

# 碳青霉烯类耐药高黏液型肺炎克雷伯菌分子流行病学和患者临床特征研究

吴旻,陈琼,许湘飞,李思颖,金洁,王淑颖,丁洁霞

浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院,浙江 杭州 310006

**摘要:** **目的** 探讨高黏液型肺炎克雷伯菌(hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*, HMKP)在碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)中的流行情况以及碳青霉烯类耐药高黏液型肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*, CR-HMKP)的分子生物学特征和患者临床特征。**方法** 收集浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院 2019 年 1—12 月间临床分离的不重复 CRKP 菌株 228 株,采用拉丝试验进行高黏液表型鉴定。测定所有菌株对不同抗菌药物敏感性,同时对 CR-HMKP 进行多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST),PCR 法检测荚膜血清型、毒力相关基因和碳青霉烯酶基因,并结合患者临床特征进行分析。**结果** 228 株 CRKP 中分离得 CR-HMKP 菌株 10 株(4.39%),碳青霉烯类耐药经典肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant classical *Klebsiella pneumoniae*, CR-cKP)菌株 218 株(95.61%)。10 株(100.00%)CR-HMKP 菌株为仅携带 *KPC-2* 基因 ST11 型,荚膜血清型以 K57 型(30.00%,3/10)为主。毒力基因 *rpmA*, *uge*, *wabG*, *fimH*, *iutA*, *iroN*, *entB*, *allS* 在 10 株 CR-HMKP 菌株中均存在, *kfu* 基因在 9 株(90.00%)CR-HMKP 中发现,未发现 *magA* 基因。较 CR-cKP 菌株,CR-HMKP 菌株对阿米卡星、庆大霉素敏感性高;较 CR-cKP 患者,CR-HMKP 感染更易发生多部位感染,更容易侵袭血液、无菌体液和呼吸道,且血清降钙素原、入院后前 24 hSOFA 评分和死亡率(60%,6/10)更高,差异均有统计学意义。**结论** 该院 CR-HMKP 菌株均为携带 *bla<sub>KPC-2</sub>* 基因的 ST11 型。CR-HMKP 感染侵袭性更强,更容易侵袭血液,易导致多脏器功能障碍,它与死亡率增加密切相关,控制医院感染至关重要。特别是对于 ST11 CR-HMKP 菌株,在全球范围内的流行应引起关注。

**关键词:** 肺炎克雷伯菌;高黏液型;碳青霉烯耐药;荚膜血清型;多位点序列分型

**中图分类号:** R372 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2020)12-1525-04 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2020.12.033

近年来,碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)分离率逐年攀升,已成为医院感染控制的重要难题。主要的碳青霉烯酶包括肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶(carbapenemase of *Klebsiella pneumoniae*, KPC),新德里金属  $\beta$ -内酰胺酶(new delhi metallo- $\beta$ -lactamases, NDM)和碳青霉烯水解 D 类  $\beta$ -内酰胺酶等都在全球范围内传播<sup>[1]</sup>。1986 年,台湾学者首次报道了由经典肺炎克雷伯菌(classical *Klebsiella pneumoniae*, cKP)变种而来的具有高黏滞表型特征,临床表现为多发侵袭感染的高毒力菌株<sup>[3]</sup>,由它引起的感染往往来势汹涌,发展迅速,可导致危及生命的脓毒血症,肝脏和肝外部位的脓肿、脑膜炎、眼炎和坏死性筋膜炎、重症肺炎等。研究人员普遍采用一种半定量拉丝试验定义高黏液型肺炎克雷伯菌

(hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*, HMKP),即菌落有黏液丝并且牵拉长度>5 mm 判为拉丝试验阳性<sup>[2]</sup>,也被称为高毒力肺炎克雷伯菌(hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*, hvKP)。hvKP 菌株对临床常用抗生素表现为敏感(氨基西林除外),细菌在产生耐药性之后,其生存力、稳定性会发生变化,即适应性发生改变,毒力也会随之下降,因此传统观点认为,高毒力和高耐药不会在同一菌株上出现。然而,自 2013 年中国北京佑安医院报道多重耐药 hvKP 菌株出现之后,先后又多次报道了碳青霉烯类耐药 HMKP(CR-HMKP)菌株出现<sup>[3-4]</sup>,这些菌株初步判断同时具有高毒力和高耐药。有关 CRKP 或 HMKP 菌株的流行和分子生物特征的研究较多。但对 CR-HMKP 菌株的研究较少,更鲜有研究者从宿主、病原体和宿主-病原体相互关系等方面进行系统的分析。本研究对 CRKP 和 CR-HMKP 患者的临床特征、菌株耐药性、分子生物学特征、毒力基因谱等方面进行全面分析,以了解 HMKP 在 CRKP 中的流行情况,为临床合理使用抗生素及控制其流行提供理论依据。

**基金项目:**浙江省医药卫生科技计划项目(2020KY694);南京医科大学科技发展基金项目(2017NJMUZD083)

**作者简介:**吴旻(1977-),女,硕士研究生,副主任医师,主要从事微生物细菌,耐药机制方向的研究工作。

1 材料与方法

1.1 菌株来源和鉴定 共收集浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院 2019 年 1—12 月间肺炎克雷伯菌株 1 128 株,剔除相同患者相同部位分离的菌株,最终获得 902 株不重复的肺炎克雷伯菌株,利用基质辅助激光解吸/电离飞行进行菌种鉴定。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、肺炎克雷伯菌 ATCC700603。

1.2 药物敏感试验 采用 Vitek 2 compact 系统(法国梅里埃)测定以下抗菌药物的敏感性:头孢唑啉、头孢曲松、头孢吡肟、阿莫西林/克拉维酸、厄他培南、亚胺培南、氨曲南、阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑、替加环素,结果根据 2017 年美国临床和实验室标准协会标准判定。

1.3 拉丝试验鉴定菌株高黏液表型 对所有 CRKP 菌株进行拉丝试验:即分离鉴定的肺炎克雷伯菌 37 ℃ 培养 16~18 h,接种环在琼脂平板上拉伸细菌菌落可以形成长度≥5 mm 的黏液丝表示拉丝试验阳性<sup>[2]</sup>,确定为 HMKP。

1.4 菌株来源和分布,患者临床特征比较分析 根据药物敏感试验和拉丝试验结果,将所有 CRKP 患者分为 CR-HMKP 组和非高黏型碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌,即碳青霉烯类耐药经典肺炎克雷伯菌(CR-cKP)组两组。对临床菌株来源情况,患者临床特征进行回顾性分析,包括:(1)患者基本信息:性别、年龄。(2)患者疾病状况:包括炎症指标(白细胞计数,降钙素原)、营养状态(血清白蛋白)、入院后前 24 h 序贯器官衰竭评估(sequential organ failure assessment,SOFA)。(3)临床结局:3 月内生存情况。

1.5 CR-HMKP 菌株多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST) 按照巴斯德研究所 MLST 网站(<http://bigsdb.Pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>)描述,对 CR-HMKP 的 7 个管家基因进行 MLST 分析。具体流程如下:(1)DNA 模板制作:孵育和收集 4 ml 菌液,具体步骤参照 DNA 提取试剂盒说明书。(2)PCR 扩增目的基因:7 个管家基因(*gapA*、*infB*、*rpoB*、*phoE*、*mdh*、*pgi*、*tonB*)以基因组 DNA 为模板,配制 25 μl 反应体系。PCR 反应条件:预变性 94 ℃ 2 min,循环 94 ℃ 30 s,50 ℃ 1 min,72 ℃ 30 s,共 35 个循环;最后延伸 72 ℃ 5 min。(3)DNA 测序及分析:PCR 产物由纯化及双向测序,将 7 个管家基因的序列与 MLST 数据库中已知的等位基因序列相比对,获得相应的序列号。

1.6 CR-HMKP 菌株荚膜血清型、毒力因子和碳青霉烯酶检测 采用 PCR 对 CR-HMKP 菌株进行荚膜血

清型基因检测,包括 *K1*、*K2*、*K5*、*K16*、*K20*、*K54*、*K57*<sup>[5]</sup>;10 个毒力因子基因检测,包括荚膜(*rpmA*、*magA*)、LPS(*uge*、*wabG*)、菌毛(*fimH*)、含铁细胞(*iutA*、*iroN*、*entB*)和其他毒力基因(*allS*、*kfu*)<sup>[6]</sup>;碳青霉烯酶(*KPC-2*、*VIM*、*IMP*、*OXA-48*和 *NDM-1*)<sup>[7]</sup>。具体流程如下:(1)DNA 模板制作:孵育和收集 4 ml 菌液,具体步骤参照 DNA 提取试剂盒说明书。(2)PCR 扩增上述目的基因:引物序列见表 1,以基因组 DNA 为模板,配制 25 μl 反应体系。PCR 反应条件:不同的基因的 PCR 反应条件不同,以文献为参考<sup>[5-7]</sup>。(3)DNA 测序及分析:全部 PCR 扩增后,用 1%琼脂糖凝胶电泳和测序法直接检测 PCR 产物,测序得到的基因片段用 Bioedit 软件进行序列比对和 GenBank 网上分析查询。

表 1 荚膜血清型、毒力因子和碳青霉烯酶检测 PCR 引物序列

基因	引物	序列(5'→3')
K1	F	GTAGGTATTGCAAGCCATGCG
	R	GCCCAGGTTAATGAATCCGT
K2	F	GGAGCCATTGTAATTCGGTG
	R	TCCCTAGCACTGGCTTAAGT
K5	F	GCCACCTCTAAGCATATAGC
	R	CGCACCACTAATCCAAACAG
K20	F	CCGATTCGGTCAACTAGCTT
	R	GCACCTCTATGAACCTTCAG
K54	F	CATTAGCTCACTGGTTGGCT
	R	GCTTGACAAACACCATAGCAG
K57	F	CGACAAATCTCTCTGACGA
	R	CGCGACAAACATAACACTCG
rpmA	F	ACTGGGTACCTCTGCTTCA
	R	CTTGCACTGAGCCATCTTTCA
rpmA	F	ACTGGGTACCTCTGCTTCA
	R	CTTGCACTGAGCCATCTTTCA
uge	F	TCTTCAGCCCTCTCCTCACT
	R	GATCATCCGCTCTCCCTGTA
wcaG	F	GGTTGGKTCAGCAATCGTA
	R	ACTATTCGCCCACTTTTGC
fimH	F	TGCTGCTGGGCTGGTCGATG
	R	GGGAGGGTGACCGTGACATC
iutA	F	GGCTGGACATCATGGAACCTGG
	R	CGTGGGAACGGGTAGAATCG
iroN	F	GGCTACTGATACTTGACTATTTC
	R	CAGGATACAATAGCCCATAG
entB	F	ATTTCTCAACTTCTGGGGC
	R	AGCATCGGTGGCGGTGGTCA
allS	F	CCGAAACATTACGCACCTTT
	R	ATCACGAAGAGCCAGGTCAC
KfuB	F	GAAGTGACGCTGTTTCTGGC
	R	TTTCGTGTGGCCAGTGACTC
KPC-2	F	ATGTCAGTGTATCGCCGTCT
	R	TTTTCAGAGCCTTACTGCC
VIM	F	GATGGTGTGTTGGTCGCATA
	R	CGAATGCGCAGCACCAG
IMP	F	GGAATAGAGTGCGCTTAAYTCTC
	R	GGTTTAAAYAAAAACAACCACC
OXA-48	F	GCGTGGTTAAGGATGAACAC
	R	CATCAAGTTCAACCCAACCG
NDM-1	F	GGTTGGCGCATCTGGTTTTC
	R	CGGAATGGCTCATCAGCATC

1.7 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件,分别对 CR-cKP 组和 CR-HMKP 组抗菌药物敏感结果、菌株分布和患者临床特征数据进行统计学分析,计数资料采用例数(%)表示,进行 $\chi^2$ 检验;以均数±标准数( $\bar{x} \pm$

s)表示计量资料,进行  $t$  检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 菌株来源和分布情况 根据药物敏感试验结果显示,902 株不重复的肺炎克雷伯菌株中共收集 228 株 CRKP 菌株,来自 228 例不同患者。分别来自消化科(81 例),重症监护病房(61 例),肝胆胃肠外科(19 例)和血液科(16 例),康复科(9 例),呼吸科(8 例),脑外科和肾内科各 7 例,神经内科(5 例),感染科(4 例),肿瘤科和心内科各 3 例,老年科(2 例),医学整形科,骨科和儿科各 1 例。根据高黏表型将 228 株不重复菌株分组,218 株(95.61%,218/228)为 CR-cKP 菌株。10 株(4.39%,10/228)为 CR-HMKP 菌株。

2.2 抗生素敏感性比较和 CR-HMKP 菌株碳青霉烯酶检测 CRKP 菌株对绝大多数常用抗生素表现出较高的耐药率,CR-cKP 和 CR-HMKP 菌株抗生素敏感性比较见表 2。其中 CR-HMKP 菌株对阿米卡星、庆大霉素敏感性比 CR-cKP 菌株高( $P<0.05$ )。仅仅 4 株(1.83%) CR-cKP 菌株对替加环素耐药,10 株 CR-HMKP 对替加环素均敏感。对其他抗生素敏感性 CR-cKP 菌株和 CR-HMKP 菌株一致( $P>0.05$ ),均表现耐药。10 株 CR-HMKP 菌株均产 KPC-2 碳青霉烯酶,未检测到其他碳青霉烯酶(包括 VIM、IMP、OXA-48 和 NDM-1)。

表 2 CR-cKP 和 CR-HMKP 菌株抗生素敏感性比较

抗生素	耐药菌株数(%)		$\chi^2$ 值 <sup>a</sup>	P 值
	CR-cKP 组( $n=218$ )	CR-HMKP 组( $n=10$ )		
头孢唑啉	218(100.00)	10(100.00)		
头孢曲松	218(100.00)	10(100.00)		
头孢吡肟	218(100.00)	10(100.00)		
阿莫西林/克拉维酸	218(100.00)	10(100.00)		
厄他培南	218(100.00)	10(100.00)		
亚胺培南	192(88.07)	9(90.00)	0.099	0.752
氨曲南	218(100.00)	10(100.00)		
阿米卡星	125(57.34)	2(20.00)	3.995	0.045
庆大霉素	138(63.01)	2(20.00)	5.848	0.016
环丙沙星	200(91.74)	10(100.00)	0.121	0.728
左氧氟沙星	188(86.23)	8(80.00)	0.008	0.928
磺胺甲恶唑/甲氧苄啶	218(100.00)	10(100.00)		
替加环素	4(1.83)	0(0.00)	0.639	0.424

注:a 为校正  $\chi^2$  值。

2.3 患者临床特征比较 CR-cKP 组和 CR-HMKP 两组患者临床特征比较见表 3。两组患者在性别和年龄分布上差异无统计学意义( $P>0.05$ )。CR-HMKP 组患者血清降钙素原( $P=0.001$ )、入院后 24 h 内 SOFA 评分( $P=0.038$ )和死亡率( $P=0.000$ )较 CR-cKP 组更高,差异均有统计学意义;而感染后白细胞水平,血清白蛋白水平,两组患者差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

表 3 CR-cKP 组和 CR-HMKP 组患者临床特征比较

特征	CR-cKP 组( $n=218$ )	CR-HMKP 组( $n=10$ )	$\chi^2$ 或 $t$ 值	P 值
基本信息				
男性( $n, \%$ )	120(55.05)	8(80.00)	1.511 <sup>a</sup>	0.219
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	69.32 $\pm$ 15.78	63.30 $\pm$ 17.38	0.083	0.802
炎症指标				
白细胞( $\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$ )	16.26 $\pm$ 8.14	21.57 $\pm$ 11.62	2.822	0.072
降钙素原( $\mu g/L, \bar{x} \pm s$ )	3.24 $\pm$ 1.12	8.84 $\pm$ 3.01	13.841	0.000
营养状况				
白蛋白( $g/L, \bar{x} \pm s$ )	31.47 $\pm$ 5.52	30.81 $\pm$ 5.25	2.718	0.127
疾病状态				
SOFA 评分( $\bar{x} \pm s$ )	2.63 $\pm$ 1.25	4.10 $\pm$ 2.23	3.488	0.001
死亡( $n, \%$ )	20(9.17)	6(60.00)	19.676 <sup>a</sup>	0.000

注:a 为校正  $\chi^2$  值。

2.4 CR-HMKP 感染患者临床情况分析 10 例患者分别来自消化科(3 例),重症监护病房(2 例),肝胆胃肠外科(3 例),脑外科,肾内科各 1 例。与 CR-cKP 组比较,CR-HMKP 组有 7 例患者发生肺部感染(70.00% vs. 28.89%);6 例患者发生血流感染(60.00% vs. 11.47%),其中 5 例患者最终死亡;4 例患者发生其他无菌体液感染(40.00% vs. 3.67%),标本分别来自胸腔积液,腹水和脑脊液;5 例患者发生胆道感染(50.00% vs. 27.98%);8 例患者发生 CR-HMKP 多部位迁徙感染(80.00% vs. 4.59%)。8 例(80.0%)患者合并复数菌(即同一患者在不同部位或同一部位不同时期培养到不同的细菌)感染,主要合并菌有肠球菌(5 例),大肠埃希菌(4 例),单胞菌(3 例)和念珠菌(2 例)。

2.5 CR-HMKP 菌株 MLST 序列类型、菌株荚膜血清型和菌株毒力基因谱分布 10 株 CR-HMKP 均为 ST11,荚膜血清型以 K57 型为主(3 株,30.00%),1 株为 K2 型,6 株未成功分型。本研究检测的 *ompA*、*uge*、*wabG*、*fimH*、*iutA*、*iroN*、*entB*、*allS* 毒力基因在所有 CR-HMKP 菌株中均存在(100.00%),*kfu* 基因在 9 株(90.00%)CR-HMKP 中发现,未发现 *magA* 基因。

3 讨 论

HMKP 因具有较厚的荚膜和脂多糖,能够保护细菌免受血清因子和吞噬作用的影响,易造成严重的迁徙播散感染,且在亚裔人种中分离率极高,预后差,病死率高达 3%~42%<sup>[8]</sup>。近年来,碳青霉烯类耐药问题的出现直接加剧了 HMKP 菌株在医院内的播散。众所周知,质粒介导的碳青霉烯酶是目前造成肺炎克雷伯菌乃至 hvKP 产生碳青霉烯类抗生素耐药的重要原因。肺炎克雷伯菌碳青霉烯类耐药性的日益增长和高毒力并存已成为中国医院的头等难题。本研究发现 CRKP 菌株分离率为 25.28%,与 2019 年 CHINET 统计全国平均水平 25.9%一致,高于 2018 年 CARSS 统计全国 10.6%平均水平,也高于浙江地区近年来水



平<sup>[9-10]</sup>。用拉丝试验筛查出 10 株 CR-HMKP 菌株, 占所有 CRKP 感染的 4.39%, 低于 2013 年浙江省两家三甲医院报道的 7.4%<sup>[9]</sup>。对菌株耐药性分析发现, 所有 CRKP 菌株表现为多重耐药, 尤其对碳青霉烯类抗生素、氟喹诺酮类抗菌药物和头孢菌素类抗生素均表现为高度耐药, 但 CR-HMKP 菌株对氨基糖苷类抗生素仍具备一定的敏感性, 且较 CR-cKP 菌株敏感。令人欣慰的是, 几乎所有的 CRKP 对替加环素敏感, 100.00% 的 CR-HMKP 菌株对替加环素敏感。从 CRKP 菌株分离部位分析, CR-HMKP 菌株更易侵犯肺部, 血液和胆道; 而 CR-cKP 更易侵犯肺部, 胆道和泌尿道。与 CR-cKP 感染相比, CR-HMKP 感染更易出现血流感染, 菌血症死亡率高达 83.33%; 迁徙性感染发生率更高, 共收集到 10 例 CR-HMKP 患者不同部位菌株 26 株, 其中一位尿毒症患者和一位脑外伤原发肺部感染患者均在 5 处不同部位培养到 CR-HMKP; CR-HMKP 感染更易出现多脏器功能衰竭, 死亡率达 60.00%; 也容易合并复数菌感染, 最容易合并肠球菌和大肠埃希菌。本研究 CR-HMKP 感染患者与 CR-cKP 感染患者均主要来自消化科, 重症监护病房和肝胆胃肠外科病房, 10 位 CR-HMKP 感染患者中有 6 位曾在 ICU 住院, 且均在 2017 年 3 月间和 7 月间, 3 位在消化科病房接受治疗, 这提示医院感染可能是造成 CR-HMKP 播散的主要原因。有研究发现 CR-hvKP 菌株可同时携带毒力质粒和耐药质粒, 甚至耐药基因和毒力基因可通过同一质粒“共传播”<sup>[11]</sup>。CR-HMKP 菌株的形成既可以 cKP 菌株为基础形成, 也可以 hvKP 菌株为基础质粒介导传播形成。为了进一步了解本院 CR-HMKP 菌株的可能播散原因, 本研究对分离得的 10 株 CR-HMKP 菌株进行了生物遗传学、毒力基因谱和碳青霉烯类耐药基因分析。之前众多研究表明, K1 和 K2 荚膜血清型是 HMKP 主要的荚膜血清型。本院分离的 CR-HMKP 菌株荚膜血清型主要以 K57 型 (3 株, 30%) 为主, 这是鲜有报道的。结合临床资料发现, 3 例 K57 荚膜血清型 CR-HMKP 感染患者中 2 例 (66.7%) 最终死亡, 且感染侵袭部位高达 5 处。另外, 发现 6 株未分型, 1 株 K2 型, 未发现 K1 型, 这与 Zhang 等<sup>[3]</sup> 先前报道的 5 株 CR-hvKP 菌株中 4 株为未分型, 1 株为 K2 型一致。除 *magA* 毒力基因以外, 其他 9 个毒力基因在几乎所有的本研究的 CR-HMKP 菌株中存在。以往的研究表明, *magA* 是 K1 荚膜血清型的特征<sup>[12]</sup>, 这与本研究 CR-HMKP 菌株中未发现 K1 型菌株结果一致。

本研究发现的 10 株 CR-HMKP 菌株均为 *bla*<sub>KPC-2</sub>

基因 ST11 克隆型。先前的研究发现 ST11 是产碳青霉烯酶 KPC 酶的主要克隆型<sup>[13]</sup>, 但是在 HMKP 菌株中很少被报道。自 2015 年以来, 先后在浙江多家医院被报道发生 ST11 型 CR-HMKP 菌株的暴发流行<sup>[6]</sup>。有研究发现 ST11 型肺炎克雷伯菌株存在外膜蛋白 OmpK36 的缺失, 可能是造成高耐药原因<sup>[14]</sup>, 甚至在毒力及致病力上也发挥重要作用<sup>[15]</sup>。这些都为后续研究 CR-HMKP 菌株形成的原因和路径提供了思路。

综上所述, CRKP 菌株在该院已经普遍流行, 并发现一定比例的 CR-HMKP 菌株, 其侵袭性更强, 更容易侵袭血液, 易导致多脏器功能障碍, 与死亡率增加密切相关。该院 CR-HMKP 菌株均为携带 *bla*<sub>KPC-2</sub> 基因的 ST11 型。加强对临床该类耐药菌株的监测, 控制医院感染至关重要, 特别是对于 ST11 CR-HMKP 菌株, 在全球范围内的流行应引起关注。

#### 参考文献

- [1] Lee IR, Molton JS, Wyres KL, et al. Differential host susceptibility and bacterial virulence factors driving *Klebsiella* liver abscess in an ethnically diverse population [J]. Sci Rep, 2016, 13(6): 29316.
- [2] Siu LK, Yeh KM, Lin JC, et al. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess; a new invasive syndrome [J]. Lancet Infect Dis, 2012, 12(11): 881-887.
- [3] Zhang Y, Zeng J, Liu W, et al. Emergence of a hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolate from clinical infections in China [J]. J Infect, 2015, 71(5): 553-560.
- [4] Feng Y, Lu Y, Yao Z, et al. Carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* of sequence type 36 [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(7): 6-11.
- [5] Li W, Sun G, Yu Y, et al. Increasing occurrence of antimicrobial-resistant hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* isolates in China [J]. Clin Infect Dis, 2014, 58(2): 225-232.
- [6] Zhan L, Wang S, Guo Y, et al. Outbreak by hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolates with carbapenem resistance in a tertiary hospital in China [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2017, 7(5): 182.
- [7] Liu Y, Wan LG, Deng Q, et al. First description of NDM-1-, KPC-2-, VIM-2- and IMP-4-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in a single Chinese teaching hospital [J]. Epidemiol Infect, 2015, 143(2): 376-384.
- [8] Deer D, Verdet C, Emirian A, et al. Emerging severe and fatal infections due to *Klebsiella pneumoniae* in two university hospitals in France [J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(8): 3012-3014.
- [9] Zhang R, Lin D, Chan E, et al. Emergence of carbapenem-resistant serotype K1 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strains in China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 60(1): 709-711.
- [10] 毛伟, 费林立, 陈柯婷, 等. 2016—2017 年诸暨地区产超广谱 13 内酰胺酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌检出及药敏情况 [J]. 实用预防医学, 2019, 26(4): 481-484.
- [11] Chen L, Kreiswirth BN. Convergence of carbapenem-resistance and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae* [J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(1): 2-3.
- [12] Fang CT, Chuang YP, Shun CT, et al. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications [J]. J Exp Med, 2004, 199(5): 697-705.
- [13] Qi Y, Wei Z, Ji S, et al. ST11 the dominant clone of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in China [J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(2): 307-312.
- [14] Wassef M, Abdelhaleim M, AbdulRahman E, et al. The role of OmpK35, OmpK36 porins, and production of beta-lactamases on imipenem susceptibility in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates, Cairo, Egypt [J]. Microb Drug Resist, 2015, 21(6): 577-580.
- [15] Siu LK, Fung CP, Chen TL, et al. *Klebsiella pneumoniae* outer membrane porins OmpK35 and OmpK36 play roles in both antimicrobial resistance and virulence [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(4): 1485-1493.