

李卓君, 王昕, 颜潇娜, 等. 禽胚源阴沟肠杆菌的耐药性检测及基因组分析 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (11): 76-82.

LI Z J, WANG X, YAN X N, et al. Antimicrobial resistance detection and genomic analysis of *Enterobacter cloacae* isolated from avian embryos [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (11): 76-82.

禽胚源阴沟肠杆菌的耐药性检测及基因组分析

李卓君^{1,2}, 王昕^{1,2}, 颜潇娜^{1,2}, 李霄玥^{1,2}, 李培^{1,2},
徐思翔^{1,2}, 张海燕³, 张爽³, 张炜^{1,2*}

(1. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210014;

2. 南京农业大学 WOH 猪链球菌参考实验室, 江苏 南京 210014;

3. 芜湖职业技术学院, 安徽 芜湖 241003)

摘要: 旨在分析禽胚源阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 的耐药性和基因组。从海南、安徽、河南等地的 600 余份死鸡胚中, 分离获得 63 株禽胚源阴沟肠杆菌, 进行耐药性表型分析及全基因组测序, 使用测序数据进行阴沟肠杆菌的多位点序列分型 (MLST)、耐药基因分析。结果: 禽源阴沟肠杆菌菌株耐药性严重程度与人源菌株相比较弱, 对于 β -内酰胺类的氨苄西林耐药率最高 (49.21%), 多重耐药 (超过 6 种抗生素) 的菌株 6 株 (9.52%); 耐药基因检索结果显示, 禽源菌株检索到 45 种耐药基因, 发现测序的 15 株禽源菌株均携带有 β -内酰胺类 AmpC 耐药基因 *bla_{CMH}*, 与本次耐药表型检测结果呈正相关; 人源菌株耐药基因携带量多于禽源菌株; 测序的 15 株菌有 1 株 (ECL036) 为 ST1 型, 其他菌株为新的 ST 型, 且 MLST 进化树显示禽源与人源菌株具有密切遗传关系。本研究对于禽源阴沟肠杆菌的耐药表型进行检测, 从基因组水平对于阴沟肠杆菌的耐药基因、MLST 型进行分析, 为有效防控禽类阴沟肠杆菌病提供理论及数据参考。

关键词: 阴沟肠杆菌; 耐药性; 耐药基因; 多位点序列分型

中图分类号: S852.61

文献标志码: A

文章编号: 0529-5130(2025)11-0076-07

Antimicrobial resistance detection and genomic analysis of *Enterobacter cloacae* isolated from avian embryos

LI Zhuojun^{1,2}, WANG Xin^{1,2}, YAN Xiaona^{1,2}, LI Xiaoyue^{1,2}, LI Pei^{1,2},

XU Sixiang^{1,2}, ZHANG Haiyan³, ZHANG Shuang³, ZHANG Wei^{1,2*}

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210014, China;

2. WOH STREPTOCOCCUS SUIS Reference Laboratory, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210014, China;

3. Wuhu Institute of Technology College, Wuhu 241003, China)

Abstract: To analyze the antimicrobial resistance and genomics of avian embryo-derived *Enterobacter cloacae*. In this study, 63 strains of avian-derived *E. cloacae* were isolated from over 600 samples of dead chicken embryos collected in Hainan, Anhui, and Henan provinces. The antibiotic resistance phenotypes were analyzed, and whole-genome sequencing was performed. Sequencing data were used to conduct multilocus sequence typing (MLST) and resistance gene analysis. The results were as follows: The antibiotic resistance of avian-derived *E. cloacae* was less severe compared with the human-derived strains. Its highest resistance rate was observed for the β -lactam antibiotic ampicillin (49.21%). Six strains (9.52%) exhibited multidrug resistance (resistant to more than six antibiotics). The results of the antimicrobial resistance gene analysis showed that 45 antibiotic resistance genes were identified in the avian-derived strains. All the 15 sequenced avian-derived strains carried the β -lactam resistance gene *bla_{CMH}*, which showed a positive correlation with the resistance phenotype results. Human-derived strains carried a greater number and more diverse types of resistance genes compared with the avian-derived strains. Among the 15 sequenced strains, one (ECL036) was identified as the ST1 type, while the others represented novel ST types. The MLST phylogenetic

收稿日期: 2025-01-11; 修回日期: 2025-08-25

基金项目: 安徽省教育厅高校自然科学研究重点项目 (2022AH052192); 芜湖职业技术学院一流核心线下课程项目 (2023xxkc02); 国家卫生健康委员会肠道病原微生物重点实验室 (江苏省疾病预防控制中心) 开放基金项目 (EM202303)

第一作者: 李卓君, 女, 硕士

* 通信作者, 张炜, 博士, 教授, 研究方向为病原细菌的蛋白组学和基因组学, E-mail: vszw@njau.edu.cn.

tree revealed a close genetic relationship between the avian- and human-derived strains. In this study, the antimicrobial resistance phenotypes of avian-derived *E. cloacae* were characterized, and resistance genes as well as MLST profiles were further analyzed at the genomic level, offering theoretical and data-based references for effective prevention and control of avian *E. cloacae* infections.

Keywords: *Enterobacter cloacae*; antimicrobial resistance; resistance genes; MLST

阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 属于肠杆菌科, 是一种革兰阴性菌。阴沟肠杆菌广泛存在于自然界, 在人和动物的粪便、水、土壤及其他生物体内均可检出。阴沟肠杆菌也可作为条件致病菌引起动物和人的感染性疾病^[1-3]。阴沟肠杆菌复合群 (ECC) 由阴沟肠杆菌 (*E. cloacae*)、阿氏肠杆菌 (*E. asburiae*)、霍氏肠杆菌 (*E. hormaechei*)、神户肠杆菌 (*E. kobei*)、路德维希肠杆菌 (*E. ludwigii*) 和超压肠杆菌 (*E. nimipressuralis*) 等细菌组成, 是导致院内感染的常见细菌^[4-5]。

“ESKAPE” 包括粪肠球菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌和肠杆菌, 这些病原体因其对多种抗生素产生耐药性而备受重视, 难以使用常规抗生素治疗它们引发的疾病, 从而对公共卫生构成重大威胁^[1,6-7]。阴沟肠杆菌是继大肠杆菌和肺炎克雷伯菌后的第3种涉及院内感染的肠杆菌, 被归类为“ESKAPE” 细菌之一, 并被世卫组织列入多重耐药 (MDR) 病原体紧急威胁名单^[8]。该菌除了可以造成人的感染外^[9], 还可引起多种动物感染和发病, 如鸡、鸭、七彩山鸡、大熊猫及牛等动物的腹泻、眼炎、肺炎和死亡, 可以在鸡胚中快速增殖, 引起脑炎等神经器官感染^[10]。

抗生素的滥用使得阴沟肠杆菌的耐药性逐渐增加。阴沟肠杆菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药性主要是由于染色体 *ampC* 编码的 β -内酰胺酶发挥作用^[11], 例如, 氨苄西林、阿莫西林及第一代、第二代头孢菌素。产广谱 β -内酰胺酶 (ESBL) 的阴沟肠杆菌通常还会对其他种类抗生素产生抗性而表现出多重耐药性^[12]。近年来, 阴沟肠杆菌对喹诺酮类和第三代头孢菌素类的耐药性有所上升^[4]。阴沟肠杆菌耐药基因可以通过质粒、转座子等可移动遗传元件在不同细菌之间传播, 加速了耐药性的扩散^[13]。这不仅会导致治疗阴沟肠杆菌感染增加, 使得禽细菌病发病率增加, 还会增加养殖场治疗成本^[14]。多重耐药菌为临床感染的治疗带来极大挑战^[15]。基因组分析可以用于研究细菌的多种特征, 包括耐药基因、毒力基因等, 用于了解菌株的多样性, 对于后续菌株研究和临床应用有重要意义^[16-17]。

本文拟通过鸡鸭死胚中细菌的分离, 鉴定出引起死胚的阴沟肠杆菌, 并通过菌株抗生素耐药性分析、基因分型等, 研究禽胚源阴沟肠杆菌的流行规律, 探

讨其与人源阴沟肠杆菌菌株之间的关系, 为有效防控该菌引起的感染提供理论及数据支撑。

1 材料与方法

1.1 病料来源

2022年10月至2023年11月来自海南、安徽、河南等地禽类养殖场死胚600余份, 其中鸡胚368份, 鸭胚271份。

1.2 主要试剂及药敏纸片

胰蛋白胨大豆肉汤、胰蛋白胨、胰蛋白胨大豆琼脂、酵母提取物等购自OXIOD公司; MH琼脂、麦康凯琼脂等培养基购自青岛海博生物技术有限公司; 2×Rapid Taq Master Mix 酶, Gold View 核酸染料购于南京诺唯赞生物科技有限公司; 药敏纸片购于温州康泰生物科技有限公司。细菌药敏纸片包括氨基糖苷类 (庆大霉素、丁胺卡那), 喹诺酮类 (环丙沙星、氧氟沙星), 碳青霉烯类 (美罗培南), 头孢菌素类 (头孢噻肟), β -内酰胺类 (氨苄西林), 磺胺类 (复方新诺明), 四环素类 (多西环素), 青霉素类 (哌拉西林-他唑巴坦)。

1.3 阴沟肠杆菌分离鉴定

1.3.1 阴沟肠杆菌分离

将蛋壳表面使用酒精棉球擦拭消毒后在生物安全柜内使用无菌消毒的镊子敲开禽胚蛋壳, 用镊子夹出死亡禽胚, 将胚的头部皮肤与骨骼分离, 暴露头骨。使用经酒精灯灼烧过的手术剪, 沿头骨中央剪开, 使用一次性无菌接种环蘸取胚脑部内容物, 并分区划线至血-麦琼脂平板 (含5%绵羊血的TSA-麦康凯琼脂二分板) 上。将平板放于含5% CO₂的培养箱中, 37℃培养12~24 h。取出平板后观察固体琼脂培养基上菌落的生长特点。挑取培养基上可疑单菌落, 转接到LB液体培养基中。将培养基置于37℃恒温摇床180 r/min 培养8~12 h。

将上述细菌液体培养物进行细菌的纯化, 再次划线接种于血-麦琼脂平板, 倒置于含有5% CO₂的培养箱中培养。

1.3.2 阴沟肠杆菌鉴定

挑取纯化后的麦康凯平板上粉红色的单菌落或血平板上灰白色单菌落接种于液体培养基, 置于37℃恒温摇床摇至浑浊, 将该浑浊液体作为核酸扩增模板, 并设置 ddH₂O 作为阴性对照, 将已有阴沟肠杆

菌分离株作为阳性对照。配制 PCR 扩增体系 (25 μ L): 2 \times Rapid Taq Master Mix 酶 12.5 μ L, ddH₂O 8.5 μ L, 模板 2 μ L, 上游引物 (ECL-F) 1 μ L, 下游引物 (ECL-R) 1 μ L^[18]。反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 53 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 15 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 扩增结束后, 将扩增产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳。电泳结束后观察阳性对照条带, 若阳性对照有条带则观察待测菌液条带是否同一大小, 若二者一致则判定为阳性。阴沟肠杆菌特异性引物见表 1^[19]。

1.3.3 16S rDNA 鉴定

使用细菌 16S rDNA 基因的通用引物 27F 和 1492R 进行核酸扩增^[20], 与上述 1.3.2 方法一致, 判断为阳性的 PCR 产物, 送至南京擎科生物有限公司进行测序。测序后, 经 NCBI 比对序列确定是否为阴沟肠杆菌。16S rRNA 引物见表 1。

表 1 阴沟肠杆菌种属特异性引物及 16S 通用引物

引物名称	引物序列 (5'→3')	大小/bp
ECL-F	TGAAAACCTTATCCGCGA	397
ECL-R	GGCAGGCTGGAAGATAAA	
27F	AGAGTTTGATCTGGCTCAG	1 500
1492R	TACGGTTACCTTGTACGACTT	

1.4 禽源阴沟肠杆菌耐药性检测

参照 2019 年临床和实验室标准协会药物敏感性试验执行标准, 使用 K-B 纸片法检测禽源阴沟肠杆菌对于不同抗生素的耐药情况。以大肠杆菌 ATCC25922 为质控菌株。选取实际生产中用于该细菌病治疗的常用抗生素进行耐药性检测。共选取 8 大类 10 种抗生素, 氨基糖苷类: 庆大霉素、丁胺卡那; 喹诺酮类: 环丙沙星、氧氟沙星; 碳青霉烯类: 美罗培南; 头孢菌素类: 头孢噻肟; β 内酰胺类: 氨苄西林; 磺胺类: 复方新诺明; 四环素类: 多西环素; 青霉素类: 哌拉西林-他唑巴坦。

制备待测细菌混悬液, 使其处于 0.5 麦氏比浊度 (即待测细菌含量在 $1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^8$ CFU/mL)。通过细菌平板计数, 测定出 OD 值在 0.3~0.4 处的上述菌落数。取 200 μ L 菌液均匀滴加在 MH 琼脂平板上, 用无菌棉签涂布均匀, 培养基开盖晾干后, 用无菌镊子夹药敏片贴在培养基表面, 不同药敏片之间中心间距不少于 24 mm, 镊子夹取不同药敏片时需要进行灭菌处理, 将贴好药敏片的平板于 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中倒置培养 12~16 h。平板置于黑色背景上方, 判断抑菌圈边缘为肉眼可见的细菌生长处。使用直尺测量抑菌圈直径, 读取结果。药敏标准比对结果, 记录有效

数据。

1.5 阴沟肠杆菌全基因组测序

1.5.1 全基因组数据获取

从分离到的 63 株禽源阴沟肠杆菌中筛选 15 株, 并从实验室分离到的人源阴沟肠杆菌中选取 10 株进行全基因组测序, 测序由天津诺禾致源有限公司完成。从 NCBI 数据库中下载阴沟肠杆菌基因组 104 个。

1.5.2 多位点序列分型 (MLST) 鉴定

基于全基因组测序的细菌基因组及从 NCBI 下载的不同来源的阴沟肠杆菌基因组, 在 Linux 下使用 MLST 分型工具得到 7 个等位基因的不同编号, 并基于 PubMLST (<https://pubmlst.org>) 数据库中的子数据库 Enterobacter cloacae 进行序列型 (ST) 分配。配置 Java 环境, 并使用 PHYLOViZ 本地版工具^[21], 构建 MLST 最小生成树, 并对分配的 ST 型按照宿主来源进行聚类分析。

1.5.3 耐药基因鉴定

通过 ABRicate (<https://github.com/tseemann/abricate>) 对耐药基因进行筛查, 检查参数设置为默认值, 最小覆盖度与最小同一性均为 80%。

2 结果与分析

2.1 阴沟肠杆菌分离

2.1.1 禽源致病菌株分离

自海南、安徽、河南的 600 余份禽胚病料中分离得到 63 株阴沟肠杆菌、57 株大肠杆菌、98 株沙门菌 (表 2)。

表 2 菌株分离信息

病料来源	地点	分离时间	菌种	数量/株
鸭胚	安徽	2022 年 10—11 月	阴沟肠杆菌	57
			沙门菌	35
			大肠杆菌	11
鸡胚	海南	2022 年 11 月	阴沟肠杆菌	5
			沙门菌	63
鸭胚	河南	2023 年 3 月	大肠杆菌	46
			阴沟肠杆菌	1

2.1.2 阴沟肠杆菌菌落形态

从禽胚脑部分离到的阴沟肠杆菌在 LB 培养基上为圆形隆起、湿润、光滑的灰白色菌落 (图 1A)。分离到阴沟肠杆菌在麦康凯培养基上为粉红色、黏液状、隆起的圆形菌落; 在 5% 血平板上不溶血, 为灰白色、半透明的圆形菌落 (图 1B)。

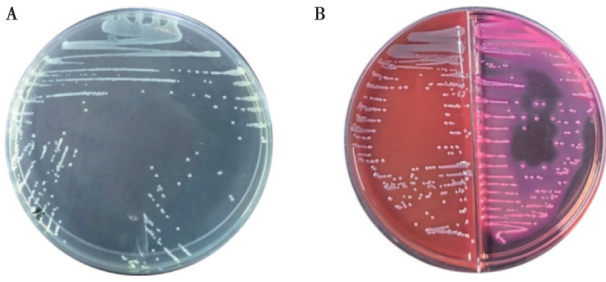


图1 阴沟肠杆菌在LB平板(A)及5%绵羊血TSA-麦康凯琼脂二分板(B)上的生长状况

2.2 阴沟肠杆菌鉴定

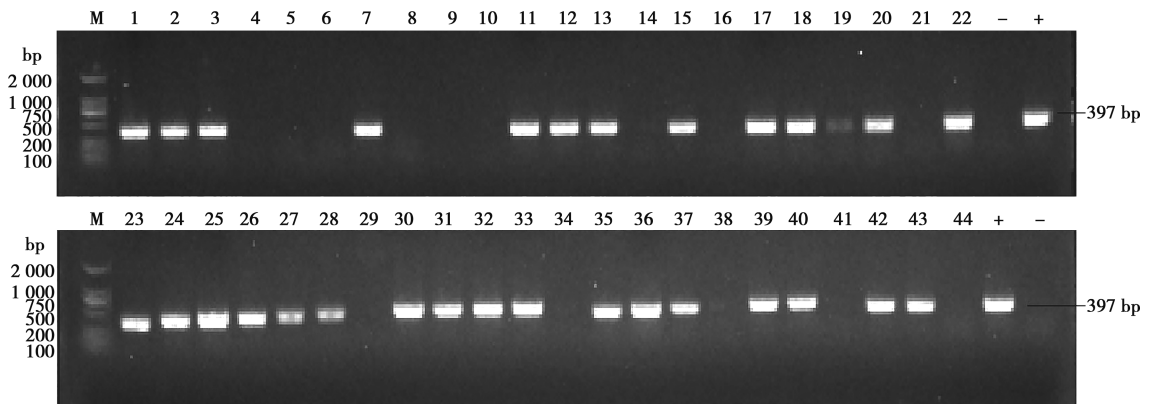
PCR鉴定中(图2),阴沟肠杆菌阳性菌株在397 bp位置上出现同一大小DNA条带。

2.3 禽源阴沟肠杆菌耐药分析

选择8大类10种抗生素,使用K-B纸片法对禽源阴沟肠杆菌进行耐药性检测。耐药检测结果见表

3,其中对于β-内酰胺类的氨苄西林耐药率最高,耐药率为49.21%;头孢菌素类的头孢噻肟和氨基糖苷类丁胺卡那耐药相当,耐药率为25.40%;青霉素类哌拉西林-他唑巴坦耐药率为17.47%;碳青霉烯类抗生素美罗培南耐药率为14.29%;庆大霉素耐药率较低,为9.52%;对于喹诺酮类的环丙沙星和氧氟沙星耐药率分别为23.81%和14.29%;磺胺类抗生素复方新诺明和四环素类的多西环素耐药率最低,耐药率均为1.59%。

不同的菌株耐药情况也有差异。从海南禽胚分离得到的ECL036耐药最严重,其中4种抗生素(氧氟沙星、环丙沙星、复方新诺明、多西环素)对其均没有抑菌效果;头孢噻肟和哌拉西林-他唑巴坦的抑菌圈均较小;仅对庆大霉素和美罗培南敏感。多重耐药(超过6种抗生素)的菌株为6株(9.52%)。



M. DNA Marker; 1~44. 待测菌株; +. 阳性对照; -. 阴性对照。

图2 阴沟肠杆菌PCR鉴定

表3 63株禽源阴沟肠杆菌耐药检测结果

类别	抗生素	菌株数量		
		耐药	中度敏感	敏感
喹诺酮类	环丙沙星	11 (17.46%)	4 (6.34%)	48 (76.19%)
	氧氟沙星	1 (1.59%)	8 (12.70%)	54 (85.71%)
碳青霉烯类	美罗培南	4 (6.35%)	5 (7.94%)	54 (85.71%)
β内酰胺类	氨苄西林	13 (20.63%)	18 (28.57%)	32 (50.80%)
磺胺类	复方新诺明	1 (1.59%)	0 (0.00%)	62 (98.4%)
四环素类	多西环素	1 (1.59%)	0 (0.00%)	62 (98.4%)
青霉素类	哌拉西林-他唑巴坦	3 (4.76%)	8 (12.70%)	52 (82.54%)
头孢菌素类	头孢噻肟	15 (23.81%)	1 (1.59%)	47 (74.60%)
氨基糖苷类	庆大霉素	0	6 (9.52%)	57 (90.48%)
	丁胺卡那	0	16 (25.40%)	47 (74.60%)

注: 括号内表示对各抗生素耐药、中度敏感和敏感的菌株数量占所有分离菌株的百分比。

2.4 MLST 分析

根据 PubMLST 分型结果,发现 129 株阴沟肠杆菌(包含分离到的 10 株人源菌株)中有 59 株未分配到 ST 型,剩余的 70 株分配到 39 个 ST 型,ST 型数量分布见表 4,排名靠前的主要有 ST1 (10/129),ST976 (5/129) 和 ST922 (4/129)。按照不同宿主来源构建 MLST 最小进化树显示,禽胚源菌株与人源菌株有一定的同源性,存在密切遗传关系(图 3)。

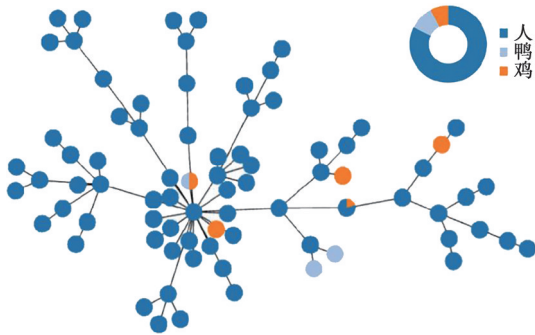


图 3 阴沟肠杆菌 MLST 进化树

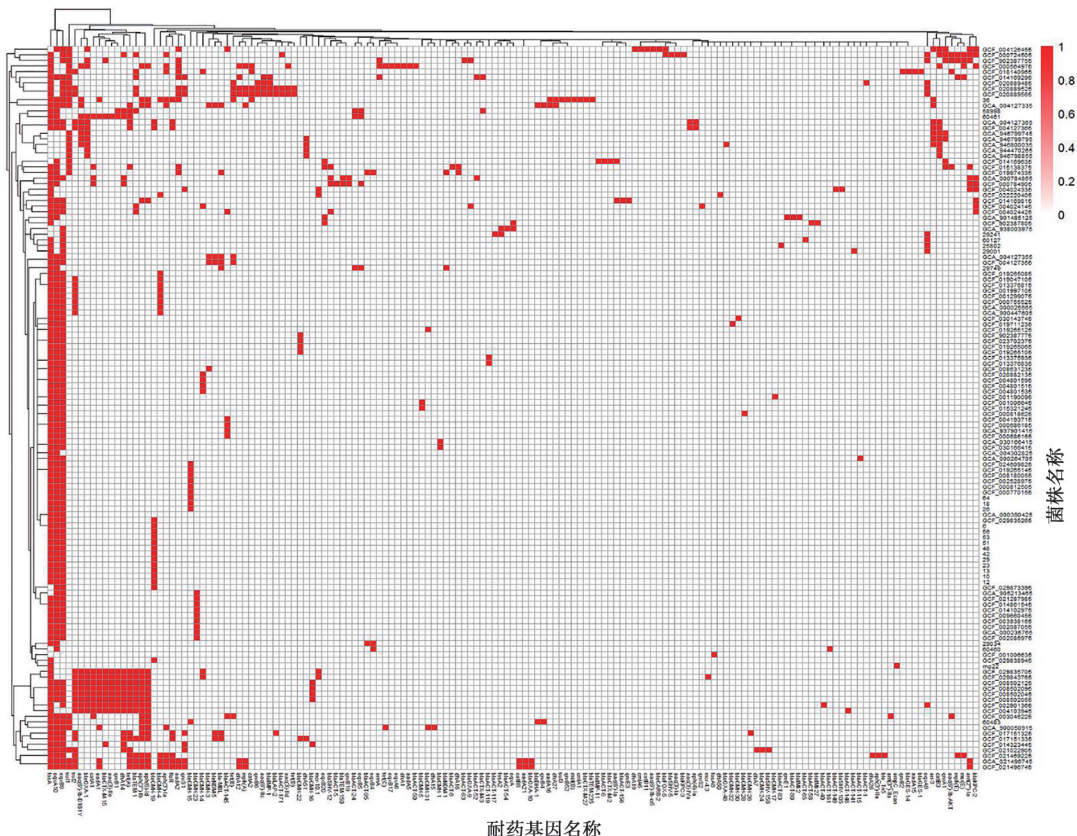
2.5 耐药基因分析

对 129 株阴沟肠杆菌的耐药基因进行分析后,共检出 153 种耐药基因,其中禽源阴沟肠杆菌鉴定出 45 种耐药基因,而人源阴沟肠杆菌则鉴定出 124 种(图 4)。这些耐药基因涉及多种抗生素类别,包括

β -内酰胺类、喹诺酮类、碳青霉烯类、磷霉素类、头孢菌素类、氨基糖苷类、利福霉素类、磺胺类、四环素类、氯霉素类、大环内酯类、碱性多肽类以及氨基环醇类抗生素。耐药基因中排名前 3 位的分别是 *fosA* (116/129)、*oqxA10* (102/129)、*oqxB9* (102/129)。禽源菌株与人源菌株有一定的差异,其中,1 株禽源阴沟肠杆菌 ECL036 检索到 23 种耐药基因,同时携带 *bla_{TEM}* 和 *bla_{CTX}* 耐药基因。

表 4 阴沟肠杆菌 ST 型分布

ST 型	数量	ST 型	数量	ST 型	数量
1	10	738	1	932	1
976	5	93	1	995	1
922	4	432	1	771	1
837	3	97	1	32	1
190	2	717	1	28	1
513	2	673	1	484	1
719	2	680	1	647	1
1 160	1	674	1	765	1
1 243	1	721	1	24	1
692	1	927	1	84	1
78	1	1 028	1	609	1
691	1	948	1	1 065	1
191	1	928	1	1 067	1



耐药基因名称

红色表示存在耐药基因,白色表示无耐药基因。

图 4 耐药基因分布

3 讨论

阴沟肠杆菌在人类造成的院内感染在肠杆菌科病原中排名第 3^[22]，可以导致尿路感染、呼吸道感染、败血症及脑膜炎等^[23]，目前对于动物的感染及研究比较少。本研究从海南、安徽、河南等养殖场 600 余份禽胚脑部中分离得到 63 株阴沟肠杆菌，证实该菌也是造成禽类死胚的重要原因之一。

经耐药性分析，禽源阴沟肠杆菌耐药性总体不强，从菌株分离地点来看，安徽芜湖鸭胚中分离到的 15 株阴沟肠杆菌耐药相对严重，其中多重耐药超过 6 种抗生素的有 7 株 (11.11%)，这可能与该菌株含有的耐药基因有关，对于后期阴沟肠杆菌耐药基因与耐药表型的关系研究有重要参考。为降低禽源阴沟肠杆菌对养殖场造成的经济损失以及抗生素耐药性传播的风险，在实际生产中需持续监测临床分离株的抗生素耐药情况，以便及时筛选出敏感的治疗用抗生素，减少抗生素滥用和由此导致的经济损失。本研究的耐药性检测结果表明，当前禽源阴沟肠杆菌的耐药性总体较弱，与人源菌株相比耐药性不强。这可能与目前蛋鸡饲料中禁用抗生素的相关政策得到了严格执行有关。

阴沟肠杆菌主要通过以下机制获得碳青霉烯类抗性：携带质粒编码的碳青霉烯酶基因（如 *bla*_{OXA-48} like 变体、*bla*_{VIM}、*bla*_{IMP}、*bla*_{KPC} 和 *bla*_{NDM-1}），以及 AmpC (*bla*_{ACT}、*bla*_{CMH}) 及 ESBL^[24]。本研究分离到的菌株中检索到少见的 AmpC 耐药基因 *bla*_{CMH-1}、*bla*_{CMH-6}，与本次耐药表型检测结果呈正相关，其中 1 株禽源菌株携带有人源菌株通常携带的耐药基因 (*bla*_{TEM}、*bla*_{CTX})，对于后续人源与禽源菌株的耐药研究有重要参考意义。

MLST 分型技术为病原菌种内分型、来源及多样性研究提供了依据，可用于分析阴沟肠杆菌的致病性及传播性^[25]。目前，对于禽源阴沟肠杆菌 MLST 分型研究较少，本研究发现部分菌株属于新的 ST 型，1 株为 ST1 型。经分析 ST1 型多为人源菌株，进化树显示禽源与人源菌株存在密切遗传关系，说明感染禽类的阴沟肠杆菌可能会感染人。

综上，本研究对禽死胚脑部分离得到的阴沟肠杆菌进行了耐药性和基因组分析，共鉴定出 43 种耐药基因，并发现 6 株多重耐药阴沟肠杆菌。遗传进化分析显示，禽源阴沟肠杆菌与人源菌株之间具有一定的同源性。该研究为深入了解禽胚源阴沟肠杆菌的耐药现状及制定防控策略，探索禽源与人源阴沟肠杆菌菌株之间的关系提供参考。

参考文献：

- [1] YANG X, ZENG J, ZHOU Q, et al. Elevating NagZ improves resistance to β -lactam antibiotics via promoting AmpC β -lactamase in *Enterobacter cloacae* [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 586729.
- [2] HU K, ZENG L, ZHANG J, et al. Antibiotic susceptibility and molecular analyses of clinical *Enterobacter cloacae* isolates in Eastern Heilongjiang Province, China [J]. *Ann Palliat Med*, 2020, 9 (3): 1211-1219.
- [3] LEE C C, LEE N Y, YAN J J, et al. Bacteremia due to extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae*: role of carbapenem therapy [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54 (9): 3551-3556.
- [4] ANNAVAJHALA M K, GOMEZ-SIMMONDS A, UHLEMANN A C. Multidrug-resistant *Enterobacter cloacae* complex emerging as a global, diversifying threat [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 44.
- [5] MEZZATESTA M L, GONA F, STEFANI S. *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance [J]. *Future Microbiol*, 2012, 7 (7): 887-902.
- [6] MA L, CHANG F Y, FUNG C P, et al. Variety of TEM-, SHV-, and CTX-M-type β -lactamases present in recent clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter cloacae* from Taiwan [J]. *Microb Drug Resist*, 2005, 11 (1): 31-39.
- [7] BABOUEE FLURY B, ELLINGTON M J, HOPKINS K L, et al. Association of novel nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in *ampD* with cephalosporin resistance and phylogenetic variations in *ampC*, *ampR*, *ompF*, and *ompC* in *Enterobacter cloacae* isolates that are highly resistant to carbapenems [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60 (4): 2383-2390.
- [8] NAIR A, VYAWAHARE R, KHAIRNAR K. Characterization of a novel, biofilm dispersing, lytic bacteriophage against drug-resistant *Enterobacter cloacae* [J]. *J Appl Microbiol*, 2022, 132 (4): 2721-2732.
- [9] HALDER G, CHAUDHURY B N, MANDAL S, et al. Whole genome sequence-based molecular characterization of blood isolates of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* complex from ICU patients in Kolkata, India, during 2017-2022: emergence of phylogenetically heterogeneous *Enterobacter hormaechei* subsp. *xiangfangensis* [J]. *Microbiol Spectr*, 2024, 12 (4): e0352923.
- [10] 李昊, 叶昱, 宋德平, 等. 七彩山鸡致病性阴沟肠杆菌的分离鉴定、毒力和遗传进化分析 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2018 (8): 85-88.
- [11] JUAN C, MOYÁ B, PÉREZ J L, et al. Stepwise upregulation of the *Pseudomonas aeruginosa* chromosomal cephalosporinase conferring high-level β -lactam resistance involves three AmpD homologues [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50 (5): 1780-1787.
- [12] ZHOU K, YU W, CAO X, et al. Characterization of the population structure, drug resistance mechanisms and plasmids of the community-associated *Enterobacter cloacae* complex in China [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2018, 73 (1): 66-76.
- [13] CANO M E, RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ J M, AGÜERO J, et al.

- Detection of plasmid-mediated quinolone resistance genes in clinical isolates of *Enterobacter* spp. in Spain [J]. *J Clin Microbiol*, 2009, 47 (7): 2033–2039.
- [14] ELBEHIRY A, AL SHOAIBI M, ALZAHIRANI H, et al. *Enterobacter cloacae* from urinary tract infections: frequency, protein analysis, and antimicrobial resistance [J]. *AMB Express*, 2024, 14 (1): 17.
- [15] FERNÁNDEZ A, PEREIRA M J, SUÁREZ J M, et al. Emergence in Spain of a multidrug-resistant *Enterobacter cloacae* clinical isolate producing SFO-1 extended-spectrum β -lactamase [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49 (3): 822–828.
- [16] HER H L, WU Y W. A pan-genome-based machine learning approach for predicting antimicrobial resistance activities of the *Escherichia coli* strains [J]. *Bioinformatics*, 2018, 34 (13): i89–i95.
- [17] WATTAM A R, DAVIS J J, ASSAF R, et al. Improvements to PATRIC, the all-bacterial bioinformatics database and analysis resource center [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45 (D1): D535–D542.
- [18] JI Y, WANG P, XU T, et al. Development of a one-step multiplex PCR assay for differential detection of four species (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter roggenkampii*, and *Enterobacter kobei*) belonging to *Enterobacter cloacae* complex with clinical significance [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 677089.
- [19] JI Y, CHENG M, ZHAI S, et al. Preventive effect of the phage VB-SavM-JYL01 on rabbit necrotizing pneumonia caused by *Staphylococcus aureus* [J]. *Vet Microbiol*, 2019, 229: 72–80.
- [20] OSBORN A M, MOORE E R B, TIMMIS K N. An evaluation of terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics [J]. *Environ Microbiol*, 2000, 2 (1): 39–50.
- [21] FRANCISCO A P, VAZ C, MONTEIRO P T, et al. PHYLOViZ: phylogenetic inference and data visualization for sequence based typing methods [J]. *BMC Bioinform*, 2012, 13: 87.
- [22] JIN C, ZHANG J, WANG Q, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* in 11 Chinese cities [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1597.
- [23] ZHAO Y, ZHANG J, FU Y, et al. Molecular characterization of metallo- β -lactamase-producing carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* complex isolated in Heilongjiang Province of China [J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20 (1): 94.
- [24] YANG F C, YAN J J, HUNG K H, et al. Characterization of er-tapenem-resistant *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese university hospital [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50 (2): 223–226.
- [25] TURNER N A, SHARMA-KUINKEL B K, MASKARINEC S A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17 (4): 203–218.