

文章编号: 1674-7054(2023)02-0138-07



临床分离粪肠球菌的毒力基因和 耐药基因检测及其耐药性研究

王 昕¹, 韩 语¹, 潘纪汶¹, 杨 诺¹, 郑立新²,
曾纪锋³, 郭桂英⁴, 郑继平¹

(1. 海南大学 生命科学学院, 海口 570228; 2. 海南大学 校医院, 海口 570228;
3. 海南大学 动物科技学院, 海口 570228; 4. 海南大学 理学院, 海口 570228)

摘要: 分离女性阴道中的粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*), 通过 PCR 和 Kirby-Bauer(K-B) 纸片扩散法探究其毒力基因、耐药基因及其耐药表型, 为揭示粪肠球菌感染机制及其临床治疗提供科学依据。结果表明: 从 157 个样品中共分离出 22 株粪肠球菌; 在这些粪肠球菌中: 毒力基因检出率为 *efaA* (100%)、*asa1* (90.9%)、*cylA* (90.9%)、*fsr* (90.9%)、*cpd* (90.9%)、*acm* (86.4%)、*gelE* (81.8%)、*esp* (68.2%)、*ace* (54.5%) 和 *hyl* (0); 耐药基因的检出率为 *vanA* (0)、*vanB* (0)、*vanC* (18.2%)、*aac* (40.9%)、*ant(6)-I* (59.1%)、*ermB* (68.2%)、*mefA* (54.5%)、*tetM* (72.2%) 和 *tem* (81.8%); 药敏结果显示粪肠球菌对万古霉素、呋喃妥因、利奈唑胺、替考拉宁敏感; 对其他抗菌药物具不同程度的耐药。由此得出, 阴道易受粪肠球菌感染, 体外实验支持糖肽类抗菌药物可用于粪肠球菌感染的临床治疗。

关键词: 粪肠球菌; 耐药性; 毒力基因; 耐药基因

中图分类号: R 446.5 **文献标志码:** A

引用格式: 王昕, 韩语, 潘纪汶, 等. 临床分离粪肠球菌的毒力基因和耐药基因检测及其耐药性研究 [J]. 热带生物学报, 2023, 14(2): 138-144. DOI: [10.15886/j.cnki.rdsxb.2023.02.001](https://doi.org/10.15886/j.cnki.rdsxb.2023.02.001)

女性阴道正常状态下存在大量的菌群, 这些阴道微生物与宿主之间保持着动态平衡, 而平衡的打破则会导致各种条件致病菌滋生, 继而引发感染, 如阴道炎、宫颈炎。在不同的报道中, 阴道炎患者的粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)检出率都处于较高的水平^[1-2], 且随着抗生素的广泛使用, 耐药性粪肠球菌也在不断增加。目前, 肠球菌(*Eenterococcus*)在临床上作为仅次于金黄色葡萄球菌的第二大类革兰氏阳性病原菌^[3], 而粪肠球菌则是肠球菌中检出率较高的菌种之一。肠球菌除了对一些临床常用抗生素如 β -内酰胺类、头孢菌素等固有耐药外, 还可通过交换质粒、转座子等

方式对大环内酯类、糖肽类、四环素类等产生新的获得性耐药, 这将对使用抗生素进行临床治疗带来很大的困难。除此以外, 肠球菌本身还具备多种毒力基因, 如: (1)*cylA* 是具有杀菌活性的双肽抗生素, 是激活细胞溶素的必要条件之一, 可裂解大量真核细胞和革兰氏阳性细胞; (2)*gelE* 是细胞外金属肽酶, 可水解明胶酶, 胶原蛋白, 血红蛋白和其他生物活性化合物, *fsr* 双组分系统可调控其基因表达; (3)*esp* 是参与免疫逃避的膜结合表面蛋白, 其分子量在肠球菌表面最大, 与感染有关; (4)*efaA* 是一种细胞壁粘附素; (5)*cpd* 是一种性信息素, 对人类白细胞有趋化作用; (6)*asa1* 是一种

收稿日期: 2021-10-18 修回日期: 2022-04-18

基金项目: 海南省基础与应用基础研究计划(自然科学领域)高层次人才项目(海口市科技局)(2019RC084); 海南省自然科学基金面上项目(321MS007)

第一作者: 王昕(1997-), 女, 海南大学 生命科学学院 2019 级硕士研究生. E-mail: 1638643950@qq.com

通信作者: 郑继平(1973-), 男, 博士, 教授. 研究方向: 病原微生物. E-mail: jiping.zheng@hainanu.edu.cn

具有凝集作用的蛋白,可起到增强粘附的作用;(7)*ace* 和 *acm* 是一种胶原结合蛋白,其可使肠球菌结合在宿主细胞的胶原蛋白上,完成定植,引发致病;(8)*hyl* 可产生具有侵袭性作用的透明质酸酶^[4-8]。这些毒力基因可使粪肠球菌通过黏附、定植以及逃避宿主免疫应答等引起一系列的感染^[4]。因此,本研究对从女性阴道分离的粪肠球菌进行毒力基因、耐药基因及其耐药性等方面的研究,以便为粪肠球菌的临床治疗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 阴道拭子样品 收集 2017 年 3 月至 2018 年 1 月海南大学附属医院妇科门诊 188 名临床女性患者阴道分泌物拭子(一次性使用无菌拭子)。

1.2 培养基 脑心浸出液(Brain heart infusion, BHI)培养基、法国科玛嘉链球菌显色培养基。

1.3 药敏纸片 万古霉素、青霉素、氨苄西林、红霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、庆大霉素、链霉素、四环素、利奈唑胺、替考拉宁、呋喃妥因、氯霉素,均购于杭州滨和微生物试剂有限公司。

1.4 试剂 革兰氏染色试剂盒购于南京建成科技有限公司; 2×F8 Fast Long PCR Master mix、2×A8 Fast HiFi PCR Master Mix、PCR 产物纯化回收试剂盒、DL2000 DNA Marker 均购于北京艾德莱生物科技有限公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒(Bacterial DNA Isolation Kit)购于北京华越洋生物科技有限公司。

1.5 细菌的分离与鉴定 医院用无菌拭子采集女性患者阴道后穹窿内分泌物,立即放入无菌管-4℃保存,随即转移至实验室。利用显色培养基接种菌株,将颜色显深蓝、浅紫色且镜检为链球状的单菌落接种于 5 mL BHI 液体培养基中 37℃培养 18~24 h,然后用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取细菌 DNA。以 DNA 为模板用 PCR 的方法进行 16S rRNA 鉴定,16S rRNA 引物序列为:F: AGAGTTTGATCCTGGCTCAG; R: CGGTTACCTTGTTACGACTT。反应体系见表 1。PCR 结果经琼脂糖凝胶电泳验证后,送往北京天一辉远公司进行测序,测序结果用 BLAST 进行序列比对,同源性>96%的结果判定为该菌株的鉴定结果。利用 MEGA X 软件,通过 1 000 个重复计算 Bootstrap 值,用邻接法制备了系统发育树,并与代表物种进

行了比较。从 NCBI 获得以下菌株的参考基因序列:*E. faecalis* 2358 (MT604811.1)、*E. faecalis* GX26 (KU937389.1)、*E. faecalis* 4358 (MT544896.1)、*Enterococcus durans* 98D (NR_036922.1)、*Enterococcus hirae* R (NR_037082.1)、*Enterococcus raffinosus* 1789-79 (NR_026499.1)、*Enterococcus pseudoavium* 47-16 (NR_028705.1)、*Enterococcus faecium* LMG-11423 (NR_042054.1)、*Enterococcus avium* E6844 (NR_028748.1)、*Enterococcus casseliflavus* NBRC 100478 (NR_104560.1)、*Staphylococcus aureus* ATCC12600 (NR_118997.2)、*Streptococcus agalactiae* ATCC13813 (NR_040821.1)。最终对分离到的粪肠球菌进行编号,对菌株分离时间、分离地点等信息进行记录。然后菌液与 30% 的甘油以 1:1 的比例存放于-80℃。

表 1 16S rRNA 反应体系

组分	加样量/μL
2×A8 Taq-PCR-MasterMix	12.5
F-16S rRNA	1.5
R-16S rRNA	1.5
DNA	1
ddH ₂ O	8.5
总反应体系	25

1.6 毒力基因的检测 参考文献 [9-12],对分离到的粪肠球菌进行 10 种毒力基因[肠球菌表面蛋白基因(*enterococcus surface protein, esp*)、辅助定植因子基因(*accessory colonization factor, ace*)、胶原蛋白结合粘附素基因(*adhesion of collagen, acm*)、明胶酶基因(*gelatinase, gelE*)、聚集性物质基因(*aggregation substance, asa1*)、细胞溶素基因(*cytolysin, cylA*)、双分子调控系统基因(*fsr*)、透明质酸酶基因(*Hyaluronidase, hyl*)、心内膜炎抗原基因(*endocarditis antigen, efaA*)、性信息素(*sex pheromones, cpd*)]的 PCR 扩增,引物详见表 2。

1.7 药敏试验 按照 Kirby-Bauer (K-B) 纸片扩散法进行药敏试验,统计实验菌株对抗菌药物的敏感性。以金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)ATCC25923 为药敏质控菌株,参照美国临床实验室标准委员会(NCCLS)最新标准进行实验。

表2 毒力基因引物序列

基因名称	引物序列	退火温度/℃	扩增片段长度 /bp	参考文献
<i>esp</i>	F-AGATTTTCATCTTTGATTCTTGG R-AATTGATTCTTTAGCATCTGG	56	510	[9]
<i>ace</i>	F-AAAGTAGAATTAGATCCACAC R-TCTATCACATTTCGGTTGCG	56	320	[10]
<i>acm</i>	F-GGCTAGTCGTTACAAATGAG R-ATTTTATTCTTTTGGATTTCAGTC	58	655	[11]
<i>gelE</i>	F-TATGACAATGCTTTTTGGGAT R-AGATGCACCCGAAATAATATA	56	213	[12]
<i>asa1</i>	F-GCACGCTATTACGAACTATGA R-TAAGAAAGAACATCACCACGA	56	375	[12]
<i>cylA</i>	F-ACTCGGGGATTGATAGGC R-GCTGCTAAAGCTGCGCTT	56	688	[12]
<i>fsr</i>	F-CGCCAGAGATTTACCTGACT R-ATGACGAAACATCGCTAGCTCT	56	218	[12]
<i>hyl</i>	F-ACAGAAGAGCTGCAGGAAATG R-GACTGACGTCCAAGTTTCCAA	56	276	[12]
<i>efaA</i>	F-CTACTAACACGTCACGAATG R-CGTGAGAAAGAAATGGAGGA	55	499	[12]
<i>cpd</i>	F-TGGTGGGTTATTTTTCAATTC R-TACGGCTCTGGCTACTA	56	782	[9]

1.8 耐药基因的检测 参考文献 [5,13] 对分离到的粪肠球菌进行 9 种耐药基因 [包括糖肽类耐药基因 *vanA*、*vanB*、*vanC*; 氨基糖苷类药物耐药基因 *aac(6)/aph(2)*、*ant(6)-I*; 大环内酯类耐药相关基因 *ermB*、*mefA*; 四环素类药物耐药基因 *tetM*、 β -内酰胺酶基因 *tem*] 的 PCR 扩增, 引物序列见表 3。

2 结果与分析

2.1 细菌的分离与鉴定 从 188 名女性阴道分泌物拭子分离出 157 株菌, 通过颜色(蓝色、浅紫色)、镜检(链球状)挑选符合粪肠球菌特征的 57 株菌进行 16S rRNA 鉴定。从 57 株临床标本菌株中得到 22 株粪肠球菌, 排除同一患者分离的相同菌株。以 16S rRNA 构建的支序图如图 1 所示。

2.2 临床标本分布情况 在 22 株粪肠球菌中, 10 株来自阴道炎患者, 5 株来自膀胱炎患者, 2 株来自尖锐湿疣患者, 1 株来自膀胱刺激症患者, 1 株来自白塞氏病患者, 1 株来自子宫内膜息肉患者, 1 株来自备孕人员, 1 株来自人流术后人员。这些菌株在这些人体内并没有交叉存在的情况。

2.3 毒力基因检测结果 以 DNA 为模板用 PCR 的方法进行毒力基因检测, 检测结果如图 2 所示。10 种毒力基因在粪肠球菌中有着很高的检出率, 除 *hyl* 未被检出外, 其余 9 种基因的检出率都在 50% 以上。依检出率由高到低依次是 *efaA* (100%, 22/22)、*asa1* (90.9%, 20/22)、*cylA* (90.9%, 20/22)、*fsr* (90.9%, 20/22)、*cpd* (90.9%, 20/22)、*acm* (86.4%, 19/22)、*gelE* (81.8%, 18/22)、*esp* (68.2%, 15/22)、*ace* (54.5%, 12/22)。

2.4 药敏试验结果 13 种抗生素的药敏纸片结果显示, 粪肠球菌对万古霉素、呋喃妥因、利奈唑胺、替考拉宁敏感性好, 对其他抗菌药物则均表现不同程度的耐药, 其中对链霉素和四环素的耐药率较高, 具体耐药率见表 4。

2.5 耐药基因检测结果 以 DNA 为模板用 PCR 的方法进行耐药基因检测, 9 种耐药基因在粪肠球菌中的检出结果如图 3 所示, 除了 *vanA* (0%)、*vanB* (0%) 和 *vanC* (18.2%) 有着较低的检出率外, 其余 6 种基因的检出率分别为 *aac(6)/aph(2)* (40.9%)、*ant(6)-I* (59.1%)、*ermB* (68.2%)、*mefA* (54.5%)、*tetM* (72.2%) 和 *tem* (81.8%), 其中四环素类耐药基因和 β -内酰胺酶耐药基因都有着很高的检出率。

表 3 耐药基因引物序列

基因名称	引物序列	退火温度/℃	扩增片段长度/bp	参考文献
<i>vanA</i>	F-GCTATTCAGCTGTACTC R-CAGCGGCCATCAATACGG	54	783	[5]
<i>vanB</i>	F-CATCGCCGTCCCCGAATTTCAAA R-GATGCGGAAGATACCGTGGCT	54	297	[5]
<i>vanC</i>	F-GGTATCAAGGAAACCTC R-CTCCGCCATCATAGCT	55	822	[5]
<i>aac(6)/aph(2')</i>	F-CCAAGAGCAATAAGGGCATA R-CACTATCATAACCACTACCG	58	535	[13]
<i>ant(6)-1</i>	F-ACTGGCTTAATCAATTTGGG R-GCCTTTCCGCCACCTACCG	58	597	[13]
<i>tetM</i>	F-GTGTGACGAACCTTACCGAA R-CCTGGTCAACTTGTGCAACTG	56	501	[13]
<i>ermB</i>	F-GAAAAGGTACTAAACCAAATA R-AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC	56	616	[13]
<i>mefA</i>	F-ACTATCATTAATCACTAGTGC R-TTCTTCTGGTACTAAAGTGG	58	346	[13]
<i>tem</i>	F-AGGAAGAGTATGATTCAACA R-CTCGTCGTTTGGTATGGG	51	535	[13]

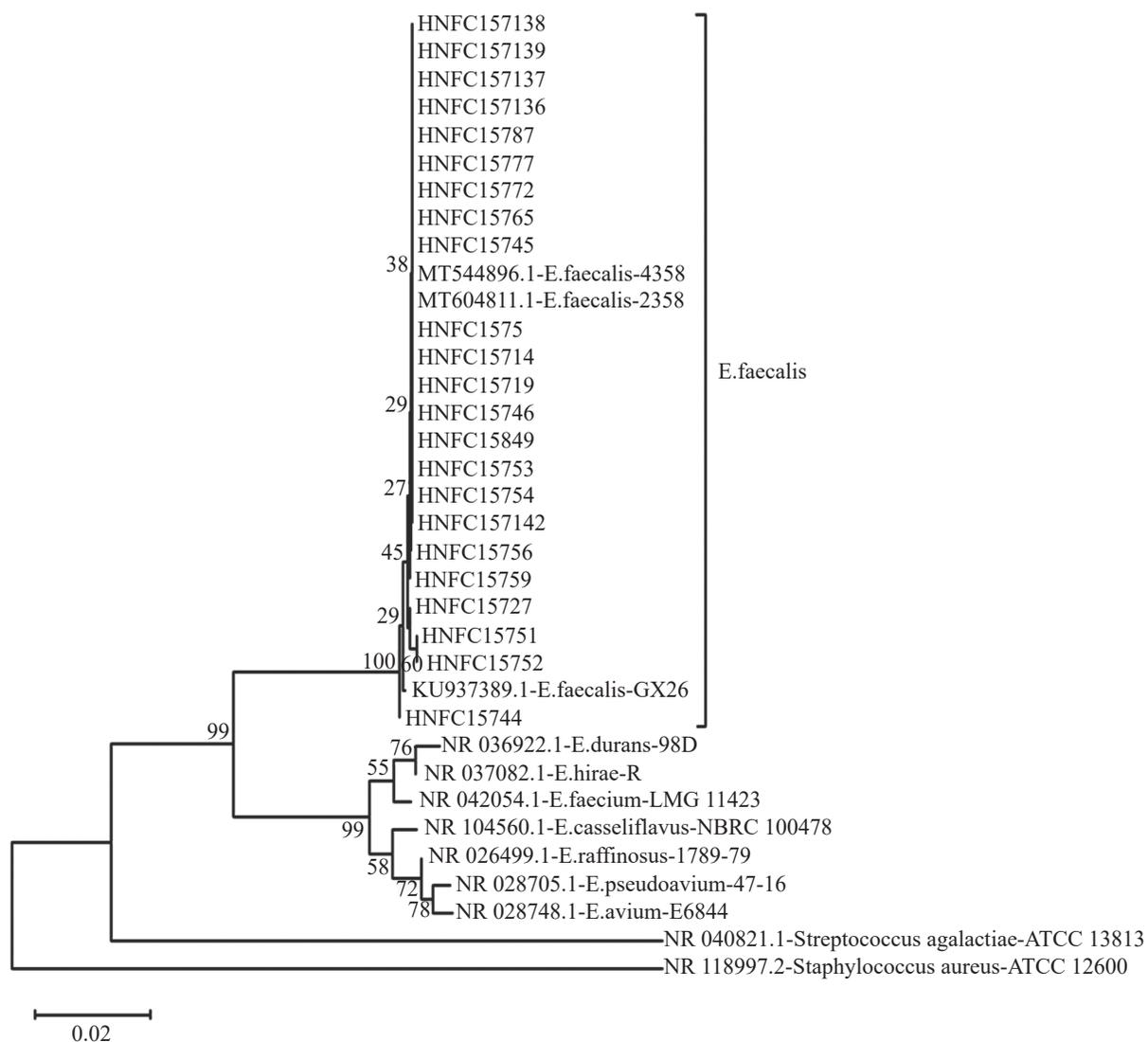


图 1 粪肠球菌支序图

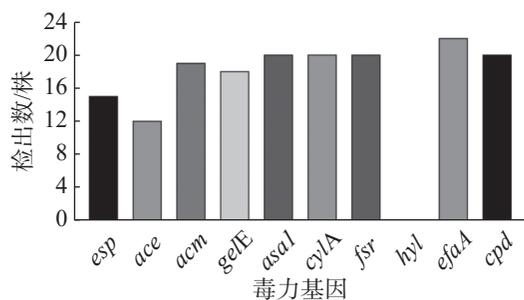


图2 粪肠球菌毒力基因结果

表4 粪肠球菌药敏纸片耐药率结果

药物名称	敏感		中介		耐药	
	n	%	n	%	n	%
万古霉素 Vancomycin	21	95.5	1	4.5	0	0
氨苄西林 Ampicillin	9	40.9	2	9.1	11	50
青霉素 Penicillin	5	22.7	8	36.4	9	40.9
红霉素 Erythromycin	3	13.6	6	27.3	13	59
四环素 Tetracycline	2	9.1	8	36.4	12	54.5
环丙沙星 Ciprofloxacin	14	63.6	2	9.1	6	27.3
左氧氟沙星 Levofloxacin	13	59.1	2	9.1	7	31.8
庆大霉素 Gentamicin	12	54.5	4	18.2	6	27.3
链霉素 Streptomycin	5	22.7	0	0	17	77.3
利奈唑胺 Linezolid	21	95.5	1	4.5	0	0
替考拉宁 Koalaranin	20	90.9	2	9.1	0	0
呋喃妥因 Nitrofurantoin	19	86.4	3	13.6	0	0
氯霉素 Chloramphenicol	15	68.2	1	4.5	6	27.3

注: S: 敏感; I: 中介; R: 耐药

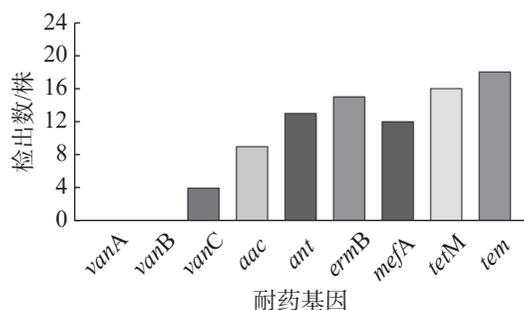


图3 粪肠球菌耐药基因结果

3 讨论

粪肠球菌是女性阴道中正常菌群之一,但当阴道黏膜受损时,就会导致这些条件致病菌群比例失调引起感染。由于在生理构造上十分接近,增强了细菌从阴道转移到泌尿道的可能,因此阴

道炎的产生在很大程度上会引起泌尿生殖系统疾病,尤其是尿路感染(UTI)^[14]。根据文献报道,粪肠球菌是引起尿路感染的主要病原菌^[15]。因此,研究该菌毒力基因、耐药基因及其耐药性的关系十分重要,可以为临床用药提供参考。近年来肠球菌毒力基因或潜在的毒力基因在粪肠球菌中的分布研究较多,不同来源、不同种粪肠球菌毒力基因检出率存在较大差异,可能是地区、人群、标本等不同造成的。22株来自海南大学附属医院分离的菌株中,其9种毒力基因的检出率均大于50%,仅有*hyl*基因未检出。22株粪肠球菌携带多重毒力基因,所有粪肠球菌可同时表达5种以上毒力,其中同时含8种毒力基因的粪肠球菌最多占40.9%,含5种毒力基因的菌株最少占9.1%,这个结果与祝进^[16]的研究结果相同。*esp*的检出率与许婧^[4]的研究结果相符,均在65%左右,且同样的*hyl*未被检出。*gelE*具有较高的检出率,这与Sharifi^[17]等的研究结果相同。*cylA*的检出率一般为40%,而本研究含*cylA*的粪肠球菌高达90.9%。祝进^[16]的研究样本来自浙江,*cylA*、*esp*和*gelE*的检出率分别为38.9%、52.2%和47.8%。白耀霞^[9]等的研究样本来自江苏,*cylA*、*esp*和*gelE*的检出率分别为30.77%、56.41%和58.97%。祝进^[16]与白耀霞^[9]等的研究相比,其毒力基因检出率很是接近。而本研究样本来源于海南,*cylA*和*gelE*的检出率比文献^[9,16]的检出率有较大的上升幅度,其他基因如*asaI*、*acm*、*cpd*和*efaA*和文献^[9,16]相比差别也很大。由此可以反映出,不同地区粪肠球菌毒力因子的检出率有较大的差异。*cpd*基因的存在有助于获得相关的性信息素质粒,可以获得相关的毒力和耐药决定因素。因此,笔者推测在本研究的分离株中存在多重耐药可能与*cpd*基因的高携带率有关^[6]。在本研究中*efaA*的检出率高达100%,这与Creti等^[5]的研究结果一致。Eaton^[7]等的研究表明,*efaA*基因始终存在于医学粪肠球菌分离物中,并且大多数(89%)来自食品的粪肠球菌菌株具有*efaA*决定因子,因此,以*efaA*为基因靶,可用于对粪肠球菌的分子检测。

随着抗生素的出现和使用,肠球菌的耐药性逐年升高,已成为主要致病菌。在本实验中,耐药表型与基因型相符程度很高,且81.8%的粪肠球菌携带2种以上耐药基因。自2005年以来,粪肠

球菌对氨苄西林的耐药率在国内呈现逐年下降的趋势,且维持在10%以下^[18]。在临床上, β -内酰胺类抗生素一直被用于治疗各种疾病。本研究中粪肠球菌对氨苄西林的耐药率高达50%,编码 β -内酰胺类的基因 *tem* 阳性率达81.8%,此结果暗示海南海口地区存在氨苄西林使用过度问题,导致该地区的粪肠球菌对氨苄西林的耐药性增强。因此,在之后的临床治疗中应根据药敏结果选择性使用 β -内酰胺类抗生素,以防止粪肠球菌选择性获得该耐药基因,给后续的治疗带来困难。氨基糖苷类抗生素,如庆大霉素整体呈现耐药率降低的现象^[19-21],本研究中庆大霉素的耐药率也处于较低的水平。除此以外,其他抗生素的耐药率都与国内现状基本相同。自1988年首次报道耐万古霉素肠球菌(VRE)后,在世界各地都陆续报道发现了耐药菌^[22-23]。VRE分为9个表型,*vanA*、*vanB*、*vanC*(C1, C2, C3)、*vanD*、*vanE*、*vanG*、*vanL*、*vanM*、*vanN*,其中*VanA*和*VanB*是临床上最常见的耐万古霉素基因型且有重要临床意义,且以*vanA*最常见^[24]。高VRE的存在给人类的健康带来了严重的威胁,并在部分地区引起较高的死亡率。在国内,除了台湾地区VRE检出率较高外,其余地区与世界水平相比,仍处于较低的水平^[18, 25]。在本试验中未检测到携有*vanA*和*vanB*的耐药基因菌株以及耐万古霉素和耐替考拉宁的菌株,这与其他人的研究结果相同^[19-20, 26],说明海口地区的粪肠球菌对糖肽类抗菌药物有着高度敏感性。因此,海口地区可采用万古霉素对粪肠球菌进行治疗,但要注意用量且及时检测,以防出现VRE。

本次研究从临床分离得到的22株粪肠球菌,其毒力基因检出率较高,耐药基因的检出与耐药表型结果基本符合。22株粪肠球菌对氨苄西林的耐药率与全国水平相比偏高,推测可能是与当地过度使用氨苄西林抗生素有关,应引起注意。但22株粪肠球菌对万古霉素、呋喃妥因、利奈唑胺和替考拉宁均无耐药情况,这为今后的临床治疗提供了一定的科学用药参考。

参考文献:

- [1] 梁喜娟,高琴,李淑玖.需氧菌性阴道炎及其混合感染的病原学分析及临床治疗[J].中国卫生产业,2014,11(26):157-158.
- [2] 周惠琴,赵胜.细菌性阴道炎病原菌种类及其耐药性分析[J].临床输血与检验,2002(4):38-39.
- [3] 胡付品,郭燕,朱德妹,等.2018年CHINET中国细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2020,20(1):1-10.
- [4] 许婧.临床分离肠球菌毒力基因分布特征的研究[D].沈阳:中国医科大学,2018.
- [5] CRETI R, IMPERI M, BERTUCCINI L, et al. Survey for virulence determinants among *Enterococcus faecalis* isolated from different sources [J]. *J Med Microbiol*, 2004, 53: 13-20.
- [6] WANG X, YANG Y, HUYCKE M M. Risks associated with enterococci as probiotics [J]. *Food Res Int*, 2020, 129: 108788.
- [7] EATON T J, GASSON M J. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(4): 1628-1635.
- [8] 钟建平,金法祥,王华钧,等.粪肠球菌临床分离株的毒力与耐药基因研究[J].中华临床感染病杂志,2018,11(4):297-301.
- [9] 白耀霞,任建元.70株临床分离肠球菌的毒力基因检测与耐药性分析[J].中国医药科学,2020,10(3):153-157.
- [10] 吴敏.粪肠球菌和屎肠球菌毒力基因、PAI相关基因及耐药性分析[D].广州:南方医科大学,2008.
- [11] 王瞳,万佳宏,常佳伟,等.宁夏地区牛源肠球菌分离鉴定及耐药性与毒力基因检测[J].中国兽医学报,2020,40(3):562-567.
- [12] 周娟,金东,卢珊,等.青藏高原牦牛携带屎肠球菌及其毒力基因和耐药性检测[J].中国人兽共患病学报,2015,31(4):298-302.
- [13] 李爽,张正.粪肠球菌与屎肠球菌药敏表型和耐药基因的比较[J].临床检验杂志,2005,23(3):174-176.
- [14] JAVED A, MANZOOR S. Comparative analysis of bacterial vaginosis microbiota among pregnant and non-pregnant females and isolation of phages against *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, and *Shigella flexneri* strains [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2020, 149: 104588.
- [15] 麦杏连,刘思瑶,陈旋,等.尿路感染粪肠球菌耐药性与耐药基因相关性研究[J].中华临床实验室管理电子杂志,2021,9(2):65-70.
- [16] 祝进,白永凤,陆军,等.粪肠球菌毒力基因及耐药性分析[J].放射免疫学杂志,2012,25(3):276-279.
- [17] SHARIFI Y, HASANI A, GHOTASLOU R, et al. Virulence and antimicrobial resistance in *enterococci* isolated from urinary tract infections [J]. *Adv Pharm Bull*, 2013, 3(1): 197-201.
- [18] 杨青,俞云松,林洁,等.2005-2014年CHINET肠球菌属细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2016,

- 16(2): 146 – 152.
- [19] 储赞军, 田彬. 粪肠球菌感染阴道炎 3 年耐药性变迁[J]. *天津医科大学学报*, 2005(1): 63 – 65.
- [20] 余竑敏, 苏婷婷, 谢康云, 等. 继发不孕患者阴道常见致病菌及耐药性分析[J]. *现代妇产科进展*, 2014, 23(12): 971 – 975.
- [21] 张丽琴, 肖九长, 李世云. 阴道分泌物的细菌分离鉴定及耐药性分析[J]. *实验与检验医学*, 2012, 30(4): 389 – 391.
- [22] LECLERCQ R, DERLOT E, DUVAL J, et al. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium* [J]. *The New England Journal of Medicine*, 1988, 319(3): 157 – 161.
- [23] UTTLEY A H C, COLLINS C H, NAIDOO I A, et al. Vancomycin-resistant *enterococci* [J]. *Lancet*, 1988, 1: 57 – 58.
- [24] 徐建国. 临床分离肠球菌耐药性、毒力基因及多位点序列分型研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [25] WANG J T, CHANG S C, WANG H Y, et al. High rates of multidrug resistance in *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* isolated from inpatients and outpatients in Taiwan [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2013, 75(4): 406 – 411.
- [26] 曾选. 8704 例孕妇产前阴道分泌物细菌培养及药敏试验结果分析[J]. *山东医药*, 2014, 54(7): 78 – 80.

Virulence genes, drug resistance genes and drug resistance of clinically isolated *Enterococcus faecalis*

WANG Xin¹, HAN Yu¹, PAN Jiwen¹, YANG Nuo¹, ZHENG Lixin²,
ZENG Jifeng³, GUO Guiying⁴, ZHENG Jiping¹

(1. School of Life Science, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 2. Hospital of Hainan University, Haikou, Hainan 570228;

3. College of Animal Science and Technology, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 4. College of Science, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: To reveal the pathogenesis of *Enterococcus faecalis* and provide scientific basis for clinical treatment, several strains of *E. faecalis* were isolated from female vagina and their virulence genes, resistance genes, and drug resistance were detected by using PCR and Kirby Bauer (K-B) disk diffusion. The results showed that 22 strains of *E. faecalis* were isolated from 157 samples. Of the 22 strains isolated, *efaA* was the most commonly found virulence gene (100%), followed by *asa1* (90.9%), *cytA* (90.9%), *fsr* (90.9%), *cpd* (90.9%), *acm* (86.4%), *gelE* (81.8%), *esp* (68.2%), *ace* (54.5%), and *hyl* (0), and the drug resistance genes detected were *vanA* (0), *vanB* (0), *vanC* (18.2%), *aac(6)/aph(2')* (40.9%), *ant(6)-I* (59.1%), *ermB* (68.2%), *mefA* (54.5%), *tetM* (72.2%), and *tem* (81.8%). Antibiotic susceptibility testing by the K-B disk diffusion method showed that the isolates were sensitive to vancomycin, nitrofurantoin, linezolid and koalaranin, but resistant to other antibiotics in different degrees. To sum up, vaginas are susceptible to *E. faecalis* infection, and experiment *in vitro* indicated that glycopeptide antibiotics were promising in the clinical treatment choice for *E. faecalis* infection.

Keywords: *Enterococcus faecalis*; drug resistance; virulence gene; drug resistance gene

(责任编辑:叶 静)