

引用格式:宋辉辉,孙志华,洪娟,等.猪源性肠球菌耐药性与抗锌性的相关性[J].福建农林大学学报(自然科学版),2025,54(1):100-109.  
SONG H H, SUN Z H, HONG J, et al. Correlation analysis between drug and zinc resistance of porcine *Enterococcus*[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2025,54(1):100-109.

# 猪源性肠球菌耐药性与抗锌性的相关性

宋辉辉, 孙志华, 洪娟, 赖华敏, 任子宁, 易灵娴, 林欣, 俞道进  
(福建农林大学动物科学学院/中西兽医结合与动物保健福建省高等学校重点实验室, 福建 福州 350002)

**摘要:**【目的】了解猪源性肠球菌的耐药性及肠球菌对重金属锌抗性的现状,探究耐药基因和锌抗性基因的流行特征及其之间的相关性,为后期养殖临床上抗菌药物和 ZnO 的使用提供参考。【方法】采集了 395 份猪粪便样品,使用特异性选择培养基分离肠球菌,采用微量肉汤稀释法测定肠球菌分离株对 9 种抗菌药物和 ZnSO<sub>4</sub> 的敏感性,并采用 PCR 检测耐药基因和锌抗性基因。【结果】共分离出 348 株肠球菌,分离率为 88.10%。药物敏感性检测结果显示:肠球菌对红霉素的耐药率最高,达 96.81%,对万古霉素耐药率最低,仅为 0.71%。对锌敏感性的检测结果显示,对 ZnSO<sub>4</sub> 的最小抑菌浓度 (MIC) ≥ 12 mmol · L<sup>-1</sup> 的肠球菌占 52.13%。多重耐药性检测结果显示,肠球菌四重耐药占比最高,为 31.91%。PCR 检测结果显示,锌抗性基因 *zntA* 的检出率为 37.93%,DNA 旋转酶 A 亚单位基因 *gyrA* 的检出率为 92.79%,大环内酯类耐药基因 *mefA* 的检出率仅为 0.31%。相关性分析显示,锌抗性基因与核糖体保护蛋白编码基因 *tetS*、四环素外排基因 *tetL* 呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ),与四环素外排基因 *tetG* 呈显著负相关 ( $P < 0.05$ ),与 *gyrA*、核糖体甲基化酶基因 *ermB* 呈负相关。【结论】重金属锌可能诱导猪肠道肠球菌的耐药以及多重耐药表型的出现,且抗菌药物可能会影响猪粪便中肠球菌的抗锌性。

**关键词:** 猪源肠球菌; 耐药性; 耐药基因; 抗锌性; 氧化锌

中图分类号: S852.61

文献标识码: A

文章编号: 1671-5470(2025)01-0100-10

DOI: 10.13323/j.cnki.j.fafu(nat.sci.).202312028



开放科学 (资源服务)  
标识码 (OSID)

## Correlation analysis between drug and zinc resistance of porcine *Enterococcus*

SONG Huihui, SUN Zhihua, HONG Juan, LAI Huamin, REN Zining, YI Lingxian, LIN Xin, YU Daojin  
(College of Animal Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University/University Key Laboratory for Integrated Chinese Traditional and Western Veterinary Medicine and Animal Healthcare in Fujian Province, Fuzhou, Fujian 350002, China)

**Abstract:** 【Objective】The porcine *Enterococcus* resistance to heavy metal zinc and drug, its epidemiological feature and potential correlation between zinc and drug resistance genes were analyzed to provide reference for the use of antimicrobial drugs and ZnO in breeding. 【Method】*Enterococcus* were isolated from 395 pig stool samples with specific selection medium, and their sensitivity to 9 antimicrobial drugs and ZnSO<sub>4</sub> were determined by microdilution method. Meanwhile, the presence of drug and zinc resistance genes were identified through PCR. 【Result】A total of 348 *Enterococcus* isolates were obtained, with an isolation rate of 88.10%. The drug susceptibility testing of *Enterococcus* isolates showed the highest resistance to erythromycin at 96.81% and the lowest to vancomycin at only 0.71%. Multidrug resistance analysis revealed that *Enterococcus* isolates with quadruple resistance accounted for the highest proportion (31.91%). The ZnSO<sub>4</sub> sensitivity testing indicated that 52.13% of the isolates had a minimum inhibitory concentration (MIC) ≥ 12 mmol · L<sup>-1</sup>. The zinc resistance gene *zntA* had the detection rate of 37.93%. The detection rate of *gyrA* gene encoding the A subunit of DNA gyrase was 92.79%, while that of macrolide resistance gene *mefA* was only 0.31%. Correlation analysis indicated that zinc resistance gene was significantly positively correlated ( $P < 0.05$ ) with the *tetS* gene encoding ribosome protection protein and tetracycline efflux gene *tetL*, but negatively correlated with the tetracycline efflux gene *tetG* ( $P < 0.05$ ), *gyrA* and rRNA methylase gene *ermB*. 【Conclusion】The heavy metal zinc may induce the development of resistance and multidrug-resistant phenotypes in enteric *Enterococcus* of swine, and antimicrobial drugs may also influence the zinc resistance of *Enterococcus* in pig feces.

收稿日期: 2023-12-18 修回日期: 2024-02-20

基金项目: 福建省现代生猪产业技术体系项目 (KKE19011A)。

通信作者: 俞道进 (1974—), 男, 教授。研究方向: 兽医药理学。Email: yudaojin@yeah.net。

**Key words:** porcine *Enterococcus*; drug resistance; resistance gene; zinc resistance; zinc oxide

肠球菌(*Enterococcus*),为革兰氏阳性细菌,无鞭毛、无芽孢,可在有氧和无氧的环境中生长<sup>[1]</sup>。肠球菌曾一度被认为是人和动物的肠道共栖菌,能调节肠道微生态平衡,促进畜禽生长<sup>[2]</sup>。但目前的研究表明,肠球菌是条件致病菌,感染动物会引发仔猪关节炎、犊牛腹泻、禽败血症等<sup>[3]</sup>。肠球菌耐药性的逐年提高,且多为多重耐药性,加大了尿路感染、皮肤软组织感染、腹腔感染、败血症、心内膜炎和脑膜炎等疾病的治疗难度,因此需要对动物源肠球菌进行研究。

许多对抗生素耐药的基因和重金属抗性基因位于相同的移动遗传元件(如质粒、转座子、整合子)上<sup>[4]</sup>。由于重金属不易降解、易于富集等特点,可成为细菌生长环境中重要的持久性刺激物质,诱导或选择出耐药菌和抗性基因<sup>[5-6]</sup>。美国的一项研究显示,约 90%饲料中的铜和锌会从粪便中排出<sup>[7]</sup>;在英国某些地方,牲畜可能是锌和铜对环境造成污染的主要来源<sup>[8]</sup>。几十年前,人们发现青霉素酶与汞暴露有关,这说明了细菌对抗菌药物的抗药性与环境中的重金属间存在着一定的联系<sup>[9-10]</sup>。关于环境中重金属抗性与环境微生物耐药性的共选择现象已有大量研究,普遍认为存在 3 个主要的作用机制:协同抗性机制、交叉抗性机制(外排泵)、协同调控机制(包含生物膜诱导机制)<sup>[11]</sup>。

重金属锌在保育猪抗腹泻以及促生长方面具有独特作用,一直被用作动物饲料添加剂,曾经是我国养殖业中高剂量添加的重金属。养殖临床上的用药情况极为复杂,会引起严重的细菌耐药性,近年来我国已禁用砷制剂及高铜饲料,且在 2020 年禁用抗菌药物为促生长剂。为探究动物源肠球菌的耐药性与抗锌性的相关性,本试验研究了肠球菌的耐药性、抗锌性以及耐药基因、锌抗性基因的流行特征及其之间的相关性,旨在为养殖临床上抗菌药物和 ZnO 的使用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 菌株与样品 粪便源肠球菌标准菌株 ATCC29212,购自中国药品生物制品检验所。本研究选取 3 个猪场的猪作为试验对象,3 个猪场的用药情况均不同。共采集 395 份新鲜猪粪便样品用于菌株

分离,并分 5 批次采集样品。其中,从猪场 A 采集 145 份,从猪场 B 采集 130 份,从猪场 C 采集 120 份(C1、C2 组各 60 份)。各采样点用药情况如下。猪场 A:福建某普通猪场,正常使用抗菌药物生长促进剂(antibiotic growth promoters, AGP),且使用  $2\text{ kg} \cdot \text{t}^{-1}$  ZnO 作为饲料添加剂。猪场 B:浙江某从未使用 AGP 的猪场,但使用  $2\text{ kg} \cdot \text{t}^{-1}$  ZnO 作为饲料添加剂。猪场 C:福建某普通猪场,在保育阶段进行 ZnO 替代试验,在仔猪 28~57 日龄分为 C1、C2 两个小组饲养。在 C1 组饲料中添加  $2\text{ kg} \cdot \text{t}^{-1}$  ZnO,不使用 AGP;在 C2 组饲料中不添加 ZnO 和 AGP,添加  $500\text{ g} \cdot \text{t}^{-1}$  天然植物成分替代物。各猪场分别在用药后 0、7、14、28 d 采集 15 份粪便样品。

1.1.2 主要试剂 DuRed 核酸染料(PCR 级)购自北京泛博生物化学有限公司;50×TAE 缓冲液、BHI 培养基、M-H 培养基、亚胺培南购自索莱宝生物科技有限公司;SBM 培养基购自英国 OXOID 公司;氨苄西林、环丙沙星、万古霉素、红霉素、氯霉素、四环素、利福平、呋喃妥因购自中国食品药品检定研究院;ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 购自上海麦克林生化科技有限公司。

### 1.2 肠球菌的分离、纯化

将采好样的试管置于  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $180\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  的恒温、恒速摇床中培养过夜,将增菌后的菌液在超净台上划线接种于特异性选择培养基 SBM 上,于  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养箱中恒温培养 24~48 h 后,分别挑取典型单菌落接种于新的 BHI 培养基中增菌,摇床过夜。

### 1.3 肠球菌的鉴定

1.3.1 菌落形态观察 将过夜培养后的菌液分别划线接种于肠球菌显色培养基上,于  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温培养 24~36 h,观察培养基中肠球菌的生长情况,初步判定后进行 PCR 鉴定。

1.3.2 PCR 鉴定 肠球菌检测引物选取国内外常用属特异性引物,参考 GenBank 数据库中公布的肠球菌 16S rRNA 基因序列进行设计,按照同样的方法设计抗性基因引物(表 1),并用 PCR 检测这些基因的携带情况。这些基因包括对万古霉素耐药的基因 *vanA* 和 *vanB*,核糖体甲基化酶基因 *ermA* 和 *ermB*,DNA 旋转酶 A 亚单位基因 *gyrA*,对大环内酯类耐药的基因 *mefA*,四环素外排基因 *tetG* 和 *tetL*,核糖体保护蛋白编码基因 *tetM* 和 *tetS*,锌抗性基因

*zntA*、*czrA* 和 *czcD*,所有引物序列均由福州白鲸生物技术有限公司合成。采用煮沸法提取样品 DNA。按照 T5 Super PCR Mix 说明书配制反应体系并设置反应程序。PCR 反应体系含有 10 μL Mix、2 μL Buffer、2 μL 模板 DNA、上游和下游引物各 1 μL,用双蒸水补足至 20 μL。反应程序:98 ℃ 预变性

2 min;98 ℃ 变性 10 s,按表 1 中的退火温度退火 10 s,72 ℃ 延伸 10 s,32 个循环;72 ℃ 延伸 2 min;4 ℃ 保存。将 PCR 产物置于 1.0% 琼脂糖凝胶中,于 138 V、118 mA 电泳 30 min,并用凝胶成像系统拍照观察。

表 1 肠球菌 16S rRNA 特异性引物及抗性基因引物序列

Table 1 Specific primers for 16S rRNA and resistance gene of *Enterococcus*

| 基因 Gene     | 序列 Sequence(5'→3')          |                            | 退火温度<br>Annealing<br>temperature/℃ | 片段长度<br>Fragment<br>length/bp |
|-------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
|             | 上游引物 Upstream primers       | 下游引物 Downstream primers    |                                    |                               |
| 16S rRNA    | GTGTCGCTGATGGATGG           | GCAAGCCGAAGTCTGAGAGA       | 54                                 | 1 096                         |
| <i>vanA</i> | GGGAAAACGACAATTGC           | GTACAATGCGGCCGTTA          | 54                                 | 732                           |
| <i>vanB</i> | ATGGGAAGCCGATAGTC           | GATTTCTGTTCTCTCGACC        | 54                                 | 635                           |
| <i>ermA</i> | TCTAAAAAGCATGTAAAAGAA       | CTTCGATAGTTTATTAATATTAGT   | 52                                 | 645                           |
| <i>gyrA</i> | CGGGATGAACGAATTGGGTGTGA     | AATTTTACTCATACGTGCTTCGG    | 54                                 | 241                           |
| <i>ermB</i> | GAAAAGACTACTCAACCAAATA      | AGTAACGGTACTTAAATTTGTTTAC  | 52                                 | 639                           |
| <i>mefA</i> | AGTATCATTAACTACTAGTGC       | TTCTTCTGCTACTAAAAGTGG      | 56                                 | 400                           |
| <i>tetG</i> | GCTCGGTGCTATCTCTGCTC        | AGCAACAGAATCGGGAACAC       | 57                                 | 468                           |
| <i>tetM</i> | ACAGAAAGCTTATTATATAAC       | TGGCGTGTCTATGATGTTTAC      | 55                                 | 171                           |
| <i>tetS</i> | CATAGACAAGCCGTTGACC         | ATGTTTTTGAACGCCAGAG        | 60                                 | 667                           |
| <i>tetL</i> | TCGTTAGCGTGCTGTCATTC        | GTATCCCACCAATGTAGCCG       | 57                                 | 267                           |
| <i>zntA</i> | CCGCTTCTTTAGGTGTCGCTATGG    | GTGCTTCCTTCGTGCTCTACAACCTC | 55                                 | 241                           |
| <i>czrA</i> | AGTGCTAAACTTTAGAAGTCAG      | CTCGCGATGAGACTTGACGAC      | 55                                 | 259                           |
| <i>czcD</i> | ACTGTCTTCGCTAAGTGTGATTATCGG | TCCTTTGCCTTTGTCTCTGCTTGG   | 55                                 | 396                           |

1.4 肠球菌对抗菌药物耐药性的检测

肠球菌对抗菌药物耐药性的检测严格按照美国临床和实验室标准协会 (CLSI) 推荐的方法操作。采用微量肉汤稀释法,测定 9 种抗菌药物对肠球菌的最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC)。

1.5 肠球菌对 ZnSO<sub>4</sub> 敏感性的检测

用灭菌的双蒸水配制浓度为 1 mol · L<sup>-1</sup> 的 ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 母液,再将其浓度稀释为 128 mmol · L<sup>-1</sup>,置于灭菌锥形瓶中备用。将肠球菌培养至生长对数期时,调整菌液浓度为 (1~2) × 10<sup>8</sup> CFU · mL<sup>-1</sup>。在 96 孔板中于每个孔内先加入 100 μL 灭菌 M-H 培养基,再加入 ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O,设置浓度依次为 64、32、24、16、12、8、6、4、2、1 mmol · L<sup>-1</sup>,以不加 ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 作为阳性对照,以不加菌液和 ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 作为阴性对照。其余各孔内均加入 10 μL 调整好浓度的菌液,每株菌设置 3 次重复。最后将 96 孔板轻轻振荡,于恒温培养箱 (37 ℃) 中培养 18~20 h 后观察结果。用酶标仪于 600 nm 波

长处测定光密度 (*D*),用 SPSS 软件对 *D*<sub>600 nm</sub> 进行分析,以阳性与阴性差异显著为前提,而与阴性差异不显著的对应最小浓度即为 ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 对该肠球菌的 MIC。

1.6 数据处理与分析

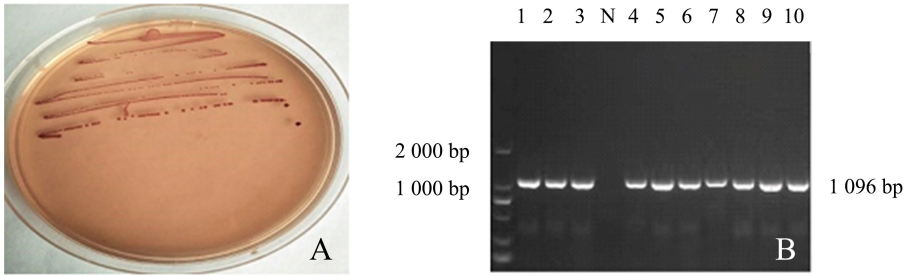
本研究中,由于肠球菌对锌的 MIC 未呈现正态分布,故使用 SPSS 22.0 软件中的 Mann-Whitney U 检验法和 Spearman 相关分析,分析肠球菌耐药性与锌的相关性。*R*>0 表示两者呈正相关,*R*<0 表示两者呈负相关 (*P*<0.05 表示相关性显著),0.5 ≤ |*R*| ≤ 0.8 表示两者中度相关,|*R*|>0.8 表示两者高度相关。使用 SPSS 20.0 软件中的卡方检验和皮尔逊相关性分析,分析耐药基因与锌抗性基因的相关性。锌耐受性数据未呈现正态分布,故用 Kolmogorov-Smirnov 检验方法检测。

2 结果与分析

2.1 肠球菌的菌落形态和 PCR 鉴定结果

肠球菌在 SBM 培养基上培养 2 d,可见红色或粉色的圆形、光滑菌落 (图 1A)。

用肠球菌 16S rRNA 基因特异性引物对 SBM 培养基上的疑似肠球菌菌落进行 PCR 鉴定,结果(图 1B)显示,共有 348 份菌株扩增出片段长度为 1 096 bp 的目的条带,肠球菌的分离率为 88.10%



N 表示阴性对照;1-10 表示样品组。  
N indicates the negative control; 1 to 10 represent the sample groups.

图 1 肠球菌的菌落形态(A)和 PCR 鉴定结果(B)

Fig.1 Colony morphology (A) and PCR identification (B) of *Enterococcus*

2.2 肠球菌对抗菌药物的耐药性

对 282 株肠球菌进行 9 种抗菌药物耐药性检测,结果(表 2)显示:3 个猪场的肠球菌对红霉素和四环素的耐药率最高,可达 90.00% 以上;其次是对利福平和氯霉素的耐药性,耐药率均高于 50.00%,其中,猪场 A 对氯霉素的耐药率更高,达到 75.89%。与其他两个猪场相比,猪场 B 的肠球菌

(348/395)。其中,从猪场 C 分离 88 株(C1 组 48 株,C2 组 40 株),从猪场 A 分离 141 株,从猪场 B 分离 121 株。

对环丙沙星的耐药率仅为 6.61%,低于猪场 A 的 43.26%和猪场 C 的 35.00%;除了从猪场 B 分离到 2 株耐万古霉素的肠球菌(*vancomycin-resistant Enterococcus*, VRE)外,其他菌株均对万古霉素敏感;3 个猪场的肠球菌对呋喃妥因出现了不同程度的耐药性,其中,猪场 B 的耐药率较高。

表 2 3 个猪场 282 株肠球菌对 9 种抗菌药物的耐药性

Table 2 Resistance of 282 *Enterococcus* strains isolated from 3 pig farms to nine antimicrobial agents

| 抗菌药物 Antibiotic     | 耐药菌株数/株(耐药率/%) Number of resistant strains (Resistance rate/%) |                    |                   |               |
|---------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------|---------------|
|                     | 猪场 A                                                           | 猪场 B               | 猪场 C              | 总计            |
|                     | Pig farm A (n=141)                                             | Pig farm B (n=121) | Pig farm C (n=20) | Total (n=282) |
| 氨苄西林 Ampicillin     | 0(0.00)                                                        | 3(2.48)            | 7(35.00)          | 10(3.55)      |
| 万古霉素 Vancomycin     | 0(0.00)                                                        | 2(1.65)            | 0(0.00)           | 2(0.71)       |
| 红霉素 Erythromycin    | 139(98.50)                                                     | 114(94.21)         | 20(100.00)        | 273(96.81)    |
| 四环素 Tetracycline    | 135(95.74)                                                     | 113(93.19)         | 20(100.00)        | 268(95.04)    |
| 环丙沙星 Ciprofloxacin  | 61(43.26)                                                      | 8(6.61)            | 7(35.00)          | 76(26.95)     |
| 氯霉素 Chloramphenicol | 107(75.89)                                                     | 68(56.20)          | 10(50.00)         | 185(65.60)    |
| 利福平 Rifampicin      | 86(60.99)                                                      | 73(60.33)          | 12(60.00)         | 171(60.64)    |
| 呋喃妥因 Furadantin     | 44(31.21)                                                      | 73(60.33)          | 8(40.00)          | 125(44.33)    |
| 亚胺培南 Imipenem       | 23(16.31)                                                      | 9(7.44)            | 1(5.00)           | 33(11.70)     |

从猪场 C 分离的 88 株肠球菌对 8 种抗菌药物的耐药性(表 3)可见:C1、C2 组肠球菌对红霉素和四环素的耐药性较高,耐药率达 100.00%;对万古霉素均敏感;对氨苄西林仅在第 28 天出现了耐药,但 C2 组的耐药性低于 C1 组。总体而言,C1 组的耐药率高于 C2 组,尤其是在第 28 天,C1 组对利福平和呋喃妥因的耐药率显著高于 C2 组( $P<0.05$ )。可见:不添加 AGP,单独使用高水平 ZnO 就足以维持猪场肠球菌对大部分抗菌药物的耐药性;而既不

添加 AGP,又不使用高水平 ZnO 的猪群,在试验后期,可以明显观察到肠球菌耐药率降低,但对红霉素和四环素仍然维持较高的耐药率。

对 282 株肠球菌的多重耐药性进行分析,结果(表 4)显示,肠球菌多重耐药情况严重,多重耐药率达 90.78%。猪场 B 的多重耐药性主要为三、四重,而猪场 A、C 主要为四、五重,猪场 C 的六重耐药率较其他猪场高。多重耐药性主要为三、四、五重,占比分别为 23.05%、31.91%、26.95%。分离到



4 株七重耐药性的菌株。其中:从猪场 A 分离到 1 株,耐红霉素、四环素、环丙沙星、氯霉素、利福平、呋喃妥因、亚胺培南;从猪场 B 分离到 2 株耐氨苄西林、红霉素、四环素、氯霉素、利福平、呋喃妥因、亚胺培南,1 株耐氨苄西林、红霉素、四环素、环丙沙星、氯霉素、利福平、亚胺培南。

表 3 猪场 C 的 88 株肠球菌对 8 种抗菌药物的耐药性

| 组别                                     |                        | 耐药率 Drug resistance rate/% |                    |                     |                     |                       |                        |                   |                    |
|----------------------------------------|------------------------|----------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|------------------------|-------------------|--------------------|
| Group                                  | t(用药)<br>t(Duration)/d | 氨苄西林<br>Ampicillin         | 万古霉素<br>Vancomycin | 红霉素<br>Erythromycin | 四环素<br>Tetracycline | 环丙沙星<br>Ciprofloxacin | 氯霉素<br>Chloramphenicol | 利福平<br>Rifampicin | 呋喃妥因<br>Furadantin |
| C1                                     | 0                      | 0.00                       | 0.00               | 100.00              | 100.00              | 25.00                 | 50.00                  | 25.00             | 33.33              |
|                                        | 7                      | 0.00                       | 0.00               | 100.00              | 100.00              | 54.54                 | 100.00                 | 63.64             | 72.73              |
|                                        | 14                     | 0.00                       | 0.00               | 100.00              | 100.00              | 53.85                 | 76.92                  | 76.92             | 46.15              |
|                                        | 28                     | 50.00                      | 0.00               | 91.67               | 100.00              | 50.00                 | 58.33                  | 83.33             | 83.33              |
| C2                                     | 0                      | 0.00                       | 0.00               | 100.00              | 100.00              | 33.33                 | 33.33                  | 25.00             | 41.67              |
|                                        | 7                      | 0.00                       | 0.00               | 100.00              | 100.00              | 18.18                 | 63.64                  | 45.45             | 54.54              |
|                                        | 14                     | 0.00                       | 0.00               | 100.00              | 100.00              | 37.50                 | 50.00                  | 37.50             | 87.50              |
|                                        | 28                     | 14.29                      | 0.00               | 100.00              | 100.00              | 28.57                 | 42.86                  | 28.57             | 14.29              |
| C1 组总耐药率<br>C1 total resistance rate/% |                        | 12.50                      | 0.00               | 97.92               | 100.00              | 45.83                 | 70.83                  | 62.50             | 58.33              |
| C2 组总耐药率<br>C2 total resistance rate/% |                        | 2.63                       | 0.00               | 100.00              | 100.00              | 28.95                 | 47.37                  | 34.21             | 50.00              |

表 4 3 个猪场 282 株肠球菌对 9 种抗菌药物的多重耐药性

| 耐药重数<br>Multiplicity of drug resistance | 多重耐药菌株数/株(占比/%) Number of multiresistant strains (Proportion/%) |                           |                          |                 |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------|
|                                         | 猪场 A<br>Pig farm A(n=141)                                       | 猪场 B<br>Pig farm B(n=121) | 猪场 C<br>Pig farm C(n=20) | 总计 Total(n=282) |
|                                         |                                                                 |                           |                          |                 |
| 七重 Seven-drug                           | 1(0.71)                                                         | 3(2.48)                   | 0(0.00)                  | 4(1.42)         |
| 六重 Six-drug                             | 14(9.93)                                                        | 3(2.48)                   | 4(20.00)                 | 21(7.45)        |
| 五重 Five-drug                            | 44(31.21)                                                       | 26(21.49)                 | 6(30.00)                 | 76(26.95)       |
| 四重 Four-drug                            | 43(30.50)                                                       | 42(34.71)                 | 5(25.00)                 | 90(31.91)       |
| 三重 Three-drug                           | 30(21.28)                                                       | 34(28.10)                 | 1(5.00)                  | 65(23.05)       |
| 二重 Two-drug                             | 9(6.38)                                                         | 11(9.09)                  | 4(20.00)                 | 24(8.51)        |
| 一重 One-drug                             | 0(0.00)                                                         | 2(1.65)                   | 0(0.00)                  | 2(0.71)         |
| 零重 Zero-drug                            | 0(0.00)                                                         | 0(0.00)                   | 0(0.00)                  | 0(0.00)         |

2.3 肠球菌对 ZnSO<sub>4</sub> 的敏感性

肠球菌标准菌株 ATCC29212 对 ZnSO<sub>4</sub> 的 MIC 为 12 mmol · L<sup>-1</sup>。肠球菌对锌的 MIC ≥ 12 mmol · L<sup>-1</sup>表示高耐受<sup>[12]</sup>。282 株肠球菌抗锌性的检测结果(图 2A)显示,147 株肠球菌对 ZnSO<sub>4</sub> 产生了高耐受,占比 52.13%。猪场 B 的肠球菌对 ZnSO<sub>4</sub> 最敏感(MIC<12 mmol · L<sup>-1</sup>),占比 57.85%,高于其他猪场;且猪场 B 的肠球菌还出现了 MIC 为 2、32 mmol · L<sup>-1</sup>的极端情况。各猪场肠球菌对 ZnSO<sub>4</sub> 的 MIC 均无显著差异(P>0.05)(图 3A)。各猪场保育猪分离的肠球菌抗锌性的检测结果(图 2B)显示:猪场 A 的肠球菌对 ZnSO<sub>4</sub> 的 MIC 均为 12 mmol · L<sup>-1</sup>;

猪场 B 的肠球菌对 ZnSO<sub>4</sub> 的 MIC 为 4~16 mmol · L<sup>-1</sup>,且 MIC 主要为 6、12 mmol · L<sup>-1</sup>(占比分别为 36.11%、36.11%);猪场 C 的肠球菌对 ZnSO<sub>4</sub> 的 MIC 为 6~24 mmol · L<sup>-1</sup>,且 MIC 主要为 8、12 mmol · L<sup>-1</sup>(占比均为 40.00%)。猪场 A 保育猪的肠球菌对 ZnSO<sub>4</sub> 的 MIC 极显著高于猪场 B(P<0.01),但与猪场 C 的差异不显著(P>0.05)(图 3B)。

2.4 肠球菌耐药基因和锌抗性基因的检出情况

对 282 株肠球菌 10 个耐药基因和 3 个锌抗性基因进行 PCR 检测,结果(表 5)显示,gyrA 的检出率最高(92.79%),tetM 的检出率为 85.58%,未检出 vanB。

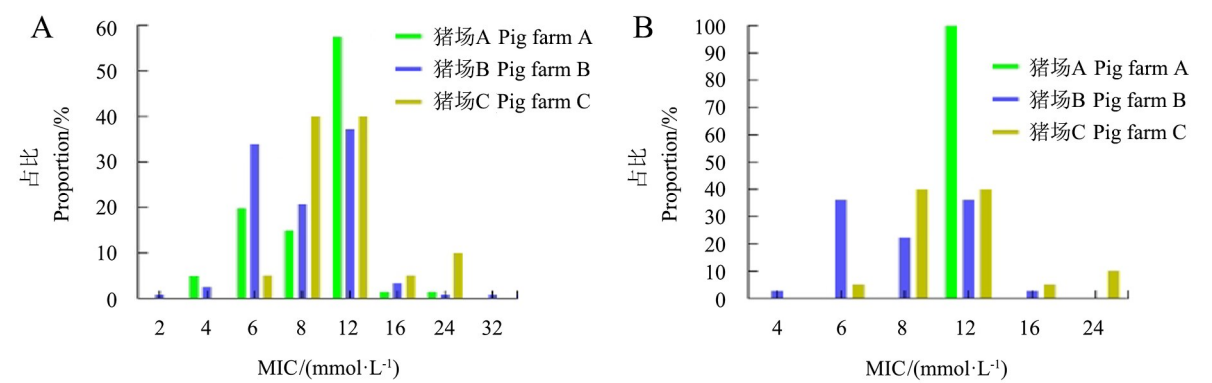
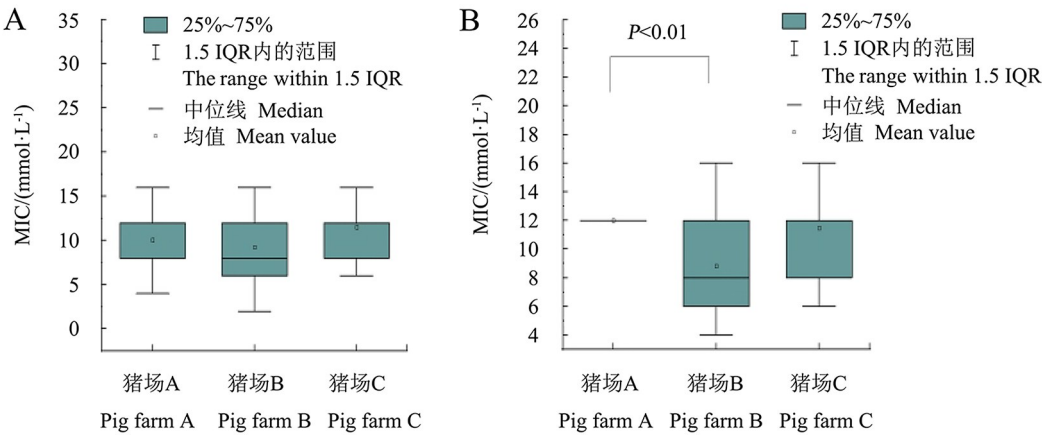


图2 3个猪场282株肠球菌(A)和保育猪源肠球菌(B)对ZnSO<sub>4</sub>的敏感性

Fig.2 Susceptibility of 282 *Enterococcus* strains from 3 pig farms (A) and *Enterococcus* from pig nursery (B) to  $\text{ZnSO}_4$



IQR 表示上四分位与下四分位的差值。IQR represents the difference between the upper and lower quartiles.

图3 282株肠球菌(A)和保育猪肠球菌(B)对ZnSO<sub>4</sub>敏感性的差异

Fig.3 Differences in  $\text{ZnSO}_4$  susceptibility between 282 *Enterococcus* (A) and *Enterococcus* from nursery pig (B)

表5 3个猪场282株肠球菌耐药基因和锌抗性基因的检出情况

Table 5 Detection of drug and zinc resistance genes in 282 *Enterococcus* strains

| 基因 Gene     | 菌株数/株(阳性率/%) Number of strains (Positive rate/%) |                              |                             |                    |
|-------------|--------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|--------------------|
|             | 猪场 A<br>Pig farm A (n = 141)                     | 猪场 B<br>Pig farm B (n = 121) | 猪场 C<br>Pig farm C (n = 20) | 总计 Total (n = 282) |
| <i>vanA</i> | 26 (18.44)                                       | 0 (0.00)                     | 0 (0.00)                    | 26 (9.22)          |
| <i>vanB</i> | 0 (0.00)                                         | 0 (0.00)                     | 0 (0.00)                    | 0 (0.00)           |
| <i>ermA</i> | 33 (23.40)                                       | 60 (49.59)                   | 8 (40.00)                   | 101 (35.82)        |
| <i>ermB</i> | 91 (65.54)                                       | 83 (68.60)                   | 10 (50.00)                  | 184 (65.25)        |
| <i>mefA</i> | 0 (0.00)                                         | 0 (0.00)                     | 0 (0.00)                    | 0 (0.00)           |
| <i>gyrA</i> | 128 (90.78)                                      | 118 (97.52)                  | 19 (95.00)                  | 265 (93.97)        |
| <i>tetM</i> | 127 (90.07)                                      | 116 (95.87)                  | 14 (70.00)                  | 257 (91.13)        |
| <i>tetS</i> | 0 (0.00)                                         | 13 (10.74)                   | 4 (20.00)                   | 17 (6.03)          |
| <i>tetG</i> | 45 (31.91)                                       | 30 (24.79)                   | 6 (30.00)                   | 81 (28.72)         |
| <i>tetL</i> | 124 (87.94)                                      | 103 (85.12)                  | 17 (85.00)                  | 244 (86.52)        |
| <i>zntA</i> | 45 (31.91)                                       | 66 (54.55)                   | 7 (35.00)                   | 118 (41.84)        |
| <i>czrA</i> | 32 (22.70)                                       | 43 (35.54)                   | 8 (40.00)                   | 83 (29.43)         |
| <i>czcD</i> | 26 (18.44)                                       | 46 (38.02)                   | 5 (25.00)                   | 75 (26.60)         |

2.5 肠球菌对抗菌药物的耐药性与抗锌性的相关性

表6显示,282株肠球菌对9种抗菌药物的耐药性与抗锌性均表现出一定的弱相关。肠球菌对

氨苄西林、红霉素、呋喃妥因、亚胺培南的耐药性与抗锌性呈负相关( $R<0$ ),其中,对呋喃妥因的耐药性与抗锌性呈显著负相关( $R<0, P<0.05$ );肠球菌

对万古霉素、四环素、环丙沙星、氯霉素、利福平的耐药性与抗锌性呈正相关 ( $R>0$ ), 其中, 对利福平的耐药性与抗锌性呈显著正相关 ( $R>0, P<0.05$ )。

由表 7 可知, 282 株肠球菌 *zntA-czrA-czcD* 与

*gyrA*、*ermB* 呈负相关 ( $R<0$ ), 与 *tetG* 呈显著负相关 ( $R<0, P<0.05$ ), 与 *tetM*、*ermA* 呈正相关 ( $R>0$ ), 与 *tetS*、*tetL* 呈显著正相关 ( $R>0, P<0.05$ )。

表 6 282 株肠球菌对 9 种抗菌药物的耐药性与抗锌性的相关性

| 抗菌药物 Antibiotic    | 抗锌性 Zinc resistance |          | 抗菌药物 Antibiotic     | 抗锌性 Zinc resistance |          |
|--------------------|---------------------|----------|---------------------|---------------------|----------|
|                    | <i>R</i>            | <i>P</i> |                     | <i>R</i>            | <i>P</i> |
| 氨苄西林 Ampicillin    | -0.033              | 0.552    | 氯霉素 Chloramphenicol | 0.053               | 0.342    |
| 万古霉素 Vancomycin    | 0.062               | 0.271    | 利福平 Rifampicin      | 0.264               | 0.000    |
| 红霉素 Erythromycin   | -0.028              | 0.629    | 呋喃妥因 Furadantin     | -0.340              | 0.000    |
| 四环素 Tetracycline   | 0.026               | 0.115    | 亚胺培南 Imipenem       | -0.033              | 0.580    |
| 环丙沙星 Ciprofloxacin | 0.092               | 0.103    |                     |                     |          |

表 7 282 株肠球菌锌抗性基因与耐药基因的相关性

| Table 7 Correlation between zinc and drug resistance genes of 282 <i>Enterococcus</i> strains |              |             |             |             |             |             |             |             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 锌抗性基因 Zinc resistance gene                                                                    | 指标 Indicator | <i>gyrA</i> | <i>tetG</i> | <i>tetS</i> | <i>tetM</i> | <i>tetL</i> | <i>ermA</i> | <i>ermB</i> |
| <i>zntA</i>                                                                                   | <i>R</i>     | -0.302      | -0.302      | 0.079       | 0.027       | 0.128       | 0.054       | -0.106      |
|                                                                                               | <i>P</i>     | 0.571       | 0.000       | 0.159       | 0.636       | 0.022       | 0.334       | 0.058       |
| <i>czrA</i>                                                                                   | <i>R</i>     | -0.018      | -0.313      | 0.119       | -0.066      | 0.082       | 0.099       | -0.206      |
|                                                                                               | <i>P</i>     | 0.751       | 0.000       | 0.014       | 0.239       | 0.145       | 0.078       | 0.000       |
| <i>czcD</i>                                                                                   | <i>R</i>     | -0.009      | -0.297      | 0.082       | 0.049       | 0.109       | 0.116       | -0.075      |
|                                                                                               | <i>P</i>     | 0.897       | 0.000       | 0.144       | 0.379       | 0.052       | 0.038       | 0.183       |
| <i>zntA-czrA-czcD</i>                                                                         | <i>R</i>     | -0.014      | -0.270      | 0.112       | 0.016       | 0.141       | 0.050       | -0.104      |
|                                                                                               | <i>P</i>     | 0.808       | 0.000       | 0.045       | 0.774       | 0.012       | 0.369       | 0.063       |

3 讨论

肠球菌普遍存在于人和动物的肠道中, 有研究表明肠球菌是对人和动物无害的共栖菌<sup>[13]</sup>; 但越来越多的调查和研究显示, 肠球菌作为条件致病菌可导致人和动物产生多种疾病甚至死亡, 是重要的致病菌<sup>[3]</sup>。

本研究分离的肠球菌对氨苄西林和亚胺培南高度敏感, 其耐药率分别为 3.55%、11.70%; 对其他抗菌药物呈现出不同程度的耐药性, 其中对四环素和红霉素的耐药率最高, 均达 93.00%。此结果与姚晓慧等<sup>[14]</sup>、李金磊等<sup>[15]</sup>报道的猪源性肠球菌耐药情况没有明显差异, 可能与近些年四环素类抗菌药物的广泛使用有关。本研究分离的肠球菌对呋喃妥因的耐药率为 44.33%, 此结果与冯雯雯等<sup>[16]</sup>的研究结果一致; 对利福平的耐药率 (60.00%) 高于江苏北部地区 (34.07%)<sup>[17]</sup>。Aarestrup et al<sup>[18]</sup>在牛的饲料中添加铜和锌, 牛粪便中的肠球菌对氯霉素的 MIC 升高, 此结果与本研究猪场 C 对氯霉素的耐药率低于其他两个猪场的结果相符。2000 年初, 研究者发现动物源性金黄色葡萄球菌

对  $\text{ZnCl}_2$  的正常 MIC 为  $0.25 \sim 2.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 与正常体内的锌稳态相容<sup>[18]</sup>; 但到了 2010 年, 在 75% 的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) ST398 菌株中发现的 MIC 为  $4 \sim 12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 因此被认为具有抗  $\text{ZnCl}_2$  的能力<sup>[19]</sup>。Fard et al<sup>[20]</sup>检测了猪粪便源肠球菌, 显示有 40% 的分离株 (主要是粪肠球菌) 对锌具有高水平或中等水平抗性; 本研究共分离到 147 株对锌的  $\text{MIC} \geq 12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的肠球菌, 占比 52.13%, 其中, 猪场 A 的占比最高 (60.28%), 其次是猪场 C (55.00%)。猪场 C 组仔猪断奶后一直使用  $150 \text{ g} \cdot \text{t}^{-1}$  基础锌和  $500 \text{ g} \cdot \text{t}^{-1}$  纯植物替代 AGP, 但其哺乳母猪的饲料含有高剂量 ZnO, 且该猪场之前在饲料中正常添加 ZnO, 推测发生了耐锌肠球菌的垂直传播, 这需对该组哺乳母猪和仔猪的肠球菌进行同源性分析。

本研究中, 从猪场 B 分离的肠球菌对  $\text{ZnSO}_4$  的敏感性高于其他两个猪场, 从猪各生长阶段分离的肠球菌对  $\text{ZnSO}_4$  的敏感性均高于猪场 A, 但差异不显著; 从猪场 A 保育猪分离的肠球菌对  $\text{ZnSO}_4$  的敏感性显著高于猪场 B ( $P<0.05$ ), 这可能是因为 ZnO 的添加主要是用于治疗断奶仔猪腹泻, 因此在保育

阶段更多地使用 ZnO。本研究也发现肠球菌对抗菌药物的耐药性与抗锌性相关,而猪场 B 从未使用 AGP,这可能也是导致猪场 B 对锌的敏感性高于猪场 A 的原因。

Seiler et al<sup>[21]</sup>指出,用于动物养殖和水产养殖的重金属可以通过共选作用间接影响细菌对抗菌药物的耐药性,并且能促进耐药性的传播。高剂量锌的长期使用会导致细菌产生锌抗性,而重金属抗性基因与耐药基因常位于同一遗传元件上,故重金属锌的使用会在一定程度上影响细菌耐药性。有研究发现,细菌对铜的抗性通常与其对大环内酯类和糖肽类抗药性相关<sup>[22]</sup>。本研究中,从3个猪场分离的肠球菌对锌的 MIC 均无显著差异( $P>0.05$ );但对于保育猪,猪场 A 与猪场 B 的肠球菌对锌的 MIC 出现极显著差异( $P<0.01$ ),这可能与养殖者为预防断奶仔猪腹泻而在饲料中添加过多的 ZnO 有关。为了进一步探究肠球菌对抗菌药物的耐药性是否与抗锌性相关,本研究使用 SPSS 软件分析了肠球菌对抗菌药物的耐药表型与锌表型之间的相关性,发现肠球菌对不同抗菌药物的耐药表型与锌表型表现出不同的相关性:对氨苄西林、红霉素、呋喃妥因、亚胺培南的耐药性与抗锌性呈负相关,其中对呋喃妥因的耐药性与抗锌性表现为显著的负相关;对四环素、环丙沙星、氯霉素、利福平的耐药性与抗锌性呈正相关,其中对利福平的耐药性与抗锌性表现为显著的正相关。推测重金属锌可作为选择压力影响肠球菌对抗菌药物的耐药性。

*tetM* 是肠球菌中最常见的四环素抗性基因。研究表明:猪源性肠球菌分离物中最流行的对四环素耐药的基因为 *tetM* 和 *tetL*<sup>[23-24]</sup>。四环素抗性基因 *tetL* 和 *tetG* 为编码外排泵的基因,*tetM* 和 *tetS* 为编码核糖体保护蛋白的基因。本研究中,猪源性肠球菌对四环素类耐药的 *tetS* 的检出率仅为 6.03%,而 *tetM* 和 *tetL* 的检出率分别为 91.13%、86.52%,高于王送林<sup>[25]</sup>对湖南某猪场肠球菌 *tetM* 的检出率。由于大多数对四环素具有抗性的肠球菌也对红霉素具有抗性,且 *tetM* 经常与高度可移动的结合转座子 Tn1545 上的 *ermB* 相关<sup>[26]</sup>,本研究对 3 个猪场 *tetM* 和 *ermB* 的检出情况一致。本研究对 3 个猪场肠球菌 *tetG* 和 *tetS* 的检出率差异不大,可能是肠球菌对四环素耐药的 *tetG* 和 *tetS* 没有处于主导地位;

对肠球菌 *gyrA* 的检出率高达 93.97%,其中对环丙沙星耐药的 *gyrA* 的检出率为 92.68%,对环丙沙星敏感的 *gyrA* 的检出率也高达 93.26%。*gyrA* 是否与耐药有关,还需分析是否由 *gyrA* 突变引起,这需要对这些阳性菌株进行基因测序。

万古霉素 1956 年被发现以来,一直用于治疗革兰氏阳性细菌的感染。VRE 被发现以后,研究者已在肠球菌属鉴定出针对万古霉素的 9 种抗性基因 *vanA*、*vanB*、*vanC*、*vanD*、*vanE*、*vanG*、*vanL*、*vanM*、*vanN*<sup>[27]</sup>。*vanA* 和 *vanB* 型在 VRE 中普遍存在,*vanA* 型赋予肠球菌对万古霉素的耐药性( $MIC>64\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ),并在所有基因型中处于主导地位<sup>[28]</sup>。流行病学研究显示,我国分离的 VRE 的基因型主要为 *vanA*、*vanB*、*vanM* 型<sup>[29]</sup>。本研究检测到 2 株 VRE,基因型为 *vanA* 型,来源于猪场 B 的中猪和大猪,猪场 B 虽然在饲料中不添加抗菌药物,但在猪细菌病的治疗中可能会使用泰乐菌素,泰乐菌素的使用可能会选择出对万古霉素耐药的基因,因为 *ermB* 与 *vanA* 位于同一可遗传元件上<sup>[30]</sup>。据报道,革兰氏阳性菌锌转运体操纵子含有结构基因 *zntA* 和调控基因 *zntR*,*zntA* 编码跨膜蛋白,负责细菌中锌和钴离子的流出,而 *zntR* 则编码调控蛋白,*zntA* 和 *zntR* 在染色体片段中形成 3.2 kb 的开放阅读框,赋予细菌对重金属离子的抗性<sup>[31]</sup>。本研究中,猪场 B 肠球菌对锌的 MIC 总体上较其他两个猪场低,但锌抗性基因 *zntA* 和 *czcD* 的检出率却高于其他两个猪场,其中,猪场 B 的检出率显著高于猪场 A ( $P<0.05$ )。李侃竹等<sup>[32]</sup>研究表明,污水中细菌对红霉素耐药的基因与重金属铬、铜、锌、铅之间存在一定的正相关性,表明环境中的重金属与细菌耐药性有着一定的联系。本研究结果显示,肠球菌对红霉素耐药的基因 *ermA* 与锌抗性基因呈正相关,但 *ermB* 与锌抗性基因呈负相关,而 *ermA* 和 *ermB* 均为核糖体甲基化酶基因。

2020 年前,抗菌药物在畜禽养殖过程中常被作为饲料添加剂,用于促进动物生长及预防疾病,导致大量使用的抗菌药物在动物粪便中高度残留,而粪便是环境中抗菌药物污染的主要来源。在饲料中使用亚治疗水平的抗菌药物导致动物粪便中细菌对抗菌药物耐药性的增强;此外,通过在饲料中添加重金属锌来促进动物生长及预防疾病,也会



为细菌的耐药性提供长期的选择压力。本研究在肠球菌中检测出多种对抗菌药物耐药的基因,且耐药基因与铋抗性基因具有一定的相关性,此结果可为后期养殖临床上抗菌药物和 ZnO 的使用提供一定的依据。

## 参考文献 (References)

- [1] COLLINS M D, RODRIGUES U M, PIGOTT N E, et al. *Enterococcus dispar* sp. nov. a new *Enterococcus* species from human sources[J]. Letters in Applied Microbiology, 1991, 12(3): 95–98. DOI: 10.1111/j.1472-765x.1991.tb00514.x.
- [2] 裴利君, 杨巧丽, 王鹏飞, 等. 合作猪夏冬季的肠道菌群结构[J]. 甘肃农业大学学报, 2021, 56(4): 8–15. DOI: 10.13432/j.cnki.jgsau.2021.04.002.
- PEI L J, YANG Q L, WANG P F, et al. Study on the structure of intestinal microflora in Hezuo pigs in summer and winter[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2021, 56(4): 8–15. DOI: 10.13432/j.cnki.jgsau.2021.04.002.
- [3] FIORE E, VAN TYNE D, GILMORE M S. Pathogenicity of enterococci [J]. Microbiol Spectr, 2019, 7(4): 10. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0053-2018.
- [4] AMINOV R I, MACKIE R I. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes[J]. FEMS Microbiology Letters, 2007, 271(2): 147–161. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2007.00757.x.
- [5] XU Y, XU J, MAO D Q, et al. Effect of the selective pressure of sub-lethal level of heavy metals on the fate and distribution of ARGs in the catchment scale[J]. Environmental Pollution, 2017, 220: 900–908. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.10.074.
- [6] MARTINEZ J L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants [J]. Environmental Pollution, 2009, 157(11): 2893–2902. DOI: 10.1016/j.envpol.2009.05.051.
- [7] MEDARDUS J J, MOLLA B Z, NICOL M, et al. In-feed use of heavy metal micronutrients in U.S. swine production systems and its role in persistence of multidrug-resistant salmonellae[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(7): 2317–2325. DOI: 10.1128/AEM.04283-13.
- [8] NICHOLSON F A, SMITH S R, ALLOWAY B J, et al. An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales[J]. The Science of the Total Environment, 2003, 311(1/2/3): 205–219. DOI: 10.1016/S0048-9697(03)00139-6.
- [9] WILLIAMS R F. Some features of antibiotic resistance in staphylococci: mercury resistance and multiple antibiotic resistance[J]. Proceedings of the Royal Society of Medicine, 1971, 64(5): 540–544.
- [10] RICHMOND M H, PARKER M T, JEVONS M P, et al. High penicillinase production correlated with multiple antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*[J]. The Lancet, 1964, 283: 293–296. DOI: 10.1016/S0140-6736(64)92407-9.
- [11] BAKER-AUSTIN C, WRIGHT M S, STEPANAUSKAS R, et al. Co-selection of antibiotic and metal resistance[J]. Trends in Microbiology, 2006, 14(4): 176–182. DOI: 10.1016/j.tim.2006.02.006.
- [12] RENSING C, MOODLEY A, CAVACO L M, et al. Resistance to metals used in agricultural production[J]. Microbiology Spectrum, 2018, 6(2): 1128. DOI: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0025-2017.
- [13] ROUTSI C, PLATSOUKA E, WILLEMS R J L, et al. Detection of enterococcal surface protein gene (*esp*) and amplified fragment length polymorphism typing of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* during its emergence in a Greek intensive care unit[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41(12): 5742–5746. DOI: 10.1128/JCM.41.12.5742-5746.2003.
- [14] 姚晓慧, 全慧娴, 王舒丰, 等. 我国 18 个省份猪源肠球菌耐药调查及分析[J]. 中国动物传染病学报, 2021, 29(2): 82–87.
- YAO X H, TONG H X, WANG S F, et al. Antibiotic resistance of *Enterococcus* species isolated from pig farms in 18 provinces of China[J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2021, 29(2): 82–87.
- [15] 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(4): 122–127. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5038.2018.04.026.
- LI J L, DONG P, DI Y R, et al. Isolation, identification and antimicrobial resistance analysis of *Enterococcus faecalis* from swine and chickens in some areas of Henan Province[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2018, 39(4): 122–127. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5038.2018.04.026.
- [16] 冯雯雯, 杜昕昕, 曹宾霞, 等. 五种动物源肠球菌耐药性监测[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2011(9): 122–124.
- FENG W W, DU X X, CAO B X, et al. Surveillance of drug resistance of five kinds of enterococci from animals [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2011(9): 122–124.
- [17] 高懿, 黄金虎, 陈丽, 等. 江苏北部地区猪源屎肠球菌耐药性分析及其酰胺醇类耐药基因的检测[J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(2): 322–327.

- GAO Y, HUANG J H, CHEN L, et al. Antimicrobial susceptibility and amphenicols resistance genes in *Enterococcus faecium* isolated from swine in the northern of Jiangsu Province[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2019, 42(2): 322-327.
- [18] AARESTRUP F M, HASMAN H. Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection[J]. Veterinary Microbiology, 2004, 100(1/2): 83-89. DOI: 10.1016/j.vetmic.2004.01.013.
- [19] AARESTRUP F M, CAVACO L, HASMAN H. Decreased susceptibility to zinc chloride is associated with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* CC398 in Danish swine[J]. Veterinary Microbiology, 2010, 142(3/4): 455-457. DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.10.021.
- [20] FARD R M N, HEUZENROEDER M W, BARTON M D. Antimicrobial and heavy metal resistance in commensal enterococci isolated from pigs[J]. Veterinary Microbiology, 2011, 148(2/3/4): 276-282. DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.09.002.
- [21] SEILER C, BERENDONK T U. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 399. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00399.
- [22] HASMAN H, AARESTRUP F M. *crB*, a gene conferring transferable copper resistance in *Enterococcus faecium*: occurrence, transferability, and linkage to macrolide and glycopeptide resistance[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(5): 1410-1416. DOI: 10.1128/AAC.46.5.1410-1416.2002.
- [23] WILCKS A, ANDERSEN S R, LICHT T R. Characterization of transferable tetracycline resistance genes in *Enterococcus faecalis* isolated from raw food[J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, 243(1): 15-19. DOI: 10.1016/j.femsle.2004.11.028.
- [24] AARESTRUP F M, AGERSO Y, GERNER-SMIDT P, et al. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark[J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2000, 37(2): 127-137. DOI: 10.1016/S0732-8893(00)00130-9.
- [25] 王送林.猪源肠球菌的分离鉴定及其部分特性研究[D].长沙:湖南农业大学, 2015.
- WANG S L. Isolation and research of partial characteristics on porcine enterococci[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2015.
- [26] AHMAD A, GHOSH A, SCHAL C, et al. Insects in confined swine operations carry a large antibiotic resistant and potentially virulent enterococcal community[J]. BMC Microbiology, 2011, 11(1): 23. DOI: 10.1186/1471-2180-11-23.
- [27] TZAVARAS I, SIARKOU V I, ZDRAGAS A, et al. Diversity of vanA-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from broilers, poultry slaughterers and hospitalized humans in Greece[J]. J Antimicrob Chemother, 2012, 67(8): 1811-1818. DOI: 10.1093/jac/dks166.
- [28] RAZA T, ULLAH S R, MEHMOOD K, et al. Vancomycin resistant enterococci: a brief review[J]. Journal of the Pakistan Medical Association, 2018, 68(5): 768-772.
- [29] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2017年CHINET中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2018, 18(3): 241-251. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2020.01.001.
- HU F P, GUO Y, ZHU D S, et al. CHINET surveillance of bacterial resistance in China: 2017 report[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2018, 8(3): 241-251. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2020.01.001
- [30] HAMMERUM A M. Enterococci of animal origin and their significance for public health[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2012, 18(7): 619-625. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.03829.x.
- [31] CHUDOBOVA D, DOSTALOVA S, BLAZKOVA I, et al. Effect of ampicillin, streptomycin, penicillin and tetracycline on metal resistant and non-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2014, 11(3): 3233-3255. DOI: 10.3390/ijerph110303233.
- [32] 李侃竹, 高品, 王凯, 等. 污水中抗生素与重金属对红霉素抗药性基因的选择性效应[J]. 中国环境科学, 2015, 35(3): 889-896.
- LI K Z, GAO P, WANG K, et al. Selective pressure of antibiotics and heavy metals on erythromycin resistance genes in wastewater[J]. China Environmental Science, 2015, 35(3): 889-896.

(责任编辑:施晓棠)