

耐碳青霉烯类霍氏肠杆菌分离株的基因型及其碳青霉烯酶基因水平转移情况的单中心研究

田哲^{1,2} 姜美妍² 刘真真² 董丹丹² 王斌¹ 高振亮²

(1 青岛大学基础医学院, 山东 青岛 266071; 2 青岛大学附属医院检验科)

[摘要] **目的** 检测某医院耐碳青霉烯类霍氏肠杆菌分离株的基因型和同源性及其碳青霉烯酶基因水平转移情况,为制定该菌的防控措施提供依据。**方法** 11株非重复耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌(*E.cloacae*)于2016年9月—2017年5月分离自某医院住院患儿,编号Q1~Q11。菌株的全基因组测序采用Illumina和Nanopore平台。采用脉冲场凝胶电泳分析菌株间的同源性。采用质粒液相接合实验和S1核酸酶切脉冲场凝胶电泳检测该菌株碳青霉烯酶基因转移情况。**结果** 经平均核苷酸一致性鉴定,11株菌中1株为*E.bugandensis*(Q10菌株),其余10株均为霍氏肠杆菌(*E.hormaechei*)。这11株菌株均携带碳青霉烯酶基因 bla_{NDM-1} ,有5种多位点序列分型,以ST177为主,占比63.6%(7/11)。脉冲场凝胶电泳分析结果显示,霍氏肠杆菌Q4~Q8菌株的Dice相似系数为100.0%,均为ST177,携带了相同的耐药基因。生物信息分析结果显示,Q4菌株(代表菌株)携带的碳青霉烯酶基因 bla_{NDM-1} 位于质粒上。质粒液相接合实验结果显示,携带 bla_{NDM-1} 基因的质粒可传递给*E.coli*J53Azi^R。**结论** 携带碳青霉烯酶基因 bla_{NDM-1} 的ST177霍氏肠杆菌是导致新生儿医院感染暴发的病原体,且该基因可通过质粒介导在不同种细菌之间传播。

[关键词] 耐碳青霉烯类肠杆菌科;阴沟肠杆菌;交叉感染; bla_{NDM-1} ;质粒;疾病暴发流行;婴儿,新生

[中图分类号] R378.2

[文献标志码] A

A single-center study on the Genotype and horizontal carbapenemase gene transfer situation of carbapenem-resistant *Enterobacter hormaechei* strains

TIAN Zhe, JIANG Meiyuan, LIU Zhenzhen, DONG Dandan, WANG Bin, GAO Zhenliang (School of Basic Medicine, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the genotype, homology, and horizontal carbapenemase gene transfer situation of carbapenem-resistant *Enterobacter hormaechei* isolates from a hospital, and to provide a basis for formulating prevention and control measures for this bacterium. **Methods** Eleven non-repeating *Enterobacter cloacae* strains were collected from the children who were hospitalized in a hospital from September 2016 to May 2017 and were numbered as Q1—Q11, and Illumina and Nanopore platforms were used for whole-genome sequencing. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was used to analyze the homology between strains, and liquid conjugation assay and S1 nuclease digestion followed by PFGE were used to analyze the carbapenemase gene transfer ability of the strains. **Results** The average nucleotide identity analysis showed that among the eleven strains, strain Q10 was identified as *Enterobacter bugandensis*, and the remaining ten strains were identified as *Enterobacter hormaechei*. All eleven strains carried the bla_{NDM-1} gene and had five multi-locus sequence genotypes, among which ST177 was the main genotype and accounted for 63.6% (7/11). The results of PFGE showed that the Q4—Q8 strains of *Enterobacter hormaechei* had a Dice similarity coefficient of 100.0%, all of which had the ST177 type and carried the same drug-resistance gene. The bioinformatics analysis showed that the bla_{NDM-1} gene carried by strain Q4 was located on the plasmid. Liquid conjugation assay showed that the plasmid carrying bla_{NDM-1} can be delivered to *E.coli*J53Azi^R. **Conclusion** *Enterobacter hormaechei* ST177 harboring the bla_{NDM-1} gene is the pathogen causing the outbreak of nosocomial infection in neonates, and the bla_{NDM-1} gene can be transmitted between different species through mediation by plasmids.

[KEY WORDS] Carbapenem-resistant enterobacteriaceae; *Enterobacter cloacae*; Cross infection; bla_{NDM-1} ; Plasmids; Disease outbreaks; Infant, newborn

阴沟肠杆菌复合群(*E.cloacae* complex,ECC)属于肠杆菌属^[1],包括阴沟肠杆菌(*E.cloacae*)、霍氏肠杆菌(*E.hormaechei*)等。其中,阴沟肠杆菌和霍氏肠杆菌是在免疫功能低下和重症监护病房住院

患者临床感染中最常分离出的菌种^[1-2]。其中霍氏肠杆菌是引起患者医院感染的重要病原体。目前通过生化反应或采用质谱仪的鉴定方法难以准确区分阴沟肠杆菌与霍氏肠杆菌,而全基因组测序是鉴别两者的主要方法^[2-3]。准确的菌种鉴定在流行病学和感染控制方面比治疗具有更重要的临床意义^[4-5]。由于全基因组测序技术的不断进步,目前已经在世界各地发现有产超广谱 β -内酰胺酶、AmpC酶和碳

[收稿日期] 2025-05-17; **[修订日期]** 2025-10-09

[基金项目] 青岛大学附属医院“临床医学+X”科研项目(2019-3399)

[通信作者] 高振亮,Email:gzl306@126.com

青霉烯酶的霍氏肠杆菌的分离株^[6-8]。本研究基于高通量二代 Illumina 和三代 Nanopore 测序以及脉冲场凝胶电泳(PFGE)等技术对某医院耐碳青霉烯类霍氏肠杆菌分离株的基因型和同源性以及基因水平转移情况进行检测,旨在为该菌防控措施的制定提供依据。

1 材料和方法

1.1 菌株的来源

收集 2016 年 9 月—2017 年 5 月自青岛大学附属医院的医院感染患儿的非重复耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌的分离株共 11 株(编号 Q1~Q11),其中 Q1 和 Q11 菌株分离自呼吸科患儿的咽拭子,Q2 菌株分离自肿瘤科患儿的抽吸痰分泌物,Q3 菌株分离自消化内科患儿的咽拭子,Q4~Q6、Q8 及 Q10 菌株分离自新生儿科患儿的抽吸痰、痰液和尿液,Q7 菌株分离自神经内科患儿的尿液,Q9 菌株分离自急诊 EICU 患儿的分泌物。所有标本细菌的培养依照《全国临床检验操作规程(第四版)》进行^[9],11 株菌株均已通过 EX2600 质谱仪(中元汇吉生物技术有限公司)初始鉴定为阴沟肠杆菌。沙门菌 H9812(作为 DNA 分子量标记)、*E.coli*J53Azi^R(质粒接合受体菌)、大肠埃希菌 ATCC 25922 和肺炎克雷伯菌 ATCC 700603(作为药敏质控菌株)均为本院检验科微生物实验室保存。患儿呼吸系统或泌尿系统医院感染的诊断依据《医院感染诊断标准(试行)》中的标准^[10]。医院感染暴发判定参照《医院感染暴发与控制指南(WS/T524-2016)》中的标准^[11]。

1.2 菌株碳青霉烯酶的检测和药敏试验

采用 NG-Test[®]CARBA 5 卡(上海复星生物技术公司,批号 CS000180)检测菌株是否产碳青霉烯酶,包括新德里金属 β-内酰胺酶(NDM)等五种碳青霉烯酶;11 株菌株以及 *E.coli*J53Azi^R 的药敏试验使用 VITEK 2 Compact 系统(法国梅里埃公司),同时使用与该系统配套的 AST13 药敏卡(批号 1103103503),均严格按说明书进行操作。

1.3 菌株的同源性分析和碳青霉烯酶基因水平转移情况的检测

采用 PFGE 技术对收集的 11 株菌株进行同源性分析,将获得的 PFGE 图像导入 BioNumerics 7.6 软件中构建进化树,以确定暴发克隆菌株,并选择其中 1 株作为代表菌株用于后续实验。具体的操作和结果的判定参照相关文献^[12-13],PFGE 系统和凝胶成像仪由伯乐生命医学产品(上海)有限公司生产。

对代表菌株采用质粒液相接合实验检测其碳青霉烯酶基因水平的转移情况,同时对其接合子采用 NG-Test[®]CARBA 5 卡、S1 核酸酶切脉冲场凝胶电泳(S1-PFGE)技术以及药敏试验进行相应的验证。以上实验的具体操作步骤和流程参照相关文献^[12-13]。

1.4 菌株的最终鉴定和代表菌株的全基因组分析

对收集的 11 株菌株通过 Illumina 测序技术平台进行全基因组二代测序,并将获得的菌株核苷酸序列与标准菌株染色体的核苷酸序列通过网站(<https://www.ezbiocloud.net/tools/ani>)进行比对,以获得 11 株菌株的平均核苷酸一致性(ANI)值,并依据 ANI 值鉴定这 11 株菌株所属种,具体的方法和结果的判定参照相关文献^[12]。对收集的 11 株菌株的二代测序结果进行多位点序列(MLST)分型(<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/>)以及耐药基因分析(ResFinder v4.1<https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/>)。对代表菌株进行 Nanopore 三代测序,并结合其二代测序数据,获得代表菌株的染色体和质粒的完整序列。再利用在线网站,对代表菌株的染色体和质粒进行基因组注释(RAST <http://RAST.nmpdr.org>)以及质粒复制子类型分析(PlasmidFinder v2.0<https://cge.food.dtu.dk/services/PlasmidFinder/>);对代表菌株携带碳青霉烯酶基因的质粒与 PuMmed 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/>)当中的参考质粒 pIncX-SHV(NC_019157)^[14]、pEh27_3(NZ_CP053694)以及 pECC2783_c(NZ_CP110357)^[15]进行比较基因组分析。

2 结果

2.1 菌株鉴定、药敏试验、MLST、碳青霉烯酶和耐药基因的检测

经 EX2600 质谱仪初始鉴定为阴沟肠杆菌的 11 株菌株,再经 ANI 值比对后,最终鉴定结果显示,仅 Q10 菌株为 *E.bugandensis*,其余均为霍氏肠杆菌。药敏试验结果显示,11 株菌株均对头孢三代、头孢四代、碳青霉烯类药物(厄他培南和亚胺培南)耐药,其中 Q4~Q9 菌株药敏表型完全一致。MLST 结果显示,11 株菌株的 MLST 共有 5 种,分别为 ST177、ST171、ST127、ST241 和 ST418,以 ST177 为主,占 63.6%(7/11),其中 Q4~Q9 菌株的 MLST 完全相同。NG-Test[®]CARBA 5 卡检测结果显示,11 株菌株均呈 NDM 型碳青霉烯酶阳性,其他四型未检出。耐药基因分析结果显示,11 株菌

株均携带碳青霉烯酶基因 *bla*_{NDM-1} 和其他多种耐药基因(如氨基糖苷类、喹诺酮类、四环素类、磺胺类和磷霉素等抗菌药物耐药基因),其中 Q4~Q9 菌株携带有相同的耐药基因。11 株菌株的 MLST 和携带的耐药基因详见表 1。

表 1 11 株菌的 MLST 和携带的耐药基因

菌株	MLST	耐药基因
Q1	ST171	<i>bla</i> _{NDM-1} , <i>bla</i> _{ACT-16} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{SHV-12} , <i>bla</i> _{OXA-1} , <i>aac</i> (3)-IIa, <i>aac</i> (6')-Ib-cr, <i>qnrB1</i> , <i>fosA</i> , <i>catB3</i> , <i>tet</i> (A), <i>dfrA14</i>
Q2	ST418	<i>bla</i> _{NDM-1} , <i>bla</i> _{ACT-16} , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{SHV-12} , <i>aph</i> (6)-IId, <i>aph</i> (3'')-Ib, <i>fosA</i> , <i>catA2</i> , <i>tet</i> (D), <i>dfrA14</i> , <i>sul2</i>
Q3	ST127	<i>bla</i> _{NDM-1} , <i>bla</i> _{ACT-16} , <i>bla</i> _{CTX-M-9} , <i>bla</i> _{SHV-12} , <i>aadA2b</i> , <i>ant</i> (2'')-Ia, <i>qnrA1</i> , <i>fosA</i> , <i>catA1</i> , <i>sul1</i> , <i>dfrA16</i>
Q4~Q9	ST177	<i>bla</i> _{NDM-1} , <i>bla</i> _{ACT-7} , <i>bla</i> _{SHV-12} , <i>bla</i> _{OXA-1} , <i>fosA</i> , <i>aac</i> (6')-Ib-cr, <i>qnrA1</i> , <i>catB3</i> , <i>sul1</i> , <i>ARR-3</i>
Q10	ST241	<i>bla</i> _{NDM-1} , <i>fosA</i>
Q11	ST177	<i>bla</i> _{NDM-1} , <i>bla</i> _{ACT-7} , <i>bla</i> _{SHV-12} , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>fosA</i> , <i>aac</i> (3)-IIId, <i>aac</i> (6')-Ib-cr, <i>aph</i> (3'')-Ib, <i>aph</i> (6)-IId, <i>aadA16</i> , <i>qnrS1</i> , <i>qnrB6</i> , <i>tet</i> (D), <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA12</i> , <i>dfrA27</i> , <i>mph</i> (A), <i>ARR-3</i>

2.2 菌株的同源性分析结果

同源性分析结果显示, Q4~Q8 菌株的条带数目、条带位置完全一致,但是与其他菌株存在差异。BioNumerics 软件分析结果显示,11 株菌株的 Dice 相似系数为 53.3%~100.0%,其中 Q4~Q8 菌株的 Dice 相似系数为 100.0%。见图 1。

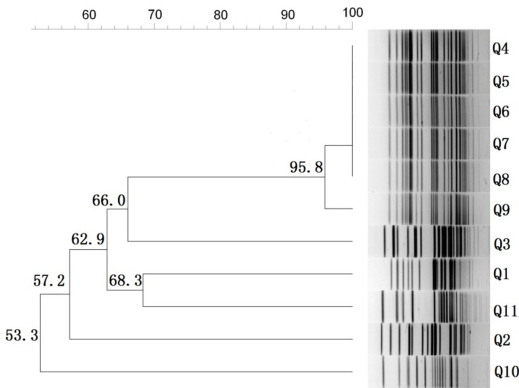
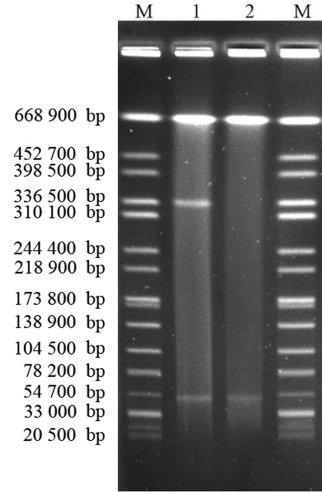


图 1 11 株菌株的同源性分析树状图

2.3 代表菌株的基因水平转移情况检测结果

Q4~Q8 菌株的 Dice 相似系数为 100.0%,且这些菌株的 MLST 和携带的耐药基因完全一致,因此选择 Q4 菌株作为疑似暴发克隆的代表菌株。质粒液相接合实验的结果显示, Q4 菌株将携带的碳青霉烯酶基因 *bla*_{NDM-1} 经质粒传递到了受体菌 *E.coli*J53Azi^R,将其接合子命名为 *E.coli*Q4-C。接合子(*E.coli*Q4-C)的验证:NG-Test[®]CARBA 5 卡检测结果显示, *E.coli*Q4-C 呈 NDM 型碳青霉烯酶阳性;S1-PFGE 检测结果显示, Q4 菌株可将携带的 2

个质粒(大小约为 350 000 和 54 000 bp)中的一个(约 54 000 bp)传递给 *E.coli*Q4-C,见图 2;药敏试验结果显示, *E.coli*Q4-C 对厄他培南和亚胺培南的最小抑菌浓度(MIC)比 *E.coli*J53Azi^R 分别提高 16 倍,见表 2。



M:沙门氏菌株 H9812,1:Q4 菌株;2:*E.coli*Q4-C

图 2 Q4 菌株和 *E.coli*Q4-C 的 S1-PFGE 图

表 2 Q4 菌株、*E.coli*Q4-C 和 *E.coli*J53Azi^R 对常用抗菌药物的 MIC(μ /mg · L⁻¹)

抗菌药物	Q4 菌株	<i>E.coli</i> Q4-C	<i>E.coli</i> J53Azi ^R
哌拉西林/他唑巴坦	≥128	64	≤4
头孢曲松	≥64	≥64	≤1
头孢他啶	≥64	≥64	≤1
头孢吡肟	16	8	≤1
氨曲南	≥64	16	≤1
厄他培南	≥8.0	≥8.0	≤0.5
亚胺培南	≥16	≥16	≤1
环丙沙星	0.50	≤0.25	≤0.25
左氧氟沙星	1.00	≤0.25	≤0.25
阿米卡星	≤2	≤2	≤2
妥布霉素	≤1	≤1	≤1
庆大霉素	≤1	≤1	≤1
磺胺甲噁唑/甲氧苄啶	≤20	≤20	≤20

2.4 代表菌株全基因组序列的生物信息分析结果

从二代 Illumina 和三代 Nanopore 测序平台获得 Q4 菌株的染色体和质粒的完整序列,然后进行生物信息分析,结果显示, Q4 菌株携带了 1 条染色体和 2 个质粒,分别将其命名为 Q4-Chr、pQ4-1 和 pE348_NDM;染色体 Q4-Chr 的序列长度以及平均 G+C 含量分别为 4 787 930 bp、55.44%,并且其 *bla*_{ACT-7}、*fosA* 耐药基因位于该染色体上;质粒 pQ4-1 的序列长度和平均 G+C 含量以及复制子类型分别为 350 528 bp、47.88% 和 IncHI2,并且该质粒携带有 *aac*(6')-Ib-cr、*bla*_{OXA-1}、*catB3*、*qnrA1*、*ARR-3*

和 *sul1* 耐药基因;质粒 pE348_NDM 的序列长度和平均 G+C 含量以及复制子类型分别为 54 036 bp、49.03% 和 IncX3, 并且该质粒携带有 *bla*_{NDM-1} 和 *bla*_{SHV-12} 耐药基因。

将 Q4 菌株携带的质粒 pE348_NDM 与参考质粒 pIncX-SHV (NC_019157)、pEh27_3 (NZ_CP053694) 和 pECC2783_c (NZ_CP110357) 进行比较基因组学分析, 结果显示: ① 质粒 pE348_NDM 与 pIncX-SHV 的骨架区有 99% 覆盖性和 >99% 的核苷酸同源性, 表明这两个质粒的骨架结构是相对保守的, 但是质粒 pE348_NDM 的骨架丢失了基因 *umuD*; ② 对质粒的外源区比较显示, 质粒 pE348_NDM、pIncX-SHV 以及 pEh27_3 都含有 The-*bla*_{SHV-12} region, 而且质粒 pE348_NDM、pEh27_3 以及 pECC2783_c 均含有耐药基因 *bla*_{NDM-1} 的 Δ Tn125。在质粒 pE348_NDM 中, The-*bla*_{SHV-12} region 的结构包括 IS26、 Δ yjbJ、*deoR*、*bla*_{SHV-12}、IS26, 该区域源于 IS26-*bla*_{SHV-12}-IS26 转座单元; 相比于完整的 IS26-*bla*_{SHV-12}-IS26 转座单元^[16], 质粒 pE348_NDM 和 pEh27_3 的 The-*bla*_{SHV-12} region 是反向的, 并且缺失了 3 个基因 *yjbM*、*yjbL* 和 *yjbK*; 与质粒 pE348_NDM 以及 pEh27_3 不相同, 质粒 pIncX-SHV 的 The-*bla*_{SHV-12} region 是正向的, 在其下游插入了序列 IS3000 致其截短。

3 讨 论

霍氏肠杆菌属于肠杆菌属, 是 ECC 的一种, 占 ECC 引起感染的 65%~75%。目前, 由于细菌鉴定方法学的限制, 基于质谱或生化检测的方法往往无法准确区分 ECC 中的一些种, 导致鉴定不完全正确和对其的研究相对较少。既往有报道显示, 霍氏肠杆菌曾在荷兰、美国、巴西和中国等国家引起住院患者的暴发感染^[17]。

本研究基于 Illumina 和 Nanopore 测序以及 PFGE 等技术对分离的 11 株非重复耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌 (Q1~Q11) 的基因型和同源性以及基因水平转移情况进行分析。本研究的 11 株菌株初始鉴定采用 EX2600 质谱仪, 经平均核苷酸一致性 ANI 值鉴定, 有 1 株 (Q10) 为 *E. bugandensis*, 其他 10 株均为霍氏肠杆菌, 说明质谱仪与 ANI 值对细菌的鉴定存在差异。ANI 值是将菌株测序数据与标准菌株的核苷酸序列进行比对后获得的, 其鉴定准确性相对较高, 但该方法还存在一定的局限性, 如试剂成本高, 需要后续对测序结果进行高难度的分

析, 目前不适用于临床微生物实验室日常工作中的细菌鉴定。

PFGE 技术是目前检测医院暴发细菌感染的常用方法和金标准^[18]。在本研究的 11 株菌中, Q4~Q6 菌株分离自新生儿科的患者, 其 Dice 相似系数为 100.0%, 同时这 3 株菌株的 MLST 均为 ST177, 携带的耐药基因也完全相同。根据 TENOVER 规则^[18-19]和对 Q4~Q6 菌株二代、三代测序结果的生物信息分析, 可以判定这 3 株菌株在分子流行病学上属于同一个克隆, 即具有同源性, 这提示存在菌株克隆的垂直传播。另外, 从现场流行病学的“三间分布”进行分析: 在“时间”方面, Q4~Q6 菌株均为短时间内分离 (分离时间 2016 年 12 月 8 日-2016 年 12 月 26 日); 在“空间”方面, Q4~Q6 菌株均来自于新生儿科; 在“人间”方面, 流行于新生儿科的新生儿之间, 因此从“三间分布”的现场流行病学调查结果分析, 该院曾存在新生儿的医院感染暴发事件。Q7 菌株于 2017 年 2 月 20 日分离自神经外科, 与 Q4~Q6 菌株分离的科室不同, 分离时间间隔两个月; Q8 菌株于 2017 年 2 月 25 日分离自新生儿科, 与 Q4~Q6 菌株同一科室, 但分离时间也间隔两个月, 因此 Q7、Q8 菌株虽然与 Q4~Q6 菌株有相同的 PFGE 条带、MLST 和携带相同的耐药基因, 但依据现场流行病学和医院感染暴发判定标准^[11], 尚不能确定这 2 株菌株与 Q4~Q6 菌株存在关联。因此, 综合以上分子流行病学和现场流行病学的信息, 表明在新生儿科于 2016 年 12 月曾发生过由携带 *bla*_{NDM-1}、*bla*_{ACT-7}、*bla*_{SHV-12}、*bla*_{OXA-1}、*fosA*、*aac*(6')-Ib-cr、*catB3*、*qnrA1*、*ARR-3* 和 *sul1* 耐药基因的 ST177 霍氏肠杆菌引起的克隆传播事件。经检索, 携带有上述耐药基因的 ST177 霍氏肠杆菌在新生儿科的暴发事件为国内外首次报道。

耐药基因的传播除了细菌克隆 (垂直) 传播外, 还可以经质粒等移动遗传元件进行细菌种内和 (或) 种间的基因水平转移。为了探讨引起暴发感染的霍氏肠杆菌其所携带的碳青霉烯酶基因的水平转移情况, 本研究从 Q4~Q6 菌株当中选择 Q4 菌株, 与 *E. coli* J53Azi^R 进行质粒液相接合实验。结果显示, Q4 菌株可以将携带 *bla*_{NDM-1} 基因的质粒传递给 *E. coli* J53Azi^R。对获得的接合子 *E. coli* Q4-C 进一步进行药敏试验, 结果显示, *E. coli* Q4-C 对厄他培南和亚胺培南的 MIC 比 *E. coli* J53Azi^R 高 16 倍, 表明 Q4 菌株对碳青霉烯类耐药与其携带 *bla*_{NDM-1} 基因有关, 且提示该基因经质粒介导可以在不同种属细菌

之间进行基因水平的转移。

比较基因组学分析的结果显示,本研究的质粒 pE348_NDM 与参考质粒 pIncX-SHV、pEh27_3 和 pECC2783_c 的骨架结构区和外源区有相同和不同的核苷酸序列,这种变化可能与耐药基因的遗传变异和进化以及传递有关。在肠杆菌科细菌中,转座子 Tn125 可以通过转座的方式介导 *bla*_{NDM-1} 的传播,并且在复杂的重组事件的作用下以各种截短的方式存在^[20-22]。同样,在质粒 pE348_NDM、pEh27_3 和 pECC2783_c 中,Tn125 也以截短的方式存在。另外,质粒 pE348_NDM 的 Δ Tn125 是反向的,其结构包括 ISCR21、*groEL*、*groES*、*cutA*、*dsbC*、*trpF*、*ble*_{MBL}、*bla*_{NDM-1}、 Δ ISAba125。其中, Δ ISAba125 的打断和 IS5D 的插入有关。

另外,菌株携带质粒的复制子分型和 MLST 与该菌的克隆传播和耐药基因的传递有关。根据复制子分型,Q4 菌株携带的质粒 pE348_NDM 属于 IncX3 型。DONG 等^[19]报道 *bla*_{NDM} 基因可位于 9 种不同类型的质粒上,其中大多数位于 IncX3 型质粒上,即该型质粒与 *bla*_{NDM} 在同种或不同种细菌中的播撒和传播有关。同样,其他碳青霉烯酶基因(如 *bla*_{OXA-181})也可位于该类型质粒上^[23],也可能引起传播。另外,耐碳青霉烯类霍氏肠杆菌的克隆传播与某些 MLST 有一定的关系,如产 NDM-1 酶霍氏肠杆菌 ST78 型为高危国际克隆^[17,24],这与本研究为 ST177 不同。

综上所述,本研究首次报道了由携带 *bla*_{NDM-1}、*bla*_{ACT-7}、*bla*_{SHV-12} 和 *bla*_{OXA-1} 耐药基因的 ST177 霍氏肠杆菌引起的新生儿医院感染暴发,并且携带 *bla*_{NDM-1} 基因的质粒具有在不同种属之间水平转移情况。本研究为控制和预防抗菌药物耐药性提供了新的数据和见解,也提示有必要对耐碳青霉烯类霍氏肠杆菌进行分子流行病学层面的监测。

作者声明:田哲、姜美妍、王斌、高振亮参与了研究设计;所有作者均参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] GANBOLD M, SEO J, WI Y M, et al. Species identification, antibiotic resistance, and virulence in *Enterobacter cloacae* complex clinical isolates from South Korea[J]. Front Microbiol, 2023,14:1122691.

[2] QIU X M, YE K, MA Y N, et al. Genome sequence-based species classification of *Enterobacter cloacae* complex: A study

among clinical isolates[J]. Microbiol Spectr, 2024,12(6): e0431223.

[3] GODMER A, BENZERARA Y, NORMAND A C, et al. Revisiting species identification within the *Enterobacter cloacae* complex by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. Microbiol Spectr, 2021,9(1): e0066121.

[4] WU W J, WEI L, FENG Y, et al. Precise species identification by whole-genome sequencing of enterobacter bloodstream infection, China[J]. Emerg Infect Dis, 2021,27(1):161-169.

[5] WU W J, FENG Y, ZONG Z Y. Precise species identification for *Enterobacter*: A genome sequence-based study with reporting of two novel species,*Enterobacter quasiroggenkampii* sp. nov. and *Enterobacter quasimori* sp. nov [J]. mSystems, 2020,5(4):e00527-20.

[6] SOUNA D, DRISSI M, ALMAHMOUD I, et al.*Enterobacter cloacae* complex and CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Algeria[J]. Microb Drug Resist, 2022,28(3):346-354.

[7] YE H T K, LIN H J, LIU P Y, et al. Antibiotic resistance in *Enterobacter hormaechei*[J]. Int J Antimicrob Agents, 2022,60(4):106650.

[8] LIU Y, LIU X J, LIU R S, et al. First characterization of four repeat regions with the *bla*_{NDM-1} carried on an IncFII plasmid in *Enterobacter hormaechei*[J]. iScience, 2025,28(5):112369.

[9] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2015:181-184,781-790.

[10] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)摘登(1)[J]. 新医学,2005,36(8):495.

[11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 医院感染暴发控制指南:WS/T 524—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2017.

[12] 刘艳飞. 碳青霉烯类耐药克雷伯菌血流感染分离株的耐药基因和毒力基因及同源性研究[D]. 青岛:青岛大学,2022.

[13] 王笑,王晓慧,姜美妍,等. 同时携带 blaNDM-1 和 blaKPC-2 基因肺炎克雷伯菌的研究[J]. 中国实验诊断学,2023,27(3):279-283.

[14] WU W H, WANG J, ZHANG P P, et al. Emergence of carbapenem-resistant *Enterobacter hormaechei* ST93 plasmids coharbouring bla NDM-1, bla KPC-2, and mcr-9 in bloodstream infection[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2023,34:67-73.

[15] CHEN C M, YU W L, HUANG M, et al. Characterization of IS26-composite transposons and multidrug resistance in conjugative plasmids from *Enterobacter cloacae*[J]. Microbiol Immunol, 2015,59(9):516-525.

[16] LI Y, LIU Q, QIU Y C, et al. Genomic characteristics of clinical multidrug-resistant *Proteus* isolates from a tertiary care hospital in southwest China[J]. Front Microbiol, 2022,13:977356.

[17] HO P L, CHEUNG Y Y, LO W U, et al. Molecular Characterization of an Atypical IncX3 Plasmid pKPC-NY79 Carrying bla KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae*[J]. Curr Microbiol, 2013,67(4):493-498.

gistic effects of tacrolimus and azole antifungal compounds in fluconazole-susceptible and fluconazole-resistant *Candida glabrata* isolates[J]. *Braz J Microbiol*, 2015,46(1):125-129.

[11] CLSI. Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast-4th ed.M27-A4[M].Way ne, PA:Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

[12] 廖勇. 毛孢子菌血症治疗策略与阿萨希毛孢子菌氟康唑耐药应对策略的临床与基础研究[D]. 上海:中国人民解放军海军军医大学, 2018.

[13] 冯莹莹,徐兴然,邹祥. 钙调磷酸酶信号调控真菌生长代谢、毒力及抗逆性能[J]. *微生物学报*, 2021,61(12):3844-3855.

[14] KARABABA M, VALENTINO E, PARDINI G, et al. CRZ1, a target of the calcineurin pathway in *Candida albicans* [J]. *Mol Microbiol*, 2006,59(5):1429-1451.

[15] ONG S C, GASTON R S. Thirty years of tacrolimus in clinical practice[J]. *Transplantation*, 2021,105(3):484-495.

[16] CRUZ M C, GOLDSTEIN A L, BLANKENSHIP J R, et al. Calcineurin is essential for survival during membrane stress in *Candida albicans*[J]. *EMBO J*, 2002, 21(4):546-559.

[17] SUN S J, LI Y, GUO Q J, et al. *In vitro* interactions between tacrolimus and azoles against *Candida albicans* determined by different methods[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(2):409-417.

[18] PANDEY N, TRIPATHI M, GUPTA M K, et al. Overex-

pression of efflux pump transporter genes and mutations in ERG11 pave the way to fluconazole resistance in *Candida tropicalis*; A study from a North India region[J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2020, 22:374-378.

[19] KHODAVAISY S, GHAREHBOLAGH S A, ABDORAHIMI M, et al. *In vitro* combination of antifungal drugs with tacrolimus (FK506) holds promise against clinical *Candida* species, including *Candida auris* [J]. *Med Mycol*, 2023,61(7):myad069.

[20] NEVES-JUNIOR A, CARTÁGENES-PINTO A C, ROCHA D A S, et al. Prevalence and fluconazole susceptibility profile of *Candida spp.* clinical isolates in a Brazilian tertiary hospital in Minas Gerais, Brazil[J]. *An Acad Bras Cienc*, 2015,87(2 Suppl):1349-1359.

[21] CHENG S Q, TANG M M, DU J, et al. Effects of antifungal drugs on the plasma concentrations and dosage of tacrolimus in kidney transplant patients[J]. *Eur J Hosp Pharm*, 2022, 29(4):202-206.

[22] TOME M, ZUPAN J R, TOMIČIĆ Z, et al. Synergistic and antagonistic effects of immunomodulatory drugs on the action of antifungals against *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *PeerJ*, 2018,6:e4999.

(本文编辑 李京蔓 厉建强)

(上接第 526 页)

[18] TENOVER F C, ARBEIT R D, GOERING R V, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing[J]. *J Clin Microbiol*, 1995,33(9):2233-2239.

[19] DONG H Y, LI Y, CHENG J, et al. Genomic epidemiology insights on NDM-producing pathogens revealed the pivotal role of plasmids on *bla_{NDM}* transmission [J]. *Microbiol Spectr*, 2022,10(2):e0215621.

[20] DONG D D, LI M L, LIU Z Z, et al. Characterization of a NDM-1- encoding plasmid pPHK418-NDM from a clinical *Proteus mirabilis* isolate harboring two novel transposons, tn6624 and tn6625[J]. *Front Microbiol*, 2019,10:2030.

[21] HU H Y, HU Y F, PAN Y L, et al. Novel plasmid and its variant harboring both a *bla_(NDM-1)* gene and type IV secretion system in clinical isolates of *Acinetobacter lwoffii* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012,56(4):1698-1702.

[22] LI X, WANG Q J, HUANG J W, et al. Clonal outbreak of NDM-1-producing *Enterobacter hormaechei* belonging to high-risk international clone ST78 with the coexistence of *tmexCD2-toprJ2* and *mcr-9* in China[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2023, 61(6):106790.

[23] LEELAPSAWAS C, SROITHONGKHAM P, PAYUNG-PORN S, et al. First report of *bla_{OXA-181}*-carrying IncX3 plasmids in multidrug-resistant *Enterobacter hormaechei* and *Serratia nevei* recovered from canine and feline opportunistic infections[J]. *Microbiol Spectr*, 2024,12(3):e0358923.

[24] CHEN C M, TANG H L, CHEN Y T, et al. Emergence and transmission of the high-risk ST78 clone of OXA-48-producing *Enterobacter hormaechei* in a single hospital in Taiwan [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2024,13(1):2404165.

(本文编辑 耿波)

作者书写结构式摘要须知

为便于进行国际间的学术交流和计算机索引,本刊论著部分论文所附的中英文摘要,将采用国际通用的结构式摘要。中文摘要以 350 字左右为宜,英文摘要与中文摘要对应。结构式摘要的内容分为:①目的、②方法、③结果和④结论 4 部分,格式可连续书写不分段落,但要列出上述标题。现将各部分的撰写要求分述如下。①目的(Objective):简要说明研究的目的,说明提出问题的缘由,表明研究的范围和重要性。②方法(Methods):简要说明研究课题的基本设计,使用了什么材料和方法,如何分组对照,研究范围及精确程度,数据是如何取得的,经何种统计学方法处理。③结果(Results):简要列出研究的主要结果和数据,有什么新发现,说明其价值及局限。并给出结果的置信值,统计学显著性检验的确切值。④结论(Conclusion):简要说明经验、论证取得的正确观点及其理论价值或应用价值,是否可推荐或推广等。在英文摘要内容前必须附英文文题,作者署名与第 1 作者单位(包括邮政编码),与原文相同。