

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.08.01

2017 – 2021 年上海市动物源粪肠球菌、 屎肠球菌耐药性情况变迁分析

张 妤,孙冰清,姜 芹,顾 欣,吴雨珊,张文刚*,商 军*

(上海市动物疫病预防控制中心,上海 201103)

[收稿日期] 2022-03-31 [文献标识码]A [文章编号]1002-1280(2022)08-0001-09 [中图分类号]S852.61

[摘 要] 为了解上海地区动物源粪肠球菌、屎肠球菌对常见抗菌药物的耐药及其最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)变迁情况,采用微量肉汤稀释法对近五年采集的粪肠球菌、屎肠球菌进行 10 种常见抗菌药物敏感性测试。结果表明,458 株粪肠球菌及 283 株屎肠球菌对头孢西丁、头孢噻呋及氧氟沙星耐药率较高(均高于 60%),对青霉素、阿莫西林/克拉维酸及万古霉素的耐药率较低(均低于 11%),粪肠球菌耐药率整体高于屎肠球菌,两者对氧氟沙星、头孢噻呋、氟苯尼考、庆大霉素、利奈唑胺、恩诺沙星的耐药率存在较大差异(耐药率差异为 15%~44%)。五年间,粪肠球菌对阿莫西林/克拉维酸、氧氟沙星的 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 均呈下降趋势;屎肠球菌对阿莫西林/克拉维酸、头孢西丁及氟苯尼考的 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 均呈下降趋势。研究表明,近年来上海地区动物源粪肠球菌、屎肠球菌的耐药情况有好转趋势,仍需继续加强肠球菌耐药性监测。

[关键词] 肠球菌;抗菌药物;耐药性;最低抑菌浓度

Analysis on the Change of Drug Resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from Animals in 2017 – 2021 in Shanghai

ZHANG Yu, SUN Bing-qing, JIANG Qin, GU Xin, WU Yu-shan, ZHANG Wen-gang*, SHANG Jun*

(Shanghai Municipal Supervisory Institute Veterinary Drugs and Feedstuff, Shanghai 201103, China)

Corresponding author: ZHANG Wen-gang, E-mail: geligaori@163.com; SHANG Jun, E-mail: sjshvdc@163.com

Abstract: To understand the resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from animals to common antibiotics and the changes of minimum inhibitory concentration (MIC) in Shanghai, the micro broth dilution method was used to test the susceptibility of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* which collected in the past five years for 10 common antibacterial drugs. The results showed that 458 strains of *Enterococcus faecalis* and 283 strains of *Enterococcus faecium* were highly resistant to cefoxitin, ceftiofur and ofloxacin(all above 60%), low

基金项目:上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字(2015)第 6-3-1 号)
作者简介:张 妤,本科,助理畜牧师,从事动物源细菌耐药性研究。
通讯作者:张文刚,E-mail:geligaori@163.com;商 军,E-mail:sjshvdc@163.com

resistance to penicillin, amoxicillin/clavulanate, and vancomycin (all less than 11%). The drug resistance rate of *Enterococcus faecalis* was generally higher than that of *Enterococcus faecium*. The resistance rates of them to ofloxacin, ceftiofur, florfenicol, gentamicin, linezolid, and enrofloxacin were significantly different (the difference in the resistance rates was 15% ~ 44%). The MIC₅₀ and MIC₉₀ of *Enterococcus faecium* to amoxicillin/clavulanate, cefoxitin and florfenicol also showed a decreasing trend. Studies have shown that the drug resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from animals in Shanghai has improved in recent years, and it is still necessary to continue to strengthen the monitoring of drug resistance of *Enterococcus*.

Key words: *Enterococcus*; antibiotics; antibiotics resistance; changes of minimal inhibitory concentration

肠球菌(*Enterococcus*)属于革兰氏阳性球菌,广泛存在于土壤、植物以及人类和动物胃肠道中,是人类及动物肠道中常见菌群之一,也是条件致病菌,可引起人及动物多种疾病^[1-2]。肠球菌具有坚厚的细胞壁,对头孢菌素、氨基糖苷类等多种抗菌药物天然耐药,同时它可通过质粒、转座子、整合子-基因盒系统等方式从其他细菌获取耐药基因,从而产生获得性耐药^[3]。肠球菌属中较为常见的是粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)和屎肠球菌(*Enterococcus Faecium*)^[4]。粪肠球菌常被报道为致病性或潜在致病性细菌的耐药基因贮藏库^[5]。同时,肠球菌引起的感染病例中,屎肠球菌的感染比例呈现出上升趋势^[6]。中国细菌耐药监测网统计显示,医院临床病例中分离得到的肠球菌多重耐药现象十分严重^[7]。耐药肠球菌的产生增加了临床抗感染工作的难度,也逐渐成为一个重要的公共卫生问题。由于动物源肠球菌的耐药基因存在着可能通过养殖环节、屠宰环节及食物链等多种途径传播的风险,因此,对人类健康造成潜在威胁,给养殖业也带来风险。为了解近年来上海市动物源肠球菌耐药情况及 MIC(minimal inhibitory concentration)变迁情况,拟选择猪、鸡、牛养殖场为研究对象,对常见 10 种抗菌药物的耐药性进行监测与分析,并计算得到 MIC₅₀与 MIC₉₀。MIC 为最小抑制病原微生物生长的药物浓度,相对应的 MIC₅₀和 MIC₉₀分别指抑制 50%和 90%病原微生物生长的抑菌浓度,常用于衡量抗菌药物抵抗病原微生物的能力^[8]。因此,开展动物源粪肠球菌、屎肠球菌耐药性监测,可了解上海地区动物源肠球菌耐药性本底情况,

为抗菌药物使用的风险评估提供基础数据。通过比较五年间 MIC₅₀和 MIC₉₀的变迁情况,可掌握本市粪肠球菌及屎肠球菌对不同药物的耐药发展趋势,对遏制肠球菌耐药、保障公共卫生安全具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 458 株粪肠球菌及 283 株屎肠球菌,分离自 2017 ~ 2021 年自上海地区 21 家养殖场(2 家牛场、7 家鸡场、12 家猪场)的猪/牛肛门、鸡泄殖腔拭子,冻存于 -80 °C 冰箱。粪肠球菌标准菌株 ATCC 29212(美国菌种保藏中心)。

1.1.2 试剂与仪器 胰酪大豆胨琼脂培养基(tryptose soya agar, TSA)、阳离子调节 MH 肉汤(cationadjusted Mueller-Hinton broth, CAMHB)(青岛海博公司);0.9%生理盐水(121 °C 高压灭菌 30 min);冻干型革兰氏阳性菌药敏板,内含庆大霉素(gentamicin, GM)、阿莫西林/克拉维酸(amoxicillin, AMC)、青霉素(penicillin, P)、头孢西丁(cefoxitin, FOX)、头孢噻呋(ceftiofur, XNL)、氧氟沙星(ofloxacin, OFX)、恩诺沙星(enrofloxacin, ENR)、氟苯尼考(flорfenicol, FFC)、万古霉素(vancomycin, VA)、利奈唑胺(linezolid, LNZ)等 10 种抗菌药物(复兴诊断科技(上海)有限公司);比浊仪、Sensititre AIM 全自动菌液接种仪(赛默飞世尔科技(中国)有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 肠球菌抗菌药物敏感性测试 将冻存的肠球菌接种至 TSA 上,36 °C 培养 18 h,挑取 2 ~ 3 个新鲜培养的单菌落,置于 3 mL 灭菌生理盐水中,使用

比浊仪将细菌浓度调整至 0.48 ~ 0.52 麦氏单位,含菌量约为 1×10^8 CFU/mL,随后使用 CAMHB 进行 200 倍稀释,接种于含不同药物浓度的 96 孔冻干型细菌药敏板中,每孔 100 μ L,置于 36 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 18 h,分别设置阳性对照孔(加入待测菌液)、阴性孔(加入无菌 CAMHB)。同时使用粪肠球菌 ATCC 29212 进行药敏测定作为质控。

1.2.2 结果判读 自培养箱中取出药敏板,置于衬有黑底板的光线下肉眼观察结果。依据美国临床和实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)的相应标准对抗菌药物敏

感性结果进行判读,判读标准如表 1 所示。S (Susceptible)是指细菌对抗菌药敏感,当 MIC 值小于表 1 中抗菌药物临床折点判断标准所示值时,则判为 S;R (Resistance)是指细菌对某种抗菌药耐药,当 MIC 值大于表 1 中抗菌药物临床折点判断标准所示值时,则判为 R;I (Intermediate)是指细菌对抗菌药中度敏感,当 MIC 值为表 1 中抗菌药物临床折点判断标准所示区间或者不为 S 或 R 时,则判为 I^[9]。药敏板上阴性对照孔内应无细菌生长,液体未见浑浊;阳性对照孔内有细菌生长,液体浑浊,且质控菌株的 MIC 值在规定的范围内,则药敏板结果有效。

表 1 肠球菌对常见抗菌药物的折点判断标准和质控菌株 MIC 范围

Tab 1 Break point criteria of <i>Enterococcus</i> against common antibiotics and MIC range of quality control strains					
抗菌药物种类 Type of antibiotics	抗菌药物 Antibiotics	折点判断标准 Breakpoint / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)			ATCC 29212 质控菌株 MIC 范围 MIC range of quality control strains/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
		S	I	R	
	P	≤ 0.12	—	≥ 0.25	1 ~ 4
β -内酰胺类/青霉素类	XNL	≤ 4	2	≥ 8	—
	FOX	≤ 4	—	≥ 8	—
	AMC	≤ 4	—	≥ 8	0.25 ~ 1
β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂	ENR	≤ 0.5	1 ~ 2	≥ 4	0.12 ~ 1
	OFX	≤ 2	—	≥ 4	1 ~ 4
氟喹诺酮类					
唑烷酮类	LNZ	≤ 4	—	≥ 8	1 ~ 4
糖肽类	VA	≤ 2	4 ~ 8	≥ 16	1 ~ 4
氯霉素类	FFC	≤ 2	4	≥ 8	0.12 ~ 0.5
氨基糖苷类	GM	≤ 4	8	≥ 16	0.12 ~ 1

“—”,表示没有相应判断标准
“—” means that there is no corresponding judgment standard

2 结果与分析

2.1 肠球菌耐药率比较 结果显示,粪肠球菌及屎肠球菌均对头孢西丁(99.6%,95.4%)、氧氟沙星(93.0%,59.8%)及头孢噻唑(89.3%,65.4%)的较为耐药;对青霉素(4.8%,10.6%)、阿莫西林/克拉维酸(0.4%,2.8%)较为敏感;未分离到耐万古霉素的肠球菌。两种肠球菌对氟苯尼考(59.8%,24.2%)、庆大霉素(56.1%,12.0%)、利奈唑胺(48.3%,4.9%)、恩诺沙星(33.2%,17.3%)的耐药率存在较大差异,且粪肠球菌比屎肠球菌更为耐药。动物源粪肠球菌及屎肠球菌对 10 种抗菌药物的耐药率结果见图 1 所示。

2.2 肠球菌 MIC 变迁情况

2.2.1 β -内酰胺类抗菌药物 2017 - 2021 年 β -内酰胺类药物对粪肠球菌的 MIC 值见表 2、表 3。五年间,头孢噻唑 MIC₅₀ 保持在 32 μ g/mL, MIC₉₀ 在 2017 年有所上升后,近年来呈下降趋势;阿莫西林/克拉维酸 MIC₅₀ 2017 年由 2 μ g/mL 下降至 0.5 μ g/mL 后均保持在该水平,同时 MIC₉₀ 呈下降趋势,由 16 μ g/mL 下降至 1 μ g/mL。

青霉素、苯唑西林、头孢西丁对粪肠球菌的 MIC 值均较为稳定,其中青霉素 MIC₅₀ 保持在 4 μ g/mL, MIC₉₀ 虽比 2017、2018 年有所上升,但整体仍保持在 4 μ g/mL;粪肠球菌对苯唑西林及头孢西丁有较高耐药,五年间,苯唑西林 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 均为 ≥ 4 μ g/mL, 苯唑西林 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 均为 ≥ 128 μ g/mL。

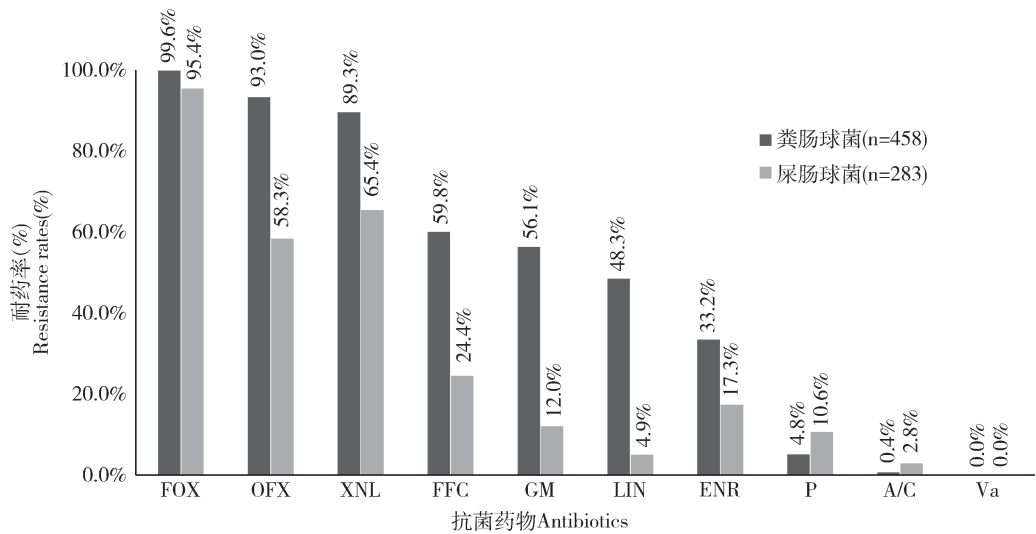


图 1 粪肠球菌及屎肠球菌对 10 种抗菌药物的耐药率

Fig 1 The resistance rates of *E. faecalis* and *E. faecium* to 10 kinds of antibiotics

表 2 2017 – 2021 年头孢噻呋及阿莫西林/克拉维酸对粪肠球菌 MIC 值 ($\mu\text{g/mL}$)

年份 Year	样本量 Numbers	头孢噻呋 Ceftiofur		阿莫西林/克拉维酸 Amoxicillin/clavulanate potassium	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
2017	100	32	64	2	16
2018	80	64	256	0.5	1
2019	107	32	128	0.5	1
2020	79	32	128	0.5	0.5
2021	92	32	64	0.5	1

表 3 2017 – 2021 年青霉素及头孢西丁对粪肠球菌 MIC 值 ($\mu\text{g/mL}$)

年份 Year	样本量 Numbers	青霉素 Penicillin		头孢西丁 Cefoxitin	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
2017	100	4	4	> 128	> 128
2018	80	4	8	> 128	> 128
2019	107	4	8	> 128	> 128
2020	79	4	4	> 128	> 128
2021	92	4	4	> 128	> 128

2017 – 2021 年 β – 内酰胺类药物对屎肠球菌的 MIC 值见表 4、表 5。五年间,青霉素、阿莫西林/克拉维酸的 MIC₅₀ 均较为稳定, MIC₉₀ 均呈下降趋

势,其中青霉素 MIC₅₀ 保持在 4 ~ 8 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 由 256 $\mu\text{g/mL}$ 下降至 4 $\mu\text{g/mL}$; 阿莫西林/克拉维酸 MIC₅₀ 保持在 0.25 ~ 0.5 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 由 64 $\mu\text{g/mL}$ 下降至 1 $\mu\text{g/mL}$ 。

苯唑西林对屎肠球菌的 MIC 值较为稳定, MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 均保持在大于 4 $\mu\text{g/mL}$; 而头孢噻呋及头孢西丁的耐药性变化趋势较为相似,其中头孢噻呋的 MIC₅₀ 于 2018 年下降至 4 $\mu\text{g/mL}$, 2019 年有所上升, 2021 年下降至 32 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 2018 年下降至 128 $\mu\text{g/mL}$ 后又再次回升至 256 $\mu\text{g/mL}$; 头孢西丁 MIC₅₀ 于 2019 年有所上升, 后由 32 $\mu\text{g/mL}$ 下降至 16 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 由大于 128 $\mu\text{g/mL}$ 下降至 32 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 4 2017 – 2021 年青霉素及阿莫西林/克拉维酸对屎肠球菌 MIC 值 ($\mu\text{g/mL}$)

年份 Year	样本量 Numbers	青霉素 Penicillin		阿莫西林/克拉维酸 Amoxicillin/clavulanate potassium	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
2017	51	8	256	2	64
2018	77	4	256	0.5	16
2019	43	2	4	0.25	1
2020	44	4	8	0.5	2
2021	68	4	4	0.25	0.5

表 5 2017 – 2021 年头孢噻呋及头孢西丁
对屎肠球菌 MIC 值 ($\mu\text{g/mL}$)

Tab 5 MIC values of ceftiofur and cefoxitin against <i>E. faecium</i> ($\mu\text{g/mL}$)					
年份 Year	样本量 Numbers	头孢噻呋 Ceftiofur		头孢西丁 Cefoxitin	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
2017	51	64	> 256	64	> 256
2018	77	64	> 256	64	> 256
2019	43	4	128	4	128
2020	44	64	> 256	64	> 256
2021	68	32	256	32	256

2.2.2 氟喹诺酮类抗菌药物 2017 – 2021 年氟喹诺酮类药物对粪肠球菌的 MIC 值见表 6。五年间, 恩诺沙星的 MIC₅₀ 处于较低水平保持在 1 ~ 2 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 则保持在大于 64 $\mu\text{g/mL}$; 氧氟沙星的 MIC₅₀ 由 16 $\mu\text{g/mL}$ 降为 4 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 于 2020 年由 256 $\mu\text{g/mL}$ 降为 64 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 6 2017 – 2021 年恩诺沙星及氧氟沙星对
粪肠球菌 MIC 值 ($\mu\text{g/mL}$)

Tab 6 MIC values of enrofloxacin and ofloxacin against <i>E. faecalis</i> ($\mu\text{g/mL}$)					
年份 Year	样本量 Numbers	恩诺沙星 Enrofloxacin		氧氟沙星 Ofloxacin	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
2017	100	2	> 64	16	256
2018	80	2	> 64	8	256
2019	107	2	> 64	8	256
2020	79	1	> 64	4	256
2021	92	1	> 64	4	64

2017 – 2021 年氟喹诺酮类药物对屎肠球菌的

MIC 值见表 7。五年间, 恩诺沙星及氧氟沙星的 MIC₅₀ 均处于较低水平, 恩诺沙星保持在 0.5 ~ 2 $\mu\text{g/mL}$, 氧氟沙星保持在 2 ~ 4 $\mu\text{g/mL}$; MIC₉₀ 均于 2017 年有所上升, 恩诺沙星上升至 64 $\mu\text{g/mL}$, 氧氟沙星上升至 256 $\mu\text{g/mL}$, 两者近年来均处于下降趋势, 恩诺沙星为波动下降, 2021 年降为 4 $\mu\text{g/mL}$, 氧氟沙星于 2017 年上升至 256 $\mu\text{g/mL}$, 后下降至 8 $\mu\text{g/mL}$ 保持至今。

表 7 2017 – 2021 年恩诺沙星及氧氟沙星对
屎肠球菌 MIC 值 ($\mu\text{g/mL}$)

Tab 7 MIC values of enrofloxacin and ofloxacin against <i>E. faecium</i> ($\mu\text{g/mL}$)					
年份 Year	样本量 Numbers	恩诺沙星 Enrofloxacin		氧氟沙星 Ofloxacin	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
2017	51	0.5	4	4	16
2018	77	2	64	4	256
2019	43	1	4	4	8
2020	44	1	32	4	8
2021	68	1	4	2	8

2.2.3 氨基糖苷类、氯霉素类、糖肽类、唑烷酮类抗菌药物 2017 – 2021 年庆大霉素、氟苯尼考、利奈唑胺及万古霉素对粪肠球菌的 MIC 值见表 8。五年间, 庆大霉素的 MIC₅₀ 为上升趋势, MIC₉₀ 均保持在大于 2048 $\mu\text{g/mL}$; 氟苯尼考 MIC₅₀ 保持在 32 ~ 64 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 为下降趋势, 由 128 $\mu\text{g/mL}$ 下降至 64 $\mu\text{g/mL}$; 利奈唑胺的 MIC₅₀ 保持在 4 ~ 8 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 保持在 8 $\mu\text{g/mL}$; 万古霉素的 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 五年来均较为稳定, 期间略有浮动, MIC₅₀ 保持在 1 $\mu\text{g/mL}$, MIC₉₀ 保持在 2 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 8 2017 – 2021 年庆大霉素、氟苯尼考、利奈唑胺及万古霉素对粪肠球菌 MIC 值 ($\mu\text{g/mL}$)

Tab 8 MIC values of gentamicin, florfenicol, linezolid and vancomycin against <i>E. faecalis</i> ($\mu\text{g/mL}$)									
年份 Year	样本量 Numbers	庆大霉素 Gentamicin		氟苯尼考 Florfenicol		利奈唑胺 Linezolid		万古霉 Vancomycin	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
2017	100	16	> 2048	16	128	4	8	1	2
2018	80	128	> 2048	16	128	2	8	1	2
2019	107	16	> 2048	64	128	8	8	1	4
2020	79	32	> 2048	32	64	4	8	1	2
2021	92	32	> 2048	64	64	8	8	2	2

2017–2021 年庆大霉素、氟苯尼考、利奈唑胺及万古霉素对屎肠球菌的 MIC 值见表 9。五年间,庆大霉素的 MIC₅₀ 为下降趋势,由 8 μg/mL 下降至 4 μg/mL, MIC₉₀ 于 2018 年上升至 512 μg/mL,近年来为波动下降,2021 年下降至 8 μg/mL;氯霉素类抗菌药物氟苯尼考 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 均为下降趋势,

MIC₅₀ 由 64 μg/mL 下降至 2 μg/mL, MIC₉₀ 由 128 μg/mL 下降至 4 μg/mL;利奈唑胺的 MIC₅₀ 保持在 2 μg/mL, MIC₉₀ 由 8 μg/mL 降为 2 μg/mL;万古霉素的 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 五年来均较为稳定, MIC₅₀ 保持在 0.5 ~ 1 μg/mL, MIC₉₀ 保持在 1 ~ 2 μg/mL。

表 9 2017–2021 年庆大霉素、氟苯尼考、利奈唑胺及万古霉素对屎肠球菌 MIC 值 (μg/mL)

Tab 9 MIC values of gentamicin, florfenicol, linezolid and vancomycin against <i>E. faecium</i> (μg/mL)									
年份 Year	样本量 Numbers	庆大霉素 Gentamicin		氟苯尼考 Florfenicol		利奈唑胺 Linezolid		万古霉 Vancomycin	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
2017	51	8	32	64	128	2	8	1	2
2018	77	8	512	2	128	2	8	0.5	2
2019	43	4	16	2	32	2	2	0.5	1
2020	44	4	128	2	64	2	4	0.5	1
2021	68	4	8	2	4	2	2	0.5	1

3 分析与讨论

肠球菌是人与动物肠道正常的栖息菌,近年来逐渐证实具有致病能力,临床上可引起严重的感染和疾病,如心内膜炎、菌血症、泌尿系统等,也可感染鸡、鸭、猪、牛、羊、水产品等多种食品动物,导致疾病发生^[10–14]。动物源肠球菌的耐药基因可通过养殖环境、食物链等传递给人。此外,有研究表明,耐药肠球菌的耐药基因可在质粒等移动元件介导水平传播给其他病原菌,给人类健康和公共卫生带来威胁^[15]。

3.1 肠球菌耐药性比较 整体看来,上海地区动物源粪肠球菌耐药性比屎肠球菌更为严重。粪肠球菌和屎肠球菌均对 β-内酰胺类抗菌药物中的头孢类药物有高耐药率(65% ~ 99%),这可能与肠球菌对头孢类药物具有固有耐药性有关^[16],这也与河南地区李金磊等^[17]、东北地区李延山等^[18]的结果一致;两者对青霉素、阿莫西林/克拉维酸敏感,耐药率较低(均低于 15%),与东北地区李延山等^[18]的结果一致,但四川地区张国明等^[19]、宁夏地区王文等^[20]的研究均显示肠球菌对青霉素均较为耐药(均高于 50%),这可能与养殖场用药有关,说明肠球菌的耐药情况存在着地域差异;根据喹诺酮

类药物的耐药结果,两者均对氧氟沙星更为耐药(58% ~ 93%),对恩诺沙星更为敏感(17% ~ 34%),与新疆地区陈万昭等^[21]的研究结果一致;根据氨基糖苷类及氯霉素类药物的耐药结果,粪肠球菌更为耐药,对庆大霉素(56.1%)及氟苯尼考(59.8%)的耐药率均高于屎肠球菌(庆大霉素 12.0%,氟苯尼考 24.2%)。

值得注意的是,粪肠球菌对利奈唑胺的耐药率为 48.3%,屎肠球菌为 4.9%。利奈唑胺是治疗由多重耐药革兰氏阳性菌包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐万古霉素肠球菌(VRE)引起严重感染的重要药物^[22],而养殖场治疗用药中并无利奈唑胺。由于利奈唑胺是一种细菌蛋白质合成抑制剂,抑制蛋白质合成的初始阶段,不影响翻译起始 tRNA 的形成、延伸与终止阶段,和以往抗菌药物抑制蛋白合成的作用方式不同^[23],因此,利奈唑胺与其他抗菌药物不易发生交叉耐药,在体外也不易诱导细菌产生耐药^[24]。故造成上海地区动物源粪肠球菌利奈唑胺较高耐药率的原因可能有二:一是其自身发生了 23S rRNA V 区突变,此突变为最主要的耐药机制,且粪肠球菌比屎肠球菌更容易被诱导突变^[25];二是耐药基因发生转移,如氯霉素

- 氟甲砜霉素耐药 (cfr) 基因 (可能来自于耐氟苯尼考的菌株)、cfr (B) 基因及 *optrA* 基因, 该类耐药多通过外源性质粒介导^[24]。研究表明, 动物源肠球菌很可能作为耐药基因的贮存库, 成为 *cfr*、*cfr* (B)、*optrA* 基因等耐药基因的潜在来源, 通过耐药基因的克隆扩增或水平转移在环境中传播^[26-27]。本研究未发现耐万古霉素肠球菌 (VRE), 但仍应严格控制药物的使用, 避免交叉耐药, 防止 VRE 的出现。

随着养殖业的快速发展, 开展动物源性食品的耐药性风险评估势在必行, 耐药率本底情况为耐药性风险评估计算中不可或缺的一部分^[28], 本研究结果为细菌耐药性风险评估提供了数据支撑。

3.2 肠球菌 MIC 变迁分析 根据 MIC 变迁结果, 2017 ~ 2021 年上海地区动物源粪肠球菌对阿莫西林/克拉维酸、氧氟沙星的 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 均呈下降趋势; 庆大霉素的 MIC₅₀ 为上升趋势, MIC₉₀ 五年来无明显改变, 但肠球菌对氨基糖苷类药物具有天然耐药性^[29-30], 美国临床和实验室标准化协会 (CLSI) 建议将肠球菌在氨基糖苷类药物上的耐药程度分为中度耐药和高度耐药, 庆大霉素为目前已知的高水平耐药^[31]; 对利奈唑胺耐药率较高, 但其 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 五年来无明显改变, MIC₉₀ 为 8 μg/mL, 非高浓度抗菌药物耐药; 对其余 6 种抗菌药物的 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 五年来无明显改变, 其中, 对青霉素、万古霉素均保持敏感。2017 ~ 2021 年上海地区动物源屎肠球菌对阿莫西林/克拉维酸、头孢西丁及氟苯尼考的 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 均呈下降趋势; 青霉素、恩诺沙星、氧氟沙星、利奈唑胺的 MIC₅₀ 五年来无明显改变, MIC₉₀ 呈下降趋势, 说明高浓度耐药菌数量有所下降; 对其余 4 种抗菌药物的 MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 五年来无明显改变, 其中庆大霉素、头孢噻唑 MIC₉₀ 均处于较高水平耐药, 万古霉素处于敏感。

上海地区动物源肠球菌除对阿莫西林/克拉维酸、青霉素、万古霉素较为敏感之外, 对多种抗菌药物均有较高的耐药率, 不同肠球菌属细菌对同一抗菌药物存在不同程度的耐药现象。五年间, 肠球菌对头孢西丁、青霉素、阿莫西林/克拉维酸、恩诺沙

星、氧氟沙星及利奈唑胺存在不同程度耐药性下降趋势, 耐药情况有好转趋势, 除对庆大霉素、头孢噻唑有天然耐药性外^[29-30], 其余 3 种抗菌药物 MIC 变迁无明显改变, 耐药性无下降趋势。因此仍需进一步加强对抗菌药物的规范使用及动物源肠球菌的耐药性监测, 在进行治疗用药时, 应根据不同肠球菌属合理选择抗菌药物, 合理轮换用药, 进一步遏制动物源细菌耐药性的产生。

上海地区动物源肠球菌对多种抗菌药物具有不同程度的耐药, 粪肠球菌耐药性整体高于屎肠球菌。五年来, 整体耐药情况有好转趋势, 仍需继续加强肠球菌耐药性监测。

参考文献:

- [1] 王丹, 林志强, 阮永春, 等. 2396 株肠球菌属细菌的临床分布及耐药性变迁 [J/OL]. 中国抗生素杂志; 1-6 [2022-03-22].
Wang D, Lin ZQ, Ruan YC, *et al.* Clinical distribution and antibiotic resistance of 2396 *Enterococcus* isolates [J/OL]. *Chin J of Antibiotics*; 1-6 [2022-03-22]
- [2] 刘燕霏, 杨建德, 赵瑞利. 粪肠球菌动物致病的研究进展 [J]. 家畜生态学报, 2013, 34 (11): 75-77.
Liu YF, Yang JD, Zhao RL, Research Prog of animal diseases caused by *Enterococcus faecalis* [J]. *J of Domest Animal Ecol*, 2013, 34 (11): 75-77.
- [3] 周芷锦, 穆琳, 王彬. 动物源肠球菌耐药性研究进展 [J]. 中国畜禽种业, 2020, 16 (11): 47-50.
Zhou ZJ, Mu L, Wang L. The research Prog on drug resistance of *Enterococcus* of animal origin [J]. *The Chin Livest and Poultry Breeding*, 2020, 16 (11): 47-50.
- [4] Rodrigues JL, Poeta P, Martins A, *et al.* The importance of pets as reservoirs of resistant *Enterococcus* strains, with special reference to vancomycin [J]. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 2002, 49 (6): 278-280.
- [5] Van D B A E, Stobberingh E E. Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. [J]. *Int J of antimicrob agents*, 2000, 14 (4): 327-35.
- [6] Asgharzadeh M S, Valadan R, Gholami M, *et al.* Survey on antimicrobial resistance and virulence-related genes in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* collected from hospital environment in the north of Iran [J]. *Gene Reports*, 2021, 24
- [7] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2020 年 CHINET 中国细菌耐药监

- 测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(04): 377-387.
- Hu PF, Guo Y, Zhu DM, *et al.* CHINET surveillance of bacterial resistance: results of 2020 [J]. China J Infect Chemother, 2021, 21(04): 377-387.
- [8] 葛平, 潘云华, 徐蓉, 等. 1998 年美国 NCCLS 抗生素最小抑菌浓度(MIC)测定法规介绍[J]. 检验医学, 1998, (3): 3-5.
- Ge P, Pan YH, Xu R, *et al.* Introduction of minimal inhibitory concentration (MIC) of antibiotics in NCCLS of USA in 1998 [J]. Lab Med, 1998, (3): 3-5.
- [9] 木易. 如何解读细菌学检验报告[J]. 中国抗感染化疗杂志, 2005, (2): 128.
- Mu Y. How to interpret bacteriology test report[J]. Chin J Infection and Chemotherapy, 2005, (2): 128.
- [10] 朱娜, 夏宇飞, 张磊, 等. 湖南健康猪源与流行性腹泻病猪肠球菌毒力基因检测分析[J]. 中国预防兽医学报, 2017, 39(3): 196-200.
- Zhu N, Xia YF, Zhang L, *et al.* Detection and analysis of Enterococcus virulence gene from health and porcine epidemic diarrhea virus infected of swine in Hunan [J]. Chin J of Prev Vet Med, 2017, 39(3): 196-200.
- [11] 张欣, 李博, 闫金坤, 等. 雏鸡屎肠球菌感染的病原学与分子生物学诊断交流[J]. 动物医学进展, 2018, 39(5): 124-128.
- Zhang X, Li B, Yan JK, *et al.* Etiological and molecular biological diagnoses of Enterococcus faecium infection in chicks [J]. Prog in Vet Med, 2018, 39(5): 124-128.
- [12] 莫奉乙, 赵克华, 杨恩忠, 等. 浅谈龙陵黄山羊羔羊痢疾的发生与防治措施[J]. 畜禽业, 2015(4): 66.
- Mo FY, Zhao KH, Yang EZ, *et al.* A talk on the occurrence and control measures of dysentery of goat and lamb in Longling Huangshan [J]. Livest and Poultry Ind, 2015(4): 66.
- [13] 蔡金山, 阚威, 赵兴绪, 等. 利用 RFLP 分型方法鉴定牛源性链球菌和肠球菌[J]. 中国预防兽医学报, 2016, 38(6): 467-470.
- Cai JS, Kan W, Zhao XX, *et al.* Identification of Streptococcus spp. and Enterococcus spp. from mastitic dairy cows by restriction fragment length polymorphism analysis [J]. Chin J of Prev Vet Med, 2016, 38(6): 467-470.
- [14] 肖何, 张艳, 王永瑞, 等. 新疆阿勒泰冷水鱼屎肠球菌耐药性及耐药机理研究[J]. 生物技术通报, 2018, 34(10): 143-149.
- Xiao H, Zhang Y, Wang YR, *et al.* Antibiotic resistance and resistance mechanism in Enterococcus faecium from cold-water fish in Aletai Prefecture of Xinjiang [J]. Biotechnol Bull 2018, 34(10): 143-149.
- [15] Zhu YG, Johnson T A, Su J Q, *et al.* Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chin swine farms [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(9): 3435-3440.
- [16] Singh K V, Murray B E, Differences in the Enterococcus faecalis *isa* locus that influence susceptibility to quinupristin-dalfopristin and clindamycin [J]. Antimicrob Agents and Chemotherapy, 2005 (No. 1): 32-39.
- [17] 李金磊, 董鹏, 狄元冉, 等. 河南省部分地区猪和鸡源粪肠球菌的分离鉴定与耐药性分析[J]. 动物医学进展, 2018, 39(04): 122-127.
- Li JL, Dong P, Di YR, *et al.* Isolation, identification and antimicrobial resistance analysis of enterococcus faecalis from swine and chicken in some areas of Henan Province [J]. Prog in Vet Med, 2018, 39(04): 122-127.
- [18] 李延山, 李欣南, 韩镌竹, 等. 东北地区动物源粪肠球菌耐药性监测与分析[J]. 现代畜牧兽医, 2018(02): 42-47.
- Li YS, Li XN, Han JZ, *et al.* Monitoring and analysis of drug resistance of Enterococcus faecalis in northeast China [J]. Mod J of Animal Husbandry and Vet Med, 2018(02): 42-47.
- [19] 张明国, 张涛, 邓向东, 等. 四川省凉山州健康奶牛粪便源细菌的分离及耐药性检测[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(02): 97-99.
- Zhang MG, Zhang T, Den XD, *et al.* Isolation and drug resistance detection of bacteria from feces of healthy dairy cows in Liangshan, Sichuan Province [J]. Heilongjiang Animal Sci and Vet Med, 2016(02): 97-99.
- [20] 王文. 宁夏地区肠球菌耐药性分析及其耐药机制研究[D]. 宁夏医科大学, 2014.
- Wang W. The analysis of drug resistance and research on resistance mechanisms of isolates of Enterococcus in Ningxia [D]. Ningxia Med U, 2014.
- [21] 陈万昭, 陈月月, 易海波, 等. 新疆动物源粪肠球菌的耐药性分析与耐药基因检测[J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(02): 110-119.
- Chen WZ, Chen YY, Yi HB, *et al.* Drug resistance analysis and drug resistance gene detection of Enterococcus faecalis isolated from animals in Xinjiang [J]. J China Agr U, 2022, 27(02): 110-119.
- [22] 夏晴, 吕梅, 李庆蓉, 等. 利奈唑胺耐药肠球菌感染危险因素及耐药机制分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(01): 23-29.
- Xia Q, Lu M, Li QR, *et al.* Risk factors for and the mechanism underlying linezolid-resistant Enterococcus infection [J]. Chin J of Infection and Chemotherapy, 2022, 22(01): 23-29.

- [23] Long K S, Vester b. Resistance to linezolid caused by modifications at its binding site on the ribosome[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(2):603
- [24] 李 培, 林东昉. 肠球菌对利奈唑胺耐药机制研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2018, 18(03):341–344.
Li P, Lin D F. Research updates on the mechanisms of linezolid resistance in Enterococcus[J]. Chin J of Infection and Chemotherapy, 2018, 18(03):341–344.
- [25] Prystowsky J, Siddiqui F, Chosay J, *et al.* Rdsistance to linezolid; characterization of mutations in rRNA and comparison of their occurrences in vancomycin – resistant enterococci [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(7):2154.
- [26] Elghaieb H, Freitas A R, Abbassi M S, *et al.* Dispersal of linezolid – resistant enterococci carrying poxtA or optrA in retailmeat and food – producing animals from Tunisia[J]. J Antimicrob Chemother, 2019, 74(10):2865–2869.
- [27] Park K, Jeong Y S, Chang J, *et al.* Emergence of optrAmediated linezolid – nonsusceptible Enterococcus faecalis in a tertiary care hospital[J]. Ann Lab Med, 2020, 40(4):321–325.
- [28] 安博宇, 胡 蔓, 徐向月, 等. 兽用抗菌药耐药性风险评估研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2021, 46(01):27–33.
An B Y, Hu M, Xu X Y, *et al.* Research progress of risk assessment on veterinary antimicrobial resistance[J]. Chin J of Antibiot, 2021, 46(01):27–33.
- [29] García – Solache M, Rice L B. The Enterococcus: A model of adaptability to its environment[J]. Clin Microbiol Rev, 2019, 32(2): e00058–18.
- [30] Liu Y Liu K, Wu C, *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance of Enterococcus species of food animal origin from Beijing and Shandong Province, China. [J]. J of Applied Microbiol, 2013, 114(2):555–63.
- [31] P Jyothi, B Metri, B Peerapur. High Level Resistance to Aminoglycosides in Urinary Isolates of Enterococci [J]. Ann Med Health Sci Res, 2014, 4(1):58–59

(编 辑:侯向辉)