

论著

自贡市肉及其制品中粪肠球菌耐药性毒力基因和多位点序列分析

杨晶¹,王红²,张桂¹,熊衍文¹,金东¹

(1. 中国疾病预防控制中心传染病所 传染病预防控制国家重点实验室,北京 102206;

2. 自贡市疾病预防控制中心,四川 自贡 643000)

摘要:目的 了解四川省自贡市肉及其制品分离粪肠球菌的抗生素耐药性和携带毒力基因情况,以及多重耐药菌株的序列分型(ST)。方法 2013年4月17~21日对147份肉及其制品样品污染的粪肠球菌进行分离鉴定,使用全自动微生物鉴定仪对分离菌株的耐药性进行检验,应用聚合酶链式反应(PCR)方法检测分离到的粪肠球菌携带4种常见毒力基因的情况,并对多重耐药菌株进行多位点序列分型(MLST)研究。结果 从147份肉及其制品样品中共分离到65株粪肠球菌,其中耐药菌株比例为58.5%(38/65);分离菌株对四环素的耐药率最高,为41.5%(27/65),对利福平、氯霉素和红霉素也均有较高的耐药率;分离菌株对高浓度链霉素和高浓度庆大霉素的耐药率分别达到了15.4%(10/65)和12.3%(8/65);未分离到对青霉素类(青霉素和氨苄西林)、糖肽类(万古霉素)和脂肽类(达托霉素)抗生素耐药的菌株。4种常见毒力基因(*gelE*、*asa1*、*esp*、*cylA*)在65株分离菌株中均有携带,阳性率分别为56.9%(37/65)、21.5%(14/65)、9.2%(6/65)和7.7%(5/65)。14株多重耐药菌株共有9个MLST型别,包括4株ST16、2株ST81和2株ST480菌株,且相同ST型别的粪肠球菌有相似的耐药谱和毒力基因携带情况。结论 四川省自贡市肉及其制品中相同ST型别的粪肠球菌有相似的耐药谱和毒力基因携带情况,应重视肉及其制品中耐药粪肠球菌对公众健康的潜在威胁。

关键词:肉;肉制品;粪肠球菌;耐药性;毒力基因;多位点序列分析;食源性致病菌;自贡市

中图分类号:R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2017)03-0277-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2017.03.005

Antimicrobial susceptibility, virulence genes and multilocus sequence typing of *Enterococcus faecalis* strains isolated from meat and meat products in Zigong City

YANG Jing¹, WANG Hong², ZHANG Gui¹, XIONG Yan-wen¹, JIN Dong¹

(1. State Key Laboratory of Infectious Disease Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China; 2. Zigong Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Zigong 643000, China)

Abstract: Objective To investigate the antibiotic resistance and the distribution of virulence genes in *Enterococcus faecalis* isolated from meat and meat products collected from food market in Zigong City, Sichuan Province, and to observe sequence typing (ST) identified by multilocus sequence typing (MLST) among multi-drug resistant *Enterococcus faecalis*. **Methods** *Enterococcus faecalis* strains were isolated from 147 meat samples including raw meats and cooked meats from 17 to 21 April, 2013. The antimicrobial susceptibilities of *Enterococcus faecalis* isolates were determined by automatic bacteriology identification. The presence of four virulence genes (*cylA*, *asa1*, *gelE* and *esp*) were investigated by polymerase chain reaction (PCR), and ST types were detected in multi-drug resistant isolates. **Results** A total of 65 isolates were obtained from 147 samples, 58.5% (38/65) of the isolates were resistant to at least one drug. Of all isolates, resistance to tetracycline was the highest (41.5%, 27/65), and resistance to rifampicin, chloramphenicol and erythromycin was also fairly high. Moreover, resistance to high concentrations of streptomycin and gentamicin in *Enterococcus faecalis* isolates were 15.4% (10/65) and 12.3% (8/65), respectively. Strains resistant to penicillin, glycopeptides and lipopeptides were failed to acquire in this study. Four virulence genes which were common in *Enterococcus faecalis* were distributed in all 65 isolates, and the positive rates of *gelE*, *asa1*, *esp* and *cylA* were 56.9% (37/65), 21.5% (14/65), 9.2% (6/65) and 7.7% (5/65), respectively. There were 14 isolates, which showed resistance to three or more antibiotics, belonged to 9 STs mainly

收稿日期:2017-04-13

基金项目:国家自然科学基金重大项目(81290340,81290345);国家重点研发计划(2016YFC1202700,2016YFC1201903)

作者简介:杨晶 女 助理研究员 研究方向为肠道细菌分离鉴定及新病原发现 E-mail:yangjing@ icdc. cn

通信作者:金东 男 副研究员 研究方向为新病原发现及细菌耐药 E-mail:jindong@ icdc. cn

comprised of ST16 ($n=4$), ST81 ($n=2$) and ST480 ($n=2$). The profile of resistance and virulence genes were similar in the *Enterococcus faecalis* isolates with same STs. **Conclusion** The same ST type of *Enterococcus faecalis* strains from meat and meat products in Zigong City harbored similar virulence genes and multi-drug resistant pattern, which should be paid attention to the potential threat to human health.

Key words: Meat; meat products; *Enterococcus faecalis*; antimicrobial susceptibility; virulence gene; multilocus sequence typing; foodborne pathogens; Zigong City

粪肠球菌是我国农业部批准的可用于饲料添加的菌种之一,其在畜禽养殖和肉制品生产加工的各个环节中都有分布,是评估食品、食品加工设备及食品生产环境卫生状况的指标菌之一。耐药肠球菌已经成为院内感染的重要病原菌。2014年我国主要地区临床分离革兰阳性菌中,肠球菌属菌株占第二位,其中粪肠球菌的比例为45.4%^[1]。食源性途径是耐药菌株(包括其耐药基因)由动物到人的主要传播途径。动物肠道致病菌和耐药菌如沙门菌、空肠弯曲菌等在屠宰和食品加工过程中极易污染肉及其制品,人在摄食这些食物后除了会造成食源性传染病的暴发外,细菌的耐药性也会造成临床治疗的困难和耐药基因的传播^[2-5]。然而现在对于食品中粪肠球菌的耐药性、致病基因、基因分型等特征的了解较少,因此开展肉及其制品分离粪肠球菌耐药及毒力基因携带特征调查,对于了解地区范围内肉及其制品中粪肠球菌对人类健康的潜在威胁具有重要意义。

多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)是一种基于管家基因序列比对的分子分型方法,由于其操作简单,结果客观可靠,且易于实验室间比较的特点而广泛用于多种病原菌的流行病学研究。通过公共数据库,MLST可以实现某些病原菌在全球范围的长期数据比较分析^[6]。在欧洲的一项对多个国家医院和社区分离的粪肠球菌研究^[7]表明,多重耐药粪肠球菌多属于CC2,CC16和CC87三个克隆群。其中CC16(ST16为主要代表)克隆群的多重耐药粪肠球菌在医院和社区都有分布,且社区中对高浓度氨基糖苷类抗生素耐药的粪肠球菌绝大多数都为ST16型。多个致病基因参与粪肠球菌的致病过程,其感染机制较为复杂,目前研究较透彻的致病基因为细胞溶血素(cytolysin, *cytA*)、明胶酶E(*gelatinase, gelE*)、表面蛋白(enterococcal surface protein, *esp*)和聚集物质(aggregation substance, *asal*)这4种^[8-11]。研究粪肠球菌携带毒力基因的情况,并对其进行分子分型可以有效筛查出具有潜在致病性的粪肠球菌。

本研究对四川省自贡市多个菜市场、农贸市场和餐馆贩卖肉及其制品携带的粪肠球菌进行研究,了解其耐药及携带毒力基因的情况,并对多重耐药

粪肠球菌进行MLST分析,以了解该地区肉及其制品中携带具有潜在致病性粪肠球菌的情况,评估其对人类健康的潜在威胁。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集和菌株来源

2013年4月17~21日在四川省自贡市的6个菜市场、农贸市场和餐馆采集肉及其制品样品147份。样品包括生肉(生牛肉)、腊肉、熟肉制品和酱卤肉制品。药敏试验质控菌株粪肠球菌(ATCC 29212)为本实验室保藏。毒力基因检测阳性对照菌株屎肠球菌(ATCC BAA-472)和粪肠球菌(ATCC 51299)均购自美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection, ATCC)。

1.1.2 主要仪器与试剂

MicroScan WalkAway 40 SI全自动微生物鉴定仪(美国贝克曼库尔特)、SensoQuest Labcycler PCR仪(德国Senso)、Gel Doc XR+System凝胶成像系统(美国Bio-Rad)、BAGMIXER均质器。

Ex TaqTM Version 2.0 plus dye(大连宝生物工程有限公司);BacteriaGen DNA细菌基因组提取试剂盒(北京康为世纪公司);Pos MIC Panel Type 29革兰阳性菌药敏板(美国贝克曼库尔特);哥伦比亚血平板(英国Oxoid);KF链球菌选择性培养基(北京陆桥技术有限公司);引物由生工生物工程(上海)有限公司合成,PCR产物纯化及测序由北京天一辉远生物科技有限公司完成。

1.2 方法

1.2.1 样品处理

在无菌条件下取25g肉及肉制品放入装有225ml缓冲蛋白胨水的均质袋中,以8000 r/min均质1~2 min,制成1:10的样品匀液。

1.2.2 菌株分离和鉴定

将处理后的样品接种于KF链球菌选择性培养基,37℃、5%CO₂条件下培养48h。挑选3~5个可疑单菌落(紫色、圆润、大菌落)接种于哥伦比亚血平板上进行纯化培养。采用API 20 Strep生化鉴定系统对纯培养物进行生化鉴定;同时使用DNA试剂盒按照说明书提取纯培养物的基因组核酸,进行

16S rDNA 序列和 *sodA* 基因序列^[12] 鉴定。每份阳性样品仅保留 1 株粪肠球菌。

1.2.3 药敏试验

使用 MicroScan WalkAway 40 SI 全自动微生物鉴定仪及其配套的 Pos MIC Panel Type 29 革兰阳性菌药敏板,按照仪器和药敏板使用说明,使用快速接种法进行药敏试验。药敏结果判断参照 2015 年美国临床和实验室标准协会 (CLSI) 标准^[13]。

1.2.4 毒力基因的检测

使用聚合酶链式反应 (PCR) 方法对粪肠球菌

分离株的 4 种毒力基因: *cylA*、*gelE*、*esp*、*asaI* 进行检测。引物序列及产物长度见表 1。PCR 反应体系为: 2 × Ex Taq Mix 10 μl, 10 μmol/L 的上下游引物各 1 μl, 模板 DNA 1.0 μl, 加水至 20 μl。PCR 反应程序为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。阳性对照基因为尿肠球菌 (ATCC BAA-472, *asaI*、*gelE* 基因阳性) 和粪肠球菌 (ATCC 51299, *esp* 基因阳性)。对 *cylA* 基因扩增阳性产物进行序列测定和比对以确认结果。

表 1 粪肠球菌 MLST 分型所用管家基因及毒力基因引物情况

Table 1 Primers and product lengths for the detection of *E. faecalis* MLST and virulence genes

基因	编码蛋白	引物序列 (5'-3')	产物长度/bp	参考文献
<i>gdh</i>	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶	GCGCACTAAAAGATATGGT CCAAGATTGGGCAACTTCGTCCCA	530	[3]
<i>gyd</i>	3-磷酸甘油醛脱氢酶	CAAACCTGCTTAGCTCCAATGGC CATTTCGTTGTCATACCAAGC	395	[3]
<i>pstS</i>	磷酸 ATP 结合盒式蛋白转运子	CGGAACAGGACTTTTCGC ATTTACATCAGCTTCTACTTGC	583	[3]
<i>gki</i>	葡萄糖激酶	GATTTTGTGGGAATTGGTATGG ACCATTAAGCAAAATGATCGC	438	[3]
<i>aroE</i>	莽草酸-5-脱氢酶	TGAAAACTTTACGGAGACAGC GTCCTGTCCATTGTTCAAAAGC	459	[3]
<i>xpt</i>	黄嘌呤磷酸核糖基转移酶	AAAATGATGGCCGTGATTAGG AACGTCACCGTTCCTTCACTTA	456	[3]
<i>yqiL</i>	乙酰辅酶 A 乙酰转移酶	CAGCTTAAAGTCAAGTAAGTGCCG GAATATCCCTTCTGCTGTGCT	436	[3]
<i>esp</i>	表面蛋白	AGATTTTCATCTTTGATCTTGG AATTGATTCTTTAGCATCTGG	510	[10]
<i>asaI</i>	聚集物质	GCACGCTATTACGAACTATGA TAAGAAAGAACATCACACGA	375	[10]
<i>gelE</i>	明胶酶 E	TATGACAATGCTTTTTGGGAT AGATGCACCCGAAATAATATA	213	[10]
<i>cylA</i>	细胞溶血素	ACTCGGGGATTGATAGGC GCTGCTAAAGCTGCGCTT	688	[10]

1.2.5 MLST 分析

粪肠球菌的 MLST 试验方案参考粪肠球菌 MLST 数据库 (<http://pubmlst.org/efaecalis/>) 提供的分型方案,7 个管家基因 *gdh*、*gyd*、*pstS*、*gki*、*aroE*、*xpt* 和 *yqiL* 的引物序列及产物大小见表 1。PCR 反应体系为: 2 × Ex Taq Mix 25 μl, 10 μmol/L 的上下游引物各 2.5 μl, 模板 DNA 2.0 μl, 加无菌水至 50 μl。PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经纯化后,进行双向测序。序列分析用 SeqMan 软件对等位基因序列进行拼接和校正,将整理好的序列提交至 MLST 数据库,确定每个管家基因的序列号,7 个管家基因序列号的组合即为该菌株的 ST 型。应用 eBURST 软件构建 eBURST 图以确定分离菌株与数据库其他菌株的关系,以两个等位基因的差异为定义克隆群的标准。

2 结果

2.1 菌株分离及耐药分析

147 份肉及其制品样品中共有 65 份样品分离出粪肠球菌 (65 株), 阳性率为 44.2% (65/147)。65 株粪肠球菌对 13 种常见抗生素表现出不同程度的耐药情况,详细结果见表 2。其中耐药粪肠球菌为 38 株,耐药率为 58.5% (38/65)。在 38 株耐药粪肠球菌菌株中,仅对 1 种抗生素耐药的菌株有 18 株,对 2 种抗生素耐药的菌株有 6 株,多重耐药菌株有 14 株。不耐药的菌株共 27 株,其中 3 株菌株对 13 种抗生素全部敏感,对 1 ~ 2 种抗生素中介的菌株有 24 株。

65 株分离的粪肠球菌对四环素的耐药率最高,达到了 41.5% (27/65); 对利福平和氯霉素的耐药率次之,分别为 29.2% (19/65) 和 20.0% (13/65);

表2 65株粪肠球菌的抗生素耐药情况($n=65$)Table 2 Results of antibiotics resistance of *E. faecalis* isolates

抗生素	耐药	中介	敏感
	菌株数(%)	菌株数(%)	菌株数(%)
青霉素	0(0.0)	0(0.0)	65(100.0)
氨苄西林	0(0.0)	0(0.0)	65(100.0)
万古霉素	0(0.0)	0(0.0)	65(100.0)
利奈唑胺	0(0.0)	0(0.0)	65(100.0)
达托霉素	0(0.0)	0(0.0)	65(100.0)
高浓度庆大霉素	8(12.3)	0(0.0)	57(87.7)
高浓度链霉素	10(15.4)	0(0.0)	55(84.6)
环丙沙星	3(4.6)	11(16.9)	51(78.5)
左旋氧氟沙星	3(4.6)	0(0.0)	62(95.4)
四环素	27(41.5)	0(0.0)	38(58.5)
氯霉素	13(20.0)	0(0.0)	52(80.0)
红霉素	12(18.5)	30(46.2)	23(35.4)
利福平	19(29.2)	15(23.1)	31(47.7)

注:% = 菌株数/总菌株数 × 100%

另外分离菌株对红霉素也有较高的耐药率(18.5%, 12/65)。分离菌株对高浓度链霉素和高浓度庆大霉素亦有较高的耐药率,分别为15.4%(10/65)和12.3%(8/65)。本研究未分离到对青霉素类(青霉素,氨苄西林)、糖肽类(万古霉素)和脂肽类(达托霉素)抗生素耐药的菌株。

2.2 毒力基因分布情况

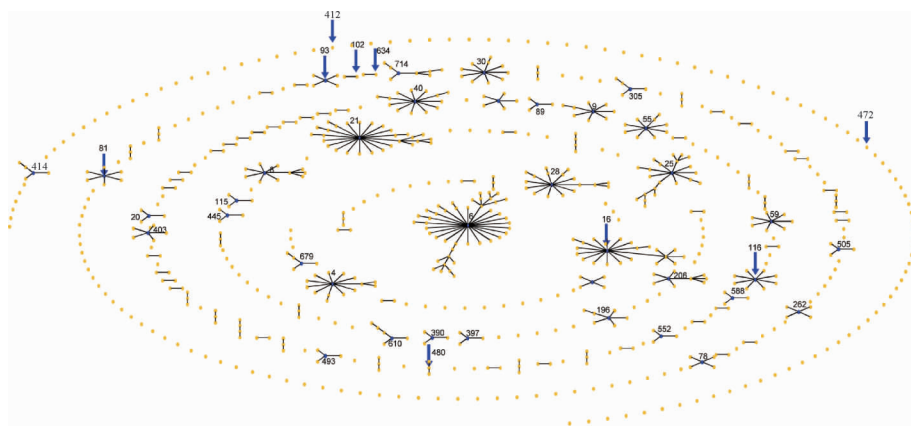
对65株粪肠球菌进行4种常见毒力基因(*cylA*、*gelE*、*esp*和*asaI*)携带情况检测,结果表明4种毒力基因在65株分离株中均有携带,其中*gelE*基因阳性率最高,为56.9%(37/65),*asaI*、*esp*和

*cylA*基因的阳性率分别为21.5%(14/65)、9.2%(6/65)和7.7%(5/65)。

耐药粪肠球菌*gelE*基因阳性率为73.7%(28/38),而不耐药的菌株阳性率为33.3%(9/27)。*asaI*基因在粪肠球菌中的携带情况与*gelE*基因相似,其在耐药菌株中的阳性率为28.9%(11/38),而在不耐药菌株中的阳性率为11.1%(3/27)。除1株不耐药菌株携带*esp*基因外,其他*esp*基因阳性菌株均为多重耐药粪肠球菌,*cylA*基因的携带情况与*esp*基因一致。

2.3 MLST分析

14株多重耐药菌株共有9个MLST型别,分别为ST16(4株)、ST81(2株)、ST480(2株)以及ST93、ST102、ST116、ST412、ST472和ST634各1株,各个ST型别在MLST数据库中的位置见图1。相同ST型别的粪肠球菌有相似的耐药谱和毒力基因携带情况。在4株ST16粪肠球菌中除1株为利福平中介,且*esp*基因阴性的菌种外,其他3株的耐药谱和毒力基因携带情况一致,耐药谱为高浓度庆大霉素-四环素-氯霉素-红霉素-利福平,*esp-asaI-cylA*阳性。而ST81和ST480耐药谱和毒力基因携带情况也存在一致性,表现为2株ST81菌株耐药谱为四环素-氯霉素-利福平,红霉素中介和*gelE*基因阳性;2株ST480菌株则是对本试验中的13种抗生素都耐药,同时*esp*基因呈阳性。具体情况见表3。



注:箭头标记的为本研究中分离菌株的ST型别

图1 65株粪肠球菌ST型别的eBURST聚类分析图

Figure 1 eBURST analysis of 65 *E. faecalis* strains' STs

3 讨论

随着现代养殖业的发展,抗生素的使用量和范围不断扩大,抗生素不仅用于治疗感染性疾病,还被用于饲料添加剂以加快畜禽生长速度和提高饲料转化效率。据统计,2013年我国消耗抗生素

16.2万吨,其中52%为兽用^[14]。喹诺酮类、氨基糖苷类、大环内酯类、四环素类以及利福平等抗生素广泛用于畜牧业和水产养殖业,这些抗生素的大量使用造成动物中耐药菌的大量出现和耐药基因的广泛传播。在屠宰及食品加工过程中,这些耐药菌可能会污染肉及其制品,最终导致食品中携带对

表3 ST16、ST48 及 ST480 粪肠球菌的耐药谱及毒力基因携带情况

Table 3 Antibiotic resistant and virulence genes of ST16, ST48 and ST480 *E. faecalis* strains

菌株号	ST 型别	抗生素								毒力基因			
		高浓度链霉素	高浓度庆大霉素	环丙沙星	左旋氧氟沙星	四环素	氯霉素	红霉素	利福平	<i>esp</i>	<i>asal</i>	<i>cylA</i>	<i>gelE</i>
E029_1	ST16	S	R	S	S	R	R	R	R	+	+	+	-
E080	ST16	S	R	S	S	R	R	R	I	-	+	+	-
E097	ST16	S	R	S	S	R	R	R	R	+	+	+	-
E311_1	ST16	S	R	S	S	R	R	R	R	+	+	+	-
E361_1	ST81	S	S	S	S	R	R	I	R	-	-	-	+
E362_1	ST81	S	S	S	S	R	R	I	R	-	-	-	+
E084	ST480	R	R	R	R	R	R	R	R	+	-	-	-
E310_2	ST480	R	R	R	R	R	R	R	R	+	-	-	-

注: S 为敏感; I 为中介; R 为耐药; + 为阳性; - 为阴性

这些抗生素耐药的粪肠球菌。本研究对四川省自贡市 147 份肉及其制品中污染的粪肠球菌对 13 种临床常用抗生素的耐药性进行了分析。研究表明肉及其制品中污染的粪肠球菌对四环素类、大环内酯类、氨基糖苷类抗生素以及利福平类抗生素均有较高的耐药率。

本研究对自贡市肉及其制品中分离到的 65 株粪肠球菌携带 4 种常见毒力基因的情况进行了检测, 结果表明 4 种毒力基因在 65 株分离株中均有携带。动物试验^[15]表明, 携带 *cylA*、*gelE*、*esp* 和 *asal* 等毒力基因的粪肠球菌菌株, 其毒力高于毒素不表达株。多项基于流行病学研究^[8-11]显示, 致病粪肠球菌中 *esp*、*asal*、*cylA* 和 *gelE* 基因的检出率均高于健康人粪便标本中的检出率。肠球菌致病原因可能是其多种毒力因子和多重耐药性共同作用的结果^[15]。研究食品中污染的粪肠球菌耐药性及其携带毒力基因的情况, 有助于了解食品中污染细菌的耐药情况, 进而评估肉及其制品中耐药菌对人类健康和公共卫生的影响。

本研究从自贡市肉及其制品中分离到 4 株 ST16、2 株 ST81 以及 2 株 ST480 粪肠球菌, 且相同 ST 型别的菌株具有相似耐药谱和毒力基因谱。根据 MLST 数据库信息, ST16 型别粪肠球菌在全球范围包括欧洲(如西班牙、荷兰以及挪威)、亚洲(日本)以及北美州(古巴)等多个国家均有分布, 菌株来源包括动物、社区及院内感染的患者。研究^[7,16-17]表明, 多重耐药 ST16 粪肠球菌在医院和社区均有分布, 而在欧洲多个国家都分离到了 ST16 型别的耐万古霉素粪肠球菌。日本的一项对院内感染粪肠球菌的研究^[18]表明, 6 年间临床分离的 1 711 株粪肠球菌中, 多数多重耐药粪肠球菌为 ST16 型别。本研究从肉及其制品中分离到 4 株 ST16 型别对多种抗生素耐药且携带多种毒力基因的粪肠球菌, 提示需要重视该类食品中耐药菌对人类健康的潜在威胁。

参考文献

- [1] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 401-410.
- [2] 王炳发, 曹春远, 陈前进, 等. 两起肠炎沙门菌所致食物中毒的病原学研究及溯源分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(1): 32-36.
- [3] PAULSEN I T, BANERJEI L, MYERS G S, et al. Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*[J]. Science, 2003, 299(5615): 2071-2074.
- [4] 王丽丽, 陈倩. 一起食物中毒病原菌斯坦利沙门菌的分子分型及耐药性分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(1): 27-31.
- [5] 郭玉梅, 秦丽云, 刷慧栋, 等. 熟肉及速冻米面食品中变形杆菌污染状况及耐药特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(1): 99-102.
- [6] AANENSEN D M, SPRATT B G. The multilocus sequence typing network: mlst.net [J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33: 728-733.
- [7] KUCH A, WILLEMS R J, WERNER G, et al. Insight into antimicrobial susceptibility and population structure of contemporary human *Enterococcus faecalis* isolates from Europe [J]. J Antimicrob Chemoth, 2012, 67(3): 551-558.
- [8] HAAS W, GILMORE M S. Molecular nature of a novel bacterial toxin: the cytolysin of *Enterococcus faecalis* [J]. Med Microbiol Immuno, 1999, 187(4): 183-190.
- [9] GASPAR F, TEIXEIRA N, RIGOTTIER-GOIS L, et al. Virulence of *Enterococcus faecalis* dairy strains in an insect model: the role of *fsrB* and *gelE* [J]. Microbiol, 2009, 155(11): 3564-3571.
- [10] SHANKAR V, BAGHDAYAN A S, HUYCKE M M, et al. Infection-derived *Enterococcus faecalis* strains are enriched in *esp*, a gene encoding a novel surface protein [J]. Infec Immuno, 1999, 67(1): 193-200.
- [11] GALLI D, LOTTSPREICH F, WIRTH R. Sequence analysis of *Enterococcus faecalis* aggregation substance encoded by the sex pheromone plasmid pADI [J]. Mol Microbiol, 1990, 4(6): 895-904.
- [12] POYART C, BERCHE P, TRIEU-CUOT P. Characterization of superoxide dismutase genes from gram-positive bacteria by polymerase chain reaction using degenerate primers [J]. FEMS Microbiol Lett, 1995, 131(1): 41-45.
- [13] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance

- standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fifth informational supplement: M100-S25 [S]. Wayne: CLSI, 2015.
- [14] ZHANG Q Q, YING G G, PAN C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance [J]. *Environ Sci Technol*, 2015, 49(11): 6772-6782.
- [15] MUNDY L M, SAHM D F, GILMORE M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2000, 13(4): 513-522.
- [16] LEAVIS H L, BONTEN M J, WILLEMS R J. Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2006, 9(5): 454-460.
- [17] QUINONES D, KOBAYASHI N, NAGASHIMA S. Molecular epidemiologic analysis of *Enterococcus faecalis* isolated in Cuba by multilocus sequence typing [J]. *Microbiol Drug Resist*, 2009, 15(4): 287-293.
- [18] KUDO M, NOMURA T, YOMODA S, et al. Nosocomial infection caused by vancomycin-susceptible multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* over a long period in a university hospital in Japan [J]. *Microbiol Immunol*, 2014, 58(11): 607-614.

· 资讯 ·

澳新修订氟啶虫酰胺等最大残留限量标准

2017年5月16日,澳新食品标准局发布F2017L0052号通告,修订氟啶虫酰胺(flonicamid)、甲氧咪草烟(imazamox)、monepantel、抗蚜威(pirimicarb)、丙环唑(propiconazole)、吡丙醚(pyriproxyfen)、螺虫乙酯(spirotetramat)7种药物残留限量标准。具体如下:

药物名称	食品名称	最大残留限量/(mg/kg)
氟啶虫酰胺	除动物源性食品以外的食品	0.2
甲氧咪草烟	除动物源性食品以外的食品	0.05
monepantel	牛脂肪	7
	牛肾	1
	牛肝	2
	牛肉	0.3
抗蚜威	牛奶	0.05
	除动物源性食品以外的食品	0.05
丙环唑	除动物源性食品以外的食品	0.05
	除动物源性食品以外的食品	0.1
吡丙醚	细叶芹、香菜(根茎叶)、水菜、玫瑰和石竹(食用花)、芝麻菜	5
	高良姜(大、小)、姜黄根	0.05
螺虫乙酯	除动物源性食品以外的食品	0.1

(相关链接: http://www.aqsiq.gov.cn/xxgk_13386/tzdt/gzdt/201705/t20170516_488722.htm)