with different sequence types (ST) were in different branches, whereas MRSA strains with the same ST exhibited close evolutionary distance and indicated their close genetic evolutionary relationships. **Conclusion**

The genome of MRSA strains isolated from chicken harbors a considerable abundance of ARGs and virulence genes, posing a great threat to human health. Hence, continuous surveillance and effective measures are essential to attenuate MRSA contamination levels in poultry-derived products, thereby ensuring food safety.

【Key words】 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; whole genome sequencing; antibiotic resistance gene; virulence gene

***耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)是一种重要的多重耐药细菌,可引起严重的菌血症和其他感染性疾病,如心内膜炎、肺炎、脑膜炎和尿路感染等^[1]。在过去的几十年里,MRSA的耐药性不断增强,由其产生的抗

* **【基金项目】** 徐州市科技计划项目(No. KC18204)。

** **【通讯作者】** 李晨程, Email: ppzb111@163.com

李远宏, E-mail: lyh@xzhmu.edu.cn

【作者简介】 姜华(1985-),女,陕西白水人,实验师。主要研究方向:食源性致病微生物。E-mail: jh309@xzhmu.edu.cn

生素耐药性问题已成为全球关注的重要公共卫生问题之一^[2]。由于某些序列型的 MRSA 可从动物转移到人类,并可能带来相关的健康问题和经济损失,这也是食品行业需要面对的一个重要问题^[3]。此外,研究发现 MRSA 的环境适应能力强,而且其宿主特异性低,可广泛定殖于家禽体内,可通过食品加工、包装、运输和储存等环节进入食物链,严重威胁人类健康^[4]。鉴于 MRSA 引起疾病的潜在风险,在全基因组水平上了解 MRSA 的流行病学特征和分子进化规律对于预防由该菌引起的感染和保障食品安全具有重要意义。

近年来,随着测序技术的不断发展和测序成本的不断降低,基于全基因组测序(Whole genome sequencing, WGS)的分子分型技术在食源性疾病疫情爆发的识别和暴发溯源调查中已显示出极大的应用价值和潜力^[5-6]。目前,基于 WGS 开展的有关 MRSA 的研究主要集中于临床分离株上,用于毒力因子、ARGs 和致病岛的比较分析^[7],而对食品源 MRSA 菌株的分子遗传特征的研究尤为重要。为更好地了解鸡肉源 MRSA 菌株分子进化特征,本研究对 7 株鸡肉源 MRSA 菌株进行 WGS,分析不同菌株基因组的 ARGs 和毒力基因;构建基于 SNP 的系统发育进化树,为解析鸡肉源 MRSA 基因组多样性和分子进化等研究提供新的线索。

材料与方法

1 材料

1.1 菌株 7 株鸡肉源 MRSA (GWJR01 ~ GWJR07)分离自徐州市市售鸡肉样品,3 株参考菌株全基因 DNA 数据来自于 NCBI 数据库,具体信息见表 1。

表 1 MRSA 菌株信息

Table 1 The detailed information of MRSA strains used in this study

菌株 Strain	地区 Region	分类来源 Source	数据来源 Data sources	ST 型 ST types
GWJR01	江苏	鸡肉	本研究	ST72
GWJR02	江苏	鸡肉	本研究	ST7
GWJR03	江苏	鸡肉	本研究	ST59
GWJR04	江苏	鸡肉	本研究	ST7
GWJR05	江苏	鸡肉	本研究	ST9
GWJR06	江苏	鸡肉	本研究	ST398
GWJR07	江苏	鸡肉	本研究	ST9
ASM77	云南	猪场	NCBI 登录号:JAMYYD000000000	ST398
ASM87	山东	猪场	NCBI 登录号:JAMYYG000000000	ST9
ASM95	山东	猪场	NCBI 登录号:JAMYYJ000000000	ST9

1.2 主要仪器与试剂 5418 型小型高速离心机购于德国 Eppendorf 公司;NanoDrop 2000 型微量分光光度计购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司;GelDoc XR 型凝胶成像系统购于美国 BIO-RAD 公司。细菌

基因组 DNA 提取试剂盒购于美国 Omega 公司;胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)购自北京陆桥技术股份有限公司。

2 方法

2.1 细菌培养与 DNA 提取 将 7 株鸡肉源 MRSA 分离株分别划线接种于 TSA 固体培养基中 37 °C 培养 24 h。挑取单菌落接种于 TSB 培养基,于 37 °C 培养至对数生长期,采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(Omega, USA)提取基因组 DNA,利用微量分光光度计和 1 %琼脂糖凝胶电泳分析 DNA 样品的浓度、纯度及完整性。

2.2 全基因组测序 检测合格的基因组 DNA 样品送至华大基因公司,利用 DNBSEQ 平台测定 MRSA 的全基因组序列。对测序所得原始数据进行除杂处理后得到 Clean Reads,使用 SPAdes(v3.9.0)软件^[8]对 Clean Data 进行组装,得到的完整基因组序列用于生物信息学分析。

2.3 生物信息学分析 采用 Glimmer^[9]软件进行组装结果的基因预测。通过 RNAmmer^[10]软件预测 rRNA,通过 tRNAscan^[11]软件预测 tRNA 区域和 tRNA 的二级结构,通过 Infernal^[12]软件与 Rfam 数据库进行比对得到 sRNA。将基因的氨基酸序列与 KEGG、COG 数据库进行比对,得到对应的功能注释信息,同时基于碳水化合物活性酶数据库(CAZyme)进行碳水化合物酶类基因的功能注释。利用 CARD 数据库和 VFDB 数据库预测 MRSA 基因组中存在的 ARGs 和毒力基因。以 ST9 MRSA 菌株 BA01611 (NCBI: CP019945)为参考菌株,使用 CGE 的 CSI Phylogeny 1.4^[13]软件对 7 株 MRSA 基因组,以及 3 株中国 MRSA 主要流行株(ST9 和 ST398)进行 SNP 分析,并以此构建系统进化树。

结果

1 MRSA 基因组基本特征

7 株鸡肉源 MRSA 全基因组序列经 DNBSEQ 平台测序、拼接和组装后,其基本组成如表 2 所示。预测分析 7 株菌株基因组含有 2 499~2 735 个基因,基因组序列总长度为 2 718 931~2 896 998 bp,平均长度为 899 bp。编码基因占各自基因组序列的 83.13%~83.72%,基因 GC 含量在 33.51%~33.65%之间,低于 40%,属于具有较强 GC 偏好的基因组。此外,预测分析发现测序的 MRSA 菌株含有数量不等的非编码 RNA(tRNA、rRNA 和 sRNA),其中 sRNA 数量最多,达 71~87 个。其次为 tRNA,而 rRNA 数量较低,每个测序菌株仅含有 4~5 个。

表 2 7 株鸡肉源 MRSA 基因组特征
Table 2 Genomic characteristics of the seven MRSA strains from chicken

菌株 Strain	基因组大小 Genome size(bp)	基因数目 No. of genes	基因总长度 Total length of genes (bp)	基因平均长度 Average length of genes (bp)	编码区占比 Proportion of coding area(%)	GC 含量 GC content (%)	tRNA 数目 No. of tRNAs	rRNA 数目 No. of rRNAs	sRNA 数目 No. of sRNAs
GWJR01	2721918	2503	2270337	907	83.41	33.58	40	4	75
GWJR02	2829468	2633	2368851	900	83.72	33.55	37	4	73
GWJR03	2801129	2604	2328558	894	83.13	33.56	41	4	87
GWJR04	2829670	2623	2367456	903	83.67	33.55	33	4	72
GWJR05	2896998	2735	2417547	884	83.45	33.51	36	4	78
GWJR06	2718931	2499	2261205	905	83.17	33.65	38	5	71
GWJR07	2895016	2733	2417178	884	83.49	33.51	35	4	74

2 基因组注释和分析

利用 CAZy 数据库研究碳水化合物利用的基因组潜力,结果表明 7 株鸡肉源 MRSA 基因组中均包含糖苷水解酶(GHs)、糖基转移酶(GTs)、多糖裂解酶(PLs)、糖类酯解酶(CEs)、辅助功能(AAs)以及碳水化合物结合模块(CBMs)六大类碳水化合物酶(表 3)。其中 GH 含量最高,每株均包含 36~40 个;其次为 GT 在 32~34 个之间。PLs 含量最少,每株仅包含 1~2 个。

表 3 7 株鸡肉源 MRSA 的碳水化合物酶鉴定
Table 3 Identification of CAZymes of the seven MRSA strains from chicken

菌株 Strain	糖苷水解酶 GHs	糖基转移酶 GTs	多糖裂解酶 PLs	碳水化合物酯酶 CEs	辅助功能 AAs	碳水化合物结合模块 CBMs
GWJR01	36	33	1	4	2	15
GWJR02	37	32	2	4	2	16
GWJR03	38	33	2	4	2	15
GWJR04	37	32	2	4	2	16
GWJR05	40	33	1	4	2	16
GWJR06	36	34	2	4	2	15
GWJR07	40	33	1	3	2	16

注:表中数据为 CAZymes 数据库注释的碳水化合物酶类基因数量。

利用 COG 数据库对 7 株鸡肉源 MRSA 的蛋白质功能进行注释,结果表明 7 株 MRSA 基因组中被注释基因分别占各自基因组的比例为 78.94%(1976/2503)、77.4%(2038/2633)、77.07%(2007/2604)、77.62%(2036/2623)、74.8%(2046/2735)、79.31%(1982/2499)和 74.93%(2048/2733)。预测到的基因序列 COG 功能注释主要集中在 E(氨基酸转运和代谢)、J(翻译、核糖体结构与生物合成)、P(无机离子转运和代谢)、G(碳水化合物运输和代谢)、H(辅酶转运与代谢)、C(能源生产和转化)等蛋白质功能分类(表 4)。

采用 KEGG 数据库对 7 株鸡肉源 MRSA 全基因组的生物学功能进行系统注释,结果显示预测基因功能被分为 6 大类,分别是细胞过程、环境信息处理、遗传

信息处理、人类疾病、代谢和有机系统(表 5)。通过与 KEGG 数据库进行比对分析,代谢分支富集的基因最多,平均可达 1450 个,分布在 12 个通路上;其次为环境信息处理,平均富集了 210 个基因,分布在 5 个通路上;遗传信息处理平均富集了 174 个基因,分布在 4 条相关通路上;人类疾病平均富集到 158 个基因,分布在 11 个相关通路上;细胞过程和有机系统相关通路富集到的基因最少,分别平均富集了 86 和 40 个基因,包括 4 条和 6 条通路。

表 4 7 株鸡肉源 MRSA 基因组注释序列 COG 功能分类
Table 4 The COG function classification of the genome annotation sequence of the seven MRSA strains from chicken

编号 Code	COG 功能分类 COG Function category	GWJR 01	GWJR 02	GWJR 03	GWJR 04	GWJR 05	GWJR 06	GWJR 07
N	细胞运动	8	8	8	8	8	8	8
U	细胞内的转运、分泌和囊泡运输	25	25	25	25	25	25	25
D	细胞周期调控、细胞分裂、染色体分离	41	42	42	42	44	41	44
V	防御机制	56	61	58	61	60	49	60
O	翻译后修饰、蛋白质转换、分子伴侣	96	101	96	101	97	93	97
T	信号转导机制	97	97	99	97	98	96	98
M	细胞壁、细胞膜、细胞外膜生物合成	132	133	132	133	135	132	135
Z	细胞骨架	1	1	1	1	1	1	1
W	胞外结构	4	4	4	4	4	4	4
L	复制、重组和修复	103	112	108	112	112	104	113
K	转录	142	150	154	150	148	149	149
J	翻译、核糖体结构和生物合成	212	216	213	216	218	211	218
X	噬菌体原、转座子遗传	21	33	24	31	37	25	36
Q	次级代谢产物的合成、转运和代谢	31	29	29	29	30	31	31
F	核苷酸转运和代谢	83	87	83	87	85	83	85
I	脂质转运和代谢	100	104	103	104	104	102	104
C	能源生产和转化	107	109	108	109	109	110	109
H	辅酶转运和代谢	150	151	147	151	152	147	152
G	碳水化合物转运和代谢	159	160	160	160	165	162	165
P	无机离子转运和代谢	163	167	166	167	169	165	169
E	氨基酸转运和代谢	223	223	222	223	223	218	223
R	一般功能预测	171	178	173	178	179	170	179
S	未知功能	106	111	109	111	107	107	107

注:表中数据为 COG 数据库注释后获得的不同功能基因数目。

表 5 7 株鸡肉源 MRSA 基因组 KEGG 通路注释分类
Table 5 KEGG pathway annotation classification of the seven MRSA strains from chicken

菌株 Strain	代谢 Metabolism	环境信息处理 Environmental information processing	遗传信息处理 Genetic information processing	人类疾病 Human diseases	细胞过程 Cellular processes	生物系统 Organismal systems
GWJR01	1442	211	173	161	88	39
GWJR02	1456	211	175	156	90	41
GWJR03	1444	207	178	156	84	39
GWJR04	1456	211	175	156	90	41
GWJR05	1452	210	173	160	84	39
GWJR06	1448	210	173	156	83	39
GWJR07	1452	210	173	160	84	39

注:表中数据为 KEGG 数据库注释后获得的不同类型基因数目。

3 耐药基因分析

耐药基因预测分析显示 7 株鸡肉源 MRSA 基因组中含有大量的 ARGs, 数量在 12~21 种不等。其中菌株 GRJW05 和 GRJW07 基因组中含 ARGs 最多, 均携带 21 个 ARGs(表 6)。耐药基因注释分析显示, 所有测序菌株的基因组中均含有 10 个相同的 ARGs, 包括 2 个 β-内酰胺类 (*blaZ*、*mecA*)、3 个喹诺酮类 (*arlR*、*arlS*、*norA*)、3 个四环素类 (*mepA*、*mepR*、*tet* (38)), 以及 2 个多重耐药基因 (*LmrS*、*mgrA*)。部分耐药基因出现的频率较少, 只存在于少数 MRSA 菌株的基因组中, 例如氨基糖苷类耐药基因 *apmA* 仅存在于菌株 GRJW05 的基因组中, 磷霉素类耐药基因 *FosB6* 只存在于菌株 GRJW07 中。

表 6 7 株鸡肉源 MRSA 耐药基因分析
Table 6 Analysis of antimicrobial resistance genes of the seven MRSA strains from chicken

菌株 Strain	耐药基因数量 No. of resistance genes	耐药基因类别及数量 Types and No. of resistance genes
GWJR01	13	β-内酰胺类(3)、氨基糖苷类(1)、喹诺酮类(3)、磷霉素类(1)、四环素类(3)、多重耐药类(2)
GWJR02	12	β-内酰胺类(2)、氨基糖苷类(1)、大环内酯类(1)、喹诺酮类(3)、四环素类(3)、多重耐药类(2)
GWJR03	14	β-内酰胺类(3)、喹诺酮类(4)、磷霉素类(2)、四环素类(3)、多重耐药类(2)
GWJR04	12	β-内酰胺类(2)、氨基糖苷类(1)、大环内酯类(1)、喹诺酮类(3)、四环素类(3)、多重耐药类(2)
GWJR05	21	β-内酰胺类(2)、氨基糖苷类(4)、大环内酯类(1)、喹诺酮类(4)、磷霉素类(1)、四环素类(4)、多重耐药类(3)、甲氧苄啶类(1)、酰胺醇类(1)
GWJR06	12	β-内酰胺类(2)、喹诺酮类(3)、磷霉素类(2)、四环素类(3)、多重耐药类(2)
GWJR07	21	β-内酰胺类(2)、氨基糖苷类(3)、大环内酯类(1)、喹诺酮类(4)、磷霉素类(2)、四环素类(4)、多重耐药类(3)、甲氧苄啶类(1)、酰胺醇类(1)

4 毒力基因分析

毒力基因预测分析显示 7 株鸡肉源 MRSA 菌株基因组中含有 53~71 个数量不等的毒力基因, 其中外毒素类毒力因子数量最多, 每株均含有 20~28 个(表 7)。不同菌株间多数毒力基因相同, 其中 39 种毒力基因在全部测序的 MRSA 菌株基因组中均有检出。测序毒力基因可分为 6 种不同类型, 主要包括粘附类(如 *atl*、*clfA* 和 *clfB* 等)、外泌系统类(如 *esaA*、*esaB*、*esaC* 等)、毒素类(如 *hly*、*eta*、*sea*、*seb* 等)、胞外酶类(如 *splA*、*splB*、*coa* 等)、宿主免疫调节类(如 *chp*、*scn*、*sbi* 等)、生物膜类(如 *icaA*、*icaB*、*icaC* 等)。

5 系统发育分析

将 7 株鸡肉源 MRSA 分离株与 NCBI 已经公开的 3 株从猪场中分离得到的中国主要 MRSA 流行株的全基因组序列进行比对, 构建基于全基因组 SNP 的系统发育树, 结果如图 1。不同 ST 型菌株分别处于不

同的分支, 而相同 ST 型 MRSA 菌株的进化距离较近, 遗传进化关系较近。例如 2 株鸡肉源 ST 9 MRSA 菌株(GWJR05、GWJR07)与从猪场中分离得到的 ST 9 MRSA 菌株(ASM87、ASM95)居于同一分支, 而鸡肉源 ST398 MRSA 菌株与菌株 ASM77(ST398)位于同一分支。

表 7 7 株鸡肉源 MRSA 毒力基因分析
Table 7 Analysis of virulence genes of the seven MRSA strains from chicken

菌株 Strain	毒力基因数目 Number of virulence genes	毒力基因种类及数量 Types and number of virulence genes
GWJR01	71	粘附类(12)、外泌系统类(12)、毒素类(28)、胞外酶类(11)、宿主免疫逃逸类(3)、生物膜类(5)
GWJR02	68	粘附类(12)、外泌系统类(12)、毒素类(24)、胞外酶类(12)、宿主免疫逃逸类(3)、生物膜类(5)
GWJR03	57	粘附类(10)、外泌系统类(9)、毒素类(24)、胞外酶类(7)、宿主免疫逃逸类(3)、生物膜类(4)
GWJR04	68	粘附类(12)、外泌系统类(12)、毒素类(24)、胞外酶类(12)、宿主免疫逃逸类(3)、生物膜类(5)
GWJR05	62	粘附类(10)、外泌系统类(11)、毒素类(28)、胞外酶类(5)、宿主免疫逃逸类(3)、生物膜类(5)
GWJR06	53	粘附类(11)、外泌系统类(9)、毒素类(20)、胞外酶类(6)、宿主免疫逃逸类(3)、生物膜类(4)
GWJR07	61	粘附类(10)、外泌系统类(10)、毒素类(28)、胞外酶类(5)、宿主免疫逃逸类(3)、生物膜类(5)

Tree scale 0.07

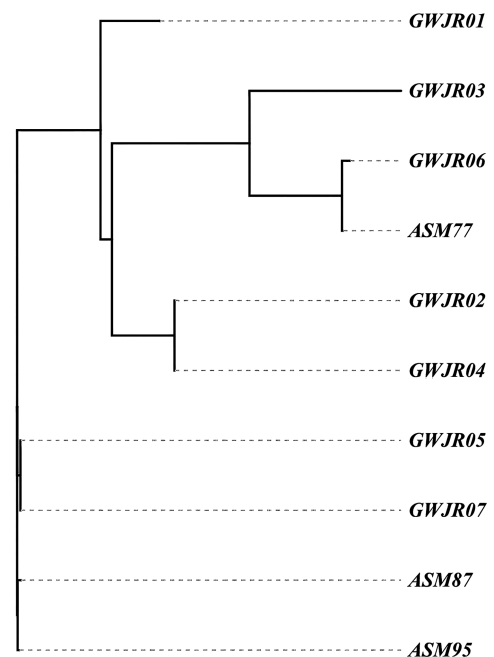


图 1 基于 MRSA 全基因组 SNP 构建的系统发育树
Fig. 1 Phylogenetic tree of MRSA strains based on whole genome SNP

讨论

在食品安全领域, WGS 在食源性疾病聚集性病例识别和暴发溯源调查中已显示出极大的应用价值和

发展潜力,越来越受到重视^[5-6]。本研究利用 WGS 技术分析 7 株鸡肉源 MRSA 的功能基因构成、ARGs、毒力基因以及分子遗传进化关系,丰富了畜禽产品中 MRSA 分子流行病学资料,为进一步阐明 MRSA 的致病机制研究提供了科学依据。

比较基因组学分析显示,7 株鸡肉源 MRSA 基因组在基因数量、基因总长度、基因平均长度、基因 GC 含量、编码区占比等均无显著差异,与既往报道的牛源 MRSA 和猪源 MRSA 基因组相似,进一步证实不同来源 MRSA 基因组具有高度的保守性^[14]。研究发现测序菌株基因组中携带较多数量的非编码 RNA,其中 sRNA 数量高达 70 个以上,平均约占总预测非编码 RNA 的 64.70%。这些小 RNA 参与转录水平和转录后水平调控基因表达,在 MRSA 的代谢、环境适应和毒力基因表达等方面可能起调节作用。

抗生素作为一种抗菌药物,因其可以预防和控制动物疾病、保护畜禽健康、显著促进动物生长、缩短饲养周期等作用而被广泛应用于畜禽养殖业。目前在畜禽饲养过程中主要使用 β -内酰胺类、四环素类、氨基糖苷类、磺胺类、喹诺酮类和大环内酯类等^[15] 六大类抗生素。这些抗生素的广泛使用可能导致耐药细菌不断涌现,对全球食品安全和公众健康构成严重威胁^[16]。Wang 等^[17]在我国东南部某大型集约化畜禽养殖场中检测出四环素类、磺酰胺类、喹诺酮类、氨基糖苷类和大环内酯类等 5 大类抗生素。沈聪等^[18]调查了宁夏养鸡场鸡粪和周边土壤中抗生素及 ARGs 分布,从鸡粪中检测到的 ARGs 主要为氨基糖苷类和四环素类耐药基因,并发现鸡场周边土壤中喹诺酮类抗生素含量明显增加。本研究测序的 7 株 MRSA 携带 12~21 个 ARGs,均含有 β -内酰胺类、喹诺酮类和四环素类耐药基因,以及大量的氨基糖苷类耐药基因,这些 ARGs 的形成可能与环境中存在的抗生素所产生的进化压力有关。值得注意的是,本研究中有 2 株(GWJR05 和 GWJR07)为多重耐药,其序列型与亚洲牲畜 MRSA 主要流行株序列型(ST9)一致,携带 ARGs 数量多达 21 个,而这些 ARGs 在一定环境中存在水平转移的风险,威胁人类健康。因此,合理使用抗生素并密切监测 MRSA 耐药性变化规律,对于保障食品安全具有重要意义。

金黄色葡萄球菌可产生多种毒力因子,如黏附素、酶和外毒素,并有多重机制可以逃避宿主的免疫反应。这些毒力因子往往是金黄色葡萄球菌引起疾病,导致器官损伤的重要因素^[19]。在已知的 MRSA 六类毒力因子中,本研究测序菌株的外毒素类毒力基因数量占比最高,其数量达 20~28 个,这可能与 MRSA 自身携带的外毒素类毒力基因种类较多有关。进一步分析发

现全部测序 MRSA 菌株均含有 4 种溶血毒素基因(α 、 β 、 γ 和 δ 溶血毒素基因),而一些毒力基因仅在部分菌株中发现,例如白细胞毒素 lukED 仅在 GWJR01、GWJR02 和 GWJR04 中检测到。此外,全部菌株均含有脱落性毒素(Exfoliative toxin A, eta),而 eta 可导致婴幼儿脱落性皮肤病,是导致新生儿葡萄球菌性烫伤皮肤综合征的重要因素^[20]。虽然 MRSA 测序菌株中编码经典肠毒素和新型肠毒素基因数量相对较少,但在本研究测序的 7 个 MRSA 菌株均含有 10~12 个编码金黄色葡萄球菌超抗原样蛋白基因,而该蛋白家族可介导 MRSA 实现免疫逃逸,从而导致 MRSA 感染^[21]。此外,预测结果表明每株 MRSA 均含有 4~5 个参与生物膜形成的基因,这些基因的表达也增加了 MRSA 的环境适应性^[22]。

本研究获得了 7 株鸡肉源 MRSA 的全基因组序列,并分析了 MRSA 基因组特征、毒力基因和 ARGs 特征,丰富了有关畜禽产品中 MRSA 研究的数据库信息,为 MRSA 的流行病学特征、致病性、耐药性研究,以及食源性致病菌的防控提供了参考依据。

【参考文献】

- [1] Gajdacs M. The continuing threat of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Antibiotics*,2019,8(2):52.
- [2] Wang B,Xu Y,Zhao H, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in China:a multicentre longitudinal study and whole-genome sequencing[J]. *Emerg Microbes Infect*,2022,11(1):532-542.
- [3] Silva V,Ara jo S,Monteiro A, et al. *Staphylococcus aureus* and MRSA in livestock: antimicrobial resistance and genetic lineages [J]. *Microorganisms*,2023,11(1):124.
- [4] Abolghait SK,Fathi AG,Youssef FM, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from chicken meat and giblets often produces staphylococcal enterotoxin B (SEB) in non-refrigerated raw chicken livers[J]. *Int J Food Microbiol*,2020,328:108669.
- [5] Chen Y,Sun L,Ba X, et al. Epidemiology, evolution and cryptic susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in China:a whole-genome-based survey[J]. *Clin Microbiol Infec*,2022,28(1):85-92.
- [6] 王多,陶晓霞,王文周,等. ST6 型金黄色葡萄球菌食物中毒菌株的毒力因子分析[J]. *中国病原生物学杂志*,2021,16(1):64-70,75.
- [7] Karki AB,Neyaz L,Fakhr MK. Comparative genomics of plasmid-bearing *Staphylococcus aureus* strains isolated from various retail meats[J]. *Front Microbiol*,2020,11:574923.
- [8] Li R,Zhu H,Ruan J, et al. De novo assembly of human genomes with massively parallel short read sequencing[J]. *Genome Res*,2010,20(2):265-272.
- [9] Delcher AL,Bratke KA,Powers EC, et al. Identifying bacterial genes and endosymbiont DNA with Glimmer[J]. *Bioinformatics*,2007,23(6):673-679.

- bacterial meningitis through down-regulating HMGB1[J]. Brain Res, 2021, 1770(1): 147611-147623.
- [7] Zhu K, Zhu X, Liu S, et al. Glycyrrhizin attenuates hypoxic-ischemic brain damage by inhibiting ferroptosis and neuroinflammation in neonatal rats via the HMGB1/GPX4 pathway[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022(1): 8438528-8438539.
- [8] Hu Z, Xiao M, Cai H, et al. Glycyrrhizin regulates rat TMJOA progression by inhibiting the HMGB1-RAGE/TLR4-NF- κ B/AKT pathway[J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(3): 925-936.
- [9] 万鸽, 曹杏, 李孟, 等. 柚皮素降低细菌性脑膜炎引起的神经炎症和神经元损伤[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2022, 31(1): 16-21.
- [10] Sun H, Hu H, Xu X, et al. Protective effect of dexmedetomidine in cecal ligation perforation-induced acute lung injury through HMGB1/RAGE pathway regulation and pyroptosis activation [J]. Bioengineered, 2021, 12(2): 10608-10623.
- [11] 景方坤, 李鹤一. miR-124 激动剂对细菌性脑膜炎大鼠小胶质细胞活化及 MAPK 通路的影响[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2021, 30(4): 12-16, 21.
- [12] Tsang RSW. A narrative review of the molecular epidemiology and laboratory surveillance of vaccine preventable bacterial meningitis agents: *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus agalactiae* [J]. Microorganisms, 2021, 9(2): 449-463.
- [13] Zheng K, He FB, Liu H, et al. Genetic variations of toll-like receptors: Impact on susceptibility, severity and prognosis of bacterial meningitis [J]. Infect Genet Evol, 2021, 93(1): 104984-104996.
- [14] Zhu Y, Ni H, Chen Q, et al. Inhibition of BRD4 expression attenuates the inflammatory response and apoptosis by downregulating the HMGB-1/NF- κ B signaling pathway following traumatic brain injury in rats [J]. Neurosci Lett, 2023, 812(1): 137385-137398.
- [15] Li YJ, Wang L, Zhang B, et al. Glycyrrhizin, an HMGB1 inhibitor, exhibits neuroprotective effects in rats after lithium-pilocarpine-induced status epilepticus [J]. J Pharm Pharmacol, 2019, 71(3): 390-399.
- [16] Caragheorgheopol R, Rucureanu C, Lazar V, et al. Cerebrospinal fluid cytokines and chemokines exhibit distinct profiles in bacterial meningitis and viral meningitis [J]. Exp Ther Med, 2023, 25(5): 204-217.
- [17] Mukai AO, Krebs VL, Bertoli CJ, et al. TNF-alpha and IL-6 in the diagnosis of bacterial and aseptic meningitis in children [J]. Pediatr Neurol, 2006, 34(1): 25-29.
- [18] Zhang Y, Jiang Y, Lu D. Diosmetin suppresses neuronal apoptosis and inflammation by modulating the phosphoinositide 3-Kinase (PI3K)/AKT/Nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway in a rat model of pneumococcal meningitis [J]. Med Sci Monit, 2019, 25(1): 2238-2245.
- [19] Fan H, Tang HB, Chen Z, et al. Inhibiting HMGB1-RAGE axis prevents pro-inflammatory macrophages/microglia polarization and affords neuroprotection after spinal cord injury [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 295-312.
- 【收稿日期】 2023-05-28 【修回日期】 2023-08-13
-
- (上接 1121 页)
- [10] Lagesen K, Hallin P, R dland EA, et al. RNAmmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes [J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35(9): 3100-3108.
- [11] Lowe TM, Eddy SR. tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence [J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25(5): 955-964.
- [12] Gardner PP, Daub J, Tate JG, et al. Rfam: updates to the RNA families database [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37: D136-D140.
- [13] Kaas RS, Leekitcharoenphon P, Aarestrup FM, et al. Solving the problem of comparing whole bacterial genomes across different sequencing platforms [J]. PLoS One, 2014, 9(8): e104984.
- [14] Zhou Y, Li X, Yan H. Genotypic characteristics and correlation of epidemiology of *Staphylococcus aureus* in healthy pigs, diseased pigs, and environment [J]. Antibiotics, 2020, 9(12): 839.
- [15] Gerard DW. Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic? [J]. Curr Opin Microbiol, 2010, 13(5): 589-594.
- [16] Pennone V, Prieto M, Alvarez-Ord ez A, et al. Antimicrobial resistance genes analysis of publicly available *Staphylococcus aureus* genomes [J]. Antibiotics, 2022, 11(11): 1632.
- [17] Wang J, Ben W, Yang M, et al. Dissemination of veterinary antibiotics and corresponding resistance genes from a concentrated swine feedlot along the waste treatment paths [J]. Environ Int, 2016, 92: 317-323.
- [18] 沈聪, 张俊华, 刘吉利, 等. 宁夏养鸡场粪污和周边土壤中抗生素及抗生素抗性基因分布特征 [J]. 环境科学, 2022, 43(8): 4166-4178.
- [19] Michal B, Benedykt W, Grzegorz D. Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus* [J]. Toxins, 2010, 2(5): 1148-1165.
- [20] Yamasaki O, Yamaguchi T, Sugai M, et al. Clinical manifestations of staphylococcal scalded-skin syndrome depend on serotypes of exfoliative toxins [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(4): 1890-1893.
- [21] Howden BP, Giulieri SG, Wong FT, et al. *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation [J]. Nat Rev Microbiol, 2023, 21(6): 380-395.
- [22] Maneesha KS, Raja B, Lalitha B. An update on recent developments in the prevention and treatment of *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. Int J Med Microbiol, 2018, 309(1): 1-12.
- 【收稿日期】 2023-05-30 【修回日期】 2023-08-11