

流行病学分析

贵阳某医院耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的分子流行病学分析

罗湘蓉¹ 罗力² 胡方芳¹ 徐艳³ 许永杰¹ 黄盛文^{1,*}

(1 贵州省人民医院检验科, 贵阳 550002; 2 贵州医科大学免疫室, 贵阳 550002; 3 贵州省人民医院院感科, 贵阳 550002)

摘要: **目的** 研究耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)的耐药性、耐药基因与同源性, 为临床用药与院感控制提供依据。 **方法** 收集贵州省人民医院2016年5月—2017年2月临床上分离的50株CRKP, 检测其对19种抗菌药的药敏敏感性。PCR法扩增碳青霉烯酶基因(bla_{KPC} 、 bla_{IMP} 、 bla_{VIM} 、 bla_{OXA} 和 bla_{NDM-1})并对扩增阳性产物进行测序, 所得序列与GenBank数据库进行比对, 确定耐药基因分型。采用ERIC-PCR法进行同源性检测。 **结果** 50株CRKP均为多重耐药菌。19种抗菌药物中, 耐药率低于50%的抗菌药物有多黏菌素0、替加环素4%、米诺环素20%、四环素38%。对复方磺胺甲噁唑的耐药率为60%, 对碳青霉烯类、头孢菌素、氨基糖苷类、含酶抑制剂、以及喹诺酮类、氨基糖苷类的耐药率为84%~100%。50株CRKP中, 48株(96%)检出碳青霉烯酶基因, 其中41株(82%) bla_{KPC-2} 、3株(6%) bla_{IMP-8} 和4株(8%) bla_{NDM-1} 。41株检出KPC-2型碳青霉烯酶的CRKP分为6个基因型(A-F型), 其中A型18株、B型6株、C型12株、D型3株、E型、F型各1株。 **结论** CRKP的耐药率高, 主要耐药机制是产KPC-2型碳青霉烯酶, 其次是产NDM-1、IMP-8型碳青霉烯酶。CRKP存在科室间、科室内的克隆传播, 应加强对CRKP的监测和院感控制。

关键词: 碳青霉烯类抗生素; 肺炎克雷伯菌; 耐药性; 耐药机制; 同源性

中图分类号: R978.1, R378 **文献标志码:** A

Molecular epidemiological analysis of carbapenems-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in Guiyang

Luo Xiang-rong¹, Luo Li², Hu Fang-fang¹, Xu Yan³, Xu Yong-jie¹ and Huang Sheng-wen¹

(1 Department of Laboratory, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002; 2 Laboratory of Immunology, Guizhou Medical University, Guiyang 550002; 3 Department of Infection Control, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002)

Abstract Objective To study the drug resistance, resistance genes and the homology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP), and to provide the basis for clinical medication and nosocomial infection control. **Methods** 50 strains of CRKP were isolated from clinical specimens from Guizhou Provincial People's Hospital from May 2016 to February 2017. Antimicrobial susceptibilities of these strains for 19 kinds of antibiotics were tested. Polymerase chain reaction (PCR) and DNA sequencing were used to detect the resistance genes (bla_{KPC} , bla_{IMP} , bla_{VIM} , bla_{OXA} , and bla_{NDM-1}). The homology was determined by ERIC-PCR. **Results** All of the 50 strains of CRKP were multidrug-resistant bacteria. Among the 19 antibiotics, there were four with resistance rates lower than 50%, including polymyxin (0), tetracycline (4%), minocycline (20%), and tetracycline (38%). The resistance rate to compound sulfamethoxazole was 60%. The resistance rates to carbapenems, cephalosporins, aztreonam, enzyme inhibitors, quinolones, and aminoglycosides were 84%~100%.

收稿日期: 2018-03-01

基金项目: 贵州省卫计委基金(No. gzwjkj2016-1-069); 贵州省科技计划项目(No. 黔科合平台人才[2016]5670号)

作者简介: 罗湘蓉, 女, 生于1973年, 硕士, 副主任技师, 研究方向为细菌耐药性与耐药机制, E-mail: 1214792173@qq.com

*通讯作者, E-mail: hsw713@sina.com

Among the 50 strains of CRKP, 48 strains (96%) were detected carbapenem genes, of which 41 (82%) were *bla*_{KPC-2}, 3 (6%) were *bla*_{IMP-8}, 4 were (8%) *bla*_{NDM-1}. The 41 strains of CRKP with the *bla*_{KPC-2} gene were divided into six genotypes (A~F), of which 18 were A, six were B, 12 were C, three were D, one were E, and one were F. **Conclusion** The resistance rate of CRKP was high. The main mechanism of drug resistance was KPC-2 type carbapenemase, followed by NDM-1 and IMP-8 type carbapenemases. There was clone propagation of CRKP between and inside departments, and thus the monitoring and nosocomial infection control of CRKP should be strengthened.

Key words Carbapenems; *Klebsiella pneumoniae*; Resistance; Resistance mechanism; Homology

碳青霉烯类药物是治疗革兰阴性菌感染，特别是肺炎克雷伯菌等肠杆菌科细菌的最强效β-内酰胺类药物。一旦碳青霉烯类药物耐药，临床治疗此类菌株感染将面临极大困难。近年来，对碳青霉烯类药物耐药的肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *K. pneumoniae*, CRKP)逐年增高。我国CRKP从2005的2.4%上升至2014年的13.4%^[1]，我院CRKP从2014年的2.4%上升至2016年的10.1%，明显高于2016年我省的4.2%。为了解我院CRKP的耐药性与分子流行病学特征，为CRKP的有效治疗和预防提供依据。本研究收集了我院临床分离的50株CRKP菌株，对其耐药性、耐药基因及同源性进行分析。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

收集贵州省人民医院2016年5月—2017年2月临床分离的CRKP(入选标准：亚胺培南或美罗培南耐药，即亚胺培南MIC≥2μg/mL或美罗培南MIC≥2μg/mL)，剔除同一患者同一部位分离的重复菌株，共50株。其中痰标本24株，血标本10株，尿液标本6株，伤口分泌物标本4株，腹水标本2株，脓肿分泌物标本2株，导管培养标本1株，肺泡灌洗液标本1株。质控菌株为大肠埃希菌ATCC25922、铜绿假单胞菌ATCC27853。

1.2 仪器与试剂

德国Thermo公司台式低温高速离心机YC-LXJ005，美国Bio-Rad公司梯度PCR扩增仪T100，美国Axygen凝胶成像系统GDBL-1000，美国BD公司Phoenix-100全自动微生物鉴定仪及其配套试剂。基因扩增引物购自上海生物工程有限公司。PCR试剂盒购自大连宝生物生物工程有限公司。米诺环素纸片购自英国Oxoid公司。替加环素E-test条购自法国Bio Mérieux公司。

1.3 细菌鉴定与药敏试验

标本的分离培养按照《全国临床检验操作规程》第4版进行。用纸片扩散法进行米诺环素的药

敏实验；E-test法进行替加环素的药敏实验，使用Phoenix-100型全自动微生物分析仪进行细菌鉴定与其他17种抗生素的药敏实验。替加环素的判断标准采用美国FDA标准：MIC≤2μg/mL为敏感(S)，MIC=4μg/mL为中介(I)，MIC≥8μg/mL为耐药(R)^[2]。多黏菌素采用EUCAST标准MIC<2μg/mL为S，MIC≥2μg/mL为R。其他抗菌药物采用美国临床实验室标准化研究协会(CLSI)2016年标准。

1.4 碳青霉烯酶基因检测

使用PCR方法检测常见耐药基因(*bla*_{KPC}、*bla*_{IMP}、*bla*_{VIM}、*bla*_{OXA}和*bla*_{NDM-1})。采用煮沸法提取细菌DNA模板^[3]，PCR引物序列及产物大小见表1^[4-8]。PCR扩增阳性产物送由上海生物工程股份有限公司进行双向测序，所得序列与GenBank数据库进行比对，确定耐药基因分型。

1.5 同源性分析

采用肠杆菌基因组内重复序列聚合酶链反应(Enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR, ERIC-PCR)，引物序列^[9-10]为ERIC1：5'-ATGTAAG-CTCCTGGGGATTAC-3'，ERIC2：5'-AAGTAAGTGAC TGGGGTGAGCG-3'，ERIC-PCR扩增条件及琼脂糖凝胶电泳方法见文献^[3]，采用NTsys 2.10e软件进行聚类分析。

表1 耐药基因扩增引物序列
Tab. 1 Primer sequences of resistance genes

基因	引物序列(5'-3')	产物大小/bp
<i>bla</i> _{KPC}	F: ATGTCACGTATCGCCGTCT	892
	R: TTTTCAGAGCCTTACTGCCC	
<i>bla</i> _{IMP}	F: CATGGTTTGGTGGTTCTTGT	488
	R: ATAATTTGGCGGACTTTGGC	
<i>bla</i> _{VIM}	F: GATGGTGTGTTGGTCGCATA	390
	R: CGAATGCGCAGCACCAG	
<i>bla</i> _{OXA}	F: TTTTCTGTTGTTTGGGTTTT	519
	R: TTTCTTGGCTTTTATGCTTG	
<i>bla</i> _{NDM-1}	F: ATTAGCCGCTGCATTGAT	156
	R: GGCATGTCGAGATAGGAAGT	

2 结果

2.1 药敏结果

50株CRKP均为多重耐药菌。19种抗菌药物中,耐药率低于50%的抗菌药物仅有多黏菌素(0),替加环素(4%),米诺环素(20%)、四环素(38%)。对常用抗生素的耐药率高达84%~100%(表2)。

2.2 碳青霉烯酶基因检测情况

50株CRKP中,48株(96%)检出碳青霉烯酶基因,其中41株(82%)*bla*_{KPC}基因阳性(图1),经基因测序比对,均为*bla*_{KPC-2}型。3株(6%)*bla*_{IMP}基因阳性(图2),经基因测序比对,均为*bla*_{IMP-8}型。4株(8%)*bla*_{NDM-1}基因阳性(图2),经基因测序比对,均为*bla*_{NDM-1}型。未检出*bla*_{VIM}与*bla*_{OXA}基因。

2.3 同源性分析结果

41株产KPC-2型碳氢霉烯酶的CRKP均扩出条带大小在100~2,000bp范围的特异性指纹图谱(图3)。根据扩增条带的数目和大小对菌株之间的同源性进行聚类分析,将这41株CRKP分为6个基因型,其中A型18株,B型6株,C型12株,D型3株,E、F型各1株(图4)。

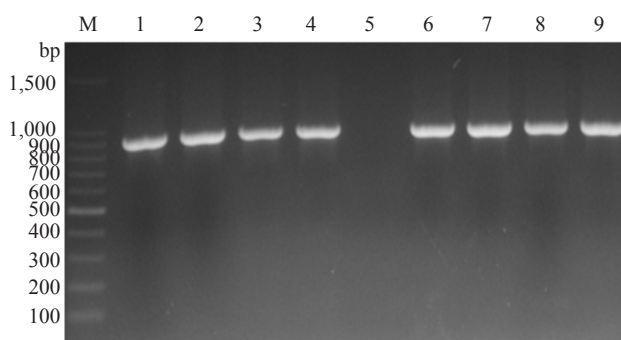
2.4 产KPC-2型碳氢霉烯酶的CRKP的科室分布

41株KPC-2型CRKP分布在8个科室,包括4个

表2 50株耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌的耐药性

Tab. 2 The resistance of 50 stains of CPKP

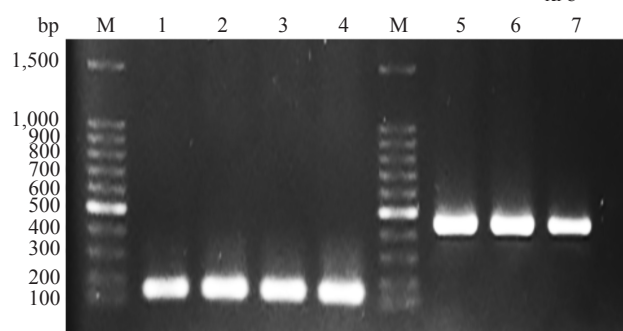
抗菌药物	耐药株数/%	中介株数/%	敏感株数/%
多黏菌素	0 (0)	0 (0)	50 (100)
替加环素	2 (4)	1 (2)	47 (94)
米诺环素	10 (20)	15 (30)	25 (50)
四环素	19 (38)	2 (4)	29 (58)
复方磺胺甲噁唑	30 (60)	0 (0)	20 (40)
氯霉素	34 (68)	7 (14)	9 (18)
阿米卡星	42 (84)	0 (0)	8 (16)
美罗培南	50 (0)	0 (0)	0 (0)
亚胺培南	48 (96)	2 (4)	0 (0)
环丙沙星	45 (90)	4 (8)	1 (2)
左氧氟沙星	46 (92)	0 (0)	4 (8)
头孢唑林	50 (100)	0 (0)	0 (0)
头孢噻肟	50 (100)	0 (0)	0 (0)
头孢他啶	50 (100)	0 (0)	0 (0)
哌拉西林	50 (100)	0 (0)	0 (0)
庆大霉素	50 (100)	0 (0)	0 (0)
氨基糖苷	50 (100)	0 (0)	0 (0)
哌拉西林/三唑巴坦	48 (96)	2 (4)	0 (0)
阿莫西林/克拉维酸	50 (100)	0 (0)	0 (0)



注: M: Marker; 1~4和6~9为*bla*_{KPC}阳性标本; 5: *bla*_{KPC}为阴性标本

图1 *bla*_{KPC}基因PCR扩增产物电泳图

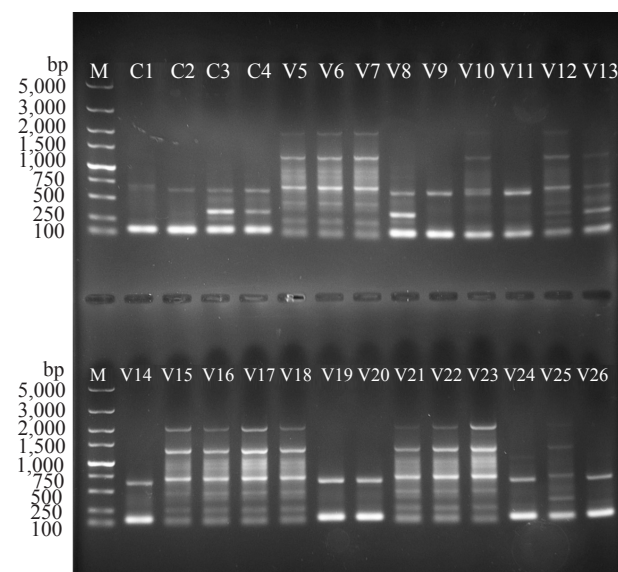
Fig. 1 Representative PCR electropherogram of *bla*_{KPC} genes



注: M: Marker; 1~4: NDM-1阳性标本; 5~7: IMP阳性标本

图2 *bla*_{NDM-1}和*bla*_{IMP}基因PCR扩增产物电泳图

Fig. 2 Representative PCR electropherogram of gene *bla*_{NDM-1} and *bla*_{IMP}



注: M: Marker; C1、C2、V9、V11、V14、V19、V20、V24、V26为A型; C3、C4、V8为B型; V5-V7、V15-V18、V21-V23为C型; V12、V13为D型; V10、V25分别为E、F型

图3 部分KPC-2型耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌ERIC-PCR结果

Fig. 3 Representative electropherogram of ERIC-PCR products of type KPC-2 CRKP

ICU科室、3个外科病房与综合病房(表3)。A型分布在6个科室, B型分布在3个科室, C型分布在4个科

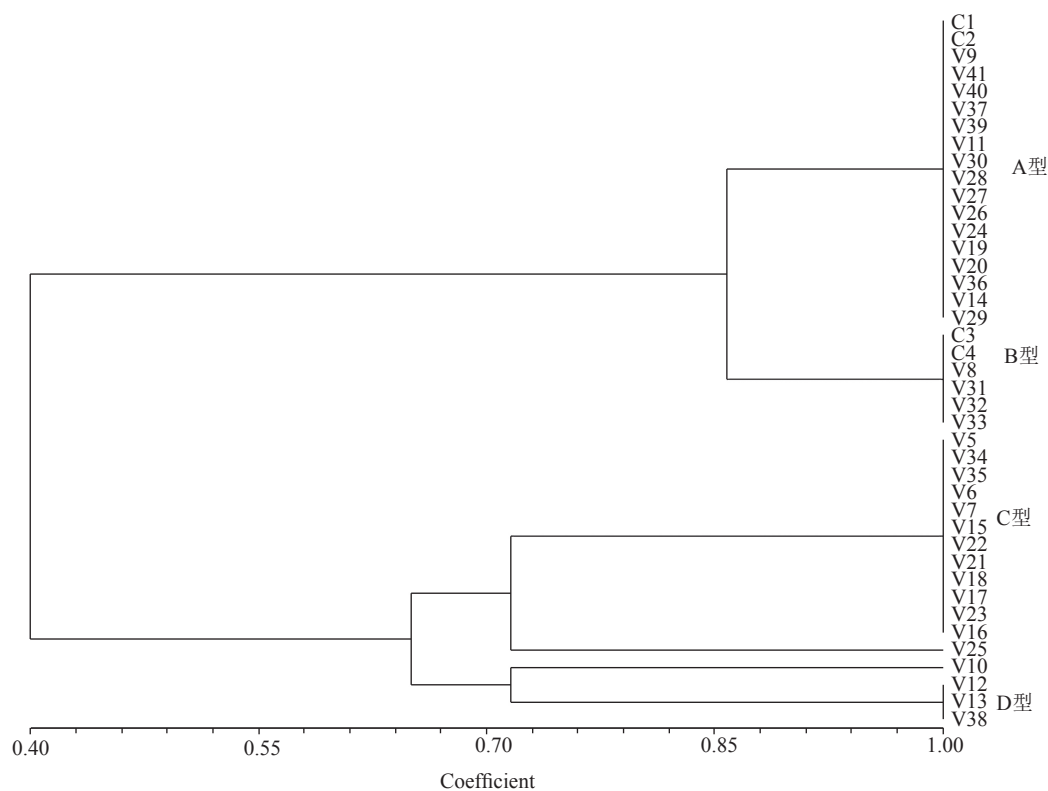


图4 41株KPC2型耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌聚类分析图
Fig. 4 The cluster analysisgram for 41 strains of CRKP with *bla*_{KPC-2} gene

表3 KPC-2型耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌基因分型与科室分布
Tab. 3 Distribution of the genotypes of type KPC-2 CRKP in different departments

科室	A/株	B/株	C/株	D/株	E/株	F/株	合计
外科ICU	6	3	1	-	-	-	10
呼内ICU	1	-	5	-	-	-	6
急诊ICU	3	2	-	-	1	-	6
神经外科	3	-	-	3	-	-	6
肝胆外科	-	-	5	-	-	-	5
综合病房	2	-	1	-	-	1	4
神内ICU	3	-	-	-	-	-	3
急诊外科	-	1	-	-	-	-	1
合计	18	6	12	3	1	1	41

注：“-”表示未检出

室，D型、E型、F型各分布在1个科室。

3 讨论

CRKP等对耐碳青霉烯类的肠杆菌科细菌往往呈多重耐药甚至泛耐药的^[1,10-11]，导致患者陷入无药可用的困境。本研究^[11]中，CRKP对常用抗生素的耐药率高，仅对多黏菌素、四环素类的耐药率低于50%。本研究^[11]中多黏菌素100%敏感，与文献报道一致^[11]，由于其毒性及神经阻滞作用，在临床上使

用受限。米诺环素以及四环素属于口服抗生素，并具有较强的毒副作用，对于重症患者的治疗使用受限。本研究替加环素的敏感性高(94%)，与文献报道的94.8%相近^[12]。替加环素是一种新型的具有广谱抗菌活性的静脉注射用抗生素，是甘氨酸四环素类中的首个药品。对临床多重耐药菌包括耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌仍保持较好的体外抗菌活性^[13]。2012年本品在我国上市以来，临床上主要用于XDR鲍曼不动杆菌、XDR肠杆菌科细菌所致的呼吸道、皮肤软组织及腹腔等感染，常与头孢哌酮/舒巴坦、碳青霉烯类、氨基糖苷类等联合应用，但疗效有待于进一步的临床验证。

产碳青霉烯酶是肺炎克雷伯菌等肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗生素耐药的主要机制^[11,14-15]。目前常见的碳青霉烯酶主要有KPC、IMP、VIM、NDM和OXA48等，而我国的流行菌株中以KPC和IMP酶为主^[11, 14-15]，NDM-1型碳青霉烯酶检出在我国相对较少。本研究^[11]中，我院CRKP的KPC-2型碳青霉烯酶的检出率为82%，是主要耐药机制，与文献报道相似^[6,9-10]。此外检出4株NDM-1型碳青霉烯酶、3株IMP-8碳青霉烯酶。2009年印度首次报道了1株产NDM-1酶的肺炎

克雷伯菌, 被称为“超级细菌”, 此后在世界多个国家和地区出现了NDM-1酶的相关报道。近2年在我国的南方和北方均出现了产NDM-1酶细菌的报道^[16-17]。我国云南某医院的新生儿ICU报道了涉及17个新生儿患者的产NDM-1酶CRKP的爆发流行^[16]。研究显示^[18]: 产NDM-1酶菌株在易于通过质粒不同细菌之间进行水平传播, 应引起重视并加强监控, 以避免其在临床菌株中的快速扩散。本研究检出4株NDM-1型碳青霉烯酶CRKP, 说明我院NDM-1型碳青霉烯酶CRKP并不少见, 应加强临床监控。

CRKP可以通过克隆传播和质粒传播^[10, 19-21]。克隆播散被认为是耐药菌院内暴发流行的主要原因, 部分克隆甚至存在跨地区、跨国界的分布。我国上海、浙江等地区已报道CRKP的克隆流行传播^[10, 19-20]。本研究显示, 我院临床标本中分离的KPC-2型CRKP分为6种基因型, 其中A、B、C和D 4型存在克隆株。提示: 调查期间, 我院存在CRKP在科室间与科室内的克隆传播, 克隆传播在KPC-2型CRKP的播散中起重要作用。传播科室包括4个ICU科室与3个外科病房及综合病房, 可能与这些科室的患者有以下CRKP感染的危险因素有关: 严重原发病、老年人、近期广谱抗菌药物(特别是氟喹诺酮类和碳青霉烯类)的使用、入住重症监护室(ICU)、血液肿瘤等疾患、实质脏器或造血干细胞移植、外科大手术及留置导管及引流管等^[22-23]。本研究中, 我院6个分离到A型CRKP的科室, 首例分离到该基因型的患者中, 有5例在本院有转科记录, 其中神经外科、呼内ICU科以及综合病房的患者在分离到A型CRKP之前都曾在外科ICU接受过治疗。提示我院造成克隆株播散的原因可能与患者的转科以及没有严格进行消毒隔离、无菌操作及患者的抵抗力低下等因素有关。因此, 加强医院感染控制措施, 特别是加强ICU与外科病房医院感染控制措施, 控制多重耐药菌的传播至关重要。文献显示: 采取了一系列感染控制措施后, 包括健康宣教、加强医护手卫生及物体表面、医疗器械消毒、加强多重耐药菌的监测, 对CRKP携带患者进行标识及接触隔离等, CRKP检出率显著下降^[20]。除了克隆播散外, 碳青霉烯酶基因位于质粒上, 可通过质粒、整合子、插入序列等转移性基因元件在肠杆菌科细菌中进行水平传播, 也是其快速播散的重要因素^[21]。

综上所述, 我院CRKP的耐药率高, 主要耐药机

制是产KPC-2型碳青霉烯酶, 其次是产NDM-1、IMP-8型碳青霉烯酶。存在KPC-2型CRKP在科室间、科室内的克隆传播。CRKP治疗选择有限, 成本高且疗效不可靠, 应重点加强对CRKP的监测和院感控制。

参考文献

- [1] Hu F P, Guo Y, Zhu D M, *et al.* Resistance trends among clinical isolates in China reported from CHINET surveillance of bacterial resistance, 2005—2014[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22(Suppl 1): 9-14.
- [2] 王辉, 俞云松, 王明贵, 等. 替加环素体外药敏试验操作规程专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(7): 584-587.
- [3] 罗湘蓉, 王海霞, 牟霞, 等. 耐亚胺培南鲍氏不动杆菌的耐药性与同源性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(14): 3305-3307.
- [4] Bratu S, Tolaney P, Karumudi U, *et al.* Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: Molecular epidemiology and *in vitro* activity of polymyxin B and other agents[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 56(1): 128-132.
- [5] Qi C, Malczynski M, Parker M, *et al.* Characterization of genetic diversity of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected from 2004 to 2007[J]. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(3): 1106-1109.
- [6] Dallenne C, Da Costa A, Decré D, *et al.* Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65(3): 490-495.
- [7] Poirel L, Héritier C, Tolün V, *et al.* Emergence of oxacillinase mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(1): 15-22.
- [8] Cunningham S A, Noorie T, Meunier D, *et al.* Rapid and simultaneous detection of genes encoding *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (blaKPC) and New Delhi metallo- β -lactamase (bla_{NDM}) in Gram-negative bacilli[J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(4): 1269-1271.
- [9] Jeong S H, Bae I K, Park K O, *et al.* Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea[J]. *J Microbiol*, 2006, 44(4): 423-431.
- [10] 刘婧娴, 俞静, 陈峰, 等. 产KPC酶肺炎克雷伯菌的检测及传播途径初探[J]. 中华临床感染病杂志, 2015, 8(4): 306-309.
- [11] 张冀霞, 刘颖梅, 陈宏斌, 等. 我国产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌的基因型及流行病学研究[J]. 中华内科杂志, 2014, 53(2): 116-120.
- [12] Zavascki A P, Bulitta J B, Landersdorfer C B. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria[J]. *Expert Rev Anti-infe*, 2013, 11(12): 1333-1353.
- [13] 张冀霞, 王占伟, 王启, 等. 替加环素对临床常见多重耐

- 药菌的体外抗菌活性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(4): 308-312.
- [14] 徐英春, 肖永红, 卓超, 等. 中国耐碳青霉烯肠杆菌科细菌的流行病学和防控策略[J]. 中国执业药师, 2013, 10(4): 5-7.
- [15] 黄秋艳, 邵世和, 周海健, 等. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌基因检测及其同源性分析[J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(1): 56-61.
- [16] Zheng R, Zhang Q, Guo Y D, *et al.* Outbreak of plasmidmediated NDM-1 producing *Klebsiella pneumoniae* ST105 among neonatal patients in Yunnan, China[J]. *Ann Clin Microb Anti*, 2016, 15(1): 10.
- [17] 张丽萍, 刘杰, 孟冬娅, 等. 我国北方地区部分医院产新德里金属 β -内酰胺酶肠杆菌分子流行病学研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2015, 32(10): 808-813.
- [18] 张芳芳, 王晓丽, 瞿洪平, 等. 肠杆菌科细菌产碳青霉烯酶的主要类型和流行病学分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(6): 521-525.
- [19] Zhang R, Wang X D, Cai J C, *et al.* Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* with high *qnr* prevalence in a Chinese hospital[J]. *J Med Microbiol*, 2011, 60(7): 977-982.
- [20] Ridolfoab A L, Rimoldic S G, Paganic C, *et al.* Diffusion and transmission of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in the medical and surgical wards of a university hospital in Milan, Italy[J]. *J Infect Public Heal*, 2016, 9(1): 24-33.
- [21] 陈金云, 傅鹰, 杨青, 等. KPC-2及IMP-4酶介导肠杆菌科细菌耐碳青霉烯研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2015, 35(6): 419-424.
- [22] Tzouveleakis L S, Markogiannakis A, Psychogiou M, *et al.* Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: An evolving crisis of global dimensions[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2012, 25(4): 682-707.
- [23] Tumbarello M, Trecarichi E M, Tumietto F, *et al.* Predictive models for identification of hospitalized patients harboring KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(6): 3514-3520.