

异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌的检测方法和耐药性分析

程华莉, 钱 璞, 朱 岚, 申卫红*

江南大学附属医院 检验科, 江苏 无锡 214041

摘要: 目的 研究比较异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌(hVISA)的几种筛查方法, 制定出适合的hVISA的筛查方法。方法 收集2018年1月—2019年12月江南大学附属医院临床标本中分离出的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌株(MRSA), 采用宏量E-test法(MET法)、BHIV3V、BHIV6V及MHA5T法筛查hVISA, 最后用菌群曲线分析法(PAP-AUC)确认, 比对4种筛查方法的敏感性及其特异性。结果 538株金黄色葡萄球菌经头孢西丁纸片法筛查出MRSA 266例, MRSA阳性率为49.4%; 266株MRSA中经PAP-AUC确认hVISA菌株为17株, 检出率为6.4%; MET法筛选出hVISA 21例, 其中确认hVISA菌株为14例, 敏感性为82.3%, 特异性为97.1%。BHIV6V法筛查出hVISA 2株, 确认均为hVISA, 敏感性为11.8%, 特异性100%。BHIV3V法筛查出hVISA 44株, 确认为hVISA菌株为11株, 敏感性为64.7%, 特异性86.7%。MHA5T法筛查出hVISA 56株, 确认hVISA为9株, 敏感性为52.9%, 特异性81.1%。MRSA除对利奈唑胺及万古霉素敏感外, 对多种抗菌药物表现为多重耐药。结论 本院MRSA检出率为49.4%, 高于全国耐药监测网统计数据。hVISA的检出率为6.08%, MET法在敏感性及其特异性方面优于其他3种方法, 此方法较适合在本院开展hVISA的筛查。检出的MRSA及hVISA除对利奈唑胺及万古霉素敏感外, 表现为多种抗菌药物的耐药性, 尤其是hVISA具有更高的耐药性, 临床治疗时应按照药敏结果选取治疗药物, 切勿随意进行经验性用药。

关键词: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌; 宏量E-test法; 菌群曲线分析法; 耐药性

中图分类号: R978 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)03-0605-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.03.038

Detection and drug resistance analysis of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*

CHENG Hua-li, QIAN Pu, ZHU Lan, SHEN Wei-hong

Department of Laboratory, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214041, China

Abstract: Objective To study several different screening methods of hVISA by contrast method, so as to find the hVISA screening method suitable for Affiliated Hospital of Jiangnan University. **Methods** Strains of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens in Affiliated Hospital of Jiangnan University from January 2018 to December 2019 were collected and screened by ceftiofene sensitive tissue method. *In vitro* antimicrobial susceptibility test was performed on clinically isolated MRSA by broth dilution method, and WHONET5.6 was used for analysis. hVISA was screened by MET、BHIV3V、BHIV6 and MHA5T, the sensitivity and specificity of the four methods were confirmed by PAP-AUC. **Results** 266 cases of MRSA were detected in 538 strains of *Staphylococcus aureus* by ceftiofene paper method, and the positive rate of MRSA was 49.4%. Among 266 strains of MRSA, 17 strains of hVISA were confirmed by PAP-AUC, with a detection rate of 6.4%. 21 cases of hVISA were screened by macro E-test, among which 14 cases were confirmed as hVISA strain, with sensitivity of 82.3% and specificity of 97.1%. Two hVISA strains were screened by BHIV6V method and confirmed to be hVISA, with a sensitivity of 11.8% and specificity of 100%. 44 hVISA strains were screened by BHIV3V method, and 11 strains were confirmed as hVISA strains, with a sensitivity of 64.7% and specificity of 86.7%. 56 hVISA strains were screened by MHA5T method, and 9 hVISA strains were confirmed with sensitivity of 52.9% and specificity of 81.1%. In addition to linezolid and vancomycin, MRSA shows multiple resistance to various antimicrobial agents. **Conclusion** The MRSA detection rate in Affiliated Hospital of Jiangnan University was 49.4%, higher than the national drug resistance monitoring

收稿日期: 2020-07-31

基金项目: 无锡市卫计委科研面上项目 (MS201813)

作者简介: 程华莉, 副主任技师, 研究方向为临床微生物耐药性分析。E-mail: 1194351706@qq.com

*通信作者: 申卫红, 副主任技师, 研究方向为临床微生物耐药性分析。E-mail: loveswh@163.com

network statistics. The detection rate of hVISA is 6.08%, and the macro E-test method is better than the other three methods in terms of sensitivity and specificity, which is more suitable for hVISA screening in Affiliated Hospital of Jiangnan University. In addition to linezolid and vancomycin, the detected MRSA and hVISA showed resistance to a variety of antimicrobial drugs, especially hVISA had higher resistance. In clinical treatment, treatment drugs should be selected according to drug sensitivity results, and do not use empirical drugs randomly.

Key words: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*; MET method; PAP-AUC; drug resistance

金黄色葡萄球菌是人类重要的致病菌,可引起局部化脓性感染和严重的全身性感染。抗生素的出现使得该菌的致病性大为降低。然而随着抗菌药物的广泛使用,金黄色葡萄球菌的耐药问题也日益严峻。1961年,在英国首次发现耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA)。1997年,日本报道发现对万古霉素敏感性降低的金黄色葡萄球菌菌株(VISA)。随后,2002年,美国发现2株对万古霉素高水平耐药的金黄色葡萄球菌(VRSA)。根据美国全国实验标准委员会(NCCLS)规定,万古霉素对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度(MIC) ≤ 2 mg/L为敏感, MIC ≥ 16 mg/L为耐药。把MIC介于4~8 mg/L范围的金黄色葡萄球菌称为耐万古霉素中介(VISA)^[1]。在VISA当中,有这样一类耐高水平万古霉素的被称为异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌(hVISA)。这些细菌母代菌株对万古霉素在敏感范围内MIC ≤ 2 mg/L,而子代却含有少量能在万古霉素浓度 ≥ 4 mg/L的BHI培养基中生长的耐药亚群,发生率为十万分之一。目前大多认为hVISA是VISA的前体,与万古霉素的治疗失败有关^[2]。因此,准确地检测出hVISA对提高MRSA的治疗成功率至关重要。江南大学附属医院始建于1929年,是一所集医疗、教学、科研、预防、保健、康复为一体的全国重点中西医结合医院,在江南地区具有较高的知名度。本研究主要是比较用4种方法筛查2018—2019年本院微生物室分离出的金黄色葡萄球菌中的hVISA,为选择筛查hVISA的方法提供参考依据,同时也对无锡市梁溪区临床分离的金黄色葡萄球菌的耐药趋势进行初步的分析,为解决临床金黄色葡萄球菌的耐药问题提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

538株金黄色葡萄球菌来自本院2018年1月—2019年12月临床分离标本(已剔除相同病人相同部位重复菌株)。其中162株来自烧伤科、85株来

自耳鼻咽喉科、50株来自眼科、40株来自神经外科,重症监护科、新生儿科各24株,甲乳外科16株、呼吸内科11株,其余126株分别来自脊柱外科、介入科等。分泌物标本305例,痰液79例,耳拭子64,全血23例,中段尿标本15例,其他标本52例。涉及的病例男性319例,女性219例。

1.2 细菌鉴定和药物敏感性试验

细菌鉴定使用法国生物梅里埃公司生产的细菌质谱分析仪(Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS),细菌药敏试验采用法国生物梅里埃公司VITEK 2 Compact全自动细菌鉴定及药敏仪器,相关操作严格按照《全国临床检验操作规程》^[3]进行,手工药物敏感性试验采用纸片扩散法(K-B)。质控菌株分别为金黄色葡萄球菌ATCC25923、ATCC29213、ATCC43300、ATCC700698,质控菌株均源于江苏省临床检验中心。万古霉素E-test试纸条(批号:1005027170)购自法国生物梅里埃公司。替考拉宁E-test试纸条(批号SG1208S1)、BHI琼脂粉、MHA琼脂粉购自温州市康泰生物科技有限公司。药物敏感试验的解释与判读按照2017年美国临床和实验室标准化协会(CLSI)^[4]推荐的药物敏感试验方法进行。

1.3 金黄色葡萄球菌的分离培养及鉴定

将标本接种于血琼脂培养基,置于35℃培养箱孵育16~18h,根据菌落形态、革兰氏染色、血浆凝固酶试验等试验,经法国生物梅里埃公司生产的细菌质谱分析仪鉴定为金黄色葡萄球菌。转种纯培养后用磁珠保存管中-80℃保存备用。

1.4 MRSA的检测

根据CLSI推荐方法^[5],采用头孢西丁纸片扩散法测定,调菌落悬液浓度为0.5麦氏单位,均匀涂布于MHA上,将含30 μ g头孢西丁纸片贴于培养基琼脂表面,33~35℃培养24h,按CLSI M100-S28标准:抑菌圈直径 ≥ 22 mm判断为甲氧

西林敏感金黄色葡萄球菌 (MSSA), 抑菌圈直径 ≤ 21 mm 判断为 MRSA。同时以金黄色葡萄球菌标准菌株 ATCC43300 作为阳性对照, ATCC25923 作为阴性对照。

1.5 hVISA 筛选与分离

1.5.1 菌群曲线分析法 (PAP-AUC) [6] 制备质量浓度分别为 0.5、1.0、2.0、2.5、4.0、8.0 mg/L 万古霉素的 BHI 平板; 将已知的 MRSA 菌株用 0.85% NaCl 制成 0.5 麦氏单位浊度菌悬液, 取 2 mL 加入 8 mL 胰蛋白胨大豆肉汤中 (TSB) 35 °C 培养过夜, 再将 3 种浓度的悬液 (原液、 1×10^{-3} 、 1×10^{-6} 稀释液) 用无菌 L 棒涂布于各种浓度的万古霉素 BHI 平板上, MU₃ (ATCC700698) 为阳性对照, 35 °C 培养 48 h。分别对 3 种浓度悬液接种的平板进行菌落计数, 选用单个菌落生长最好的平板, 采用相关软件进行菌落计数, 再乘以相应稀释倍数。应用 Graphpad Prism 软件绘制菌落数对数值对万古霉素浓度的曲线, 并计算曲线下面积 (AUC), 与 MU₃ 的 AUC 进行比较: $AUC_{\text{待检菌}}/AUC_{\text{MU}_3}$ 值为 0.9~1.3 判定为 hVISA, 比值 >1.3 为 VISA。

1.5.2 宏量 E-test 法 (MET 法) [7] 将 200 μ L 2.0 麦氏单位的菌液涂布于脑心浸液 (BHI) 平皿上, 贴上万古霉素及替考拉宁的 E-test 试纸条, 35 °C 培养 48 h。结果观察: 万古霉素 MIC ≥ 8 mg/L 且替考拉宁 MIC ≥ 8 mg/L 或替考拉宁 MIC ≥ 12 mg/L, 初判为 hVISA。

1.5.3 琼脂稀释法 (BHIV3V 法和 BHIV6V 法) [8] 分别将 10 μ L 0.5 麦氏单位浓度的菌液涂布于 3 mg/L

和 6 mg/L 万古霉素的 BHI 平板上, 35 °C 培养 48 h, 平板上有 2 个以上菌落生长初判为 hVISA。

1.5.4 MHA5T 法 [9] 将 10 μ L 2.0 麦氏单位浓度的菌液涂布于含 5 mg/L 替考拉宁的 MH 平板上, 35 °C 培养 48 h, 平板上有 1 个以上菌落生长初判为 hVISA。

1.6 统计学分析

使用 WHONET 5.6 软件对临床微生物标本的分布以及细菌耐药性进行相关统计分析。hVISA 筛选方法的敏感性和特异性分别按照公式 [10] 计算。

敏感性 = 真阳性数 / (真阳性数 + 假阴性数)

特异性 = 真阴性数 / (假阳性数 + 真阴性数)

2 结果

2.1 MRSA 的检测结果

538 株金黄色葡萄球菌经头孢西丁筛选出 MRSA 266 例, MRSA 阳性率为 49.4%。

2.2 hVISA 筛查结果分析

经头孢西丁筛选出的 266 株 MRSA 以 PAP-AUC 法作为金标准, 确认为 hVISA 的有 17 例。另将此 266 株 MRSA 分别用 4 种方法进行 hVISA 筛选。筛查结果如下: MET 法筛选出 hVISA 21 例, 经 PAP-AUC 确认 hVISA 菌株为 14 例, 敏感性为 82.3%, 特异性为 97.1%; BHIV6V 法筛选出 hVISA 2 株, 经 PAP-AUC 确认均为 hVISA, 敏感性为 11.8%, 特异性 100%; BHIV3V 法筛选出 hVISA 44 株, 经 PAP-AUC 确认 hVISA 菌株为 11 株, 敏感性为 64.7%, 特异性 86.7%; MHA5T 法筛选出 hVISA 56 株, 经 PAP-AUC 确认 hVISA 为 9 株, 敏感性 52.9%, 特异性 81.1%。结果见表 1。

表 1 4 种检测 hVISA 方法的敏感性及其特异性

Table 1 Sensitivity and specificity of four methods for detecting hVISA

方法	阳性数	真阳性数	假阳性数	真阴性数	假阴性数	敏感性/%	特异性/%
MET	21	14	7	242	3	82.3	97.1
BHIV3V	44	11	33	216	6	64.7	86.7
BHIV6V	2	2	0	249	15	11.8	100.0
MHA5T	56	9	47	202	8	52.9	81.1

2.3 MRSA 及 hVISA 科室和标本来源分布

2.3.1 金黄色葡萄球菌 (SA) 在医院各科室分布 538 株分离的 SA 各科室分布见表 2。SA 检出最多的科室是烧伤科, 共 162 株, 占 30.1%; 其次是耳鼻咽喉科, 共 85 株, 占 15.8%; 眼科 50 株, 占 9.2%; 神经外科 40 株, 占 7.4%, 重症监护室、新生儿科

各分离出 24 株, 各占 4.5%; 甲乳外科 16 株, 占 3.0%; 其余各科室均有检出, 总体以创面感染为主。538 株金黄色葡萄球菌菌株中, MRSA 检出率为 49.4%, 125 株来自烧伤科, 21 株来自重症监护室, 神经外科检出 28 株, 耳鼻咽喉科检出 13 株, 在临床各科室均有分布。MRSA 检出率最高的

表 2 金黄色葡萄球菌科室来源分布

Table 2 source distribution of *Staphylococcus aureus* in different departments

科室	SA/株	MRSA/株	MRSA 检出率/%	hVISA/株	hVISA 检出率/%
烧伤科	162	125	77.2	13	10.4
耳鼻咽喉科	85	13	15.3	0	0
眼科	50	9	18.0	0	0
神经外科	40	28	70.0	2	7.1
重症监护室	24	21	87.5	3	14.3
新生儿科	24	5	20.8	0	0
呼吸内科	11	8	72.7	1	12.5
甲乳外科	16	2	12.5	0	0
其他科室	126	55	43.7	0	0
合计	538	266	49.4	17	6.4

是重症监护室病房, 达 87.5%, 其次为烧伤科 77.2%, 呼吸内科检出率为 72.7%, 神经外科检出率为 70.0%, 其他科室 MRSA 检出率为 43.7%。hVISA 仅在烧伤科、重症监护室及神经外科有检出。

2.3.2 SA 在医院各标本来源分布 538 株分离的 SA 标本来源分布见表 3。538 株 SA 标本来源最多

的是分泌物标本 305 株, 占 51.9%; 其次为痰液 79 株, 占 14.7%; 64 株来源于耳拭子标本, 占 11.9%; 来源于全血 23 株占 4.3%; 其余标本 67 株, 占 12.4%。266 株 MRSA 主要来源于分泌物标本 158 株, 占 51.8%; 痰液标本 56 株, 占 21.1%; 耳拭子 12 株; 全血 18 株, 其他 22 株。hVISA 在分泌物、痰液、全血标本中均有检出。

表 3 金黄色葡萄球菌标本来源分布

Table 3 Sample source distribution of *Staphylococcus aureus*

标本	SA/株	MRSA/株	MRSA 检出率/%	hVISA/株	hVISA 检出率/%
分泌物	305	158	51.8	12	7.6
痰液	79	56	70.9	4	7.1
耳拭子	64	12	18.8	0	0
全血	23	18	78.3	1	5.6
其他	67	22	32.8	0	0
合计	538	266	49.4	17	6.4

2.4 MRSA 与 hVISA 药敏结果分析

药敏结果见表 4。266 株 MRSA 和 17 株 hVISA 对青霉素 G 的耐药率均为 100%, 266 株 MRSA 对苯唑西林、庆大霉素、利福平、环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星、复方新诺明耐药率分别为 100%、71.8%、44.7%、65.8%、40.6%、21.1%、13.9%, 耐药率较高。对奎奴普丁、利奈唑胺、万古霉素未有耐药株。17 株 hVISA 对苯唑西林、庆大霉素、利福平、环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星、复方新诺明的耐药率分别为 100%、88.2%、52.9%、70.6%、58.8%、41.2%、29.4%, 对利奈唑胺、万古霉素无

耐药。

3 讨论

MRSA 是院内感染的重要病原菌之一, 在院内感染中排名革兰阳性菌首位, 并且感染后病死率高。作为首选用药万古霉素问世后 40 余年鲜有耐药的报导, 但面临严重的药物选择压力, 越来越多的病例显示, 临床应用万古霉素治疗 MRSA 时, 会出现抗菌失败^[11]。目前全球范围内仅发现几例 VRSA, 但 VISA 以及 hVISA 的报道却越来越多, 尤其是 hVISA 给临床治疗 MRSA 带来了新的挑战。

表 4 MRSA 与 hVISA 对 13 种抗菌药物的耐药率比较

Table 4 Comparison of drug resistance rates of MRSA and hVISA to 13 antibiotics

抗菌药物	MRSA (n=266)		hVISA (n=17)	
	耐药/株	耐药率/%	耐药/株	耐药率/%
青霉素 G*	266	100.0	17	100.0
苯唑西林*	266	100.0	17	100.0
庆大霉素**	191	71.8	15	88.2
利福平	119	44.7	9	52.9
环丙沙星	175	65.8	12	70.6
左旋氧氟沙星	108	40.6	10	58.8
莫西沙星**	56	21.1	7	41.2
复方新诺明**	37	13.9	5	29.4
奎奴普丁*	0	0	0	0
呋喃妥因**	23	8.6	3	17.6
利奈唑胺*	0	0	0	0
四环素	163	61.3	11	64.7
万古霉素*	0	0	0	0

*常量, 无统计学意义; **采用 Fisher 精确概率法

*Constant, no statistical significance; **Fisher exact probability method was used

目前认为 hVISA 是 VISA 的前体, 其临床分离的原代菌株对万古霉素的 MIC 值均 ≤ 2 mg/L, 但其子代中却含有能在 4 mg/L 万古霉素琼脂平板上生长的亚群, 如果临床治疗 MRSA 时选用万古霉素, 那么在持续治疗一段时间后, 该亚群可逐渐被筛选出来, 甚至发展为 VISA, 可能导致万古霉素治疗失败^[12]。许多研究表明, 大多数 hVISA 发生在长期使用万古霉素治疗的 MRSA 患者中, 而本院筛查出的 hVISA 对应的均为长期住院且长期使用广谱抗生素的患者。

hVISA 在全球范围内检出率不尽相同, 据各文献显示临近各省市如上海地区 hVISA 检出率为 4.6%, 安徽地区 hVISA 检出率为 3.5%, 山东地区检出率为 5.9%。而离江苏较远的吉林地区 hVISA 的检出率为 12.5%^[13-14]。本研究从本院收集的 266 株 MRSA 中, 利用 PAP/AUC 方法, 最终检出 17 株, 检出率为 6.4%, 与临近各省基本持平。

hVISA 的变异率为 $\leq 1 \times 10^{-5}$, 按实验室在常规方法检测万古霉素敏感性时, 无法检测出 hVISA。hVISA 的遗传背景不够明确, 尚没有分子生物学方法用于 hVISA 的检测, 而表型检测对确诊 hVISA 又有一定的难度, CLSI 亦无针对 hVISA 的标准方法。目前公认 PAP-AUC 法为检测 hVISA 的金标准^[15],

但该方法操作复杂、耗时, 难以在临床实验室中常规开展。根据国内外的研究现状, 笔者选用几种较为简单及经济的方法进行 hVISA 的筛查, 再进行比较各方法的特异性和敏感性, 发现 MET 法有较高的敏感性和特异性, 分别为 82.3% 及 97.4%。而 BHIV3V 法敏感性为 64.7%, 特异性为 83.5%, 均低于 MET 法。BHIV6V 法敏感性不足 20%, 特异性达 100%, 会造成大量漏检。MHA5T 法敏感性和特异性均在 50%~80%, 均低于 MET 法。综合比较, MET 法的优点在于特异性和敏感性适中, 操作也较为简便, E-test 条也易于观察及标准化, 缺点是 E-test 条价格较贵, 成本高于另外 3 种方法。

本研究结果显示, MRSA 的检出率为 49.4%, 高于 CHINET 耐药监测网研究。分离的 266 株 MRSA 菌中对青霉素的耐药率高达 100%, 对利福平、庆大霉素、复方新诺明的耐药率较低。筛查出的 hVISA 耐药性明显高于普通 MRSA。两者均未检出万古霉素耐药菌株, 说明万古霉素治疗 MRSA 仍是相对安全及经济的选择, 但临床一定要注意并重视万古霉素敏感性下降的问题, 日常工作中, 当万古霉素临床治疗无效时, 一定要及时进行 hVISA 的筛查, 及时调整用药方案, 提高临床治疗 MRSA 的效率。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王 兵, 杨靖娴, 邵冬华, 等. 异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌的筛选和生物被膜形成能力的研究 [J]. 医学研究杂志, 2019, 11(48): 157-159.
- [2] 张卓然, 夏梦岩, 倪语星. 微生物耐药的基础与临床 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 281.
- [3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 第3版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 744-745.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* [S]. 2017: M100-S27.
- [5] 周庭银. 临床微生物学诊断与图解 [M]. 第3版. 上海: 上海科学技术出版社, 2012: 58.
- [6] 刘彩林, 明 亮. 异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌的流行性及 *mgrA* 基因对万古霉素耐药性影响的研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2020, 2(45): 175-180.
- [7] Sun W, Chen H, Liu Y, *et al.* Prevalence and characterization of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* isolates from 14 cities in China [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(9): 3642-3649.
- [8] 刘亚丽, 徐英春. 异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌: 困扰我们的难题 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(6): 495-498.
- [9] Howden B P, Davies J K, Johnson P D, *et al.* Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: Resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2010, 23(1): 99-139.
- [10] 王惠民. 临床实验室管理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2012: 289-290.
- [11] Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility [J]. *J Antimicrob Chemother*, 1997, 40(1): 135-136.
- [12] Fischer A, Yang S J, Bayer A S, *et al.* Daptomycin resistance mechanisms in clinically derived *Staphylococcus aureus* strains assessed by a combined transcriptomics and proteomics approach [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(8): 1696-1711.
- [13] 冯娜娜, 王 琴, 宋元林, 等. 异质性万古霉素中介的金黄色葡萄球菌感染发生率及相关危险因素分析 [J]. 中华内科杂志, 2013, 52(4): 318-322.
- [14] 孙闻嘉. 我国异质性万古霉素中介的金黄色葡萄球菌的发生率、分子流行病学及病例对照研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2008: 12.
- [15] 刘彩林, 陈中举, 孙自镛, 等. 湖北地区异质性万古霉素中介金葡菌的流行性及检测方法研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(1): 41-45.

[责任编辑 刘东博]