

泰安市腹泻门诊病例粪便中肺炎克雷伯菌检出率、耐药特征和分子分型研究

张新峰¹ 王蕾² 胡彬³ 张爱华¹ 郑金华¹ 陆娟娟¹ 毕振旺³

¹泰安市疾病预防控制中心 271000; ²济南市第二疾病预防控制中心 271100; ³山东省疾病预防控制中心, 济南 250000

张新峰和王蕾对本文有同等贡献

通信作者: 毕振旺, Email: bzwn@163.com

【摘要】目的 了解泰安市感染性腹泻门诊病例粪便中肺炎克雷伯菌的检出率、耐药特征及分子分型特性。**方法** 对采自泰安市6个县(市、区)2013—2017年腹泻病症候群监测病例的866份粪便标本进行肺炎克雷伯菌的分离培养和鉴定;采用微量肉汤稀释法研究分离菌株的耐药情况;应用PFGE技术对菌株进行分子分型。**结果** 肺炎克雷伯菌的总检出率为7.97%(69/866);各县(市、区)检出率差异有统计学意义($\chi^2=39.627, P=0.000$)。耐药菌株68株的15种常用抗生素的总耐药率为98.55%(68/69),对氨苄西林(AMP)和磺胺异恶唑(SOX)的耐药率最高,分别为84.06%(58/69)和72.46%(50/69),共有40个耐药谱,主要耐药谱特征为AMP-SOX($n=10$);多重耐药率为33.33%(23/69)。69株分离株中共有65种PFGE型别,未发现优势带型或聚集现象。**结论** 肺炎克雷伯菌存在于泰安市各地区腹泻病症候群门诊病例的粪便中,能够引起社区获得性感染;对多种抗生素耐药,耐药谱广,多重耐药率高;PFGE带型呈现多样性,无耐药谱对应性。应高度重视和加强对该来源菌株的监测,防止更多的耐药菌株的产生和传播,保护易感人群。

【关键词】 腹泻;肺炎克雷伯菌;检出率;耐药性;脉冲场凝胶电泳

基金项目: 国家科技重大专项(2012ZX10004-201-002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.03.027

Detection rate, antimicrobial resistance and molecular types of *Klebsiella pneumoniae* from stool samples of outpatients with diarrhea-syndrome in Tai'an

Zhang Xinfeng¹, Wang Lei², Hu Bin³, Zhang Aihua¹, Zheng Jinhua¹, Lu Juanjuan¹, Bi Zhenwang³

¹Tai'an Prefectural Center for Disease Control and Prevention, Tai'an 271000, China; ²Jinan Second Center for Disease Control and Prevention, Jinan 271100, China; ³Shandong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jinan 250000, China

Zhang Xinfeng and Wang Lei contributed equally to the article

Corresponding author: Bi Zhenwang, Email: bzwn@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the isolation rate, antimicrobial resistance phenotype, and molecular type characteristics of *Klebsiella pneumoniae* from infectious diarrhea outpatients in Tai'an. **Methods** A total of 866 stool samples were collected from infectious diarrhea cases in sentinel hospitals in 6 counties of Tai'an from 2013 to 2017. The strains were isolated from stool samples of the cases and identified by biochemical test. Micro broth dilution method was used to detect the drug resistance of the strains. The molecular typing was conducted by using pulsed field gel electrophoresis (PFGE). **Results** The detection rate of *Klebsiella pneumoniae* in the stool samples was 7.97% (69/866), with significant differences among the 6 counties ($\chi^2=39.627, P=0.000$). Sixty-eight out of the 69 strains were resistant to 15 antibiotics with resistance rate 98.55%(68/69). The resistance to ampicillin (AMP) was highest (84.06%) (58/69), followed by sulfamethoxazole (SOX) (72.46%) (50/69). There were 40 drug resistance profiles, and the predominant resistance profile was AMP-SOX detected ($n=10$). The multi-drug resistant (MDR) strains accounted for 33.33% (23/69). The 69 strains could be divided into 65 PFGE patterns, and no predominant PFGE pattern or cluster was observed. **Conclusions** *Klebsiella pneumoniae* was detected in the stool samples of diarrhea-syndrome outpatients, indicating the risk for community-acquired infection; the strains were resistant to multiplex antibiotics, with wide drug-resistance profiles and high multi-drug resistance rates. The

PFGE patterns were diverse, which showed no correlation with drug resistance profiles. Our study indicated that it necessary to strengthen the surveillance and detection of *Klebsiella pneumoniae* from diarrhea outpatients, which could facilitate the prevention of the emergence and spread of drug resistance strains and the protection of susceptible population.

【Key words】 Diarrhea; *Klebsiella pneumoniae*; Isolation rate; Antimicrobial resistance; Pulsed field gel electrophoresis

Fund program: National Science and Technology Major Project of China (2012ZX10004-201-002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.03.027

肺炎克雷伯菌为革兰阴性杆菌,广泛分布于自然界,亦存在于人体皮肤、呼吸道和肠道等处。肺炎克雷伯菌一般情况下不致病,但当机体免疫力低下或不合理使用抗生素导致菌群失调时可引起肺炎、肝脓肿、菌血症、尿路感染、眼内炎等感染,有时也会引起人的腹泻^[1-3],是可引起社区获得性感染或医院内感染的潜在病原体。目前关于社区获得性胃肠道感染肺炎克雷伯菌的报道较少。越来越多的医院感染可能会增加社区获得性感染发生的风险,因此,2013—2017年在泰安市开展腹泻门诊病例粪便中肺炎克雷伯菌检出率、耐药特征和分子分型研究,以了解泰安市社区获得性感染肺炎克雷伯菌的存在情况以及其潜在的持续传播的风险。

材料与方法

1. 菌株来源:研究现场为泰安市泰山区、岱岳区、新泰市、宁阳县、肥城市及东平县6个县(区、市)的腹泻病症候群监测哨点医院,根据全国监测点抽样框架选取。69株肺炎克雷伯菌株收集自2013—2017年泰安市腹泻病症候群监测哨点医院肠道门诊的腹泻病例的粪便标本,且均为该腹泻粪便标本单一检出致泻病原菌。病例均未服用抗生素类药物,无呕吐,每日排便 ≥ 3 次,且性状多为水样便;粪便常规检测为白细胞阳性和红细胞阴性。采集的粪便标本于Cary-Blair运送培养基中低温下4 h内送到泰安市CDC进行肠道致病菌的分离鉴定和PFGE分子分型。

2. 主要试剂和仪器:Cary-Blair运送培养基购自青岛高科园海博生物技术有限公司,SS琼脂、XLD琼脂、麦康凯琼脂(Mac)及血平板(成品)为北京陆桥技术有限责任公司产品,革兰阴性菌生化鉴定板(美国Beckman Coulter, Inc公司生产),其他培养基均由北京陆桥技术有限责任公司生产。SeaKemGold琼脂糖、10×TBE缓冲液购自美国Bio-Rad公司;SDS、蛋白酶K购自美国Sigma公司;Xba I限制性内切酶购自大连宝生物公司,所有试剂、培养基均在有效期内使用。AS4德灵半自动生

化分析仪及生化鉴定板均购自美国德灵公司,Bio-Rad脉冲场凝胶电泳仪、Bio-Rad凝胶成像系统购自美国Bio-Rad公司。

3. 研究方法:依据国家科技重大专项相关子课题的腹泻病症候群监测技术方案进行检测。

(1)菌株的分离培养和鉴定:将粪便标本接种XLD平板、SS平板和麦康凯平板,培养18~24 h,观察菌落形态。对可疑菌落进行涂片、染色镜检,接种三糖铁及MIU培养管进行初步生化反应,并经德灵半自动生化分析仪进行菌种鉴定。

(2)药敏试验:根据美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的抗生素敏感性试验—微量肉汤稀释法对氨苄西林(AMP)、头孢吡肟(FEP)、头孢曲松(CRO)、头孢西丁(CFX)、阿莫西林-克拉维酸钾(AMC)、亚胺培南(IMP)、阿奇霉素(AMZ)、庆大霉素(GEN)、四环素(TET)、强力霉素(DOX)、氯霉素(CHL)、磺胺异恶唑(SOX)、复方新诺明(SMZ-TMP)、环丙沙星(CIP)、萘啶酸(NAL)共15种常用抗生素进行试验和结果判读,质控菌株为大肠埃希菌ATCC25922(由中国CDC提供)。加样后药敏板经20 h孵育后,肉眼判读的方法对药敏板进行读数,经数据分析得到最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),并根据CLSI的相应标准获得敏感(S)、中度敏感(I)和耐药(R)的结果。

耐药特征:主要分析耐药菌株的耐药率和耐药谱,多重耐药(MDR)指对 ≥ 3 类抗生素(且每类抗生素 ≥ 1 种)同时耐药,并且仅指获得性耐药,不包括天然耐药^[4],分析多重耐药率。

(3)脉冲场凝胶电泳(PFGE)分子分型:按照PulseNet China监测网络中肺炎克雷伯菌的标准分型方法,选用限制性内切酶Xba I对分离菌株的全基因组DNA进行酶切,按照文献中描述的方法进行PFGE操作^[4]。PFGE成像结果导入BioNumerics 7.1软件,经校准后使用非加权配对算数平均法和DICE系数进行聚类分析,构建聚类树,分析菌株间的相似程度。

4. 统计学分析:用SPSS 22.0软件进行数据的统计分析处理。通过率(%)和构成比(%)进行统计学描述。率的比较采用 χ^2 检验。双侧检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 菌株来源:2013—2017年泰安市866例腹泻病例的粪便中,共检出肺炎克雷伯菌69株,总检出率为7.97%(69/866);2013—2017年的检出率分别为5.79%(7/121)、7.65%(14/183)、7.09%(10/141)、14.73%(19/156)及10.44%(19/265),差异无统计学意义($\chi^2=4.963, P=0.291$)。6个县(市、区)肺炎克雷伯菌检出率分别为:泰山区2.86%(11/385)、岱岳区6.29%(9/143)、新泰市18.63%(19/102)、宁阳县12.70%(16/126)、肥城市15.19%(12/79)、东平县6.45%(2/31)。各县(市、区)的检出率差异有统计学意义($\chi^2=39.627, P=0.000$)(表1)。此外,69株肺炎克雷伯菌分离自69例不同的感染者,其中<3岁感染者42例,占60.87%(42/69)。

2. 耐药性分析:

(1)耐药率:在69株肺炎克雷伯菌中,耐药菌株68株,总耐药率为98.55%(68/69)。其中对AMP耐药率最高,为84.06%(58/69);其次为SOX,耐药率为72.46%(50/69);耐药率最低的是IMP,耐药率为2.89%(2/69)(表2)。

(2)耐药谱:共表现出40种不同的耐药模式,最常见的前5种耐药模式占43.48%(30/69),主要耐药谱为AMP-SOX($n=10$)(表3);其他各种耐药模式的菌株数均<2株。其中 ≥ 10 种抗生素同时耐药的菌株高达8株,占11.59%(8/69)。

(3)多重耐药:考虑到肺炎克雷伯菌对AMP的天然耐药特性,69株菌中23株为多重耐药菌株,多重耐药率高达33.33%(23/69),其中12株对5~8类抗生素同时耐药,占52.17%(12/23)(表3)。

3. PFGE分子分型:69株肺炎克雷伯菌Xba I酶

切后可分为65种不同的型别,相似度为57%~100%,分别命名为X01.SD0001~X01.SD0065(图1)。各PFGE型别包含菌株数量为1~2株,其中包含2株菌株的型别有4个,分别为X01.SD0022、X01.SD0029、X01.SD0043、X01.SD0057。从整体看,69株菌的核酸序列多态性较多,带型聚集性更分散(图1)。同一耐药谱可对应不同PFGE型别,如耐SOX-DOX-AMZ-TET的2株菌分别属于X01.SD0006和X01.SD0043两种型别。而同一种PFGE型别中可包含不同的耐药型别,如X01.SD0043型中有耐SOX-AMZ和SOX-AMZ全敏感2种,X01.SD0029和X01.SD0022型中的两株菌分别仅对SOX和CHL的耐药性不同;同一种型别的两个菌株的耐药谱也可完全一致,如X01.SD0057型的两株菌的耐药谱均为AMP-SMZ/TMP-TET(表4)。同一型别下的两株菌均来自同一年代同一地区;其他菌株的带型与菌株的来源地区和分离年代之间没有一致性关系。在单菌株带型对应的耐药谱中,带型与耐药谱未发现一致性或高相似性。

讨 论

作为仅次于大肠埃希菌的第二大条件致病菌,肺炎克雷伯菌存在于人体的上呼吸道和肠道等处。研究表明肺炎克雷伯菌感染可能从肠道定植开始,粪便中的细菌可移位引起其他部位感染^[5]。近年来,由外源性的致病微生物(如志贺菌属、沙门菌属等)引起的腹泻已减少,而内源性的“正常菌群”或是周围环境中毒力较低的细菌、真菌等“非致病菌”,侵袭了抵抗力低下的宿主,如老年人、儿童、重症患者等,导致腹泻或其他感染。粪便中肺炎克雷伯菌的分离和监测具有重要意义。肺炎克雷伯菌可引起社区获得性感染、长期医疗相关的感染及院内感染等,随着抗生素的广泛滥用,并已成为医院内感染的主要致病菌,其检出率为60%~70%^[6]。有研究表明肺炎克雷伯菌是4.8%的社区获得性肺炎的

表1 2013—2017年泰安市腹泻病标本肺炎克雷伯菌检出情况

年份	泰山区			岱岳区			新泰市			宁阳县			肥城市			东平县			合计		
	样品数量	检出份数	检出率(%)	样品数量	检出份数	检出率(%)	样品数量	检出份数	检出率(%)	样品数量	检出份数	检出率(%)	样品数量	检出份数	检出率(%)	样品数量	检出份数	检出率(%)	样品数量	检出份数	检出率(%)
2013	96	5	5.21	9	0	-	5	1	-	11	1	9.09	/	/	/	/	/	/	121	7	5.79
2014	115	3	2.61	23	3	13.04	15	4	-	30	4	13.33	/	/	/	/	/	/	183	14	7.65
2015	66	3	4.55	30	2	6.67	15	4	-	30	1	3.33	/	/	/	/	/	/	141	10	7.09
2016	49	0	0.00	19	2	-	31	5	16.13	30	8	26.67	23	4	17.39	4	0	0.00	156	19	14.73
2017	59	0	0.00	62	2	3.23	36	5	13.89	25	2	8.00	56	8	14.29	27	2	7.41	265	19	10.44
合计	385	11	2.86	143	9	6.29	102	19	18.63	126	16	12.70	79	12	15.19	31	2	6.45	866	69	7.97

注:-为分母<20; /为标本未采集或数据缺失

表 2 69 株肺炎克雷伯菌对 15 种抗生素的耐药分布

抗生素	耐药		中度敏感		敏感	
	株数	率(%)	株数	率(%)	株数	率(%)
CIP	6	8.70	0	0.00	63	91.30
FEP	6	8.70	4	5.80	59	85.50
CFX	7	10.14	2	2.90	60	86.96
DOX	21	30.43	5	7.25	43	62.32
CHL	16	23.19	10	14.49	43	62.32
AMC	10	14.49	4	5.80	55	79.71
GEN	5	7.25	0	0.00	64	92.75
TET	21	30.43	6	8.70	42	60.87
NAL	9	13.04	0	0.00	60	86.96
SMZ-TMP	15	21.74	0	0.00	54	78.26
CRO	10	14.49	2	2.90	57	82.61
AMP	58	84.06	6	8.70	5	7.24
SOX	50	72.46	0	0.00	19	27.54
IMP	2	2.90	2	2.90	65	94.20
AMZ	26	37.68	0	0.00	43	62.32

注:AMP:氨苄西林;FEP:头孢吡肟;CRO:头孢曲松;CFX:头孢西丁;AMC:阿莫西林-克拉维酸;IMP:亚胺培南;AMZ:阿奇霉素;GEN:庆大霉素;TET:四环素;DOX:强力霉素;CHL:氯霉素;SOX:磺胺异恶唑;SMZ-TMP:复方新诺明;CIP:环丙沙星;NAL:萘啶酸

致病菌^[7]。

本研究发现,泰安市哨点医院肠道门诊腹泻病症候群门诊病例粪便中肺炎克雷伯菌检出率为 7.97%,进一步表明了肺炎克雷伯菌社区获得性感染的存在^[8]。此检出率和哈尔滨市细菌性腹泻患者粪便标本中该菌的检出率 8.09% 相近^[9],但远高于北京地区门诊病例的携带率 0.5%^[10],这可能与地区之间人体肠道菌群构成、卫生条件等差异相关。泰安市肺炎克雷伯菌各年度检出率差异无统计学意义,说明该菌在 2013—2017 年的检出率变化不大;但各地

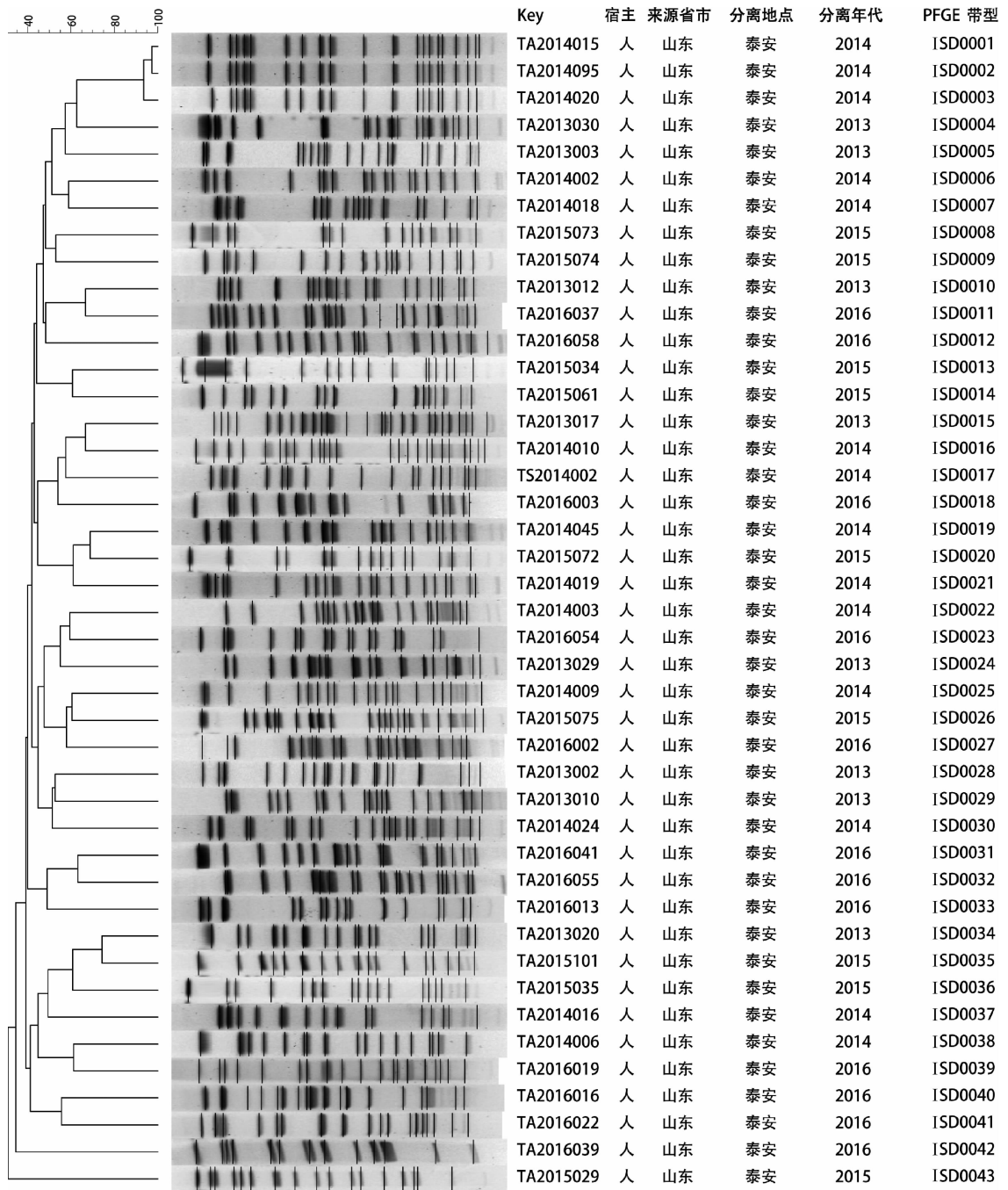
区检出率有显著差异,可能与各地区的经济水平、生活环境和卫生习惯等有关,其中新泰市检出率明显高于其他县(市、区),表明该地区肺炎克雷伯菌社区获得性感染发生风险较高,应加强监测。此外,≤ 3 岁婴幼儿感染者所占比例较高,这主要与其较低的机体免疫力以及尚未稳定的肠道菌群环境有关,应重点加强婴幼儿肺炎克雷伯菌感染监测,保护易感人群。

肺炎克雷伯菌极易产生耐药性,其高耐药特性被认为是对全球公共卫生的重大威胁^[11]。目前肺炎克雷伯菌引起的食源性疾病事件的报道国内外并不多见,因此对腹泻病例粪便标本中分离的肺炎克雷伯菌株进行耐药性分析的报道更是少见。了解腹泻病例肠道中肺炎克雷伯菌的耐药特性,也将有助于进一步研究肺炎克雷伯菌通过食物链和呼吸链感染获得耐药特性的相关性。从泰安市腹泻病例粪便中分离的肺炎克雷伯菌的耐药率之高、耐药谱之广与有关报道不同^[12],其中 GEN 和 IMP 的耐药率与分离自呼吸道菌株的耐药率不同^[13-14],这可能与地区差异以及临床上较多地使用多种抗生素有关,同时也表明不同来源的菌株获得耐药机制可能不同。另外碳青霉烯类抗生素具有广泛的抗菌活性,是临床治疗肺炎克雷伯菌感染的有效药物之一。在全部分离株中,2 株对 IMP 耐药,耐药率为 2.90%,且分离年份为 2016 和 2017 年,说明随着该类药物的广泛使用,腹泻病例肠道中的肺炎克雷伯菌也开始产生碳青霉烯酶,提示需要加强对粪便中肺炎克雷伯菌的耐药监测,同时医疗机构在治疗腹泻病时需要进一步关

表 3 69 株肺炎克雷伯菌的耐药特征

耐药项目	耐药特征	菌株数
前 5 位常见耐药谱 (n=30)	AMP-SOX	10
	AMP	8
	SOX	4
	AMP-SOX-AMC	4
	AMP-SOX-AMZ	4
多重耐药类型 (n=23)	三重耐药 (CHL-SOX-AMZ; CIP-CHL-SOX; SOX-DOX-AMZ; SOX-DOX-AMZ-TET; SOX-SMZ/TMP-CRO-DOX-TET-FEP)	7
	四重耐药 (SOX-DOX-AMZ-TET; SOX-SMZ/TMP-CRO-DOX-TET-FEP; SOX-SMZ/TMP-DOX-GEN-AMZ; CHL-SOX-DOX-AMZ-TET)	4
	五重耐药 (CHL-SOX-CRO-DOX-AMZ-TET; CHL-SOX-NAL-DOX-AMZ-TET; SOX-SMZ/TMP-NAL-AMC-DOX-AMZ-TET)	3
	六重耐药 (CHL-SOX-SMZ/TMP-CRO-DOX-GEN-AMZ-TET-FEP; CHL-SOX-SMZ/TMP-NAL-CRO-DOX-AMZ-TET-FEP; CIP-CHL-SOX-SMZ/TMP-NAL-CRO-DOX-AMZ-TET-FEP; SOX-SMZ/TMP-AMC-CRO-AMZ-CFX-FEP-IMP)	5
	七重耐药 (CIP-CHL-SOX-SMZ/TMP-NAL-AMC-DOX-GEN-AMZ)	1
	八重耐药 (CIP-CHL-SMZ/TMP-NAL-AMC-CRO-AMZ-TET-CFX; CHL-SOX-NAL-CRO-DOX-GEN-AMZ-TET-CFX-FEP; CIP-CHL-SOX-SMZ/TMP-NAL-AMC-DOX-GEN-AMZ-TET-CFX)	3

注:AMP:氨苄西林;FEP:头孢吡肟;CRO:头孢曲松;CFX:头孢西丁;AMC:阿莫西林-克拉维酸;IMP:亚胺培南;AMZ:阿奇霉素;GEN:庆大霉素;TET:四环素;DOX:强力霉素;CHL:氯霉素;SOX:磺胺异恶唑;SMZ-TMP:复方新诺明;CIP:环丙沙星;NAL:萘啶酸



注:相同菌株未显示

图1 69株肺炎克雷伯菌分离株脉冲场凝胶电泳分型型别的系统树

注菌株的耐药趋势及致病菌株来源,研究合理的用药方案,防止更多肺炎克雷伯菌耐药株的出现。

PFGE技术以重复性好、分辨力强而被称为细菌分子生物学分型的“金标准”^[15],其结果可用于描述病原菌菌株之间的遗传特性和相关性,追踪监测细菌性传染病的暴发和流行,控制继发性感染等,并为临床诊断和治疗提供分子生物学依据等^[16-17]。本研究显示,泰安地区的肺炎克雷伯菌的PFGE型别呈较独立的多态性分布状态的特点,与李兵兵等^[18]报

道的分离自血液、尿液及痰液中的肺炎克雷伯菌的PFGE带型多样性特点相符,未发现优势带型与聚集现象,提示近几年泰安市内肺炎克雷伯菌引起的腹泻呈现高度散发状态,发生大规模流行的可能性较小。但从聚类分析图上可以看出,在65种带型中有47个遗传相似度高于80%,遗传距离较近,提示变异中存在的相对稳定性。对PFGE带型完全相同的菌株流行病学调查发现:耐药谱、分离年代和地区完全相同的,提示该型别存在散发流行可能。此外

表4 PFGE带型与耐药谱对应情况

带型	耐药谱	菌株
X01.SD0022	AMP-CHL-SOX-AMZ	2014TS002
	AMP-SOX-AMZ	2014TS003
X01.SD0029	AMP-SOX	2016TA075
	AMP	2016TA078
X01.SD0043	AMP-SOX-DOX-AMZ-TET	2014TA095
	AMP-DOX-TET	2014TA097
X01.SD0057	AMP-SMZ/TMP-TET	2017TA211
	AMP-SMZ/TMP-TET	2017TA212

注:AMP:氨基苄西林;AMZ:阿奇霉素;TET:四环素;DOX:强力霉素;CHL:氯霉素;SOX:磺胺异恶唑;SMZ/TMP:复方新诺明

结合PFGE带型分析看,耐药谱相近或一致的多重耐药菌株和其他菌株之间的相似性不高,提示多重耐药性垂直传递的可能性不大,可能更多地源于种属间的水平转移和抗生素的高选择压力。研究还发现,PFGE带型与耐药谱间无相关性关系,对于这些肺炎克雷伯菌株关联度、传播模式以及相关疾病传播链的追溯还需要结合其他分子分型技术和流行病学调查资料进行进一步验证和研究。

综上所述,肺炎克雷伯菌存在于泰安市各地区腹泻病症候群门诊病例的粪便中,能够引起社区获得性感染;能够对多种抗生素耐药,耐药谱广,多重耐药率高;PFGE带型呈现多样性,无耐药谱对应性。应高度重视和加强对该来源菌株的监测,防止更多的耐药菌株的产生和传播,保护易感人群。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

[1] 周正任. 医学微生物学[M]. 6版. 北京:人民卫生出版社,2003:181.
Zhou ZR. Medical Microbiology[M]. 6th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003:181.

[2] Guerin F, Le Bouguenec C, Gilquin J, et al. Bloody diarrhea caused by *Klebsiella pneumoniae*: a new mechanism of bacterial virulence? [J]. Clin Infect Dis, 1998, 27(3): 648-649. DOI: 10.1086/517141.

[3] Gassama-Sow A, Diallo MH, Wane AA, et al. Genetic determinants of antibiotic resistance in diarrheagenic *Klebsiella pneumoniae* subspecies *ozaenae*: an emerging enteropathogen in Senegal [J]. Clin Infect Dis, 2010, 50(3): 453-454. DOI: 10.1086/649892.

[4] Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance [J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(3): 268-281. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.

[5] Montgomerie JZ. Epidemiology of *Klebsiella* and hospital-associated infections [J]. Rev Infect Dis, 1979, 1(5): 736-753. DOI: 10.1093/clinids/1.5.736.

[6] Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors [J]. Clin Microbiol Rev, 1998, 11(4): 589-603. DOI: 10.1128/CMR.11.4.589.

[7] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2012年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(5): 321-330.
Wang F, Zhu DM, Hu FP, et al. 2012 CHINET surveillance of

bacterial resistance in China [J]. Chin J Infect Chemother, 2013, 13(5): 321-330.

[8] Lee JC, Lee NY, Lee HC, et al. Clinical characteristics of urosepsis caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae* and their emergence in the community [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2012, 45(2): 127-133. DOI: 10.1016/j.jmii.2011.09.029.

[9] 覃金球,丘岳,郭世辉,等. 肺炎克雷伯菌的分布及耐药性分析 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(3): 269-272. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2017.03.009.

Qin JQ, Qiu Y, Guo SH, et al. Distribution and antimicrobial resistance profile of *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chin J Infect Chemother, 2017, 17(3): 269-272. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2017.03.009.

[10] Lu B, Zhou HJ, Zhang X, et al. Molecular characterization of *Klebsiella pneumoniae* isolates from stool specimens of outpatients in sentinel hospitals Beijing, China, 2010-2015 [J]. Gut Pathog, 2017, 9: 39. DOI: 10.1186/s13099-017-0188-7.

[11] Carl G, Jäckel C, Grützke J, et al. Complete genome sequence of the temperate *Klebsiella pneumoniae* phage KPP5665-2 [J]. Genome Announc, 2017, 5(43): e01118-17. DOI: 10.1128/genomeA.01118-17.

[12] 甘辛,徐学斌,王伟,等. 临床病例痰液和腹泻病例粪便标本来源的肺炎克雷伯菌分离株的耐药特征分析 [J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(12): 4889-4894. DOI: 10.3969/j.issn.2095-0381.2017.12.066.

Gan X, Xu XB, Wang W, et al. Drug resistant analysis of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical specimens of diarrhea stool and sputum [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(12): 4889-4894. DOI: 10.3969/j.issn.2095-0381.2017.12.066.

[13] 范厚臻,孙运芳. 临沂地区高毒力肺炎克雷伯菌分型及其耐药表型检测的研究 [J]. 重庆医学, 2019, 48(10): 1774-1776, 1780. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2019.10.038.

Fan HZ, Sun YF. Typing and drug-resistance phenotype of *Klebsiella pneumoniae* with high virulence in Linyi area [J]. Chongqing Med, 2019, 48(10): 1774-1776, 1780. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2019.10.038.

[14] 温慧敏,闫向真,刘新建,等. 新生儿社区获得性肺炎感染病原菌分布及其耐药性分析 [J]. 实用预防医学, 2015, 22(1): 108-109. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2015.01.035.

Wen HM, Yan XZ, Liu XJ, et al. Distribution and drug-resistance of pathogens in newborn with community acquired pneumonia infection [J]. Prac Prev Med, 2015, 22(1): 108-109. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2015.01.035.

[15] 王丽丽,徐建国. 脉冲场凝胶电泳技术(PFGE)在分子分型中的应用现状 [J]. 疾病监测, 2006, 21(5): 276-279. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2006.05.020.

Wang LL, Xu JG. Application of pulsed field gel electrophoresis (PFGE) in molecular typing [J]. Dis Surveil, 2006, 21(5): 276-279. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2006.05.020.

[16] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing [J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(9): 2233-2239.

[17] 金东,赵爱兰,白向宁,等. 非O157产志贺毒素大肠埃希菌分离株脉冲场凝胶电泳分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(5): 503-506. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.05.020.

Jin D, Zhao AL, Bai XN, et al. Pulsed-field gel electrophoresis typing on non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates [J]. Chin J Epidemiol, 2013, 34(5): 503-506. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.05.020.

[18] 李兵兵,刘纯成,高强,等. 淮安市56株临床分离肺炎克雷伯菌耐药性和分子分型特征 [J]. 江苏预防医学, 2019, 30(1): 15-18, 55. DOI: 10.13668/j.issn.1006-9070.2019.01.006.

Li BB, Liu CC, Gao Q, et al. Drug resistance and molecular characteristics of 56 clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* collected from pathogen identification network in Huai'an [J]. Jiangsu J Prev Med, 2019, 30(1): 15-18, 55. DOI: 10.13668/j.issn.1006-9070.2019.01.006.

(收稿日期:2019-03-04)
(本文编辑:斗智)