



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.10.011

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.10.011

· 论著 ·

肺炎克雷伯菌耐药性变迁及其分子流行病学研究

万璐 刘潺 李良玉 刘兰 加明明 吴小军

【摘要】 目的 研究我院自血培养标本分离的肺炎克雷伯菌的耐药性变迁与分子流行病学,分析肺炎克雷伯菌敏感菌株和耐药菌株感染患者的临床特征。**方法** 回顾性分析我院肺炎克雷伯菌阳性血培养标本中肺炎克雷伯菌 878 株;同时收集自我院住院患者血培养的非重复肺炎克雷伯菌 40 株,采用浓度梯度法对菌株的耐药情况进行药敏试验,采用多位点序列分型 (MLST) 法进行基因分型,采用 PCR 法检测其中碳青霉烯耐药表型肺炎克雷伯菌的 bla_{KPC-2} 、 bla_{NDM-1} 、 bla_{OXA-48} 、 bla_{VIM} 、 bla_{IMP} 5 种碳青霉烯酶耐药基因,收集并分析菌株来源患者相关临床资料。**结果** 连续 8 年,亚胺培南与美罗培南的耐药率分别从 0 上升至 28.1% 和 27.1%,哌拉西林/他唑巴坦与阿莫西林/克拉维酸、环丙沙星与左氧氟沙星的耐药率均逐年上升。除头孢噻肟外,第一代至第四代头孢菌素类抗菌药物近 3 年耐药率均有上升,其中头孢唑啉和头孢呋辛至 2020 年均上升 50% 以上。肺炎克雷伯菌主要分布于 ICU (29.16%)。40 株肺炎克雷伯菌 MLST 以 ST11 型为主,系统发育树显示 40 株肺炎克雷伯菌主要来源于 7 个分支,6 株肺炎克雷伯菌具有碳青霉烯耐药表型,其中 4 株携带 bla_{KPC-2} 耐药基因,1 株携带 bla_{NDM-1} ,1 株同时携带 bla_{NDM-1} 与 bla_{IMP} 耐药基因。耐碳青霉烯类菌株感染患者住院时长、机械通气、使用两种或两种以上抗生素比例均显著高于敏感菌株感染患者 ($P < 0.05$)。**结论** 肺炎克雷伯菌对大部分常见抗菌药物耐药率呈现上升趋势,这些耐药菌株多来自于 ICU 患者,ST11 型是我院碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌主要的序列型,且多携带 bla_{KPC-2} 基因。

【关键词】 肺炎克雷伯菌; 耐药基因; 多位点序列分型; 临床特征

【中图分类号】 R446.5 **【文献标识码】** A

肺炎克雷伯菌是肠杆菌科的一员,是医院感染和社区获得性感染的常见病原体,可引起广泛的感染。近年来,抗生素的不合理使用使得肺炎克雷伯菌耐药率逐年增加,特别是耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌 (CRKP) 的出现,对全球公共卫生提出了严峻挑战,由其引起的感染极大限制治疗选择并致更高死亡率。肺炎克雷伯菌具有高度遗传多样性,大多数产超广谱 β -内酰胺酶或 CRKP 分离株属于特定的克隆,可基于多位点序列分型 (MLST) 来了解临床相关克隆型^[1]。本文的主要目的是了解肺炎克雷伯菌的分子流行病学和耐药机制,以此指导临床治疗如何更好地控制感染,为公共卫生政策提供新的方向^[2]。

材料与方

1. 对象:回顾性选取 2013 年 1 月 ~ 2020 年 12 月我院肺炎克雷伯菌阳性血培养标本数据,排除重复送

检数据(其中同一患者连续两次送检的重复分离株不予统计),共收集 878 株肺炎克雷伯菌药敏信息。同时收集 2019 年 6 月 ~ 12 月分离自我院住院患者血培养的非重复肺炎克雷伯菌 40 株,血培养采用美国 BD 公司的 BACTEC FX400 全自动血培仪,于甘油 LB 培养基中 -80℃ 保存。本研究已通过我院伦理委员会审核批准。

2. 方法

(1) 菌株鉴定和药敏试验:采用美国 BD 公司的 Phoenix100 自动微生物鉴定/药敏系统,病原菌分离鉴定按全国临床检验操作规程进行,共收集血培养标本来源患者临床信息较完善且保存完整的菌株 40 株。采用浓度梯度 (E-test) 法进行药敏试验,质控菌株为肺炎克雷伯菌 ATCC700603,折点判定参照美国临床和实验室标准化协会 (CLSI) 2020 年 m100-S30 标准^[3]。

(2) 病例资料收集与分组:通过临床医师电子病例系统,收集菌株来源患者相关临床资料,包括性别、年龄、科室、基础疾病、住院时长 (LOS)、抗生素使用、

机械通气和预后情况等。根据是否检出肺炎克雷伯菌耐药菌株,将 40 株血培养标本来源患者分为敏感菌株组(SKP 组,19 例)和耐药菌株组(GPKP 组,21 例)。

(3) MLST 测定:使用天根细菌基因组提取试剂盒提取 DNA 模板,通过 PCR 扩增肺炎克雷伯菌的 7 个管家基因(*rpoB*、*gapA*、*mdh*、*pgi*、*phoE*、*infB*、*tonB*),并将 PCR 阳性产物移交武汉天一辉远生物科技有限公司测序,将测序结果提交 MLST 数据库(<https://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>)进行分子分型,得到每株肺炎克雷伯菌序列分型(ST)。并基于 MLST 序列,使用最大似然法构建 CRKP 系统发育树。

(4) 碳青霉烯类耐药基因检测:对碳青霉烯类抗生素耐药的肺炎克雷伯菌[对任意碳青霉烯类抗生素耐药,如美罗培南、亚胺培南最小抑菌浓度(MIC)≥4 mcg/ml 或厄他培南 MIC ≥2 mcg/ml]使用天根细菌基因组提取试剂盒提取 DNA 模板,采用 PCR 扩增和基因测序的方法检测其常见耐药基因 *bla_{KPC-2}* (引物序列:F:TCGCTAAACTCGAACAGG,R:TTACTGCCCCGTTGACGCCCAATCC;长度:785 bp)、*bla_{NDM-1}* (引物序列:F:TTGGCCTTGCTGTCCTTG,R:ACACCAGTGACAATATCACC;长度:89 bp)、*bla_{OXA-48}* (引物序列:F:TTGGTGGCATCGATTATCGG,R:TTGGTGGCATCGATTATCGG;长度:743 bp)、*bla_{VIM}* (引物序列:F:AAGTCCGTAGCCCATTCCG,R:GCGATATGCGACCAAACACC;长度:114 bp)和 *bla_{IMP}* (引物序列:F:GGGCGTTGTCTAAACATGG,R:TAAGCCACTCTATTCGCCCC;长度:185 bp),引物合成及测序均由武汉擎科生物科技有限公司完成。测序结果上传国家生物技术信息中心(NCBI)

网站进行基本局部相似性对比搜索工具(Blast)比对。引物序列、反应体系及扩增条件参考相关资料文献^[4-5]。

3. 统计学处理:药敏结果应用 WHONET 5.6 软件进行统计分析,临床资料应用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。非正态分布的计量资料以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验;计数资料以例和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 2013 ~ 2020 年间肺炎克雷伯菌对常见抗菌药物的耐药情况:连续 8 年哌拉西林/他唑巴坦与阿莫西林/克拉维酸的耐药率均逐年上升;第一代至第四代头孢菌素类抗菌药物的耐药率变化呈波动性,除头孢噻肟外,其余药物 2018 ~ 2020 年间耐药率均有上升,其中头孢唑啉和头孢呋辛 2020 年均上升至 50% 以上。连续 8 年肺炎克雷伯菌对阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、氨曲南的耐药率均有上升;而四环素、米诺环素、复方新诺明耐药率并未出现明显增加,且 2018 ~ 2020 年间有下降趋势。连续 8 年碳青霉烯类抗生素亚胺培南与美罗培南的耐药率分别从 0 上升至 28.1% 和 27.1%。所收集菌株中并未检出对多粘菌素与替加环素耐药的菌株。见表 1。

2. 血培养标本来源科室的分布情况:分离出肺炎克雷伯菌的血培养标本来源临床科室分布占比居于前 5 位的分别是 ICU(29.16%,256/878)、肿瘤科(9.57%,84/878)、呼吸内科(7.86%,69/878)、肝胆外科(6.95%,61/878)和新生儿科(5.47%,48/878)。

表 1 2013 ~ 2020 年间肺炎克雷伯菌对常见抗菌药物的耐药情况[例,(%)]

年份	例数	阿米卡星	庆大霉素	哌拉西林	哌拉西林/他唑巴坦	阿莫西林/克拉维酸	头孢唑啉	头孢呋辛	头孢噻肟	头孢他啶	头孢吡肟
2013 年	54	11(20.4)	14(25.9)	24(44.4)	3(5.6)	4(7.4)	45(83.0)	—	17(31.5)	9(16.7)	15(27.8)
2014 年	77	6(7.8)	14(18.2)	24(31.2)	2(2.6)	6(7.8)	74(96.1)	—	23(29.9)	13(16.9)	18(23.4)
2015 年	49	0(0)	4(8.2)	8(16.3)	1(2.0)	2(4.1)	2(4.1)	—	5(10.2)	3(6.1)	4(8.2)
2016 年	58	5(8.6)	10(17.2)	15(25.9)	9(15.5)	12(20.7)	25(43.1)	—	16(27.6)	14(24.1)	13(22.4)
2017 年	130	27(20.7)	44(33.8)	59(45.4)	33(25.4)	34(26.2)	57(43.8)	22(16.9)	52(40.0)	46(35.4)	46(35.4)
2018 年	168	16(9.5)	48(28.6)	64(38.1)	25(14.9)	26(15.5)	57(33.9)	37(22.0)	53(31.5)	36(21.4)	51(30.4)
2019 年	246	23(9.3)	76(30.9)	119(48.4)	47(19.1)	64(26.0)	102(41.5)	92(37.4)	110(44.7)	73(29.7)	78(31.7)
2020 年	96	27(28.1)	35(36.5)	50(52.1)	31(32.3)	33(34.4)	49(51.0)	55(57.3)	19(19.8)	38(39.6)	44(45.8)

年份	例数	亚胺培南	美罗培南	环丙沙星	左氧氟沙星	氨曲南	四环素	米诺环素	复方新诺明	多粘菌素	替加环素
2013 年	54	0(0)	0(0)	13(24.1)	7(13.0)	13(24.1)	20(37.0)	—	15(27.8)	—	—
2014 年	77	0(0)	0(0)	19(24.7)	13(16.9)	15(19.5)	24(31.2)	—	24(31.2)	—	—
2015 年	49	1(2.0)	1(2.0)	13(26.5)	10(20.4)	4(8.2)	13(26.5)	—	7(14.3)	—	—
2016 年	58	10(17.2)	9(15.5)	16(27.6)	14(24.1)	14(24.1)	—	—	8(13.8)	—	—
2017 年	130	28(21.5)	28(21.5)	55(42.3)	44(33.8)	45(34.6)	53(40.7)	—	35(27.0)	—	—
2018 年	168	19(11.4)	17(10.1)	67(40.0)	50(29.8)	48(28.6)	72(42.9)	65(38.7)	67(40.0)	0(0)	0(0)
2019 年	246	32(13.0)	28(11.4)	100(40.7)	96(39.0)	77(31.3)	101(41.1)	37(15.0)	79(32.1)	0(0)	0(0)
2020 年	96	27(28.1)	26(27.1)	68(70.8)	62(64.6)	45(46.9)	35(36.4)	15(15.6)	26(27.1)	0(0)	0(0)

注:—表示未收集该药物的药敏信息;0 表示没有出现耐药

表 3 SKP 组和 GPKP 组血流感染患者的临床资料比较[例,(%)]

组别	例数	性别(男/女)	年龄≥60 岁	合并基础疾病						
				冠心病	高血压病	糖尿病	慢性阻塞性肺炎	慢性肾病	慢性肝病	恶性肿瘤
SKP 组	19	11/8	10(52.6)	1(5.3)	5(26.3)	11(57.9)	1(5.3)	2(10.5)	7(36.8)	6(31.6)
GPKP 组	21	16/5	12(57.1)	3(14.3)	8(38.1)	6(28.6)	2(9.5)	2(9.5)	3(14.3)	3(14.3)
χ ² /U 值		1.522	0.082	0.178	0.631	3.510	0.267	<0.001	2.754	1.729
P 值		0.217	0.775	0.673	0.427	0.061	0.999	0.999	0.097	0.188

组别	例数	LOS [天,M(P ₂₅ ,P ₇₅)]	抗生素使用种类		机械通气	预后		
			1 种	≥2 种		差	治愈	死亡
SKP 组	19	11(3.0,19.0)	13(68.4)	6(31.6)	2(10.5)	6(31.6)	12(63.2)	1(5.5)
GPKP 组	21	24(4.0,34.5)	7(33.3)	14(66.7)	8(38.1)	5(23.8)	13(61.9)	3(14.3)
χ ² /U 值		19.241		4.912	4.290	0.302	0.007	0.946
P 值		<0.001		0.027	0.038	0.583	0.935	0.331

3. MLST 结果:2019 年 6 月~12 月分离自血培养的 40 株肺炎克雷伯菌株中,2 株未检出 ST 分型,38 株有分型结果。其中,共检出 26 种 ST 型别,包括 ST11 型 4 株,ST17 型 3 株,ST23 型、ST36 型、ST37 型、ST65 型、ST86 型、ST485 型、ST700 型各 2 株,ST29 型、ST34 型、ST110 型、ST111 型、ST147 型、ST218 型、ST248 型、ST327 型、ST414 型、ST490 型、ST592 型、ST726 型、ST875 型、ST2389 型、ST2441 型、ST2459 型、ST5270 型各 1 株。系统发育树显示 40 株肺炎克雷伯菌主要来源于 7 个分支。

4. CRKP 的 MLST 及耐药基因构成:药敏试验结果显示,40 株肺炎克雷伯菌中具有碳青霉烯类抗生素耐药表型的肺炎克雷伯菌共 6 株,其中检出 4 株携带 bla_{KPC-2} 基因,1 株携带 bla_{NDM-1} 基因,1 株同时携带 bla_{IMP} 和 bla_{NDM-1} 基因,未检出携带 bla_{OXA-48} 和 bla_{VIM} 耐药基因。见表 2。

表 2 CRKP 的 MLST 及耐药基因构成

CRKP	患者来源科室	MLST	耐药基因				
			bla _{KPC-2}	bla _{NDM-1}	bla _{OXA-48}	bla _{VIM}	bla _{IMP}
KP129	器官移植科	ST147	-	+	-	-	-
KP137	消化内科	ST11	+	-	-	-	-
KP138	肾内科	ST2389	+	-	-	-	-
KP139	神经内科	ST11	+	-	-	-	-
KP142	ICU	ST11	+	-	-	-	-
KP144	肾内科	ST11	-	+	-	-	+

5. SKP 组和 GPKP 组血流感染患者的临床资料比较:40 株血培养标本中检出的肺炎克雷伯菌耐药菌株 21 株、敏感菌株 19 株。SKP 组患者年龄 60(18,73)岁,GPKP 组患者年龄 60(52,68)岁。GPKP 组 LOS、机械通气、使用两种或两种以上抗生素患者比例均显著高于 SKP 组($P<0.05$),两组患者性别、年龄≥60 岁、合并基础疾病及预后患者比例比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

讨 论

肺炎克雷伯菌是医院获得性感染的主要原因,也是社区获得性感染的常见原因之一^[6]。根据我国耐药性监测网络 CHINET 的数据显示,肺炎克雷伯菌对亚胺培南和美罗培南的耐药率从 2005 年的 3.0% 和 2.9% 上升至 2018 年的 26.3% 和 25.0%^[7]。CRKP 通常具有多重耐药性,包括 β-内酰胺类抗生素,所以 β-内酰胺酶抑制剂无法抑制其活性^[8]。因此,肺炎克雷伯菌耐药问题的研究对临床意义重大。

肺炎克雷伯菌对抗生素产生耐药性的主要机制有 3 种:酶的产生、外排泵的作用和膜孔蛋白的突变,其中以酶的产生为主,包括 KPC、NDM-1、VIM、IMP 和 OXA-48 在内的碳青霉烯酶,其几乎能水解所有 β-内酰胺类抗生素^[9]。KPC-2 是肺炎克雷伯菌中最常见的碳青霉烯酶^[1],此外,据报道,在我国 IMP、VIM 和 NDM 也参与了肺炎克雷伯菌的碳青霉烯类耐药性^[10]。本研究显示,2013 年~2020 年我院肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗生素美罗培南和亚胺培南耐药率整体呈现上升趋势,均超过 20%。最合理的解释是由于我院优先使用碳青霉烯类药物治疗严重感染,导致其使用量逐年增加,在选择压力下,促进了碳青霉烯耐药性的增强。而头孢噻肟的耐药率从 2013 年的 31.5% 下降至 2020 年的 19.8%,这可能与我院近年来停止使用这一抗生素有关。喹诺酮类抗生素环丙沙星与左氧氟沙星耐药率分别由 2013 年 24.1% 和 13.0% 上升至 2020 年 70.8% 与 64.6%,其耐药率的快速增长提示临床应该合理使用抗菌药物,在一定程度上更要提高标本的送检率。值得注意的是,我院连续 8 年未检出对多黏菌素与替加环素耐药的肺炎克雷伯菌株。对于 CRKP 的治疗,多项临床研究结果显示,对于严重感染的重症患者,碳青霉烯类药物与替加环素或多黏菌素联合用药被视为最佳治疗选择,患者死亡率明显低于单独用药者^[11-12]。当然,对于病情平稳、感

染不太严重的患者应尽可能地采用单药治疗。近 3 年米诺环素的耐药率逐年下降,有研究报道,依据 CLSI 标准,米诺环素的全球敏感性为 84.5%,但其在肠杆菌科中的临床应用数据有限,需要进一步的药代动力学研究和临床试验数据来确定这些药物的临床价值^[13]。

我院肺炎克雷伯菌的检出主要来自 ICU,其次是肿瘤科、呼吸与危重症医学科等科室,其中 ICU 占比高达 29.16%,这可能与 ICU 主要收治重症与高龄患者有关,患者大多基础疾病严重、抵抗力低下以及各种侵入性治疗与长时间大量广谱抗生素的应用相关,提示这一人群面临的院内感染风险更大,故在治疗中除注意严格执行无菌操作、尽量减少侵入性治疗外^[14-15],更应重视合理使用抗菌药物和监测细菌耐药的情况。

本次研究分离自血培养的 40 株肺炎克雷伯菌共检出 ST11 等 26 种序列型,系统发育树显示其主要来源于 7 支亲缘关系相近的菌株。其中主要 ST 型为 ST11,且都具有碳青霉烯耐药表型、携带 bla_{KPC-2} 耐药基因。已有报道,ST11 型属于克隆群 CG258,是产 KPC 肺炎克雷伯菌(KPC-kp)的主要克隆型,全球范围内绝大多数 KPC-kp 分离株都属于 CG258,包括两种主要序列类型 ST258 和 ST11,ST258 主要在北美、拉丁美洲和欧洲国家流行,而 ST11 主要在亚洲国家流行^[1]。同时,此次检出的 ST23 型和 ST65 型肺炎克雷伯菌也是亚洲引起侵袭性社区获得性感染的最主要序列类型,具有较强的侵袭性与毒力^[16],大多产 K1 荚膜多糖,携带多种毒力相关基因,如 rmpA/rmpA2^[17-18]。而序列型 ST17 常常携带有 bla_{CTX-M-15} 和 bla_{TEM-1B} 抗性基因^[19]。本研究的 6 株碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌还有两株携带有 bla_{NDM-1} 基因,其中一株同时还携带有 bla_{IMP} 基因,分别为 ST147 型和 ST2389 型,与 KPC-2 不同(大多产生于 ST11 型),产 NDM-1 和 IMP 菌株具有更广的克隆背景,这可能是由于其编码基因所在的可移动性元件更容易被不同的克隆捕获和传递。同时,我们还发现携带基因 bla_{NDM-1} 的肺炎克雷伯菌比其他碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌更可能对多种抗生素产生耐药性,这往往与许多带有 bla_{NDM-1} 的 IncA/C 质粒同时还携带其他抗性基因有关,如伴有编码氟喹诺酮类或氨基糖苷类药物耐药的其他基因,这与以前的许多研究一致^[20]。

本研究结果显示,耐药菌株感染患者住院时间平均为 24 天,而敏感菌株感染患者为 11 天;此外,前者大多使用 2 种或 2 种以上抗生素,后者多使用 1 种抗生素,这也表明长时间的住院与多种抗生素联合应用将导致耐药性的发生以及二重感染的风险。本研究显

示,除多粘菌素和替加环素外,肺炎克雷伯菌对包括碳青霉烯类在内的大部分抗生素耐药率呈上升趋势。ST11 型是我院碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的主要序列型,且大多携带 bla_{KPC-2} 基因。当然,本研究还存在着一定的局限性:(1)为单中心研究,具有区域局限性;(2)已知耐药基因的检测无法全面系统地解释耐药表型与基因型的关系,还需要进行全基因组序列分析。

参 考 文 献

- [1] Chen L, Mathema B, Chavda KD, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding[J]. Trends Microbiol, 2014, 22(12): 686-696.
- [2] Brink AJ. Epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative infections globally[J]. Curr Opin Infect Dis, 2019, 32(6): 609-616.
- [3] CLIS document M100 (30th Edn), Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing[S]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.
- [4] Poirel L, Héritier C, Toltin V, et al. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(1): 15-22.
- [5] van der Zee A, Roorda L, Bosman G, et al. Multi-centre evaluation of real-time multiplex PCR for detection of carbapenemase genes OXA-48, VIM, IMP, NDM and KPC[J]. BMC Infect Dis, 2014, 14: 27.
- [6] Holt KE, Wertheim H, Zadoks RN, et al. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(27): E3574-E3581.
- [7] Hu F, Guo Y, Yang Y, et al. Resistance reported from China antimicrobial surveillance network (CHINET) in 2018[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38(12): 2275-2281.
- [8] Iredell J, Brown J, Tagg K. Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications[J]. BMJ, 2016, 352: h6420.
- [9] Suay-Garcia B, Perez-Gracia MT. Present and Future of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Infections[J]. Antibiotics (Basel), 2019, 8(3): 122.
- [10] Yan J, Pu S, Jia X, et al. Multidrug Resistance Mechanisms of Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated in Chongqing, China[J]. Ann Lab Med, 2017, 37(5): 398-407.
- [11] 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.
- [12] Karaiskos I, Souli M, Galani I, et al. Colistin: still a lifesaver for the 21st century? [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2017, 13(1): 59-71.
- [13] Shankar C, Nabarro LEB, Anandan S, et al. Minocycline and Tigecycline: What Is Their Role in the Treatment of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Organisms? [J]. Microb Drug Resist, 2017, 23(4): 437-446.
- [14] Buetti N, Timsit JF. Management and Prevention of Central Venous Catheter-Related Infections in the ICU[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2019, 40(4): 508-523.
- [15] van Vught LA, Klein Klouwenberg PMC, Spitoni C, et al. Incidence, Risk Factors, and Attributable Mortality of Secondary Infections in the Intensive Care Unit After Admission for Sepsis[J]. JAMA, 2016, 315(14): 1469-1479.
- [16] Lai YC, Lu MC, Hsueh PR. Hypervirulence and carbapenem resistance: two distinct evolutionary directions that led high-risk *Klebsiella pneumoniae* clones to epidemic success[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2019, 19(9): 825-837.
- [17] Lam MMC, Wyres KL, Duchene S, et al. Population genomics of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clonal-group 23 reveals early emergence and rapid global dissemination[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2703.
- [18] Shi Q, Lan P, Huang D, et al. Diversity of virulence level phenotype of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from different sequence type lineage[J]. BMC Microbiol, 2018, 18(1): 94.
- [19] Lu B, Lin C, Liu H, et al. Molecular Characteristics of *Klebsiella pneumoniae* Isolates From Outpatients in Sentinel Hospitals, Beijing, China, 2010-2019[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 85.
- [20] Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide[J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(9): 821-830.

(收稿日期: 2022-01-10)

(本文编辑: 高婷)