

DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20233133

论著·临床微生物与感染监测专题

基于 PATRIC 公共数据库不同标本来源的耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌基因组特征比较

张娜^{1,2}, 孟标^{3,4}, 金美玲^{1,2}, 陈佳丽^{1,2}, 杨晓静^{1,2}, 刘芳妮^{1,2}, 秦世宇^{2,5}, 刘雄⁶, 王长军^{1,7}, 陈勇²

(1. 中国医科大学公共卫生学院卫生统计学教研室, 辽宁 沈阳 110122; 2. 中国人民解放军疾病预防控制中心应急处置大队, 北京 100071; 3. 安徽医科大学公共卫生学院流行病学与统计学系, 安徽 合肥 230032; 4. 中国人民解放军疾病预防控制中心有害生物防制科, 北京 100071; 5. 郑州大学公共卫生学院, 河南 郑州 450001; 6. 中国人民解放军疾病预防控制中心信息科, 北京 100071; 7. 中国人民解放军疾病预防控制中心卫勤部, 北京 100071)

【摘要】目的 了解不同标本来源的耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)在耐药基因、毒力基因和质粒携带数量等方面是否存在差异,为 CRKP 感染的预防控制提供参考。**方法** 从 Pathosystems Resource Integration Center (PATRIC)公共数据库中下载 2011—2020 年不同标本来源 CRKP 的全基因组测序数据,使用生物信息学分析软件进行耐药基因、毒力基因、质粒等鉴定分析,使用 IBM SPSS 23.0 和 R v4.2.0 软件进行比较。**结果** 共纳入 2 356 个 CRKP 全基因组数据,CRKP 菌株携带耐药基因、质粒和毒力基因数量的中位数(四分位数间距)分别为 18 (16,20)、4(3,5)、60(57,68),不同标本来源的 CRKP 携带毒力基因、质粒以及关键毒力基因(*iutA*、*iucA*、*iucB*、*iucC*、*iucD*、*rmpA*、*rmpA2*、*iroB*、*iroC*、*iroD*、*iroN*)的数量差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。粪便来源的 CRKP 菌株携带耐药基因、质粒和毒力基因的数量较多,其中位数(四分位数间距)分别为 19(16,21)、5(3,6)、63(61,69);导管附着体液来源的 CRKP 携带 *iutA* 和 *iuc*(*iucA*、*iucB*、*iucC*、*iucD*)的比率较高(19.0%,4/21);*rmpA* 和 *rmpA2* 在肺泡灌洗液来源的 CRKP 中携带率最高,分别占 7.9%(3/38)、15.8%(6/38);无菌体液来源的 CRKP 携带 *iro*(*iroB*、*iroC*、*iroD*、*iroN*)基因的比率(6.5%,4/62)高于其他标本类型 CRKP(比率范围:0~4.9%)。血标本来源的 CRKP 比其他标本来源 CRKP 携带更多的毒力基因($P = 0.004$)。**结论** 血标本来源的 CRKP 菌株携带的毒力基因比其他标本类型来源的 CRKP 更多,可能与其临床高死亡率有关,建议高度关注血标本中 CRKP 菌株向高毒力菌株进化,通过加强医院感染控制措施,降低 CRKP 血流感染的发病率。

【关键词】 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌;标本类型;基因组;毒力基因;PATRIC**【中图分类号】** R181.3⁺2Genomic characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from different specimen sources based on PATRIC public databaseZHANG Na^{1,2}, MENG Biao^{3,4}, JIN Mei-ling^{1,2}, CHEN Jia-li^{1,2}, YANG Xiao-jing^{1,2}, LIU Fang-ni^{1,2}, QIN Shi-yu^{2,5}, LIU Xiong⁶, WANG Chang-jun^{1,7}, CHEN Yong² (1. Department of Health Statistics, School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110122, China; 2. Department of Emergency Response, Chinese PLA Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100071, China; 3. Department of Epidemiology and Statistics, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 4. Department of Pest Management, Chinese PLA Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100071, China; 5. College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 6. Depart-

[收稿日期] 2022-07-12

[基金项目] 国家科技重大专项(2018ZX10733402-007);北京市科技新星(Z181100006218107)

[作者简介] 张娜(1998-),女(汉族),安徽省阜阳市人,硕士研究生,主要从事耐药菌的传播进化研究。

[通信作者] 陈勇 E-mail: chen Yong@126.com; 王长军 E-mail: science2008@hotmail.com

ment of Information, Chinese PLA Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100071, China; 7. Department of Health Service, Chinese PLA Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100071, China)

[Abstract] Objective To understand the differences in the number of drug-resistant genes, virulence genes and plasmids among carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) from different specimen sources, and provide references for the prevention and control of CRKP infection. **Methods** The whole-genome sequencing data of CRKP from different specimen sources in 2011–2020 were downloaded from public database of Pathosystems Resource Integration Center (PATRIC). Drug-resistant genes, virulence genes, and plasmids were identified and analyzed with bioinformatics analysis software and compared with IBM SPSS 23.0 and R v4.2.0 software. **Results** A total of 2 356 CRKP whole-genome data was included. The medians (interquartile interval) of drug-resistant genes, plasmids, and virulence genes carried by CRKP strains were 18 (16, 20), 4 (3, 5), and 60 (57, 68) respectively. The number of virulence genes, plasmids, and key virulence genes (*iutA*, *iucA*, *iucB*, *iucC*, *iucD*, *rmpA*, *rmpA2*, *iroB*, *iroC*, *iroD*, *iroN*) carried by CRKP strains from different specimen sources was statistically significant ($P < 0.05$). The number of drug-resistant genes, plasmids and virulence genes carried by CRKP strains from fecal specimens was higher, with the medians (interquartile interval) of 19 (16, 21), 5 (3, 6) and 63 (61, 59) respectively. The percentage of CRKP from catheter-attached fluid carrying *iutA* and *iuc* (*iucA*, *iucB*, *iucC*, *iucD*) was higher (19.0%, 4/21). Carrying rates of *rmpA* and *rmpA2* in CRKP from alveolar lavage fluid were the highest, 7.9% (3/38) and 15.8% (6/38) respectively. The percentage of *iro* (*iroB*, *iroC*, *iroD*, *iroN*) genes carried by CRKP from sterile body fluids (6.5%, 4/62) was higher than that of CRKP from other specimen types (percentage range: 0–4.9%). CRKP from blood specimen carried more virulence genes than that from other specimen sources ($P = 0.004$). **Conclusion** CRKP from blood specimen carries more virulence genes than CRKP from other types of specimens, which may relate to the high clinical mortality. It is suggested to pay close attention to the evolution of CRKP strains into high virulence strain in blood specimen, and reduce the incidence of CRKP blood stream infection by strengthening healthcare-associated infection control measures.

[Key words] carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; specimen type; genome; virulence gene; PATRIC

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)属于条件致病菌,是常见的临床患者感染的致病菌之一。抗菌药物在临床中广泛使用,导致产生耐药的KP数量越来越多。耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)是临床常见耐药菌,其检出率呈不断升高趋势^[1-3]。临床CRKP常见标本来源包括尿、血、呼吸道分泌物和无菌体液等^[2]。年老体弱、侵袭性操作^[4]和基础疾病^[5]是临床患者感染CRKP的主要因素。近年来,CRKP所致血流感染的病例越来越多^[6],该类患者病情凶险、预后差,部分文献报道CRKP血流感染患者病死率高达71.9%,远高于其他部位感染的病死率(21.9%)^[7],CRKP已成为全球范围内患者正在面临的严重安全威胁。为研究不同标本来源CRKP在携带耐药基因、毒力基因和质粒数量等方面有无差异,笔者对公共数据库2011—2020年的CRKP基因组测序数据进行筛选分析,为深入了解不同标本类型CRKP感染的临床特点和感染控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 数据来源和筛选标准 本研究从Pathosystems Resource Integration Center (PATRIC)^[8]数据库(PATRIC数据库提供全面的细菌基因组学数据和与基因组分析相关的大量数据,相比于NCBI数据库,标本来源、分离国家、耐药情况等基础信息更完善,更便于进行比较分析)下载2011—2020年间所有的KP基因组测序数据,根据宿主、标本来源、对碳青霉烯类抗生素耐药等信息进行筛选,纳入标准包括:(1)人类宿主;(2)按照2020年中国细菌耐药检测结果的分类情况^[2]并结合收集到的标本类型,确定标本来源为血、尿、肺泡灌洗液、无菌体液、伤口脓液、粪便、呼吸道标本和导管标本共8个类型;(3)菌株携带碳青霉烯酶基因;(4)分离国家等基础信息完整。排除标准:(1)分离自人类以外的宿主;(2)除血、尿、肺泡灌洗液、无菌体液、伤口脓液、粪便、呼吸道标本和导管标本以外的标本来源;(3)

不携带碳青霉烯酶基因；(4)分离时间、分离地区、标本来源、基因组数据等信息不完整。

1.2 毒力基因、耐药基因、质粒和单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 分析

应用 kleborate^[9] 软件对菌株进行物种鉴定,并筛选其是否携带 CARD^[10] 数据库中存在的碳青霉烯酶基因。应用 abricate 软件,将基因组序列与 CARD、VFDB^[11] 和 PlasmidFinder^[12] 数据库进行比对,获得每个菌株携带毒力基因、耐药基因和质粒的情况。选择肺炎克雷伯菌 HS11286 (GenBank assembly accession: GCA_000240185. 2) 作为参考基因组。应用 snippy 软件,将各菌株基因组与参考基因组进行对比分析,获得各菌株 SNPs 数量。

1.3 统计学分析

应用 IBM SPSS 23.0 和 R v4. 2. 0 软件进行统计学分析。毒力基因、耐药基因和质粒等计数资料采用中位数 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 进行统计描述,采用非参数检验 (Kruskal-Wallis H 秩和检验) 比较多个组间总体差异,曼-惠特尼 U 检验比较两组间差异。采用卡方检验对不同率或百分比之间的差异进行统计学比较, $P \leq 0. 05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CRKP 基因组序列的筛选和标本分布

对 2011—2020 年 10 年间 PATRIC 公共数据库中 12 774 株 KP 进行筛选后纳入 2 356 个符合筛选条件的 CRKP 基因组序列进行分析,其中 2011—2015 年 1 621 株 (20. 92%, 共计 7 749 株), 2016—2020 年

735 株 (14. 63%, 共计 5 025 株)。尿 (797 株, 33. 83%)、血 (706 株, 29. 97%)、呼吸道 (366 株, 15. 53%) 和粪便 (231 株, 9. 80%) 为主要标本来源。血标本 CRKP 的数量每年均位居前 3 位, 提示血是 CRKP 最常见标本来源之一。见图 1。

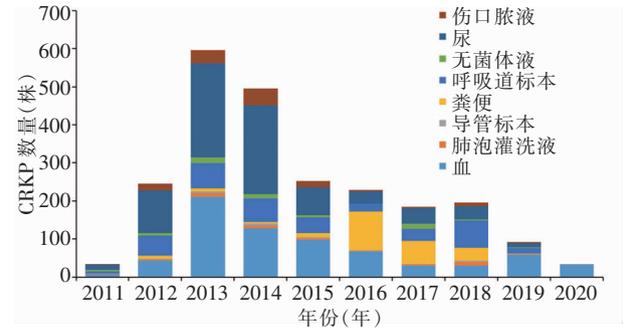


图 1 2011—2020 年不同标本来源 CRKP 的数量分布
Figure 1 Distribution of CRKP from different specimen sources, 2011–2020

2.2 提交 CRKP 基因组序列的国家/地区分布

美国在 2013—2014 年提交至数据库的 KP 感染基因组数据较多,使这两年纳入分析的 CRKP 基因组样本明显增多,2013 年 397 株,2014 年 296 株。2011—2015 年美国提交 CRKP 基因组序列数量最多 ($n = 1 001$), 占该 5 年所有 CRKP 序列数量的 61. 75%。2016—2020 年提交 CRKP 基因组序列数量最多的国家分别是泰国 ($n = 188$)、中国 ($n = 187$)、巴西 ($n = 93$) 和印度 ($n = 69$), 占这 5 年所有 CRKP 序列数量的 73. 06%, 其他国家/地区提交 CRKP 基因组序列总体较少。见表 1。

表 1 2011—2020 年不同国家/地区提交 CRKP 基因组序列数量 (株)

Table 1 CRKP genome sequence numbers submitted by different countries/regions, 2011–2020 (No. of strains)

国家/地区	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	合计
阿尔及利亚	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
阿根廷	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
奥地利	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	3
孟加拉	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
比利时	0	0	2	15	0	1	0	0	0	0	18
巴西	3	7	5	13	25	48	9	4	13	19	146
保加利亚	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
加拿大	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
智利	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
中国	1	11	24	20	66	74	28	67	18	0	309
哥伦比亚	0	1	4	5	3	0	0	0	0	0	13

续表 1 (Table 1, Continued)

国家/地区	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	合计
克罗地亚	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	3
丹麦	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	4
法国	0	1	1	2	3	3	1	0	0	0	11
德国	0	1	2	5	0	0	0	0	0	0	8
希腊	0	7	18	37	5	21	3	0	0	0	91
洪都拉斯	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
匈牙利	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
印度	0	0	4	5	10	4	18	5	41	1	88
危地马拉	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
意大利	3	15	66	20	1	2	8	1	0	1	117
日本	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	3
拉脱维亚	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
孟加拉	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
马来西亚	0	4	0	0	3	3	0	0	0	0	10
马耳他	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
米兰	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
黑山	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	3
缅甸	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
尼日利亚	0	0	0	1	6	0	0	0	0	0	7
巴基斯坦	0	0	1	0	8	12	0	0	0	0	21
秘鲁	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	3
菲律宾	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
波兰	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
葡萄牙	0	1	14	17	0	1	0	0	0	0	33
罗马尼亚	0	0	4	6	0	0	0	0	0	0	10
俄罗斯	0	3	8	10	1	0	8	8	15	0	53
新加坡	0	0	9	3	0	0	0	0	0	0	12
南非	0	0	0	0	0	5	7	5	2	12	31
西班牙	0	5	6	7	5	2	0	9	3	0	37
斯里兰卡	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	4
瑞典	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	3
瑞士	0	2	2	0	3	0	0	0	0	0	7
泰国	0	0	0	0	1	27	70	91	0	0	189
多哥	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
突尼斯	0	0	0	2	2	3	0	0	0	0	7
土耳其	0	0	16	17	1	0	5	0	0	0	39
乌克兰	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2
阿拉伯联合酋长国	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
英国	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3
乌拉圭	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
美国	23	184	397	296	101	18	23	1	0	0	1 043
越南	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
合计	33	245	596	495	252	229	185	196	92	33	2 356

2.3 碳青霉烯酶基因分布情况 2 356 株 CRKP 菌株中最常见的 5 种碳青霉烯酶基因为: *bla*_{KPC-2} (50.51%)、*bla*_{KPC-3} (21.39%)、*bla*_{NDM-1} (11.50%)、*bla*_{OXA-232} (10.48%) 和 *bla*_{OXA-48} (7.39%)。7.05% 的 CRKP 菌株携带多个碳青霉烯酶基因。美国来源的 CRKP 菌株携带的碳青霉烯酶以 *bla*_{KPC-2} 和 *bla*_{KPC-3} 为主, 巴西和中国以携带 *bla*_{KPC-2} 为主, 泰国主要携带 *bla*_{OXA-232} 和 *bla*_{NDM-1}, 意大利和葡萄牙以 *bla*_{KPC-3} 为主, 俄国、西班牙主要携带 *bla*_{OXA-48}。产 KPC-2 (50.51%) 是 CRKP 对碳青霉烯类药物耐药的主要机制, 但不同碳青霉烯酶基因在标本整体和不同标本类型中占比不同。*bla*_{KPC-2} 整体占比由 2011—2015 的 54.8% 降至 2016—2020 的 41.1%, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 除 *bla*_{KPC-2} 外的其他碳青霉烯酶基因占比在 2016—2020 年里均明显增加。尿中以 *bla*_{KPC-2} (46.05%)、*bla*_{KPC-3} (31.62%)、*bla*_{NDM-1} (9.91%) 和 *bla*_{OXA-48} (7.78%) 为主; 血中以 *bla*_{KPC-2} (51.98%)、*bla*_{KPC-3} (22.10%)、*bla*_{OXA-232} (8.22%) 和 *bla*_{OXA-48} (6.94%) 为主; 呼吸道标本以 *bla*_{KPC-2} (59.56%)、*bla*_{OXA-232} (20.22%) 和 *bla*_{NDM-1} (14.21%) 为主; 粪便以 *bla*_{KPC-2} (50.22%)、*bla*_{OXA-232} (36.36%) 和 *bla*_{NDM-1} (31.17%) 为主; 伤口脓液中以 *bla*_{KPC-2} (48.89%)、*bla*_{OXA-48} (20.74%) 和 *bla*_{KPC-3} (18.52%) 为主; 无菌体液以 *bla*_{KPC-2} (48.39%)、*bla*_{KPC-3} (27.42%) 和 *bla*_{OXA-48} (9.68%) 为主; 肺泡灌洗液以 *bla*_{KPC-2} (47.37%)、*bla*_{KPC-3} (26.32%) 和 *bla*_{NDM-1} (10.53%) 为主; 导管标本以 *bla*_{KPC-2} (38.10%)、*bla*_{NDM-1} 和 *bla*_{OXA-48} (均 19.05%) 为主。见表 2。

2.4 分子分型特征 2 356 株 CRKP 可划分为 133

个多位点序列型别(ST 型), 其中, 2011—2015 年有 101 个 ST 型, 2016—2020 年有 65 个 ST 型。常见的型别包括 ST258 (33.19%, 782 株)、ST11 (16.00%, 377 株)、ST307 (8.91%, 210 株)、ST16 (7.77%, 183 株)、ST512 (5.01%, 118 株)、ST15 (3.82%, 90 株) 和 ST147 (3.18%, 75 株)。ST258 型主要集中在 2012—2015 年 (90.15%, 705/782); ST11 型 2015、2016 和 2018 年最多, 占有所有 ST11 型的 62.60% (236/377); ST307 型 2012—2015 年出现较多 (89.05%, 187/210); ST16 型 CRKP 主要出现在 2016—2019 年 (89.07%, 163/183)。

2.5 不同标本类型 CRKP 耐药、质粒和毒力基因携带数量比较 CRKP 菌株携带耐药基因、质粒和毒力基因数量的 $M(P_{25}, P_{75})$ 分别为 18 (16, 20)、4 (3, 5) 和 60 (57, 68)。不同标本来源的 CRKP 携带耐药基因数量比较, 差异无统计学意义 ($P = 0.055$), 携带毒力基因和质粒数量之间差异均有统计学意义 ($P < 0.001$)。粪便来源的 CRKP 菌株携带耐药基因、质粒和毒力基因的数量较多, 其 $M(P_{25}, P_{75})$ 分别为 19 (16, 21)、5 (3, 6)、63 (61, 69); 导管来源 CRKP 主要携带 *iutA*、*iucA*、*iucB*、*iucC*、*iucD* (均为 19.0%, 4/21); *rmpA* 和 *rmpA2* 在肺泡灌洗液来源 CRKP 中数量最多, 分别占比 7.9% (3/38) 和 15.8% (6/38); 无菌体液中 CRKP 携带 *iro* (*iroB*、*iroC*、*iroD*、*iroN*) 基因比率高于其他标本类型 CRKP (6.5%, 4/62), 不同标本类型的 CRKP 携带关键毒力基因 (*iutA*、*iucA*、*iucB*、*iucC*、*iucD*、*rmpA*、*rmpA2*、*iroB*、*iroC*、*iroD*、*iroN*) 数量差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。见表 3。

表 2 2011—2020 年不同碳青霉烯酶基因在 8 种类型标本中的分布情况[株(%)]

Table 2 Distribution of different carbapenemase genes among 8 types of specimens, 2011 - 2020 (No. of isolates [%])

碳青霉烯酶基因	尿 (n = 797)	血 (n = 706)	呼吸道标本 (n = 366)	粪便 (n = 231)	伤口脓液 (n = 135)	无菌体液 (n = 62)	肺泡灌洗液 (n = 38)	导管标本 (n = 21)	合计
<i>bla</i> _{CTX-M-33}	2(0.25)	0	0	1(0.43)	0	0	0	0	3
<i>bla</i> _{GES-19}	2(0.25)	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>bla</i> _{GES-20}	1(0.13)	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{IMP-1}	0	2(0.28)	0	0	0	0	0	0	2
<i>bla</i> _{IMP-20}	0	1(0.14)	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{IMP-4}	0	2(0.28)	1(0.27)	0	0	0	0	0	3
<i>bla</i> _{IMP-6}	0	1(0.14)	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{IMP-8}	1(0.13)	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{KPC-12}	1(0.13)	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{KPC-2}	367(46.05)	367(51.98)	218(59.56)	116(50.22)	66(48.89)	30(48.39)	18(47.37)	8(38.10)	1 190
<i>bla</i> _{KPC-23}	0	0	0	0	1(0.74)	0	0	0	1
<i>bla</i> _{KPC-25}	1(0.13)	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{KPC-3}	252(31.62)	156(22.10)	35(9.56)	7(3.03)	25(18.52)	17(27.42)	10(26.32)	2(9.52)	504
<i>bla</i> _{KPC-30}	0	0	0	0	1(0.74)	0	0	0	1
<i>bla</i> _{KPC-35}	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>bla</i> _{KPC-4}	0	2(0.28)	0	0	0	0	0	0	2
<i>bla</i> _{KPC-41}	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>bla</i> _{KPC-56}	0	1(0.14)	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{KPC-6}	0	1(0.14)	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{KPC-8}	2(0.25)	1(0.14)	0	0	0	0	0	0	3
<i>bla</i> _{NDM-1}	79(9.91)	45(6.37)	52(14.21)	72(31.17)	10(7.41)	5(8.06)	4(10.53)	4(19.05)	271
<i>bla</i> _{NDM-4}	0	1(0.14)	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{NDM-5}	5(0.63)	27(3.82)	4(1.09)	8(3.46)	2(1.48)	1(1.61)	0	0	47
<i>bla</i> _{NDM-7}	2(0.25)	1(0.14)	1(0.27)	0	0	0	0	0	4
<i>bla</i> _{NDM-9}	0	1(0.14)	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{OXA-162}	1(0.13)	1(0.14)	0	0	0	0	0	0	2
<i>bla</i> _{OXA-181}	8(1.00)	17(2.41)	10(2.73)	4(1.73)	1(0.74)	1(1.61)	0	1(4.76)	42
<i>bla</i> _{OXA-204}	1(0.13)	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{OXA-232}	26(3.26)	58(8.22)	74(20.22)	84(36.36)	0	0	3(7.89)	2(9.52)	247
<i>bla</i> _{OXA-244}	2(0.25)	0	0	0	0	2(3.23)	0	0	4
<i>bla</i> _{OXA-245}	1(0.13)	0	0	0	1(0.74)	0	0	0	2
<i>bla</i> _{OXA-48}	62(7.78)	49(6.94)	15(4.10)	7(3.03)	28(20.74)	6(9.68)	3(7.89)	4(19.05)	174
<i>bla</i> _{VIM-1}	4(0.50)	3(0.42)	0	2(0.87)	3(2.22)	0	0	1(4.76)	13
<i>bla</i> _{VIM-19}	0	0	0	2(0.87)	0	0	0	0	2
<i>bla</i> _{VIM-27}	0	0	0	1(0.43)	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{VIM-34}	1(0.13)	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>bla</i> _{VIM-4}	0	0	0	0	1(0.74)	0	0	0	1

表 3 不同标本来源 CRKP 耐药基因、质粒和毒力基因携带情况

Table 3 Drug-resistant genes, plasmids and virulence genes carried by CRKP from different specimen sources

基因组特征	样本来源								H/ χ^2	P
	血 (n = 706)	呼吸道标本 (n = 366)	尿 (n = 797)	粪便 (n = 231)	导管标本 (n = 21)	无菌体液 (n = 62)	伤口脓液 (n = 135)	肺泡灌洗液 (n = 38)		
耐药基因[M(P_{25} , P_{75})]	18(16, 21)	18(15, 20)	18(16, 20)	19(16, 21)	18(17, 22)	18(15, 20)	18(16, 20)	18(16, 21)	13.795	0.055
质粒[M(P_{25} , P_{75})]	4(3, 5)	4(3, 5)	3(3, 4)	5(3, 6)	4(3, 5)	3(2, 5)	3(3, 4)	3(2, 4)	84.880	<0.001
毒力基因[M(P_{25} , P_{75})]	60(58, 69)	61(55, 68)	59(55, 65)	63(61, 69)	59(59, 70)	60(59, 69)	59(55, 64)	63(59, 69)	82.704	<0.001
关键毒力基因[株(%)]										
<i>iutA</i>	82(11.6)	63(17.2)	39(4.9)	31(13.4)	4(19.0)	11(17.7)	12(8.9)	7(18.4)	54.914	<0.001
<i>iucA/iucB</i>	82(11.6)	64(17.5)	39(4.9)	32(13.9)	4(19.0)	11(17.7)	12(8.9)	7(18.4)	56.580	<0.001
<i>iucC/iucD</i>	82(11.6)	64(17.5)	39(4.9)	31(13.4)	4(19.0)	11(17.7)	12(8.9)	7(18.4)	56.146	<0.001
<i>rmpA2</i>	56(7.9)	49(13.4)	32(4.0)	23(10.0)	1(4.8)	7(11.3)	7(5.2)	6(15.8)	39.759	<0.001
<i>iroB/iroC/iroD/iroN</i>	11(1.6)	18(4.9)	12(1.5)	2(0.9)	0(0)	4(6.5)	1(0.7)	1(2.6)	20.535	0.003
<i>rmpA</i>	22(3.1)	22(6.0)	25(3.1)	0(0)	0(0)	4(6.5)	6(4.4)	3(7.9)	24.163	0.001

不同标本来源的 CRKP 菌株 SNPs 数量为 2 924~41 470 ($P = 0.414$), 其中呼吸道分泌物 CRKP 菌株 SNP 变异位点数量最少[7 419(7 017, 24 156)], 粪便标本 CRKP 含有 SNPs 变异位点数量最多[20 148(3 528, 24 233)], 不同样本类型 CRKP 携带 SNPs 的数量见图 2。

对 706 份血标本与 1 650 份非血标本来源的 CRKP 耐药基因、毒力基因和质粒携带数量进行比较, 发现血标本来源 CRKP[60(58, 69)]比其他标本类型 CRKP[60(56, 67)]携带更多毒力基因, 差异有统计学意义($P = 0.004$)。见表 4。

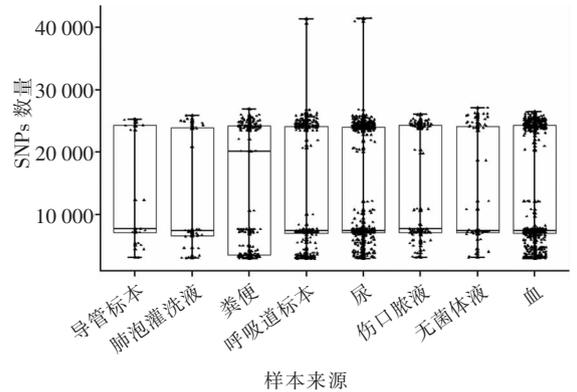


图 2 不同标本类型 CRKP 的 SNPs 数量比较

Figure 2 Comparison of SNPs amount in CRKP from different types of specimens

表 4 血标本与其他标本来源的 CRKP 耐药基因、质粒、毒力基因和 SNPs 携带情况

Table 4 Analysis of drug-resistant genes, plasmids, virulence genes and SNPs carried by CRKP from blood specimens and other specimen sources

基因组特征	标本来源		u/χ^2	P
	血液(n = 706)	其他来源(n = 1 650)		
耐药基因[M(P_{25} , P_{75})]	18(16, 21)	18(16, 20)	556 327.0	0.083
质粒[M(P_{25} , P_{75})]	4(3, 5)	4(3, 5)	570 187.5	0.406
毒力基因[M(P_{25} , P_{75})]	60(58, 69)	60(56, 67)	539 013.5	0.004
SNPs [M(P_{25} , P_{75})]	7 440(7 087, 24 323)	7 568(7 146, 24 123)	581 200.0	0.934
关键毒力基因[株(%)]				
<i>iutA</i>	82(11.6)	167(10.1)	1.167	0.280
<i>iucA/iucB</i>	82(11.6)	169(10.2)	0.978	0.323
<i>iucC/iucD</i>	82(11.6)	168(10.2)	1.070	0.301
<i>rmpA2</i>	56(7.9)	125(7.6)	0.088	0.766
<i>iroB/iroC/iroD/iroN</i>	11(1.6)	38(2.3)	1.347	0.246
<i>rmpA</i>	22(3.1)	60(3.6)	0.398	0.528

3 讨论

国内外 CRKP 的感染情况日益严重,对患者入院治疗和预后影响巨大。以往关于 CRKP 的研究主要为基于局部地区所有标本类型的研究或单一标本来源的研究,如某医院、某区域所有 CRKP 菌株的流行病学特征和基因组研究,以探究其流行、传播和进化机制,但比较不同标本类型 CRKP 差异的相关研究还不充分。

本研究对 2011—2020 年 PATRIC 数据库中所有符合筛选标准的 CRKP 进行分析,发现尿、血和呼吸道标本是临床 CRKP 感染的主要标本类型。与以往研究^[13]相比,血标本 CRKP 在所有 CRKP 中的占比有所提升。美国在 2013—2014 年提交 CRKP 的数量较多,可能与该时间段美国对 KP 的关注突然增加有关。美国和中国分别以 ST258 型(63.66%)和 ST11 型(79.22%)为主要序列类型,与以往研究^[14-15]相同。10 年间,不同碳青霉烯酶类型在各标本来源 CRKP 中的比例发生改变,虽仍以 KPC-2 为主,但其他类型碳青霉烯酶占比增加,提示 CRKP 菌株的耐药基因型向复杂多样化进化。

CRKP 往往携带多种碳青霉烯酶耐药基因,常见 *bla*_{KPC-2} 和 *bla*_{NDM-1},主要流行于 ST11 型 CRKP 菌株;*bla*_{VIM-1}、*bla*_{VIM-2}、*bla*_{OXA-232} 主要流行于 ST23 型 CRKP 菌株^[16]。血标本来源 CRKP 以产碳青霉烯酶为最常见的耐药机制,编码该酶的基因位于细菌质粒或染色体上,通过转座子或结合性质粒等移动元件在菌株与人群之间广泛传播。各个国家分离的菌株产碳青霉烯酶类型各不相同,与既往研究^[17]一致,在美国,产 KPC 酶为 CRKP 最常见耐药机制;OXA-48 和 NDM-1 是埃及癌症患者感染的 CRKP 中最常见的类型^[18]。本组研究显示,分离自泰国的 CRKP 菌株主要携带 NDM-1,质粒介导的 KPC-2 的水平传播是我国临床 CRKP 的主要耐药机制,俄国、西班牙和葡萄牙等欧洲国家的 CRKP 菌株主要携带 OXA-48。许多地区都存在主要流行的碳青霉烯酶类型,提示地理位置和区域管辖对 CRKP 的传播进化影响密切。

血标本来源的 CRKP 在携带质粒和毒力基因(*iutA*、*iucA*、*iucB*、*iucC*、*iucD*、*rmpA*、*rmpA2*、*iroB*、*iroC*、*iroD*、*iroN* 等)方面与其他 7 个标本类型存在差异,血标本中分离的 CRKP 携带更多数量的毒力基因,差异有统计学意义($P = 0.004$),提示血标本

来源 CRKP 感染者的高病死率可能与菌株携带更多毒力基因有关。既往研究也在所有血标本肺炎克雷伯菌中检测到毒力基因,其中 84.13% 的菌株携带高毒力基因^[19],携带 *iutA* 等高毒力基因是血流感染 CRKP 患者死亡的独立危险因素^[20],证实 CRKP 菌株携带毒力基因与患者感染后高病死率有直接关联。

本研究存在一定局限性,首先,由于 PATRIC 公共数据库菌株信息受全球地区不同经济状况及提交数据课题组研究方向偏好等因素影响,菌株基因组信息代表性可能不够强,但该数据库提供了较完善的菌株背景信息,为研究肺炎克雷伯菌的基因组特征提供了较好的资源。其次,现有研究显示菌株基因型和表型之间还存在差异,但由于本研究对象均为 PATRIC 公共数据库的基因组信息,缺乏相关实验研究证实。

本研究通过分析从 PATRIC 公共数据库中收集的不同标本类型的 CRKP 携带毒力基因、耐药基因和质粒数量情况,发现不同标本类型的 CRKP 携带毒力基因和质粒数量差异有统计学意义,血标本 CRKP 相比其他标本来源的 CRKP 携带更多的毒力基因,在一定程度上反映了公共数据库中不同标本来源 CRKP 的分布特征,以及耐药基因、质粒和毒力基因的携带水平,为后续 CRKP 的耐药和毒力相关研究提供参考。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014—2019 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌流行病学变迁[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(2): 175-179.
China Antimicrobial Resistance Surveillance System. Epidemiological change in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: surveillance report from China Antimicrobial Resistance Surveillance in 2014-2019[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(2): 175-179.
- [2] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2020 年 CHINET 中国细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(4): 377-387.
Hu FP, Guo Y, Zhu DM, et al. CHINET surveillance of bacterial resistance: results of 2020[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2021, 21(4): 377-387.
- [3] 姚志宏, 刘真真. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的流行病学、耐药与传播机制研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(12): 1107-1112.

- Yao ZH, Liu ZZ. Advances in epidemiology, drug resistance and transmission mechanism of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2017, 42(12): 1107-1112.
- [4] 詹忠明, 曹敏. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌院内感染患者的耐药特点及其相关危险因素分析[J]. 抗感染药学, 2021, 18(7): 983-986.
- Zhan ZM, Cao M. Characteristics of drug resistance and its associated risk factors in patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* nosocomial infections[J]. Anti-Infection Pharmacy, 2021, 18(7): 983-986.
- [5] 杨修文, 崔俊昌, 赵进, 等. 医院获得性肺炎克雷伯菌血流感染的临床特征及耐药菌株感染的危险因素分析[J]. 解放军医学院学报, 2017, 38(11): 1029-1032, 1054.
- Yang XW, Cui JC, Zhao J, et al. Carbapenem-susceptible versus carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: clinical manifestations and risk factors[J]. Academic Journal of Chinese PLA Medical School, 2017, 38(11): 1029-1032, 1054.
- [6] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014—2019 年血标本病原菌耐药性变迁[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(2): 124-133.
- China Antimicrobial Resistance Surveillance System. Change in antimicrobial resistance of pathogens from blood specimens: surveillance report from China Antimicrobial Resistance Surveillance System in 2014-2019[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(2): 124-133.
- [7] 李媛媛. 五年间血流感染耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药监测及感染、死亡危险因素分析[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2020.
- Li YY. Five-year change of resistance surveillance and risk factors for infection and mortality of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2020.
- [8] Gillespie JJ, Wattam AR, Cammer SA, et al. PATRIC: the comprehensive bacterial bioinformatics resource with a focus on human pathogenic species[J]. Infect Immun, 2011, 79(11): 4286-4298.
- [9] Lam MMC, Wick RR, Watts SC, et al. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 4188.
- [10] Jia BF, Raphenya AR, Alcock B, et al. CARD 2017: expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D566-D573.
- [11] Chen LH, Zheng DD, Liu B, et al. VFDB 2016: hierarchical and refined dataset for big data analysis - 10 years on[J]. Nucleic Acids Res, 2016, 44(D1): D694-D697.
- [12] Carattoli A, Zankari E, García-Fernández A, et al. In silico detection and typing of plasmids using PlasmidFinder and plasmid multilocus sequence typing[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(7): 3895-3903.
- [13] 李雪娇, 马炜, 郭杰, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的流行病学特征及分子生物学研究[J]. 第二军医大学学报, 2020, 41(10): 1109-1114.
- Li XJ, Ma W, Guo J, et al. Epidemiological characteristics and molecular biology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2020, 41(10): 1109-1114.
- [14] Chen L, Mathema B, Pitout JDD, et al. Epidemic *Klebsiella pneumoniae* ST258 is a hybrid strain[J]. mBio, 2014, 5(3): e01355-14.
- [15] Dong N, Zhang R, Liu LZ, et al. Genome analysis of clinical multilocus sequence type 11 *Klebsiella pneumoniae* from China[J]. Microb Genom, 2018, 4(2): e000149.
- [16] 郑茂, 邹玉, 刘晓, 等. 耐碳青霉烯类高毒力肺炎克雷伯菌的研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(1): 105-110.
- Zheng M, Zou Y, Liu X, et al. Research advances in carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2021, 21(1): 105-110.
- [17] Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, et al. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(8): 3365-3370.
- [18] ElMahallawy HA, Zafer MM, Amin MA, et al. Spread of carbapenem resistant Enterobacteriaceae at tertiary care cancer hospital in Egypt[J]. Infect Dis (Lond), 2018, 50(7): 560-564.
- [19] 鞠启文, 王运中, 陶云珍, 等. 儿童血流感染肺炎克雷伯菌毒力与耐药基因分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(21): 3337-3341.
- Ju QW, Wang YZ, Tao YZ, et al. Virulence and drug resistance genes in *Klebsiella pneumoniae* isolated from children with bloodstream infection[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2021, 31(21): 3337-3341.
- [20] Wu XB, Shi QY, Shen SM, et al. Clinical and bacterial characteristics of *Klebsiella pneumoniae* affecting 30-day mortality in patients with bloodstream infection[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 688989.

(本文编辑: 翟若南、左双燕)

本文引用格式:张娜, 孟标, 金美玲, 等. 基于 PATRIC 公共数据库不同标本来源的耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌基因组特征比较[J]. 中国感染控制杂志, 2023, 22(1): 14-22. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233133.

Cite this article as: ZHANG Na, MENG Biao, JIN Mei-ling, et al. Genomic characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from different specimen sources based on PATRIC public database[J]. Chin J Infect Control, 2023, 22(1): 14-22. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233133.