

DOI:10.13350/j.cjpb.241208

• 论著 •

感染性心内膜炎病原微生物的基因组特征 与心脏病变严重程度关联研究*

龚春梅¹,袁冰心^{1,2},郭一博¹,刘俊香²,张鸥^{1**}

(1. 南阳医学高等专科学校第一附属医院心血管重症监护室,河南南阳 473000;2. 漯河市中心医院心血管内科)

【摘要】 目的 本研究旨在通过全基因组测序和病理学评估,系统地探讨感染性心内膜炎(Infective endocarditis, IE)患者的病原微生物基因组特征与宿主心脏组织病变严重程度之间的关联,分析病原微生物的基因变异对病变严重程度的影响。方法 本研究纳入2021年2月至2024年4月本院确诊的117例IE患者。采集病原微生物样本和心脏组织样本,使用Illumina NovaSeq 6000平台进行高通量全基因组测序,测序数据通过SPAdes组装和Prokka注释。利用GATK和FreeBayes检测单核苷酸多态性(SNPs)和插入缺失(INDELs),通过Mauve和MUMmer分析基因组结构变异(SVs)。对手术切除的瓣膜或心脏活检组织进行H&E染色和Masson三色染色,评估炎症、纤维化、组织坏死和血管增生等病理特征。使用qPCR验证关键毒力基因和耐药基因的表达水平。采用Spearman相关系数和多变量回归分析评估基因组变异与病变严重程度之间的关系。结果 基因组测序结果显示,117例样本的平均测序深度为(65.42±10.87)×,平均测序覆盖度为98.73%±1.25%。在病原微生物基因组中检测到的SNPs数量为5471±1157,INDELs数量为1083±422。基因组结构变异的检测结果为重排12±5,倒位8±3,复制4±2,缺失6±2。主要毒力基因icaA、fnbA和clfA的检出率分别为72.65%、65.81%和58.12%;耐药基因mecA、vanA和blaZ的检出率分别为34.19%、23.93%和47.86%。qPCR验证结果显示,icaA基因在重度病变患者中表达水平显著升高(P<0.01),fnbA基因在中度和重度病变患者中显著升高(P<0.01),mecA基因在耐药性较强的病原菌中显著升高(P<0.01)。Spearman相关性分析显示,SNPs与病变严重程度评分的相关系数为0.432(P<0.01),INDELs为0.398(P<0.01)。多变量回归分析显示,SNPs(P=0.002)和INDELs(P<0.01)对病变严重程度具有独立影响,糖尿病也是显著影响因素(P=0.042)。结论 本研究发现病原微生物的基因组变异(SNPs和INDELs)与IE的病变严重程度呈显著正相关,且某些毒力基因和耐药基因在不同病变严重程度的患者中表达水平存在显著差异。

【关键词】 感染性心内膜炎,全基因组测序,基因组变异,毒力基因,耐药基因

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)12-1431-06

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Dec.;19(12):1431-1436.]

Study of the association between genomic characteristics of microorganisms responsible for infective endocarditis and the severity of cardiac lesions

GONG Chunmei¹, YUAN Bingxin^{1,2}, GUO Yibo¹, LIU Junxiang², ZHANG Ou¹ (1. Cardiovascular Intensive Care Unit of the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang, Henan 473000; 2. Cardiovascular Department of Luohe Central Hospital)***

【Abstract】 **Objective** To explore the association between the genomic characteristics of pathogenic microorganisms and the severity of host cardiac tissue lesions in patients with infective endocarditis (IE) through whole-genome sequencing and pathological evaluation, and to analyze the impact of genetic variation of pathogenic microorganisms on the severity of lesions. **Methods** This study included 117 patients with infective endocarditis diagnosed in the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College from February 2021 to April 2024. Pathogenic microorganism samples and cardiac tissue samples were collected, and high-throughput whole-genome sequencing was performed using the Illumina NovaSeq 6000 platform. The sequencing data were assembled by SPAdes and annotated by Prokka. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) and insertions and deletions (INDELs) were detected using GATK and FreeBayes, and genomic structural variations (SVs) were analyzed by Mauve and MUMmer. H&E staining and Masson trichrome staining were performed on surgically removed valves or cardiac biopsy tissues to evaluate pathological characteristics such as inflammation, fibrosis, tissue necrosis, and vascular proliferation. qPCR was used to verify the expression levels of key

* **【基金项目】** 2019年河南省医学科技攻关计划联合共建项目(No. LHGJ20191413)。

** **【通讯作者】** 张鸥, E-mail: hx345970542@126.com

【作者简介】 龚春梅(1975-),女,河南南阳人,本科,主管护师,主要从事心血管内科护理相关工作。E-mail: GCM669988@163.com

virulence genes and drug resistance genes. Spearman correlation coefficient and multivariate regression analysis were used to evaluate the relationship between genomic variation and lesion severity. **Results** The genome sequencing results showed that the average sequencing depth of 117 samples was (65.42 ± 10.87) , and the average sequencing coverage was $98.73\% \pm 1.25\%$. The number of SNPs detected in the pathogen genome was 5471 ± 1157 , and the number of INDELs was 1083 ± 422 . The detection results of genomic structural variation were rearrangement 12 ± 5 , inversion 8 ± 3 , duplication 4 ± 2 , and deletion 6 ± 2 . The detection rates of major virulence genes *icaA*, *fnbA*, and *clfA* were 72.65%, 65.81%, and 58.12%, respectively; the detection rates of drug resistance genes *mecA*, *vanA*, and *blaZ* were 34.19%, 23.93%, and 47.86%, respectively. qPCR validation results showed that the expression level of *icaA* gene was significantly increased in patients with severe lesions ($P < 0.01$), *fnbA* gene was significantly increased in patients with moderate and severe lesions ($P < 0.01$), and *mecA* gene was significantly increased in pathogens with strong drug resistance ($P < 0.01$). Spearman correlation analysis showed that the correlation coefficient between SNPs and lesion severity score was 0.432 ($P < 0.01$), and that of INDELs was 0.398 ($P < 0.01$). Multivariate regression analysis showed that SNPs ($P = 0.002$) and INDELs ($P < 0.01$) had independent effects on lesion severity, and diabetes was also a significant influencing factor ($P = 0.042$). **Conclusion** This study found that the genomic variations (SNPs and INDELs) of pathogenic microorganisms were significantly positively correlated with the severity of infective endocarditis, and the expression levels of some virulence genes and drug resistance genes were significantly different in patients with different lesion severity.

【Keywords】 infective endocarditis, whole genome sequencing, genomic variation, virulence genes, resistance genes

感染性心内膜炎 (Infective endocarditis, IE) 是一种由病原微生物感染引起的心内膜炎性炎症疾病, 具有较高的病死率和严重的并发症^[1-2]。尽管抗生素和手术治疗在一定程度上改善了患者的预后, 但由于病原微生物的多样性及其对抗生素的耐药性, IE 的诊治依然面临巨大挑战^[3-4]。IE 的致病微生物种类繁多, 包括葡萄球菌、链球菌、肠球菌等多种细菌, 以及少数真菌和其他病原体^[5-7], 这些病原微生物在不同患者中可能存在不同的基因型和表型, 导致病情复杂多变。此外, 抗生素耐药性问题日益严重, 许多病原微生物已经发展出对多种常用抗生素的耐药性, 使得治疗更加困难。例如, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 和耐万古霉素肠球菌 (VRE) 在临床上越来越常见, 这些耐药菌株的存在显著增加了治疗难度和失败风险^[8-9]。

近年来, 随着基因组学和生物信息学技术的迅速发展, 全基因组测序 (Whole genome sequencing, WGS) 为我们提供了新的工具, 以更全面和精细地解析病原微生物的基因组特征。通过 WGS 技术, 不仅可以全面了解病原微生物的基因组构成, 还能识别出与毒力、耐药性及其他致病特性相关的关键基因^[10]。已有研究表明, 病原微生物的基因组特征, 特别是毒力基因和耐药基因的存在, 可能显著影响感染的严重程度和临床表现^[11-12]。然而, 针对 IE 病原微生物的系统性基因组研究仍较为有限, 特别是如何将病原微生物的基因组特征与宿主心脏组织病变严重程度联系起来, 尚未得到充分的探讨。

本研究通过对 IE 患者的病原细菌样本进行高通量全基因组测序, 结合宿主心脏组织病变的病理学评

估, 系统地探讨病原微生物基因组特征与心脏病变严重程度之间的关联。此外, 通过整合基因组学和病理学的方法, 本研究还期望探索病原微生物与宿主病变之间的关联, 为揭示 IE 的复杂病理机制提供新的见解, 改善患者的预后。

对象与方法

1 研究对象

本研究选取 117 例自 2021 年 2 月至 2024 年 4 月期间在南阳医学高等专科学校第一附属医院心血管重症监护室确诊为 IE 的患者。样本采集包括 2 类, 分别为病原微生物样本 ($n = 117$) 和心脏组织样本 ($n = 117$), 其中病原微生物样本由手术医生于术中从感染部位采集, 心脏组织样本则来自 IE 患者的手术切除瓣膜或心脏活检组织。所有样本采集后立即固定和保存并送至实验室。本研究所有样本的收集和处理均经过严格的伦理审查和批准, 确保研究符合伦理规范和患者隐私保护要求。

本研究获南阳医学高等专科学校第一附属医院伦理委员会的审查和批准 (审批号: 2020-xxgnk103)。所有参与者均在充分知情的情况下签署了知情同意书, 确保研究过程符合伦理规范和《赫尔辛基宣言》的要求。

2 病原体全基因组测序与注释

使用 DNA 提取采用 QIAamp DNA Mini Kit 试剂盒 (Qiagen), 从 117 例病原微生物样本中提取基因组 DNA, 提取的 DNA 质量通过琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop 光谱仪进行评估。随后高通量测序采用 Illumina NovaSeq 6000 平台进行, 生成 150 bp 的配对

末端 (paired-end) 读数。测序文库的构建采用 Nextera DNA Flex Library Preparation Kit 试剂盒 (Illumina), 具体步骤包括 DNA 片段化、末端修复、加 A 尾、连接接头和 PCR 扩增, 测序数据的初步质量控制通过 FastQC 软件进行, 确保高质量的读数用于后续分析。基因组组装使用 SPAdes (version 3.15.3) 软件进行, 组装完成后, 使用 Prokka (version 1.14.6) 进行基因组注释, 生成注释文件。同源性分析通过 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 进行, 将注释得到的基因序列与 NCBI nr 数据库进行比对。结合 PFAM、KEGG 和 COG 数据库, 进一步注释基因的功能区域和生物学通路, 识别毒力基因和耐药基因等关键功能基因。

3 心脏组织病变评估

本研究通过对患者手术切除的瓣膜或心脏活检组织样本进行病理学分析对心脏组织病变评估。所有心脏组织样本在取样后立即采用 10% 中性福尔马林固定 24 h, 随后进行常规脱水、包埋和切片。切片厚度为 4 μm , 并采用苏木精-伊红 (Hematoxylin and Eosin, H&E) 染色, 以观察组织的基本结构和病理变化。采用 Masson 三色染色评估纤维化程度。组织病变程度通过多个病理学指标进行评分, 包括炎症程度、纤维化程度、组织坏死和血管增生等, 每个指标均评分从 0 到 3, 分别代表无病变、轻度病变、中度病变和重度病变。

4 基因组变异分析

本研究通过基因组变异筛选及功能验证进行基因组变异分析, 识别并验证与 IE 病变严重程度相关的关键基因。使用 GATK (Genome Analysis Toolkit) 和 FreeBayes 等工具检测单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) 和插入缺失 (Insertions and Deletions, INDELs)。随后, 将检测到的变异进一步通过 SnpEff 和 ANNOVAR 等注释工具进行功能注释, 识别可能影响基因功能的非同义突变、剪接位点突变以及框移突变。此外, 本研究使用 Mauve 和 MUMmer 工具进行基因组重排和大片段变异 (Large Structural Variations, LSVs) 分析, 用于探索基因组结构变异在病变中的作用。同时, 通过比较不同病原菌株的基因组, 识别基因组重排、倒位、复制和缺失等结构变异类型, 并注释其可能涉及的基因功能。最后, 使用 qPCR 技术对关键变异基因的表达水平进行验证, 通过比较不同病变严重程度患者样本中这些基因的表达差异, 进一步确认其在病变中的潜在作用。

5 统计分析

本研究的统计学分析使用 R 语言 v4.1.2。患者

的基本特征和各项指标进行描述性统计结果使用均值 \pm 标准差 ($Mean \pm SD$) 表示。连续变量的组间比较采用独立样本 t 检验, 分类变量采用卡方 (χ^2) 检验。使用 Spearman 相关系数评估基因组变异与病变严重程度评分之间的相关性, 计算每个基因变异位点与病变评分之间的相关系数, 使用 Benjamini-Hochberg 方法控制假阳性率。采用多元线性回归评估多个基因组变异对心脏病变严重程度的联合影响, 模型中纳入患者年龄、性别、基础疾病等混杂变量平衡分析结果, 通过模型系数及其显著性水平确定关键基因变异的独立作用。本研究统计分析的显著性水平 $\alpha = 0.05$ 。

结果

1 患者基本特征

本研究共纳入 117 例 IE 患者, 患者的平均年龄为 55.23 ± 9.89 岁, 其中男性 70 例 (59.83%), 女性 47 例 (40.17%)。47 例患者患有高血压 (40.17%), 35 例患有糖尿病 (29.91%)。在瓣膜类型方面, 82 例为天然瓣膜 (70.09%), 35 例为人工瓣膜 (29.91%)。

2 病原体全基因组测序结果

对 117 例 IE 患者的病原微生物样本进行全基因组测序后, 数据质量评估结果见图 1。样本的平均测序深度为 $(65.42 \pm 10.87) \times$, 平均测序覆盖度为 $98.73\% \pm 1.25\%$, 平均读长为 150 bp, 所有样本的读数质量均符合高通量测序的标准。通过 Prokka 和 BLAST 对 117 个病原微生物基因组进行注释和同源性分析, 识别出的主要毒力基因 (virulence genes) 为 *icaA*、*fnbA* 和 *clfA*, 主要耐药基因 (resistance genes) 为 *mecA*、*vanA* 和 *blaZ*。在 117 例样本中, *icaA* 检出率最高 (72.65%), *fnbA* 和 *clfA* 基因的检出率分别为 65.81% 和 58.12%; 在耐药基因中, *blaZ* 基因的检出率最高 (47.86%), *mecA* 和 *vanA* 基因的检出率分别为 34.19% 和 23.93%。

3 心脏组织病变评估结果

通过 H&E 染色和 Masson 三色染色, 本研究观察到的主要病理学特征包括炎症、纤维化、组织坏死和血管增生。根据病理学结果, 样本的病变严重程度评分是多个病理学指标的综合评分, 评分从 0~3 分别代表无病变、轻度病变、中度病变和重度病变, 病变严重程度评分的分布: 多数患者的病变评分集中在 1 至 2 之间, 具体而言, 炎症程度 1.70 ± 0.94 、纤维化程度 1.50 ± 1.05 、组织坏死 1.36 ± 1.09 和血管增生 1.35 ± 0.88 。

4 基因组变异分析结果

基因组变异分析包括单核苷酸多态性 (SNPs)、插入缺失 (INDELs) 和基因组结构变异 (SVs) 的检测和

注释,以及关键基因表达的功能验证。使用 GATK 和 FreeBayes 工具对 117 例病原微生物样本进行 SNPs 和 INDELs 检测,结果显示每例样本基因组检测到的 SNPs 数量为 $5\,471 \pm 1\,157$, INDELs 数量为 $1\,083 \pm 422$ (图 2)。使用 Mauve 和 MUMmer 工具对基因组结构变异进行分析,识别出基因组重排(rearrangement)、倒位(inversion)、复制(duplication)和缺失(deletion)等结构变异类型的数量分别为 12 ± 5 、 8 ± 3 、 4 ± 2 和 6 ± 2 (图 3)。

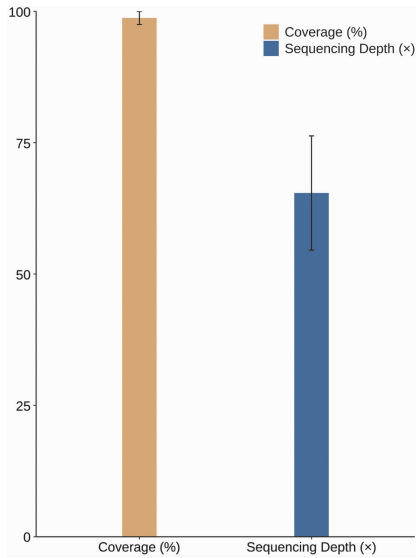


图 1 基因组质量评估结果:测序深度和测序覆盖度(Mean±SD)
Fig. 1 Genome quality assessment results:sequencing depth and sequencing coverage

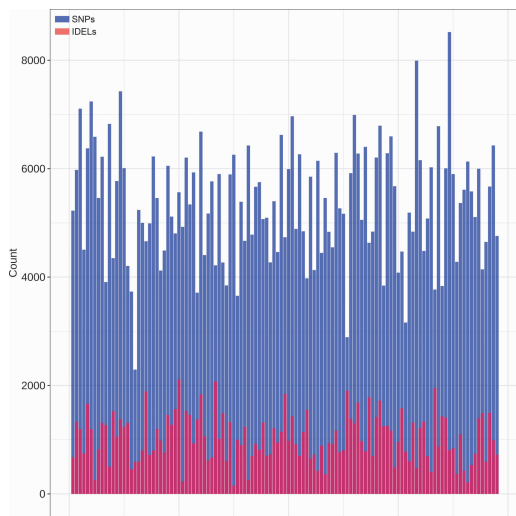


图 2 每例 IE 患者样本中检测到的单核苷酸多态性(SNPs)和插入缺失(INDELs)数量分布图
Fig. 2 Distribution of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and insertion and deletion (INDELs) in each IE patient sample

本研究选取 *icaA*、*fnbA* 和 *mecA* 基因通过 qPCR 对关键毒力基因和耐药基因的表达水平进行了验证,同时对该 3 种基因在不同病变程度的 IE 患者样本中进行了比较(图 4),结果见表 1。*icaA* 基因的表达水平在重度病变患者中显著升高($P < 0.01$),*fnbA* 基因

的表达水平在中度和重度病变患者中显著升高($P < 0.01$),*mecA* 基因的表达水平在耐药性较强的病原菌中显著升高($P < 0.01$)。基因组变异分析结果表明,SNPs 和 INDELs 在病原微生物基因组中广泛存在,且存在显著的基因组结构变异。关键基因表达验证结果表明,某些毒力基因和耐药基因在不同病变严重程度患者中表现出显著的表达差异,提示这些基因可能在 IE 的致病机制中发挥重要作用。

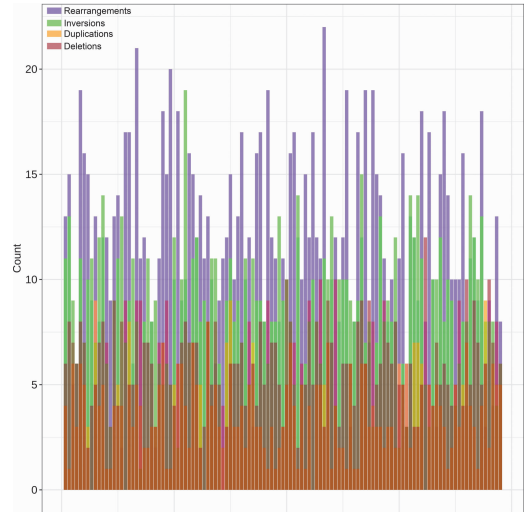


图 3 每例 IE 患者样本中检测到的基因组结构变异数量分布图,包括重排变异、倒位变异、复制变异和缺失变异
Fig. 3 Distribution of the number of genomic structural variations detected in each IE patient sample,including rearrangements, inversions,duplications,and deletions.

表 1 不同毒力基因和耐药基因在 IE 患者样本中的相对表达水平比较

基因	IE 分级			P_{ANOVA}
	轻度	中度	重度	
<i>fnbA</i>	1.17 ± 0.41	2.72 ± 0.59	3.73 ± 0.79	< 0.01
<i>icaA</i>	0.96 ± 0.30	2.57 ± 0.55	3.53 ± 0.70	< 0.01
<i>mecA</i>	0.79 ± 0.26	1.44 ± 0.36	2.46 ± 0.51	< 0.01

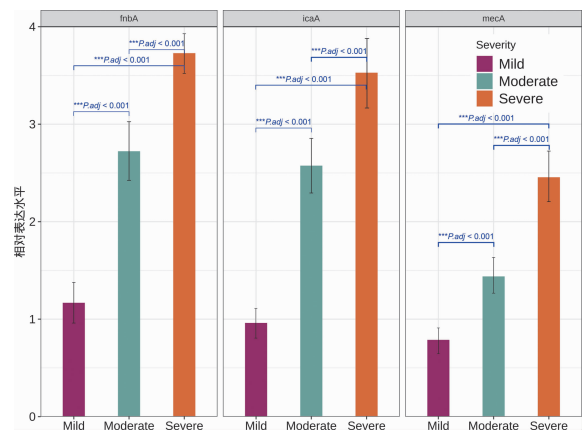


图 4 不同毒力基因和耐药基因在不同程度 IE 患者样本中的相对表达水平
Fig. 4 Relative expression levels of different virulence genes and drug resistance genes in samples of patients with different degrees of IE

5 相关性分析结果

使用 Spearman 相关系数评估基因组变异(包括 SNPs、INDELs 和 SVs)与病变严重程度评分之间的相关性,结果见图 5。结果显示,SNPs 和 INDELs 数量均与病变严重程度评分呈显著正相关,其中 SNPs 的 Spearman 相关系数为 0.432($P < 0.01$),INDELs 的 Spearman 相关系数为 0.398($P < 0.01$),表明基因组中变异数量越多,病变严重程度可能越高。采用多元线性回归模型评估多个基因组变异对心脏病变严重程度的联合影响。模型中纳入患者的年龄、性别、基础疾病等混杂变量,以控制其对分析结果的影响。多变量回归分析结果见表 2,SNPs 和 INDELs 数量对病变严重程度具有显著的独立影响($P < 0.01$),糖尿病也是一个显著的影响因素($P = 0.042$),年龄和高血压虽然呈现一定的影响趋势,但未达到统计学显著性($P > 0.05$)。因此,模型结果提示基因组变异(SNPs 和 INDELs)与 IE 的病变严重程度之间存在显著关联,表明这些基因组变异可能在疾病的病理机制中发挥重要作用,多变量回归分析进一步确认了这些变异在控制其他混杂因素后仍然具有独立的影响力。

表 2 多变量回归分析结果
Table 2 Results of multivariate regression analysis

变量	回归系数 (β)	标准误 (SE)	t 值	P 值
年龄	0.023	0.012	1.917	0.058
性别(男)	0.145	0.198	0.732	0.466
高血压(是)	0.378	0.211	1.792	0.076
糖尿病(是)	0.451	0.219	2.059	0.042
SNPs	0.0001	0.00003	3.333	0.002
INDELs	0.0002	0.00005	4.000	<0.001

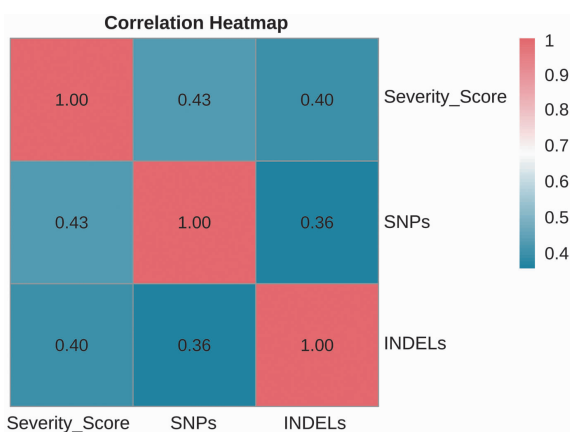


图 5 SNPs 和 INDELs 数量与 IE 病变严重程度评分之间的 Spearman 相关性

Fig. 5 Spearman correlation between the number of SNPs and INDELs and the severity score of infective endocarditis

讨论

本研究通过对 117 例感染性心内膜炎(IE)患者的病原微生物样本进行全基因组测序,并结合心脏组织

病变的病理学评估,系统性地探讨了病原微生物基因组特征与心脏病变严重程度之间的关联。研究结果显示,病原微生物的基因组变异,包括单核苷酸多态性(SNPs)、插入缺失(INDELs)和基因组结构变异(SVs),与 IE 的病变严重程度呈显著正相关。此外,某些关键毒力基因和耐药基因的表达水平在不同病变严重程度的患者中表现出显著差异。

通过全基因组测序和注释,本研究鉴定出 117 例病原微生物基因组中广泛存在 SNPs 和 INDELs,并且这些变异数量与心脏病变严重程度之间存在显著正相关性。这一发现与既往研究结果相一致,表明基因组变异在病原微生物的毒力和耐药性中发挥重要作用。例如,SNPs 和 INDELs 可以导致关键基因的功能改变,进而影响病原微生物的致病能力和对抗生素的敏感性^[13-14]。多变量回归分析进一步确认了 SNPs 和 INDELs 在控制其他混杂因素后仍然具有独立的影响力。此外,糖尿病也是一个显著的影响因素($P = 0.042$),提示宿主的基础疾病在 IE 的病理机制中可能起到重要作用。尽管年龄和高血压在本研究中未达到统计学显著性,但其对病变严重程度的潜在影响不容忽视,需在未来研究中进一步探讨。本研究识别出的主要毒力基因包括 *icaA*、*fnbA* 和 *clfA*,主要耐药基因包括 *mecA*、*vanA* 和 *blaZ*。qPCR 验证结果显示,*icaA* 和 *fnbA* 基因的表达水平在重度病变患者中显著升高,*mecA* 基因的表达水平在耐药性较强的病原菌中显著升高。这些结果表明,毒力基因和耐药基因在 IE 的病理机制中发挥重要作用,特别是在病变严重程度和治疗难度增加的情况下^[15-16]。*icaA* 基因与生物膜形成密切相关,生物膜的存在使得病原微生物更加耐抗生素和免疫系统的攻击,从而导致感染更加难以治疗^[17-18]。*fnbA* 基因则与病原微生物的粘附能力有关,增强了病原体在心内膜上的定植和感染能力^[19]。*mecA* 基因是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的标志,编码一种改变的青霉素结合蛋白(PBP2a),使其对 β -内酰胺类抗生素产生耐药性^[20]。基因组结构变异(SVs)包括重排、倒位、复制和缺失等类型,可能通过改变基因的表达或功能,影响病原微生物的毒力和抗药性。本研究中,重排、倒位、复制和缺失的数量分别为 12 ± 5 、 8 ± 3 、 4 ± 2 和 6 ± 2 ,这表明基因组结构变异在 IE 病原微生物中广泛存在,可能在疾病的发生和发展中发挥重要作用^[21]。例如,基因组重排可能导致毒力基因或耐药基因的表达水平发生变化,从而影响病原微生物的致病能力和抗药性。倒位和缺失则可能影响基因的功能,进而改变病原微生物的生物学特性^[22]。

本研究存在一些局限性。首先,样本量相对较小,

可能影响结果的普遍性。其次,本研究主要集中在细菌病原体,未涉及真菌和其他病原体的基因组特征。未来研究应扩大样本量,并涵盖更多类型的病原微生物,以获得更全面的结果。此外,进一步的功能研究,如基因敲除和过表达实验,将有助于更深入地理解这些基因在IE中的具体作用机制。本研究通过全基因组测序和病理学评估,揭示了病原微生物的基因组变异与IE病变严重程度之间的显著关联,这些发现为理解IE的分子机制提供了重要线索,并为临床治疗提供了潜在的靶向分子。

【参考文献】

- [1] 穆清,李志英,张景迪,等. 南阳地区感染性心内膜炎患者的致病细菌与临床特征研究[J]. 中国病原生物学杂志,2024,19(6):675-679.
- [2] Del Val D, Panagides V, Mestres CA, et al. Infective endocarditis after transcatheter aortic valve replacement: JACC state-of-the-art review [J]. J Am Coll Cardiol, 2023, 81(4):394-412.
- [3] Sebastian SA, Co EL, Mehendale M, et al. Challenges and updates in the diagnosis and treatment of infective endocarditis [J]. Curr Probl Cardiol, 2022, 47(9):101267.
- [4] Yucl E, Bearnot B, Paras ML, et al. Diagnosis and management of infective endocarditis in people who inject drugs: JACC state-of-the-art review [J]. J Am Coll Cardiol, 2022, 79(20):2037-2057.
- [5] Ziegler R, Arnold H, Bertram R, et al. Microbiologic diagnostics and pathogen spectrum in infective endocarditis of surgically treated patients: a five-year, retrospective, monocentric study [J]. Infection, 2023, 51(5):1523-1530.
- [6] Plumet L, Ahmad-Mansour N, Dunyach-Remy C, et al. Bacteriophage therapy for *Staphylococcus aureus* infections: A review of animal models, treatments, and clinical trials [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022(12):907314.
- [7] 朱嘉德. 金黄色葡萄球菌 walk 点突变导致万古霉素中度耐受的分子机制和 TA 样元件的鉴定[D]. 安徽:中国科学技术大学, 2021.
- [8] Willems RPJ, van Dijk K, Vehreschild M, et al. Incidence of infection with multidrug-resistant Gram-negative bacteria and vancomycin-resistant enterococci in carriers: a systematic review and meta-regression analysis [J]. Lancet Infect Dis, 2023, 23(6):719-731.
- [9] Satooskar AA, Parikh SV, Nadasdy T. Epidemiology, pathogenesis, treatment and outcomes of infection-associated glomerulonephritis [J]. Nat Rev Nephrol, 2020, 16(1):32-50.
- [10] Mustafa AS. Whole genome sequencing: Applications in clinical bacteriology [J]. Med Princ Pract, 2024, 33(3):185-197.
- [11] Sornchuer P, Saninjuk K, Amonyngcharoen S, et al. Whole genome sequencing reveals antimicrobial resistance and virulence genes of both pathogenic and non-pathogenic *B. cereus* group isolates from foodstuffs in Thailand [J]. Antibiotics (Basel), 2024, 13(3):245.
- [12] 程军. 二代测序技术检测感染性心内膜炎患者心脏瓣膜组织中病原菌的应用价值研究[D]. 中国医学科学院北京协和医学院, 2020.
- [13] Grytten I, Dagestad Rand K, Sandve GK. KAGE: fast alignment-free graph-based genotyping of SNPs and short indels [J]. Genome Biol, 2022, 23(1):209.
- [14] Pan H, Li W, Sun E, et al. Characterization and whole genome sequencing of a novel strain of *Bergeyella cardium* related to infective endocarditis [J]. BMC Microbiol, 2020, 20(1):32.
- [15] Cranmer KD, Pant MD, Quesnel S, et al. Clonal diversity, antibiotic resistance, and virulence factor prevalence of community associated *Staphylococcus aureus* in Southeastern Virginia [J]. Pathogens, 2023, 13(1):25.
- [16] Mullally CA, Fahriani M, Mowlaboccus S, et al. Non-faecium non-faecalis enterococci: a review of clinical manifestations, virulence factors, and antimicrobial resistance [J]. Clin Microbiol Rev, 2024, 37(2):e0012123.
- [17] Abdel-Shafi S, El-Serwy H, El-Zawahry Y, et al. The association between icaA and icaB genes, antibiotic resistance and biofilm formation in clinical isolates of *Staphylococci spp* [J]. Antibiotics (Basel), 2022, 11(3):389.
- [18] Kaushik K, van Etten ES, Siegerink B, et al. Iatrogenic cerebral amyloid angiopathy post neurosurgery: Frequency, clinical profile, radiological features, and outcome [J]. Stroke, 2023, 54(5):1214-1223.
- [19] Mekky AE, Abdelaziz AEM, Youssef FS, et al. Unravelling the antimicrobial, antibiofilm, suppressing fibronectin binding protein A (fnba) and cna virulence genes, anti-inflammatory and antioxidant potential of biosynthesized solanum lycopersicum silver nanoparticles [J]. Medicina (Kaunas), 2024, 60(3):515.
- [20] Tasneem U, Mehmood K, Majid M, et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A brief review of virulence and resistance [J]. J Pak Med Assoc, 2022, 72(3):509-515.
- [21] Didelot X, Bowden R, Wilson DJ, et al. Transforming clinical microbiology with bacterial genome sequencing [J]. Nat Rev Genet, 2012, 13(9):601-612.
- [22] Croucher NJ, Harris SR, Fraser C, et al. Rapid pneumococcal evolution in response to clinical interventions [J]. Science, 2011, 331(6016):430-434.

【收稿日期】 2024-08-08 【修回日期】 2024-10-20