

益生性肠球菌安全性评价研究进展与监管

鲁旭, 张影, 曾明 (中国食品药品检定研究院, 卫生部生物技术产品检定方法及其标准化重点实验室, 北京 102629)

摘要: 肠球菌目前作为益生菌的研究热点, 被应用于多种微生态制剂, 在胃肠道疾病等多种疾病的治疗和预防过程中发挥着重要作用。但肠球菌在某些条件下可能成为致病菌, 在临床报告的数据中, 有一部分院内感染就是由肠球菌引起。鉴于肠球菌的益生性和潜在的致病风险, 迫切需要对肠球菌的安全性进行评价。目前国内外的研究主要从耐药性和毒力因子方面评价肠球菌的安全性, 也有部分研究通过动物试验考察肠球菌的安全性, 结果均表明, 尚未发现益生性肠球菌的安全问题。

关键词: 肠球菌; 安全性; 毒力因子; 耐药性; 体内评价

中图分类号: R95 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2019)05-0555-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2019.05.009

Research Progress and Regulation of Safety Evaluation of Probiotic Enterococcus

Lu Xu, Zhang Ying, Zeng Ming (National Institutes for Food and Drug Control, Key Laboratory of the Ministry of Health for Research on Quality and Standardization of Biotech Product, Beijing 102629, China)

Abstract: Enterococcus is currently a research hotspot for probiotics and is used in a variety of microecological preparations and plays an important role in the treatment and prevention of various diseases such as gastrointestinal diseases. However, enterococcus may convert to pathogenic bacteria under certain conditions. According to some reported clinical data, some of nosocomial infections are caused by enterococcus. In view of the probiotic and potential pathogenic risk of enterococcus, it is urgent to evaluate the safety of enterococcus. At present, most domestic and foreign researches mainly evaluated the safety of enterococcus in terms of drug resistance and virulence factors. Some studies have also investigated the safety of enterococcus through animal experiments. All results showed that no safety problem of probiotic enterococcus has been found.

Keywords: enterococcus; safety; virulence factor; antibiotic resistance; evaluation in vivo

肠球菌 (*Enterococcus*) 属于乳酸菌 (LAB), 在环境、食品和临床微生物的组成中占有重要比例, 通常是人体和动物肠道菌群中的一类共生菌^[1-3]。

多年来, 肠球菌的益生作用不断被发现, 其广谱抑菌效果广泛应用于食品发酵和疾病治疗领

域^[4], 如含有肠球菌的发酵剂在欧洲常被用于奶酪生产^[5]。肠球菌在治疗肠道疾病方面也发挥重要作用, 如在溃疡性结肠炎、坏死性肠炎等胃肠道疾病上有较好的治疗前景和明显干预作用^[6-8], 在诱导肠道癌细胞的细胞凋亡等程序上也表现出积极效应^[9]。在我国, 多种含有肠球菌的微生态制品已

应用于治疗腹泻和肠道炎症等疾病^[10-12]，并取得了良好的效果。

肠球菌并不像其他乳酸菌那样“通常被认为是安全的产品”，在某些特定条件下（如免疫功能缺陷等）可能成为致病菌。美国医院感染监测系统（NNIS）数据显示，20世纪90年代医院内感染中，肠球菌约占10.7%^[13]。近年来，随着免疫抑制剂的广泛使用及抗生素的滥用，肠球菌临床感染数量逐渐增加，国内外屡有肠球菌感染的报告^[3,14-15]。目前，美国约有20%~30%的院内感染由肠球菌引起^[16]。

鉴于肠球菌的巨大应用价值和潜在致病风

险，迫切需要对肠球菌的安全性进行有效评估，以明确区分肠球菌的益生性和致病性。国内外对肠球菌的质量控制主要集中在有效性方面，尚无完善的肠球菌安全性评价标准。本文从毒力因子、耐药性和动物体内试验等方面对肠球菌的安全性评价方法及肠球菌安全性的影响因素进行综述。

1 肠球菌毒力因子

肠球菌的安全性研究，首先应关注其含有致病基因的可能性以及有毒代谢产物的产生。在关于肠球菌的毒力分析研究中，大多涉及15个毒力因子，其作用各不相同，如表1所示^[17-18]。

表1 肠球菌毒力相关基因及其作用

类别	基因	编码因子	作用
黏附素	<i>agg</i>	聚合物	粘附和定殖抵抗宿主防御
	<i>efaA</i>	粪肠球菌抗原 A	定殖
	<i>esp</i>	肠球菌表面蛋白	粘附和定殖
	<i>ace</i>	粪肠球菌胶原黏附素	细胞外基质附着
蛋白酶	<i>gelE</i>	明胶酶	组织损伤
	<i>sprE</i>	丝氨酸蛋白酶	组织损伤
分泌因子	<i>cytA-M</i>	细胞溶素 / 溶血素	组织损伤
	<i>gls24</i>	葡萄糖饥饿诱导蛋白	宿主体内存活
胞外多糖	<i>cpsA-K</i>	荚膜多糖	抵抗宿主防御
	<i>epa</i>	荚膜多糖	未确定
转录调控子	<i>cytR1-R2</i>	2 组份肽系统	调控 <i>cytA-M</i>
	<i>fsrA-C</i>	agr 样调控系统	调控 <i>gelE</i> 和 <i>sprE</i>
	<i>etaRS</i>	OmpR 样 2 组份系统	未确定
	<i>hypR</i>	过氧化氢调控子	抵抗宿主防御
	<i>perR</i>	过氧化物调控子	未确定

这些毒力因子不仅可以协助肠球菌黏附并破坏细胞，而且可能导致肠球菌对宿主体内特异性免疫和非特异性免疫产生抵抗作用，从而使肠球菌由共生菌转变成致病菌。检测肠球菌是否具有以上毒

力因子或者存在多少种毒力因子是评价肠球菌安全性的重要内容。

1.1 肠球菌的有毒代谢产物

细菌的毒性代谢产物包括菌株产生的细胞溶

素、肠毒素、卵磷脂酶和有机酸等。这些代谢产物会使红细胞溶解、正常人体细胞或其他组织损伤，从而产生致病作用。

细胞溶素，又称 β 溶血素（ β -hemolysin），是肠球菌具有毒性的一个重要原因。细菌分泌的细胞溶素属于穿孔毒素，通过跨细胞膜发挥细胞溶解的作用。Tan等^[19]以含5%羊血的BHI平板培养屎肠球菌YF5，研究其溶细胞素的产生情况。Cebrian^[20]以哥伦比亚血琼脂平板研究溶血素活性，结果均未见明显溶血性。Holzapfel等^[21]将屎肠球菌SF68株作为肠球菌安全评价模型，考察其溶血活性，结果表明其不产生 β 溶血。迄今为止，尚未有研究证据表明益生性肠球菌具有溶血能力。

肠毒素是一种具有超抗原活性的细菌毒素，常引起食物中毒和胃肠炎等肠道疾病^[22]。虽然目前尚无肠球菌能产生肠毒素的报道，但有研究将肠毒素作为评价益生菌的安全性指标，如Arturo Anadón等^[23]研究欧盟有关动物营养品中的益生菌安全评价时，指出毒素的产生情况及其对机体的影响与益生菌的安全性密切相关。

1.2 肠球菌的粘附能力评价

粘附对肠球菌发挥益生作用十分重要，是肠球菌在宿主体内定植和发挥抑菌作用的重要基础^[24]。同时，对宿主组织的粘附也是细菌发挥移位和感染的前提。因而也有研究者将对肠球菌粘附作用的考察作为评价肠球菌安全性的一个重要指标。

聚合物是由性信息素质粒编码形成、具有粘附作用的细菌表面蛋白。该蛋白的一级结构中包含两个RGD序列，可以与真核细胞表面的受体整合素结合，从而使肠球菌与真核细胞之间发生粘附^[25]。国内外研究人员在研究肠球菌安全性时，都对聚合物进行了检测。如Bhardwaj等^[26]通过体内和体外不同条件研究评价了肠球菌KH24株的安全性，他们将肠球菌培养于Todd-Hewitt培养基（对照组不加性激素），镜下观察不同时间段细胞聚集的情况，结果未见明显的细胞凝集。Favaro等^[27]在MRS培养基中通过比较屎肠球菌（*E. faecium*）培养1h前后吸光度值的变化情况来研究其聚合作用。Ben Braňek Olfa等^[28]在研究肠球菌的益生作用和安全性问题时，分析了其自聚合能力和共聚合能力，一方面评估其对食源性致病菌的凝集和抑制作用，另一方面也用来评估其对肠道黏膜的粘附和定植能力。

肠球菌表面蛋白是菌株发挥粘附作用的另一种高分子量表面蛋白，由esp基因编码形成。Heikens等^[29]研究发现肠球菌表面蛋白量在细菌感染致病过程中会升高，但他们认为该蛋白会参与粘连宿主细胞和生物膜的形成，并非直接介导细菌发挥致病作用。而Elhadidy等^[30]则认为引起奶牛乳腺炎的肠球菌生物膜形成与esp基因之间没有必然联系。虽然目前尚无直接证据证明肠球菌表面蛋白与其致病性的关联性，但普遍认为，肠球菌表面蛋白作为一种毒力因子，将参与菌株感染致病过程。

此外，也有研究通过细胞实验考察肠球菌的粘附能力。Cebrian等^[20]对UGRA10株肠球菌进行了细胞粘附作用研究，他们将活化菌株侵袭Caco-2肠上皮细胞，半小时后胰酶消化下来并在TSA平板培养，观察其附着能力。结果显示，与双歧杆菌相比，肠球菌表现出较强的粘附力。Tan等^[19]研究表明YF5株屎肠球菌对HT-29细胞有一定粘附能力。Martina Kern等^[31]研究屎肠球菌NCIMB 10415株体外益生作用时发现，其可以抑制产肠毒素大肠杆菌（ETEC）侵袭猪空肠上皮细胞（IPEC-J2）。尽管很多研究者都将肠球菌粘附能力作为菌株安全性评价指标之一，但到目前为止并没有足够数据表明菌株对宿主组织的粘附能力与其致病性或益生性有直接关系，有关肠球菌发挥粘附作用的机制还需要进一步探索。

1.3 酶活性

肠球菌可以合成一些具有酶促活性的蛋白酶，其中有些酶可以分解合成一些菌株生长必需的营养成分，而另一些酶却在菌株定植、破坏机体免疫力和损伤胃肠道黏膜细胞等过程中发挥作用。

明胶酶是肠球菌合成的一种分泌蛋白酶，由毒力因子gelE编码。明胶酶被认为是通过参与生物膜形成而发挥毒性作用，同时，它也可以降解宿主体内的一些重要物质，如组织中的明胶、胶原蛋白、纤维蛋白等，从而影响或破坏机体的免疫系统^[32]，因而明胶酶是肠球菌安全性评价的考虑因素。Ben Braňek Olfa等^[28]通过明胶培养基分析肠球菌的明胶酶活性；Stefano Morandi等^[33]对肠球菌的评价中也考察了明胶酶活性。

此外，肠球菌还可以通过合成分泌一些蛋白水解酶、氨基酸脱羧酶（生产生物胺类物质）、硝基还原酶（还原硝酸盐为亚硝酸盐）、DNA酶、

β -葡糖醛酸糖苷酶等对人体组织产生不同程度的影响。Cebrian等^[20]采用牛奶琼脂板和BHA平板研究了肠球菌蛋白水解酶、淀粉酶等的活性, Martino等^[34]通过检测肠球菌生物胺的产生情况来考察其氨基脱羧酶活性, Bhardwaj等^[26]在评价肠球菌安全性时也研究了其氨基酸脱羧酶活性, Holzapfel等^[21]在评价肠球菌SF68时还分析了其透明质酸酶活性。

1.4 其他可能的致病因素

除了上述毒力因子外, 某些研究人员在评价肠球菌安全性中还采用其他一些评价指标, 如菌株的细胞表面疏水作用、胆盐水解酶活性、胆固醇清除能力、对凝血细胞的凝集作用、对纤维蛋白和纤连蛋白的粘附作用等^[20,26-27]。这些指标可以在一定程度上反映肠球菌在肠道内的活动、代谢情况及其发挥毒力作用的过程。

2 抗生素耐药性

肠球菌耐药性主要来自两个原因: 一是肠球菌自身具有编码耐药性的基因, 这个基因可能位于染色体上, 也可能位于质粒上, 称为固有耐药或天然耐药; 另一个原因是通过基因水平转移获得抗生素抗性基因而产生的耐药, 称为获得性耐药^[35]。对于肠球菌抗生素耐药性的测定, 是对现有的和潜在的肠球菌菌株体外安全性评估的一个重要内容。在临床上, 肠球菌对某种抗生素具有耐药性通常与医院内感染有关^[36-38]。近年来, 肠球菌不断出现耐药性的现象, 特别是对万古霉素的耐药性为临床治疗带来很大困难^[3,37,39-40]。长期摄入具有耐药性的肠球菌会对人的身体产生严重危害。欧洲食品安全局要求, 对申请QPS认证的微生物制剂必须通过试验明确细菌的抗生素耐药性, 并确定是否含有抗生素耐药性基因^[41]。Martino等^[34]很多研究人员在评价肠球菌安全性时都测定抗生素的最小抑菌浓度, 以此分析肠球菌耐药性。Bhardwaj等^[26]在进行肠球菌KH24株安全性时, 不仅通过纸片扩散法考察了菌株对常见抗生素的耐受性, 同时分析了其是否含有万古霉素耐药基因vanA和vanB。

肠球菌安全性的评价, 不仅包括耐药谱的分析, 还需要对其耐药性的转移情况进行分析。Cattoir等^[42]分析临床分离的粪肠球菌耐药性时, 就指出肠球菌不只对头孢菌素类和氨基糖苷类等抗生素具有天然耐药性, 而且, 由于其本身的基因可

塑性, 还会获得其他多种抗生素耐药性。Holzapfel等^[21]在考察屎肠球菌SF68株的安全性时, 除研究其耐药性以外, 还对菌株的耐药性转移水平进行了分析, 结果发现SF68株只对卡那霉素等少数抗生素耐药, 且耐药性的转移风险微乎其微。

3 体内评价

除体外评价之外, 急性毒性试验也常被用来评价肠球菌的安全性。Tan等^[19]以 10^{12} CFU·mL⁻¹细菌悬液灌胃Balb/C小鼠, 观察小鼠的活动和健康状态, 结果未见小鼠致病性。Holzapfel等^[21]研究屎肠球菌SF68株的安全性时, 不仅考察了细菌在小鼠和大鼠体内的急性毒性试验, 同时对肠球菌在兔体内亚急性毒性和狗体内的慢性毒性进行了考察, 均无阳性结果。

动物模型评价也是肠球菌安全性评价的重要方法。然而, 由于还未在益生性肠球菌中检测到明确的毒性因子和致病性, 因而用于益生性肠球菌安全性评价的有效动物模型尚未建立。目前, 针对肠球菌安全性评价的模型都是在不同疾病相关的动物模型中进行的, 如结肠炎、免疫缺陷和心内膜炎动物模型, 都是目前应用较多的动物模型^[43-45]。

4 结语

肠球菌作为肠道正常菌群, 在调理肠胃健康方面发挥着明显的益生作用, 多种肠球菌菌株也已经被广泛应用于各种药物和发酵食品中。但近年来随着院内感染中肠球菌不断被发现, 其潜在安全性受到了很大争议。研究人员在有关肠球菌的评价中对其应用价值和致病风险都给出了不同的证据, 但目前在各种药品和食品中添加的益生性肠球菌评价研究中, 尚未发现安全性问题。

安全性是益生菌的最基本要求。在肠球菌商业化之前, 必须对菌株的安全性进行充分研究。各国研究者在肠球菌安全性问题上作出了很多有益研究和探索。但是, 目前有关肠球菌的安全评价指标尚不统一, 安全范围也尚无标准。建立快速有效的评价肠球菌安全的方法和标准是目前亟待解决的问题。

参考文献:

- [1] Khan H, Flint S, Yu PL. Enterocins in Food Preservation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 141(1): 1-10.
- [2] Byappanahalli MN, Nevers MB, Korajkic A, et al.

- Enterococci in the Environment[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2012, 76 (4) : 685-706.
- [3] Yadav G. Linezolid and Vancomycin Resistant Enterococci: A Therapeutic Problem[J]. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2017, 11 (8) : 5.
- [4] Franz CMAP, Huch M, Abriouel H, et al. Enterococci as Probiotics and Their Implications in Food Safety[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 151 (2) : 125-140.
- [5] Yunita D, Dodd CER. Microbial Community Dynamics of a Blue-veined Raw Milk Cheese from the United Kingdom[J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101 (6) : 4923-4935.
- [6] Derikx LAAP, Dieleman LA, Hoentjen F. Probiotics and Prebiotics in Ulcerative Colitis[J]. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 2016, 30 (1) : 55-71.
- [7] Underwood MA. Impact of Probiotics on Necrotizing Enterocolitis[J]. *Seminars in Perinatology*, 2017, 41 (1) : 41-51.
- [8] Gill HS. Probiotics and Human Health: A Clinical Perspective[J]. *Postgraduate Medical Journal*. 2004, 80 (947) : 516-526.
- [9] Nami Y, Abdullah N, Haghshenas B, et al. A Newly Isolated Probiotic Enterococcus Faecalis strain from Vagina Microbiota Enhances Apoptosis of Human Cancer Cells[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2014, 117 (2) : 498-508.
- [10] Fan YJ, Chen SJ, Yu YC, et al. A Probiotic Treatment Containing Lactobacillus, Bifidobacterium and Enterococcus Improves IBS Symptoms in an Open Label Trial[J]. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 2006, 7 (12) : 987-991.
- [11] Yao-Zong Y, Shi-Rong L, Delvaux M. Comparative Efficacy of Dioctahedral Smectite (Smecta) and a Probiotic Preparation in Chronic Functional Diarrhoea[J]. *Digestive and Liver Disease*, 2012, 36 (12) : 824-828.
- [12] Zhu. Effects of Lysed Enterococcus Faecalis FK-23 on Experimental Allergic Rhinitis in a Murine Model[J]. *Journal of Biomedical Research*, 2012, 26 (3) : 226-234.
- [13] Jarvis WR, Martone WJ. Predominant Pathogens in Hospital Infections[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1992, 29(suppl_A): 19-24.
- [14] Zhang Y, Du M, Chang Y, et al. Incidence, Clinical Characteristics, and Outcomes of Nosocomial Enterococcus spp. Bloodstream Infections in a Tertiary-care Hospital in Beijing, China: A Four-year Retrospective Study[J]. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 2017, 6: 73.
- [15] Olmos C, Vilacosta I, Fernández-Pérez C, et al. The Evolving Nature of Infective Endocarditis in Spain: A Population-Based Study (2003 to 2014) [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2017, 70 (22) : 2795-2804.
- [16] Khan HA, Ahmad A, Mehboob R. Nosocomial Infections and Their Control Strategies[J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2015, 5 (7) : 509-514.
- [17] Ogier J, Serror P. Safety Assessment of Dairy Microorganisms: The Enterococcus Genus[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 126 (3) : 291-301.
- [18] Baghdayan AS, Shankar N, Tendolkar PM. Pathogenic Enterococci: New Developments in the 21st Century[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*, 2003, 60 (12) : 2622-2636.
- [19] Tan Q, Xu H, Aguilar ZP, et al. Safety Assessment and Probiotic Evaluation of Enterococcus Faecium YF5 Isolated from Sourdough[J]. *Journal of Food Science*, 2013, 78 (4) : M587-M593.
- [20] Cebrián R, Baños A, Valdivia E, et al. Characterization of Functional, Safety, and Probiotic Properties of Enterococcus Faecalis UGRA10, a New AS-48-producer Strain[J]. *Food Microbiology*, 2012, 30 (1) : 59-67.
- [21] Holzapfel W, Arini A, Aeschbacher M, et al. Enterococcus Faecium SF68 as a Model for Efficacy and Safety Evaluation of Pharmaceutical Probiotics[J]. *Beneficial Microbes*, 2018, 9 (3) : 375-388.
- [22] 徐振波, 刘晓晨, 李琳, 等. 金黄色葡萄球菌肠毒素在食源性微生物中的研究进展. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29 (9) : 2317-2324.
- [23] Anadón A, Rosa Martínez-Larrañaga M, Aranzazu Martínez M. Probiotics for Animal Nutrition in the European Union. Regulation and Safety Assessment[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2006, 45 (1) : 91-95.
- [24] Collado MC, Meriluoto J, Salminen S. Role of Commercial Probiotic Strains Against Human Pathogen Adhesion to Intestinal Mucus[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2007, 45

- (4) : 454–460.
- [25] Isenmann R, Schwarz M, Rozdzinski E, et al. Interaction of Fibronectin and Aggregation Substance Promotes Adherence of *Enterococcus Faecalis* to Human Colon[J]. *Dig Dis Sci*, 2002, 47 (2) : 462–468.
- [26] Bhardwaj A, Gupta H, Kapila S, et al. Safety Assessment and Evaluation of Probiotic Potential of Bacteriocinogenic *Enterococcus Faecium* KH 24 Strain Under in Vitro and in Vivo Conditions[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 141 (3) : 156–164.
- [27] Favaro L, Basaglia M, Casella S, et al. Bacteriocinogenic Potential and Safety Evaluation of Non–starter *Enterococcus Faecium* Strains Isolated from Home Made White Brine Cheese[J]. *Food Microbiology*, 2014, 38: 228–239.
- [28] Ben Braĕk O, Morandi S, Cremonesi P, et al. Safety, Potential Biotechnological and Probiotic Properties of Bacteriocinogenic *Enterococcus Lactis* Strains Isolated from Raw Shrimps[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 117: 109–117.
- [29] Heikens E, Singh KV, Jacques–Palaz KD, et al. Contribution of the *Enterococcal* Surface Protein Esp to Pathogenesis of *Enterococcus Faecium* Endocarditis[J]. *Microbes Infect*, 2011, 13 (14–15) : 1185–1190.
- [30] Elhadidy M, Elsayyad A. Uncommitted Role of *Enterococcal* Surface Protein, Esp, and Origin of Isolates on Biofilm Production by *Enterococcus Faecalis* Isolated from Bovine Mastitis[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2013, 46 (2) : 80–84.
- [31] Kern M, G ü nzel D, Aschenbach JR, et al. Altered Cytokine Expression and Barrier Properties after In Vitro Infection of Porcine Epithelial Cells with Enterotoxigenic *Escherichia Coli* and Probiotic *Enterococcus Faecium*[J]. *Mediators of Inflammation*, 2017, 2017: 1–13.
- [32] Thurlow LR, Thomas VC, Narayanan S, et al. Gelatinase Contributes to the Pathogenesis of Endocarditis Caused by *Enterococcus Faecalis*[J]. *Infection and Immunity*, 2010, 78 (11) : 4936–4943.
- [33] Morandi S, Silveti T, Brasca M. Biotechnological and Safety Characterization of *Enterococcus Lactis*, a Recently Described Species of Dairy Origin[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2013, 103 (1) : 239–249.
- [34] Martino GP, Espariz M, Gallina Nizo G, et al. Safety Assessment and Functional Properties of Four *Enterococci* Strains Isolated from Regional Argentinean Cheese[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, 277: 1–9.
- [35] Klare I, Konstabel C, Badst ü bner D, et al. Occurrence and Spread of Antibiotic Resistances in *Enterococcus Faecium*[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, 88 (2) : 269–290.
- [36] Giraffa G. *Enterococci* From Foods[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2002, 26: 163–171.
- [37] Reyes K, Bardossy AC, Zervos M. Vancomycin–Resistant *Enterococci*: Epidemiology, Infection Prevention, and Control[J]. *Infectious Disease Clinics of North America*, 2016, 30 (4) : 953–965.
- [38] G.B. Orsi VC. Vancomycin Resistant *Enterococci* Healthcare Associated Infections[J]. *Ann Ig*, 2013, 25 (6) : 485–92.
- [39] Kohinke RM, Pakyz AL. Treatment of Vancomycin–Resistant *Enterococci*: Focus on Daptomycin[J]. *Current Infectious Disease Reports*, 2017, 19 (10) : 33.
- [40] Ranotkar S, Kumar P, Zutshi S, et al. Vancomycin–Resistant *Enterococci*: Troublemaker of the 21st Century. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2014, 2 (4) : 205–212.
- [41] European Food Safety A. Technical Guidance – Update of the Criteria Used in the Assessment of Bacterial Resistance to Antibiotics of Human or Veterinary Importance[J]. *EFSA Journal*, 2008, 6 (7) : 732.
- [42] Vincent Cattoir, J–CG. Antibiotic Resistance in *Enterococcus Faecium* Clinical Isolates[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2014, 12 (2) : 239–48.
- [43] Barnett MPG, Dommels YEM, Butts CA, et al. Inoculation with *Enterococci* does not Affect Colon Inflammation in the Multi–drug Resistance 1a–deficient Mouse Model of IBD[J]. *BMC Gastroenterology*, 2016, 16 (1) : 31.
- [44] Hoffmann M, Messlik A, Kim SC, et al. Impact of a Probiotic *Enterococcus Faecalis* in a Gnotobiotic Mouse Model of Experimental Colitis[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2011, 55 (5) : 703–713.
- [45] Tran TT, Tam VH, Murray BE, et al. Efficacy of Telavancin Alone and in Combination with Ampicillin in a Rat Model of *Enterococcus Faecalis* Endocarditis[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2017, 61 (6) : e02489–02416.

(收稿日期 2018年11月7日 编辑 范玉明)