

DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20252389

· 论著 ·

基于全基因组测序的耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的流行病学特征与耐药及毒力基因研究

饶玉婷,姜蕾,葛茹,朱留洋,刘艳会,张雨

(濮阳油田总医院医学检验科,河南 濮阳 457001)

[摘要] 目的 探讨某地区耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)的临床特点、耐药基因及毒力基因分子流行病学特征,为CRKP感染的防治及流行病学研究提供科学依据。方法 回顾性分析2023年11月—2024年9月濮阳油田总医院临床分离的非重复CRKP 60株。采用VITEK 2 Compact全自动微生物分析仪、K-B纸片扩散法及微量肉汤稀释法进行药敏试验;拉丝试验鉴定菌株的黏液表型;碳青霉烯酶抑制剂增强试验检测碳青霉烯酶;通过全基因组测序及生物信息学分析确定菌株的多位点序列分型(MLST)、荚膜血清型、耐药基因、毒力基因、质粒复制类型等分子特征及菌株的亲缘与进化关系。结果 CRKP主要分离自老年男性住院患者,标本多来源于痰(71.67%),主要分布在呼吸内科(30.00%)。所有菌株对多种常见抗菌药物均高度耐药,仅对头孢他啶/阿维巴坦、替加环素和多黏菌素B敏感率较高(>60.00%)。2株CRKP拉丝试验阳性,95.00%的菌株产A类丝氨酸碳青霉烯酶。所有菌株均携带氟喹诺酮类、磷霉素类、 β -内酰胺类和氨基糖苷类耐药基因,肠杆菌素、大肠埃希菌共有菌毛(ECP)和外膜蛋白相关毒力基因,以及IncF质粒家族的质粒。碳青霉烯酶基因以bla_{KPC-2}(95.00%)为主,荚膜血清型以KL19(43.33%)为主,MLST中ST11(51.67%)为主要优势克隆群,ST11-KL62(12株)为优势亚型。结论 该院CRKP对多种常见抗菌药物高度耐药,其对碳青霉烯类药物耐药的机制主要与携带bla_{KPC-2}耐药基因相关。所有菌株多种耐药基因、多种毒力基因共存,呈多克隆传播现象,ST11为主要优势克隆群,ST11-KL62为主要流行的亚克隆型别。

[关键词] 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌;全基因组测序;耐药;毒力;克隆群;荚膜血清型

[中图分类号] R181.3¹2 R378.99¹6

Epidemiological characteristics, antimicrobial resistance genes, and virulence genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a study based on whole genome sequencing

RAO Yuting, JIANG Lei, GE Ru, ZHU Liuyang, LIU Yanhui, ZHANG Yu (Department of Laboratory Medicine, Puyang Oilfield General Hospital, Puyang 457001, China)

[Abstract] **Objective** To explore the clinical characteristics as well as molecular epidemiological features of resistance genes and virulence genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) infection in a region, and provide scientific basis for the prevention, treatment, and epidemiological study of CRKP. **Methods** 60 non-repetitive CRKP strains isolated clinically from Puyang Oilfield General Hospital from November 2023 to September 2024 were analyzed retrospectively. Antimicrobial susceptibility testing was performed using VITEK 2 Compact automatic microbial analyzer, K-B disk diffusion method, and micro-broth dilution method. Mucus phenotype of bacterial strains was identified by string test. Carbapenemase was detected by carbapenemase inhibitor enhancement assay. Molecular features, such as multi-locus sequence typing (MLST), capsule serotypes, resistance genes, virulence

[收稿日期] 2025-04-18

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20230920)

[作者简介] 饶玉婷(1995-),女(汉族),河南省濮阳市人,主管技师,主要从事细菌耐药机制及分子流行病学研究。

[通信作者] 饶玉婷 E-mail: 18790670372@163.com

genes, plasmid replication types of strains, as well as the genetic and evolutionary relationships of strains were determined by whole genome sequencing and bioinformatics analysis. **Results** CRKP strains were mainly isolated from elderly male hospitalized patients. Specimens were mostly from sputum (71.67%), mainly distributed in department of respiratory medicine (30.00%). All strains were highly resistant to multiple commonly used antimicrobial agents, only with high susceptibility rates to cefotaxime/avibactam, tigecycline, and polymyxin B (>60.00%). Two CRKP strains were positive for string test. 95.00% of the strains produced class A serine carbapenemase. All strains carried fluoroquinolone, phosphomycin, β -lactam, and aminoglycoside resistance genes; enterobactin, *Escherichia coli* common pilus (ECP), and outer membrane protein-related virulence genes; as well as plasmids from the IncF plasmid family. Carbapenemase gene was mainly *bla*_{KPC-2} (95.00%), and the major capsule serotype was KL19 (43.33%). In MLST, ST11 (51.67%) was the dominant clone group, and ST11-KL62 ($n=12$) was the dominant subtype. **Conclusion** CRKP in this hospital is highly resistant to multiple commonly used antimicrobial agents, and its mechanism of resistance to carbapenems is mainly related to the presence of *bla*_{KPC-2} resistance gene. All strains have coexisting multiple resistance genes and virulence genes, and show a phenomenon of multi-clone transmission. ST11 is the dominant clone group, and ST11-KL62 is the main prevalent subclone type.

[Key words] carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; whole genome sequencing; antimicrobial resistance; virulence; clone group; capsule serotype

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是医院及社区获得性感染常见的病原菌之一,可引起肝脓肿及伤口、血流、呼吸道、泌尿道等局部或系统感染^[1-2]。碳青霉烯类药物抗菌活性强、抗菌谱广,是治疗 KP 所致感染的重要手段^[3]。然而,随着碳青霉烯类药物的广泛应用甚至滥用,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)检出率不断上升。据中国细菌耐药监测数据^[4]显示,CRKP 检出率从 2005 年的 3.0% 攀升至 2023 年的 26.0%,已成为目前全球临床抗感染治疗的重大挑战之一^[5]。高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, hv-CRKP)因其高侵袭性、高致病性和多重耐药性,使临床结局更为严重^[6]。因此,尽早发现耐药菌株并有效预防和控制其扩散,成为抗感染的关键环节。全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)技术及生物信息学的飞速发展与应用,使深入研究菌株分子特征及传播途径,制定并实施遏制菌株扩散和预防感染的举措成为可能。菌株耐药基因和毒力基因分布及流行病学特征存在地域性差异,濮阳地区尚未开展此类研究,因此,本研究旨在分析某医院 CRKP 菌株的临床特点、耐药和毒力基因的分子流行病学特征,为 CRKP 的预防和用药以及全球 CRKP 的流行病学调查提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 连续收集 2023 年 11 月—2024 年

9 月濮阳油田总医院临床标本分离的非重复 CRKP 60 株。CRKP 定义为对任一种碳青霉烯类抗生素耐药的 KP,如:厄他培南最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)≥2 μ g/mL、亚胺培南、美罗培南或多立培南 MIC≥4 μ g/mL^[4]。质控菌株大肠埃希菌 ATCC 25922 购自国家卫生健康委临床检验中心。产 KPC、NDM 及 OXA-48 的三株阳性质控菌由郑州大学第一附属医院郭小兵老师惠赠。所有菌株置于 20% 甘油肉汤中,−80℃ 保存。本研究获该院伦理委员会批准(编号:2023-03-0015-E01)。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定及药敏试验 所有菌株均使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(德国 BRUKER 公司)进行鉴定。使用 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定仪及配套的 GN67 药敏卡(法国生物梅里埃公司)进行常规药敏试验,并采用 K-B 纸片扩散法对头孢唑林、头孢呋辛、阿莫西林/克拉维酸、氨曲南、头孢哌酮/舒巴坦进行补充药敏试验,所有纸片均购自温州康泰公司;替加环素、多黏菌素 B 及头孢他啶/阿维巴坦均采用微量肉汤稀释法进行药敏检测,药物购自大连美仑生物技术有限公司。除替加环素参照美国食品药品监督管理局药敏折点,多黏菌素 B 参照欧洲抗微生物药物敏感性委员会判断标准外,其余抗菌药物药敏结果判定均参照 2023 年美国临床实验室标准化协会标准^[7]。

1.2.2 菌株高黏液表型的鉴定 将菌株在血琼脂平板(郑州安图生物工程股份有限公司)上划线过

夜生长,用接种环轻触单个菌落向上拉起,若拉丝长度 ≥ 5 mm 提示菌株拉丝试验阳性,具有高黏液表型^[8]。

1.2.3 碳青霉烯酶检测 采用碳青霉烯酶抑制剂增强试验,具体操作步骤参照专家共识^[9]和厂家说明书,试剂购自珠海迪尔生物工程股份有限公司。过夜孵育后,若添加 APB 的亚胺培南纸片比不加任何试剂的单药亚胺培南纸片抑菌圈直径 ≥ 5 mm,提示菌株产 A 类丝氨酸碳青霉烯酶;若添加 EDTA 的亚胺培南纸片比单药纸片抑菌圈直径 ≥ 5 mm,提示菌株产 B 类金属 β 内酰胺酶;若同时添加 APB 和 EDTA 的亚胺培南纸片比单药纸片抑菌圈直径 ≥ 5 mm,且单独添加 APB 和 EDTA 的亚胺培南纸片均比单药纸片抑菌圈直径 < 5 mm,提示菌株同时产 A 类和 B 类酶;若添加试剂的亚胺培南纸片比单药纸片抑菌圈直径均 < 5 mm,提示菌株不产 A 类或 B 类酶。

1.2.4 WGS 使用 DNA 提取试剂盒(德国 Qia-
gen 公司)提取 60 株 CRKP 的 DNA,送至北京诺禾致源科技股份有限公司在 Illumina NovaSeq X Plus Series PE150 平台上进行二代测序。所有测序数据已上传至 NCBI 数据库, BioProject ID: PRJ-NA1190185。

1.2.5 生物信息学分析 测序数据使用在线服务器(<http://www.genomicepidemiology.org/services/>)中的 ResFinder 和 PlasmidFinder 分析 CRKP 携带的耐药基因和质粒类型;使用上述服务器中的多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)和巴斯德网站(<https://bigsdb.pasteur.fr/>)分析 MLST;使用 VFDB 数据库分析毒力基因;使用 Pathogenwatch(<http://pathogen.watch/>)确定荚膜血清型。构建系统发育树使用 prokka 注释基因组数据后提取 gff 文件,使用 roary 进行核心基因组比对, IQ-TREE 建树, TVBOT(<https://www.chiplot.online/tvbot.html>)作图^[10]。

2 结果

2.1 临床特征 60 例 CRKP 菌株来源患者平均年龄为 66 岁,年龄 14~86 岁,48.33% 的患者年龄为

61~80 岁;多数为男性(60.00%);除 1 例患者类别为门诊外,其余均为住院(98.33%)。患者主要来自呼吸内科(30.00%)、重症监护病房(ICU,16.67%)和康复医学科(13.33%)。标本主要来源于痰(71.67%)、尿(8.33%)和支气管肺泡灌洗液(6.67%)。见表 1。

表 1 CRKP 菌株来源患者的基本特征

Table 1 Basic characteristics of patients with CRKP strains

基本特征	例数(n=60)	百分比(%)
性别		
男性	36	60.00
女性	24	40.00
年龄(岁)		
≤20	1	1.67
21~	2	3.33
41~	19	31.67
61~	29	48.33
81~	9	15.00
类别		
门诊	1	1.67
住院	59	98.33
标本类型		
痰	43	71.67
尿	5	8.33
支气管肺泡灌洗液	4	6.67
压疮分泌物	3	5.00
鼻咽吸取物、耳廓脓汁、腹壁窦道分泌物、下肢分泌物和静脉血*	5	8.33
科室分布		
呼吸内科	18	30.00
ICU	10	16.67
康复医学科	8	13.33
急诊 ICU	7	11.67
神经外科	4	6.67
肾脏内科	3	5.00
肿瘤科	3	5.00
烧伤整形科	2	3.33
放疗科、肝胆胰胃外科、关节与运动医学科、胃肠外科和心血管内科*	5	8.33

注: * 表示各 1 例。

2.2 药敏试验结果 60 株 CRKP 对头孢菌素类、碳青霉烯类、喹诺酮类、部分酶抑制剂复合制剂药物(氨苄西林/舒巴坦、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦)及氨曲南的耐药率均为 100%，仅对头孢他啶/阿维巴坦、替加环素和多黏菌素 B 敏感率较高(>60.00%)。见表 2。

表 2 60 株 CRKP 对常用抗菌药物的药敏结果

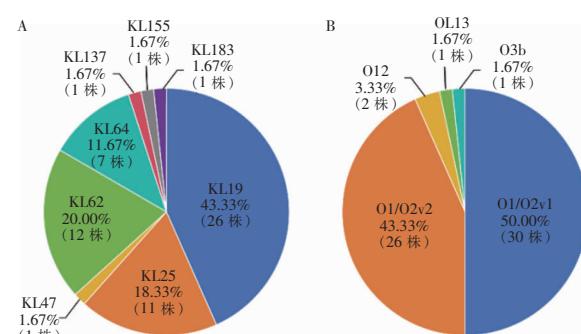
Table 2 Antimicrobial susceptibility testing results of 60 CRKP strains to commonly used antimicrobial agents

抗菌药物	敏感(S)		中介(I)		耐药(R)	
	株数	%	株数	%	株数	%
氨苄西林/舒巴坦	0	0	0	0	60	100
阿莫西林/克拉维酸	0	0	0	0	60	100
哌拉西林/他唑巴坦	0	0	0	0	60	100
头孢唑林	0	0	0	0	60	100
头孢呋辛	0	0	0	0	60	100
头孢他啶	0	0	0	0	60	100
头孢曲松	0	0	0	0	60	100
头孢吡肟	0	0	0	0	60	100
头孢哌酮/舒巴坦	0	0	0	0	60	100
头孢他啶/阿维巴坦	58	96.67	0	0	2	3.33
氨曲南	0	0	0	0	60	100
亚胺培南	0	0	0	0	60	100
厄他培南	0	0	0	0	60	100
阿米卡星	22	36.66	0	0	38	63.34
庆大霉素	15	25.00	0	0	45	75.00
妥布霉素	14	23.33	1	1.67	45	75.00
替加环素	37	61.67	22	36.66	1	1.67
左氧氟沙星	0	0	0	0	60	100
环丙沙星	0	0	0	0	60	100
呋喃妥因	0	0	23	38.33	37	61.67
复方磺胺甲噁唑	14	23.33	0	0	46	76.67
多黏菌素 B	49	81.67	0	0	11	18.33

2.3 高黏液表型和碳青霉烯酶的检测结果 60 株 CRKP 拉丝试验筛选出 2 株阳性菌(3.33%)。碳青霉烯酶抑制剂增强试验结果显示,95.00%(57 株)CRKP 产 A 类丝氨酸碳青霉烯酶,3.33%(2 株)产 B 类金属 β 内酰胺酶,1.67%(1 株)不产 A 类或 B 类酶。

2.4 克隆多样性和系统发育树 MLST 显示,60 株 CRKP 属于 6 种 ST 克隆群。其中,ST11 为主要优势克隆群(31 株,51.67%),其次是 ST2237(24 株,40.00%)和 ST15(2 株,3.33%),ST1、ST895 和 ST1593 均仅有 1 株菌(1.67%)。8 种荚膜血清型(K 分型)中,KL19(43.33%)为主要血清型,O 分型结果以 O1/O2v1(50.00%)为主。见图 1。

系统发育树结果显示,60 株 CRKP 主要分为 ST2237 和 ST11 两大分支,其 KO 分型、质粒类型和耐药基因分布差异较大。ST2237 菌株均为 ST2237-KL19,依据基因组多样性,菌株可细分为 2 个亚分支,亚分支内各菌株亲缘关系高度相近,具备相似的质粒类型和耐药基因。ST11 菌株荚膜血清型较为丰富,可细分为 4 个亚分支:分支 1 为 ST11-KL47(1 株),分支 2 为 ST11-KL64(7 株),分支 3 为 ST11-KL25(11 株),分支 4 为 ST11-KL62(12 株)。见图 2。



注: A 为 K 分型分布,B 为 O 分型分布;不同颜色代表不同型别;百分比代表此型别菌株检出率;株数代表菌株检出数量。

图 1 60 株 CRKP K 分型和 O 分型分布

Figure 1 Distribution of K and O typing of 60 CRKP strains

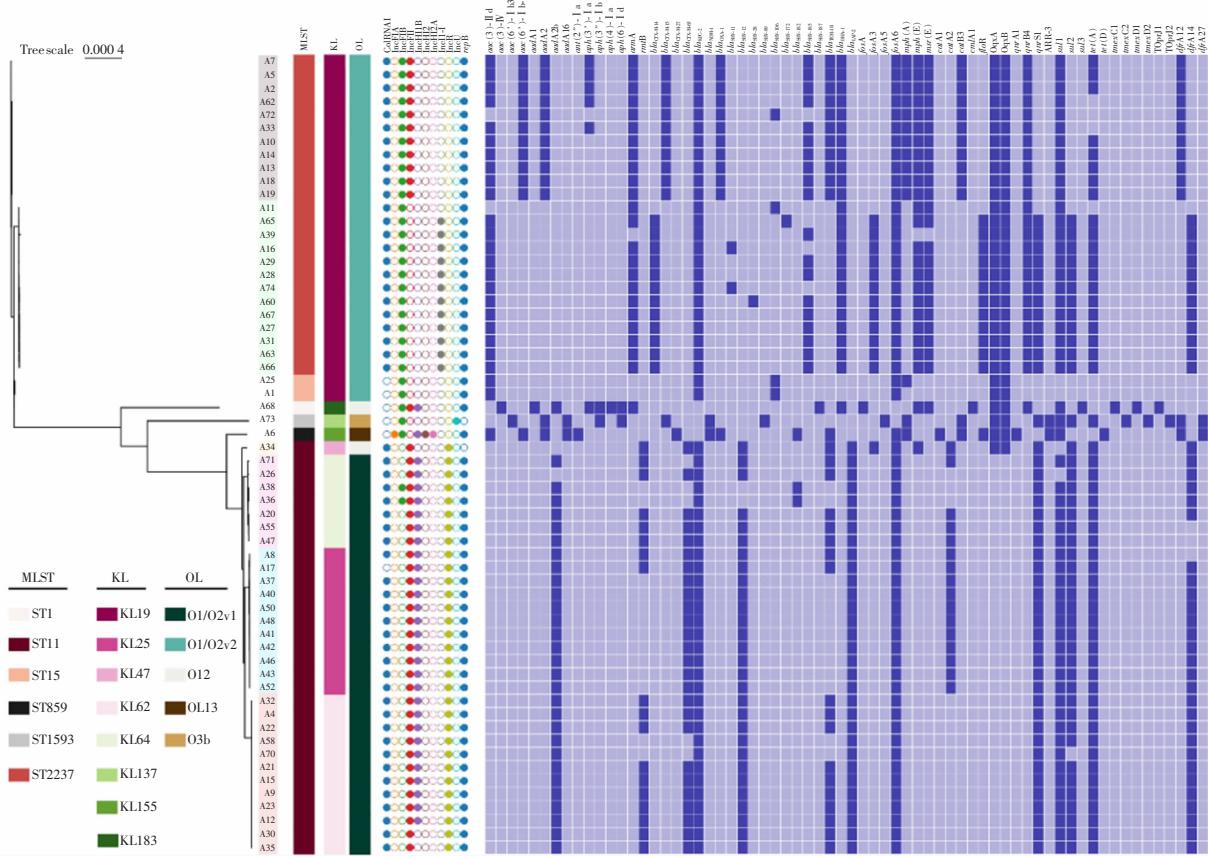


图 2 60 株 CRKP 核心基因组系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of core genomes of 60 CRKP strains

2.5 耐药基因和质粒类型分析 60 株 CRKP 共检测到 10 类 66 种耐药基因,所有菌株均携带氟喹诺酮类、磷霉素类、 β -内酰胺类和氨基糖苷类耐药基因,其中 β -内酰胺类耐药基因种类最多,共 19 种。59 株 (98.33%) CRKP 携带碳青霉烯酶基因,其中 57 株 (95.00%) 携带 bla_{KPC-2} 基因,2 株 (3.33%) 携带 bla_{NDM-1} 基因,每株菌仅携带一种碳青霉烯酶基因。见图 3。

PlasmidFinder 分析显示, 60 株 CRKP 共携带 11 种类型的质粒, 每个分离株携带的质粒类型 2~6

种不等。质粒类型以 *repB*(96.67%, 58 株)和 Col-RNAI(90.00%, 54 株)为主。所有菌株均携带 IncF 质粒家族的质粒。见图 4。

2.6 毒力基因分析 VFDB 结果显示, 60 株 CRKP 共检测到 25 种毒力基因, 每个分离株携带的基因种类 10~25 种不等。所有菌株均携带肠杆菌素 (*entA*、*entB*、*fepC*)、ECP 菌毛 (*yagV/ecpE*、*yagW/ecpD*、*yagX/ecpC*、*yagY/ecpB*、*yagZ/ecpA*) 和外膜蛋白 (*ompA*) 相关毒力基因。见图 5。

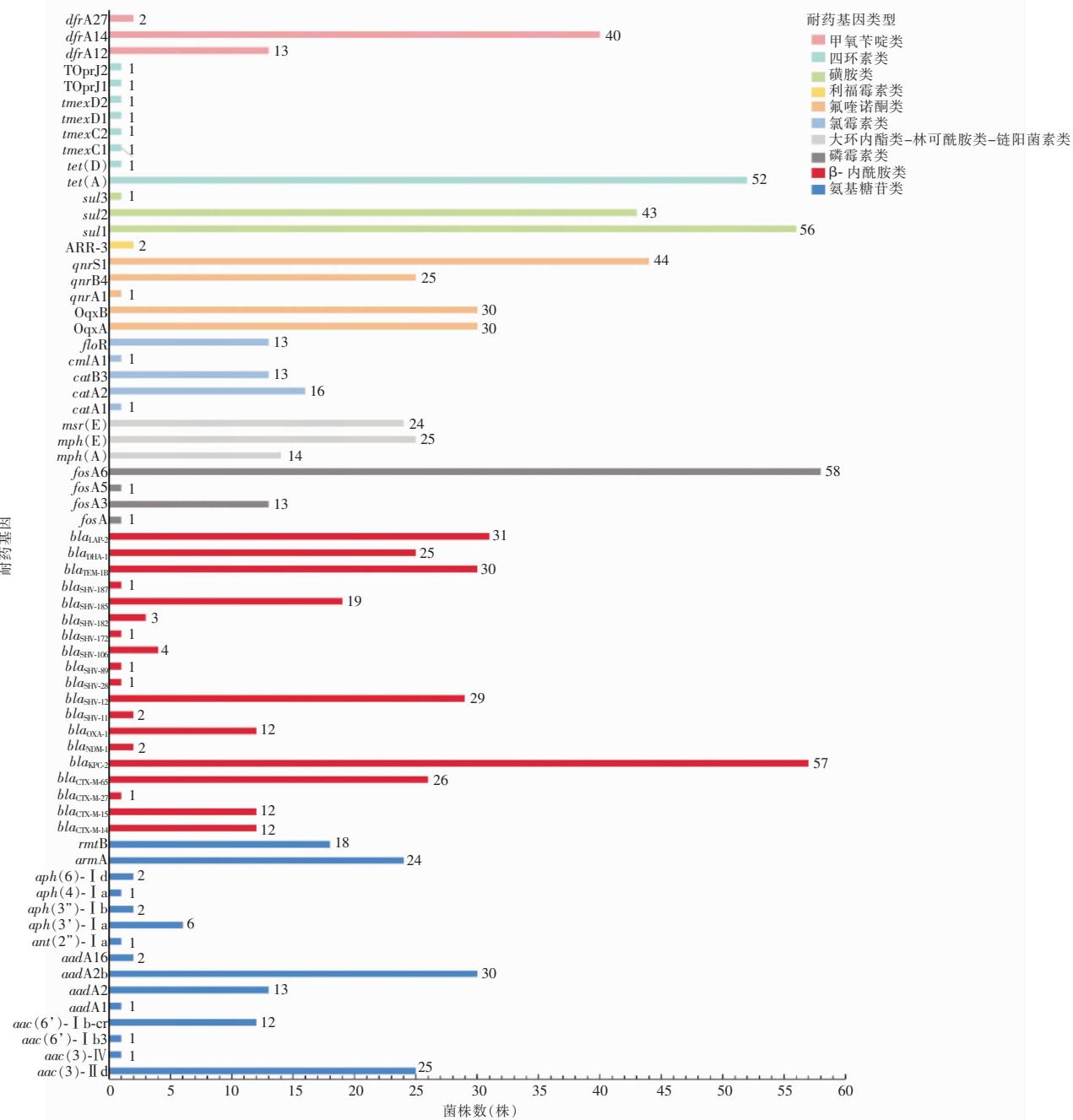


图 3 60 株 CRKP 耐药基因分布

Figure 3 Distribution of resistance genes of 60 CRKP strains

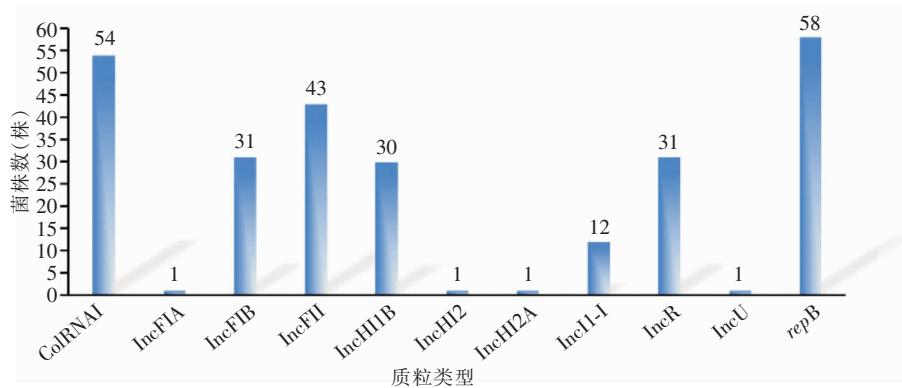


图 4 60 株 CRKP 质粒类型分布

Figure 4 Distribution of plasmid types of 60 CRKP strains

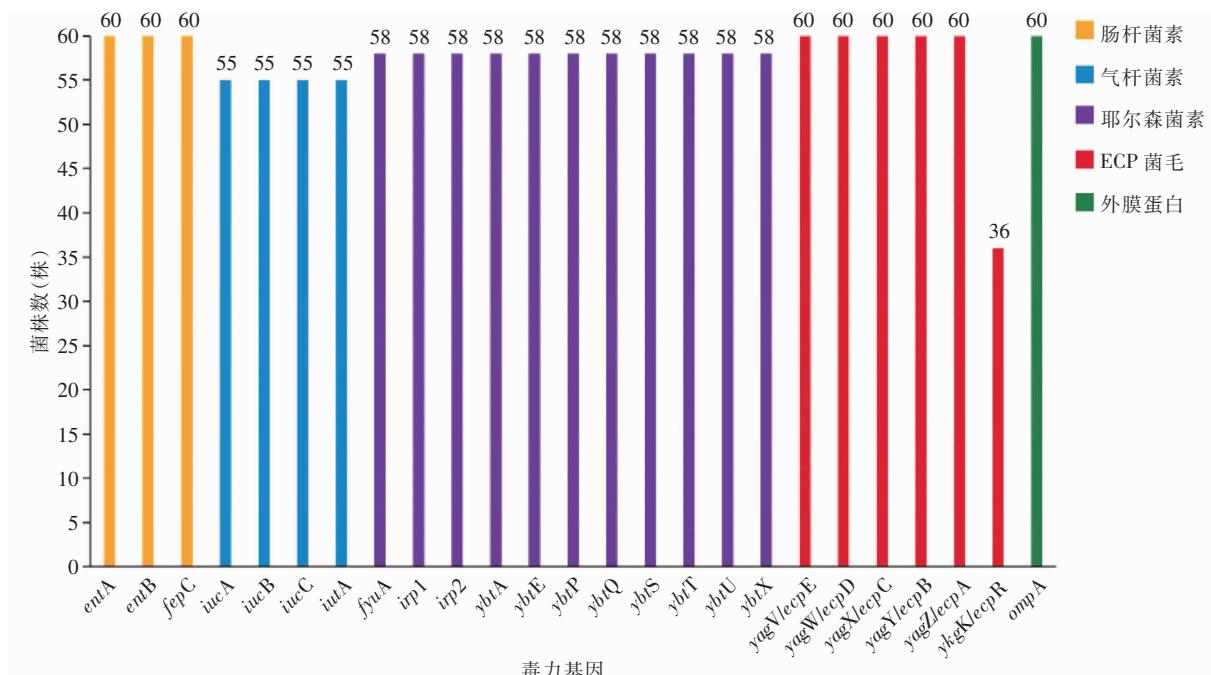


图 5 60 株 CRKP 毒力基因分布

Figure 5 Distribution of virulence genes of 60 CRKP strains

3 讨论

传统的耐药表型分析仅反映菌株的耐药表征,无法识别耐药机制、基因等深层次的信息。而 WGS 技术结合生物信息学分析,可解析病原菌完整基因组信息,为追溯菌株进化关系、分析菌株流行病学特征、识别菌株传播途径等提供有力依据^[11-12]。因此,本研究利用 WGS 技术对 CRKP 菌株进行全面分析。

本研究中 CRKP 多来自老年男性住院患者,这些患者年龄较大、基础疾病多、免疫力低下,属于 CRKP 易感人群^[13],医院应重点关注此类人群的 CRKP 筛查工作。菌株主要来源于痰、尿和支气管

肺泡灌洗液,表明 CRKP 感染主要发生在呼吸道和泌尿道。文献^[14]指出,CRKP 定植与感染有关,去除定植可有效预防 CRKP 感染,因此,临床应加强这两个部位的定植筛查。科室分布上,呼吸内科检出率最高,其次为 ICU 和康复医学科。呼吸内科和 ICU 患者大多有呼吸道插管、手术等侵入性操作史,增加了 CRKP 感染的风险^[13, 15]。康复医学科患者多转自 ICU 或有长期住院史,此类患者普遍免疫力低下且前期可能频繁使用广谱抗菌药物。因此,医院感染防控应重点加强这些高危科室管理,严格评估侵入性操作指征,规范无菌操作,合理使用抗菌药物。

药敏试验结果显示,60 株 CRKP 对多种常见抗

菌药物高度耐药,仅对头孢他啶/阿维巴坦、替加环素和多黏菌素 B 敏感率较高,表明针对 CRKP 引起的感染,可选择的抗菌药物非常有限。据报道^[16],头孢他啶/阿维巴坦、替加环素和多黏菌素 B 是治疗 CRKP 的可选药物,但头孢他啶/阿维巴坦仅对产 A 和 D 类丝氨酸碳青霉烯酶的 CRKP 有效,对产 B 类金属酶的菌株无效。替加环素单用效果不佳,多黏菌素 B 具有肾毒性和神经毒性^[17],这些局限性加剧了临床抗感染治疗的难度。建议实验室基于 CRKP 酶型及患者感染部位开展联合药敏试验,以指导临床个体化精准治疗。

资料^[18-19]显示,CRKP 可通过多种机制介导耐药,包括:产碳青霉烯酶,产超广谱 β -内酰胺酶和/AmpC 酶合并外膜孔蛋白缺失,青霉素结合蛋白变异,外排泵过度表达,生物被膜形成等。本研究通过碳青霉烯酶抑制剂增强试验与耐药基因检测双重验证,确认该院 CRKP 的主要耐药机制为产碳青霉烯酶。

该医院 CRKP 有 6 种 ST 克隆群,存在多克隆传播现象,提示实验室需建立长期监测机制以追踪其分子流行病学演变。ST11 为 CRKP 主要优势克隆群,与我国主要流行克隆群一致^[5]。一项纵向、多中心研究^[20]结果显示,KL64 和 KL47 是中国 CRKP 主要的荚膜血清型,但本研究发现 KL19 为主要的血清型,这一区别体现了地区分布的差异性及不同地区监测 CRKP 的必要性。据报道^[21],近年来优势克隆 ST11 在我国临床出现亚克隆替换现象,ST11-KL47 逐步被 ST11-KL64 取代。本研究发现 ST11-KL62 是主要流行的亚克隆型别,系统发育树进一步分析显示,ST11-KL62 是由一个类似 ST11-KL64 的祖先演化而来。由于本研究标本数量有限,CRKP 菌株是否出现亚克隆型别的演化或替换仍需多中心、长周期的基因组流行病学研究来验证。

本研究检测出 10 类 66 种耐药基因,其中碳青霉烯酶基因以 bla_{KPC-2} 为主,其次是 bla_{NDM} ,与国内相关报道^[19-20]一致。所有菌株均携带氟喹诺酮类、磷霉素类、 β -内酰胺类和氨基糖苷类耐药基因,多种耐药基因共存会导致菌株对多种药物耐药,从而给 CRKP 感染的治疗带来重大挑战。部分研究^[22]发现 CRKP 仅携带一种碳青霉烯酶基因,但杜芳玲等^[23]报道 CRKP 可同时携带多种碳青霉烯酶基因,说明 CRKP 的泛耐药性传播机制存在地域差别。此外,CRKP 感染控制难度大且复杂,由质粒介导的耐药

基因,借助质粒、转座子、插入序列等可移动遗传元件,极易传播扩散,加速耐药菌株的形成^[24]。本研究中每株分离株均携带 2 种以上质粒,说明 CRKP 可携带多种质粒,极易造成耐药基因的广泛传播,引起医院感染暴发。IncF 质粒家族的质粒在肠杆菌科细菌中广泛存在,常携带超广谱 β -内酰胺酶及碳青霉烯酶基因,在促进耐药基因播散的过程中扮演重要角色^[25]。本研究中 CRKP 均携带 IncF 质粒家族的质粒,意味着该质粒很可能是 CRKP 获得耐药性的关键传播载体。

目前,兼具高耐药和高毒力的 hv-CRKP 报道屡见不鲜^[26]。hv-CRKP 可在临床快速播散,引起医院感染暴发,造成高病死率,已被列为临床感染防控的优先病原体^[24,26]。研究人员先前把高黏液表型作为判定高毒力的标准^[15],因此,本研究进行了菌株高黏液表型的鉴定,并检出 2 株阳性菌。但最新研究^[8]发现,菌株的毒力强弱与其黏液表型程度无显著关联,菌株携带的 hvKP 相关毒力基因决定其是否具有高毒力,其中 $peg344$ 、 $iroB$ 、 $iucA$ 、 $rmpA$ 和 $rmpA2$ 的联合鉴定是判断 hvKP 的“金标准”。以上 hvKP 相关毒力基因中,本研究仅检出 $iucA$ (55 株),60 株 CRKP 均未检出其他四种基因,说明本研究菌株均不是 hv-CRKP。但 60 株 CRKP 检测到 25 种毒力基因,且每株分离株均携带多种类型,呈现出菌株的毒力基因多样性。所有菌株均携带肠杆菌素、ECP 菌毛和外膜蛋白相关毒力基因,具有一定毒力及高耐药性,严重威胁患者预后,应引起临床的高度重视。

综上所述,该院 CRKP 对多种常见抗菌药物高度耐药,其对碳青霉烯类药物耐药的机制主要与携带 bla_{KPC-2} 耐药基因相关。所有菌株均存在多种耐药基因和毒力基因,呈现多克隆传播现象,ST11 为主要优势克隆群,ST11-KL62 为主要流行的亚克隆型别。需注意的是,本研究标本仅来自该医院,尽管该医院是濮阳地区较大的三甲综合医院,标本有一定代表性,但研究结果存在一定局限性,难以完全代表濮阳地区 CRKP 的耐药和毒力特征。

贡献声明:饶玉婷直接参与研究(酝酿和设计试验、实施研究、分析/解释数据),论文撰写(起草论文)和工作支持(获取研究经费);姜蕾直接参与研究(酝酿和设计试验)和论文撰写(对论文的知识性内容作批评性审阅);葛茹直接参与研究(实施研究)和工作支持(行政、技术或材料支持);朱留洋直接参与研

究(实施研究)和工作支持(统计分析);刘艳会直接参与研究(采集数据);张雨直接参与研究(采集数据)。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] Dong N, Yang XM, Chan EWC, et al. *Klebsiella* species: taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance[J]. EBio-Medicine, 2022, 79: 103998.
- [2] Ibrahim S, Nallapaneni NN, Muthulingam D. Liver abscess caused by *Klebsiella pneumoniae* in the absence of hepatobiliary disease[J]. Cureus, 2022, 14(9): e29789.
- [3] Bassetti M, Echols R, Matsunaga Y, et al. Efficacy and safety of cefiderocol or best available therapy for the treatment of serious infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria (CREDIBLE-CR): a randomised, open-label, multicentre, pathogen-focused, descriptive, phase 3 trial[J]. Lancet Infect Dis, 2021, 21(2): 226–240.
- [4] 郭燕, 胡付晶, 朱德妹, 等. 2023 年 CHINET 中国细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2024, 24(6): 627–637.
- Guo Y, Hu FP, Zhu DM, et al. Antimicrobial resistance profile of clinical isolates in hospitals across China: report from the CHINET Antimicrobial Resistance Surveillance Program, 2023[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2024, 24(6): 627–637.
- [5] 全国细菌耐药监测网. 全国碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌对抗菌药物的敏感性、耐药机制和分子特征研究[J]. 中华检验医学杂志, 2024, 47(6): 629–638.
- China Antimicrobial Resistance Surveillance Network. National study on the antimicrobial susceptibility, resistance mechanisms, and molecular characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2024, 47(6): 629–638.
- [6] Lei TY, Liao BB, Yang LR, et al. Hypervirulent and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a global public health threat[J]. Microbiol Res, 2024, 288: 127839.
- [7] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100 33rd Edition[S]. Malvern, PA, USA: CLSI, 2023.
- [8] 中国老年医学学会检验医学分会, 上海市医学会检验医学专科分会, 上海市微生物学会临床微生物学专业委员会. 高毒力肺炎克雷伯菌实验室检测专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(11): 1164–1172.
- Laboratory Medicine Branch of Chinese Geriatrics Society, Shanghai Society of Laboratory Medicine, Clinical Microbiology Division of Shanghai Society of Microbiology. Expert consensus on laboratory testing for hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2023, 46(11): 1164–1172.
- [9] 喻华, 徐雪松, 李敏, 等. 肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识(第二版)[J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(4): 463–474.
- Yu H, Xu XS, Li M, et al. Expert consensus statement on laboratory detection and clinical report of carbapenemase among *Enterobacteriales* (Second edition)[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2022, 22(4): 463–474.
- [10] Xie JM, Chen YR, Cai GJ, et al. Tree visualization by one table (tvBOT): a web application for visualizing, modifying and annotating phylogenetic trees[J]. Nucleic Acids Res, 2023, 51(W1): W587–W592.
- [11] Gurwitz D. Whole-genome sequencing for combatting antibiotic resistance[J]. Drug Dev Res, 2019, 80(1): 3–5.
- [12] Sui WJ, Zhou HJ, Du PC, et al. Whole genome sequence revealed the fine transmission map of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates within a nosocomial outbreak [J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2018, 7: 70.
- [13] 彭晨. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌的耐药和毒力分子流行病学特征分析[D]. 广州: 广州医科大学, 2022.
- Peng C. Molecular epidemiological features of resistance and virulence in carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* [D]. Guangzhou: Guangzhou Medical University, 2022.
- [14] 陈翔, 高晓东, 周春妹, 等. 重症监护病房耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌定植与传播研究[J]. 中国感染控制杂志, 2025, 24(1): 77–84.
- Chen X, Gao XD, Zhou CM, et al. Colonization and transmission of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2025, 24(1): 77–84.
- [15] 李乐园. 血流感染碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌耐药分子特征及毒力分析[D]. 郑州: 郑州大学, 2020.
- Li LY. Molecular characteristics and virulence analysis of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* of bloodstream infection[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2020.
- [16] 陈熙元, 王紫玲, 宋爽, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌对头孢他啶/阿维巴坦耐药机制的研究[J]. 中国感染控制杂志, 2024, 23(11): 1365–1372.
- Chen XY, Wang ZL, Song S, et al. Mechanisms of resistance to ceftazidime/avibactam of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2024, 23(11): 1365–1372.
- [17] 王珊珊, 吴忠伟, 赵建平. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌医院感染、耐药性及治疗的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(5): 428–432.
- Wang SS, Wu ZW, Zhao JP. Advances in research on nosocomial infection, drug resistance and treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2020, 45(5): 428–432.
- [18] 蒋晓颖, 王东亮, 魏莲花, 等. 甘肃某三级医院住院患者耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌临床分布及耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(4): 449–455.
- Jiang XY, Wang DL, Wei LH, et al. Distribution and antibiotic resistance profile of the carbapenem-resistant *Klebsiella*

- pneumoniae isolated from inpatients in a tertiary hospital in Gansu[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2021, 21(4): 449–455.
- [19] 龙华婧, 邱芳华, 刘道利, 等. 中国 2017—2019 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药基因及流行克隆特征[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(11): 1008–1015.
- Long HJ, Qiu FH, Liu DL, et al. Resistance genes and prevalence clone characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China from 2017 to 2019[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(11): 1008–1015.
- [20] Hu FP, Pan YQ, Li H, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* capsular types, antibiotic resistance and virulence factors in China: a longitudinal, multi-centre study[J]. Nat Microbiol, 2024, 9(3): 814–829.
- [21] Shi QC, Ruan Z, Zhang P, et al. Epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China and the evolving trends of predominant clone ST11: a multicentre, genome-based study[J]. J Antimicrob Chemother, 2024, 79(9): 2292–2297.
- [22] 李丽娟, 袁梓杨, 张露, 等. 碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌的基因组特征和聚类分析研究[J]. 中华预防医学杂志, 2024, 58(9): 1372–1378.
- Li LJ, Yuan ZY, Zhang L, et al. Genomic characterization and cluster analysis of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2024, 58(9): 1372–1378.
- [23] 杜芳玲, 梅艳芳, 魏丹丹, 等. CRKP 血流感染危险因素和耐药及毒力特征[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(22): 3361–3365.
- Du FL, Mei YF, Wei DD, et al. Risk factors for CRKP blood-stream infection, drug resistance and virulence characteristics [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2021, 31(22): 3361–3365.
- [24] 黄静敏, 柯碧霞, 何冬梅, 等. 广东地区耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药性及分子流行病学特征[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(6): 813–818.
- Huang JM, Ke BX, He DM, et al. Drug resistance and molecular epidemiological characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Guangdong[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2022, 32(6): 813–818.
- [25] 熊流新, 黄志伟, 钟建辉, 等. 基于全基因组分析的肺炎克雷伯菌耐药性与流行病学特征分析[J]. 临床检验杂志, 2022, 40(8): 582–588.
- Xiong LX, Huang ZW, Zhong JH, et al. Drug resistance and epidemiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae* based on whole genome sequencing analysis[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2022, 40(8): 582–588.
- [26] 刘心伟, 李登州, 胡玥, 等. 2020—2022 年河南省某医院高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分子流行病学特征研究[J]. 中华预防医学杂志, 2023, 57(8): 1222–1230.
- Liu XW, Li DZ, Hu Y, et al. Molecular epidemiological characterization of hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in Henan Province from 2020 to 2022 [J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2023, 57(8): 1222–1230.

(本文编辑:翟若南)

本文引用格式:饶玉婷,姜蕾,葛茹,等.基于全基因组测序的耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的流行病学特征与耐药及毒力基因研究[J].中国感染控制杂志,2025,24(10):1367–1376. DOI: 10.12138/j.issn.1671–9638.20252389.

Cite this article as: RAO Yuting, JIANG Lei, GE Ru, et al. Epidemiological characteristics, antimicrobial resistance genes, and virulence genes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a study based on whole genome sequencing[J]. Chin J Infect Control, 2025, 24(10): 1367–1376. DOI: 10.12138/j.issn.1671–9638.20252389.