

贵州地区孕晚期妇女生殖道无乳链球菌定植筛查及 CAMP 试验阴性的 GBS 菌株基因测序分析研究*

刘家玲¹,袁 军²,胡方芳³ (1. 遵义医学院,贵州遵义 563000;
2. 贵阳市第二人民医院,贵阳 550001;3. 贵州省人民医院,贵阳 550001)

摘要:目的 了解贵州地区孕晚期妇女泌尿生殖道无乳链球菌(GBS)定植状况及 CAMP 阴性菌株的鉴定分析。方法 收集 2016 年 5 月~2017 年 5 月贵州省人民医院产科门诊孕晚期妇女生殖道分泌物进行细菌培养、分离鉴定及药敏试验;通过生化试验及 16S rDNA 序列分析的方法对 CAMP 试验阴性的 GBS 菌株进行种属鉴定并检测其 cfb 基因。结果 3 794 例样本共分离出 118 株无乳链球菌,阳性率为 3.11%;其中 1 株呈 β -溶血且 cfb 基因检测阳性,但 CAMP 试验阴性,经 16S rDNA 序列分析确认为无乳链球菌;药敏结果统计未发现 GBS 对青霉素、阿莫西林、利奈唑胺、万古霉素、头孢噻肟、头孢吡肟耐药的菌株,耐药率较高的抗生素依次为红霉素(81.3%)、克林霉素(62.7%)、左氧氟沙星(72.9%)。结论 CAMP 试验阴性的无乳链球菌非常少见,3 794 例样本中仅分离到了一株,因此临床实验室应警惕 CAMP 试验阴性的无乳链球菌,避免漏检,为临床提供更为准确的检测结果,并加强对 GBS 耐药性菌株的监测工作。

关键词:无乳链球菌;CAMP 阴性;cfb 基因;耐药性

中图分类号:R378.12;Q781 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)01-014-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.01.004

Screening of *Streptococcus Agalactiae* of Genitourinary Tract in the Late Pregnant Women in Guizhou Province and the Genetic Sequencing Analysis

LIU Jia-ling¹, YUAN Jun², HU Fang-fang³ (1. Zunyi Medical University,
Guizhou Zunyi 563000, China; 2. Guizhou Second People's Hospital, Guiyang 550001,
China; 3. the People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550001, China)

Abstract: Objective To investigate the clonization of *Streptococcus agalactiae* (GBS) in the genitourinary tract of late pregnant women and perform the CAMP negative strains identification and analysis in Guizhou province. **Methods** Collected genital tract secretions from out-patient women in late pregnancy in the obstetric of Guizhou Provincial People's Hospital during the period from May 2016 to May 2017. Then the collected secretions conducted the bacteria culture and identification. The CAMP-negative GBS strain was further identified by biochemical test and 16S rDNA sequence analysis, and cfb gene detection was conducted. **Results** Among the 3 794 samples, 118 *Streptococcus agalactiae*s strains were isolated, and the positive rate was 3.11%. One of them was beta-hemolytic and the CFB gene was positive, but the CAMP test was negative, which was confirmed to be *Streptococcus agalactiae* via 16S rDNA sequence analysis. The results showed that no GBS had been found to be resistant to Penicillin, Amoxicillin, Linezolid, Vancomycin, Cefotaxime, Cefepime and the strains with high drug resistance rate were followed by Erythromycin (81.3%), Clindamycin (62.7%), Levofloxacin (72.9%). **Conclusion** CAMP-negative was extremely rare in *Streptococcus agalactiae*, and only one strains of the 3 794 samples was isolated. Therefore, the clinical laboratory should be alert to CAMP negative *Streptococcus agalactiae* for avoiding omission and providing more accurate test results for clinic. Also, the monitoring of drug-resistant strains of GBS should be strengthened.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*; CAMP-negative; cfb gene; drug resistance

无乳链球菌(*streptococcus agalactiae*)又称为 B 群链球菌(group B *streptococcus*, GBS),定植在孕晚期妇女泌尿生殖道可引起孕妇发生早产、胎膜早破、产褥感染等,在孕妇分娩的过程中经过垂直传播可引起新生儿发生严重的侵袭性感染,如新生儿败血症、脑膜炎、肺炎等^[1]。在新生儿感染中有较高致死率、致残率,并且相较其他细菌引起的新生儿感染,GBS 感染患儿的住院时间更长,对患儿

的家庭经济造成严重负担^[2]。因此,对孕 35~37 周妇女进行常规 GBS 定植筛查可以有效的预防新生儿感染的发生^[3]。为了解贵州地区孕晚期妇女生殖道 GBS 的定植情况及耐药性,为临床合理用药及预防新生儿 GBS 感染提供依据。2016 年 5 月~2017 年 5 月收集贵州省人民医院产科门诊孕 35~37 周妇女生殖道分泌物样本 3 794 例进行 GBS 的分离培养鉴定及药敏试验,并对收集到的

* 基金项目:黔科合外 G 字[2014]7017 号项目。

作者简介:刘家玲(1988-),女,研究生,主要从事临床微生物检验研究。

通讯作者:袁 军,博士,主任技师,E-mail:1760075125@qq.com。

CAMP阴性的GBS进行了系统化的鉴定,结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 研究对象 连续收集2016年5月~2017年5月贵州省人民医院产科门诊及住院孕35~37周妇女生殖道分泌物拭子。样本采集工作由产科医生完成。

1.2 试剂和仪器 BD Phinxo100全自动细菌鉴定仪,CO₂恒温培养箱(Heal Force HF160W),哥伦比亚血平板,购自广州迪景;革兰染液,购自BD公司;15 μg/片红霉素、2 μg/片克林霉素,购自英国OXOID;CAMP试验指示菌株为ATCC25923;细菌基因组DNA提取试剂盒及2×Taq PCR MasterMix购自天根生物;100bp DNA Lander购自Takara;GoldView II型核酸染色剂购自Solarbio™科技有限公司;琼脂糖凝胶(Regular AGAR-OSE G-10)购自Biowest™科技有限公司;BIO-RAD T100™ Thermal Cycler PCR扩增仪。

1.3 方 法

1.3.1 分离鉴定体外药敏试验及大环内酯类耐药表型检测:将收集到的孕晚期妇女生殖道拭子接种于哥伦比亚血平板,置于35℃,5 ml/dl CO₂培养箱中孵育18~24 h。挑取可疑菌落分离纯化后进行革兰染色镜检及触酶试验,对革兰染色呈阳性球菌、触酶试验阴性者做CAMP试验,同时应用BD Phinxo100全自动细菌鉴定仪及配套的链球菌鉴定及药敏卡进行细菌鉴定及药敏试验,纳入的药物包括:青霉素、红霉素、克林霉素、万古霉素、头孢吡肟、头孢噻肟、左氧氟沙星、氯霉素、阿莫西林、利奈唑胺。按照CLSI(2016版)标准用常规纸片扩散法对仪器检测药敏结果为红霉素耐药、克林霉素敏感的菌株进行D试验。将15 μg/片的红霉素、2 μg/片的克林霉素贴在相邻的位置,间距12~15 mm,35℃ 5~10 ml/dl CO₂孵育18~24 h,红霉素耐药,靠近红霉素纸片处克林霉素抑菌圈截平呈D形抑菌环,报告D试验阳性。

1.3.2 CAMP试验阴性菌株的16SrDNA序列分析鉴定:收集到的CAMP试验阴性的GBS,参考Hongoh等^[4,5]报道,扩增16srDNA引物。引物序列为:27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。将分离到的菌株进行细菌基因组DNA提取后作为模板进行16SrDNA扩增,目的片段大小为1 540 bp。PCR反应体系25 μl;2×Taq Master-Mix 12.5 μl,模板1 μl,上、下游引物(10 μmol/L)各1 μl,ddH₂O 9.5 μl。PCR反应条件:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,50℃退火30 s,72℃延伸

2 min,35个循环;72℃稳定10 min。PCR产物经南京金斯瑞生物科技有限公司测序,将测序结果提交到GenBank数据库进行比对分析。利用MEGA 5.0软件对同源相近的链球菌的16SrDNA序列构建进化树。

1.3.3 cfb基因检测:参考文献中报道的编码CAMP因子的cfb基因引物^[5,6],引物序列cfbF: 5'-ATGATGTATCTATCTGGAAGTCTAGTG-3'; cfbR: 5'-CGCAATGAAGTCTTTA-ATTTTTC-3',对分离得到的CAMP试验阴性的菌株进行cfb基因的检测,预期的目的片段大小为260 bp。PCR反应体系25 μl;2×Taq MasterMix 12.5 μl,模板1 μl,上、下游引物(10 μmol/L)各1 μl,ddH₂O 9.5 μl。PCR反应条件:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,50℃退火30 s,72℃延伸2 min,35个循环;72℃稳定10 min。PCR产物经含有EB的1.0 g/dl琼脂糖凝胶电泳后在紫外凝胶成像系统下观察是否有特异性条带,后由金斯瑞(南京)生物科技有限公司测序,将测序结果提交到GenBank数据库中进行在线比对分析。

1.3.4 质量控制:质量控制菌株使用肺炎链球菌ATCC49619,仪器和试验质量控制均在控。

1.4 统计学分析 使用whonet 5.6软件对药敏结果进行数据统计。

2 结 果

2.1 无乳链球菌的分离率、耐药性及耐药表型 3 794份样本共分离出无乳链球菌118株,检出率为3.11%。118株GBS的药敏结果显示对青霉素、万古霉素、阿莫西林、头孢吡肟和头孢噻肟的敏感度均为100%,对红霉素、克林霉素、左氧氟沙星、氯霉素分别有不同程度的耐药,其耐药率依次为:81.3%,62.7%,72.9%,21.2%。118株菌中对红霉素和(或)克林霉素耐药的菌株为99株,其中红霉素和克林霉素同时耐药的74株,即cMLS型74.7%;对红霉素耐药、克林霉素敏感的25株;共25株菌进行大环内酯类抗生素耐药表型(D试验)的检测。D试验阳性13株,阳性率52%,即表现为克林霉素诱导性耐药表型13.1%;余下12株菌为D试验阴性,即MS型12.1%。

2.2 CAMP阴性GBS菌株的菌落形态、生化试验、耐药性及大环内酯类抗生素耐药表型结果

118株GBS中1株为CAMP试验阴性,全自动细菌鉴定仪鉴定为GBS,将该菌命名为GZ2058。该菌在血琼脂平板上生长为灰白色半透明湿润菌落,呈β溶血,革兰染色为阳性球菌,触酶试验为阴性,CAMP试验靠近指示菌株(ATCC25923)的一端未见“伞状”溶血区域;该菌的药敏试验结果为:对青

霉素、阿莫西林、头孢噻肟、头孢吡肟、利奈唑胺、万古霉素表现为敏感;对氯霉素、红霉素、克林霉素、左氧氟沙星表现为耐药。该菌的大环内酯类抗生素耐药表型为 cMLS 型。

2.3 CAMP 阴性 GBS 菌株 16SrDNA 序列分析及 cfb 基因检测 GZ2058 菌株的 16SrDNA 序列提交到 GenBank, 获得登陆号: MG386601 在线比对分析与无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*) 同源率为 100%。进化树分析结果显示 GZ2058 与无乳链球菌聚为一类, 见图 1。GZ2058 的 cfb 基因 PCR 扩增产物进行凝胶电泳后成像可见大小约为 260 bp 的目的条带, 见图 2。BLAST 分析结果显示, 扩增序列与无乳链球菌的 cfb 基因同源率为 100%。

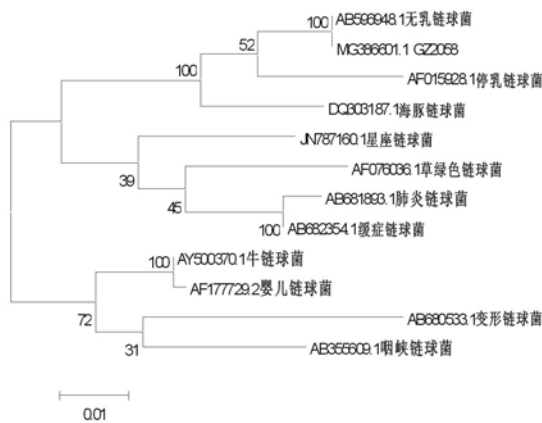


图 1 GZ2058 16SrDNA 序列系统进化树

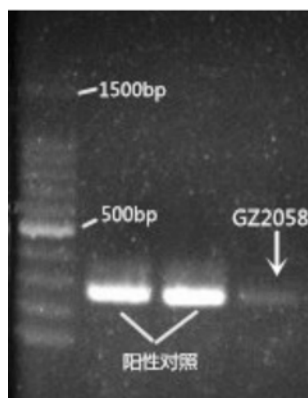


图 2 CAMP 阴性的无乳链球菌(GZ2058)cfb 基因的检测结果

3 讨论 1887 年无乳链球菌第一次被报道在牛乳腺炎中分离得到, 50 年后第一次发现无乳链球菌可引起严重的新生儿感染。随后人们对无乳链球菌进行了大量的研究证实: 无乳链球菌感染的孕妇可发生早产、胎膜早破、晚期流产等不良妊娠结局, 同时孕妇在分娩的过程中可感染新生儿发生早发型或晚发型新生儿感染性疾病。其致病机制主

要是通过分泌各种黏附因子(如层黏蛋白结合蛋白、纤维蛋白原结合蛋白、丝氨酸重复蛋白、免疫原性细菌黏附蛋白、 α C 蛋白等)黏附于宿主细胞表面侵入细胞内分泌各种毒力因子(如 CAMP 因子、细胞溶血素、荚膜多糖等)而致病^[7]。本研究收集了 3 794 例孕晚期妇女生殖道分泌物样本, 共培养出 118 株无乳链球菌, 分离率约 3.11%, 低于杨淋等^[8~11]报道的贵州省铜仁地区孕妇的带菌率 10.7%^[8], 深圳地区 12.0%, 福建地区 19.7%, 广州地区 6.33%。国外研究显示在肯尼亚、南非 GBS 在孕妇生殖道中的携带率为 14.3%~10%^[12]; 在欧洲孕妇生殖道标本 GBS 携带率为 6.5%~36%^[13]。这可能与无乳链球菌在孕妇生殖道定植的地区、民族差异等有关。此外, 不同的筛查方法结果不同: 采用肉汤增菌、GBS 显色培养基、PCR 检测可以提高 GBS 检出率, 但相对费用较高, 且 PCR 方法也不能 100% 检出 GBS, 也存在假阴性结果^[14]。本研究对无乳链球菌的培养筛查的方法使用血平板直接接种样本进行细菌培养, 样本采集方法及转运过程对培养的结果会有一些影响, 可能会导致分离率降低。

本研究中检出 1 例 CAMP 阴性的无乳链球菌, 在血琼脂平板上该菌为灰白色、湿润半透明菌落, 有狭窄 β -溶血环, 这与临床实验室常见的无乳链球菌的菌落形态十分相似, 但该菌 CAMP 试验为阴性, 经 16SrDNA 序列分析证实该菌与无乳链球菌同源率为 100%。目前国内尚无研究报道发现人源性 CAMP 阴性的无乳链球菌, 此为首例, 仅见一例分离自罗非鱼中的 γ -溶血的无乳链球菌的相关报道^[5]。CAMP 因子是一种具有穿孔性能的分泌性蛋白, 可与人类的 IgG, IgM 的 Fc 段结合启动免疫应答反应而被认为是无乳链球菌的毒力因子之一。在活体动物试验中已经证实: 纯化的 CAMP 因子可导致兔子及小鼠死亡^[15, 16], 但 Mary 等^[17]人通过对 CAMP 因子编码基因 cfb 进行等位基因替换后的体外及体内试验研究认为 CAMP 因子在 GBS 的毒力系统中不是必须的。1944 年 Christie 等人第一次报道, 认为 CAMP 因子对无乳链球菌有很高的特异性, 可与金黄色葡萄球菌的神经鞘磷脂酶产生协同作用, 可形成伞状的透明溶血区域, 称为 CAMP 试验阳性, 此后广泛的被临床实验室用作无乳链球菌的重要鉴定试验。1979 年 CAMP 因子由 Bernheimer 等人分离纯化。1994 年其编码基因 cfb 被人们发现。后续的研究显示几乎所有的无乳链球菌都含有编码 CAMP 因子的编码基因 cfb, 但仍有研究报道显示确实存在 CAMP 阴性的表现型无乳链球菌^[18], 且目前认为

绝大多数(>98%)的无乳链球菌都含有 CAMP 的编码基因 *cfb* 基因, CAMP 阴性的菌株可能与 *cfb* 基因的突变有关^[19]。本研究中 GZ2058 经检测其基因组中含有 *cfb* 基因,这与 Hassan 等^[18]人的报道一致。近年来国外研究证实无乳链球菌含有 21 个双信号传导系统(two-component signal transduction system, TCS),主要参与无乳链球菌的新陈代谢及毒力因子的表达调控,其中 CovR/S 是无乳链球菌中重要的毒力因子相关基因的调控元件,包括 CAMP 因子编码基因 *cfb* 及细胞溶血素的编码基因 *cylE* 等,在 CovR/S 突变的 GBS 菌株,特别是 CovR 缺失的菌株中可看到 GBS 的 β -溶血素及各黏附素的活力增加,但 CAMP 因子的活性下降的现象^[20,21],因此 GZ2058 有可能是由于 CovS/CovR 的突变导致的 CAMP 阴性的菌株,但也不排除是由于 *cfb* 基因突变导致的 CAMP 阴性的可能。本研究中人源性 CAMP 阴性的无乳链球菌的检出给临床微生物检验工作一个警示, CAMP 试验对于无乳链球菌的鉴定不是 100%, CAMP 阴性的无乳链球菌可在孕妇的生殖道定植,在临床检验的工作中仍然需要从多方面去完善其鉴定流程,避免漏检。

2010 年美国 CDC 推荐将青霉素作为 GBS 阳性孕妇的首选用药,在分娩前每 4 h 静脉滴注 1 次直至生产,予以预防经产道分娩的新生儿发生 GBS 感染,对青霉素过敏的孕妇,推荐使用大环内酯类抗生素红霉素和林克酰胺类抗生素克林霉素,并且应加做 D 试验检测红霉素对克林霉素诱导的诱导性耐药的菌株。随着抗生素滥用,细菌对某些药物呈现高度耐药的情况在本研究中的 118 株无乳链球菌中也得到证实。其中耐药率最高的药物为红霉素(82.2%),其余依次为左氧氟沙星(72.9%)、克林霉素(62.7%),耐药率均高于全国其他地区^[8,10,11,22]。此外,近年日本有研究报道发现了青霉素敏感度降低的 GBS 菌株,并且此类菌株的检出率从 2006 年的 2.3% 上升到 2013 年的 14.7%^[23]。在国内,仅见北京地区和广州地区有报道分离出了对青霉素和氨苄西林呈现中度敏感的菌株,并且检出率为 17.0%^[24]。但在本研究中未发现青霉素耐药或者敏感性降低的菌株,对此青霉素仍然可作为本地区预防及治疗新生儿 GBS 感染的首选用药。iMLS 表型表现为对红霉素耐药,对克林霉素敏感或中介,且仪器检测的药敏结果无法判断红霉素和克林霉素之间的诱导性耐药关系,本研究中 D 试验阳性率为 52%,高于周燕珍等^[25]人的报道,这可能与无乳链球菌的血清型、表面蛋白、耐药基因及地域分布的差异有密切的关系。为

避免临床不合理用药的发生,临床实验室应常规进行 D 试验,对 D 试验阳性,克林霉素检测结果为敏感的菌株将报告修正为耐药,以正确指导临床合理用药。

综上所述,目前国内无乳链球菌对孕妇及新生儿的健康危害日益被重视,孕晚期妇女生殖道无乳链球菌定植的筛查应纳入孕妇产前检查的常规检查项目,并且在有条件的地区应优化检验流程及检验方法提高检出率,虽然 CAMP 阴性的 GBS 菌株极为少见,并且此类菌株相关的文献数据较少,关于其表现为 CAMP 阴性的具体原因及在临床感染中的致病性也尚不明确,但仍然建议临床实验室在日常的微生物检验工作中格外留意,避免此类菌株的漏检。同时加强对 GBS 耐药菌株的耐药监测及管理。

参考文献:

- [1] 马丹娟,邓文喻,黄瑞玉,等. 围产期孕产妇生殖道感染菌群分布及 B 族链球菌的定植分析[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(3): 565-567.
Ma DJ, Deng WY, Huang RY, et al. The distribution of bacteria of reproductive tract infection and analysis of colonization of group B *Streptococcus* women during perinatal period[J]. Maternal and Child Health Care of China, 2016, 31(3): 565-567.
- [2] 安晓霞. 新生儿无乳链球菌感染的研究进展[J]. 临床与实验医学杂志, 2012, 11(20): 1670-1671, 1673.
An XX. Research progress in neonatal *Streptococcus agalactiae* infection [J]. 2012, 11(20): 1670-1671, 1673.
- [3] Verani JR, Mcgee L, Schrag SJ. Prevention of Perinatal Group B *Streptococcal* Disease Revised Guideline from CDC 2010 [J]. Centers for Disease Control & Prevention 2010, 59(RR-10): 1-30.
- [4] Hongoh Y, Yuzawa H, Ohkuma M, et al. Evaluation of primers and PCR conditions of analysis of 16SrRNA genes from natural environment [J]. FEMS, Microbiol Lett, 2003, 221(2): 299-304.
- [5] 黎 娅, 罗福广, 左 跃, 等. 罗非鱼源 γ 溶血性无乳链球菌的分离鉴定 [J]. 淡水渔业, 2014, 44(4): 63-66, 76.
Li Y, Luo FG, Zuo Y, et al. Isolation and identification of γ -hemolytic *Streptococcus agalactiae* from tilapia [J]. Freshwater Fisheries, 2014, 44(4): 63-66, 76.
- [6] Cezarino BN, Yamamoto L, Del Negro GM, et al. Diagnosis of neonatal group B *Streptococcus sepsis* by nested-PCR of residual urine samples [J]. Braz J Microbiol, 2008, 39(1): 21-24.
- [7] 常瑞祥, 王旭荣, 杨志强. 无乳链球菌黏附因子研究进展 [J]. 动物医学进展, 2014, 35(2): 101-104.
Chang RX, Wang XR, Yang ZQ, et al. Progress on ad-

- hesion factors of *Streptococcus agalactiae* [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2014, 35(2):101-104.
- [8] 杨 淋, 赵德军. 某地区 1 082 例孕妇生殖道无乳链球菌筛查及耐药性分析 [J]. 中国现代医药杂志, 2016, 18(2):90-91.
Yang L, Zhao DJ. Screening and drug resistance analysis of *Streptococcus agalactiae* of 1 082 pregnant women in a certain area [J]. Modern Medicine Journal of China, 2016, 18(2):90-91.
- [9] 黄 荣, 刘小平, 樊尚荣, 等. 孕 35~37 周妇女无乳链球菌携带状况及耐药性分析 [J]. 中国妇产科临床杂志, 2015, 16(3):269-270.
Huang R, Liu XP, Fan SR, et al. The carrier status and resistance analysis of *Streptococcus agalactiae* in 35 to 37 week of gestation women [J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology, 2015, 16(3):269-270.
- [10] 彭 捷, 黄荣富, 钟 文, 等. 围产期孕妇泌尿生殖道无乳链球菌的感染与耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(8):1841-1844.
Peng J, Huang RF, Zhong W, et al. Infection situation and drug resistance of group B *Streptococcus* in urogenital tract of pregnant women [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2017, 27(8):1841-1844.
- [11] 荣莉莉, 关小珊, 刘海英, 等. 广州地区 GBS 阳性孕妇 GBS 致病菌株的基因分型及分子流行病学调查 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1):87-90.
Rong LL, Guan XS, Liu HY, et al. Genotyping and molecular epidemiology investigation of GBS pathogenic strains of GBS positive pregnant women in Guangzhou [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(1):87-90.
- [12] Cools P, Jaspers V, Hardy L, et al. A multi-country cross-sectional study of vaginal carriage of group B *Streptococci* (GBS) and *Escherichia coli* in resource-poor settings: prevalences and risk factors [J]. PLoS One, 2016, 11(1):e0148052.
- [13] Petersen KB, Johansen HK, Rosthoi S, et al. Increasing prevalence of group B *Streptococcal* infection among pregnant women [J]. Dan Med J, 2014, 61(9):A4908.
- [14] 李 东, 张树琛, 时琰丽, 等. 孕晚期妇女定植无乳链球菌的三种筛查方法比较 [J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(4):899-902.
Li D, Zhang SC, Shi YL, et al. Comparison of three different screening methods for detecting Group B *Streptococcus* in late pregnant women [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2017, 27(4):899-902.
- [15] Burnham Garey-Ann D, Tyrrell GJ. Virulence factors of group B *Streptococci* [J]. Reviews in Medical Microbiology, 2003, 14(4):109-118.
- [16] Rajagopal L. Understanding the regulation of Group B *Streptococcal* virulence factors [J]. Future Microbiology, 2009, 4(2):201-221.
- [17] Mary EH, Darin Q, Chia-Jun H, et al. CAMP factor is not essential for systemic virulence of group B *Streptococcus* [J]. Microbial Pathogenesis, 2008, 44(1):84-88.
- [18] Hassan AA, Akineden O, Lämmler C, et al. Molecular characterization of phenotypically CAMP-negative *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis [J]. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health, 2002, 49(5):257-259.
- [19] Jorgensen JH, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology [M]. 王 辉, 马筱玲, 钱 渊, 等译. 11th Ed. 北京: 中华医学电子音像出版社, 2017:480.
- [20] Vasilyeva A, Sanches IS, Florindo C, et al. Natural mutations in *Streptococcus agalactiae* resulting in abrogation of β -antigen production [J]. PLoS One, 2015, 10(6):e0128426.
- [21] Lamy MC, Zouine M, Fert J, et al. CovS/CovR of group B *Streptococcus*: a two-component global regulatory system involved in virulence [J]. Molecular Microbiology, 2004, 54(5):1250-1268.
- [22] 苏锦珍, 吴伟元, 丁 璐, 等. 围生期孕产妇感染或定植的 B 族链球菌耐药情况、血清型、毒力基因及基因型分析 [J]. 中华妇幼临床医学杂志 (电子版), 2016, 12(5):583-589.
Su JZ, Wu WY, Ding L, et al. Drug resistance serotypes virulence-associated genes and genotypes of infection or colonization of group B *Streptococcus* in perinatal pregnant women [J]. Chinese Journal of Obstetrics & Gynecology and Pediatrics (Electronic Edition), 2016, 12(5):583-589.
- [23] Seki T, Kimura K, Reid ME, et al. High isolation rate of MDR group B *Streptococci* with reduced penicillin susceptibility in Japan [J]. J Antimicrob Chemother, 2015, 70(10):2725-2728.
- [24] 申阿东, 张桂荣, 王咏红, 等. B 族链球菌的耐药性及红霉素耐药基因检测研究 [J]. 中华儿科杂志, 2005, 43(9):661-664.
Shen AD, Zhang GR, Wang YH, et al. Susceptibility patterns and mechanisms of macrolide resistance in group B *Streptococcus* isolates [J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2005, 43(9):661-664.
- [25] 周燕珍, 王利民, 方寅飞. 无乳链球菌致新生儿血流感染的血清型及耐药性研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(8):1190-1193.
Zhou YZ, Wang LM, Fang YF. Research on the serum type and drug resistance of newborn bloodstream infection caused by group B *Streptococcus* [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2017, 27(8):1190-1193.