



张晨晖,兰佩聪,田芮,杨梦琪,夏盼盼,吴慧敏,夏利宁. 新疆不同动物粪源肺炎克雷伯菌的耐药性及毒力基因分析[J]. 中国农业大学学报,2025,30(04): 166-178.

ZHANG Chenhui, LAN Peicong, TIAN Rui, YANG Mengqi, XIA Panpan, WU Huimin, XIA Lining. Antimicrobial resistance and virulence gene analysis of *Klebsiella pneumoniae* from different animals faeces in Xinjiang[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(04): 166-178.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.04.14

新疆不同动物粪源肺炎克雷伯菌的耐药性及毒力基因分析

张晨晖 兰佩聪 田芮 杨梦琪 夏盼盼 吴慧敏 夏利宁*

(新疆农业大学 动物医学学院/新疆草食动物新药研究与创制重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

摘 要 为了解新疆不同动物粪源肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)的耐药表型、耐药基因及毒力基因携带情况,根据耐药表型指导临床合理用药,本研究从新疆9个地区分别采集多种饲养模式下牛、羊、马、骆驼、驴、猪、鸡和鸽的粪便共1 140份,进行KP的分离与鉴定。采用琼脂稀释法进行8种抗菌药物的最小抑菌浓度测定,并通过PCR方法检测25种耐药基因以及11种毒力基因。结果表明:1)分离得到KP共88株,分离率为7.7%。不同动物粪源KP的分布情况不同,分离率从高到低依次为牛源(40.3%, 27/67)、猪源(13.6%, 17/125)、马源(13.5%, 10/74)、鸽源(11.9%, 5/42)、骆驼源(8.5%, 19/223)、驴源(4.3%, 4/92)、鸡源(3.9%, 5/129)以及羊源(0.3%, 1/388)。2)耐药表型分析显示,不同动物粪源KP对抗菌药物的耐药程度不同,耐药严重程度大致为牛源>猪源>鸡源>马源>骆驼源>鸽源>驴源>羊源;对四环素(86.4%)、氟苯尼考(63.6%)耐药率较高,3耐及以上菌株占62.5%。3)耐药基因检测结果显示,不同动物粪源KP中*oqx*B、*qnr*S和*oqx*A喹诺酮类耐药基因的检出率比较高,分别为77.3%、73.9%和72.7%,且3种基因共存情况达58.0%。*bla*_{TEM}和*sul*1的检出率均为34.1%;*mcr*-8的检出率为17.0%;*bla*_{OXA}检出率较低,为2.3%。*tet*(X4)仅在一株菌中检出,检出率为1.1%。4)毒力基因检测结果显示,铁载体系统相关基因中*iuc*A和*iut*A检出率最高,分别为82.9%和81.8%,其次脂多糖相关基因中*wab*G的检出率最高,为57.9%,其余毒力基因检出率从高到低依次为*all*S(22.7%)、*iro*NB(22.7%)、*aer*(2.3%)、*rmp*A2(2.3%)、*wca*G(1.1%);荚膜相关基因*rmp*A和溶菌素相关基因*hly*未检出。综上,新疆不同动物粪源KP存在耐药谱广、耐药率高且耐药基因和毒力基因携带率高的特征,建议应从同一个健康的视角出发,开展动物粪源KP耐药性及毒力基因的定期监测,针对其耐药表型和耐药基因的流行情况对不同动物进行合理的用药安排,从而降低耐药菌产生的风险。

关键词 肺炎克雷伯菌; 不同动物粪源; 耐药表型; 耐药基因; 毒力基因

中图分类号 S859.7

文章编号 1007-4333(2025)04-0166-13

文献标志码 A

Antimicrobial resistance and virulence gene analysis of *Klebsiella pneumoniae* from different animal faeces in Xinjiang

ZHANG Chenhui, LAN Peicong, TIAN Rui, YANG Mengqi, XIA Panpan,
WU Huimin, XIA Lining*

(College of Veterinary Medicine/ Xinjiang key laboratory of new drug study and creation for herbivorous animal, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

收稿日期: 2024-04-06

基金项目: 国家自然科学基金-地区基金项目(32360910)

第一作者: 张晨晖(ORCID:0009-0001-3690-4939), 硕士研究生, E-mail: 1977066762@qq.com

通讯作者: 夏利宁(ORCID:0000-0003-0653-3839), 教授, 主要从事兽医药理与毒理学研究, E-mail: xln750530@163.com

Abstract The study was to understand the drug resistance phenotype, drug resistance gene and virulence gene carried by *Klebsiella pneumoniae* (KP) of fecal source in different animals in Xinjiang, and to guide the clinic to rationalize the use of drug in different animals based on the results of resistance phenotype. In this study, 1 140 feces of cattle, sheep, horse, camel, donkey, pig, chicken and pigeon under various feeding patterns were collected from 9 regions of Xinjiang for the isolation and identification of *Klebsiella pneumoniae*. The minimum inhibitory concentration of 8 antibacterial drugs was determined by agar dilution method, and 25 drug resistance genes and 11 virulence genes were detected by PCR. The results showed as follows: 1) A total of 88 strains of KP were isolated, and the isolation rate was 7.7%. The distribution of KP in different animal fecal sources was different, and the isolation rate from high to low was cattle source (40.3%, 27/67), pig source (13.6%, 17/125), horse source (13.5%, 10/74), pigeon source (11.9%, 5/42), camel source (8.5%, 19/223) and donkey source (4.3%, 4/92), chicken (3.9%, 5/129) and sheep (0.3%, 1/388). 2) The analysis of drug resistance results showed that the degree of drug resistance of KP from different animal fecal sources was different, and the severity of drug resistance was roughly cattle source>pig source>chicken source>horse source>camel source>pigeon source>donkey source>sheep source. The resistance rate to tetracycline (86.4%) and flufenicol (63.6%) were high 62.5% of strains resistant to three or more drugs. 3) The results of drug resistance gene detection showed that the detection rates of quinolone resistance genes of *oqxB*, *qnrS* and *oqxA* in KP from different animal feces were relatively high, which were 77.3%, 73.9% and 72.7%, respectively, and the coexistence of the three genes was 58.0%. The detection rates of *bla_{TEM}* and *Sul1* were 34.1%. The detection rate of *mcr-8* was 17.0%. *bla_{OXA}* had a lower detection rate of 2.3%. *tet(X4)* was detected in only one strain, with a detection rate of 1.1%. 4) Virulence gene test results showed that the detection rates of *iucA* and *iutA* were the highest among ferriferous carrier system-related genes (82.9% and 81.8%, respectively), followed by the detection rates of *wabG* among lipopolysaccharid-related genes (57.9%). The detection rates of other virulent genes from high to low were *allS* (22.7%), *iroNB* (22.7%), *aer* (2.3%), *rmpA2* (2.3%) and *wcaG* (1.1%). Capsulin-related gene *rmpA* and lysin-related gene *hly* were not detected. To sum up, different animal feces source KP in Xinjiang are characterized by wide drug resistance spectrum, high drug resistance rate, and high carrying rates of drug resistance genes and virulence genes. It is recommended to carry out regular monitoring of KP resistance and virulence genes from the same health perspective, and make reasonable medication arrangements for different animals based on their drug resistance phenotype and prevalence of drug resistance genes, thus reducing the risk of the emergence of drug-resistant bacteria.

Keywords *Klebsiella pneumoniae*; different animal faeces sources; drug-resistant phenotype; drug resistance gene; virulence gene

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是革兰氏阴性条件性致病菌,属于肠杆菌科克雷伯菌属^[1],普遍存在于环境中^[2],且至今仍是世界上最常见的致病菌之一^[3]。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将直接接触或间接接触(包括通过食物、水以及环境)从动物传播给人类的疾病定义为人畜共患病^[4]。而KP不仅能引起人的膀胱炎、心内膜炎、坏死性肺炎、化脓性肝脓肿和败血症等疾病^[5],还对畜禽业有严重的危害,可感染各种家畜、家禽、野生及水生动物^[6]。据报道,KP是引起奶牛乳房炎的重要病原微生物之一,在奶牛发生临床型或者亚临床型乳腺炎中均有检出^[7-8]。由于

KP感染,造成某湖羊养殖场的湖羊死亡率达30.0%^[9]。该菌能引起牛呼吸系统疾病并导致其急性死亡,也能引起鸭鹅患病、仔兔腹泻、甚至死亡,造成狐、貉、貂等毛皮动物出血性肺炎,严重危害养殖业^[10-12]。

早在2014年WHO就已经宣称,不断出现的多重耐药病原菌是全球性公共卫生的巨大挑战。KP已经成为全球多重耐药的最主要病原菌之一,临床KP的耐药率在近年来仍在显著地上升中^[13-14]。据报道^[15],我国KP对三代头孢类抗生素的耐药率已超过50.0%。而对于目前抗菌作用最强的碳青霉烯类药物,根据2014—2023年中国细菌耐药监测网

(www.chinet.com)的数据显示,KP已成为中国最常见的耐碳青霉烯类的主要肠杆菌,耐药率从2014年的19.2%急剧上升至2023年的25.4%。

在我国关于动物源KP的耐药性和毒力基因的检测,大多只是聚焦于一种或两种动物,如新疆阿克苏地区猪源KP^[16]、新疆南疆地区马鹿源KP^[17]耐药性的相关研究。结果显示,新疆部分地区猪源、马鹿源KP耐药情况较为严重,而鲜见对多种动物源KP的研究报道,因此在新疆多种动物肠道中KP的分布情况、耐药基因和毒力基因的携带情况尚不明确。本研究以新疆9个地区8种动物(包括牛源、羊源、马源、骆驼源、驴源、猪源、鸡源和鸽源)粪源KP为研究对象,开展耐药调查以及相关耐药基因和毒力基因的检测,以期掌握新疆多种动物粪源KP的耐药现状、耐药基因和毒力基因的携带情况,为临床合理用药提供科学依据,同时获取携带耐药基因、毒力基因的菌株,可为后期进行KP的多重耐药机制的探索和基因组流行特征解析提供研究材料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

2023年在新疆麦盖提县以及乌鲁木齐县采集牛源肛拭子样品67份;在伊犁采集羊源肛拭子388份、马源肛拭子74份;在昌吉玛纳斯、吉木乃以及米东区采集骆驼源肛拭子223份;在哈密采集驴源肛拭子92份;在昌吉某猪场采集猪源肛拭子125份;在巴音郭楞蒙古自治州且末县以及尉犁县采集鸡源肛拭子129份、鸽源肛拭子42份。采集新疆9个地区8种动物粪源样品共计1140份。质控大肠杆菌ATCC 25922购自杭州天和微生物试剂有限公司。

1.1.2 主要试剂和培养基

MH(Mueller-Hinton)培养基、脑心浸液培养基(Brain heart infusion medium, BHI)、麦康凯琼脂以及麦康凯肌醇羧苄青霉素琼脂(MIAC)购自青岛海博生物技术有限公司;1×TE缓冲液、50×TAE购自上海生工生物有限公司;2×Taq PCR Master Mix、DL 2 000 DNA Marker购自北京天根生化科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细菌分离鉴定

将样品菌悬液震荡混匀,吸取10 μL至1 mL灭菌BHI中,在摇床37℃、200 r/min下,过夜培养,用灭菌接种环划线于MIAC琼脂培养基上培养18~24 h后,选择呈粉红色圆润光滑的疑似单菌落并进行纯化,对疑似KP进行持家基因*khe*的PCR扩增^[18]。将出现目的片段的产物进行回收,送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。通过BLASTn比对测序结果,相似性>96.0%的判定为KP。

1.2.2 菌株保存

将分离鉴定出的菌株与60.0%灭菌甘油按2:1混合后保存至-80℃备用。

1.2.3 药物敏感性试验

本试验采用2017年欧盟药敏试验标准(EUCAST)^[19]和2016年美国临床和实验室标准协会(CLSI)^[20]推荐的琼脂稀释法进行药物敏感性试验。根据养殖场所用药物以及备选药物筛选出6大类8种抗菌药物,分别为氨基糖苷类(AMK、GEN)、四环素类(TET、TIG)、氟喹诺酮类(CIP)、β-内酰胺类(FOX)、酰胺醇类(FFC)、多肽类(PB)。对分离的KP进行上述抗菌药物的药敏试验,大肠杆菌ATCC 25922作为标准质控菌株,结果判定以EUCAST和CLSI动物源细菌抗菌药物敏感性试验执行标准为准。

1.2.4 耐药基因以及毒力基因检测

对不同粪源的KP进行β-内酰胺酶类(*bla*_{TEM}、*bla*_{CTX-M}、*bla*_{NDM}和*bla*_{OXA})、氨基糖苷类(*ant*(3'')-Ia、*aac*(6')-Ib)、四环素类(*tet*(A)、*tet*(M)、*tet*(X3)、*tet*(X4))、氟喹诺酮类(*oqx*A、*oqx*B、*qnr*S)、酰胺醇类(*flo*R)、多粘菌素类(*mcr*-1~9)和磺胺类(*sul*1、*sul*2)耐药基因进行检测;对与荚膜相关(*rmp*A、*rmp*A2、*wca*G)、脂多糖相关(*wab*G)、菌毛相关(*fim*H)、铁载体相关(*aer*、*iro*NB、*iut*A、*iuc*A)、尿囊素相关(*all*S)以及溶血素相关(*hly*)的毒力基因进行检测。所用耐药基因以及毒力基因的引物见文献^[21-39],由生工生物工程(上海)有限公司合成上述引物。

1.2.5 数据分析

使用SPSS 27.0软件对不同动物粪源KP分离率、耐药基因和毒力基因检出率利用交叉表进行差异性分析, $P<0.05$ 为差异显著, $P>0.05$ 为差异不显著。

2 结果与分析

2.1 不同动物源 KP 分离鉴定

由表 1 可知,共采集 8 种动物样品共计 1 140 份,经 KP 持家基因 *khe* 扩增分离鉴定得到 88 株 KP,分离率为 7.7%(88/1 140)。

不同动物粪源 KP 分离率由高到低依次为牛源(40.3%, 27/67)、猪源(13.6%, 17/125)、马源(13.5%, 10/74)、鸽源(11.9%, 5/42)、骆驼源(8.5%, 19/223)、驴源(4.3%, 4/92)、鸡源(3.9%, 5/129)以及羊源(0.3%, 1/388)。牛源 KP 的分离率显著高于其他动物源($P<0.05$);马源 KP(13.5%)与猪源 KP(13.6%)以及骆驼源 KP(8.5%)与鸽源 KP(11.9%)差异不显著($P>0.05$)。

表 1 新疆不同动物粪源 KP 分离情况
Table 1 Isolation of KP from different animal faeces sources in Xinjiang %

来源 Source	KP 分离率(分离数 / 采样数) Isolation rate of <i>Klebsiella pneumoniae</i>
牛源 Cattle	40.3%(27/67)a
羊源 Sheep	0.3%(1/388)b
马源 Horse	13.5%(10/74)c
骆驼源 Camel	8.5%(19/223)cde
驴源 Donkey	4.3%(4/92)e
猪源 Pig	13.6%(17/125)c
鸡源 Chicken	3.9%(5/129)de
鸽源 Pigeon	11.9%(5/42)cde
共计 Total	7.7%(88/1 140)

注:同一列数据不同字母表示差异显著($P<0.05$),相同字母则表示差异不显著($P>0.05$)。下同。

Note: Different letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$), and the same letters indicate no significant differences ($P>0.05$). The same below.

2.2 不同动物粪源 KP 的耐药及多药耐药分析

88 株不同动物粪源 KP 对抗菌药物的耐药程度不同,耐药严重程度大致为牛源>猪源>鸡源>马源>骆驼源>鸽源>驴源>羊源(表 2 与图 1)。

KP 对 TET(86.4%)、FFC(63.6%)表现出高水平耐药,对 FOX(56.8%)、CIP(47.7%)、GEN(47.7%)及 TIG(36.4%)表现中等水平耐药,对 AMK(20.5%)和 PB(20.1%)表现低水平耐药。

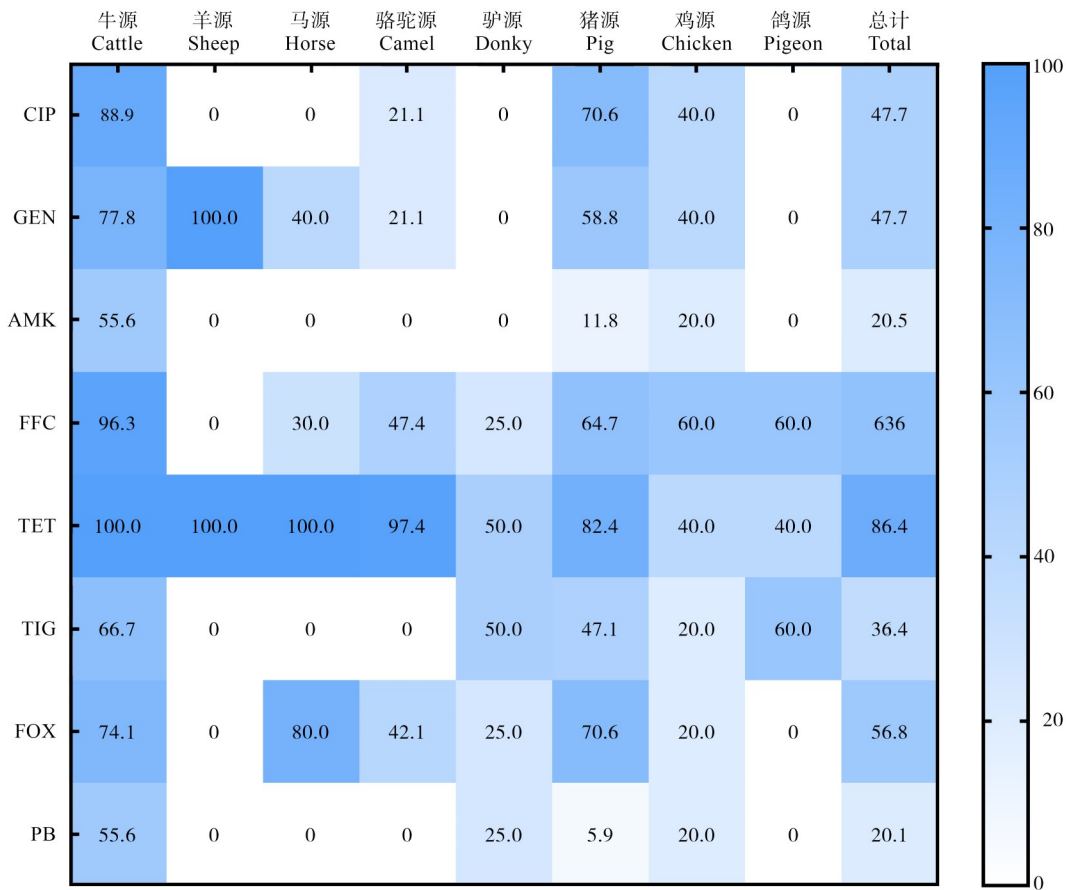
牛源、猪源、鸡源 KP 对 CIP 耐药率为 40.0%~88.9%,明显高于骆驼源(21.1%)、羊源(0)、马源(0)、驴源(0)以及鸽源(0)KP($P<0.05$);除驴源(0)及鸽源(0)KP 对庆大霉素敏感,骆驼源 KP 对庆大霉素耐药率(21.1%)较低,其他动物源 KP 对 GEN 的耐药率为 40.0%~100%;牛源和鸡源 KP 对 AMK 的耐药率(55.6%、20.0%)差异不显著($P>0.05$),而与马源(0)、骆驼源(0)、驴源(0)、鸽源(0)以及猪源 KP(11.8%)差异显著($P<0.05$);牛源 KP 对 FFC 的耐药率为 96.3%,显著高于其他源 KP($P<0.05$);不同动物粪源 KP 对 TET 耐药率为 40.0%~100%;牛源、驴源、猪源、鸡源、鸽源 KP 对 TIG 的耐药率均大于 20.0%,高于羊源(0)、马源(0)、骆驼源(0)KP;牛源 KP(74.1%)对 FOX 耐药显著高于骆驼源(42.1%)、鸡源(20.0%)、鸽源(0)KP,马源 KP(80.0%)对 FOX 耐药率与骆驼源(42.1%)、猪源(70.6)、驴源(25%)KP 相比差异不显著($P>0.05$);牛源 KP(55.6%)对 PB 耐药情况显著高于猪源(5.9%)、马源(0)、骆驼源(0)以及鸽源(0)KP,其他动物源对 PB 的耐药率由高到低依次为驴源(25.0%)、鸡源(20.0%)和羊源(0)。

不同动物粪源分离出的 KP 共有 26 种耐药谱,且耐药表型在 0~8 耐均有分布(表 3),主要集中在 1~3 耐(47.7%, 42/88)和 8 耐(18.2%, 16/88),其中以牛源和猪源 KP 多药耐药情况较为严重。牛源 KP 多药耐药以 8 耐为主,占 55.6%(15/27);羊源 KP 多药耐药以 2 耐为主,占 100%(1/1);马源 KP 多药耐药以 2 耐与 3 耐为主,各占 50.0%(5/10);骆驼源与驴源耐药谱集中在 1~3 耐,分别占 84.2%(16/19)和 100%(4/4);猪源 KP 集中在 3~6 耐,占 76.5%(13/17);鸡源 KP 以 0 耐为主,占 60.0%(4/5),4 耐与 8 耐各 1 株,各占 20.0%(1/5);鸽源 KP 集中在 0~3 耐,占 100%(5/5)。

猪源 KP 共有 10 种耐药谱型,以 6 耐谱型 CTP-GEN-FFC-TET-FOX-TIG 为主,占比为 35.3%(6/17)。牛源、骆驼源 KP 耐药谱型都有 9 种,其中牛源以 8 耐谱型 CIP-GEN-AMK-FFC-TET-FOX-TIG-PB 为主,占 55.6%(15/27);骆驼源以 2 耐谱型 FFC-TET

表2 新疆不同动物粪源KP对8种抗菌药物耐药率

Table 2 Resistance rates of KP from different animal faeces sources to 8 antibiotics in Xinjiang									%
抗菌药 Antibiotic	牛源 (n=27) Cattle	羊源 (n=1) Sheep	马源 (n=10) Horse	骆驼源 (n=19) Camel	驴源 (n=4) Donkey	猪源 (n=17) Pig	鸡源 (n=5) Chicken	鸽源 (n=5) Pigeon	总计 (n=88) Total
CIP	88.9a	0bcdefghij	0ghij	21.1efij	0dfhj	70.6ac	40.0bcdef	0bcdefghij	47.7
GEN	77.8a	100.0abc	40.0bcdefg	21.1cfg	0eg	58.8ab	40.0abcdefg	0defg	47.7
AMK	55.6a	0abc	0bc	0c	0bc	11.8bc	20.0ab	0bc	20.5
FFC	96.3a	0b	30.0b	47.4b	25.0b	64.7b	60.0b	60.0b	63.6
TET	100a	100.0abcde	100.0ade	94.7ace	50.0b	82.4bcde	40.0b	40.0b	86.4
TIG	66.7a	0abc	0bc	0c	50.0a	47.1a	20.0ab	60.0a	36.4
FOX	74.1a	0abc	80.0ac	42.1bc	25.0abc	70.6ac	20.0b	0b	56.8
PB	55.6a	0abc	0bc	0c	25.0ab	5.9bc	20.0ab	0bc	20.1



CIP:环丙沙星;GEN:庆大霉素;AMK:阿米卡星;FFC:氟苯尼考;TET:四环素;TIG:替加环素;FOX:头孢西丁;PB:多粘菌素B;单元格中的数值与耐药菌株的百分比(%)相对应。下同。

CIP: Ciprofloxacin; GEN: Gentamicin; AMK: Amikacin; FFC: Flufenicol; TET: Tetracycline; TIG: tigecycline; FOX: Cefoxitin; PB: Polymyxin B; The numbers in cells correspond to the percentage (%) of antimicrobial resistance isolates. The same below.

图1 新疆不同动物粪源KP对8种抗菌的药物耐药性热图

Fig. 1 Heat map of the AMR of KP from different animal faeces sources to 8 antimicrobial drugs in Xinjiang

为主 21.1%(4/19)。马源与驴源 KP 耐药谱型均为 4 种,马源 KP 以 2 耐谱型 FFC-TET 为主,占 40.0%(4/10);驴源则在 TIG、TET、TIG-PB、FFC-TET-FOX 均有分布,且比例相同,为 25.0%(1/4)。鸽源有 3 种耐药谱型且在 0~3 耐均有分布,耐药谱为 TIG、TET-TIG、FFC-TET-TIG,且比例相同,为 20.0%(1/5)。鸡源有 2 种耐药谱型,在 4 耐谱型 CIP-GEN-FFC-TET 以及 8 耐谱型 CIP-GEN-AMK-FFC-TET-FOX-TIG-PB 均有分布,且比例相同,各占 20.0%(2/5)。羊源有 1 种耐药谱型,为 GEN-TET,占 100%(1/1)。

表 3 新疆不同动物粪源 KP 多药耐药率比较

Table 3 Comparison of multidrug resistance rates of KP from different animal faeces sources in Xinjiang %

多药耐药数 Number of multidrug resistance	牛源 (n=27) Cattle	羊源 (n=1) Sheep	马源 (n=10) Horse	骆驼源 (n=19) Camel	驴源 (n=4) Donkey	猪源 (n=17) Pig	鸡源 (n=5) Chicken	鸽源 (n=5) Pigeon	总计 (n=88) Total
0 耐 0-resistance	3.7	0	0	0	0	11.8	60.0	40.0	9.1
1 耐 1-resistance	0	0	0	26.3	50.0	11.8	0	20.0	11.4
2 耐 2-resistance	3.7	100.0	50.0	42.1	25.0	0	0	20.0	19.3
3 耐 3-resistance	14.8	0	50.0	15.8	25.0	5.9	0	20.0	17.0
4 耐 4-resistance	11.1	0	0	10.5	0	11.8	20.0	0	9.1
5 耐 5-resistance	11.1	0	0	5.3	0	17.6	0	0	8.0
6 耐 6-resistance	0	0	0	0	0	41.2	0	0	7.9
8 耐 8-resistance	55.6	0	0	0	0	0	20.0	0	18.2

2.3 不同动物粪源 KP 耐药基因检出结果及多重毒力基因携带情况

88 株不同动物粪源 KP 中 *mcr-1*~7、*mcr-9*、*tet* (M)、*tet*(X3)以及 *sul2* 未检出,其余 15 种耐药基因均被检出(表 4)。*oqx*B、*qnr*S 和 *oqx*A 的检出率最高,分别为 77.3%、73.9% 和 72.7%,且 3 种基因共存情况达 58.0%。*bla*_{TEM}、*sul1* 的检出率均为 34.1%;*mcr-8* 的检出率为 17.0%;*bla*_{OXA} 检出率较低,为 2.3%;*tet*(X4)仅在一株 KP 中检出,检出率为 1.1%。氨基糖苷类基因检出率均在 25.0% 以上;四环素类耐药基因和喹诺酮类耐药基因检出率均在 50.0% 以上,分别为 *tet* (A) (50.0%) 和 *flo*R (52.3%)。

牛源 KP 中 β -内酰胺类耐药基因 *bla*_{TEM} 检出率显著高于其他动物源($P<0.05$),但 *bla*_{CTX-M} 检出率与其他动物源差异不显著($P>0.05$);仅在骆驼源与鸽源中检出 *bla*_{NDM},检出率分别为 5.3%(1/19)和 40.0%(2/5);*bla*_{OXA} 仅在猪源 KP 中检出。牛源、猪源以及鸡源 KP 中氨基糖苷类耐药基因 *ant*(3'')-Ia

携带率均在 60.0% 以上,骆驼源为 5.3%,其他动物源中未检出;*aac*(6')-Ib 携带率从高到低依次为牛源(66.7%)、马源(40.0%)、鸽源(40.0%)、猪源(11.8%)。四环素类耐药基因 *tet*(X4)仅在骆驼源中检出占 1.1%(1/88);羊源与马源 KP 中未检出 *tet* (A),在其他动物源中检出率依次为牛源(85.2%)、猪源(70.6%)、鸡源(60.0%)、鸽源(40.0%)、驴源(25.0%)、骆驼源(15.8%)。牛源和猪源 KP 中 *flo*R 携带率分别为 81.5% 和 82.3%,显著高于其他动物源 KP ($P<0.05$),但与驴源(50.0%)、鸽源(60.0%)和鸡源(100%)差异不显著($P>0.05$)。多粘菌素类耐药基因 *mcr-8* 仅在牛源中检出,检出率为 55.6%。鸡源 KP 在所检出的磺胺类相关耐药基因 *sul1* 中占 80.0%,高于牛源(70.4%)、猪源(35.2%)以及鸽源(20.0%)。

不同动物粪源分离出的 KP 共有 39 种多重耐药基因谱型,携带 0~11 种耐药基因(表 5),主要携带 3~6 种(56.8%,50/88)和 11 种(15.9%,14/88)耐药基因,其中牛源与猪源携带多重耐药基因情况较为严重,牛

表4 新疆不同动物粪源KP的耐药基因检出率比较

Table 4 Comparison of detection rates of antibiotic resistance genes in KP from different animal faeces sources in Xinjiang

基因类别 Gene category	基因 Gene	牛源 (n=27) Cattle	羊源 (n=1) Sheep	马源 (n=10) Horse	骆驼源 (n=19) Camel	驴源 (n=4) Donkey	猪源 (n=17) Pig	鸡源 (n=5) Chicken	鸽源 (n=5) Pigeon	总计 (n=88) Total
β-内酰胺酶 β-Lactamase	<i>bla</i> _{TEM}	77.8a	0bc	40.0c	5.3b	0bc	23.5bc	0bc	0bc	34.1
	<i>bla</i> _{CTX-M}	77.8a	100.0a	0b	10.5b	0bc	64.7a	100.0a	60.0ac	48.9
	<i>bla</i> _{NDM}	0a	0ab	0a	5.3a	0ab	0a	0ab	40.0b	3.4
	<i>bla</i> _{OXA}	0a	0a	0a	0a	0a	11.8a	0a	0a	2.3
氨基糖苷类 Aminoglycosides	<i>ant</i> (3′)- <i>Ia</i>	70.4a	0abcde fghij	0ghij	5.3efij	0cdfhj	70.6a	60.0ad	0bce fghij	39.8
	<i>aac</i> (6′)- <i>Ib</i>	66.7a	0abcd	40.0ad	0c	0bcd	11.8bcd	0bcd	40.0abd	29.5
四环素类 Tetracyclines	<i>tet</i> (A)	85.2a	0bcd	0d	15.8cd	25.0bcd	70.6ab	60.0ab	40.0bc	50.0
	<i>tet</i> (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>tet</i> (X3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>tet</i> (X4)	0a	0a	0a	5.3b	0a	0a	0a	0a	1.1
喹诺酮类 Quinolones	<i>oqx</i> A	85.2abc	0d	60.0bcd	94.7b	75.0abcd	64.7acd	40.0d	20.0d	72.7
	<i>oqx</i> B	96.3a	100.0abc	30.0c	89.5a	75.0abc	52.9bc	100.0ab	80.0abc	77.3
	<i>qnr</i> S	88.9a	0bcde fghijkl mnopqr	60.0klmn opqr	79.0aghi jopqr	75.0 aefijmnqr	82.3adfh jlnpr	0c	60.0abde fgh ijklmnopqr	73.9
酰胺醇类 Amphenicols	<i>flo</i> R	81.5ab	0bc	0c	0c	50.0ab	82.3ab	100.0a	60.0ab	52.3
多粘菌素类 Polymyxin	<i>mcr</i> -8	55.6a	0ab	0b	0b	0b	0b	0b	0b	17.0
	<i>mcr</i> 1-7、 <i>mcr</i> 9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
磺胺类 Sulfonamides	<i>sul</i> 1	70.4a	0abcde f	0de f	0f	0cef	35.2bc	80.0ab	20.0bcde	34.1
	<i>sul</i> 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0

源KP有10种耐药基因谱型,携带5~11种(85.2%和23/27)耐药基因,以tet(A)-*mcr*-8-*bla*_{TEM}-*bla*_{CTX-M}-*ant*(3′)-*Ia*-*aac*(6′)-*Ib*-*flo*R-*oqx*A-*oqx*B-*qnr*S-*sul*1共存为主,占51.9%(14/27);猪源KP共有12种多重耐药基因谱型,主要携带5~8种耐药基因(82.4%,14/17),以*oqx*A-*oqx*B-*qnr*S共存为主,占17.6%(3/17);骆驼源KP共有8种多重耐药基因谱型,以*oqx*A-*oqx*B-*qnr*S共存为主,为57.9%(11/19);马源KP共有5种多重

耐药基因谱型,以*bla*_{TEM}-*aac*(6′)-*Ib*-*qnr*S共存为主,占40.0(4/10)。鸡源与鸽源KP均有5种多重耐药基因谱型,鸡源以*bla*_{CTX-M}-*ant*(3′)-*Ia*-*flo*R-*oqx*B-*sul*1共存为主,鸽源以*bla*_{NDM}-*bla*_{CTX-M}-*aac*(6′)-*Ib*-*flo*R-*oqx*B-*qnr*S共存为主,均为40.0%(2/5)。驴源KP有2种多重耐药基因谱型,以*flo*R-*oqx*A-*oqx*B-*qnr*S共存为主,50.0%(2/4)。羊源KP仅有*bla*_{CTX-M}-*oqx*B这1种多重耐药基因谱型,为100%(1/1)。

基因 *wabG* 除了在牛源中未检出,在其他动物源检出率均高于 20.0%。牛源 KP 中尿囊素相关基因 *allS* 检出率为 3.7%,显著低于骆驼源(36.8%)、鸡源(60.0%)、鸽源(60.0%)以及羊源(100%),与马源(20.0%)和猪源(17.6%)差异不显著($P>0.05$)。与铁载体相关基因 *iucA* 在所有动物源中均检出,且检出率均大于 20.0%;羊源中未检出 *iutA* 基因,其余动物源 KP 中均检出,检出率均大于 25.0%;马源 KP 的 *iroNB* 检出率为 70.0%,与骆驼

源(21.1%)、牛源(0%)和鸽源(0%)差异显著($P<0.05$),与羊源(0%)、驴源(25.0%)、鸡源(20.0%)、猪源(41.2%)差异不显著($P>0.05$)。

不同动物粪源中分离的 KP 多重毒力基因携带情况多集中在 2~4 种,占 90.9%(80/88);携带情况多以 3 种为主 52.3%(46/88),其中 *wabG-iutA-iucA* 谱型最多(42.0%,37/88);同时携带 5 种毒力基因菌株多集中在猪源 KP 中,占 60.0%(3/5)(表 7)。

表 7 新疆不同动物粪源 KP 多重毒力基因携带情况
Table 7 Carrying of multiple virulence genes of KP from different animal
faeces sources in Xinjiang

毒力基因类型数/种 Number of multidrug resistance	牛源 (<i>n</i> =27) Cattle	羊源 (<i>n</i> =1) Sheep	马源 (<i>n</i> =10) Horse	骆驼源 (<i>n</i> =19) Camel	驴源 (<i>n</i> =4) Donkey	猪源 (<i>n</i> =17) Pig	鸡源 (<i>n</i> =5) Chicken	鸽源 (<i>n</i> =5) Pigeon	总计 (<i>n</i> =88) Total
1	0	0	0	0	25.0	0	20.0	20.0	3.4
2	7.4	0	10.0	21.1	50.0	0	60.0	80.0	18.2
3	88.9	0	40.0	52.6	0	41.2	20.0	0	52.3
4	3.7	100.0	50.0	15.7	25.0	41.2	0	0	20.5
5	0	0	0	10.5	0	17.6	0	0	5.7

3 讨 论

KP 近年来在人医临床上的分离率已仅次于大肠埃希菌,并且随着抗菌药物不断的滥用、乱用,耐多药 KP 的分离率也不断上升^[40-41]。本研究以新疆 9 个地区不同养殖环境下的 8 种不同动物直肠中分离出的 KP 为研究对象,分析新疆不同动物粪源 KP 的分离情况、耐药特点以及耐药基因与毒力基因的携带情况,以期对临床用药有一定的指导意义。

本研究中,牛源样品采自新疆麦盖提县以及乌鲁木齐县,其中麦盖提县牛源 KP 分离率为 31.9%(15/47),乌鲁木齐县牛源 KP 分离率为 60.0%(12/20)。虽然两地均为集约化养殖,但其分离率相差较大,可能与两地区养殖密度以及养殖规范程度有关。骆驼源样品采自昌吉玛纳斯、吉木乃以及米东区,其中昌吉玛纳斯 KP 分离率为 7.6%(9/119);在米东区 KP 分离率为 9.3%(5/54);在吉木乃地区 KP 分离率为 10%(5/50)。这 3 个地区骆驼养殖模式均为家庭散养,分离率相差不大,可能与养殖密度合理并且放牧式养殖模式有关。

本研究中,不同动物粪源的 KP 整体分离率为

7.7%,与 Martin 等^[42]所报道的相符,不同动物粪源 KP 分离率以牛源最高,为 40.3%,远远高于杜琳等^[43]在内蒙古、河北、黑龙江、上海和山东等地区中牛乳样中的分离率(9.26%);本研究中猪源 KP 分离率为 13.6%,与欧冠标等^[18]报道的猪源 KP 分离率基本相同;但羊源分离率(0.3%)与郭良帅^[44]对羊源 KP 分离率(16.0%)相差较大,可能由于其样品来源主要为死羊的脏器;马源、骆驼源与鸽源分离率差别不大,均在 10.0% 左右。不同动物粪源 KP 检出率以羊最低,这可能与所采羊的健康状况、饲养模式、养殖环境等有关。综上,KP 作为肠道的条件性致病菌在不同动物中均有所分离,但由于是从不同动物粪源中分离,所以具有一定差异性。

本研究中不同动物粪源 KP 对 TET 表现出高度耐药(86.4%),与徐睿等^[45]所报道的耐药结果(96.6%)相近,对四环素高耐药原因可能是其作为广谱药物,所以在兽医临床中广泛使用,因而增加了菌群对这种药物的耐受性;新疆不同动物粪源 KP 对 GEN(47.7%)、CIP(47.7%)和 TIG(36.4%)中等耐药,对 AMK(20.5%)和 PB(20.1%)呈现较低水平耐药,提示可作为治疗不同动物 KP 感染的

备选药物。虽然不同动物源中KP对AMK耐药率较低,但是在临床使用时也应该严格控制药物使用,通过联合用药或者轮换用药来减少AMK耐药株的产生,从而能有效避免AMK耐药株的爆发。

新疆不同动物粪源KP分离株大多为多药耐药,耐药谱分布在1~3耐(47.7%和42/88)以及8耐(18.2%和16/88)。不同动物粪源KP的耐药谱型存在差异,可能是菌株来源于不同地区、不同动物、不同养殖方式其用药习惯不同所导致的。牛源、猪源耐药率较高、耐药谱也较广,原因可能为两种动物的患病特点、用药多等原因导致分离株耐药情况严重;鸡(走地鸡)源、马源以及骆驼源耐药情况较为乐观,可能与这3种动物均为散养,且养殖密度小、食物新鲜等情况有关。在新疆不同动物粪源中出现大量多耐药菌株,会给由该菌引发疾病的防治带来一定困难,因此建议加强养殖场饲养管理,创造良好的养殖环境以减少耐药菌感染的发生,降低经济损失。

25种被检耐药基因中除*mcr-1*~7、*mcr-9*、*tet*(M)、*tet*(X3)以及*sul2*未检出,其余均检出。与药敏结果一致,牛源与猪源耐药基因携带率、携带种类均高于其他动物源,原因可能是牛、猪养殖密度大,在高密度下饲养动物会使圈舍环境负担增加而导致食物、水源被污染;并且养殖密度大会使动物该有的运动量不达标从而影响机体的健康状态,导致动物患病的几率增加。携带多种耐药基因的KP易通过粪便、污水等进行传播。*mcr-8*基因的检出率为17.0%,高于Mobasser等^[46]对*mcr*系列基因检出率(3.7%),可能由于采样地区不同、采样部位不同及动物的健康状态等而存在差异。氟喹诺酮类耐药基因*oqxB*(77.3%)、*qnrS*(73.9%)和*oqxA*(72.7%)的检出率比较高,3种基因共存情况达58.0%,对环丙沙星耐药率为47.7%,中介率为8.0%,提示这些菌株作为潜在的耐药菌,可能会携带有相关耐药基因,与药敏结果相符,低于国内饶冠利等^[47]所报道对环丙沙星耐药率(61.96%)。本研究检出四环素类药物耐药率为86.4%,其中50.0%的菌株检出*tet*(A)基因。有研究表明养殖环境是*mcr-1*、*bla_{NDM}*和*tet*(X)等耐药基因的重要储存库,可以介导这些耐药基因在病原菌中的传播^[48-50]。本研究中对*bla_{NDM}*以及*tet*(X4)分离率分别为3.4%和1.1%,提示携带上述基因的动物粪便有可能污染养殖场的环境,使其成为重要耐药基因储存库的风险增加。因此,应该对该地区不同动物粪源KP中携带的重要耐药基因进行定期监测,避免多重耐药KP菌株的扩散,从而危害人类健康。

此外,新疆不同动物粪源KP具有携带毒力基因种类多、检出率高的特点,本研究中*wabG*(57.9%)检出率较高。有研究报道表明,*wabG*基因在88.0%~100%的KP临床分离株均有检出^[51];Jung等^[52]指出KP缺失*wabG*基因则不能产生溶血素或某些荚膜抗原,并且在腹腔内、肺炎和啮齿动物感染模型中毒力减弱。与尿囊素代谢相关的*allS*基因被细菌用来从环境中获取碳和氮^[53],该基因在引起原发性肝脓肿的病原菌中检出^[54]。本研究中检出*allS*基因共20株(22.7%),在后续试验中可以通过动物试验来关注这些菌株的毒性大小。基因*rmpA*、*rmpA2*、*aer*和*allS*在高毒力KP菌株中比在经典KP中更常见^[55]。Shankar等^[56]在高毒力KP菌株中检测到了*kfu*、*allS*、*entB*和*ybtS*。本研究中分离的KP检出*rmpA2*、*aer*和*allS*毒力基因,显示携带上述毒力基因的KP可能为潜在的高毒力菌株,将在后续的试验中进一步验证。

本研究中所检出的耐药基因谱型种类以及数量远远大于毒力基因,耐药基因谱型多为*tet*(A)-*mcr-8*-*bla_{TEM}*-*bla_{CTX-M}*-*ant*(3')-*Ia-aac*(6')-*Ib-floR-oqx*A-*oqx*B-*qnrS*-*sul1*,占16.0%(14/88),而毒力基因谱型多以*wabG*-*iutA*-*iucA*谱型最多,为42.0%(37/88)。耐多药和非耐多药KP都可以携带单个至多重毒力基因。耐药特性与毒力因子可能存在着复杂的相互制约的关系,而且由于致病性与其所携带的毒力基因密切相关,在后续的研究中还需加强毒力因子方面的相关研究。

本研究中所检出的耐药基因谱型种类以及数量远远大于毒力基因,耐药基因谱型多为*tet*(A)-*mcr-8*-*bla_{TEM}*-*bla_{CTX-M}*-*ant*(3')-*Ia-aac*(6')-*Ib-floR-oqx*A-*oqx*B-*qnrS*-*sul1*,占16.0%(14/88),而毒力基因谱型多以*wabG*-*iutA*-*iucA*谱型最多,为42.0%(37/88)。耐多药和非耐多药KP都可以携带单个至多重毒力基因。耐药特性与毒力因子可能存在着复杂的相互制约的关系,而且由于致病性与其所携带的毒力基因密切相关,在后续的研究中还需加强毒力因子方面的相关研究。

4 结 论

新疆9个地区8种不同动物粪源KP分离率以牛源最高,其次为猪源以及马源。8种动物粪源KP对四环素、氟苯尼考耐药率高,与其对应的基因检出率也较高。不同动物粪源KP耐药率以及耐药基因检出情况以牛源最高,使牛场耐药菌的治疗和防控变得更加困难。耐药特性也与毒力之间存在着复杂的关系。养殖尤其是集约化养殖时要注意避免乱用、滥用抗菌药物,做到可以交替使用不同类型的抗菌药物,从而做到最大程度的避免细菌耐药

性产生,同时要对养殖场环境加强管理,合理使用空间,避免耐药基因通过食物、水、土壤以及粪便传播的风险。

参考文献 References

- [1] 周庭银, 章强强. 临床微生物学诊断与图解[M]. 第4版. 上海: 上海科学技术出版社, 2017
Zhou T Y, Zhang Q Q. *Diagnosis and Illustration of Clinical Microbiology* [M]. 4th ed. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2017 (in Chinese)
- [2] Paczosa M K, Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the offense with a strong defense[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 2016, 80(3): 629-661
- [3] Pendleton J N, Gorman S P, Gilmore B F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens [J]. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 2013, 11(3): 297-308
- [4] Hu Y J, Anes J, Devineau S, Fanning S. *Klebsiella pneumoniae*: Prevalence, reservoirs, antimicrobial resistance, pathogenicity, and infection: A hitherto unrecognized zoonotic bacterium [J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2021, 18(2): 63-84
- [5] 冯娜. 一株牛源肺炎克雷伯菌的分离鉴定及其基因组初步分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2017
Feng N. Isolation and identification of a bovine *Klebsiella pneumoniae* and preliminary analysis of its genome[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2017 (in Chinese)
- [6] Dahmen S, Métayer V, Gay E, Madec J Y, Haenni M. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-carrying plasmids and clones of Enterobacteriaceae causing cattle mastitis in France [J]. *Veterinary Microbiology*, 2013, 162(2/4): 793-799
- [7] 王晶. 奶牛临床型乳房炎病因调查和病原分离鉴定及药敏试验[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018
Wang J. Investigation on the causes of clinical mastitis in bovine, isolation, identification and drug sensitivity test[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2018 (in Chinese)
- [8] He T, Wang Y, Sun L C, Pang M D, Zhang L L, Wang R. Occurrence and characterization of *bla*_{NDM-5}-positive *Klebsiella pneumoniae* isolates from dairy cows in Jiangsu, China [J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2017, 72(1): 90-94
- [9] 黄旭俊, 王鹏勇, 陈素娟, 成大荣, 张信军. 一株湖羊肺炎克雷伯菌的分离与鉴定[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2018(3): 12-15
Huang X J, Wang P Y, Chen S J, Cheng D R, Zhang X J. Isolation and identification of a *Klebsiella pneumoniae* strain from Hu sheep [J]. *Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2018 (3): 12-15 (in Chinese)
- [10] 姜常青. 水貂主要细菌性肺炎的流行病学调查[D]. 山东: 山东农业大学, 2016
Jiang C Q. Epidemiological investigation of bacterial pneumonia from mink [D]. Shandong: Shandong Agricultural University, 2016 (in Chinese)
- [11] 王佳佳, 刘玉梅, 刘宁, 谢辉, 孙雪岩, 宋怡婉, 张自强. 家兔源性大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 中国兽医科学, 50(4): 485-492
Wang J J, Liu Y M, Liu N, Xie H, Sun X Y, Song Y W, Zhang Z Q. Isolation and identification of rabbit-derived *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and their drug sensitivity test [J]. *Chinese Veterinary Science*, 50(4): 485-492 (in Chinese)
- [12] 蔡双双, 刘晓丽, 段圣洁, 谷长勤, 程国富, 胡薛英. 水禽源肺炎克雷伯菌的分离鉴定及致病性观察[J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(7): 79-81
Cai S S, Liu X L, Duan S J, Gu C Q, Cheng G F, Hu X Y. Isolation and identification of *Klebsiella pneumoniae* from waterfowl and observation of pathogenicity[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2018, 54(7): 79-81 (in Chinese)
- [13] Paterson D L, Ko W C, Von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas J M, Goossens H, Mulazimoglu L, Trenholme G, Klugman K P, Bonomo R A, Rice L B, Wagener M M, McCormack J G, Yu V L. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial infections [J]. *Annals of Internal Medicine*, 2004, 140(1): 26-32
- [14] Sanchez G V, Master R N, Clark R B, Fyyaz M, Duvvuri P, Ekta G, Bordon J. *Klebsiella pneumoniae* antimicrobial drug resistance, United States, 1998-2010 [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2013, 19(1): 133-136
- [15] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 汪复, 蒋晓飞, 徐英春, 张小江, 张朝霞, 李萍, 谢轶, 康梅, 王传清, 王爱敏, 徐元宏, 沈继录, 孙自镛, 陈中举, 倪语星, 孙景勇, 褚云卓, 田素飞, 胡志东, 李金, 俞云松, 林洁, 单斌, 杜艳, 郭素芳, 魏莲花, 邹凤梅, 张泓, 王春, 胡云建, 艾效曼, 卓超, 苏丹虹, 汪瑞忠, 房华, 俞碧霞, 赵勇, 龚萍, 郭大文, 赵金英, 刘文恩, 李艳明, 金炎, 邵春红, 温开镇, 张贻荣, 徐雪松, 鄢超, 喻华, 黄湘宁, 王山梅, 楚亚非, 张利侠, 马娟, 周树平, 周艳, 朱镭, 孟晋华. 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 F P, Guo Y, Zhu D M, Wang F, Jiang X F, Xu Y C, Zhang X J, Zhang Z X, Ji P, Xie Y, Kang M, Wang C Q, Wang A M, Xu Y H, Shen J L, Sun Z Y, Chen Z J, Ni Y X, Sun J Y, Chu Y Z, Tian S F, Hu Z D, Li J, Yu Y S, Lin J, Shan B, Du Y, Guo S F, Wei L H, Zou F M, Zhang H, Wang C, Hu Y J, Ai X M, Zhuo C, Su D H, Wang R Z, Fang H, Yu B X, Zhao Y, Gong P, Guo D W, Zhao J Y, Liu W E, Li Y M, Jin Y, Shao C H, Wen K Z, Zhang Y R, Xu X S, Yan C, Yu H, Huang X N, Wang S M, Chu Y F, Zhang L X, Ma J, Zhou S P, Zhou Y, Zhu L, Meng J H. CHINET surveillance of bacterial resistance across China: Report of the results in 2016 [J]. *Chinese Journal of Infection and Chemotherapy*, 2017, 17(5): 481-491 (in Chinese)
- [16] 潘皎皎, 高佳敏, 孙世浩, 桂成坤, 李莲瑞. 猪源性肺炎克雷伯菌的分离鉴定[J]. 当代畜牧, 2020(2): 19-21
Pan J J, Gao J M, Sun S H, Gui C K, Li L R. Isolation and identification of *Klebsiella pneumoniae* from pigs and its drug resistance analysis [J]. *Contemporary Animal Husbandry*, 2020(2): 19-21 (in Chinese)
- [17] 马舒慈. 新疆南疆马鹿肺炎克雷伯菌分子流行病学调查及耐药特性研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2022
Ma S Y. Molecular epidemiological investigation and drug resistance characteristics on *Klebsiella pneumoniae* of red Deer in southern xinjiang [D]. Ala'er: Tarim University, 2022 (in Chinese)
- [18] 欧冠标, 周雨晴, 彭昊, 陆泽宁, 廖玉英, 马东鑫, 袁敬知, 葛强, 李珣, 王晓晔. 猪源肺炎克雷伯氏菌耐药性及毒力基因分析[J]. 中国动物检疫, 2021, 38(6): 102-111
Ou G B, Zhou Y Q, Peng H, Lu Z N, Liao Y Y, Ma D X, Yuan J Z, Ge Q, Li X, Wang X Y. Analysis on drug resistance and virulence genes of porcine *Klebsiella pneumoniae* from swine origin [J]. *China Animal Health Inspection*, 2021, 38(6): 102-111 (in Chinese)
- [19] EUCAST. *Euca*st 欧盟药敏试验标准[M]. 北京: 中国标准出版社, 2017
EUCAST. *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing* [M]. Beijing: Standards Press of China, 2017 (in Chinese)
- [20] M100-S26. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: CLSI document twenty-six informational supplement [S]. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2016

- [21] 吴立婷. 扬州地区宠物源大肠杆菌耐药性分析及耐药基因检测[D]. 扬州: 扬州大学, 2017
- Wu L T. Detection and analysis of drug resistance genes among *Escherichia coli* isolated from companion animals in Yangzhou area[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2017 (in Chinese)
- [22] 杜伟伟. 河北省乳源金黄色葡萄球菌耐药性检测及耐药基因的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2015
- Du W W. Research on drug resistance and resistant genes of the *Staphylococcus aureus* from raw milk in province of hebei[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- [23] Aminov R I, Garrigues-Jeanjean N, Mackie R I. Molecular ecology of tetracycline resistance: Development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(1): 22-32
- [24] 南海辰. 新疆不同动物源喹诺酮类耐药大肠杆菌PMQR因子流行性调查[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014
- Nan H C. Epidemic investigation of PMQR factor among quinolone-resistance *Escherichia coli* from different animal sources in xinjiang[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [25] Gay K, Robicsek A, Strahilevitz J, Park C H, Jacoby G, Barrett T J, Medalla F, Chiller T M, Hooper D C. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-typhi serotypes of *Salmonella enterica* [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2006, 43(3): 297-304
- [26] Monstein H J, Ostholm-Balkhed A, Nilsson M V, Nilsson M, Dornbusch K, Nilsson L E. Multiplex PCR amplification assay for the detection of *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} and *bla*_{CTX-M} genes in *Enterobacteriaceae*[J]. *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, 2007, 115(12): 1400-1408
- [27] 陈静. 广州地区候鸟源碳青霉烯酶大肠杆菌的耐药性初步研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2017
- Chen J. Preliminary study on drug resistance of carbapene mase-producing *Escherichia coli* from migratory birds in guangzhou [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017 (in Chinese)
- [28] 刘保光, 栗俞程, 汪保英, 白明, 苗明三, 许二平. CTX-M型超广谱β-内酰胺酶研究进展[J]. 河南农业科学. 2019, 48(12): 1-7
- Liu B G, Li Y C, Wang B Y, Bai M, Miao M S, Xu E P. Research progress of CTX-M type extended-spectrum β-lactamases[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2019, 48(12): 1-7 (in Chinese)
- [29] He T, Wang R, Liu D J, Walsh T R, Zhang R, Lv Y, Ke Y B, Ji Q J, Wei R C, Liu Z H, Shen Y B, Wang G, Sun L C, Lei L, Lv Z Q, Li Y, Pang M D, Wang L Y, Sun Q L, Fu Y L, Song H W, Hao Y X, Shen Z Q, Wang S L, Chen G X, Wu C M, Shen J Z, Wang Y. Emergence of plasmid-mediated high-level tigecycline resistance genes in animals and humans[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4: 1450-1456
- [30] Rebelo A R, Bortolaia V, Kjeldgaard J S, Pedersen S K, Leekitcharoenphon P, Hansen I M, Guerra B, Malorny B, Borowiak M, Hammerl J A, Battisti A, Franco A, Alba P, Perrin-Guyomard A, Granier S A, De Frutos Escobar C, Malhotra-Kumar S, Villa L, Carattoli A, Hendriksen R S. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes[J]. *Euro Surveillance: Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles=European Communicable Disease Bulletin*, 2018, 23(6): 17-00672
- [31] Borowiak M, Fischer J, Hammerl J A, Hendriksen R S, Szabo I, Malorny B. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica subsp. enterica* serovar Paratyphi B[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2017, 72(12): 3317-3324
- [32] Borowiak M, Baumann B, Fischer J, Thomas K, Deneke C, Hammerl J A, Szabo I, Malorny B. Development of a novel mcr-6 to mcr-9 multiplex PCR and assessment of mcr-1 to mcr-9 occurrence in colistin-resistant *Salmonella enterica* isolates from environment, feed, animals and food (2011-2018) in Germany[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 80
- [33] Sunde M, Norström M. The prevalence of, associations between and conjugal transfer of antibiotic resistance genes in *Escherichia coli* isolated from Norwegian meat and meat products[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2006, 58(4): 741-747
- [34] 刘周. 高毒力肺炎克雷伯菌分子特征、碳青霉烯耐药机制及进化相关适应性代价研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2019
- Liu Z. Study on molecular characteristics, carbapenem resistance mechanism and evolution-related fitness cost of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*[D]. Hefei: Anhui Medical University, 2019 (in Chinese)
- [35] Turton J F, Perry C, Elgohari S, Hampton C V. PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2010, 59(Pt 5): 541-547
- [36] 张凯川, 王晋宇, 李守军, 贾坤. 广东省羊源肺炎克雷伯菌遗传进化与毒力基因及耐药性分析[J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54(1): 328-337 (in Chinese)
- Zhang K C, Wang J Y, Li S J, Jia K. Isolation, identification and biological characteristics of *Klebsiella pneumoniae* from sheep in Guangdong Province[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2023, 54(1): 328-337 (in Chinese)
- [37] 王哲红. 新疆集约化牛场肺炎克雷伯菌分子流行病学调查及耐药特性研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2021
- Wang Z H. Molecular epidemiological investigation and drug resistance characteristics on *Klebsiella pneumoniae* of intensive cattle farms in xinjiang[D]. Ala'er: Tarim University, 2021 (in Chinese)
- [38] Johnson J R, Stell A L. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise [J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2000, 181(1): 261-272
- [39] Wu J Y, Chen J, Wang Y, Meng Q T, Zhao J Z. Siderophore iucA of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* promotes liver damage in mice by inducing oxidative stress [J]. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2022, 32: 101376
- [40] Hu F, Zhu D, Wang F, Wang M. Current status and trends of antibacterial resistance in China [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2018, 67(S2): S128-S134
- [41] 刘保光, 贺志沛, 吴华, 刘凯, 杨康林. 兽医临床肺炎克雷伯菌的流行现状及防治措施研究[J]. 农业灾害研究, 2013, 3(8): 32-33, 41
- Liu B G, He Z P, Wu H. Research on situation and control measures of *Klebsiella pneumoniae* epidemic in veterinary clinical [J]. *Journal of Agricultural Catastrophology*, 2013, 3(8): 32-33, 41 (in Chinese)
- [42] Martin R M, Cao J, Brisse S, Passet V, Wu W, Zhao L, Malani P N, Rao K, Bachman M A. Molecular epidemiology of colonizing and infecting isolates of *Klebsiella pneumoniae* [J]. *mSphere*, 2016, 1(5): e00261-e00216
- [43] 杜琳, 王丽芳, 冯小慧, 张三粉, 宋洁, 姚一萍, 史培. 奶牛乳房炎克雷伯氏菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019(1): 77-80, 180
- Du L, Wang L F, Feng X H, Zhang S F, Song J, Yao Y P, Shi P. Isolation, identification and drug resistance analysis of *Klebsiella* of dairy cow mastitis[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2019(1): 77-80, 180 (in Chinese)

- [44] 郭良帅. 和田地区羊源肺炎克雷伯菌的分离及生物学特征鉴定[J]. 中农农业科技, 2023, 44(6): 74-80
- Guo L S. Isolation and identification of *Klebsiella pneumoniae* from sheep in Hotan area [J]. *South-Central Agricultural Science and Technology*, 2023, 44(6): 74-80 (in Chinese)
- [45] 徐睿, 赖华敏, 欧正阳, 苏悦, 宋辉辉, 任子宁, 柳玲玲, 孙成龙, 俞道进. 福建省莆田地区猪源肺炎克雷伯菌的分离鉴定及耐药情况检测[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2023(15): 72-77, 136
- Xu R, Lai H M, Ou Z Y, Su Y, Song H H, Ren Z N, Liu L L, Sun C L, Yu D J. Isolation and identification of pig-derived *Klebsiella pneumoniae* in Putian region, Fujian Province and detection of drug resistance [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2023(15): 72-77, 136 (in Chinese)
- [46] Mobasser G, Thong K L, Rajasekaram G, Teh C S J. Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* from a Malaysian hospital [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2020, 51(1): 189-195
- [47] 饶冠利, 周文聪, 季青, 张德忠. 耐头孢他啶大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌对氟喹诺酮类药物的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(8): 1908-1910
- Rao G L, Zhou W C, Ji Q, Zhang D Z. Drug resistance of ceftazidime-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* to fluoroquinolones antibiotics [J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2013, 23(8): 1908-1910 (in Chinese)
- [48] Liu Y Y, Wang Y, Walsh T R, Yi L X, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G B, Dong B L, Huang X H, Yu L F, Gu D X, Ren H W, Chen X J, Lv L C, He D D, Zhou H W, Liang Z S, Liu J H, Shen J Z. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study [J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2016, 16(2): 161-168
- [49] Wang Y, Zhang R M, Li J Y, Wu Z W, Yin W J, Schwarz S, Tyrrell J M, Zheng Y J, Wang S L, Shen Z Q, Liu Z H, Liu J Y, Lei L, Li M, Zhang Q D, Wu C M, Zhang Q J, Wu Y N, Walsh T R, Shen J Z. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and *MCR-1* in Chinese poultry production [J]. *Nature Microbiology*, 2017, 6(2): 16260
- [50] Li Y, Wang Q, Peng K, Liu Y, Li R C, Wang Z Q. Emergence of carbapenem- and tigecycline-resistant *Proteus cibarius* of animal origin [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1940
- [51] Lin W H, Kao C Y, Yang D C, Tseng C C, Wu A B, Teng C H, Wang M C, Wu J J. Clinical and microbiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae* from community-acquired recurrent urinary tract infections [J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2014, 33(9): 1533-1539
- [52] Jung S G, Jang J H, Kim A Y, Lim M C, Kim B, Lee J, Kim Y R. Removal of pathogenic factors from 2,3-butanediol-producing *Klebsiella* species by inactivating virulence-related *wabG* gene [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(5): 1997-2007
- [53] Vogels G D, Van der Drift C. Degradation of purines and pyrimidines by microorganisms [J]. *Bacteriological Reviews*, 1976, 40(2): 403-468
- [54] Paczosa M K, Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the offense with a strong defense [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 2016, 80(3): 629-661
- [55] Jung S W, Chae H J, Park Y J, Yu J K, Kim S Y, Lee H K, Lee J H, Kahng J M, Lee S O, Lee M K, Lim J H, Lee C H, Chang S J, Ahn J Y, Lee J W, Park Y G. Microbiological and clinical characteristics of bacteraemia caused by the hypermucoviscosity phenotype of *Klebsiella pneumoniae* in Korea [J]. *Epidemiology and Infection*, 2013, 141(2): 334-340
- [56] Shankar C, Veeraraghavan B, Nabarro L E B, Ravi R, Ragupathi N K D, Rupali P. Whole genome analysis of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* isolates from community and hospital acquired bloodstream infection [J]. *BMC Microbiology*, 2018, 18(1): 6

责任编辑: 秦梅



第一作者简介: 张晨晖,女,汉族,本科毕业于新疆农业大学动物医学学院动物植物检疫专业,现为新疆农业大学动物医学学院兽医学硕士研究生。本科期间参与校级大学生科研创新项目1次,研究生入学至今获校级奖学金1次。



通讯作者简介: 夏利宁,农学博士学位,硕士生/博士生导师,九三社员。主要研究方向为兽医药理与毒理学。先后主持国家自然科学基金4项;国家教育部重点项目1项;新疆维吾尔自治区自然科学基金2项;新疆维吾尔自治区教育厅青年培育项目1项;获批自治区“天山英才”培养计划“三农”骨干人才项目1项。发表论文80余篇,其中SCI收录论文20余篇。获批实用新型专利4项。制定地方标准1个。获得校级科研成果奖2项。指导校级优秀硕士论文4篇,自治区级优秀博士论文1篇。