DOI:10.12138/j.issn.1671－9638.20263370

·论著·

基于全基因组测序的尿路感染耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌耐药机制及分子特征研究

冯小倩[1,2],万　娟[1,2],李小菊[3],郝洋洋[1],刘　蓬[1],陶智博[1],郭泳芩[1],刘　洋[1],魏丹丹[1]
(1. 南昌大学第一附属医院检验中心,江西 南昌　330052;2. 南昌大学公共卫生学院,江西 南昌　330006;3. 樟树市人民医院,江西 宜春　331200)

[摘　要] **目的**　分析尿液来源的耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌(CRE)的耐药机制及分子流行病学特征,为尿路 CRE 感染的防控与治疗提供科学依据。**方法**　收集 2021—2024 年南昌大学第一附属医院尿标本分离的 97 株 CRE 菌株,使用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统进行药敏分析。采用全基因组测序技术分析其耐药基因、质粒类型及分子流行病学特征。**结果**　纳入测序的 97 株 CRE 以肺炎克雷伯菌(75 株,77.32%)为主,其次为大肠埃希菌(9 株,9.28%)和阴沟肠杆菌(9 株,9.28%);菌株主要来自康复医学科(37 株,38.15%)。药敏试验显示,CRE 对大多数常用抗菌药物的耐药率>90%。92.78%(90/97)的 CRE 菌株携带碳青霉烯酶基因,仅检出 bla_{KPC} 和 bla_{NDM} 两种基因型,且以 bla_{KPC-2} 和 bla_{NDM-5} 亚型为主。CRE 携带的质粒类型呈现高度多样性,质粒复制子数量为 1～11 个,94.85%的菌株携带 3 种及以上质粒复制子,以 IncFII、IncR 和 IncHI1B 最为常见;多位点序列分型(MLST)结果显示,ST11-KL64 型和 ST11-KL25 型是 CRKP 的主要优势克隆,而耐碳青霉烯类大肠埃希菌和耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌呈现明显的克隆多样性。**结论**　该地区导致尿路感染的 CRE 耐药形势严峻,主要携带 bla_{KPC-2} 和 bla_{NDM-5} 型基因,且质粒类型呈现高度多样性。此外,ST11-KL64 型和 ST11-KL25 型是 CRKP 菌的主要优势克隆,而其他 CRE 则表现出显著的克隆多样性,应加强监测与防控。

[关　键　词] 肠杆菌目细菌;耐药机制;分子流行病学;全基因组测序;尿路感染
[中图分类号] R181.3+2

Resistance mechanisms and molecular characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacterales* in urinary tract infection: a study based on whole-genome sequencing

FENG Xiaoqian[1,2], *WAN Juan*[1,2], *LI Xiaoju*[3], *HAO Yangyang*[1], *LIU Peng*[1], *TAO Zhibo*[1], *GUO Yongcen*[1], *LIU Yang*[1], *WEI Dandan*[1] (1. *Center for Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang* 330052, *China*; 2. *School of Public Health, Nanchang University, Nanchang* 330006, *China*; 3. *Zhangshu People's Hospital, Yichun* 331200, *China*)

[**Abstract**] **Objective**　To analyze the resistance mechanisms and molecular epidemiological characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) from urine, and to provide scientific basis for the prevention, control, and treatment of CRE-associated urinary tract infection. **Methods**　A total of 97 CRE strains isolated from urine specimens from the First Affiliated Hospital of Nanchang University from 2021 to 2024 were collected, and antimicrobial susceptibility testing was performed with VITEK 2 Compact automatic microbial identification and antimicrobial susceptibility analysis system. The resistance genes, plasmid types, and molecular epidemiological characteristics of strains were analyzed by whole-genome sequencing technique. **Results**　Among the sequenced 97 CRE strains, *Klebsiella pneumoniae* (n = 75, 77.32%) was predominant, followed by *Escherichia coli* (n = 9, 9.28%) and *Enterobacter cloacae* (n = 9, 9.28%). Most strains were mainly from the department of rehabilitation medicine

[收稿日期]　2025－12－30
[基金项目]　国家自然科学基金地区基金项目(82260403)
[作者简介]　冯小倩(2001－),女(汉族),湖南省永州市人,技师,主要从事耐药菌传播机制和医院感染控制研究。
[通信作者]　魏丹丹　　E-mail:ndyfy04751@ncu.edu.cn

(n = 37, 38.15%). Antimicrobial susceptibility testing revealed that the resistance rate of CRE to most commonly used antimicrobial agents exceeded 90%; 92.78% (90/97) of CRE carried carbapenemase genes, with only two genotypes (bla_{KPC} and bla_{NDM}) being detected, primarily the bla_{KPC-2} and bla_{NDM-5} subtypes. The plasmid types carried by CRE exhibited high diversity, with the number of plasmid replicons ranging from 1 to 11. 94.85% of the strains harbored three or more plasmid replicons, with IncFII, IncR, and IncHI1B being the most prevalent. Multilocus sequence typing (MLST) results showed that ST11-KL64 and ST11-KL25 were the predominant clones of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP), while carbapenem-resistant *Escherichia coli* (CREC) and carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* (CRECL) exhibited significant clonal diversity. **Conclusion** CRE resistance in urinary tract infection in this region is severe, with CRE mainly carrying bla_{KPC-2} and bla_{NDM-5} genes, with highly diverse plasmid types. In addition, the ST11-KL64 and ST11-KL25 types are the dominant clones of CRKP, while other CREs exhibit significant clonal diversity, monitoring and prevention should be enhanced.

[**Key words**] *Enterobacterales*; antimicrobial resistance mechanism; molecular epidemiology; whole-genome sequencing; urinary tract infection

尿路感染是临床上仅次于呼吸道感染的第二大感染性疾病，具有显著的各年龄阶段发病特征，从新生儿期至老年期均可发病[1-2]。抗菌药物是治疗尿路感染最常见且最有效的方法。近年来，随着碳青霉烯类抗生素的过度使用，耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌（carbapenem-resistant *Enterobacterales*, CRE）引发的尿路感染，使临床治疗面临抗菌药物选择受限、疗程延长及医疗成本增加等一系列挑战[3]。中国细菌耐药监测网（CHINET）数据[4]显示，CRE 菌株的检出率逐年攀升，其中尿路感染来源的 CRE 分离株检出率位列第三，凸显了其严峻的流行病学负担。研究[5-6]表明，不同地区的 CRE 菌种类型、耐药性及耐药基因特征存在显著差异。因此，深入探究尿路感染 CRE 的耐药机制及分子流行病学特征，对于制定本地区精准的 CRE 感染诊疗策略至关重要。

全基因组测序（whole-genome sequencing, WGS）技术能够获取全面的基因组信息，有助于识别微生物的种群结构、遗传多样性以及特定功能基因（如耐药基因），并能够追溯菌株间的进化与克隆关系。随着测序技术的不断进步，其成本也显著降低，测序技术逐渐成为一种经济且实用的微生物学研究工具[7]。本研究旨在利用 WGS 技术，系统分析尿路感染中 CRE 的耐药基因谱、质粒特征及克隆传播模式，为尿路 CRE 感染的防控与治疗提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 *研究对象* 2021 年 1 月—2024 年 12 月南昌大学第一附属医院象湖院区送检的尿标本，根据纳入、排除标准共 97 株 CRE 纳入分析，同一患者剔除重复菌株。纳入标准：(1)尿标本均为清洁中段晨尿，细菌定量培养菌落计数≥10^5 CFU/mL，且尿沉渣镜检白细胞数≥5/HP，患者伴有尿路感染相关临床症状；(2)采用 WHONET 5.6 软件对研究周期内 CRE 菌株分布进行分析，结果显示肺炎克雷伯菌占比为 85.33%(128/150)，因全基因组测序成本较高，为兼顾实验可行性和样本代表性，本研究采用差异化抽样策略，随机抽取 75 株肺炎克雷伯菌纳入研究，其余 22 株少见 CRE 菌种则全部纳入。CRE 定义为满足以下任意一个条件：对亚胺培南、美罗培南、厄他培南任何一种碳青霉烯类药物耐药的细菌；天然对亚胺培南敏感性降低的细菌（如摩根菌属、变形杆菌属和普罗威登菌属等），则参考除亚胺培南外的其他碳青霉烯类抗生素的药敏试验结果[5]。本研究通过了南昌大学第一附属医院伦理委员会审查（审查意见号：IIT[2025]临伦审第 369 号）。

1.2 *研究方法*

1.2.1 *菌株鉴定* 所有菌株经常规分离、纯化培养后，采用法国梅里埃公司 VITEK MS 全自动微生物质谱仪鉴定至菌种水平。将菌株置于甘油肉汤中，于 −80℃保存。

1.2.2 *药敏试验* 采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统及配套的 AST-GN13 和 AST-GN335 药敏卡进行药敏分析。鉴于本地区多重耐药肺炎克雷伯菌检出率较高，肺炎克雷伯菌临床分离株选用 AST-GN335 药敏卡，其他肠杆菌目细菌则选用 AST-GN13 药敏卡。对于肠杆菌目菌株（肺炎克雷伯菌除外），黏菌素药敏采用肉汤稀释法检测，美罗培南药敏采用纸片扩散法检测。严格按标准操作规程执行。药敏结果的敏感、中介、耐药判读参照最新版美国临床实验室标准化协会（CLSI）M100 文件折点标准。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853 和肺炎克雷伯菌 ATCC 700603，均购自原卫生部临床检验中心，由本实验室保存。

1.2.3　WGS　使用 QIAamp DNA Mini Kit（Qiagen，货号 51304）提取细菌基因组 DNA，随后将样本委托上海源序生物科技有限公司进行测序。测序在华大智造 MGISEQ-T7 平台上进行，采用双端测序策略（PE150），平均测序深度超过 100×。原始数据通过 Trimmomatic[8]（v0.39）去除接头和低质量碱基后，使用 velvet（v1.2.10）组装获得基因组序列。该软件在处理本研究中的细菌数据时，生成的 contig 数量少于 SPAdes 等工具，且可通过参数调整优化组装效果。基因组序列通过 prodigal（v2.6.3）进行基因预测。

1.2.4　生物信息学分析　将测序数据与 CARD[9] 数据库（https://card.mcmaster.ca/，版本 2024 年 7 月）进行比对，以获取耐药基因信息。使用 PlasmidFinder（https://cge.food.dtu.dk/services/PlasmidFinder/）确定菌株的质粒复制子类型，设定阈值如下：一致性＞95%且覆盖度＞60%。多位点序列分型（MLST）通过 PubMLST 数据库（https://pubmlst.org/）进行。肺炎克雷伯菌的 MLST、血清型和耐药基因采用 Kleborate（v2.4.1，https://github.com/katholt/Kleborate/）进行分析确定。大肠埃希菌的血清型采用 ecotyper[10]（v2.0.0，https://github.com/phac-nml/ecoli_serotyping）进行分析。基于最大似然法（maximum likelihood，ML）和 Jukes-Cantor 核苷酸替代模型，采用 MEGA 软件（5.0 版本）构建系统发育树。为评估分支可靠性，进行 1 000 次 bootstrap 重复计算，最终生成的最优最大似然树 经可视化调整后，展示各分支支持率及尺度标尺。本研究中产生的全基因组测序拼装结果和原始数据已保存于 NCBI 数据库，其中拼装好的基因组数据的 BioProject 登录号为 PRJNA1320826、PRJNA1318881。

1.3　统计学分析　药敏试验数据应用 WHONET 5.6 软件进行分析，分类变量均以频数和百分比（%）进行描述。

2　结果

2.1　CRE 菌种检出情况及科室分布　纳入测序的 97 株 CRE 菌株，以肺炎克雷伯菌为主（75 株，占 77.32%），其次为大肠埃希菌和阴沟肠杆菌（各 9 株，各占 9.28%）、产气克雷伯菌（2 株，2.06%）、弗氏柠檬酸杆菌和奇异变形杆菌（各 1 株，各占 1.03%）。主要来源于康复医学科（38.15%），其次为重症医学科（13.40%）、泌尿外科（12.37%）、神经外科（10.31%）、其他科室（25 株，25.77%）。见表 1。

表 1　97 株 CRE 菌株的科室分布

Table 1　Departmental distribution of 97 CRE strains

科室	株数	构成比（%）	科室	株数	构成比（%）
康复医学科	37	38.15	肿瘤科	2	2.06
重症医学科	13	13.40	妇产科	1	1.03
泌尿外科	12	12.37	骨科	1	1.03
神经外科	10	10.31	呼吸科	1	1.03
急诊科	5	5.16	全科医学科	1	1.03
风湿免疫科	4	4.13	神经内科	1	1.03
普通外科	3	3.09	血液科	1	1.03
肾内科	3	3.09	合计	97	100
感染科	2	2.06			

2.2　CRE 药敏情况　97 株 CRE 菌株对 12 种常用抗菌药物呈现出多重耐药。对 β-内酰胺类和喹诺酮类抗生素耐药率最高（耐药率均＞90%），对氨基糖苷类抗生素阿米卡星、妥布霉素的耐药率分别为 75.26%、87.63%。见表 2。

2.3　CRE 耐药基因携带情况和质粒类型　92.78%（90/97）的 CRE 携带碳青霉烯酶基因，且均为单一携带，仅检出 bla_{KPC} 和 bla_{NDM} 两种基因型，未检出 bla_{IMP}、bla_{VIM} 和 bla_{OXA-48} 等其他基因型。亚型分析结果显示，以 bla_{KPC-2}、bla_{NDM-5} 和 bla_{NDM-1} 为主，提示该地区 CRE 菌株的碳青霉烯酶基因型别相对集中，以 bla_{KPC} 和 bla_{NDM} 型为主导。不同菌种间碳青霉烯酶基因型分布存在差异，其中肺炎克雷伯菌以 bla_{KPC-2} 型为主（71/75，94.67%），另检出 bla_{KPC-58} 及 bla_{NDM-5} 各 1 株；大肠埃希菌仅携带 bla_{NDM-5}（8/9，88.89%）；阴沟肠杆菌中 bla_{NDM-1} 与 bla_{NDM-5} 的检出率分别为 55.56%（5/9）和 33.33%（3/9）；另有 1 株弗氏柠檬酸杆菌携带 bla_{NDM-1}。

表 2 97 株 CRE 菌株对常用抗菌药物的耐药情况

Table 2 Resistance of 97 CRE strains to commonly used antimicrobial agents

抗菌药物	肺炎克雷伯菌(n = 75)		阴沟肠杆菌(n = 9)		大肠埃希菌(n = 9)		所有 CRE 菌株(n = 97)	
	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)
哌拉西林/他唑巴坦	75	100	9	100	9	100	97	100
头孢他啶	75	100	9	100	9	100	97	100
头孢曲松	75	100	9	100	9	100	95	97.94
头孢吡肟	75	100	9	100	9	100	96	98.97
氨曲南	74	98.67	5	55.56	8	88.89	90	92.78
亚胺培南	74	98.67	9	100	9	100	96	98.97
美罗培南	75	100	9	100	9	100	97	100
阿米卡星	66	88.00	3	33.33	3	33.33	73	75.26
妥布霉素	70	93.33	8	88.89	4	44.44	85	87.63
环丙沙星	75	100	9	100	9	100	96	98.97
左氧氟沙星	75	100	9	100	9	100	96	98.97
黏菌素	5	6.67	0	0	0	0	5	5.15

携带碳青霉烯酶基因的质粒可通过水平基因转移实现菌株间乃至跨医院传播。PlasmidFinder 分析显示,CRE 菌株携带的质粒类型呈现高度多样性,共检出 45 种质粒类型,每株菌携带的质粒复制子数量为 1～11。94.85%(92/97)的 CRE 菌株携带 3 个及以上复制子,其中 IncFII 质粒最为常见(77.32%,75 株),其次是 IncR(71.13%,69 株),IncHI1B、repB 及 ColRNAI 携带率均为 70.10%(68 株)。不同菌种在质粒类型上亦呈现明显偏好,其中肺炎克雷伯菌以 IncFII(97.33%,73 株)、IncHI1B(90.67%,68 株)、repB(90.67%,68 株)、ColRNAI(88.00%,66 株)和 IncR(86.67%,65 株)为主;大肠埃希菌以 IncFIB(77.78%,7 株)、Col(66.67%,6 株)和 IncI1-I(55.56%,5 株)最为常见;阴沟肠杆菌以 Col 和 IncX3 最为常见,均占 66.67%(6 株)。部分菌株的常见耐药基因及质粒携带情况见图 1～3。

2.4 CRE 菌株的克隆多样性及系统发育分析 97 株 CRE 菌株共涵盖 14 种序列型(ST),呈现出显著的物种特异性克隆特征。

2.4.1 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)的克隆结构与传播特征 75 株 CRKP 共检出 2 种 ST 型,以 ST11 为优势克隆(97.33%,73 株),仅 2 株为 ST37 型;共检出 5 种荚膜型(KL),以 KL64(54.67%,41 株)和 KL25(40.00%,30 株)为主;ST11 菌株中,以 ST11-KL64(56.16%,41 株)和 ST11-KL25(39.73%,29 株)为最主要亚型,占全部 CRKP 的 93.33%(70 株)。耐药基因与质粒分析显示,95.89%(70 株)的 ST11 菌株携带 bla_{KPC-2} 基因,且质粒类型与克隆型高度相关。ST11 菌株主要携带 IncFII/IncR 质粒,ST37 菌株则以 IncHI1B/IncFIB 质粒为主,提示质粒与克隆型之间存在协同进化关系。

系统发育树(图 1)表明,75 株 CRKP 整体遗传结构高度聚集,形成两大分支:73 株 ST11 型菌株聚为一个主分支,2 株 ST37 型菌株独立形成遗传距离较远的小分支,提示二者遗传背景存在显著分化。ST11 主分支可进一步划分为 ST11-KL64 与 ST11-KL25 两个亚分支,ST11-KL64 亚分支菌株遗传距离极近,提示其来源于同一祖先克隆的传播扩散;ST11-KL25 亚分支与 ST11-KL64 亚分支存在一定遗传距离,但仍同属 ST11 克隆复合体,提示存在亚克隆分化。结合科室来源与遗传聚类特征,CRE 高危检出科室康复医学科的 CRKP 高度集中于 ST11-KL64 和 ST11-KL25 亚分支,并形成明显聚集簇,为该科室 CRKP 院内克隆传播提供了直接遗传学证据。

2.4.2 耐碳青霉烯类大肠埃希菌(CREC)的遗传多样性与传播模式 9 株 CREC 共检出 8 种 ST 型,未呈现明显的优势克隆。系统发育树(图 2)显示,各菌株遗传距离较远,O 型和 H 型分型亦呈多样化。结合其在临床科室的分散分布特征,提示 CREC 感染以散发病例为主,未发生明显的院内克隆传播。

2.4.3 耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌(CRECL)的克隆结构与传播特征 9 株 CRECL 共检出 4 种 ST 型,其中 ST171 最常见(4 株,44.44%)。系统发育树(图 3)显示,4 株 ST171 菌株聚为一支,遗传关系较近;2 株 ST592 菌株聚为另一支,2 株 ST2493 菌株也聚为一支,而 ST116 菌株为单株独立分支,提示不同 ST 型菌株间存在明显遗传分化。

2.4.4 其他 CRE 菌株的克隆分化特征 在其他 CRE 菌株中,2 株产气克雷伯菌分别为 ST168 型和 ST4 型,弗氏柠檬酸杆菌和奇异变形杆菌各 1 株,则分别为 ST511 型和 ST146 型。

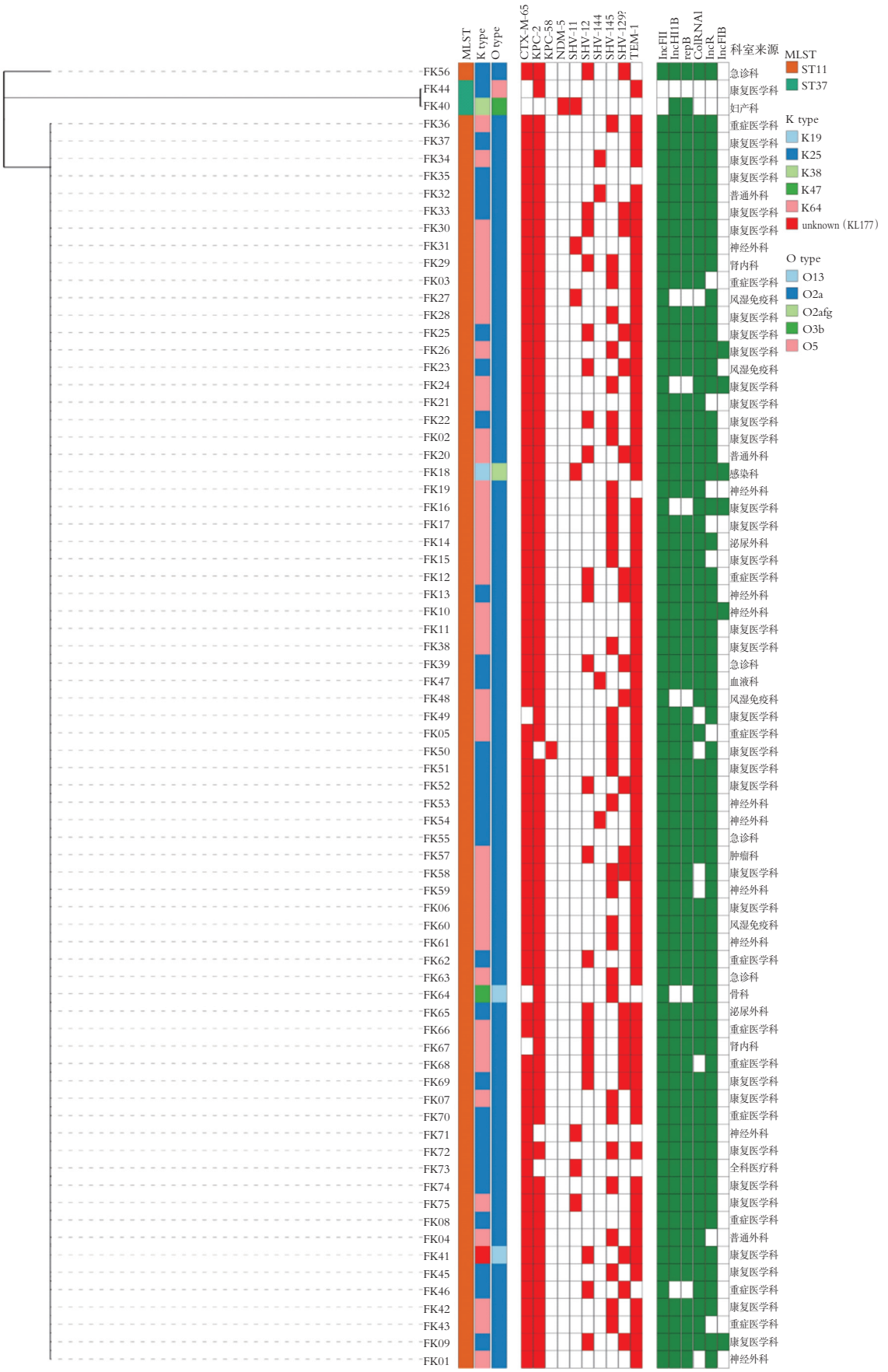

图 1　肺炎克雷伯菌的核心基因组系统发育树

Figure 1　Phylogenetic tree of the core genome of *Klebsiella pneumoniae*

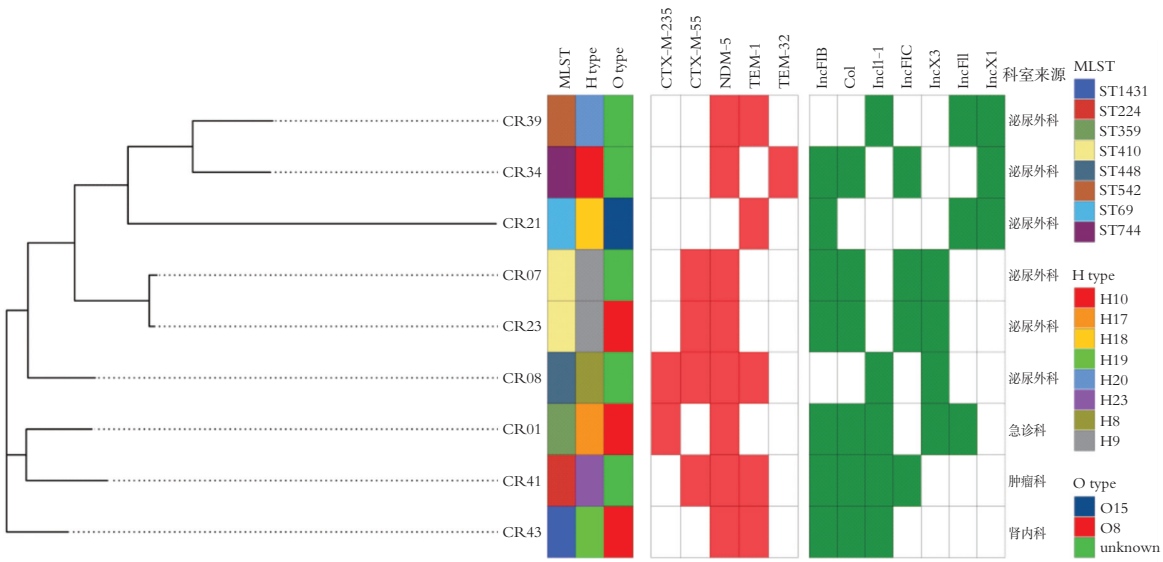

图 2　大肠埃希菌的核心基因组系统发育树

Figure 2　Phylogenetic tree of the core genome of *Escherichia coli*

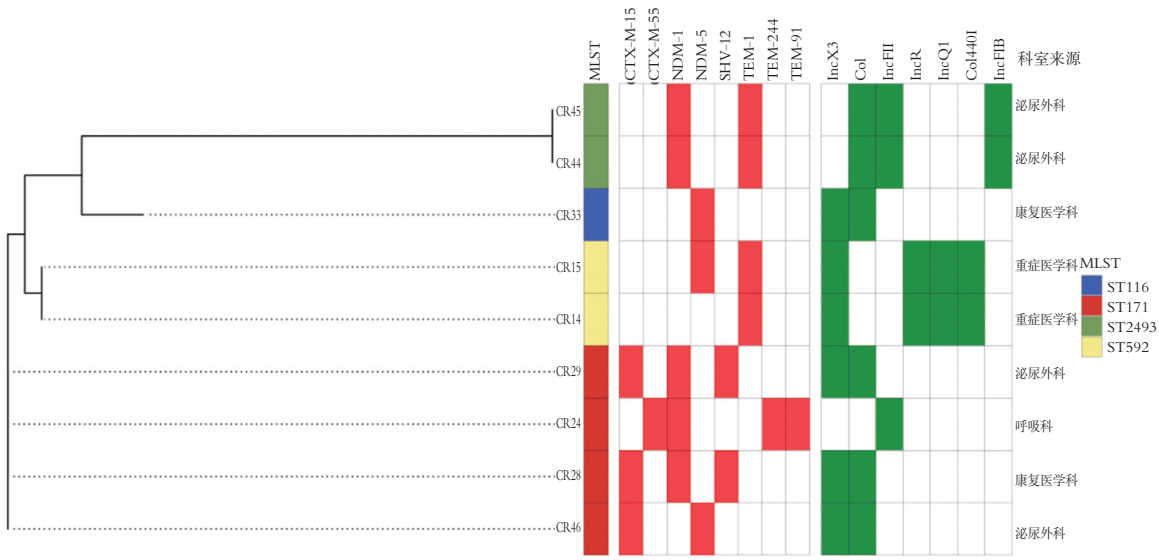

图 3　阴沟肠杆菌的核心基因组系统发育树

Figure 3　Phylogenetic tree of the core genome of *Enterobacter cloacae*

3　讨论

碳青霉烯类抗生素被视作治疗重症患者革兰阴性杆菌感染的最后一道防线。然而，由于这些药物的广泛及不当使用，CRE 已成为一个全球性的健康挑战。在尿路感染中，CRE 的治疗难度显著增加，尤其是在复杂性尿路感染中，后者的伴随症状及高复发率进一步降低了抗菌药物的治疗效果。本研究中，尿路感染 CRE 临床分离株以肺炎克雷伯菌为主，高达 85.33%（128/150），其次为大肠埃希菌和阴沟肠杆菌，与山东地区路秀芳等[6]报道不一致，可能与地域差异有关。事实上，肺炎克雷伯菌在不同类型 CRE 感染中均存在比例优势，这与医院内高选择压力环境（如抗菌药物使用、侵入性操作）及病原体适应性（如生物膜形成、耐药基因传播）密切相关[11]。

此外，本研究中尿路来源的 CRE 菌株主要分离自康复医学科，占比高达 38.15%，与康复医学科患者多处于昏迷状态、长期卧床及留置导尿管等特点

密切相关。此类患者常接受侵入性操作，极易发生导尿管相关尿路感染（CAUTI）。导尿管不仅为 CRE 提供了定植和繁殖的环境，还促进了耐药基因的传播，从而增加了院内传播的风险，进一步加大了临床治疗难度。因此，强化导尿管管理、规范感染防控措施，对于减少 CRE 的传播至关重要。

药敏试验显示，CRE 对大多数常用抗菌药物的耐药率＞90％，呈现多重耐药性，使临床有效抗菌药物的选择极为有限。虽然一线药物黏菌素的肾毒性较高，但其敏感性仍保持在 90％以上，为难治性感染患者带来了生存希望。此外，替加环素一般不推荐用于尿路感染，但在治疗 CRE 引起的复杂性尿路感染以及尿路感染所致全身性脓毒症时，若缺乏更优方案，仍可考虑使用。部分实验室可能不常规报告替加环素在泌尿道分离株中的敏感性，因此，构建规范化、常态化的沟通机制，并在多学科协作的基础上推行个体化诊疗策略，对于优化患者预后至关重要。最新研究[12-13]结果表明，在应对多重耐药菌方面，现有证据强调了抗菌药物管理、精准诊断和创新疗法的重要性，有针对性的个体化联合用药方案是关键措施。噬菌体疗法作为一种具有潜力的替代或辅助治疗手段，近年来也受到广泛关注[14]。

进一步对其耐药基因进行分析发现，92.78％的菌株携带碳青霉烯酶基因，以 bla_{KPC-2} 和 bla_{NDM-5} 为主，其中肺炎克雷伯菌分离株最常见的碳青霉烯酶基因是 bla_{KPC-2}，大肠埃希菌和阴沟肠杆菌分别以 bla_{NDM-1} 和 bla_{NDM-5} 型为主，与 Ma 等[5]报道结果一致。国内 CRKP 主要流行的克隆株 ST11 绝大多数携带 bla_{KPC-2} 基因，在抗菌药物选择压力下，较多 CRKP 菌株的 KPC 基因出现点突变，呈现对多种新型抗菌药物耐药[15-16]。本研究虽未检出新型 KPC 变体，但仍需警惕。bla_{NDM-1} 最早于 2009 年在 1 例印度新德里住院治疗的患者临床标本中发现，截至目前，GenBank 数据库共收录 48 种变体（bla_{NDM-1}～bla_{NDM-48}）。本研究中仅检出 bla_{NDM-5} 和 bla_{NDM-1} 两种变体，前者为大肠埃希菌唯一检出的亚型。中国一项针对 CRE 的研究[17]结果表明，超过 50％的大肠埃希菌和阴沟肠杆菌携带 NDM 基因，且分别以 bla_{NDM-5} 和 bla_{NDM-1} 型为主，本研究结果与此一致。此外，有 7 株菌株未检出碳青霉烯酶基因，可能与非碳青霉烯酶介导的耐药机制有关[18]。质粒可介导耐药基因，并与整合子、转座子等其他遗传元件协同，利用多种机制在细菌中传播，使细菌能够在宿主的恶劣环境中生存，是造成细菌耐药广泛播散的重要原因[19]。如在肺炎克雷伯菌中，bla_{KPC-2} 基因可通过 IncFII、IncN、IncL/M 等多种质粒在菌株间传递[20-21]；携带 bla_{NDM-1} 基因的质粒能够从肺炎克雷伯菌临床菌株中成功转移至大肠埃希菌 EC600[22]。本研究中，CRE 携带的质粒类型呈现高度多样性。94.85％的分离株携带 3 个以上的质粒复制子，IncFII、IncR 和 IncHI1B 是最主要的流行质粒类型。不同 CRE 菌种携带的质粒类型差异明显：肺炎克雷伯菌以 IncFII、IncHI1B、repB、ColRNAI 和 IncR 最为常见，携带率均＞70％；大肠埃希菌则以 IncFIB、Col 和 IncI1-I 最为常见；阴沟肠杆菌以 Col 和 IncX3 最为常见，携带率均＞50％。质粒 IncF 组是最常见的质粒复制子类型，通过其多复制子系统（FIA/FIB/FII）和稳定性，成为抗菌药物耐药性（AMR）基因与毒力因子（包括黏附素、铁载体合成系统）的整合载体平台[23]，也是本研究中检出的一种高频质粒类型。IncR 复制子型质粒携带的耐药基因簇可通过转座子介导的基因移位或同源重组机制，水平转移至可接合性质粒，导致多复制子杂合质粒的形成[24]，已广泛存在于 CRKP 菌株中。Zhang 等[25]研究报道了弗氏柠檬酸杆菌临床株中同时携带 bla_{KPC-2} 与 bla_{NDM-1} 双碳青霉烯酶基因的 IncR 型质粒 pCF2075-1，表明该分离菌株内已出现跨菌种转移现象，需加强防控。

MLST 显示，该地区尿路来源 CRE 菌株由多种主要分子克隆型别构成，其中 ST11 型是本研究 CRKP 的优势克隆型，也是目前国内 CRKP 最主要流行克隆。肺炎克雷伯菌的多种血清型已被报道与毒力相关，且血清型与 ST 分型紧密相关。近年来，ST11-KL64 型逐渐取代 ST11-KL47 型，成为临床主要流行的亚克隆型[15,26]。本研究中，ST11-KL64 型 CRKP 的检出率高达 54.67％（41/75），其次是 ST11-KL25 型，检出率为 38.67％（29/75），二者合计检出率高达 93.33％（70/75）。特别是在 CRE 高检出科室——康复医学科中，高达 93.94％（31/33）的菌株为 ST11-KL64 型和 ST11-KL25 型，表明该地区尿路来源的 CRKP 菌株存在高度的克隆性传播。因此，需加强感染防控措施的有效实施，包括严格的手卫生、环境卫生消毒，以及对高危患者采取更严格的隔离措施，特别是应开展针对高危科室患者的 CRE 主动筛查和环境连续监测。同时，应推动全基因组测序技术在临床微生物诊断中的应用，建立该地区细菌耐药基因监测网络，以便快速识别这些克隆群，并实现区域医疗机构间的信息共享，这对于

有效控制 CRKP 的医院内外传播至关重要。大肠埃希菌在本研究中则呈现明显的克隆多样性。与 CRKP 不同,阴沟肠杆菌的分子流行病学特征在国内存在明显的地域差异[17,27]:广西和湖北地区主要流行 ST78 型克隆,陕西和青海地区主要流行 ST418 型克隆,安徽、河南和河北地区主要流行 ST171 型克隆。本研究中阴沟肠杆菌最常见的是 ST171,与安徽、河南和河北地区报道相似。

综上所述,本地区尿路感染相关的 CRE 耐药形势严峻,主要携带 bla_{KPC-2} 和 bla_{NDM-5} 耐药基因,且质粒类型表现出高度多样性。其中,ST11-KL64 型和 ST11-KL25 型是 CRKP 的主要优势克隆,而 CREC 和 CRECL 则呈现出显著的克隆多样性。因此,亟需加强监测与防控措施。该研究有望为尿路感染 CRE 的抗感染治疗和新药开发提供重要支持,并为我国该类感染的防控策略制定提供有力参考。

此外,本研究存在一定方法学局限性。本研究周期内共分离 150 株尿路感染 CRE 菌株,肺炎克雷伯菌占 85.33%(128 株)。受 WGS 成本限制,本研究采用不均衡抽样策略,随机抽取 75 株肺炎克雷伯菌纳入研究,其余 22 株少见 CRE 菌种则全部纳入。97 株测序样本的菌种分布无法真实反映院内 CRE 流行特征。本研究的菌种构成及耐药结果仅适用于本次研究样本,无法外推至区域 CRE 整体流行情况。

作者贡献声明:冯小倩负责数据处理、论文撰写;万娟负责临床数据收集;李小菊负责论文定稿审核;郝洋洋、刘蓬、陶智博、郭泳芬负责菌株收集与实验菌株的准备工作;刘洋负责研究方案指导与论文修改;魏丹丹负责研究设计、论文审核与投稿管理。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] Huang L, Huang CW, Yan Y, et al. Urinary tract infection etiological profiles and antibiotic resistance patterns varied among different age categories: a retrospective study from a tertiary general hospital during a 12-year period[J]. Front Microbiol, 2022, 12: 813145.

[2] Bhuiya S, Kaushik S, Logheeswaran J, et al. Emergence of recurrent urinary tract infection: dissecting the mechanism of antimicrobial resistance, host-pathogen interaction, and hormonal imbalance[J]. Microb Pathog, 2025, 206: 107698.

[3] Frimodt-Møller N, Bjerrum L. Treating urinary tract infections in the era of antibiotic resistance[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2023, 21(12): 1301-1308.

[4] 吉文翔, 蒋童, 沈继录, 等. 2015—2021 年 CHINET 临床分离肠杆菌目细菌对碳青霉烯类耐药性变迁[J]. 中国感染与化疗杂志, 2025, 25(4): 445-454.
Ji WX, Jiang T, Shen JL, et al. Changing prevalence and antibiotic resistance profiles of carbapenem-resistant *Enterobacterales* in hospitals across China: data from CHINET Antimicrobial Resistance Surveillance Program, 2015-2021[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2025, 25(4): 445-454.

[5] Ma JY, Song XR, Li MC, et al. Global spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy[J]. Microbiol Res, 2023, 266: 127249.

[6] 路秀芳, 康亚丽, 李霞, 等. 尿路感染患者耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌耐药基因特征分析[J]. 中华全科医学, 2024, 22(10): 1684-1686, 1773.
Lu XF, Kang YL, Li X, et al. The gene characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in patients with urinary tract infection[J]. Chinese Journal of General Practice, 2024, 22(10): 1684-1686, 1773.

[7] Brlek P, Bulić L, Bračić M, et al. Implementing whole genome sequencing (WGS) in clinical practice: advantages, challenges, and future perspectives[J]. Cells, 2024, 13(6): 504.

[8] Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for illumina sequence data[J]. Bioinformatics, 2014, 30(15): 2114-2120.

[9] 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.

[10] Bessonov K, Laing C, Robertson J, et al. ECTyper: *in silico Escherichia coli* serotype and species prediction from raw and assembled whole-genome sequence data[J]. Microb Genom, 2021, 7(12): 000728.

[11] Wushouer HSEJ, Li WB, Yu JX, et al. Integrated assessment of antimicrobial stewardship in carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* prevalent hospitals in China: a multidisciplinary surveillance network-based survey[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2025, 14(1): 32.

[12] Guerriero S, Matteini E, Gross MM, et al. Complicated urinary tract infections: an update of new and developing antibiotics[J]. Expert Opin Pharmacother, 2025, 26(2): 167-177.

[13] 茹硕琦, 杨建坤, 滕菲, 等. 耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌感染治疗药物及治疗策略研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2023, 23(4): 518-523.
Ru SQ, Yang JK, Teng F, et al. Latest researches on the antimicrobial agents and treatment strategy for the infections caused by carbapenem-resistant *Enterobacterales*[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2023, 23(4): 518-523.

[14] Larcher R, Dinh A, Monnin B, et al. Phage therapy in patients with urinary tract infections: a systematic review[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2025, 4: 1-12.

[15] 李嘉琛, 陈延莹, 戈艳蕾, 等. 基于全基因组测序的碳青霉烯类抗生素耐药肺炎克雷伯菌传播特征研究[J]. 中华预防医学杂志, 2025, 59(6): 892-900.
Li JC, Chen YY, Ge YL, et al. Study on transmission characteristics and genetic variation of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumonia* based on whole genome sequencing[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2025, 59(6): 892-900.

[16] Tang CK, Shen SQ, Yang WW, et al. Complex evolutionary trajectories *in vivo* of two novel KPC variants conferring ceftazidime-avibactam resistance[J]. Int J Antimicrob Agents, 2024, 64(3): 107265.

[17] Wang Q, Wang XJ, Wang J, et al. Phenotypic and genotypic characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: data from a longitudinal large-scale CRE study in China (2012-2016)[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(Suppl 2): S196-S205.

[18] Goodman KE, Simner PJ, Tamma PD, et al. Infection control implications of heterogeneous resistance mechanisms in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE)[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2016, 14(1): 95-108.

[19] 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 Updat, 2023, 67: 100918.

[20] Jiang JP, Wang LL, Hu YY, et al. Global emergence of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* driven by an IncFIIK34 KPC-2 plasmid[J]. EBioMedicine, 2025, 113: 105627.

[21] Lee M, Choi TJ. Antimicrobial resistance caused by KPC-2 encoded by promiscuous plasmids of the *Klebsiella pneumoniae* ST307 strain[J]. Ann Lab Med, 2021, 41(1): 86-94.

[22] Liu ZY, Wang ZQ, Lu XY, et al. Structural diversity, fitness cost, and stability of a bla_{NDM-1}-bearing cointegrate plasmid in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*[J]. Microorganisms, 2021, 9(12): 2435.

[23] Chen L, Peirano G, Yen K, et al. CRISPR-Cas9-mediated IncF plasmid curing in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*[J]. Microbiol Spectr, 2024, 12(1): e0369223.

[24] Compain F, Frangeul L, Drieux L, et al. Complete nucleotide sequence of two multidrug-resistant IncR plasmids from *Klebsiella pneumoniae*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(7): 4207-4210.

[25] Zhang FL, Li ZY, Liu XM, et al. Carbapenem-resistant *Citrobacter freundii* harboring bla_{KPC-2} and bla_{NDM-1}: a study on their transferability and potential dissemination via generating a transferrable hybrid plasmid mediated by IS 6100[J]. Front Microbiol, 2023, 14: 1239538.

[26] Chen T, Wang Y, Zhou YZ, et al. Recombination drives evolution of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* sequence type 11 KL47 to KL64 in China[J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(1): e0110722.

[27] Yan WJ, Jing N, Wang SM, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* and emergence of tigecycline non-susceptible strains in the Henan province in China: a multicenter study[J]. J Med Microbiol, 2021, 70(3): 001325.

（本文编辑：左双燕）

本文引用格式：冯小倩，万娟，李小菊，等. 基于全基因组测序的尿路感染耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌耐药机制及分子特征研究[J]. 中国感染控制杂志，2026，25(7)：945-953. DOI：10.12138/j.issn.1671-9638.20263370.

Cite this article as: FENG Xiaoqian, WAN Juan, LI Xiaoju, et al. Resistance mechanisms and molecular characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacterales* in urinary tract infection: a study based on whole-genome sequencing[J]. Chin J Infect Control, 2026, 25(7): 945-953. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20263370.