

# 不同来源屎肠球菌的全基因组序列分析

王春娥, 石继春, 徐 潇, 李 康, 梁 丽, 陈 驰, 龙新星, 叶 强\*, 徐颖华\*

(中国食品药品检定研究院中国医学细菌保藏管理中心, 国家卫生健康委员会生物技术产品检定方法及其标准化重点实验室, 国家药品监督管理局生物制品质量研究与评价重点实验室, 北京 102629)

**摘要:** **目的** 了解不同分离来源的屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)标准菌株的全基因组特征。**方法** 采用高通量测序技术对中国医学细菌保藏管理中心保藏的分离于食品和临床患者的 6 株屎肠球菌标准菌株进行全基因组测序, 采用 velvet 1.2.03 和 glimmer 3.02 等生物信息学软件对测序数据进行基因组组装、基因预测及功能注释, 分析基因组中所含耐药基因和毒力基因; 并与已发表的 6 株临床分离的代表性屎肠球菌进行核心基因组和泛基因组比较分析, 构建系统发育分子进化树。**结果** 6 株屎肠球菌标准菌株的基因组序列大小约为 2.9 Mbp, 不同菌株基因组中共鉴定出 2669~3085 个基因, 平均 G+C 含量为 38.0%; 基因组耐药基因注释分析发现, 每株屎肠球菌含有 21~37 种数量不等的耐药基因, 食品来源菌株所携带耐药基因明显少于临床分离株( $P=0.009$ )。而不同来源菌株之间所含毒力基因数量无显著性差异, 含有 5~8 种数量不等的毒力基因, 其中参与生物膜形成的基因 *BopD* 和胆盐水解酶基因 *bsh* 存在于所有菌株中。比较基因组学分析结果显示, 随着屎肠球菌基因组测序数量的增加, 泛基因组所含基因数量随之增加, 而核心基因组则趋于稳定。全基因组的系统发育树进化分析结果显示, 12 株屎肠球菌被分成 3 个进化分支, 其中 5 株食品来源的菌株均分布在同一个进化分支。**结论** 本研究获得 6 株屎肠球菌标准菌株的全基因组序列, 证实食品来源菌株均携带一定数量的耐药基因和毒力基因, 提示应加强食源性菌株的安全监测。本研究结果可为后续屎肠球菌耐药机制、致病性等研究提供数据支持。

**关键词:** 屎肠球菌; 不同来源; 全基因组序列分析; 食源性微生物

## Whole genome sequence analysis of *Enterococcus faecium* from different sources

WANG Chun-E, SHI Ji-Chun, XU Xiao, LI Kang, LIANG Li, CHEN Chi, LONG Xin-Xing,  
YE Qiang\*, XU Ying-Hua\*

(Key Laboratory for Research on Quality and Standardization of Biotech Products of National Health Commission, Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Biological Products of National Medical Products Administration, National Center for Medical Culture Collections, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

**基金项目:** 国家重点研发计划项目(2018YFC1603900)、国家科技重大专项(2018ZX10102-001)、国家科技基础条件平台项目(NMRC-2021-2)

**Fund:** Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1603900), the National Science and Technology Major Project of China (2018ZX10102-001), and the National Research and Development Infrastructure and Facility Development Program of China (NMRC-2021-2)

\*通信作者: 叶 强, 硕士, 主任技师, 主要研究方向为医学微生物菌种资源的管理及呼吸道细菌疫苗的质量控制。E-mail: qiangyee@nifdc.org.cn

徐颖华, 博士, 研究员, 主要研究方向为细菌性疫苗质量控制与微生物资源标准化研究。E-mail: xuyh@nifdc.org.cn

\*Corresponding author: YE Qiang, Master, Chief Technician, Key Laboratory for Research on Quality and Standardization of Biotech Products of National Health Commission, Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Biological Products of National Medical Products Administration, National Center for Medical Culture Collections, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 102629, China. E-mail: qiangyee@nifdc.org.cn

XU Ying-Hua, Ph.D, Professor, Key Laboratory for Research on Quality and Standardization of Biotech Products of National Health Commission, Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Biological Products of National Medical Products Administration, National Center for Medical Culture Collections, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 102629, China. E-mail: xuyh@nifdc.org.cn

**ABSTRACT: Objective** To understand the whole genomic characteristics of standard strains of *Enterococcus faecium* from different sources. **Methods** High-throughput sequencing technology was used to sequence the whole genome of 6 standard strains of *E. faecium* isolated from food and clinical patients preserved by China Medical Bacteria Collection Center, bioinformatics software such as velvet 1.2.03 and glimmer 3.02 were used for gene assembly, gene prediction and functional annotation, the resistance genes and virulence genes contained in the genomes were analyzed; the core genome and pan-genome were compared with 6 strains of clinically isolated representative *E. faecium*s and a phylogenetic molecular evolutionary tree was constructed. **Results** The genome size of 6 strains of *E. faecium* standard strains was about 2.9 Mbp, and 2669–3085 genes were identified in the genomes of different strains, with an average G+C content of 38.0%. Annotation analysis showed that each *E. faecium* contained 21–37 resistance genes, and the drug resistance genes carried by food-derived strains were significantly less than that of clinical isolates ( $P=0.009$ ). However, there was no significant difference in the number of virulence genes between strains from different sources, and there were 5 to 8 virulence genes, among them, the gene *BopD* involved in biofilm formation and the bile salt hydrolase gene *bsh* existed in all strains. The comparative genomics analysis showed that with the increase of the number of *E. faecium* genomes, the number of genes contained in the pan-genome increased, while the core genome tended to be stable. The phylogenetic tree evolution analysis showed that the 12 strains of *E. faecium* were divided into 3 evolutionary clades, of which 5 food-derived strains were all distributed in the same evolutionary clade. **Conclusion** The whole genome sequences of 6 strains of *E. faecium* standard strains were obtained in this study, confirming that the food-derived strains all carried a certain number of drug resistance genes and virulence genes, suggesting that the safety monitoring of food-derived strains should be strengthened. These findings can provide data supports for subsequent studies on the resistance mechanism and pathogenicity of *E. faecium*.

**KEY WORDS:** *Enterococcus faecium*; different sources; whole genome sequence analysis; foodborne microorganisms

## 0 引言

屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)为革兰氏阳性菌,存在于土壤、水等环境中,亦是人和动物胃肠道中固有的微生物<sup>[1-2]</sup>。同时,由于某些屎肠球菌对动物和人类健康具有益生作用,在食品和饮料发酵等行业中具有重要应用价值<sup>[3-5]</sup>。但作为一种条件致病菌,近年来屎肠球菌在美国、欧洲和南美的感染率不断上升<sup>[6-10]</sup>。中国细菌耐药监测网显示逐年增多的肠球菌属检出均以屎肠球菌为主<sup>[11-15]</sup>。此外,由于细菌本身作为抗生素抗性基因的重要储存库,不同来源屎肠球菌的耐药及其使用安全性问题引起了广泛关注<sup>[16-18]</sup>。

近年来,随着生物技术的飞速发展及全基因组测序成本的大幅降低,利用高通量测序技术结合生物信息学分析已成为研究不同来源病原微生物的潜在致病性和耐药性预测的一种重要手段<sup>[19-20]</sup>。以前的研究主要集中在分离于临床患者的屎肠球菌基因组的研究<sup>[21-23]</sup>,为进一步全面了解不同来源屎肠球菌的全基因组特征,本研究采用高通量测序技术对 6 株分离于食品和临床患者的屎肠球菌标准菌株进行全基因组测序,与从美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)数据库中选取的已发表的 6 株屎肠球菌代表性临床菌株进行耐

药基因和毒力基因比较分析,并拟合核心基因组和泛基因组积累曲线,构建系统发育分子进化树,探讨不同来源菌株之间的差异及其遗传进化关系,为后续屎肠球菌耐药机制、致病性等研究提供数据支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株

6 株分离于食品和临床患者的屎肠球菌包括 CMCC(B) 32251、CMCC(B) 32252、CMCC(B) 32253、CMCC(B) 32254、CMCC(B) 32255 和 CMCC(B) 32477,均来自于中国食品药品检定研究院中国医学细菌保藏管理中心(National Center for Medical Culture Collections, CMCC);已发表的 6 株代表性菌株的基因组信息用于本研究比较基因组的生物信息分析,详细信息见表 1。

### 1.2 仪器与试剂

HiSeq 2500 基因组测序仪(美国 illumina 公司); 250A 细菌培养箱(北京中仪国科科技有限公司)。

胰酪大豆胨液体培养基、胰酪大豆胨琼脂培养基(美国 BD 公司); DNA 提取试剂盒(批号: 166039685, 德国 QIAGEN 公司)。

表 1 本研究所用屎肠球菌菌株信息  
Table 1 Information of *E. faecium* strains used in this study

菌株编号	分离来源	分离地点	分离/收藏时间	基因组数据来源
CMCC(B) 32251	食品	不详	2005	本研究
CMCC(B) 32252	食品	内蒙古	2006	本研究
CMCC(B) 32253	食品	内蒙古	2006	本研究
CMCC(B) 32254	食品	内蒙古	2006	本研究
CMCC(B) 32255	食品	不详	2006	本研究
CMCC(B) 32477	患者	河南	2019	本研究
C68	患者血液	美国	1998	NCBI: ACJQ00000000
E1162	患者血液	法国	1997	NCBI: ABQJ00000000
E1636	患者血液	荷兰	1961	NCBI: ABRY00000000
E1679	患者血液	巴西	1998	NCBI: ABSC00000000
TX0082	患者血液	美国	1999	NCBI: AEBU00000000
U0317	患者尿液	荷兰	2005	NCBI: ABSW00000000

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 细菌培养和基因组 DNA 提取

将 6 株屎肠球菌用胰酪大豆胨液体培养基复苏后,接种至胰酪大豆胨琼脂培养基中, 37°C 培养 18 h, 收集新鲜培养物, 按 DNA 提取试剂盒说明书对上述新鲜细菌培养物进行全基因组 DNA 提取, 所有 DNA 样品放置于 -80°C 保存备用。

#### 1.3.2 全基因组测序分析

参考文献[24], 应用 solexa 测序技术对 6 株屎肠球菌进行全基因组测序(由上海人类基因组研究中心完成)。即将上述提取的细菌基因组 DNA, 切胶纯化、制备基因组文库和扩增, 最后上机进行测序。

#### 1.3.3 生物信息学分析

应用 velvet 1.2.03 生物信息分析软件对上述下机测序 read 数据进行拼装, 采用 glimmer 3.02 分析软件进行各菌株拼装数据的基因预测。并分别利用 SEED 蛋白数据库和 CDD 数据库进行基因功能注释和直系同源簇(cluster of orthologous group, COG)分类。

基于在线分析工具 Virulence finder (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>)和 ResFinder (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>)分别对各菌株基因组中耐药基因和毒力基因进行预测分析。

同时将上述不同来源的屎肠球菌基因组与已发表的 6 株屎肠球菌代表性菌株<sup>[18]</sup>进行核心基因组(core-genome)和泛基因组(pan-genome)比较分析, 并进行核心基因的系统发育进化树分析。

#### 1.3.4 统计学分析

应用 SPSS 20 统计软件对食品来源和临床分离的屎肠

球菌基因组中毒力基因和耐药基因数量差异性进行单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  表示有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 屎肠球菌全基因组特征

全基因组测序分析结果显示, 6 株屎肠球菌测序数据经拼接比对, 基因组序列大小基本相似, 约 2.9 Mbp, 不同菌株基因组中鉴定出 2669~3085 个基因, 平均长度约为 902 bp, 平均编码基因占整个基因组序列为 86.3%; 6 株菌基因组 G+C 含量相似, 平均 G+C 含量为 38.0%, 详见表 2。

### 2.2 基因组中耐药基因分析

通过对基因组耐药基因注释证实, 本研究测序的 6 株屎肠球菌基因组中的 5 株食品来源的菌株中耐药基因数量除 CMCC(B) 32252 为 22 个外, 其余 4 株菌均为 21 个, 而分离于患者的 CMCC(B) 32477 中耐药基因数量为 27 个(表 3)。耐药基因涉及的作用机制涵盖抗生素失活、抗生素靶标转换或替换、抗生素外排、抗生素靶标保护。通过与其他发表的 6 株来源于患者的菌株综合分析, 发现 12 株屎肠球菌基因组共携带 52 种耐药基因, 预测显示 12 株菌株基因组均含有抗氨基糖苷类、大环内酯类、林可酰胺、肽类、四环素等耐药基因。统计学分析结果发现, 5 株食品来源菌株所携带耐药基因明显少于患者来源菌株( $P=0.009$ )。其中 C68 菌株携带耐药基因最多, 含有 37 个。

12 株菌株共同携带的耐药基因为 19 个, 多数为抗生素靶标转换或替换。例如, 3 个抗生素靶标保护相关基因(*eatA*、*msrC*、*rpsJ*)分别编码两种核糖体保护蛋白、耐四

环素核糖体保护蛋白, 从而分别产生对大环内酯类抗生素、林可胺及四环素的耐药性。同时还包含 3 个耐药外排泵基因(*efrA*、*efrB*、*efmA*), 其中 *efrA* 和 *efrB* 基因编码 EfrAB 外排泵的两个亚基; 此外, 共发现携带 3 种耐万古霉素基因簇: *vana* 型、*vanb* 型和 *vang* 型。*vana* 型和 *vang* 型基因簇分别在 E1679 和 TX0082、E1636 和 E1679 菌株中被发现, 而 *vanb* 型基因簇仅存在于 C68 菌株。本研究中所测序 6 株菌株均不携带万古霉素耐药基因。

### 2.3 基因组中毒力基因分析

毒力基因注释分析发现, 6 株测序菌株中含有 5~8 种数量不等的毒力基因(见图 1), 与已发表的 6 株基因组所含的毒力基因数量相似, 将 5 株食品来源与 7 株分离于患者菌株基因组中所含的毒力基因数量进行统计学分析, 结果无显著性差异( $P=0.066$ )。其中参与生物膜形成的基因 *BopD* 和胆盐水解酶基因 *bsh* 存在于所有菌株中; 而肠球菌表面蛋白基因(*Esp*)只存在于 C68 和 E1162 菌株中。

表 2 6 株屎肠球菌基因组特征  
Table 2 Genomic characteristics of 6 strains of *E. faecium*

菌株编号	CMCC(B) 32251	CMCC(B) 32252	CMCC(B) 32253	CMCC(B) 32254	CMCC(B) 32255	CMCC(B) 32477
基因组大小/bp	2996776	2822829	3085928	3086880	2800848	3160750
基因数量/个	2860	2745	2917	2892	2669	3085
编码区 G+C 含量/%	38.0	38.2	37.9	37.9	38.1	38.1
编码区比例/%	86.1	86.8	85.5	85.5	87.5	86.4
平均基因大小/bp	902	893	904	912	918	885
基因间区域大小/bp	416689	371505	446135	449124	350094	429298
基因间区域的 GC 含量/%	33.2	33.1	32.9	33	33.2	33.7
基因间区域比例/%	13.9	13.2	14.5	14.5	12.5	13.6

表 3 12 株屎肠球菌基因组耐药基因注释分析  
Table 3 Resistance genes contained in the genomes of 12 *E. faecium* strains

菌株编号	耐药基因数量/个	预测耐药基因产生抗性的抗生素*
CMCC(B) 32251	21	氨基糖苷类(1)、大环内酯类(4)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(1)、糖肽类抗生素(1)
CMCC(B) 32252	22	氨基糖苷类(2)、大环内酯类(4)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(1)、糖肽类抗生素(1)
CMCC(B) 32253	21	氨基糖苷类(1)、大环内酯类(3)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(1)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(1)、糖肽类抗生素(1)
CMCC(B) 32254	21	氨基糖苷类(1)、大环内酯类(4)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(1)、糖肽类抗生素(1)
CMCC(B) 32255	21	氨基糖苷类(1)、大环内酯类(4)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(1)、糖肽类抗生素(1)
CMCC(B) 32477	27	氨基糖苷类(4)、大环内酯类(5)、林可酰胺(2)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(1)、二氨基嘧啶(1)、糖肽类抗生素(1)
C68	37	氨基糖苷类(5)、大环内酯类(5)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(4)、二氨基嘧啶(1)、糖肽类抗生素(7)、核苷类抗生素(1)
E1162	24	氨基糖苷类(2)、大环内酯类(4)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(3)、糖肽类抗生素(1)
E1636	23	氨基糖苷类(1)、大环内酯类(4)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(2)、糖肽类抗生素(2)
E1679	35	氨基糖苷类(4)、大环内酯类(6)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、磷霉素(1)、四环素(1)、糖肽类抗生素(9)
TX0082	35	氨基糖苷类(4)、大环内酯类(5)、林可酰胺(1)、氨基香豆素(2)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(2)、糖肽类抗生素(8)、核苷类抗生素(1)、二氨基嘧啶(1)
U0317	27	氨基糖苷类(5)、大环内酯类(5)、林可酰胺(2)、氨基香豆素(1)、夫西地酸(2)、肽类抗生素(7)、厄法霉素(2)、四环素(1)、糖肽类抗生素(8)、二氨基嘧啶(1)

注: \*括号中数字代表所包含的耐药基因数量。

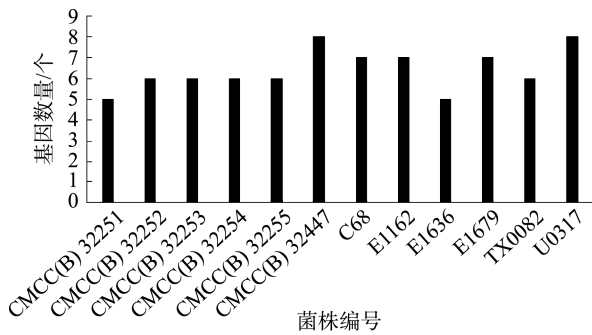


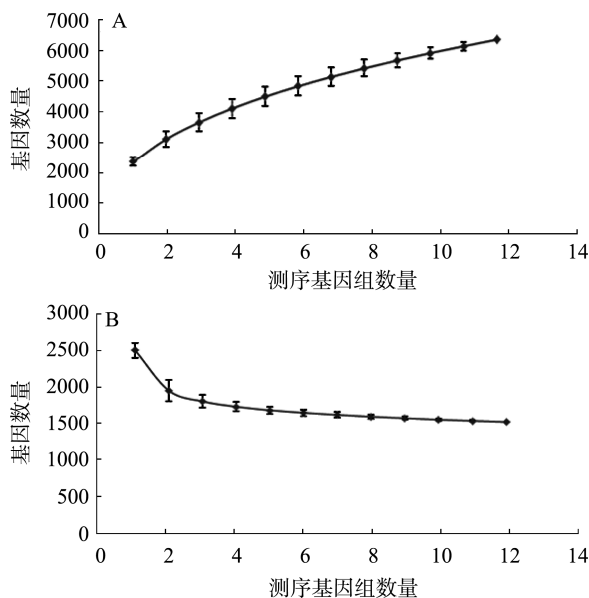
图 1 12 株屎肠球菌所携带的毒力基因

Fig.1 Virulence genes contained in the genomes of 12 *E. faecium* strains

## 2.4 泛基因组和核心基因组分析

通过比较基因组学分析,分别拟合了 12 株屎肠球菌核心基因组和泛基因组积累曲线(图 2),结果显示,随着测序菌株数量的增加,泛基因组大小随之增加,12 株屎肠球菌的泛基因组所含基因数量超过 6000 个基因,远多于单独每株所含的 2700~3000 个基因数量;相比较,核心基因组则随着不同屎肠球菌菌株数量的增加而趋于稳定,所基因数量维持在 1500 个左右。

对泛基因组和核心基因组中所含基因进行了 COG 功能分析,发现核心基因主要涉及翻译、核糖体结构和生物合成、碳水化合物运输和代谢、氨基酸的转运和代谢、核苷酸转运和代谢、脂质转运与代谢及等,占核心基因组中已知功能基因数量的 44.7%(表 4);而在泛基因组中含有参与复制、重组和修复、碳水化合物运输和代谢、防御机制的相关基因数量分别为 380、518 和 107 个,远高于核心基因组中的 78、123 和 28 个(表 4)。



注: A: 泛基因组; B: 核心基因组。

图 2 12 株屎肠球菌泛基因组和核心基因组的积累曲线分析

Fig.2 Accumulation curve analysis of the pan-genome and core-genome of 12 strains of *E. faecium*表 4 12 株屎肠球菌的泛基因组和核心基因组所含基因功能分类  
Table 4 Functional categories of core genome and pan-genome in 12 strains of *E. faecium* genomes

COG 功能分类	核心基因数量/个	泛基因数量/个	核心基因占泛基因组的比例/%
翻译、核糖体结构与生物合成	129	170	75.9
RNA 加工和修饰	0	0	0.0
转录	104	346	30.0
复制、重组和修复	78	380	20.5
染色质结构与动力	0	0	0.0
细胞周期调控、细胞分裂、染色体分割	18	51	35.3
细胞核结构	0	0	0.0
防御机制	28	107	26.2
信号转导机制	37	108	34.3
细胞壁、细胞膜、细胞外膜生物合成	69	248	27.9
细胞运动	9	18	50.0
细胞骨架	0	0	0.0
细胞外结构	0	0	0.0
细胞内运输、分泌和囊泡运输	12	41	29.3
翻译后修饰、蛋白质周转、分子伴侣	46	90	51.1
能量生产和转化	50	107	46.8
碳水化合物运输和代谢	123	518	23.7
氨基酸转运和代谢	108	195	55.4
核苷酸转运和代谢	66	87	75.9
辅酶转运与代谢	34	78	43.6
脂质转运与代谢	35	58	60.3
无机离子转运和代谢	73	145	50.3
次级代谢产物生物合成、转运和分解代谢	11	28	39.3
一般功能预测	182	389	46.8
未知功能	145	404	35.9
未分类	132	2426	5.4

## 2.5 系统发育分析

基于不同菌株的核心基因构建系统进化发育树,结果显示 12 株屎肠球菌被分成 3 个进化分支,所有食品来源的菌株均分布在同一个进化分支中,其中 CMCC(B) 32251 和 CMCC(B) 32255 进化距离较近,共处于进化树最末端(图 3)。而患者来源的 CMCC(B) 32477 与 U0317 菌株位于同一个亚分支,与其他菌株进化距离较远。

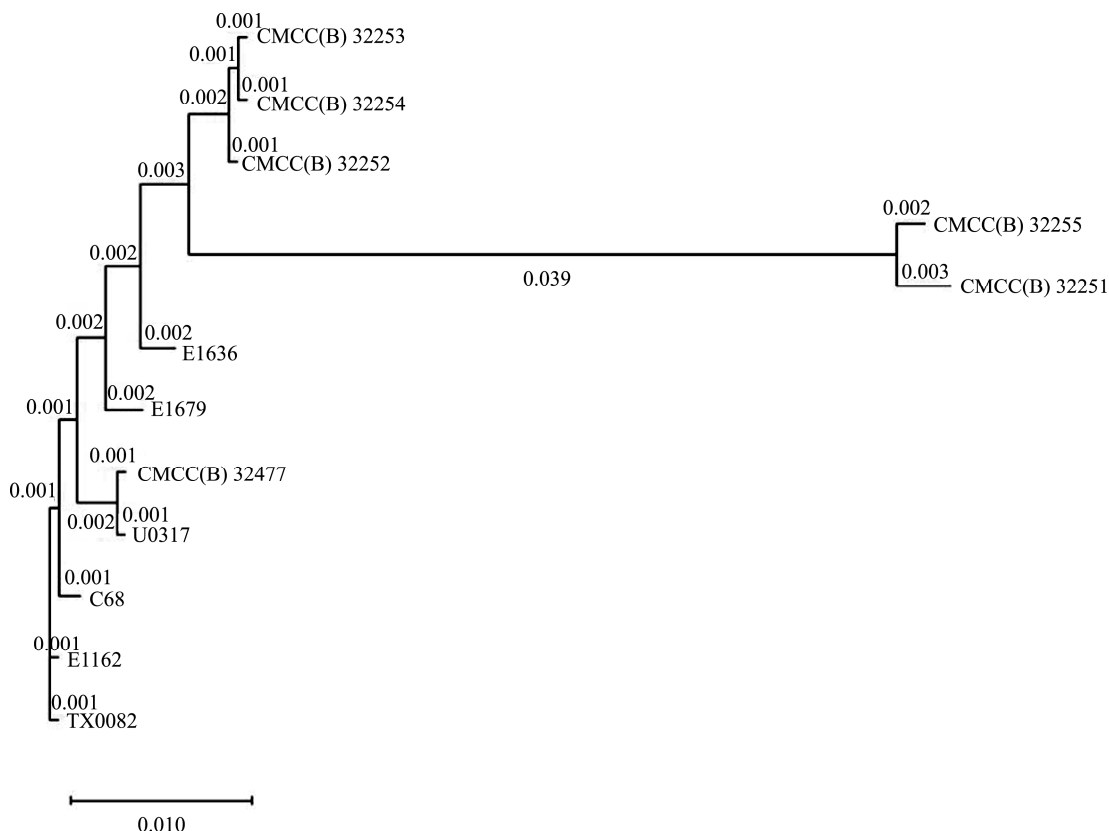


图 3 基于 12 株屎肠球菌核心基因组构建的系统进化发育树  
Fig.3 Phylogenetic tree of core genome based on 12 strains of *E. faecium*

### 3 结论与讨论

本研究对中国医学细菌保藏管理中心保藏的 6 株分离于食品和临床患者的屎肠球菌标准菌株进行了全基因组测序, 经比较分析证实 6 株屎肠球菌的菌株基因组大小相似, 平均 G+C 含量为 38.0%, 与文献报道基本一致<sup>[16,23,25]</sup>, 丰富了屎肠球菌标准菌株的全基因组特征性背景材料。

屎肠球菌细胞壁坚韧, 对多种抗菌药物如  $\beta$ -内酰胺类、氟喹诺酮类和氨基糖苷类抗菌药物等均具有耐药性, 尤其是近些年发现耐万古霉素菌株, 致使该菌感染的病死率有所升高<sup>[26-28]</sup>。尽管本研究 6 株测序菌株均未发现万古霉素耐药基因, 但 5 株食品来源菌株基因组中也存在 21 种耐药基因, 提示应加强屎肠球菌用于益生菌的安全性评估。另一方面, 食品来源菌株所携带耐药基因显著少于临床来源菌株, 尤其是临床分离菌株中含有大量耐万古霉素相关基因, 推测不同的生存环境导致这些菌株形成获得性耐药, 建议加强这些条件致病菌的耐药监控, 同时也需要开展合理应用抗生素的相关研究。

此外, 屎肠球菌可产生一些毒力相关的因子, 导致宿主感染<sup>[29]</sup>。毒力基因注释分析结果显示, 12 株屎肠球菌

基因组中含有 5~8 种数量不等的毒力基因, 所有菌株均携带参与生物膜合成的 *BopD* 基因, 使得屎肠球菌具有更强的存活能力和致病性, 提示应警惕屎肠球菌的食源性感染。

比较基因组学分析证实屎肠球菌的泛基因组为开放型, 而核心基因组为相对稳定型。进一步基因功能注释分析结果显示, 泛基因组所含基因扩展程度不同, 最大程度的扩展发生在参与复制、重组和修复的基因, 例如在泛基因组的 380 个复制、重组和修复相关基因中, 核心基因仅有 78 个, 表明屎肠球菌的开放型泛基因组具有高度的可塑性, 可能通过形成多种修复方式、防御机制等适应不同宿主环境而生存<sup>[30]</sup>; 参与翻译、核糖体结构与生物合成及核苷酸转运和代谢的基因扩张程度最小, 表明这两个功能类别的基因相对更为保守, 与维持细菌基本生命活动相关。基于全基因组水平的系统发育进化树提供了不同来源代表性菌株间的遗传进化关系, 5 株食品来源菌株均在同一个分支内, 推测不同来源菌株可能有不同的进化历程, 聚类有一定相关性, 但有待于后续采用更多菌株进行进一步验证。

综上所述, 本研究解析了 CMCC 保藏的 6 株分离于食

品和临床患者屎肠球菌标准菌株的全基因组序列, 获得各自基因组特征信息, 并证实食品来源菌株均携带一定数量的耐药基因及毒力基因, 提示应加强食源性菌株的监测。本研究可为后续探究屎肠球菌耐药机制、致病性以及分子进化规律等研究奠定基础。

## 参考文献

- [1] WILLEMS RJL, VAN SW. Transition of *Enterococcus faecium* from commensal organism to nosocomial pathogen [J]. *Future Microbiol*, 2009, 4(9): 1125–1135.
- [2] FAUZIA A, MUHAMMAD NK, SAFIA A, *et al.* Draft genome sequence of *Enterococcus faecium* SP15, a potential probiotic strain isolated from spring water [J]. *BMC Res Notes*, 2019, 12: 99.
- [3] SHI YF, ZHAI MK, LI JL, *et al.* Evaluation of safety and probiotic properties of a strain of *Enterococcus faecium* isolated from chicken bile [J]. *J Food Sci Technol*, 2020, 57(2): 578–587.
- [4] RAVEN KE, REUTER S, REYNOLDS R, *et al.* A decade of genomic history for healthcare-associated *Enterococcus faecium* in the United Kingdom and Ireland [J]. *Genome Res*, 2016, 26(10): 1388–1396.
- [5] BORD DA, DU T, HIZON R, *et al.* VanG-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* strains isolated in Canada [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(6): 2217–2221.
- [6] WERBER G, COQUE TM, HAMMERUM AM, *et al.* Emergence and spread of vancomycin resistance among *enterococci* in Europe [J]. *Eurosurveillance*, 2008, 13(47): 19046.
- [7] GOOSSENS H. Spread of vancomycin-resistant *enterococci*: Differences between the United States and Europe [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1998, 19(8): 546–551.
- [8] MARBJERG L, STOUGAARD CL, SØRENSEN SG, *et al.* A new tool for analyses of whole genome sequences reveals dissemination of specific strains of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a hospital [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021. DOI: 10.3389/fmed.2021.733676
- [9] COURVALIN P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci [J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 42(Suppl 1): S25–S34.
- [10] BOYD DA, CABRAL T, VAN CP, *et al.* Molecular characterization of the *vanE* gene cluster in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* N00-410 isolated in Canada [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46(6): 1977–1979.
- [11] 胡付品, 朱德妹, 汪夏, 等. 2015 年 CHINET 细菌耐药性监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2016, 16(6): 685–694.  
HU FP, ZHU DM, WANG F, *et al.* CHINET surveillance of bacterial resistance in China: 2015 report [J]. *Chin J Infect Chemother*, 2016, 16(6): 685–694.
- [12] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2016 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2017, 17(5): 481–491.  
HU FP, GUO Y, ZHU DM, *et al.* CHINET surveillance of bacterial resistance in China: 2016 report [J]. *Chin J Infect Chemother*, 2017, 17(5): 481–491.
- [13] 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.  
HU FP, GUO Y, ZHU DM, *et al.* CHINET surveillance of bacterial resistance in China: 2017 report [J]. *Chin J Infect Chemother*, 2018, 18(3): 241–251.
- [14] 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.  
HU FP, GUO Y, ZHU DM, *et al.* CHINET surveillance of bacterial resistance in China: 2018 report [J]. *Chin J Infect Chemother*, 2020, 20(1): 1–10.
- [15] 李耘, 郑波, 吕媛, 等. 中国细菌耐药监测研究 2019—2020 革兰氏阳性菌监测报告[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(4): 369–384.  
LI Y, ZHENG B, LV Y, *et al.* Antimicrobial susceptibility of gram-positive organisms: Results from China antimicrobial resistance surveillance trial (CARST) program, 2019—2020 [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2022, 38(4): 369–384.
- [16] EUN BK, MARIA LM. Nonclinical and clinical *Enterococcus faecium* strains, but not *Enterococcus faecalis* strains, have distinct structural and functional genomic features [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(1): 154–165.
- [17] MILLER WR, MURRAY BE, RICE LB. Resistance in vancomycin-resistant *Enterococci* [J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2020, 34(4): 751–771.
- [18] BOYD DA, WILLEY BM, FAWCETT D, *et al.* Molecular characterization of *Enterococcus faecalis* N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, *vanL* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(7): 2667–2672.
- [19] GOULIOURIS T, COLL F, LUDDEN C, *et al.* Quantifying acquisition and transmission of *Enterococcus faecium* using genomic surveillance [J]. *Nat Microbiol*, 2021, 6(1): 103–111.
- [20] DIAZ L, TRAN TT, MUNITA JM, *et al.* Whole-genome analyses of *Enterococcus faecium* isolates with diverse daptomycin MICs [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(8): 4527–4534.
- [21] LIESE J, SCHÜLE L, OBERHETTINGER P, *et al.* Expansion of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in an academic tertiary hospital in Southwest Germany: A large-scale whole-genome-based outbreak investigation [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(5): e01978-18.
- [22] TRAN TT, PANESSO D, GAO H, *et al.* Whole-genome analysis of a daptomycin-susceptible *Enterococcus faecium* strain and its daptomycin-resistant variant arising during therapy [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(1): 261–268.
- [23] MARGARET MC, TORSTEN S, DIETER MB, *et al.* Comparative analysis of the first complete *Enterococcus faecium* [J]. *J Bacteriol*, 2012, 194(9): 2334–2341.
- [24] 孙淑玥, 王珊珊, 崔生辉, 等. 食品来源粪肠球菌的全基因组分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(19): 7572–7577.

- SUN SY, WANG SS, CUI SH, *et al.* Complete genome analysis of food-derived *Enterococcus faecalis* [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(19): 7572–7577.
- [25] NIEDERHAUSERN S, BONDI M, MESSI P, *et al.* Vancomycin-resistance transferability from *vanA* *Enterococci* to *Staphylococcus aureus* [J]. *Curr Microbiol*, 2011, 62(5): 1363–1367.
- [26] QIN X, JESSICA RGP, SILLANPAA J, *et al.* Complete genome sequence of *Enterococcus faecium* strain TX16 and comparative genomic analysis of *Enterococcus faecium* genomes [J]. *BMC Microbiol*, 2012. DOI: 10.1186/1471-2180-12-135
- [27] LEE JH, SHIN D, LEE B, *et al.* Genetic diversity and antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* isolates from traditional Korean fermented soybean foods [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2017, 27(5): 916–924.
- [28] ABDELBARY MHH, SENN L, GREUB G, *et al.* Whole-genome sequencing revealed independent emergence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* causing sequential outbreaks over 3 years in a tertiary care hospital [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2019, 38(6): 1163–1170.
- [29] 高雯雯, 王莹, 梁倩, 等. 1 株屎肠球菌的全基因组序列测定及比较基因组分析[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(21): 2639–2646.
- GAO WW, WANG Y, LIANG Q, *et al.* Whole genome sequencing and comparative genomic analysis of a strain of *Enterococcus faecium* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2021, 38(21): 2639–2646.
- [30] HE QW, HOU QCH, WANG YJ, *et al.* Comparative genomic analysis of *Enterococcus faecalis*: Insights into their environmental adaptations [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 527.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

## 作者简介



王春娥, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为医学微生物菌种资源的标准化研究及肺炎球菌疫苗的质量控制。

E-mail: wangce@nifdc.org.cn



叶强, 硕士, 主任技师, 主要研究方向为医学微生物菌种资源的管理及呼吸道细菌疫苗的质量控制。

E-mail: qianguyee@nifdc.org.cn



徐颖华, 博士, 研究员, 主要研究方向为细菌性疫苗质量控制与微生物资源标准化研究。

E-mail: xuyh@nifdc.org.cn