DOI:10.12138/j.issn.1671－9638.20263401

·论著·

医院环境中肺炎克雷伯菌分子特征及高风险抗菌药物耐药基因识别

姚羽青[1]，王　琰[2]，钱子煜[3]，蒋露芳[4]

[1. 上海市徐汇区疾病预防控制中心(上海市徐汇区卫生健康监督所)急性传染病管理科，上海　200237；2. 上海市徐汇区疾病预防控制中心(上海市徐汇区卫生健康监督所)消毒科，上海　200237；3. 上海市徐汇区疾病预防控制中心(上海市徐汇区卫生健康监督所)应急办，上海　200237；4. 复旦大学公共卫生学院，上海　200032]

[**摘　要**] **目的**　分析医院环境来源肺炎克雷伯菌(KP)的高风险分子特征，识别具有潜在传播风险的高风险耐药基因及其相关遗传结构。**方法**　收集 2023—2025 年上海市 2 所医院环境来源 KP 20 株和临床来源 KP 112 株，进行全基因组测序、多位点序列分型(MLST)、系统发育及耐药、毒力基因分析，并结合可移动遗传元件(MGEs)关联证据筛选高风险抗菌药物耐药基因(ARGs)，分析其局部遗传结构。**结果**　132 株 KP 共分为 18 种序列分型(ST)，ST11 为优势型别，占 53.79%(71 株)。医院环境菌株未形成独立系统发育分支，而是散在分布于以临床菌株为主的分支中。医院环境菌株中高毒力相关核心基因阳性率为 40.00%，耐药与高毒力相关特征共存比率为 25.00%。识别出 bla_{KPC}、$bla_{CTX\text{-}M}$、*rmt*B 和 bla_{NDM} 4 类核心高风险 ARGs；其与 MGEs 存在不同程度关联，其中 bla_{KPC} 和 *rmt*B 在部分环境菌株中呈现相对重复的局部结构模式。**结论**　医院环境来源 KP 呈现一定高风险分子特征，部分高风险 ARGs 与 MGEs 存在关联，提示相关耐药基因可能具有潜在水平转移及进一步播散风险。

[**关　键　词**] 肺炎克雷伯菌；医院环境；分子流行特征；高风险耐药基因；可移动遗传元件

[**中图分类号**] R181.3+2　R378.9+9

Molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* in hospital environments and identification of high-risk antimicrobial resistance genes

YAO Yuqing[1], *WANG Yan*[2], *QIAN Ziyu*[3], *JIANG Lufang*[4] (1. *Department of Acute Infectious Disease Management, Shanghai Xuhui District Center for Disease Control and Prevention [Shanghai Xuhui Health Inspection Agency], Shanghai* 200237, *China*; 2. *Disinfection Department, Shanghai Xuhui District Center for Disease Control and Prevention [Shanghai Xuhui Health Inspection Agency], Shanghai* 200237, *China*; 3. *Emergency Management Office, Shanghai Xuhui District Center for Disease Control and Prevention [Shanghai Xuhui Health Inspection Agency], Shanghai* 200237, *China*; 4. *School of Public Health, Fudan University, Shanghai* 200032, *China*)

[**Abstract**] **Objective**　To investigate the high-risk molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* (KP) isolates from hospital environments, and to identify high-risk antimicrobial resistance genes (ARGs) with potential transmission risks along with their associated genetic structures. **Methods**　A total of 20 environmental KP isolates and 112 clinical KP isolates were collected from two hospitals in Shanghai between 2023 and 2025. Whole genome sequencing (WGS), multilocus sequence typing (MLST), phylogenetic analysis, and analyses of antimicrobial resistance and virulence genes were performed. High-risk ARGs were screened based on evidence of their associations with mobile genetic elements (MGEs), and their local genetic structures were further analyzed. **Results**　The 132

[收稿日期]　2026－05－13

[基金项目]　上海市公共卫生研究专项(2024GKQ15)

[作者简介]　姚羽青(1995－)，女(汉族)，江苏省苏州市人，主管医生，主要从事传染病防控和消毒感染防控工作。

[通信作者]　蒋露芳　E-mail：jianglufang@fudan.edu.cn；钱子煜　E-mail：hitachiqzy@hotmail.com

KP isolates were classified into 18 sequence types (STs), with ST11 being predominant, accounting for 53.79% (71 isolates). The environmental isolates did not form an independent phylogenetic clade, but were scattered across clades predominantly composing clinical isolates. The positivity rate of core hypervirulence-associated genes among environmental isolates was 40.00%, and the co-occurrence rate of antimicrobial resistance and hypervirulence-associated characteristics was 25.00%. Four major high-risk ARGs groups were identified: bla_{KPC}, bla_{CTX-M}, *rmt*B, and bla_{NDM}. These ARGs showed varying degrees of association with MGEs, and bla_{KPC} and *rmt*B exhibited relatively recurrent local genetic structural patterns in some environmental isolates. **Conclusion** KP isolates from the hospital environment exhibited certain high-risk molecular characteristics. Some high-risk ARGs were associated with MGEs, suggesting the potential for horizontal transfer and further dissemination of these resistance genes.

[**Key words**] *Klebsiella pneumoniae*; hospital environment; molecular epidemiological characteristics; high-risk ARGs; MGEs

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是引起医院感染的重要病原菌之一,其中耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)传播风险高,治疗选择有限,已成为医院感染控制的重点对象[1-4]。KP 除经患者及医务人员传播外,医院环境中的高频接触物品表面、水槽及排水系统等也可能作为 KP 传播的中间环节或环境储存库,参与医院内传播[5-8]。近年来,针对 KP 的研究主要集中于临床分离株,重点关注其高危克隆传播、关键耐药基因分布,以及耐药与高毒力相关特征共存等问题[9-15]。相比之下,医院环境来源 KP 在克隆背景、系统发育关系、耐药与毒力基因构成、耐药基因相关可移动遗传元件(mobile genetic elements, MGEs)背景等方面的分子流行特征,以及其与临床流行株之间的关系仍缺乏系统分析。环境菌株高风险抗菌药物耐药基因(antibiotic resistance genes, ARGs)的分布特征,及其与 MGEs 的关联也认识不足[11,13,16-19]。本研究以医院环境来源 KP 为主要研究对象,并结合临床来源菌株进行比较,分析其高风险分子特征,识别环境中高风险 ARGs 及其潜在传播线索,以期为医院环境耐药风险监测和医院感染控制提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 根据上海市耐药菌哨点监测方案,选取上海市 2 所医院作为监测点医院,其中二级和三级综合医院各 1 所。收集 2023—2025 年 2 所医院分离的 KP,共 132 株,其中环境来源菌株 20 株,为本研究主要分析对象;临床来源菌株 112 株,作为参照。环境菌株来源于重症监护病房(ICU)和老年科的环境监测分离株。每季度监测一次,重点采集患者高频接触物品、诊疗设备及共用设施,同一具体点位可在不同季度重复采样。环境菌株经复苏、纯化后再次进行菌种鉴定;临床菌株来源于同期患者临床标本分离株,且未重复纳入同一患者来源的菌株。收集并整理菌株来源、采集年份、医院等级及科室等基本信息。纳入标准为物种鉴定明确且测序、组装质量合格的 KP 菌株,排除测序或组装质量不合格及关键信息缺失的菌株。

1.2 DNA 提取、全基因组测序及组装 采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(QIAGEN,上海)提取菌株 DNA,按说明书操作。全基因组测序由金唯智(GENEWIZ)基因组学中心完成,测序平台为 Illumina HiSeq,双端测序读长为 2×150 bp,每株测序数据量≥2 Gb,目标平均覆盖深度≥100×。原始测序数据采用 CLC Genomics Workbench 25.0.2 进行质量控制,去除低质量序列及接头污染后进行组装。质控后的 reads 采用 BWA(v0.7.12)比对至组装基因组,并使用 SAMtools(v1.9)统计平均覆盖深度。组装质量依据 contig 数、总长度、平均长度及 GC 含量进行评价,将总长度控制在 5.0~6.5 Mb、contig 数<500 者纳入后续分析。后续耐药基因、毒力基因及相关遗传结构分析均基于组装后的 contig 序列开展。本研究中菌株的测序数据已提交至 NCBI,原始测序数据存储于 Sequence Read Archive(SRA),组装基因组存储于 GenBank,项目登录号为 BioProject PRJNA1517167。

1.3 耐药基因、毒力基因及序列分型分析 采用(Comprehensive Antibiotic Resistance Database, CARD)数据库(版本号:v3.2.7)及其抗生素耐药本体(antibiotic resistance ontology, ARO)对耐药基因进行同源性比对,并进一步归类相应耐药机制和药物类别[20-24]。毒力基因识别基于(Virulence Factor Database, VFDB)数据库(访问日期:2026 年 3 月 7 日),按毒力因子功能类别进行汇总分

析[25]。以 E-value＜1×10^{-5}、序列一致性(identity)≥95%、比对覆盖度(coverage)≥80%作为阳性命中标准,同一位点出现多重命中结果时,优先保留序列一致性和比对覆盖度较高的为最终注释结果。耐药基因种类数以基因名称为去重单位,同一耐药基因在不同菌株或不同 contig 中重复检出时仅计为 1 种。根据注释结果整理耐药基因和毒力基因名称、功能分类及 contig 定位信息。对全部菌株进行多位点序列分型(MLST),采用 KP 标准 7 个管家基因判定 ST 型,未能匹配既有等位基因组合者定义为未分型。在此基础上,结合毒力基因注释结果,统计高毒力相关核心基因携带情况;将同时携带 *iuc* 及 *rmp*A 和/或 *rmp*A2 的菌株判定为高毒力相关核心基因阳性菌株。进一步结合耐药基因和毒力基因识别结果,将同时携带关键耐药基因和高毒力相关核心基因的菌株判定为存在耐药与高毒力相关特征共存[26-30]。

1.4 *系统发育分析* 将 KP HS11286 作为参考基因组,对各菌株进行参考比对并识别高质量单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点。使用 Snippy 生成单株比对结果,采用 snippy-core 整合生成核心基因组比对文件。基于核心基因组比对文件(core. full. aln),采用 IQ-TREE (v3. 0. 1)以最大似然法构建系统发育树,利用 GTR + F + G4 模型,并采用 Ultrafast bootstrap 进行 1 000 次重复评估节点支持度。系统发育树在 iTOL 中进行可视化,并挂载菌株来源和 ST 分型等注释信息[9,11-13,31-32],以分析环境来源与临床来源 KP 之间的系统发育聚类关系。

1.5 *高风险 ARGs 筛选策略* 本研究中高风险 ARGs 的筛选,不仅依据基因检出频率,还综合考虑临床重要性,在环境与临床来源菌株中的分布情况,以及与 MGEs 相关的分子证据,从而评估其潜在传播风险[33-36]。初筛阶段重点纳入 3 类耐药基因:①碳青霉烯酶相关基因,包括 bla_{KPC}、bla_{NDM}、$bla_{\text{OXA-48-like}}$、bla_{IMP} 和 bla_{VIM};②具有代表性的可移动超广谱 β-内酰胺酶编码基因和高水平氨基糖苷类耐药基因,包括 $bla_{\text{CTX-M}}$ 家族及 *arm*A/*rmt* 家族;③必要时纳入与后线治疗药物相关、具有明确临床意义的耐药基因[33,35,37]。在候选基因初筛基础上,进一步结合其在环境来源与临床来源菌株中的共同检出情况、涉及菌株数量及 ST 分布广度,以及与质粒复制子、整合子、插入序列(insertion sequence, IS)等 MGEs 的关联证据,识别纳入核心分析的高风险 ARGs。

1.6 *MGEs 分析* 为评估候选高风险 ARGs 的潜在传播相关背景,进一步分析其与 MGEs 的关联特征。质粒复制子采用 PlasmidFinder 进行识别,用于描述菌株的质粒载体背景;整合子采用 IntegronFinder2 进行识别,用于检出整合酶、attC 位点及基因盒结构;IS 采用 ISEScan 进行识别,必要时结合 MobileElementFinder 补充描述其他移动元件相关信息[19,38-41]。本研究从两个层面评价候选高风险 ARGs 与 MGEs 的关联:一是同株水平的同时检出,用于提示高风险 ARGs 与 MGEs 可能存在共同载体背景;二是同一 contig 水平的共定位,用于提示 ARGs 与 MGEs 之间更直接的结构关联。其中,同一 contig 共定位可提示候选高风险 ARGs 具备潜在移动相关背景。

1.7 *核心高风险 ARGs 局部结构分析* 在候选高风险 ARGs 筛选基础上,进一步对进入核心分析的目标基因开展局部结构分析。提取目标基因所在 contig,并整合该 contig 上的耐药基因、毒力基因、质粒复制子及其他可移动元件注释结果,分析目标基因与相关 MGEs 的相对位置关系及其局部排列模式。局部结构分析对象优先选择检出频率较高、环境与临床来源中均有分布,且具有较明确 MGEs 关联证据的基因。重点比较不同菌株中目标 ARGs 与质粒复制子、整合子相关结构、IS 和转座相关元件的共定位情况,并观察不同来源菌株间是否存在相似局部模块结构,以评估其潜在传播相关特征。

1.8 *统计学分析* 统计分析应用 R 4.5.1 软件完成。分类变量采用 χ^2 检验或 *Fisher* 确切概率法进行比较,连续变量采用 *Wilcoxon* 秩和检验。所有检验均为双侧检验,以 $P\leqslant0.05$ 为差异有统计学意义;对涉及多重比较的分析,采用 *Benjamini-Hochberg* 法进行错误发现率(false discovery rate, FDR)校正。

2 结果

2.1 *KP 来源及 ST 分型* 共纳入 KP 菌株 132 株,其中环境来源 20 株,临床来源 112 株。按年份分布,2023、2024 和 2025 年分别纳入 30、54、48 株;按医院等级分布,二级医院 117 株(88.64%),三级医院 15 株(11.36%);按科室分布,ICU 来源 76 株(57.58%),老年科 27 株(20.45%),其他科室 29 株(21.97%)。见表 1。

表 1　132 株 KP 菌株来源及构成[株(%)]

Table 1　Sources and distribution of the 132 *Klebsiella pneumoniae* isolates (No. of isolates [%])

分组	环境菌株	临床菌株	合计
年份			
2023	9(6.82)	21(15.91)	30(22.73)
2024	5(3.79)	49(37.12)	54(40.91)
2025	6(4.55)	42(31.82)	48(36.36)
医院等级			
二级	18(13.64)	99(75.00)	117(88.64)
三级	2(1.52)	13(9.85)	15(11.36)
科室			
ICU	12(9.09)	64(48.48)	76(57.58)
老年科	8(6.06)	19(14.39)	27(20.45)
其他科室	0(0)	29(21.97)	29(21.97)

MLST 结果显示,132 株 KP 中检出 18 种已知 ST 型,另有 14 株未分型。ST11 为优势型别,占 53.79%(71 株);其次为 ST15,占 12.12%(16 株),其余 ST 型多为低频散在分布。环境株和临床株均以 ST11 为主,ST16 和 ST23 仅见于环境株,ST15、ST307 和 ST6853 仅见于临床株。不同来源、年份、医院等级及科室间 ST 构成比较,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 2。

2.2　系统发育关系及高风险分子特征比较

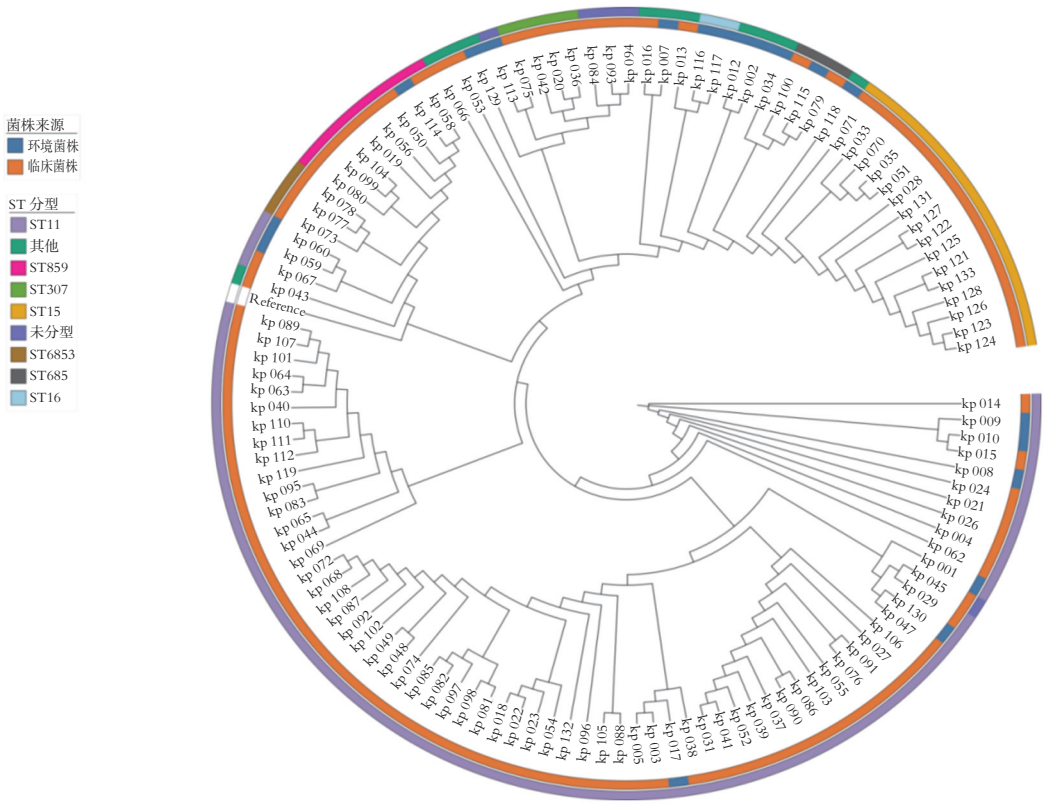
2.2.1　*系统发育关系*　基于核心基因组比对构建的系统发育树显示,KP 菌株形成若干主要分支,整体并非均匀离散分布;多数内部节点支持度较高,bootstrap≥90 的节点占 66.9%。其中,ST11 相关菌株构成系统发育树的主要分支。环境菌株未形成独立系统发育支系,而是散在分布于多个以临床菌株为主的局部分支中。见图 1。

表 2　132 株 KP 菌株 ST 分型分布[株(%)]

Table 2　Distribution of sequence types among the 132 *Klebsiella pneumoniae* isolates (No. of isolates [%])

分层	ST11 ($n=71$)	ST16 ($n=2$)	ST859 ($n=8$)	ST685 ($n=3$)	ST23 ($n=1$)	ST15 ($n=16$)	ST307 ($n=4$)	ST6853 ($n=3$)	其他 ($n=10$)	未分型 ($n=14$)	P (*BH* 校正值)
来源											0.001
环境($n=20$)	8(40.00)	2(10.00)	1(5.00)	1(5.00)	1(5.00)	0(0)	0(0)	0(0)	5(25.00)	2(10.00)	
临床($n=112$)	63(56.25)	0 (0)	7(6.25)	2(1.79)	0(0)	16(14.29)	4(3.57)	3(2.68)	5(4.46)	12(10.71)	
年份											0.002
2023($n=30$)	19(63.33)	0(0)	1(3.33)	0(0)	1(3.33)	1(3.33)	1(3.33)	0(0)	4(13.33)	3(10.00)	
2024($n=54$)	24(44.44)	0(0)	3(5.56)	0(0)	0(0)	14(25.93)	2(3.70)	0(0)	5(9.26)	6(11.11)	
2025($n=48$)	28(58.33)	2(4.17)	4(8.33)	3(6.25)	0(0)	1(2.08)	1(2.08)	3(6.25)	1(2.08)	5(10.42)	
医院等级											<0.001
二级($n=117$)	68(58.12)	2(1.71)	8(6.84)	3(2.56)	1(0.86)	6(5.13)	4(3.42)	3(2.56)	9(7.69)	13(11.11)	
三级($n=15$)	3(20.00)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	10(66.67)	0(0)	0(0)	1(6.67)	1(6.67)	
科室											0.039
ICU($n=76$)	40(52.63)	0(0)	7(9.21)	0(0)	0(0)	12(15.79)	2(2.63)	2(2.63)	7(9.21)	6(7.89)	
老年科($n=27$)	16(59.26)	2(7.41)	1(3.70)	1(3.70)	1(3.70)	2(7.41)	1(3.70)	0(0)	2(7.41)	1(3.70)	
其他科室($n=29$)	15(51.72)	0(0)	0(0)	2(6.90)	0(0)	2(6.90)	1(3.45)	1(3.45)	1(3.45)	7(24.14)	

2.2.2　*耐药基因负荷和关键耐药基因比较*　耐药基因注释结果显示,共检出 3 498 条耐药基因记录,涉及 222 个独立耐药基因和 106 个耐药基因家族。医院环境与临床 KP 菌株每株耐药基因数分布总体重叠较多(见图 2A),临床菌株耐药基因中位数为 26 个/株,医院环境菌株为 21 个/株,两组比较差异无统计学意义($P=0.589$)(见图 2B)。按耐药基因家族比较,bla_{SHV} 在两类来源菌株中均有较高携带率;环境菌株中 *oqx*A、*oqx*B 家族携带率较高,而临床菌株中 bla_{KPC}、*tet* 和 *sul* 家族携带率较高。见表 3。



注：参考菌株为 HS11286。

图 1　医院来源 KP SNP 进化树

Figure 1　SNP-based phylogenetic tree of hospital-derived *Klebsiella pneumoniae* isolates

2.2.3　毒力基因和耐药－高毒力共存菌株特征　毒力特征分析显示，医院环境 KP 菌株中高毒力相关核心基因阳性率为 40.00%，耐药与高毒力相关特征共存比率为 25.00%；临床 KP 菌株中高毒力相关核心基因阳性率为 61.61%，与环境菌株相比差异无统计学意义（$P = 0.087$）。耐药与高毒力相关特征共存比例为 58.04%，高于环境菌株，差异有统计学意义（$P = 0.013$）。临床 KP 菌株中耶尔森菌素相关铁摄取毒力模块（*ybt*/*irp*/*fyu*A）携带率较高，而大肠杆菌素相关毒力模块（*clb*/*pks*）仅见于医院环境 KP 菌株。见表 4。

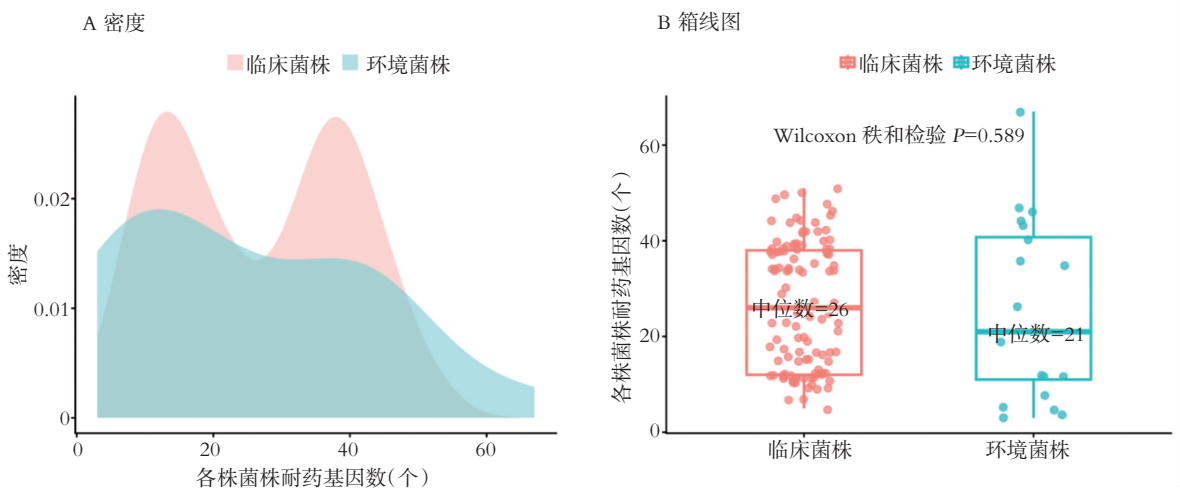


图 2　医院环境和临床来源 KP 的耐药基因负荷比较

Figure 2　Comparison of antimicrobial resistance gene burden between environmental and clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates

表 3 医院环境与临床 KP 关键耐药基因分布[株(%)]

Table 3 Distribution of key antimicrobial resistance genes among environmental and clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates (No. of isolates [%])

耐药基因	环境菌株(n = 20)	临床菌株(n = 112)	P(BH 校正值)
碳青霉烯类			
bla_{KPC}	7(35.00)	90(80.36)	0.010
bla_{IMP}	0(0)	3(2.68)	1.000
bla_{NDM}	1(5.00)	8(7.14)	1.000
β-内酰胺类			
bla_{OXA}	6(30.00)	19(16.96)	0.952
bla_{SHV}	18(90.00)	71(63.39)	0.064
bla_{CTX-M}	9(45.00)	74(66.07)	0.210
bla_{TEM}	10(50.00)	66(58.93)	0.878
磺胺类			
sul	11(55.00)	92(82.14)	0.055
四环素类			
tet	10(50.00)	92(82.14)	0.012
氨基糖苷类			
*aad*A	2(10.00)	54(48.21)	0.012
*arm*A	1(5.00)	4(3.57)	0.984
*rmt*B	5(25.00)	50(44.64)	0.328
外排泵类			
*oqx*A	12(60.00)	34(30.36)	0.064
*oqx*B	15(75.00)	38(33.93)	0.012

表 4 医院环境与临床 KP 部分高风险分子特征比较[株(%)]

Table 4 Comparison of selected high-risk molecular characteristics between environmental and clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates (No. of isolates [%])

指标	环境菌株(n = 20)	临床菌株(n = 112)	P(BH 校正值)
高毒力相关核心基因阳性	8(40.00)	69(61.61)	0.087
碳青霉烯酶基因阳性	8(40.00)	99(88.39)	<0.001
碳青霉烯酶基因与高毒力相关核心基因共存	5(25.00)	65(58.04)	0.013
ybt/*irp*/*fyu*A 毒力模块	12(60.00)	98(87.50)	0.013
clb/*pks* 毒力模块	2(10.00)	0(0)	0.027

2.3 高风险 ARGs 初筛 基于 1.5 中的高风险 ARGs 筛选策略,并结合 132 株 KP 的实际检出情况,对候选耐药基因进行初筛(见表 5)。结果显示,碳青霉烯酶相关基因中以 bla_{KPC} 检出最多(97 株,占 73.48%),其次为 bla_{NDM}(9 株,占 6.82%)。可移动超广谱 β-内酰胺酶中,检出 bla_{CTX-M} 83 株(占 62.88%);16S rRNA 甲基化酶基因中,以 *rmt*B 为主(55 株,占 41.67%)。综合耐药基因的临床重要性、在医院环境与临床来源菌株中的共同分布情况、检出频率及涉及 ST 分布广度,最终将 bla_{KPC}、bla_{NDM}、bla_{CTX-M} 和 *rmt*B 确定为后续核心分析的高风险 ARGs。

表 5 医院环境与临床 KP 候选高风险 ARGs 筛选结果

Table 5 Screening results for candidate high-risk ARGs in environmental and clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates

ARGs	药物类别	总检出株数[n = 132,株(%)]	环境菌株(n = 20,株)	临床菌株(n = 112,株)	涉及 ST 数(种)	是否进入核心分析	纳入原因
bla_{KPC}	碳青霉烯类	97(73.48)	7	90	8	是	临床主要的碳青霉烯酶编码基因,检出高,环境和临床均有
bla_{NDM}	碳青霉烯类	9(6.82)	1	8	4	是	核心碳青霉烯酶
bla_{IMP}	碳青霉烯类	3(2.27)	0	3	0	否(备选)	核心碳青霉烯酶,但检出低
$bla_{OXA-48-like}$	碳青霉烯类	2(1.52)	0	2	2	否(备选)	OXA-48-like 家族,检出低
bla_{CTX-M}	超广谱 β-内酰胺酶	83(62.88)	9	74	11	是	可移动超广谱 β-内酰胺酶编码基因 ESBL 代表
*arm*A	氨基糖苷类	5(3.79)	1	4	1	否(备选)	16S rRNA 甲基转移酶编码基因,检出有限
*rmt*B	氨基糖苷类	55(41.67)	5	50	5	是	16S-RMTase 代表,检出较高
*rmt*F	氨基糖苷类	1(0.76)	0	1	1	否	极低频,仅补充说明

2.4 候选高风险 ARGs 相关 MGEs 特征 进一步分析医院环境与临床 KP 核心高风险 ARGs 的潜在传播相关背景,比较 bla_{KPC}、bla_{CTX-M}、*rmt*B 和 bla_{NDM} 相关 MGEs 特征,包括质粒复制子、整合子及 IS 等。见表 6。

2.4.1 候选高风险 ARGs 相关质粒复制子特征 质粒复制子分析显示,不同高风险 ARGs 阳性 KP 菌株中同时检出的复制子类型存在差异,但总体上以少数复制子类型反复出现为主。bla_{KPC} 共检出 97 株,最常同时检出的 3 类复制子为 ColRNAI_1、IncFII(pHN7A8)_1_pHN7A8 和 IncHI1B_1_pNDM-MAR,比率分别为 86.60%、81.44%、73.20%;bla_{CTX-M} 共检出 83 株,最常同时检出的复制子类型与 bla_{KPC} 相同,比率分别为 83.13%、

68.67%和 62.65%。*rmt*B 共检出 55 株，与 ColRNAI_1 和 IncFII(pHN7A8)_1_pHN7A8 的同时检出比率均为 100%，与 IncFII(pSDP9R)_1 同时检出比率为 87.27%。共检出 bla_{NDM} 9 株，最常同时检出的复制子为 IncFII_1_pKP91(66.67%)，并可见 Col(pHAD28)_1 和 RepB_1_pC39 等复制子。上述复制子类型在医院环境和临床 KP 菌株中均有不同程度检出。

2.4.2　候选高风险 ARGs 相关整合子特征　整合子分析显示，bla_{CTX-M}、bla_{KPC} 和 *rmt*B 相关 KP 菌株中均可检出整合子相关结构，检出率分别为 61.45%、49.48%、49.09%；bla_{NDM} 虽仅检出 9 株，但其中 7 株检出整合子相关结构，检出率为 77.78%。进一步分析发现，bla_{CTX-M}、bla_{KPC}、*rmt*B 和 bla_{NDM} 相关菌株中均可检出完整整合子(complete integron)(见表 6)。按来源分层比较，在环境来源的 bla_{KPC}、bla_{CTX-M}、*rmt*B 和 bla_{NDM} 阳性菌株中，分别检出 5、7、4 和 1 株整合子相关结构。

2.4.3　候选高风险 ARGs 相关 IS 特征　ISEScan 分析显示，不同高风险 ARGs 相关 contig 的 IS 家族分布存在差异。bla_{KPC} 共命中 97 条相关 contig，其中 95 条检出 ISEScan 预测的 IS 相关序列，检出率为 97.94%，共获得 134 个预测命中，主要归属于 IS481 和 IS1182 家族。在代表性 contig kp_004_contig60 和 kp_060_contig75 中，IS481 家族转座酶 ORF 位于 bla_{KPC} 上游 275 bp 处，且与 bla_{KPC} 方向相同；IS1182 家族转座酶 ORF 位于 bla_{KPC} 下游 249 bp 处，方向相反。两条 contig 中跨越上述基因及其连接区域的连续 4 500 bp 序列均与 GenBank 参考序列 CP039541.1 完全一致，对应的具体元件分别为 ISKpn27 和 ISKpn6，形成 ISKpn27-bla_{KPC-2}-ISKpn6 型非 Tn4401 遗传环境。

bla_{NDM} 共命中 7 条相关 contig，其中 5 条检出 ISEScan 预测的 IS 相关序列，检出率为 71.43%，主要归属于 IS91 家族；*rmt*B 共命中 55 条相关 contig，其中 37 条检出 IS 相关序列，检出率为 67.27%，主要归属于 IS91 和 IS6 家族；bla_{CTX-M} 共命中 78 条相关 contig，其中 37 条检出 IS 相关序列，检出率为 47.44%，主要归属于 IS5 和 IS1380 家族。见表 6。总体上，bla_{KPC}、bla_{NDM} 和 *rmt*B 相关 contig 中 IS 相关序列的检出比例较高，而 bla_{CTX-M} 相对较低。

表 6　医院环境与临床 KP 候选高风险 ARGs 相关 MGEs 特征

Table 6　Characteristics of MGEs associated with candidate high-risk antimicrobial resistance genes in environmental and clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates

耐药基因	总菌株数(n=132)	环境(n=20，株)	临床(n=112，株)	最常同时检出的3类复制子	整合子相关结构检出率(%)	检出完整整合子的菌株数(株)	含IS的contig数/命中contig数(%)	主要IS家族
bla_{KPC}	97	7	90	ColRNAI_1(86.60%)，IncFII(pHN7A8)_1_pHN7A8(81.44%)，IncHI1B_1_pNDM-MAR(73.20%)	49.48(48/97)	20	97.94(95/97)	IS481、IS1182
bla_{CTX-M}	83	9	74	ColRNAI_1(83.13%)，IncFII(pHN7A8)_1_pHN7A8(68.67%)，IncHI1B_1_pNDM-MAR(62.65%)	61.45(51/83)	22	47.44(37/78)	IS5、IS1380
*rmt*B	55	5	50	ColRNAI_1(100%)，IncFII(pHN7A8)_1_pHN7A8(100%)，IncFII(pSDP9R)_1(87.27%)	49.09(27/55)	13	67.27(37/55)	IS91、IS6
bla_{NDM}	9	1	8	IncFII_1_pKP91(66.67%)，Col(pHAD28)_1(44.44%)，RepB_1_pC39(44.44%)	77.78(7/9)	3	71.43(5/7)	IS91

注：表中 IS 名称为 ISEScan 的家族级注释，bla_{KPC} 代表性遗传环境中的具体 IS 元件根据参考序列 CP039541.1 校正；IS 分析以目标 ARGs 所在且满足 ISEScan 分析条件的 contig 为单位，故命中 contig 数与 ARGs 阳性菌株数不完全一致。

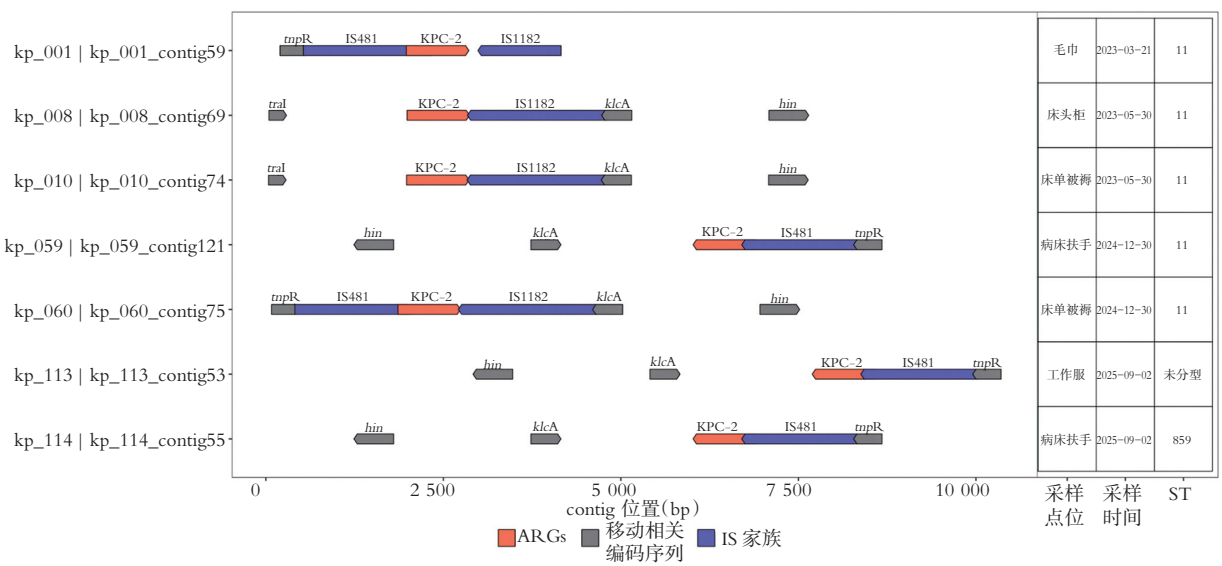
2.5　高风险 ARGs 相关 contig 的局部结构特征

2.5.1　环境菌株中高风险 ARGs 相关 contig 的总体情况　在 20 株医院环境来源 KP 中，进一步筛查高风险 ARGs 的携带情况及其所在 contig 信息。结果显示，部分环境菌株虽检出目标耐药基因，但因对应 contig 信息不完整或不足以支持局部结构注释，未纳入后续分析，最终共有 10 株环境菌株纳入局部结构分析。此 10 株菌株中，共检出 3 类主要高风险 ARGs 相关 contig，分别涉及 bla_{KPC}、*rmt*B 和 bla_{CTX-M}。

2.5.2　bla_{KPC} 相关 contig 的局部结构特征　在医

院环境来源菌株中，*bla*$_{KPC}$ 相关 contig 表现出较为突出的重复局部结构特征。多数 *bla*$_{KPC}$ 所在 contig 不仅伴随 IS，还可见与移动相关的编码基因。综合比较后，可概括为两类主要排列模式：一类以 ISEScan 家族级注释的 IS481 和 IS1182 相关序列为主要特征，并常伴随 *tnp*R。经代表性序列进一步核实，其中 *bla*$_{KPC}$ 邻近的相关元件可对应 ISKpn27 和 ISKpn6；另一类则在 *bla*$_{KPC}$ 邻近区域检出 *traI*、*klc*A 或 *hin* 等编码基因。不同 contig 在相关元件数量及排列顺序上存在一定差异，但 *bla*$_{KPC}$ 多以相似局部模块形式出现，且该类结构在多个环境菌株及不同采样时间中均可观察到。见图 3。

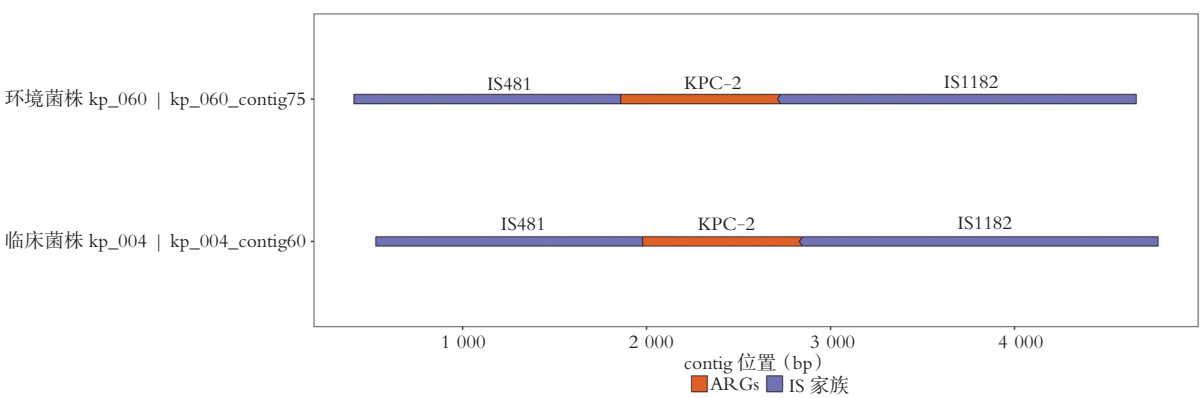
代表性医院环境与临床 KP 菌株的局部结构比较显示，环境菌株 kp_060 与临床菌株 kp_004 中携带 *bla*$_{KPC}$ 的 contig 在 ISEScan 家族级注释下均呈现 IS481-KPC-2-IS1182 的相似排列模式，经与 GenBank 参考序列 CP039541.1 比对核实，其相应具体 IS 元件分别为 ISKpn27 和 ISKpn6。见图 4。



注：本局部结构图基于二代短读长序列组装生成的 contig 所绘制，仅展示已组装的局部结构；IS 等重复序列可能影响组装连续性，图示边界不代表完整移动元件或质粒边界。

图 3　医院环境 KP 菌株 *bla*$_{KPC}$ 相关 contig 局部结构特征

Figure 3　Local genetic structure of *bla*$_{KPC}$-associated contigs in environmental *Klebsiella pneumoniae* isolates



注：本局部结构图基于二代短读长序列组装生成的 contig 所绘制，仅展示已组装的局部结构；IS 等重复序列可能影响组装连续性，图示边界不代表完整移动元件或质粒边界。

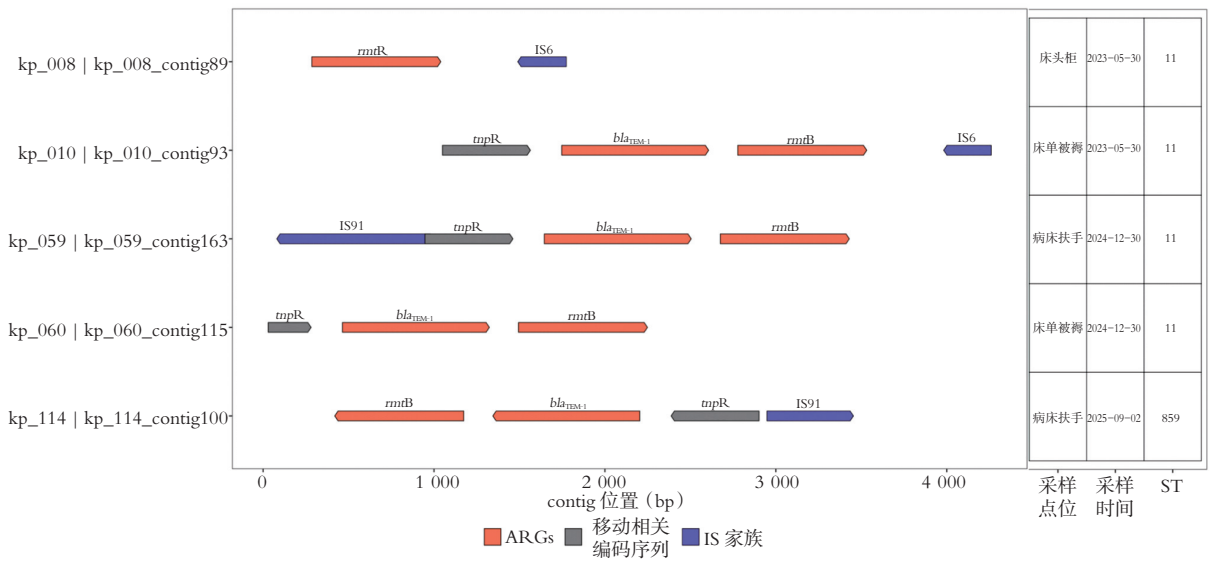
图 4　医院环境与临床 KP 菌株代表性 *bla*$_{KPC}$ 相关 contig 局部结构比较

Figure 4　Comparison of local genetic structures of representative *bla*$_{KPC}$-associated contigs between environmental and clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates

2.5.3　*rmt*B 相关 contig 的局部结构特征　*rmt*B 相关 contig 的局部结构较 *bla*$_{KPC}$ 相对简化，但仍可见一定重复结构模式。多数 *rmt*B 所在 contig 同时伴随其他耐药基因及与可移动元件相关的编码基

因，其中最常见的是 $bla_{\text{TEM-1}}$ 与 *rmt*B 共存，并伴随 *tnp*R、IS6 或 IS91。部分 contig 结构相对简单，仅见 *rmt*B 与单个 IS 共存；另一些则形成 IS-*tnp*R-TEM-1-*rmt*B 或相近排列结构，表现为多基因组合特征。见图 5。总体上，*rmt*B 多见于伴随其他耐药基因和 MGEs 的局部结构中。

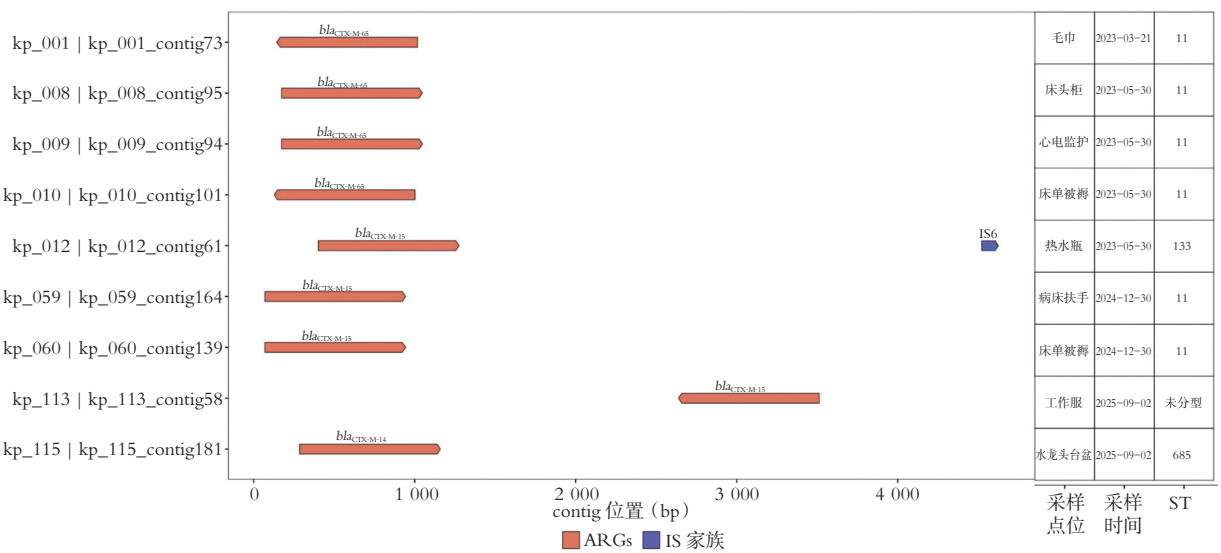
2.5.4　$bla_{\text{CTX-M}}$ 相关 contig 的局部结构特征　与 bla_{KPC} 和 *rmt*B 相比，$bla_{\text{CTX-M}}$ 相关 contig 在医院环境来源 KP 菌株中的局部结构整体较为简化。虽然涉及 CTX-M-65、CTX-M-15 和 CTX-M-14 等多个亚型，但多数 contig 仅见目标基因本身，缺少与移动相关的关键编码基因，IS 检出也较少，仅个别 contig 可见单个 IS 元件信号。不同亚型之间未表现出高度一致的固定排列模式，而呈现更明显的分散性。提示 $bla_{\text{CTX-M}}$ 虽在医院环境中分布较广，但其局部结构重复性弱于 bla_{KPC} 和 *rmt*B，更表现为亚型多样、结构分散的特征。见图 6。



注：本局部结构图基于二代短读长序列组装生成的 contig 所绘制，仅展示已组装的局部结构；IS 等重复序列可能影响组装连续性，图示边界不代表完整移动元件或质粒边界。

图 5　医院环境 KP 菌株 *rmt*B 相关 contig 局部结构特征

Figure 5　Local genetic structures of *rmt*B-associated contigs in environmental *Klebsiella pneumoniae* isolates



注：本局部结构图基于二代短读长序列组装生成的 contig 所绘制，仅展示已组装的局部结构；IS 等重复序列可能影响组装连续性，图示边界不代表完整移动元件或质粒边界。

图 6　医院环境 KP 菌株 $bla_{\text{CTX-M}}$ 相关 contig 局部结构特征

Figure 6　Local genetic structure of $bla_{\text{CTX-M}}$-associated contigs in environmental *Klebsiella pneumoniae* isolates

2.5.5 多类高风险 ARGs 相关 contig 并存特征 进一步比较同一医院环境 KP 菌株内不同高风险 ARGs 相关 contig 的分布情况发现，部分菌株可同时携带两类及以上高风险 ARGs 相关 contig。其中，kp_008、kp_010、kp_059 和 kp_060 同时检出 bla_{KPC}、bla_{CTX-M} 和 *rmt*B 相关 contig；kp_001 和 kp_113 同时检出 bla_{KPC} 和 bla_{CTX-M} 相关 contig；kp_114 同时检出 bla_{KPC} 和 *rmt*B 相关 contig（见表 7）。结果提示，部分环境菌株中可见多类高风险 ARGs 相关 contig 并存。

表 7 医院环境 KP 菌株中部分多类高风险 ARGs 相关 contig 并存情况

Table 7 Co-occurrence of selected contigs associated with multiple high-risk antimicrobial resistance genes in environmental *Klebsiella pneumoniae* isolates

菌株编号	是否检出 bla_{KPC} 相关 contig	是否检出 bla_{CTX-M} 相关 contig	是否检出 *rmt*B 相关 contig	同时检出基因类别数（类）	共存耐药基因
kp_008	+	+	+	3	bla_{KPC} + bla_{CTX-M} + *rmt*B
kp_010	+	+	+	3	bla_{KPC} + bla_{CTX-M} + *rmt*B
kp_059	+	+	+	3	bla_{KPC} + bla_{CTX-M} + *rmt*B
kp_060	+	+	+	3	bla_{KPC} + bla_{CTX-M} + *rmt*B
kp_001	+	+	−	2	bla_{KPC} + bla_{CTX-M}
kp_113	+	+	−	2	bla_{KPC} + bla_{CTX-M}
kp_114	+	−	+	2	bla_{KPC} + *rmt*B

注：+ 表示是，− 表示否。仅展示携带其中至少两类的 7 株菌株。

3 讨论

KP 是医院感染的重要病原体之一，CRKP 的持续流行进一步增加了医院耐药菌感染控制的难度。既往研究提示，医院环境中高接触物体表面、患者床单位、水槽和下水系统等环境环节均可作为多重耐药革兰阴性菌的重要储存库，并参与医院内传播[42-43]。因此，医院环境中检出 KP 并不仅提示有微生物污染，更重要的是判断环境来源菌株是否已具备与临床菌株相近的高风险分子特征，以及这些高风险特征是否可能在医院环境中持续存在并具有进一步播散风险[5,33,44-46]。本研究围绕这一问题，对医院环境与临床来源 KP 进行分子特征比较，分析高风险 ARGs 与 MGEs 的关联，结果显示部分医院环境中的 KP 具有值得关注的高风险分子特征及相关遗传结构。

本研究发现，ST11 为医院环境与临床 KP 菌株共同的优势型别，且环境菌株未形成独立系统发育分支，而是散在嵌入多个以临床菌株为主的分支中。提示医院环境来源 KP 与临床流行 KP 在系统发育分支交错并共享部分 ST，医院环境中 KP 的检出情况并非仅代表一过性的污染，也反映了部分高危克隆菌株可能在环境中持续检出。既往研究表明，ST11、ST15、ST23 和 ST307 等均是值得关注的高危谱系，其中 ST11 在我国医院临床感染中长期占主导地位，并常与 bla_{KPC} 等关键耐药基因相伴出现[8,15,18,47]。本研究结果中的环境菌株与上述报道一致，也进一步支持医院环境监测不应仅停留于环境污染现况或阳性检出率，而应关注环境来源菌株是否也与临床流行株拥有相近的高风险谱系。

除克隆背景外，环境来源 KP 是否已具备值得警惕的毒力和耐药相关特征，也是评价其风险的重要方面。既往研究认为，*iuc*、*rmp*A/*rmp*A2、peg-344 等高毒力相关核心基因，以及耶尔森菌素相关铁摄取系统和大肠杆菌素相关毒力模块，均可作为识别高风险菌株的重要分子线索；同时，耐药与高毒力相关特征共存被认为是 KP 风险升级的重要表现之一[8,10,12,14-15,26-28]。本研究显示，医院环境菌株总体耐药基因负荷虽低于临床株，但差异无统计学意义（$P = 0.589$），且环境菌株中已存在一定比例高毒力相关核心基因阳性和耐药 − 高毒力相关基因共存菌株，提示医院环境中的 KP 并非是纯粹的低风险菌株，而是已经具备一定高风险分子特征，说明医院环境来源菌株同样应纳入医院感染监测和风险评估的重点范围。

在此基础上，本研究进一步从临床重要性、来源分布及 MGEs 相关证据等维度，对高风险 ARGs 进行筛选，最终识别出 bla_{KPC}、bla_{CTX-M}、*rmt*B 和 bla_{NDM} 4 类核心高风险 ARGs。此结果具有较明确

的临床指向性，bla_{KPC} 是当前临床 CRKP 流行中最具代表性的碳青霉烯酶基因；bla_{NDM} 虽检出数量较少，但其传播能力强、临床危险性大，仍应作为重点关注对象；bla_{CTX-M} 和 *rmt*B 分别与超广谱 β-内酰胺类及高水平氨基糖苷类耐药相关，能够直接影响相关抗菌药物的治疗选择[2-4,15,18,48]。因此，医院环境中的重点耐药风险，并不是体现在大量零散存在的低频耐药基因，而更集中于少数临床意义明确，并具有进一步播散潜力的核心高风险 ARGs。

MGEs 分析显示，此 4 类核心高风险 ARGs 并非完全孤立存在，而是与质粒复制子、整合子和 IS 存在不同程度关联。在同一菌株水平，bla_{KPC}、bla_{CTX-M} 和 *rmt*B 常与少数几类质粒复制子同时检出，提示其可能具有相对集中的质粒背景，但不能据此确定多种高风险 ARGs 所在的具体质粒载体；整合子分析显示，上述核心高风险 ARGs 相关 KP 菌株中均可检出整合子相关结构；IS 分析提示，在同一 contig 水平，IS 与目标 ARGs 的共定位进一步提供了局部结构关联证据，其中 bla_{KPC} 相关 contig 中 IS 检出最为常见，*rmt*B 和 bla_{NDM} 也表现出较高关联程度，而 bla_{CTX-M} 相关结构相对分散。上述结果提示，部分医院环境来源高风险 ARGs 已处于与 MGEs 相关的局部遗传背景中，但其完整质粒载体及传播结构仍需结合长读长闭环组装或实验进一步确认。已有研究表明，当耐药基因与特定质粒复制子反复共现，并伴随整合子、IS 或相似局部结构模块时，可提示其处于具有潜在移动传播特征的遗传背景中[26,40,49]。结合本研究结果可见，医院环境中的高风险 ARGs 已具备上述特征，提示其具有潜在水平转移风险和进一步播散的可能[18,41,48,50-51]。虽然这类关联证据尚不能直接证明真实的水平转移事件已经发生，但从分子流行病学角度看，其风险高于耐药基因存在本身。

contig 局部结构分析进一步增强了这一判断。与同一菌株中同时检出相关分子特征相比，同一 contig 水平上的排列关系能够提供更直接的结构信息。本研究发现，bla_{KPC} 在部分医院环境 KP 菌株中表现出较为突出的重复局部结构特征，且代表性环境株与临床株之间可见相似的 bla_{KPC} 排列模式；*rmt*B 相关 contig 虽然结构较 bla_{KPC} 简化，但也可观察到较多重复的局部模块；相比之下，bla_{CTX-M} 相关结构更为分散，表现为多亚型、低一致性排列。这种差异提示，不同高风险 ARGs 在医院环境中的遗传结构并不相同，部分耐药基因已呈现出较集中的局部结构特征，而另一些则更接近多来源、分散分布状态。尤其值得注意的是，部分医院环境菌株中可同时检出两类甚至三类高风险 ARGs 相关 contig，说明医院环境中并非只存在单一耐药特征，而是已经出现多类高风险 ARGs 并存的情况。这类菌株一旦进入患者接触链或设备污染链，其潜在风险极有可能高于单一耐药菌株[26,40,49,52]。

从医院感染控制角度看，本研究结果显示，医院环境不仅是 KP 持续检出的场所，也可能是高危克隆及高风险 ARGs 持续存在并有进一步扩散风险的重要环节[30,43]。一方面，医院环境与临床 KP 菌株共享 ST11 等高危谱系，且环境株未形成独立支系，而是散在嵌入多个以临床株为主的分支中；另一方面，医院环境中已存在一定比例耐药与高毒力相关特征共存菌株，以及与质粒复制子、整合子和 IS 相关的高风险 ARGs contig 局部结构。因此，医院环境监测不应仅停留于耐药菌检出本身，还应进一步关注环境中是否存在高危克隆、是否检出耐药与高毒力相关特征共存菌株，以及是否出现与 MGEs 相关的高风险 ARGs，从而为重点环境点位清洁消毒、重点病区感染控制早期预警提供依据[44-46,53-56]。

本研究也存在一定局限性：医院环境菌株数量较少，且监测对象主要集中于重点科室和重点点位，对全院 KP 的污染现况代表性有限。医院环境与临床菌株之间关系的判断主要基于系统发育和分子特征重叠等关联性证据，尚不足以直接推断传播方向和传播路径，后续仍需结合患者流行病学调查、床位流转等流行病学信息进一步验证[42,57-59]。关于高风险 ARGs 潜在水平转移风险的判断，主要基于 MGEs 及 contig 局部结构的关联性证据，尚不能直接验证是否发生了耐药基因的水平转移。后续仍需结合长读长测序、完整质粒组装及接合转移试验进一步验证[26,53]。

综上所述，医院环境来源 KP 可呈现与临床来源菌株相近的某些高风险分子特征，且部分高风险 ARGs 与 MGEs 存在关联，并可以观察到一定的 contig 局部结构特征，提示相关风险 ARGs 可能具有潜在水平转移及进一步播散风险。上述结果提示，医院环境可能是高风险耐药菌株及相关耐药基因持续检出的重要来源。今后应进一步加强重点科室和重点环境的持续监测，并结合长读长测序及相关功能试验，进一步验证耐药基因的完整遗传背景及潜在传播风险。

作者贡献声明：姚羽青负责研究设计、统计分析、论文撰写；蒋露芳负责方法学指导、论文修改；王琰负责现场协调、资料核校；钱子煜负责研究总体设计、论文修改、投稿。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] Sati H, Carrara E, Savoldi A, et al. The WHO bacterial priority pathogens list 2024: a prioritisation study to guide research, development, and public health strategies against antimicrobial resistance[J]. Lancet Infect Dis, 2025, 25(9): 1033－1043.

[2] Weber DJ, Anderson D, Rutala WA. The role of the surface environment in healthcare-associated infections[J]. Curr Opin Infect Dis, 2013, 26(4): 338－344.

[3] Ali S, Macori G, Mullane N, et al. Are hospital environments an underestimated source for gram-negative infections in critically ill patients? A non-multi-drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* outbreak in an Irish intensive care unit[J]. Infect Prev Pract, 2026, 8(1): 100499.

[4] Abreu R, Matos A, Capela L, et al. Extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in dogs from Cape Verde and São Tomé and Príncipe: implications for public health[J]. Antibiotics (Basel), 2025, 14(4): 408.

[5] Chia PY, Sengupta S, Kukreja A, et al. The role of hospital environment in transmissions of multidrug-resistant gram-negative organisms[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2020, 9(1): 29.

[6] Freeman JT, Nimmo J, Gregory E, et al. Predictors of hospital surface contamination with extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli and *Klebsiella pneumoniae*: patient and organism factors[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2014, 3(1):5.

[7] Aranega-Bou P, George RP, Verlander NQ, et al. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* dispersal from sinks is linked to drain position and drainage rates in a laboratory model system [J]. J Hosp Infect, 2019, 102(1): 63－69.

[8] Badawy D, Tahhan S, Rebick G, et al. Clusters of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase with potential links to hand hygiene sink drains in an intensive care unit[J]. Can J Infect Control, 2023, 38(43): 115－119.

[9] Li CD, Jiang XY, Yang TT, et al. Genomic epidemiology of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in China[J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2022, 20(6): 1154－1167.

[10] Duan QY, Wang Q, Sun SJ, et al. ST11 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clone harboring bla_{NDM} replaced a bla_{KPC} clone in a tertiary hospital in China[J]. Antibiotics (Basel), 2022, 11(10): 1373.

[11] Partridge SR, Kwong SM, Firth N, et al. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance[J]. Clin Microbiol Rev, 2018, 31(4): e00088－17.

[12] Choby JE, Howard-Anderson J, Weiss DS. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*-clinical and molecular perspectives[J]. J Intern Med, 2020, 287(3): 283－300.

[13] Aghamohammad S, Khazani Asforooshani M, Malek Mohammadi Y, et al. Decoding the genetic structure of conjugative plasmids in international clones of *Klebsiella pneumoniae*: a deep dive into bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{OXA-48}, and bla_{GES} genes [J]. PLoS One, 2023, 18(11): e0292288.

[14] Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* [J]. Clin Microbiol Rev, 2019, 32(3): e00001－e00019.

[15] Wyres KL, Hawkey J, Hetland MAK, et al. Emergence and rapid global dissemination of CTX-M-15-associated *Klebsiella pneumoniae* strain ST307[J]. J Antimicrob Chemother, 2019, 74(3): 577－581.

[16] McCallum GE, Hall JPJ. The hospital sink drain microbiome as a melting pot for AMR transmission to nosocomial pathogens[J]. NPJ Antimicrob Resist, 2025, 3(1): 68.

[17] van Almsick VF, Sobkowiak A, Scherff N, et al. In-depth characterization of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-encoding plasmids points at transposon-related transmission of resistance genes[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2025, 15: 1542828.

[18] Alglave L, Faure K, Mullié C. Plasmid dissemination in multispecies carbapenemase-producing enterobacterales outbreaks involving clinical and environmental strains: a narrative review [J]. Microorganisms, 2025, 13(4): 810.

[19] 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.

[20] Centers for Disease Control and Prevention. Antimicrobial resistance threats in the United States, 2021－2022. [EB/OL]. (2025－04－10)[2026－04－26]. https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/data-research/threats/update-2022.html.

[21] Alcock BP, Raphenya AR, Lau TTY, et al. CARD 2020: antibiotic resistome surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database[J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(D1): D517－D525.

[22] Khan AS, Dancer SJ, Humphreys H. Priorities in the prevention and control of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* in hospitals[J]. J Hosp Infect, 2012, 82(2): 85－93.

[23] Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review [J]. BMC Infect Dis, 2006, 6: 130.

[24] Snitkin ES, Zelazny AM, Thomas PJ, et al. Tracking a hospital outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with whole-genome sequencing[J]. Sci Transl Med, 2012, 4(148): 148ra116.

[25] Liu B, Zheng DD, Zhou SY, et al. VFDB 2022: a general classification scheme for bacterial virulence factors[J]. Nucleic Acids Res, 2022, 50(D1): D912-D917.

[26] Hu Y, Yang YQ, Feng Y, et al. Prevalence and clonal diversity of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* causing neonatal infections: a systematic review of 128 articles across 30 countries[J]. PLoS Med, 2023, 20(6): e1004233.

[27] Centers for Disease Control and Prevention. CDC Environmental Checklist for Monitoring Terminal Cleaning[1]. [EB/OL]. (2024-04-24)[2026-04-26]. https://search.cdc.gov/search/?query=CDC%20Environmental%20Checklist%20for%20Monitoring%20Terminal%20Cleaning1&dpage=1.

[28] Mitchell A, Spencer M, Edmiston C Jr. Role of healthcare apparel and other healthcare textiles in the transmission of pathogens: a review of the literature[J]. J Hosp Infect, 2015, 90(4): 285-292.

[29] Porter L, Sultan O, Mitchell BG, et al. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A scoping review[J]. J Hosp Infect, 2024, 147: 25-31.

[30] Li P, Liang QN, Liu WG, et al. Convergence of carbapenem resistance and hypervirulence in a highly-transmissible ST11 clone of *K. pneumoniae*: an epidemiological, genomic and functional study[J]. Virulence, 2021, 12(1): 377-388.

[31] Farrell DJ, Putnam SD, Biedenbach DJ, et al. In vitro activity and single-step mutational analysis of rifamycin SV tested against enteropathogens associated with traveler's diarrhea and *Clostridium difficile* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(3): 992-996.

[32] Zhang XF, Li FP, Cui SY, et al. Prevalence and distribution characteristics of bla_{KPC-2} and bla_{NDM-1} genes in *Klebsiella pneumoniae*[J]. Infect Drug Resist, 2020, 13: 2901-2910.

[33] WHO. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance[EB/OL]. (2024-05-17)[2026-04-26]. https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461.

[34] Jiang CX, Zhao ZL, Grossart HP, et al. Health risk ranking of antibiotic resistance genes in the Yangtze River[J]. Environ Sci Ecotechnol, 2024, 21: 100388.

[35] Grome HN, Grass JE, Duffy N, et al. Carbapenem-resistant and extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacterales* in children, United States, 2016-2020[J]. Emerg Infect Dis, 2024, 30(6): 1104-1114.

[36] Zhang ZY, Zhang Q, Wang TZ, et al. Assessment of global health risk of antibiotic resistance genes[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1553.

[37] Lee CR, Lee JH, Park KS, et al. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 895.

[38] Néron B, Littner E, Haudiquet M, et al. IntegronFinder 2.0: identification and analysis of integrons across bacteria, with a focus on antibiotic resistance in *Klebsiella*[J]. Microorganisms, 2022, 10(4): 700.

[39] Johansson MHK, Bortolaia V, Tansirichaiya S, et al. Detection of mobile genetic elements associated with antibiotic resistance in *Salmonella enterica* using a newly developed web tool: MobileElementFinder[J]. J Antimicrob Chemother, 2021, 76(1): 101-109.

[40] Sherry NL, Gorrie CL, Kwong JC, et al. Multi-site implementation of whole genome sequencing for hospital infection control: a prospective genomic epidemiological analysis[J]. Lancet Reg Health West Pac, 2022, 23: 100446.

[41] Crofts TS, Gasparrini AJ, Dantas G. Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistome[J]. Nat Rev Microbiol, 2017, 15(7): 422-434.

[42] Parry MF, Sestovic M, Renz C, et al. Environmental cleaning and disinfection: sustaining changed practice and improving quality in the community hospital[J]. Antimicrob Steward Healthc Epidemiol, 2022, 2(1): e113.

[43] Tofteland S, Naseer U, Lislevand JH, et al. A long-term low-frequency hospital outbreak of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* involving Intergenus plasmid diffusion and a persisting environmental reservoir[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59015.

[44] Dixit S, Varshney S, Gupta D, et al. Textiles as fomites in the healthcare system[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2023, 107(12): 3887-3897.

[45] Moulin E, Filippidis P, Paire-Ficout CA, et al. Successful control of an environmental reservoir of NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* associated with nosocomial transmissions in a low-incidence setting[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2024, 13(1): 130.

[46] Gu GY, Chen M, Pan JC, et al. Risk of multidrug-resistant organism acquisition from prior bed occupants in the intensive care unit: a meta-analysis[J]. J Hosp Infect, 2023, 139: 44-55.

[47] David S, Cohen V, Reuter S, et al. Integrated chromosomal and plasmid sequence analyses reveal diverse modes of carbapenemase gene spread among *Klebsiella pneumoniae*[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(40): 25043-25054.

[48] Chen L, Ai WX, Zhou Y, et al. Outbreak of IncX8 plasmid-mediated KPC-3-producing *Enterobacterales* infection, China [J]. Emerg Infect Dis, 2022, 28(7): 1421-1430.

[49] Gong L, Yang H, Wang X, et al. Emergence of ST11 *Klebsiella pneumoniae* co-carrying bla_{KPC-2} and bla_{IMP-8} on conjugative plasmids[J]. Microbiol Spectr, 2025, 13(11): e0334524.

[50] Haenelt S, Wang GG, Kasmanas JC, et al. The fate of sulfonamide resistance genes and anthropogenic pollution marker intI1 after discharge of wastewater into a pristine river stream [J]. Front Microbiol, 2023, 14: 1058350.

[51] Prasad S, Dratvova B, Gryndlerova A, et al. IncL plasmid-mediated dissemination of OXA-48 β-lactamase and $bla_{CTX-M-15}$ gene amplification identified via long-read sequencing in

carbapenem-resistant Enterobacterales[J]. JAC Antimicrob Resist, 2026, 8(1): dlaf254.

[52] Hsu CH, Li C, Harrison L, et al. Genomic structure of class 1 and 2 integrons in non-typhoidal *Salmonella* isolated from food animals and related meat products in the USA[J]. J Antimicrob Chemother, 2025, 80(10): 2844-2853.

[53] Dancer SJ. The role of environmental cleaning in the control of hospital-acquired infection[J]. J Hosp Infect, 2009, 73(4): 378-385.

[54] Diorio-Toth L, Wallace MA, Farnsworth CW, et al. Intensive care unit sinks are persistently colonized with multidrug resistant bacteria and mobilizable, resistance-conferring plasmids[J]. mSystems, 2023, 8(4): e0020623.

[55] Xiao P, Huang HC, Li C, et al. Environmental contamination of carbapenem-resistant gram-negative bacteria away from isolated patients in intensive care unit: a comprehensive surveillance study[J]. Sci Rep, 2025, 16(1): 680.

[56] Dancer SJ. Controlling hospital-acquired infection: focus on the role of the environment and new technologies for decontamination[J]. Clin Microbiol Rev, 2014, 27(4): 665-690.

[57] Di Pilato V, Pollini S, Miriagou V, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: the role of plasmids in emergence, dissemination, and evolution of a major clinical challenge[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2024, 22(1-3): 25-43.

[58] Tanner WD, Mathew T, Roberts SC, et al. Decontamination approaches and strategies for the prevention of sink drain-related healthcare-associated infections[J]. Clin Microbiol Rev, 2025, 38(4): e0006124.

[59] Wyres KL, Holt KE. *Klebsiella pneumoniae* population genomics and antimicrobial-resistant clones[J]. Trends Microbiol, 2016, 24(12): 944-956.

（本文编辑：左双燕）

本文引用格式：姚羽青，王琰，钱子煜，等. 医院环境中肺炎克雷伯菌分子特征及高风险抗菌药物耐药基因识别[J]. 中国感染控制杂志，2026，25(9)：1307-1320. DOI：10.12138/j.issn.1671-9638.20263401.

Cite this article as: YAO Yuqing, WANG Yan, QIAN Ziyu, et al. Molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* in hospital environments and identification of high-risk antimicrobial resistance genes[J]. Chin J Infect Control, 2026, 25(9): 1307-1320. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20263401.