

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20216192

· 论 著 ·

## 肺炎克雷伯菌所致肝脓肿患者的临床特征及毒力基因检测

何 蕾<sup>1</sup>, 阴 晴<sup>1</sup>, 吴 亮<sup>2</sup>, 周亚玲<sup>1</sup>, 吴 瑶<sup>1</sup>, 戴晓玥<sup>2</sup>, 夏 雯<sup>2</sup>

(1. 江苏大学附属医院检验科, 江苏 镇江 212000; 2. 江苏大学医学院, 江苏 镇江 212013)

**[摘要]** **目的** 分析肺炎克雷伯菌肝脓肿(KPLA)患者的临床特征,了解肺炎克雷伯菌毒力基因携带情况,为临床早期诊断和合理治疗提供参考。**方法** 回顾性分析江苏大学附属医院 2017 年 7 月—2019 年 8 月收治的 34 例脓液培养阳性的细菌性肝脓肿患者的临床资料,分为 KPLA 组和非肺炎克雷伯菌肝脓肿(NKPLA)组。采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析仪进行细菌鉴定及药敏试验,采用黏液丝试验确定肺炎克雷伯菌的高黏液表型,采用 PCR 法进行耐药基因、荚膜血清分型及毒力基因检测,并对结果进行统计学分析。**结果** 34 例细菌性肝脓肿中有 22 例为 KPLA。KPLA 组患者多有基础疾病糖尿病,而 NKPLA 组患者则多有基础疾病胆道疾病或恶性肿瘤。22 株肺炎克雷伯菌中仅 2 株(9.1%)同时对环丙沙星、左旋氧氟沙星和复方磺胺甲噁唑耐药。22 株肺炎克雷伯菌中共检出 2 种 ESBLs 耐药基因,分别是 *bla*<sub>TEM</sub>(36.4%)、*bla*<sub>CTX-M-1</sub>(27.3%)。本研究中 22 株肺炎克雷伯菌均为高毒力肺炎克雷伯菌,检出高毒力荚膜血清型 5 种,以 K1 型为主,占 68.2%。22 株肺炎克雷伯菌均携带毒力基因 *rmpA*、*iucA*、*iroB*、*iutA*。**结论** KPLA 好发于中老年男性,多有糖尿病基础疾病,其菌株均为高毒力肺炎克雷伯菌,以 K1 血清型为主,并携带了大量的毒力基因,对临床常用的抗菌药物耐药率较低,但可携带耐药基因,需引起临床医生的高度关注。

**[关键词]** 肺炎克雷伯菌; 肝脓肿; 临床特征; 毒力基因**[中图分类号]** R378.99<sup>+</sup>6Clinical characteristics and virulence genes of patients with liver abscess caused by *Klebsiella pneumoniae*HE Lei<sup>1</sup>, YIN Qing<sup>1</sup>, WU Liang<sup>2</sup>, ZHOU Ya-ling<sup>1</sup>, WU Yao<sup>1</sup>, DAI Xiao-yue<sup>2</sup>, XIA Wen<sup>2</sup>

(1. Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China; 2. School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze the clinical characteristics of patients with *Klebsiella pneumoniae* liver abscess (KPLA), understand the carrying of virulence gene of *Klebsiella pneumoniae* (KP), and provide reference for clinical early diagnosis and rational treatment. **Methods** Clinical data of 34 patients with positive pus culture for bacterial liver abscess in the Affiliated Hospital of Jiangsu University from July 2017 to August 2019 were retrospectively analyzed, and were divided into KPLA group and non-KPLA (NKPLA) group. VITEK 2 Compact automatic microbial identification and antimicrobial susceptibility analyzer were used for bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing, string test was conducted for hypermucoviscous KP, polymerase chain reaction (PCR) was used to detect antimicrobial resistance genes, capsular serotype and virulence genes, results were statistically analyzed. **Results** Among 34 cases of bacterial liver abscess cases, 22 patients were with KPLA. Most patients in KPLA group had underlying disease diabetes mellitus, while patients in NKPLA group had underlying disease biliary tract disease or malignant tumor. Only 2 (9.1%) of 22 KP strains were both resistant to ciprofloxacin, levofloxacin and compound sulfamethoxazole, 2 extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) resistance genes were detected from 22 strains of KP, which were *bla*<sub>TEM</sub>(36.4%) and *bla*<sub>CTX-M-1</sub>(27.3%). 22 strains of KP were hypervirulent *Klebsiella*

[收稿日期] 2020-10-25

[基金项目] 江苏省 2018 年度预防医学科研课题(Y2018108);镇江市 2020 年度社会发展指导性科技计划项目(FZ2020037)

[作者简介] 何蕾(1995-),女(汉族),陕西省旬阳县人,硕士研究生,主要从事临床微生物检验研究。

[通信作者] 阴晴 E-mail: yinqingyinqing@aliyun.com; 吴亮 E-mail: wl\_ujs@163.com

pneumoniae (hvKP), 5 kinds of hypervirulent capsular serotypes were detected, and K1 was the main serotype, accounting for 68.2%. 22 strains of KP all carried virulence genes *rmpA*, *iucA*, *iroB* and *iutA*. **Conclusion** KPLA is more common in middle-aged and old men, most are with underlying disease diabetes mellitus, all strains are hvKP, mainly K1 serotype, and carry a large number of virulence genes, resistance rate to commonly used antimicrobial agents is low, but it can carry resistance genes, which needs to be paid great attention by clinicians.

[Key words] *Klebsiella pneumoniae*; liver abscess; clinical characteristic; virulence gene

肝脓肿是由细菌、真菌或寄生虫等病原微生物引起的肝化脓性病变,其中以细菌性肝脓肿(bacterial liver abscess, BLA)最常见,占80%以上<sup>[1]</sup>。过去认为大肠埃希菌是肝脓肿的主要致病菌,自1986年我国台湾首次报道肺炎克雷伯菌肝脓肿(*Klebsiella pneumoniae* liver abscess, KPLA)以来,近30年里,肺炎克雷伯菌逐渐取代大肠埃希菌成为东亚地区肝脓肿最主要的致病菌<sup>[2]</sup>。研究发现引起肝脓肿的肺炎克雷伯菌多为具有高黏液表型的高毒力肺炎克雷伯菌(hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKP)<sup>[3]</sup>,并且由 hvKP 导致的肝脓肿已被认为是一种新的侵袭性疾病,可引起转移性感染,如眼内炎、脑膜炎、骨髓炎及坏死性筋膜炎等,严重时可危及患者生命<sup>[3-4]</sup>。为加强对肺炎克雷伯菌肝脓肿的认识,本研究回顾性分析某院34例细菌性肝脓肿患者的临床资料,比较 KPLA 和非肺炎克雷伯菌肝脓肿(NKPLA)的临床特征差异,并探讨肺炎克雷伯菌毒力基因携带情况,为临床早期诊断及合理治疗提供参考。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

研究对象为江苏大学附属医院2017年7月—2019年8月收治的34例细菌性肝脓肿患者。所有患者均符合以下诊断标准<sup>[5]</sup>:①具有发热、寒战或腹痛等临床症状;②影像学检查结果(B超或CT)符合肝脓肿影像学特征;③血培养或脓液培养出致病菌;④经皮肝穿刺或外科手术治疗后证实;⑤排除阿米巴、结核性肝脓肿。根据细菌培养结果将细菌性肝脓肿患者分为肺炎克雷伯菌肝脓肿组(KPLA组)与非肺炎克雷伯菌肝脓肿组(NKPLA组)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 研究方法

通过查阅患者病历,对34例细菌性肝脓肿患者的临床资料、实验室资料和影像学资料进行回顾性分析。对从上述患者体内分离的22株肺炎克雷伯菌进行药敏试验、耐药基因检测、黏液丝试验、荚膜血清分型及毒力基因检测。

#### 1.2.2 主要仪器及试剂

VITEK 2 Compact 全自

动微生物鉴定及药敏分析仪(法国生物梅里埃生物公司);PCR扩增仪和凝胶电泳成像分析系统(美国Bio-Rad公司);2×PCR Master Mix 预混液(南京诺唯赞生物科技有限公司);DNA标志物(上海捷瑞生物工程有限公司);PCR引物由苏州泓讯生物科技有限公司合成。

#### 1.2.3 细菌鉴定及药敏试验

采用VITEK 2 Compact全自动微生物鉴定及药敏系统配套的鉴定卡及药敏卡对细菌进行鉴定和药敏试验,参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)2019年标准判读结果。

#### 1.2.4 耐药基因检测

采用PCR扩增法检测细菌耐药基因,引物参照文献<sup>[6-8]</sup>合成,见表1。从血平板上挑取3~5个菌落于盛有300 μL 灭菌ddH<sub>2</sub>O的EP管中振荡混匀,煮沸10 min以裂解细菌,经12 000 r/min离心10 min后收集上清即为DNA模板。PCR扩增碳青霉烯酶基因(*bla<sub>KPC</sub>*、*bla<sub>NDM-1</sub>*)、ESBLs基因(*bla<sub>TEM</sub>*、*bla<sub>CTX-M-1</sub>*)。PCR产物经1.2%琼脂糖凝胶电泳后拍照。

#### 1.2.5 黏液丝试验鉴定高黏液菌株

用接种环轻触在血琼脂平板上过夜生长的单个菌落并向外牵拉,同时测定形成的黏液丝长度。重复牵拉2次,若2次形成的黏液丝长度大于5 mm即判为阳性<sup>[4]</sup>。

#### 1.2.6 荚膜血清分型、毒力基因检测及高毒力肺炎克雷伯菌的确认

PCR扩增法检测7种荚膜血清型(K1、K2、K5、K16、K20、K54、K57)及9个毒力基因(*rmpA*、*rmpA<sub>2</sub>*、*iucA*、*iroB*、*peg-344*、*terB*、*iutA*、*magA*、*wcaG*)。引物参照文献<sup>[9-12]</sup>合成,见表1。PCR产物经1.2%琼脂糖凝胶电泳后拍照。参照文献<sup>[13]</sup>,将携带*rmpA*基因的高黏液肺炎克雷伯菌认定为 hvKP。

#### 1.3 统计学分析

应用GraphPad Prism 8.0软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用 $t$ 检验;非正态分布的计量资料以中位数和四分位数间距 $[M(P_{25} \sim P_{75})]$ 表示,采用Whitney  $U$ 检验;计数资料以例数(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher's确切概率法检验。 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

**表 1** 荚膜血清型、耐药基因及毒力基因引物序列

**Table 1** Primer sequences of capsular serotypes, antimicrobial resistance genes and virulence genes

基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)	退火温度(℃)
K1	F:GGTGCTCTTACATCATTGC R:GCAATGGCCATTTGCGTTAG	1 283	50
K2	F:GACCCGATATTCATACTTGACAGAG R:CCTGAAGTAAAATCGTAAATAGATGGC	641	52
K5	F:TGGTAGTGATGCTCGCGA R:CCTGAACCCACCCAATC	280	53
K16	F:GTGCTTAAACGGAGAAGTGAAC R:CCTCACCTGGAAGAAGTGTA	922	53
K20	F:CGGTGCTACAGTGCATCATT R:GTTATACGA TGCTCAGTCGC	741	54
K54	F:CATTAGCTCAGTGGTTGGCT R:GCTTGACAAAACCATAGCAG	881	52
K57	F:CTCAGGGCTAGAAGTGTCAT R:ACTAACCAGAAAGTCGAG	1 037	54
<i>Bla<sub>KPC</sub></i>	F:TGTCACGTATCGCCGTCCTCA R:GTGCTCTACAGAAAACC	1 010	55
<i>Bla<sub>NDM-1</sub></i>	F:GAAGCTGAGCACCGCATTAG R:GGGCCGTATGAGTGATTGC	982	55
<i>Bla<sub>TEM</sub></i>	F GTGCGCGGAACCCCTATT R TTACCAATGCTTAATCAGTGAGGC	919	55
<i>Bla<sub>CTX-M-1</sub></i>	F CCGAATCTGTTAAATCAGCG R GGTGGTATTGCCTTTCATCC	387	56
<i>ompA</i>	F:ACTGGGCTACCTCTGCTTC R:CTTGCAATGAGGCATCTTTCA	516	58
<i>ompA<sub>2</sub></i>	F:GTGCAATAAGGATGTTACATTA R:GGATGCCTCCCTCCTG	430	50
<i>iucA</i>	F: AATCAATGGCTATTCGCCGCTG R: CGCTTCACTTCTTCACTGACAGG	239	59
<i>iroB</i>	F: ATCTCATCATCTACCCTCCGCTC R: GGTTCGCCGTCGTTTTCAA	235	59
<i>peg-344</i>	F: CTTGAAACTATCCCTCCAGTC R: CCAGCGAAAGAATAACCCC	508	53
<i>terB</i>	F: TATCGCTGTTGCCAGTGAC R: CGGACAGCACTTCTTCATC	288	59
<i>iutA</i>	F:GGCTGGACATCATGGAACTGG R:CGTCCGGAACGGGTAGAATCG	300	55
<i>magA</i>	F:GGTGCTCTTACATCATTGC R:GCAATGGCCATTTGCGTTAG	1 283	59
<i>wcaG</i>	F: GGTGGGTGAGCAATCGTA R: ACTATTCGCCAACTTTTGC	168	58

## 2 结果

**2.1 临床特点** 本研究共收集 34 份 BLA 患者的临床资料,其中 KPLA 组 22 份,NKPLA 组 12 份。KPLA 组患者伴发糖尿病比率(59.1%)较高,而 NKPLA 组患者伴发胆道疾病比率(75.0%)较高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

**表 2** KPLA 组与 NKPLA 组患者临床特征比较

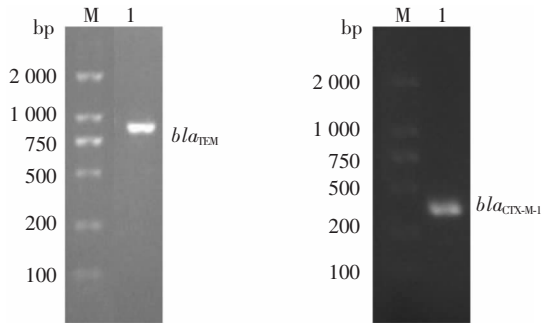
**Table 2** Comparison of clinical characteristics between patients in KPLA group and NKPLA group

临床特征	KPLA 组 (n = 22)	NKPLA 组 (n = 12)	$\chi^2/t/Z$	P
年龄(岁)	62.65 ± 12.67	63.3 ± 15.5	0.16	0.87
性别			-	0.22
男	14(63.6)	5(41.7)		
女	8(36.4)	7(58.3)		
基础病				
糖尿病	13(59.1)	2(16.7)	-	0.03
心血管疾病	8(36.4)	5(41.7)	-	0.99
胆道疾病	6(27.3)	9(75.0)	-	0.01
恶性肿瘤	0(0.0)	5(41.7)	-	0.003
临床表现				
最高体温(℃)			6.13	0.11
<37.3	3(13.6)	1(8.3)		
37.3~38.0	3(13.6)	3(25.0)		
38.1~39.0	4(18.2)	6(50.0)		
39.1~41.0	12(54.5)	2(16.7)		
腹痛	8(36.4)	7(58.3)	-	0.29
乏力	5(22.7)	5(41.7)	-	0.27
实验室检查				
白细胞计数 ( $\times 10^9/L$ )	14.38 ± 5.94	11.75 ± 4.90	1.30	0.20
中性粒细胞百分比(%)	85.16 ± 7.16	84.58 ± 8.43	0.21	0.84
CRP(mg/L)	161.9 (128.4,213.4)	160 (81.7,236.7)	-0.73	0.48
ALT(U/L)	79.9 (32.3,117.2)	34.85 (22.3,57.6)	-1.40	0.17
AST(U/L)	50.45 (29.5,106)	29.8 (21.6,40.4)	-1.44	0.15
ALB(U/L)	28.77 ± 5.27	30.53 ± 5.13	0.94	0.36
超声表现				
脓肿个数				
单个	16(72.7)	10(83.3)	-	0.68
多个	6(27.3)	2(16.7)		
脓肿位置			3.45	0.18
肝左叶	3(13.6)	5(41.7)		
肝右叶	17(77.3)	6(50.0)		
双叶	2(9.1)	1(8.3)		
脓肿大小(cm)				
5~10	18(81.8)	11(91.7)	-	0.63
>10	4(18.2)	1(8.3)		
住院时间(d)	16(13, 29)	22(15, 30)	-0.83	0.43
抗菌药物使用时间(d)				
≤14	8(36.4)	3(25.0)	0.46	0.79
15~28	8(36.4)	5(41.7)		
>28	6(27.2)	4(33.3)		
疗效				
治愈、好转	21(95.5)	10(83.3)	-	0.28
无效	1(4.5)	2(16.7)		

注: - 表示采用 Fisher's 确切概率法。CRP 参考值 0~10 mg/L; ALT 参考值 7~40 U/L; AST 参考值 13~35 U/L; ALB 参考值 40~55 U/L。

**2.2 病原学检测及药敏试验结果** KPLA 组中 22 株肺炎克雷伯菌, 仅有 2 株对环丙沙星、左旋氧氟沙星和复方磺胺甲噁唑耐药。其余 20 株除对氨苄西林耐药外, 对其他抗菌药物均敏感。NKPLA 组中 12 株菌株, 包括大肠埃希菌 6 株、咽峡炎链球菌 3 株、草绿色链球菌 2 株和尿肠球菌 1 株。

**2.3 耐药基因检测结果** 22 株肺炎克雷伯菌中共检出 2 种 ESBLs 基因 ( $bla_{TEM}$  和  $bla_{CTX-M-1}$ ), 未检出碳青霉烯酶基因 ( $bla_{KPC}$  和  $bla_{NDM-1}$ )。其中 8 株肺炎克雷伯菌检出  $bla_{TEM}$  基因, 阳性率为 36.4%; 6 株菌检出  $bla_{CTX-M-1}$  基因, 阳性率为 27.3%。22 株肺炎克雷伯菌中有 2 株菌同时携带  $bla_{TEM}$ 、 $bla_{CTX-M-1}$  基因, 见图 1。



M: DNA 分子量标准物; 1: 肺炎克雷伯菌 ESBLs 基因 PCR 产物电泳图。

**图 1** 肺炎克雷伯菌 ESBLs 基因 PCR 检测结果

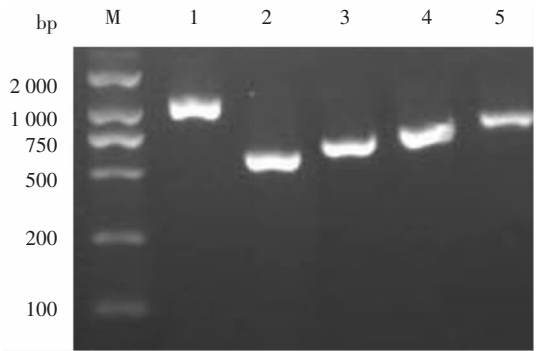
**Figure 1** PCR detection results of ESBLs gene of *Klebsiella pneumoniae*

**2.4 高黏液菌株鉴定试验** 22 株肺炎克雷伯菌黏液丝试验结果均为阳性, 阳性率达 100.0%。

**2.5 荚膜血清分型及毒力基因携带结果** 本研究 22 株肺炎克雷伯菌共检出 5 种荚膜血清型, 以 K1 血清型为主, 占 68.2% (15/22); 其次为 K2 型, 占 13.6% (3/22); 血清型 K20、K54、K57 检出率均为 4.5% (1/22); 未发现 K5、K16 血清型; 另有 1 株未见分型。见图 2。

毒力基因携带结果显示, 22 株肺炎克雷伯菌均携带  $rpmA$  基因, 结合黏液丝试验结果, 本研究中

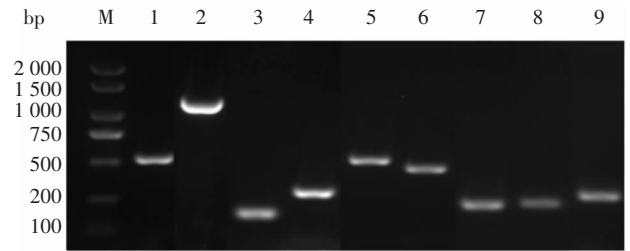
22 株肺炎克雷伯菌均为 hvKP。毒力基因以  $iucA$ 、 $iroB$ 、 $iutA$  和  $wcaG$  携带率最高, 为 100.0%;  $peg-344$ 、 $terB$ 、 $rpmA2$  和  $magA$  的携带率分别为 95.5%、86.4%、72.7%、68.2%。见图 3。22 株肺炎克雷伯菌均携带有毒力基因  $rpmA$ 、 $iucA$ 、 $iroB$ 、 $iutA$ 。K1 血清型以 9 种毒力基因同时携带为主; 在 K2 和 K57 血清型中  $rpmA + rpmA2 + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + terB + iutA$  是主要的携带模式; K20、K54 和未知血清型均为  $rpmA + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + terB + iutA$ 。见表 3。



M: DNA 分子量标准物; 1~5: K1、K2、K20、K54、K57 部分阳性结果电泳图。

**图 2** 肺炎克雷伯菌各种荚膜血清型的 PCR 检测结果

**Figure 2** PCR detection results of different capsule serotypes of *Klebsiella pneumoniae*



M: DNA 分子量标准物; 1~9:  $rpmA$ 、 $magA$ 、 $wcaG$ 、 $iutA$ 、 $rpmA2$ 、 $peg-344$ 、 $iroB$ 、 $iucA$ 、 $terB$  部分阳性结果电泳图。

**图 3** 肺炎克雷伯菌各种毒力基因的 PCR 检测结果

**Figure 3** PCR detection results of different virulence genes of *Klebsiella pneumoniae*

表 3 不同荚膜血清型携带毒力基因情况

Table 3 Virulence genes carried by different capsular serotypes

血清型	总株数	毒力基因携带模式	株数	构成比(%)
K1	15	<i>rmpA + rmpA<sub>2</sub> + magA + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + terB + iutA</i>	12	80.0
		<i>rmpA + magA + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + iutA</i>	2	13.3
		<i>rmpA + magA + wcaG + iucA + iroB + iutA</i>	1	6.7
K2	3	<i>rmpA + rmpA<sub>2</sub> + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + terB + iutA</i>	2	66.7
		<i>rmpA + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + terB + iutA</i>	1	33.3
K20	1	<i>rmpA + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + terB + iutA</i>	1	100.0
K54	1	<i>rmpA + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + terB + iutA</i>	1	100.0
K57	1	<i>rmpA + rmpA<sub>2</sub> + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + terB + iutA</i>	1	100.0
未知血清型	1	<i>rmpA + wcaG + iucA + iroB + peg-344 + terB + iutA</i>	1	100.0

### 3 讨论

肺炎克雷伯菌属于革兰阴性杆菌,可引起肺炎、尿路感染、血流感染等多种感染性疾病<sup>[14]</sup>。近年来,肺炎克雷伯菌已经取代了大肠埃希菌,成为BLA的主要致病菌。目前由肺炎克雷伯菌所致的BLA已占肝脓肿的43%~66%<sup>[15]</sup>。我国是BLA的高发国家之一,本研究结果表明,该院BLA患者多为中老年男性,肺炎克雷伯菌是其致病菌,占63.6%。与NKPLA组患者相比,KPLA好发于糖尿病患者,而NKPLA则好发于有胆道疾病或恶性肿瘤基础病的患者,该结果提示不同致病菌引起的BLA可能与患者自身基础疾病有关,而既往研究<sup>[16-17]</sup>也表明糖尿病是BLA的独立危险因素,并且诱发糖尿病患者BLA的致病菌多为肺炎克雷伯菌。可能是由于糖尿病患者机体免疫力低下,长期的高血糖状态抑制了白细胞的趋化和吞噬功能,有利于细菌的生长繁殖。此外长期的高血糖状态会破坏血管壁,使机体局部循环障碍,导致机体对细菌的清除能力下降<sup>[18-19]</sup>。而NKPLA则更好发于胆道疾病和恶性肿瘤基础上,除了因为机体免疫力降低,还可能是由于胆道梗阻、炎症、解剖结构的改变,使胆汁排泄受阻,肠道细菌更易于沿胆管进入肝脏所致<sup>[20-21]</sup>。

随着抗菌药物的广泛使用,肺炎克雷伯菌的耐药性逐年增强,尤其是耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的检出率逐年上升,给临床抗感染治疗带来严重挑战<sup>[22-23]</sup>。然而,本研究结果显示引发肝脓肿的肺炎克雷伯菌对临床常用抗菌药物的耐药率较低,仅有2株肺炎克雷伯菌同时对环丙沙星、左旋氧氟沙

星和复方磺胺甲噁唑耐药,对其他多种抗菌药物的敏感率为100.0%。可能与引起肝脓肿的肺炎克雷伯菌多为hvKP,且肺炎克雷伯菌高毒力与耐药性被认为不重叠出现有关<sup>[24-25]</sup>。因此,目前在因肺炎克雷伯菌所致肝脓肿的治疗中,抗菌药物选择难度较小。但本研究中的hvKP可携带ESBLs耐药基因,存在出现获得耐药性的可能。在临床治疗中需合理使用抗菌药物,延缓hvKP耐药菌株的出现。

肺炎克雷伯菌毒力因子主要有荚膜多糖、脂多糖、黏附素和铁载体这四大类,其中荚膜多糖和铁载体是其主要的毒力因子,也是导致hvKP具有特征性的主要因素。荚膜多糖有助于肺炎克雷伯菌抵抗宿主中性粒细胞吞噬,介导菌体逃避宿主免疫杀伤<sup>[26-27]</sup>。根据荚膜多糖(K抗原)分型,可将肺炎克雷伯菌分为78种荚膜血清型,其中K1、K2、K5、K16、K20、K54和K57被认为是高毒力血清型,K1型和K2型最为常见且毒力最强<sup>[28]</sup>,其中K1型是亚洲地区最常见的血清型<sup>[29]</sup>。本研究中共检出5种高毒力荚膜血清型,分别为K1、K2、K20、K54和K57,以K1型为主,占68.2%,与既往相关报道<sup>[29]</sup>相符,表明K1型是hvKP最常见的血清型。

本试验菌株携带的毒力因子主要为与荚膜多糖相关的毒力基因,如*rmpA*、*rmpA<sub>2</sub>*、*magA*、*wcaG*;与铁载体相关的毒力基因,如*iucA*、*iroB*、*terB*、*iutA*。有研究发现*magA*与hvKP荚膜合成有关,仅存在于K1型菌中,被认为是高黏液表型的介导因子<sup>[30]</sup>。Struve等<sup>[30]</sup>对菌株基因进行分析发现检出的K1型菌株数量与检出携带*magA*基因的菌株数一致,可提示*magA*基因是K1型特有基因,与本研究结果一致。本研究中hvKP均携带有4种毒力基因:*rmpA*、*iucA*、*iroB*、*iutA*。据文献<sup>[31]</sup>报道,赋

予菌株高毒力表型最具特征性的毒力因子由毒力质粒上存在的基因编码,其中包括 *iuc*、*iro*、*peg-344*、*rmpA* 和 *rmpA<sub>2</sub>*。毒力质粒可直接影响 hvKP 的毒力,在 hvKP 的致病中发挥重要作用。Ye 等<sup>[32]</sup>研究了从社区获得性肝脓肿患者分离的 40 株 hvKP 菌株,所有菌株均具有 *iuc*、*iro*、*rmpA* 和 *rmpA<sub>2</sub>*。本研究中 hvKP 主要携带有 5 种毒力基因可能是 hvKP 引起肝脓肿所不可缺少的基因。*peg-344* 是 hvKP 特异性基因,位于 hvKP 毒力质粒上,编码内膜转运蛋白。根据作为 hvKP 标记的性状的优势比,*peg-344* 基因具有最高的准确性、敏感性和特异性<sup>[31]</sup>。本研究中该基因在 hvKP 的携带率为 95.5%。

综上所述,该院 KPLA 多发于中老年男性及有糖尿病基础的人群,其分离的肺炎克雷伯菌均为 hvKP,以 K1 血清型为主,并携带多种毒力基因,目前对临床常用抗菌药物耐药率低,但可携带耐药基因。需引起临床医生高度重视,合理使用抗菌药物,减少 hvKP 耐药菌株的出现。

#### [参 考 文 献]

[1] 尹大龙,刘连新. 细菌性肝脓肿诊治进展[J]. 中国实用外科杂志, 2013, 33(9): 793-795.

[2] Moore R, O'Shea D, Geoghegan T, et al. Community-acquired *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: an emerging infection in Ireland and Europe[J]. Infection, 2013, 41(3): 681-686.

[3] Shon AS, Bajwa RP, Russo TA. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed [J]. Virulence, 2013, 4(2): 107-118.

[4] 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.

[5] Foo NP, Chen KT, Lin HJ, et al. Characteristics of pyogenic liver abscess patients with and without diabetes mellitus [J]. Am J Gastroenterol, 2010, 105(2): 328-335.

[6] 孙恒彪,陈佑明,尤旭,等. 碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌碳青霉烯及头孢菌素类抗生素耐药机制[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(5): 404-408.

[7] 宫雪,王勇,张吉生,等. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌耐药机制及同源性分析[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(4): 270-273.

[8] 赵晓杰,康海全,姜飞,等. KPC-2 基因和外膜蛋白介导的肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类药物耐药机制分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2015, 10(3): 211-214, 219.

[9] 李花,王倩. 肝脓肿肺炎克雷伯菌血清分型及毒力基因研究 [J]. 临床检验杂志, 2018, 36(7): 493-495.

[10] Fang CT, Lai SY, Yi WC, et al. *Klebsiella pneumoniae* geno-

type K1: an emerging pathogen that causes septic ocular or central nervous system complications from pyogenic liver abscess [J]. Clin Infect Dis, 2007, 45(3): 284-293.

[11] 和晋渝. 肺炎克雷伯菌的血清分型及毒力基因分布的研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2012.

[12] 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.

[13] Yu WL, Lee MF, Chen CC, et al. Impacts of hypervirulence determinants on clinical features and outcomes of bacteremia caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. Microb Drug Resist, 2017, 23(3): 376-383.

[14] Pastagia M, Arumugam V. *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses in a public hospital in Queens, New York [J]. Travel Med Infect Dis, 2008, 6(4): 228-233.

[15] Pang TC, Fung T, Samra J, et al. Pyogenic liver abscess: an audit of 10 years' experience [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(12): 1622-1630.

[16] Thomsen RW, Jepsen P, Sørensen HT. Diabetes mellitus and pyogenic liver abscess: risk and prognosis [J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(9): 1194-1201.

[17] Kaplan GG, Gregson DB, Laupland KB. Population-based study of the epidemiology of and the risk factors for pyogenic liver abscess [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2004, 2(11): 1032-1038.

[18] Tsai FC, Huang YT, Chang LY, et al. Pyogenic liver abscess as endemic disease, Taiwan [J]. Emerg Infect Dis, 2008, 14(10): 1592-1600.

[19] Kim JK, Chung DR, Wie SH, et al. Risk factor analysis of invasive liver abscess caused by the K1 serotype *Klebsiella pneumoniae* [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2009, 28(1): 109-111.

[20] 陈帆,张艳亭,乔慧捷,等. 肺炎克雷伯菌肝脓肿的临床特征分析 [J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(4): 764-768.

[21] 赵小芹,朱晓巍,徐湘,等. 肺炎克雷伯菌肝脓肿临床特征分析 [J]. 中华临床感染病杂志, 2011, 4(6): 364-367.

[22] 胡志军,潘晓龙,周东升,等. 肺炎克雷伯菌感染的临床分布及耐药性监测 [J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(12): 2865-2867.

[23] 曾云祥,胡凯凌,许建平,等. 2008—2012 年 484 株肺炎克雷伯菌耐药性分析及耐药机制的初步研究 [J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(5): 571-574.

[24] Hennequin C, Robin F. Correlation between antimicrobial resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae* [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2016, 35(3): 333-341.

[25] 魏丹丹,万腊根,刘洋. 强毒性血清型肺炎克雷伯菌的临床分布及耐药性分析 [J]. 重庆医学, 2016, 45(11): 1558-1560.

[26] Lawlor MS, Hsu J, Rick PD, et al. Identification of *Klebsiella pneumoniae* virulence determinants using an intranasal infec-

- tion model[J]. Mol Microbiol, 2005, 58(4): 1054 - 1073.
- [27] Domenico P, Salo RJ, Cross AS, et al. Polysaccharide capsule-mediated resistance to opsonophagocytosis in *Klebsiella pneumoniae*[J]. Infect Immun, 1994, 62(10): 4495 - 4499.
- [28] Moore PP, McGowan GF, Sandhu SS, et al. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess complicated by endogenous endophthalmitis; the importance of early diagnosis and intervention[J]. Med J Aust, 2015, 203(7): 300 - 301.
- [29] 徐水宝, 杨思宇, 翁珊珊, 等. 高毒力肺炎克雷伯菌血清型、毒力基因分布及分子标志物探索[J]. 微生物与感染, 2019, 14(6): 338 - 344.
- [30] Struve C, Bojer M, Nielsen EM, et al. Investigation of the putative virulence gene *magA* in a worldwide collection of 495 *Klebsiella* isolates; *magA* is restricted to the gene cluster of *Klebsiella pneumoniae* capsule serotype K1[J]. J Med Microbiol, 2005, 54(Pt 11): 1111 - 1113.
- [31] Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* [J]. Clin Microbiol Rev, 2019, 32(3): e00001 - 19.
- [32] Ye MP, Tu JF, Jiang JP, et al. Clinical and genomic analysis of liver abscess-causing *Klebsiella pneumoniae* identifies new liver abscess-associated virulence genes[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2016, 6: 165.

(本文编辑:付陈超、陈玉华)

**本文引用格式:**何蕾, 阴晴, 吴亮, 等. 肺炎克雷伯菌所致肝脓肿患者的临床特征及毒力基因检测[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(7): 619 - 625. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20216192.

**Cite this article as:** HE Lei, YIN Qing, WU Liang, et al. Clinical characteristics and virulence genes of patients with liver abscess caused by *Klebsiella pneumoniae*[J]. Chin J Infect Control, 2021, 20(7): 619 - 625. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20216192.