

DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20257205

· 论著 ·

## 上海市医疗机构 ST11 型耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分子流行病学特征与高毒力进化研究

毕 菁<sup>1</sup>, 陈雯杰<sup>1</sup>, 田 靓<sup>2</sup>, 刘 倩<sup>1</sup>, 吴寰宇<sup>2</sup>, 陈 敏<sup>1</sup>, 陈泰尧<sup>1</sup>, 施婷婷<sup>2</sup>, 马 伟<sup>1</sup>, 张红芝<sup>1</sup>

(上海市疾病预防控制中心 1. 病原生物检定所; 2. 传染病防治所, 上海 200336)

**[摘要]** 目的 了解上海市医疗机构分离的 ST11 型耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)的分子流行病学特征及高毒力进化趋势, 为制定耐药菌的预防控制措施提供科学依据。方法 收集 2021—2022 年上海市 12 所医疗机构分离的 201 株 CRKP, 检测药敏结果并进行全基因组测序, 拼接后的数据用于多位点序列分型(MLST)、血清分型(*wzi* 分型), 以及耐药基因和毒力基因分析。结果 201 株 CRKP 均为多重耐药菌(MDROs)。对碳青霉烯类、头孢菌素类、喹诺酮类药物几乎全耐药; 耐药基因分析显示, 93.03% 的 CRKP 菌株携带 KPC 基因。201 株 CRKP 分为 6 种 ST 型和 10 种荚膜 *wzi* 分型, 以 ST11-KL64 型(104 株)为主, ST15-KL19 型(54 株)次之。52.24%(105 株)的 CRKP 携带 *rpmaA/rpma2 + iucA + iutA + iroN* 基因。结论 上海市医疗机构分离的 CRKP 以 ST11-KL64 型为主, 多重耐药情况严重, 且半数以上菌株为高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(hv-CRKP), 需持续加强对 CRKP 的分子特征监测, 防止医院感染的暴发。

**[关键词]** 肺炎克雷伯菌; 血清分型; MLST; ST11 型; 高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌; hv-CRKP; 耐药基因; 毒力基因

**[中图分类号]** R181.3<sup>+</sup>2

## Molecular epidemiological characteristics and hypervirulence evolution of ST11 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in medical institutions in Shanghai

BI Jing<sup>1</sup>, CHEN Wenjie<sup>1</sup>, TIAN Liang<sup>2</sup>, LIU Qian<sup>1</sup>, WU Huanyu<sup>2</sup>, CHEN Min<sup>1</sup>, CHEN Taiyao<sup>1</sup>, SHI Tingting<sup>1</sup>, MA Wei<sup>1</sup>, ZHANG Hongzhi<sup>1</sup>(1. Department of Pathogenic Identification; 2. Department of Communicable Disease Control and Prevention, Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

**[Abstract]** **Objective** To understand the molecular epidemiological characteristics and hypervirulence evolution trend of ST11 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) isolated from medical institutions in Shanghai, and provide scientific basis for formulating the prevention and control measures of drug-resistant organisms. **Methods** A total of 201 strains of CRKP isolated from 12 medical institutions in Shanghai from 2021 to 2022 were collected. Antimicrobial susceptibility testing and whole genome sequencing were performed. The concatenated data was used for multilocus sequencing typing (MLST), serum typing (*wzi* typing), as well as analysis of resistance and virulence genes. **Results** All 201 CRKP strains were multidrug-resistant organisms (MDROs). These strains were almost completely resistant to carbapenems, cephalosporins, and quinolones. Drug resistance gene analysis showed that 93.03% of CRKP strains carried KPC gene. 201 CRKP strains were divided into 6 ST types and 10 capsule *wzi* types, with ST11-KL64 ( $n=104$ ) being the dominant type, followed by ST15-KL19 ( $n=54$ ). 52.24% ( $n=105$ ) of CRKP carried *rpmaA/rpma2 + iucA + iutA + iroN* genes. **Conclusion** CRKP isolated from medical institutions in

[收稿日期] 2024-11-19

[作者简介] 毕菁(1988-), 女(汉族), 上海市人, 主管技师, 主要从事病原生物学研究。陈雯杰为共同第一作者。

[通信作者] 张红芝 E-mail: zhanghongzhi@scdc.sh.cn

Shanghai is mainly ST11-KL64 type with severe multidrug resistance, and more than half of the strains are hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (hv-CRKP). It is necessary to continuously strengthen the monitoring of the molecular characteristics of CRKP, so as to prevent outbreaks of healthcare-associated infection.

**[Key words]** *Klebsiella pneumoniae*; serotyping; MLST; ST11 type; hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; hv-CRKP; drug resistance gene; virulence gene

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是一种广泛分布的革兰阴性杆菌,属于肠杆菌目。该菌具有较厚的荚膜,多数带有菌毛,但无芽孢和鞭毛,其抗原结构包括O抗原和K抗原。KP通常定植于健康个体的鼻腔、咽部、皮肤及肠道内,同时也是引起社区和医院获得性感染的常见革兰阴性病原菌在患有严重基础疾病的患者中,其可导致呼吸道、消化道、皮肤、泌尿道、血液等部位感染。碳青霉烯类抗生素因其广谱抗菌活性及强大的组织渗透能力,常被视为治疗严重KP感染的首选药物。然而,随着抗菌药物的滥用,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)在全球范围内不断出现和传播。CRKP感染可导致高病死率,已成为主要的全球公共卫生威胁。2024年,世界卫生组织(WHO)将耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌(包括CRKP)列为“关键优先等级”病原体,对感染防控提出了巨大挑战。

近年来,CRKP的发病率在全球范围内显著增加,导致高发病率和高病死率。根据最新细菌耐药监测报告(<https://www.carss.cn/Report/Details/917>),对2021年10月—2022年9月的数据分析显示,KP在革兰阴性菌中排名第二(占21.2%),仅次于大肠埃希菌(占29.1%)。此外,近年高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, hv-CRKP)的报道日益增多,因其可供选择的治疗方案极其有限,给公共健康带来严重威胁<sup>[1-6]</sup>。为深入了解CRKP菌株的分子特征,本研究拟基于全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)技术,全面分析上海市医疗机构分离的CRKP分子特征,包括多位点序列分型(MLST)、血清分型(wzi分型)、耐药基因及毒力基因,以明确其毒力、耐药性及分布特征,为感染防控提供科学依据。

## 1 对象与方法

**1.1 菌株来源** 依据《上海市医疗机构耐药菌监测方案》,收集2021—2022年上海市医疗机构分离的CRKP菌株共201株,其中患者来源153株(剔除相

同患者分离的重复菌株),环境来源48株。

**1.2 定义** 多重耐药菌(multidrug-resistant resistant organisms, MDROs):指对临床使用的3类或3类以上抗菌药物同时呈现耐药的细菌。CRKP:指至少对一种碳青霉烯类耐药或产生碳青霉烯酶的KP。hvKP:目前,国内外尚无统一的标准用于定义hvKP。hvKP的毒力因子标志物有 $rmpA/rmpA2$ 、 $iucABCD$ 、 $iutA$ 、 $iroBCDN$ 、 $peg344$ ,其共存于经典的pLVPK-like毒力质粒上,故对hvKP定义是存在这些毒力因子的某种组合<sup>[7-8]</sup>。本研究将携带以下毒力基因组合的CRKP定义为hv-CRKP:① $rmpA$ 、 $iutA$ 、 $iucA$ 、 $iroN$ 基因阳性;② $rmpA2$ 、 $iutA$ 、 $iucA$ 、 $iroN$ 基因阳性;③ $rmpA$ 、 $rmpA2$ 、 $iutA$ 、 $iucA$ 、 $iroN$ 基因阳性。

**1.3 试剂和仪器** 伊红美蓝平板及哥伦比亚血平板(上海申启),药敏仪及配套药敏板(珠海美华),VITEK MS-CHCA基质液(法国梅里埃),基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS,法国梅里埃)。

**1.4 MALDI-TOF 鉴定** 菌株复苏后转种至伊红美蓝选择性平板,35℃孵育24 h;再转种至哥伦比亚血平板纯化,35℃孵育24 h。挑取单个菌落涂抹于靶板,滴加1 μL甲酸裂解液,自然晾干,滴加1 μL CHCA基质液,自然晾干。采用MALDI-TOF进行菌株鉴定。质控菌株为大肠埃希菌ATCC 25922。

**1.5 药敏试验** 采用微量肉汤稀释法,按照说明书操作:挑取血平板上纯化菌落1~2个,于稀释液瓶内壁研磨,用比浊仪将菌悬液浓度调整至0.5麦氏单位。吸取100 μL无菌M-H肉汤培养基,加入阴性对照孔。吸取50 μL菌悬液加入MH肉汤中混匀,吸取100 μL混合液加入测试药敏板。35~37℃孵育18~24 h,使用药敏仪判读结果。药敏结果根据当年美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准进行判读。药敏板孔内包被23种常见的抗菌药物,包括亚胺培南、美罗培南、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮、头孢哌酮/舒巴坦、头孢噻肟、头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟、萘啶酸、环丙沙星、左氧氟沙星、阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素、四环素、米诺

环素、多西环素、复方磺胺甲噁唑、黏菌素、多黏菌素 B、替加环素。

1.6 WGS 取适量新鲜菌液,采用基因组 DNA 提取试剂盒(Genomic DNA Purification Kit)提取细菌全基因组 DNA。WGS 由生工生物工程(上海)股份有限公司完成,使用 Illumina HiSeq 测序仪进行全基因组分析。测序策略:将 DNA 随机片段化(约 150 bp),构建 DNA 文库后进行测序。

1.7 数据处理 原始数据经 FastQC 进行质量评估,Trimmomatic 对 Illumina 测序数据进行质控修剪,SPAdes 拼接二代测序数据。

1.8 MLST 及荚膜 *wzi* 分型 将组装序列提交至 Pasteur MLST 数据库(<https://bigsdb.pasteur.fr>),获取 ST 型与 *wzi* 分型。

1.9 耐药基因分析 拼接序列提交至耐药基因数据库 CARD (<https://card.mcmaster.ca>),通过 BLAST 比对鉴定耐药基因。

1.10 毒力基因分析 组装序列同步提交至 VFDB (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/>) 与 Pasteur BISG-db-Kp 数据库(<https://bigsdb.pasteur.fr>),通过序列比对鉴定毒力基因谱。

## 2 结果

2.1 药敏结果 201 株 CRKP 均为 MDROs。对 10 种  $\beta$ -内酰胺类药物(包括碳青霉烯类,第三、四代头孢菌素类)的耐药率均>95%,对 3 种喹诺酮类药物的耐药率均>97%,对 3 种氨基糖苷类药物的耐药率为 56.22%~87.06%,对 3 种四环素类药物的耐药率为 53.73%~73.63%,对复方磺胺甲噁唑的耐药率为 62.19%。CRKP 对替加环素的耐药率为 1.00%,对 2 种多黏菌素类药物的耐药率在 5% 左右,见表 1。

2.2 WGS 结果 分析 201 株 CRKP WGS 的原始数据,满足以下条件:测序读长为 150 bp,原始数据量 $\geq 1$  GB,基因组整体覆盖深度为 100 $\times$ 。

2.3 MLST 和荚膜 *wzi* 结果 201 株 CRKP 共检出 6 种 ST 型(包括 ST11、ST15、ST307、ST5422、ST716 和 ST1326)和 1 种新 ST 型(1 株)。其中 ST11 占 60.20%(121 株),ST15 次之,占 28.36%(57 株)。共检出 10 种荚膜 *wzi* 分型,以 KL64 为

表 1 上海市医疗机构分离的 201 株 CRKP 耐药情况

Table 1 Drug resistance of 201 CRKP strains isolated from medical institutions in Shanghai

药物类别	抗菌药物	耐药率[% (株)]
碳青霉烯类	亚胺培南	98.01(197)
	美罗培南	98.01(197)
青霉素类	哌拉西林	99.00(199)
	复合酶抑制剂类	哌拉西林/他唑巴坦
头孢菌素类	头孢哌酮/舒巴坦	99.00(199)
	头孢哌酮	99.50(200)
	头孢噻肟	95.52(192)
	头孢他啶	100(201)
	头孢曲松	99.00(199)
喹诺酮类	头孢吡肟	98.01(197)
	萘啶酸	98.01(197)
	环丙沙星	97.51(196)
氨基糖苷类	左氧氟沙星	98.00(197)
	阿米卡星	56.22(113)
	庆大霉素	87.06(175)
四环素类	妥布霉素	71.14(143)
	四环素	73.63(148)
	米诺环素	53.73(108)
叶酸途径抑制剂类	多西环素	72.64(146)
	复方磺胺甲噁唑	62.19(125)
甘胺酰环素类	替加环素	1.00(2)
多黏菌素类	黏菌素	4.48(9)
	多黏菌素 B	5.47(11)

主(51.74%,104 株),KL19 次之(29.35%,59 株)。121 株 ST11 CRKP 主要分为 3 种 KL 型,包括 104 株 KL64,7 株 KL47,5 株 KL19,另有 5 株未成功分型(或未确定 KL 型)。57 株 ST15 CRKP 主要分为 3 种 KL 型,包括 54 株 KL19,1 株 KL112,1 株 KL24KL54KL155,另有 1 株未成功分型(或未确定 KL 型),见图 1。

2.4 耐药基因检测结果 不同 ST 型携带的耐药基因不尽相同,见表 2。携带七类、六类、五类、四类耐药基因的 CRKP 分别占 53.23%(107 株)、24.38%(49 株)、12.44%(25 株)、8.46%(17 株),1 株携带三类耐药基因。

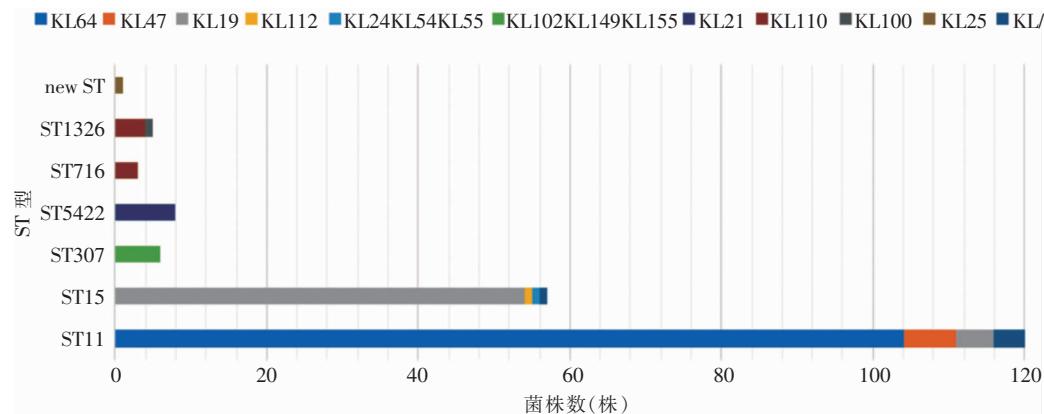


图 1 201 株 CRKP 的 ST-KL 型分布情况

Figure 1 ST-KL type distribution of 201 CRKP strains

表 2 不同 ST 型 CRKP 的主要耐药基因分布情况

Table 2 Distribution of main drug resistance genes of CRKP of different ST types

ST 型	主要碳青霉烯类耐药基因	主要 ESBLs 耐药基因	主要喹诺酮类耐药基因	主要氨基糖苷类耐药基因	主要四环素类耐药基因	主要磺胺类耐药基因	主要磷霉素类耐药基因
ST11	KPC-2	TEM-1、CTX-M-65	<i>qnrS1</i>	<i>rmtB</i> 、 <i>ANT(3')</i> -IIa	<i>tetA</i>	<i>sul2</i> 、 <i>dfrA14</i>	<i>fosA6</i>
ST15	KPC-2	TEM-1、CTX-M-15、OXA-1、SHV-28	<i>qnrS1/B1</i> 、 <i>oqxA</i>	<i>AAC(6')</i> -Ib、 <i>AAC(3')</i> -II	<i>tetA</i>	<i>sul1/2</i> 、 <i>dfrA17</i>	<i>fosA6</i>
ST307	KPC-2	TEM-1、CTX-M-15	<i>qnrB1</i> 、 <i>oqxA</i>	<i>AAC(6')</i> -Ib-cr5、 <i>AAC(3')</i> -Ile、 <i>APH(3')</i> -Ib、 <i>APH(6')</i> -Id	<i>tetA</i>	<i>sul2</i> 、 <i>dfrA14</i>	<i>fosA6</i>
ST5422	KPC-2	CTX-M-65、SHV-28	<i>qnrS1</i>	<i>rmtB</i> 、 <i>ANT(3')</i> -IIa	<i>tetA</i>	<i>sul2</i> 、 <i>dfrA14</i>	<i>fosA6</i>
ST716	KPC-2	CTX-M-14、SHV-27	<i>qnrS1</i> 、 <i>oqxA/B</i>	<i>AAC(3')</i> -IId	<i>tetA</i>	<i>sul1</i> 、 <i>dfrA1</i>	/
ST1326	KPC-2	TEM-1、CTX-M-15、SHV-11	<i>qnrS1</i> 、 <i>oqxA/B</i>	<i>AAC(6')</i> -Ib3、 <i>aadA5</i> 、 <i>APH(3')</i> -Ia、 <i>APH(3')</i> -Ib	<i>tetD</i>	<i>sul1/2</i> 、 <i>dfrA17</i>	<i>fosA6</i>

注:ESBLs 为超广谱  $\beta$ -内酰胺酶 (extended-spectrum  $\beta$ -lactamases)。

2.4.1 碳青霉烯酶类耐药基因 CRKP 碳青霉烯酶类耐药基因携带率为 96.02% (193/201)。KPC 型基因检出率最高 (93.03%，187 株), 其中 186 株为 *bla*<sub>KPC-2</sub>, 1 株为 *bla*<sub>KPC-12</sub> (ST11-KL64)。6 株 CRKP 检出 NDM 型基因, 包括 2 株 *bla*<sub>NDM-1</sub> 和 4 株 *bla*<sub>NDM-5</sub> (ST307)。值得注意的是, 1 株携带 *bla*<sub>NDM-1</sub> 的 CRKP 同时也携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> (ST11-KL64)。1 株 CRKP 检出 OXA-48 型基因, 为 *bla*<sub>OXA-232</sub>。5 株 CRKP 检出 DHA 基因, 均为 *bla*<sub>DHA-1</sub> (ST15-KL19)。另 6 株 CRKP 检出 CMY 基因, 包括 3 株 *bla*<sub>CMY-2</sub> (ST11) 和 2 株 *bla*<sub>CMY-146</sub> (ST11-KL64)。IMP 基因和 VIM 基因均未检出。11 株 AmpC 酶耐药基因阳性菌株均携带 *bla*<sub>KPC-2</sub>。ST11-KL64、ST15-KL19 CRKP 的 KPC 基因携带率分别为 95.19% (99/104)、94.44% (51/54)。

2.4.2 ESBLs 类耐药基因 CRKP ESBLs 耐药基因携带率为 100%。TEM 基因检出率为 61.19%

(123/201), 均为 *bla*<sub>TEM-1</sub>。CTX-M 基因检出率为 80.09% (161/201), 以 *bla*<sub>CTX-M-65</sub> (115 株) 为主, *bla*<sub>CTX-M-15</sub> (43 株) 次之。SHV 基因检出率为 44.28% (89/201)。OXA 基因检出率为 19.90% (40/201)。同时携带碳青霉烯酶类基因和 ESBLs 基因的 CRKP 占 89.55% (180/201)。

2.4.3 喹诺酮类耐药基因 CRKP 喹诺酮类耐药基因携带率为 91.04% (183/201)。*qnr* 基因检出率为 70.65% (142/201), 以 *qnrS1* 为主要型别 (128 株), *qnrB* 基因也有检出。*oqxA/B* 基因检出率为 38.81% (78/201), *aac(6')*-Ib-cr 基因检出率为 16.92% (34/201)。

2.4.4 氨基糖苷类耐药基因 CRKP 氨基糖苷类耐药基因携带率为 94.03% (189/201)。*rmtB* 基因检出率为 54.73% (110/201), *armA* 检出率为 3.98% (8/201)。氨基糖苷类修饰酶 ANTs、AACs、APHs 基因检出率分别为 46.77% (94/201)、35.82%

(72/201)、9.45%(19/201), 分别以 *aadA*[31.91% (30/94)]、*ANT(3”)-IIa*[68.09% (66/94)]、*AAC(3)-IId*[100% (72/72)]、*APH(6)-Id*[94.74% (18/19)] 和 *APH(3”)-Ib*[94.74% (18/19)] 为主要型别。

携带 *rmtB* 或 *armA* 基因的菌株大多对氨基糖苷类药物耐药。104 株 ST11-KL64 CRKP 的 *rmtB*、*armA*、*ANTs*、*AACs* 和 *APHs* 基因携带率分别为 83.65% (87 株)、0.96% (1 株)、66.35% (69 株)、5.77% (6 株)、4.81% (5 株), 其中 *ANT(3”)-IIa* 为 *ANTs* 的主要亚型。ST11-KL64 CRKP 对阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素耐药率较高, 分别为 78.85% (82 株)、83.65% (87 株)、79.81% (83 株)。54 株 ST15-KL19 CRKP 的 *rmtB*、*armA*、*ANTs*、*AACs* 和 *APHs* 基因的携带率分别为 0.11.11% (6 株)、7.41% (4 株)、98.15% (53 株)、5.56% (3 株), 其中以 *AAC(3)-II* 为 *AACs* 的主要亚型; 其对阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素的耐药率分别为 11.11% (6 株)、96.30% (52 株)、53.70% (29 株)。

**2.4.5 四环素类耐药基因** 四环素类耐药 *tet* 基因携带率为 73.13% (147/201), 其中以 *tetA* 基因 (142 株, 96.60%) 为主要型别。ST11-KL64 CRKP 中, *tetA* 携带率 85.58% (89 株), 对四环素、米诺环素、多西环素的耐药率分别为 87.50% (91 株)、

66.35% (69 株)、86.54% (90 株)。ST15-KL19 CRKP 中, *tetA* 携带率 50.00% (27 株), 对四环素、米诺环素、多西环素耐药率分别为 50.00% (27 株)、24.07% (13 株)、46.30% (25 株)。

**2.4.6 磺胺类耐药基因** 磺胺类耐药 *sul*、*dfrA* 基因携带率分别为 68.16% (137/201)、62.19% (125/201), 并分别以 *sul2* 基因 (124 株, 90.51%)、*dfrA14* 基因 (111 株, 88.80%) 为主要型别。ST11-KL64 CRKP 中, *sul1/2*、*dfrA* 基因携带率分别为 85.58% (89 株)、76.92% (80 株), 复方磺胺甲噁唑的耐药率 80.77% (84 株)。ST15-KL19 CRKP 中, *sul1/2*、*dfrA* 基因携带率分别为 31.48% (17 株)、29.63% (16 株), 复方磺胺甲噁唑的耐药率 24.07% (13 株)。

**2.4.7 其他耐药基因** 磷霉素类耐药 *fosA* 基因携带率为 98.01% (197/201), 均未检出黏菌素 *mcr* 基因。

**2.5 毒力基因检测结果** 201 株 CRKP 中, 有 52.24% (105 株) 的 CRKP 同时携带 *rmpA*、*rmpA2*、*iucA*、*iutA*、*iroN* 关键毒力基因, 判定为 hv-CRKP, 见表 3。其中, 76.92% (80 株) 为 ST11-KL64 型, 有 3 株虽未检出 *KPC* 基因, 但对碳青霉烯类药物耐药, 可能存在其他耐药机制。

表 3 关键毒力基因组合主要 ST-KL 分布情况[株(%)]

Table 3 ST-KL distribution of major virulence gene combinations (No. of isolates [%])

关键毒力基因组合	ST11-KL64	ST5422-KL21	ST15-KL19	ST11-KL19
<i>rmpA2</i> + <i>iucA</i> + <i>iutA</i> + <i>iroN</i> (n = 72)	48(66.67)	7(9.72)	5(6.94)	4(5.56)
<i>rmpA</i> + <i>rmpA2</i> + <i>iucA</i> + <i>iutA</i> + <i>iroN</i> (n = 31)	30(96.77)	0(0)	0(0)	0(0)
<i>rmpA</i> + <i>iucA</i> + <i>iutA</i> + <i>iroN</i> (n = 2)	2(100)	0(0)	0(0)	0(0)

## 2.6 不同来源 CRKP 的分子学特征

**2.6.1 ST 型和 *wzi* 分布** 患者及环境来源 CRKP 均以 ST11-KL64 为主要型别, ST15-KL19 为次要型别, 见表 4。两种来源菌株均检出 ST11、ST15、ST307 和 ST5422。相较于环境来源, 患者来源 CRKP 检出更多的 ST 型和 KL 型, 如 ST716 和 ST1326 仅出现于患者来源中。

**2.6.2 毒力基因分布** 环境和患者来源 CRKP 的主要毒力基因(*rmpA*、*rmpA2*、*iutA*、*iucA*、*iroN*) 分布相似, 被定义为 hv-CRKP 的菌株占比分别为 52.08% (25/48)、49.02% (75/153), 见表 4。

**2.6.3 耐药基因分布** 两种不同来源 CRKP 中均检出碳青霉烯类、*AmpC* 酶、ESBLs、喹诺酮类、氨基糖苷类、四环素类、磺胺类和磷霉素类耐药基因。见表 4。以上八类基因携带率: 环境来源 CRKP 分别为 100% (48 株)、8.33% (4 株)、100% (48 株)、97.92% (47 株)、89.58% (43 株)、85.42% (41 株)、91.67% (44 株)、97.92% (47 株); 患者来源 CRKP 分别为 94.77% (145 株)、4.58% (7 株)、90.20% (138 株)、88.89% (136 株)、95.42% (146 株)、69.28% (106 株)、65.36% (100 株)、98.04% (150 株)。

表 4 患者和环境来源 CRKP 的分子学特征

Table 4 Molecular characteristics of CRKP from patients and environmental sources

分类	患者来源 CRKP(n=153)		环境来源 CRKP(n=48)	
	型别	株数(%)	型别	株数(%)
ST-KL 型	ST11-KL64	73(47.71)	ST11-KL64	31(64.58)
	ST15-KL19	43(28.10)	ST15-KL19	11(22.92)
	ST11-KL47	7(4.58)	ST307-KL102KL149KL155	4(8.33)
	ST5422-KL21	7(4.58)	ST15-KL24KL54KL55	1(2.08)
	ST11-KL19	5(3.27)	ST5422-KL21	1(2.08)
	ST11-KL/	5(3.27)	ST11-KL/	0(0)
	ST1326-KL110	4(2.61)	ST1326-KL110	0(0)
	ST716-KL110	3(1.96)	ST716-KL110	0(0)
	ST307-KL102KL149KL155	2(1.31)	ST307-KL102KL149KL155	0(0)
	ST1326-KL100	1(0.65)	ST1326-KL100	0(0)
	ST15-KL112	1(0.65)	ST15-KL112	0(0)
	ST15-KL/	1(0.65)	ST15-KL/	0(0)
毒力基因	<i>rmpA2 + iutA + iucA + iroN</i>	54(35.29)	<i>rmpA2 + iutA + iucA + iroN</i>	18(37.50)
	<i>rmpA + rmpA2 + iutA + iucA + iroN</i>	20(13.07)	<i>rmpA + rmpA2 + iutA + iucA + iroN</i>	11(22.92)
	<i>rmpA + iutA + iucA + iroN</i>	1(0.65)	<i>rmpA + iutA + iucA + iroN</i>	1(2.08)
耐药基因	KPC	143(93.46)	KPC	44(91.67)
	CTX-M	119(77.78)	CTX-M	42(87.50)
	TEM	91(59.48)	TEM	32(66.67)
	Qnr	100(65.36)	Qnr	42(87.50)
	<i>rmtB</i>	79(51.63)	<i>rmtB</i>	31(64.58)
	<i>tet</i>	106(69.28)	<i>tet</i>	41(85.42)
	<i>sul</i>	93(60.78)	<i>sul</i>	44(91.67)
	<i>dfrA</i>	86(56.21)	<i>dfrA</i>	39(81.25)
	<i>fosA</i>	150(98.04)	<i>fosA</i>	47(97.92)

### 3 讨论

本研究对上海市医疗机构分离的 201 株 CRKP 药敏结果进行分析,结果显示对 10 种  $\beta$ -内酰胺类药物(包括碳青霉烯类及第三、四代头孢菌素)的耐药率均>95%;与 2021 年中国细菌耐药监测网(CHINET)监测结果一致,CHINET 2021 年监测结果显示,CRKP 对亚胺培南、美罗培南、厄他培南、左氧氟沙星、环丙沙星、头孢西丁、头孢他啶、头孢哌酮/舒巴坦耐药率 $\geq 90\%$ <sup>[1]</sup>。CRKP 的耐药机制主要包括 *AmpC* 酶、ESBLs、碳青霉烯酶。本研究显示 201 株 CRKP 中,碳青霉烯酶携带最多的是 *bla<sub>KPC</sub>*(187 株,93.03%),其中 99.46% 为 *bla<sub>KPC-2</sub>*(186/187);其次分别是 NDM 型(6 株,2.98%)、DHA 型(5 株,2.48%)、

CMY 型(6 株,2.98%)和 OXA-48 型(1 株,0.49%),与文献<sup>[9-13]</sup>报道一致。

北大医院王辉研究团队对 2011—2021 年中国 28 个省市分离株进行分子流行病学调查,并整合公共数据库的序列,获得 4 718 株 KP 的 ST 型,分析结果显示,中国 KP 中共有 277 个 ST 型,其中 ST11 最常见(75.0%,3 538 株),其次是 ST15(3.2%,151 株)<sup>[9]</sup>。Zhao 等<sup>[14]</sup>对 NCBI 数据库中中国 4 643 株 CRKP 基因组序列分析结果显示,ST11 型为优势型别(占 75.3%)。本组研究结果显示,上海市医疗机构分离 CRKP 以 ST11 型为优势克隆株(60.20%),以上结果均表明,ST11 型 CRKP 是中国高度优势克隆。

多项研究<sup>[15-17]</sup>发现,ST11 型 CRKP 的荚膜血清型分布发生显著演变,先前流行的 KL47 自 2016

年起逐步被 KL64 型取代,且伴多次院内暴发事件。2011—2021 年中国 ST11 型 KP 中, KL64 血清型占比从 1.5%(1/65) 升至 46.1%(141/306)<sup>[9]</sup>。本研究中,2020—2021 年上海医疗机构分离的 CRKP 以 ST11-KL64 为绝对优势型别(51.74%, 104/201)。Wang 等<sup>[9]</sup>研究指出,ST11 型菌株的血清型转化驱动了 KL64 型比例上升,且携带质粒相关毒力基因的 ST11-KL64 菌株在老年患者中检出率显著增高。本研究结果印证了 ST11-KL64 型 CRKP 在我国的绝对优势地位。

ST11-KL64 型 CRKP 在我国呈现多重耐药基因与毒力基因富集的特征,需高度警惕该克隆的传播风险<sup>[18]</sup>。ST11-KL64 CRKP 是典型的 MDROs。该型别可通过获得毒力质粒进化出高耐药-高毒力表型,导致高致死率<sup>[19]</sup>。当毒力基因(*rmpA*/*rmpA2*)与碳青霉烯酶基因(KPC)共存时,可显著增强菌株适应性优势<sup>[7-8]</sup>。Rong 等<sup>[20]</sup>针对 ICU 的研究证实,ST11-KL64 CRKP 的毒力表型显著增强。本研究中 104 株 ST11-KL64 CRKP 均为 MDROs,KPC 基因携带率高达 95.19%(99/104),其中 76.92%(80/104) 携带 *rmpA*/*rmpA2* + *iucA* + *iutA* + *iroN* 基因组合,此类兼具碳青霉烯酶耐药性与高毒力特征的菌株需重点监测,持续追踪其传播动力学与临床影响。

近年来,已发现多起由 ST15 型 CRKP 引起的医院暴发<sup>[21-23]</sup>。Chen 等<sup>[24]</sup>发现,CRKP 血流感染病例中,ST15 型的检出率已超过 ST11 型。本研究中 ST15-KL19 为次要流行型别(26.87%, 54/201),其中仅 9.26%(5/54) 携带 *rmpA*/*rmpA2* + *iucA* + *iutA* + *iroN* 毒力基因组合。

综上所述,上海市医疗机构分离 CRKP 以 ST11-KL64 为主,主要携带 KPC 耐药基因,表现多重耐药,且毒力基因组合 *rmpA*/*rmpA2* + *iucA* + *iutA* + *iroN* 为高耐药的 ST11-KL64 占 39.80%(80/201),尤其需引起重视。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

## 参考文献

- 王涛. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌黏菌素耐药和异质性耐药流行病学调查和机制研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2022.
- Wang T. Investigation and molecular mechanisms of colistin resistance and heteroresistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*[D]. Suzhou: Soochow University, 2022.
- Wang YH, Ouyang Y, Xu XY, et al. Dissemination and characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in nine district hospitals in southwestern China[J]. Front Microbiol, 2023, 14: 1269408.
- Guo MQ, Wang YT, Wang SS, et al. Genomic epidemiology of hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* at Jinshan local hospital, Shanghai, during 2014–2018[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2024, 57(1): 128–137.
- Huo BH, Wei DD, Huang QS, et al. Acquisition of a stable and transferable plasmid co harbouring hypervirulence and MDR genes with low fitness cost: accelerating the dissemination of ST11-KL64 CR-HvKP[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2024, 36: 350–357.
- Zhou Y, Wu XC, Wu CY, et al. Emergence of KPC-2 and NDM-5-coproducing hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with high-risk sequence types ST11 and ST15[J]. mSphere, 2024, 9(1): e0061223.
- 王粟, 丁立, 姜文容, 等. 高毒力肺炎克雷伯菌耐药性和治疗策略研究进展[J]. 检验医学, 2023, 38(1): 81–86.
- Wang S, Ding L, Jiang WR, et al. Research progress on drug resistance and treatment strategies of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*[J]. Laboratory Medicine, 2023, 38(1): 81–86.
- Kong YY, Sun QY, Chen HF, et al. Transmission dynamics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* sequence type 11 strains carrying capsular loci KL64 and *rmpA*/*rmpA2* genes[J]. Front Microbiol, 2021, 12: 736896.
- Liu C, Yang P, Zheng JJ, et al. Convergence of two serotypes within the epidemic ST11 KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* creates the “perfect storm” in a teaching hospital[J]. BMC Genomics, 2022, 23(1): 693.
- Wang Q, Wang RB, Wang SY, et al. Expansion and transmission dynamics of high risk carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* subclones in China: an epidemiological, spatial, genomic analysis[J]. Drug Resist Updat, 2024, 74: 101083.
- Wei XZ, Li QX, He Y, et al. Molecular characteristics and antimicrobial resistance profiles of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates at a tertiary hospital in Nanning, China[J]. BMC Microbiol, 2023, 23(1): 318.
- Liu CC, Dong N, Chan EWC, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China, 2016–2020[J]. Lancet Infect Dis, 2022, 22(2): 167–168.
- 李晓晴, 王露霞, 卓超, 等. KL47 型和 KL64 型产 KPC 酶肺炎克雷伯菌的菌株特征和体外药物敏感性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2023, 23(3): 341–346.
- Li XQ, Wang LX, Zhuo C, et al. The typing and *in vitro* antimicrobial susceptibility of KL47 and KL64 KPC-producing *K. pneumoniae*[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2023, 23(3): 341–346.
- 周佳佳, 赵树龙, 宋爽, 等. ST11 型 KPC-2 和 NDM-1 联产肺炎克雷伯菌流行病学特征分析[J]. 临床检验杂志, 2023, 41(2): 128–131.
- Zhou JJ, Zhao SL, Song S, et al. Epidemiological characteris-

- tics of KPC-2 and NDM-1 co-producing *Klebsiella pneumoniae* of ST11 type[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2023, 41(2): 128–131.
- [14] Zhao LN, Xia XX, Yuan T, et al. Molecular epidemiology of antimicrobial resistance, virulence and capsular serotypes of carbapenemase-carrying *Klebsiella pneumoniae* in China[J]. Antibiotics (Basel), 2022, 11(8): 1100.
- [15] Zhou Y, Wu CY, Wang BJ, et al. Characterization difference of typical KL1, KL2 and ST11-KL64 hypervirulent and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. Drug Resist Update, 2023, 67: 100918.
- [16] Zhou K, Xiao TT, David S, et al. Novel subclone of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* sequence type 11 with enhanced virulence and transmissibility, China[J]. Emerg Infect Dis, 2020, 26(2): 289–297.
- [17] Zhang N, Qi LH, Liu X, et al. Clinical and molecular characterizations of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* causing bloodstream infection in a Chinese hospital[J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(5): e0169022.
- [18] Zhao JK, Liu C, Liu YM, et al. Genomic characteristics of clinically important ST11 *Klebsiella pneumoniae* strains worldwide[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 22: 519–526.
- [19] 蒋玉婷, 张珂, 刘娟娟, 等. 高毒力肺炎克雷伯菌毒力和耐药机制研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(5): 473–480.
- Jiang YT, Zhang K, Liu TJ, et al. Research progress on virulence and drug resistance mechanism of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(5): 473–480.
- [20] Rong F, Liu ZY, Yang PB, et al. Epidemiological and molecular characteristics of *bla*<sub>NDM-1</sub> and *bla*<sub>KPC-2</sub> co-occurrence carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. Infect Drug Resist, 2023, 16: 2247–2258.
- [21] Zhao H, He ZE, Li YJ, et al. Epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST15 of producing KPC-2, SHV-106 and CTX-M-15 in Anhui, China[J]. BMC Microbiol, 2022, 22(1): 262.
- [22] Huang JS, Chen XY, Yang J, et al. Outbreak of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST15 strains in a Chinese tertiary hospital: resistance and virulence analyses[J]. J Med Microbiol, 2022, 71(2): 001494.
- [23] Han YP, Huang L, Liu CC, et al. Characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST15 clone coproducing KPC-2, CTX-M-15 and SHV-28 spread in an intensive care unit of a tertiary hospital[J]. Infect Drug Resist, 2021, 14: 767–773.
- [24] Chen JJ, Hu C, Wang RX, et al. Shift in the dominant sequence type of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection from ST11 to ST15 at a medical center in Northeast China, 2015–2020[J]. Infect Drug Resist, 2021, 14: 1855–1863.

(本文编辑:左双燕)

**本文引用格式:**毕菁,陈雯杰,田靓,等.上海市医疗机构 ST11 型耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分子流行病学特征与高毒力进化研究[J].中国感染控制杂志,2025,24(8):1075–1082. DOI: 10.12138/j.issn.1671–9638.20257205.

**Cite this article as:** BI Jing, CHEN Wenjie, TIAN Liang, et al. Molecular epidemiological characteristics and hypervirulence evolution of ST11 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in medical institutions in Shanghai[J]. Chin J Infect Control, 2025, 24(8): 1075–1082. DOI: 10.12138/j.issn.1671–9638.20257205.