

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20255449

· 论 著 ·

重症监护病房耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌定植与传播研究

陈翔^{1,4}, 高晓东^{1,4}, 周春妹², 黄声雷², 潘文彦³, 刘霄³, 梅静骅³, 史庆丰^{1,4}

(1. 复旦大学附属中山医院感染管理科, 上海 200032; 2. 复旦大学附属中山医院检验科, 上海 200032; 3. 复旦大学附属中山医院重症监护室, 上海 200032; 4. 复旦大学医院感染与控制研究所, 上海 200032)

[摘要] 目的 探讨和分析重症监护病房耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)菌株特征与传播途径。方法 选取 2023 年 1—10 月某院肝外科监护病房 CRKP 临床感染株 17 株(临床感染组)、主动筛查株 5 株(主动筛查组)、环境分离株 7 株(环境组)进行全基因组测序分析, 并比较其耐药基因、毒力基因、ST 分型差异, 根据系统发育树分析其传播途径。结果 29 株 CRKP 分别携带 4~18 种耐药基因, 52~98 个毒力基因, 3 组 CRKP 的耐药基因、毒力基因的数量及基因型别分布比较, 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。ST 分型显示, 29 株 CRKP 主要包含 ST11 和 ST15 两大类, 基于核心基因组构建的系统发育树显示, 共有 7 组不同的 CRKP 高度同源, 其中 4 组有较为明确的流行病学关联。结论 重症监护病房的 CRKP 携带较多的耐药基因、毒力基因, 部分菌株 ST 分型和系统发育树高度同源, 存在交叉传播的可能, 今后应加强防控措施以减少 CRKP 的传播。

[关键词] 重症监护病房; 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌; 全基因组测序; 传播

[中图分类号] R181.3⁺2 R378.99⁺6

Colonization and transmission of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit

CHEN Xiang^{1,4}, GAO Xiaodong^{1,4}, ZHOU Chunmei², HUANG Shenglei², PAN Wenyan³, LIU Xiao³, MEI Jinghua³, SHI Qingfeng^{1,4} (1. Department of Infection Management, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; 3. Intensive Care Unit, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; 4. Institute of Infection and Control, Fudan University, Shanghai 200032, China)

[Abstract] **Objective** To explore and analyze the characteristics and transmission routes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) strains in intensive care unit (ICU). **Methods** From January to October 2023, 17 clinical infection isolates (clinical infection group), 5 active screening isolates (active screening group), and 7 environmental isolates (environmental group) of CRKP in the liver surgery ICU of a hospital were selected and analyzed by whole-genome sequencing. The differences in resistance genes, virulence genes, and sequence typing (ST) were compared, and transmission routes were analyzed based on the phylogenetic tree. **Results** 29 strains of CRKP carried 4–18 resistance genes and 52–98 virulence genes, respectively. There were no statistically significant differences in genotype distribution of resistance genes, the number of virulence genes, and gene types among three groups of CRKP (all $P > 0.05$). ST showed that 29 CRKP strains mainly consisted of two categories; ST11 and ST15. Based on the phylogenetic tree constructed from the core genome, there were 7 highly homologous groups of CRKP, among which 4 groups had clear epidemiological associations. **Conclusion** CRKP in ICU carries more re-

[收稿日期] 2024-06-19

[基金项目] 美国中华医学基金会(Grant # 23-513); 复旦大学附属中山医院发展基金资助项目(2021ZSFZ14); 上海申康医院发展中心市级医院临床科技创新项目(SHDC22021315); 上海申康医院发展中心第三批诊疗技术推广项目(SHDC22022220)

[作者简介] 陈翔(1994-), 女(汉族), 四川省绵阳市人, 主管医师, 主要从事医院感染研究。

[通信作者] 史庆丰 E-mail: fengzhuanxing@126.com

sistance and virulence genes, and some strains are highly homologous in ST and phylogenetic tree, which may lead to cross transmission. In the future, prevention and control measures should be strengthened to reduce the transmission of CRKP.

[Key words] intensive care unit; carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; whole-genome sequencing; transmission

耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)是一种在医院重症监护病房(intensive care unit, ICU)广泛流行的条件致病菌,可导致住院患者出现血流感染、肺部感染、尿路感染和腹腔感染等医院获得性感染。由于 CRKP 感染的临床治疗方案有限,且 ICU 患者基础疾病较多,并伴有较多的侵袭性操作,感染患者预后通常较差,导致较为严重的经济负担^[1]。基于“感染患者-医务人员/环境-感染患者”的传播理论被认为是 ICU 多重耐药菌流行的最主要方式^[2],并据此提出了包括加强手卫生、实施接触隔离、加强环境消毒频次等在内的集束化控制措施^[3]。但严格执行上述集束化措施也不能彻底杜绝医院感染的发生,因此,明确引起感染的病原菌的精准来源和传播途径成为多重耐药菌感染防控的新方向。

近年来,国内外多项研究^[4-6]发现,CRKP 在胃肠道的无症状定植是继发 CRKP 感染的独立危险因素,与非定植患者相比,其感染发病率增加了 10.8 倍,并加重患者经济负担,增加死亡风险。然而上述研究多为流行病学调查,缺乏细菌层面的同源判定,对其真实传播途径未进行深入分析,对传染源的溯源传播研究仍较为少见。随着全基因组测序(whole-genome sequencing, WGS)的快速发展,该技术可应用于对流行的耐药细菌进行高分辨区分,并详细阐述暴发研究和细菌进化规律^[7-9]。因此,本研究应用 WGS 技术,描述某综合医院 ICU 流行的 CRKP 菌株特性,以及环境、临床感染和定植的三类菌株之间传播。

1 对象与方法

1.1 研究对象 研究对象包括三类:①2023 年 1—10 月,某院肝外科 ICU 进行肠道定植主动筛查且经微生物实验室鉴定的 CRKP 菌株;②2023 年 1—10 月,肝外科 ICU 患者血标本鉴定为阳性的 CRKP 临床感染菌株;③2023 年 1—6 月,肝外科 ICU 环境标本分离鉴定出的 CRKP 菌株。

1.2 菌株复苏与鉴定 所有 CRKP 菌株从 -80℃

冻存管中复苏后接种至哥伦比亚血平板,37℃ 孵育培养 24 h,使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(MALDI-TOF)进行菌种鉴定。将复苏后的 CRKP 菌株于 EP 管中制成 1 mL 细菌混悬液,悬于 95℃ 加热仪中灭活 30 min,送至上海人类基因组研究中心进行 WGS。

1.3 WGS 提取标本 DNA,取 100 ng DNA 使用 Covaris S2(Covaris,美国)仪器将 DNA 打断至 400 bp 左右的片段。使用 NEXTflex™ DNA Sequencing Kit compatible with the Biomek® FXp (Bio Scientific,美国)构建 DNA 片段文库:加入 End Repair Reaction Buffer (10X)和 End Prep Enzyme Mix 进行末端修复,反应程序为 22℃ 30 min;使用 1.4 倍体积 AMPure XP Beads 纯化 DNA;加入 Adenylation Mix, 37℃ 进行加 A 反应(30 min);用 Ligation Mix 和 Adapter, 22℃ 反应 15 min;待反应完成后,用 1 倍体积 AMPure XP Beads 纯化产物,并切胶回收 350~450 bp DNA 片段。随后,取 10 ng DNA 进行 10 个循环的 PCR 扩增,PCR 反应条件为 98℃ 预变性 2 min, 98℃ 变性 30 s, 65℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min;PCR 产物采用 0.8 倍体积的 AMPure XP Beads 纯化,最终得到可供测序的文库。

通过华大智造 DNBSEQ-T7 第二代高通量测序平台进行 2×100 bp Paired-End 测序,并进行建库、扩增测序、质控,按 100 倍覆盖度上机。在 Linux 系统中运行 SPAdes 2.0 软件将测序原始 FASTQ 结果拼接为 FASTA 文件。

1.4 生信分析

1.4.1 多位点序列分型(MLST)和核心基因组多位点序列分型(cgMLST)分析 使用分子分型和微生物基因组多样性公共数据库对 CRKP 的 7 对管家基因(*gapA*、*rpoB*、*mdh*、*pgi*、*phoE*、*infB*、*tonB*)进行比对,并获得多位点序列(sequence typing, ST)分型编号。cgMLST 则根据 BioNumerics Calculation Engine 上的 *Klebsiella pneumoniae* 数据库选取核心基因,并应用 BioNumerics 7.0 软件进行聚类分析。

1.4.2 耐药基因分析 应用耐药基因在线筛选软

件 ResFinder 4.1 对所有菌株测序结果进行耐药基因的筛选和鉴定。应用 R 软件对耐药基因及其亚型进行聚类分析并制作热图,实现耐药基因分布的可视化。

1.4.3 毒力基因分析 使用在线毒力基因数据库 (<https://cge.food.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>) 比对和筛选所有标本的毒力基因。

1.4.4 同源分析 应用 CSI phylogeny 1.4 在线工具对所有菌株构建进化树。应用 iTOL (<https://itol.embl.de/>) 对输出结果进行调整。

1.5 统计分析 应用 SPSS 25.0 软件对数据进行录入和统计分析。计数资料的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株复苏与编号 2023 年 1—10 月,肝外科 ICU 主动筛查出的 7 株 CRKP 编号为 S1~S7(主动

筛查组),肝外科 ICU 患者血培养分离的 19 株 CRKP(剔除同一患者的重复菌株后)编号为 P1~P19(临床感染组);2023 年 1—6 月,肝外科 ICU 环境标本分离的 9 株 CRKP 菌株编号为 E1~E9(环境组)。经复苏、再次鉴定后发现,E3、P10、S6、S7 菌株为非 CRKP 细菌,P15 复苏失败,E9 被变形杆菌污染,多次纯化分离仍然无法得到纯种 CRKP 菌株,因此最终纳入全基因测序的菌株为主动筛查株 5 株、临床感染株 17 株、环境分离株 7 株,其中 S3 和 P6 来源于同一患者,S2 和 P7 来源于同一患者。

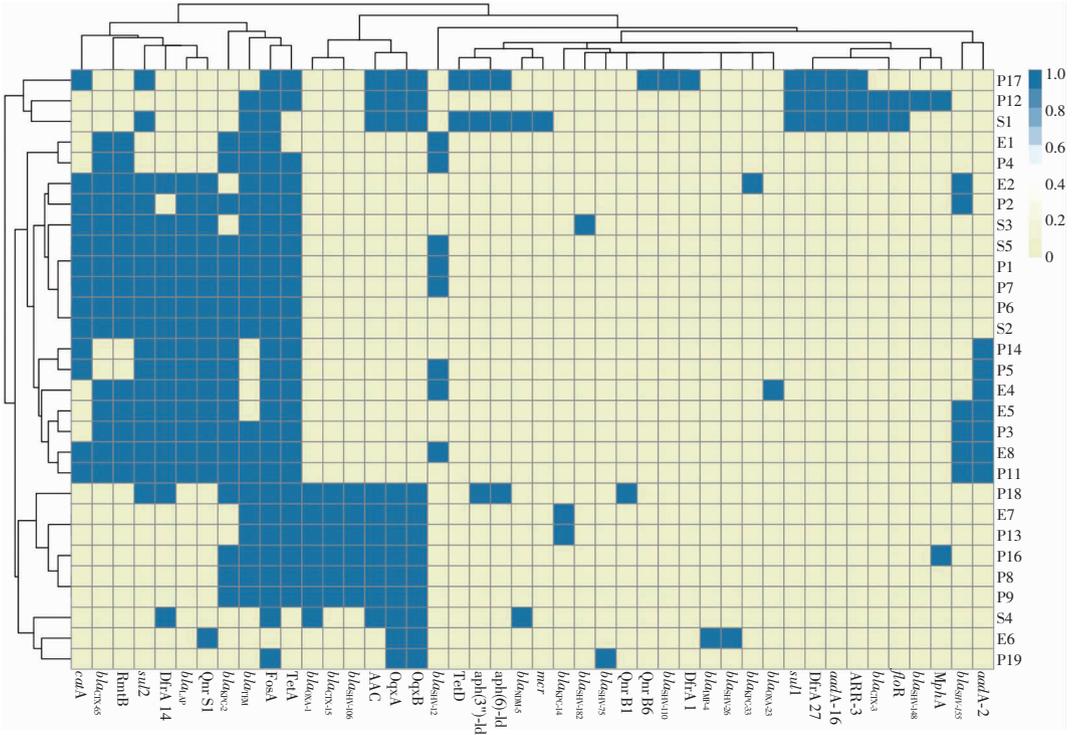
2.2 耐药基因分布 29 株 CRKP 分别携带 4~18 种耐药基因,主动筛查组、临床感染组及环境组所携带耐药基因数量中位数均为 11。按照耐药机制及基因类别可分为 12 种耐药类型和 28 种耐药基因型别。除 *bla_{SHV}* 和 *bla_{NDM}* 耐药基因外,3 组菌株的耐药基因型别分布差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 1;耐药基因分布热图显示,E7 与 P13,P8 与 P9,P1、P7 与 S5,P6 与 S2 这 4 组 CRKP 的耐药基因分布完全一致,见图 1。

表 1 3 组 CRKP 耐药基因的型别分布

Table 1 Distribution of antimicrobial resistant genes among three groups of CRKP

耐药基因类型	基因型别	主动筛查组 (n=5)	临床感染组 (n=17)	环境组 (n=7)	P	耐药基因类型	基因型别	主动筛查组 (n=5)	临床感染组 (n=17)	环境组 (n=7)	P
碳青霉烯酶	<i>bla_{KPC}</i>	2	14	6	0.118	磷霉素	<i>FosA</i>	5	17	7	-
	<i>bla_{OXA}</i>	1	5	2	0.916	链霉素类	<i>MphA</i>	0	2	0	0.469
	<i>bla_{NDM}</i>	2	0	0	0.006	磺胺类	<i>sul1</i>	1	2	0	0.510
	<i>bla_{IMP}</i>	0	0	1	0.196		<i>sul2</i>	4	10	4	0.660
	β -内酰胺酶	<i>bla_{CTX}</i>	4	13	6	0.878	甲氧苄啶	<i>DfrA 1</i>	0	1	0
<i>bla_{LAP}</i>		3	8	4	0.832	<i>DfrA 14</i>		4	8	4	0.425
<i>bla_{OKP}</i>		1	0	0	0.083	<i>DfrA 27</i>		1	2	0	0.510
<i>bla_{SHV}</i>		2	15	7	0.016	替加环素	<i>TetA</i>	3	16	5	0.137
<i>bla_{TEM}</i>		4	13	4	0.577		<i>TetD</i>	1	1	0	0.390
氨基糖苷类		AAC	3	12	2	0.164	黏菌素	<i>mcr</i>	1	0	0
	<i>aadA</i>	1	6	3	0.709	氯霉素	<i>catA</i>	3	8	2	0.536
	RmtB	3	7	5	0.371	外排泵	<i>OqxA</i>	2	8	2	0.703
	<i>aph(3'')-Ib</i>	1	2	0	0.510		<i>OqxB</i>	2	8	2	0.703
	<i>aph(6)-Id</i>	1	2	0	0.510						
喹诺酮类	<i>Qnr</i>	3	10	5	0.841						

注: - 表示无法进行统计检验。



注:纵坐标为 29 株 CRKP 的编号,横坐标为耐药基因(含亚型)的名称;蓝色方框表示纵坐标对应的 CRKP 菌株携带相应横坐标指示的耐药基因,黄色方框表示纵坐标对应的 CRKP 菌株不携带相应横坐标指示的耐药基因。

图 1 29 株 CRKP 的耐药基因分布热图

Figure 1 Heat map of the distribution of antimicrobial resistance genes in 29 CRKP strains

2.3 毒力基因分布 29 株 CRKP 携带 52~98 个毒力基因,主动筛查组、临床感染组和环境组所携带毒力基因数量中位数分别为 97、93、87。大多数菌株携带 CRKP 高毒力基因,包括荚膜相关毒力基因(*rmpA*、*rmpA2*)、铁载体相关毒力基因(*entB*、*irp2*、*iucB*、*iutA*、*ybtA*)和菌毛相关毒力基因(*fimH*、*mrkD*)等,而脂多糖相关毒力基因(*uge*、*wabG*)和 *peg-344* 均未检出;3 组 CRKP 的毒力基因检出数量差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 2。

2.4 同源分析 ST 分型显示,29 株 CRKP 主要包含 ST11 和 ST15 两大类,其他型别各有 1 株,分别为 ST133、ST34、ST1564、ST37、ST859,2 株未匹配到主流 ST 分型。基于 cgMLST 构建的系统发育树显示,P6 与 S3,P7、S2 与 S5,P8 与 P9,E7 与 P13,P5 与 P14,E2 与 P1,E4 与 E5 这 7 组 CRKP 的组间分支长度和 $< 10^{-4}$,存在较近的同源关系,见图 2。

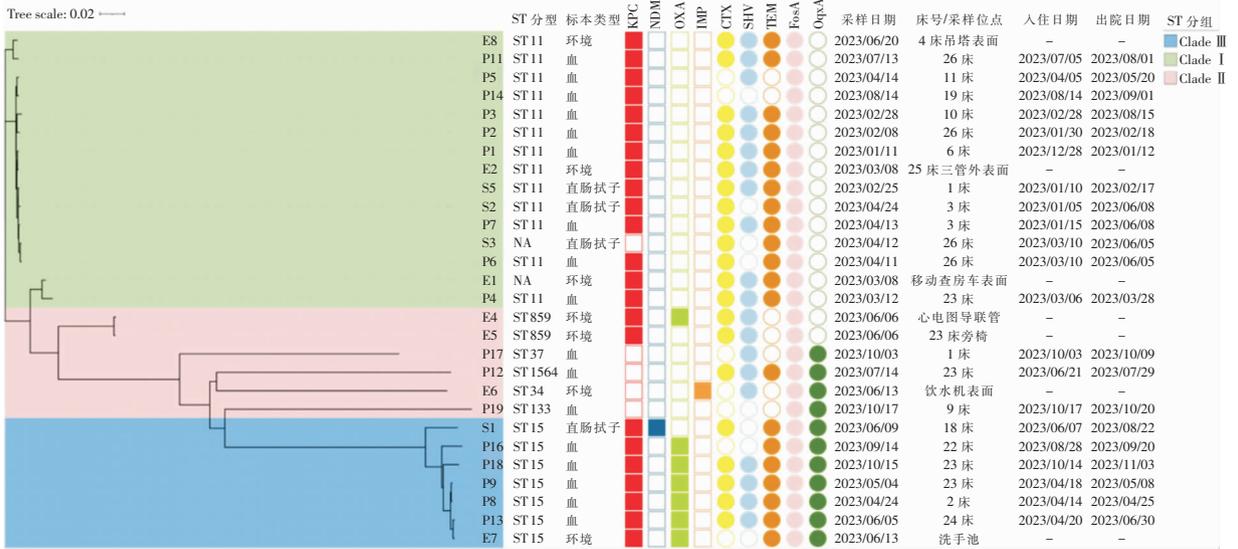
2.5 传播途径分析 经耐药基因热图、系统发育树及流行病学调查分析,7 组同源较高的 CRKP 之间有 4 组存在较为明确的流行病学关联,各组菌株关联信息及可能的传播途径见表 3。

表 2 3 组 CRKP 毒力基因分布

Table 2 Distribution of virulence genes among three groups of CRKP

毒力基因分类	基因型别	主动筛查组 (n = 5)	临床感染组 (n = 17)	环境组 (n = 7)	P
荚膜	<i>rmpA</i>	3	3	1	0.118
	<i>rmpA2</i>	3	8	4	0.832
	<i>magA</i>	0	0	0	-
	<i>wcaG</i>	0	0	0	-
铁载体	<i>entB</i>	5	17	7	-
	<i>irp2</i>	3	16	6	0.151
	<i>iucB</i>	3	9	5	0.703
	<i>iutA</i>	3	9	5	0.703
	<i>iroNB</i>	0	0	0	-
	<i>ybtA</i>	3	16	6	0.151
	<i>kfuBC</i>	0	0	0	-
	<i>aero</i>	0	0	0	-
菌毛	<i>fimH</i>	5	17	7	-
	<i>mrkD</i>	5	17	7	-

注: - 表示无法进行统计检验。



注：每个标本的分支线长度代表进化变异的程度，两标本之间的分支线长度和越短，代表差异越小，进化距离越近；左上角 tree scale 为本次进化树的遗传变异度标尺，取固定值 0.02；S4 标本由于与其他标本距离过远而舍去分析，一些典型耐药基因、采样位点和时间也在图中进行展示。

图 2 基于 cgMLST 构建的 28 株 CRKP 的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of 28 CRKP strains constructed based on cgMLST

表 3 7 组同源的 CRKP 传播途径分析

Table 3 Transmission routes of 7 groups of homologous CRKP

分组	菌株编号	采样日期	入 ICU 日期	流行病学关联	ST 分型	耐药基因聚类	系统发育树	可能传播途径
Z1	P6	2023/04/11	2023/03/10	同一患者	ST11	2 个耐药基因有差异	高度同源	同一患者定植引起感染
	S3	2023/04/12	2023/03/10		NA			
Z2	P7	2023/04/13	2023/01/05	同一患者	ST11	P7 和 S5 分布完全一致；P7 和 S2 1 个耐药基因有差异	高度同源	同一患者定植引起感染 S2 患者定植至 S5 患者定植
	S2	2023/04/24	2023/01/05		ST11			
	S5	2023/02/15	2023/01/10	1 床	ST11			
Z3	P8	2023/04/24	2023/04/14	2 床	ST15	分布完全一致	高度同源	两名患者交叉传播
	P9	2023/05/04	2023/04/18	23 床	ST15			
Z4	E7	2023/06/13	-	22/23 - 洗手池	ST15	分布完全一致	高度同源	感染菌株所致环境污染
	P13	2023/06/05	2023/04/20	24 床	ST15			
Z5	P5	2023/04/14	2023/04/05	11 床	ST11	1 个耐药基因有差异	高度同源	未知
	P14	2023/08/14	2023/08/14	19 床	ST11			
Z6	E2	2023/03/08	-	25 床	ST11	4 个耐药基因有差异	高度同源	未知，疑似 P1 患者所致环境污染
	P1	2023/01/11	2022/12/28	6 床	ST11			
Z7	E4	2023/06/06	-	心电图机	ST859	3 个耐药基因有差异	高度同源	未知，疑似被同一临床菌株所污染
	E5	2023/06/06	-	23 床旁椅	ST859			

注：NA 表示根据现有管家基因没有匹配到主流的 ST 分型；- 表示该标本不存在此类信息。

3 讨论

肺炎克雷伯菌是一种存在于人体上呼吸道和胃肠道的条件致病菌，相关研究^[10-11]显示，肺炎克雷伯

菌在欧美社区人群的胃肠道定植率为 5%~35%，亚洲人群的定植率为 18.8%~87%。一项系统综述^[12]显示，住院患者 CRKP 定植率为 0.13%~22%，以印度报道发病率最高，日本发病率最低。康霞等^[5]研究显示，急诊 ICU 患者新入住时 CRKP 定植率为

4.08%(18/441), 入住期间导致的医院感染发病率为 3.63%(16/441), 多因素回归分析显示 CRKP 在直肠定植是医院感染的独立危险因素。Martin 等^[13]对临床感染的肺炎克雷伯菌和肠道定植的肺炎克雷伯菌进行同源分析后发现, 81.25%(13/16) 的标本 PFGE 同源分型高度相似, 提示 CRKP 肠道无症状定植是引起后续医院感染的关键。因此, 多项国内外指南^[14-16]均提倡对高风险患者进行主动筛查并及早采取控制措施, 以减少耐药细菌在医院内的传播。

本研究 29 株 CRKP 均对临床常用抗菌药物呈现较强的耐药性, 除 *bla_{SHV}* 和 *bla_{NDM}* 耐药基因外, 主动筛查分离菌株、临床感染分离菌株和环境分离菌株的耐药基因数量和耐药基因型别分布差异均无统计学意义。既往研究^[17-18]显示, *bla_{KPC-2}* 和 *bla_{NDM}* 耐药基因是我国 CRKP 临床分离株的主要流行基因, *bla_{OXA-48}* 类耐药基因近年来呈明显上升趋势; Hu 等^[19]最新数据显示, 临床分离的 771 株产碳青霉烯酶 CRKP 中, 533 株携带 *bla_{KPC}* 基因, 159 株携带 *bla_{NDM}* 基因, 68 株携带 *bla_{OXA-48}* 基因, 携带多种耐药基因已成为临床 CRKP 的新流行特点。本次 WGS 除鉴定出 *bla_{KPC}* 基因外, 29 株 CRKP 还全部鉴定出磷霉素类耐药基因 *FosA*, 以及外排泵基因 *OqxA* 和 *OqxB*, 但未鉴定出膜孔蛋白的缺失或改变相关的耐药基因。黄雅轩等^[20]对广东省人民医院血流感染的高毒力 CRKP 测序显示, 其主要携带 *bla_{KPC-1}*、*bla_{NDM-1}* 耐药基因, 而陈森等^[21]对湖北医药学院附属太和医院 ICU 的 121 株广泛耐药高毒力 CRKP 鉴定发现, 耐药基因主要为 *bla_{TEM-1}*、*bla_{KPC}*、*bla_{SHV}*、*rmtB*、*qnrS*、*tetA*。上述不同地区的 CRKP 耐药基因分布差异明显, 提示 CRKP 的耐药特性较为复杂, 多数由多种机制及基因共同介导。

高毒力肺炎克雷伯菌具有高黏性、起病迅速、预后不良等特点, 是近年来研究热点之一, 其主要的致病毒力基因包括编码高黏液表型调节因子 *rmpA*, 铁载体相关毒力基因 *iucB*、*iroNB*、*entB* 等^[22]。有研究^[23-24]认为, 铁载体是区分高毒力肺炎克雷伯菌和经典肺炎克雷伯菌的最准确和持久标记, 尤其以 *rmpA*、*iroNB* 基因分布差异最大。本研究 CRKP 主动筛查分离菌株、临床感染分离菌株和环境分离菌株在毒力基因的数量和毒力基因检出分布均无显著差异, 毒力基因 *entB*、*irp2*、*iroN*、黏液表型基因 *rmpA* 检出率与周浩泽等^[25]、张冬梅等^[26]的研究报道均存在一定差异。肺炎克雷伯菌的毒力基因通常

与耐药基因的遗传位点互不重叠, 且携带耐药基因的细菌为适应环境一般不会增加菌株毒力, 本研究亦未发现携带耐药基因数量多的 CRKP 菌株同时携带较多数量的毒力基因, 提示 CRKP 的毒力特性与耐药特性可能没有正相关性。

ST 分型是反映微生物进化和种群变异的技术手段, 也是分析医院内细菌流行与同源关系的关键技术。既往研究^[27-29]显示, ST11 型是我国医院内肺炎克雷伯菌的主要流行克隆型, 本研究发现主动筛查的 CRKP 菌株和临床感染的 CRKP 菌株也主要为 ST11 型, 但环境分离菌株的 ST 分型较多, 耐药基因和毒力基因分布也存在较大的差异。根据 29 株 CRKP 系统发育树和流行病学调查分析, 本研究选取了 7 组高度同源的 CRKP 进行传播途径分析, 其中 P6 与 S3、P7 与 S2 均为来自同一患者临床感染的血标本和主动筛查的直肠拭子, 但两例患者并未严格参照主动筛查流程进行直肠拭子的送检, 而是在发生 CRKP 血流感染后为查找来源才送检直肠拭子。小鼠肠道定植模型已证实定植的肺炎克雷伯菌可通过特定的毒力基因导致肝脏感染^[30], 但已发生血流感染的患者通常不会逆向引起细菌在胃肠道的定植, 因此考虑这两例患者肠道定植 CRKP 继发入血, 继而引起相关血流感染。

此外, 本研究也发现 CRKP 定植或感染的患者可污染周边环境物体表面, 部分同源的感染病例, 如 P8 与 P9、P5 与 P14 可能存在“患者-环境-患者”的传播模式。Han 等^[31]研究发现, 产 OXA-232 酶的 CRKP 容易长期污染 ICU 环境表面, 并引起 ICU 住院患者获得性肠道定植和继发感染。Hu 等^[32]对一所新开医院的 ICU 研究显示, ICU 环境中的 CRKP 主要由患者带入, 而环境污染会促进 CRKP 在 ICU 中的传播。Wei 等^[33]研究则发现, 虽然 ICU 环境存在广泛的 CRKP 污染, 但持续监测显示环境污染通常是短暂的, 对患者获得性 CRKP 感染/定植的影响很小。可见, CRKP 在 ICU 中存在多种传播途径, 但不同医疗机构、不同型别的 CRKP 在传播途径上存在一定的差异。

本研究存在以下局限: (1) 仅选取 2023 年 1—10 月份的 CRKP 菌株进行回顾性研究, 有 6 株 CRKP 因复苏失败或菌种污染等原因未能进行 WGS, 能进行 WGS 的主动筛查菌株数量有限, 对结果产生一定的影响; (2) 仅选取了血流感染的 CRKP, 未分析呼吸道、泌尿道等感染部位分离的 CRKP, 故未能全面阐述 CRKP 在此 ICU 的传播途

径;(3)该 ICU 开展肠道定植主动筛查已有 2 年,前期都严格按照入住日数持续送检,但研究期间医务人员未严格按照指征进行主动筛查和送检,影响对定植和感染的因果阐述;(4)环境 CRKP 的持续筛查和阳性比例较低,可进行分析的环境样本较少,环境在传播模式中的作用仍需更多结果支持。未来将收集更多科室不同类型的临床菌株及主动筛查菌株,扩大环境监测范围和频次,并采用多样化技术手段对其耐药性、毒力及同源性进行全面的阐述,同时积极采取感染控制措施,以降低 CRKP 在 ICU 的流行与传播。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] Bartsch SM, McKinnell JA, Mueller LE, et al. Potential economic burden of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) in the United States[J]. Clin Microbiol Infect, 2017, 23(1): 48. e9 – 48. e16.
- [2] Banach DB, Bearman G, Barnden M, et al. Duration of contact precautions for acute-care settings [J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2018, 39(2): 127 – 144.
- [3] 中华预防医学会医院感染控制分会, 中华医学会感染病学分会, 中国医院协会医院感染管理专业委员会, 等. 中国碳青霉烯耐药革兰阴性杆菌(CRO)感染预防与控制技术指引[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(13): 2075 – 2080. Hospital Infection Control Branch of the Chinese Preventive Medicine Association, Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association, Chinese Hospital Association Nosocomial Infection Control Specialized Committee, et al. Technical guidelines for prevention and control of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli infection in China[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2019, 29(13): 2075 – 2080.
- [4] Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018, 8: 4.
- [5] 康霞, 黄文治, 卫丽, 等. 急诊重症监护室多重耐药菌主动筛查的流行病学研究[J]. 华西医学, 2021, 36(3): 328 – 333. Kang X, Huang WZ, Wei L, et al. Epidemiological study on active surveillance of multidrug-resistant organism in emergency intensive care unit[J]. West China Medical Journal, 2021, 36(3): 328 – 333.
- [6] Aleidan FAS, Alkhelaifi H, Alsenaid A, et al. Incidence and risk factors of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infection in intensive care units: a matched case-control study[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2021, 19(3): 393 – 398.
- [7] 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.
- [8] Xiong LX, Su LB, Tan HQ, et al. Molecular epidemiological analysis of ST11-K64 extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections outbreak in intensive care and neurosurgery units based on whole-genome sequencing[J]. Front Microbiol, 2021, 12: 709356.
- [9] Rubin LG, Beachy J, Matz T, et al. Prolonged outbreak of clonal, mupirocin-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit: association with personnel and a possible environmental reservoir, analyzed using whole genome sequencing[J]. Am J Infect Control, 2022, 50(6): 680 – 685.
- [10] Gorrie CL, Mirceta M, Wick RR, et al. Gastrointestinal carriage is a major reservoir of *Klebsiella pneumoniae* infection in intensive care patients[J]. Clin Infect Dis, 2017, 65(2): 208 – 215.
- [11] Sun QL, Gu DX, Wang Q, et al. Dynamic colonization of *Klebsiella pneumoniae* isolates in gastrointestinal tract of intensive care patients[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 230.
- [12] Tesfa T, Mitiku H, Edae M, et al. Prevalence and incidence of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* colonization: systematic review and Meta-analysis[J]. Syst Rev, 2022, 11(1): 240.
- [13] Martin RM, Cao J, Brisse S, et al. Molecular epidemiology of colonizing and infecting isolates of *Klebsiella pneumoniae* [J]. mSphere, 2016, 1(5): e00261 – 16.
- [14] 杨启文, 吴安华, 胡必杰, 等. 临床重要耐药菌感染传播防控策略专家共识[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(1): 1 – 14. Yang QW, Wu AH, Hu BJ, et al. Expert consensus on strategies for the prevention and control of spread of clinically important antimicrobial-resistant organisms[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(1): 1 – 14.
- [15] Magiorakos AP, Burns K, Rodriguez Baño J, et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* into health-care settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2017, 6: 113.
- [16] Cookson B. Working party guidance on the control of multi-resistant *Acinetobacter* outbreaks[J]. J Hosp Infect, 2019, 103(2): 174.
- [17] Zhang R, Liu LZ, Zhou HW, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) strains in China[J]. EBioMedicine, 2017, 19: 98 – 106.
- [18] Zhang YY, Yang XM, Liu CC, et al. Increased clonal dissemination of OXA-232-producing ST15 *Klebsiella pneumoniae* in Zhejiang, China from 2018 to 2021[J]. Infect Dis Poverty, 2023, 12(1): 25.
- [19] Hu FP, Yuan LL, Yang Y, et al. A multicenter investigation of 2 773 cases of bloodstream infections based on China antimicrobial surveillance network (CHINET)[J]. Front Cell Infect

- Microbiol, 2022, 12: 1075185.
- [20] 黄雅轩, 蔡依含, 何婉霞, 等. 高毒力和碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌血流感染临床及分子流行病学特征[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(22): 3417-3422.
Huang YX, Cai YH, He WX, et al. Clinical and molecular epidemiological characteristics of hypervirulent and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* causing bloodstream infection[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2023, 33(22): 3417-3422.
- [21] 陈森, 魏巍, 刘杰, 等. 重症医学科分离广泛耐药高毒力肺炎克雷伯菌 XJ-K1 与 XJ-K2 耐药特征、毒力因子及克隆分型[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(7): 961-965.
Chen S, Wei W, Liu J, et al. Analysis of drug resistance characteristics, virulence factors and clonal typing of extensively drug-resistant and highly toxic *Klebsiella pneumoniae* XJ-K1 and XJ-K2 isolated from intensive care unit[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2023, 33(7): 961-965.
- [22] Gu DX, Huang YL, Ma JH, et al. Detection of colistin resistance gene *mcr-1* in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from an infant with diarrhea in China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(8): 5099-5100.
- [23] 董秀涛, 崔晓笛, 石晓红, 等. 高毒力肺炎克雷伯菌的微生物学特征与毒力因子研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2023, 44(11): 1382-1387.
Dong XT, Cui XD, Shi XH, et al. Advances in microbiological characteristics and virulence factors of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2023, 44(11): 1382-1387.
- [24] Russo TA, Olson R, Fang CT, et al. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae* [J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(9): e00776-18.
- [25] 周浩泽, 黎敏, 鲁卫平, 等. 医院分离高毒力肺炎克雷伯菌的毒力基因检测及耐药性分析[J]. 中国消毒学杂志, 2023, 40(6): 412-415, 418.
Zhou HZ, Li M, Lu WP, et al. Virulence gene detection and drug resistance analysis of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* isolated from a hospital[J]. Chinese Journal of Disinfection, 2023, 40(6): 412-415, 418.
- [26] 张冬梅, 孙雅玲, 胡帆, 等. 医院获得性肺炎患者耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分离株的耐药基因及毒力因子[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(9): 1281-1284.
Zhang DM, Sun YL, Hu F, et al. Drug resistance genes and virulence factors in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from patients with hospital-acquired pneumoniae[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2023, 33(9): 1281-1284.
- [27] He ZE, Xu WF, Zhao H, et al. Epidemiological characteristics an outbreak of ST11 multidrug-resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in Anhui, China[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 996753.
- [28] Liao WJ, Liu Y, Zhang W. Virulence evolution, molecular mechanisms of resistance and prevalence of ST11 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China: a review over the last 10 years[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 23: 174-180.
- [29] Wang MG, Earley M, Chen L, et al. Clinical outcomes and bacterial characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* complex among patients from different global regions (CRACKLE-2): a prospective, multicentre, cohort study[J]. Lancet Infect Dis, 2022, 22(3): 401-412.
- [30] Zheng YH, Yue CC, Zhang H, et al. Deoxycholic acid and lithocholic acid alleviate liver injury and inflammation in mice with *Klebsiella pneumoniae*-induced liver abscess and bacteremia[J]. J Inflamm Res, 2021, 14: 777-789.
- [31] Han XH, Chen Y, Zhou JX, et al. Epidemiological characteristics of OXA-232-producing carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated during nosocomial clonal spread associated with environmental colonization [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(4): e0257221.
- [32] Hu Y, Zhang H, Wei L, et al. Competitive transmission of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a newly opened intensive care unit[J]. mSystems, 2022, 7(6): e0079922.
- [33] Wei L, Wu LF, Wen HX, et al. Spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care unit: a whole-genome sequence-based prospective observational study[J]. Microbiol Spectr, 2021, 9(1): e0005821.

(本文编辑: 翟若南)

本文引用格式: 陈翔, 高晓东, 周春妹, 等. 重症监护病房耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌定植与传播研究[J]. 中国感染控制杂志, 2025, 24(1): 77-84. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20255449.

Cite this article as: CHEN Xiang, GAO Xiaodong, ZHOU Chunmei, et al. Colonization and transmission of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit [J]. Chin J Infect Control, 2025, 24(1): 77-84. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20255449.