

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20244940

· 细菌耐药监测研究专题 ·

T6SS 阳性 CRKP 临床感染特征及毒力基因分析

刘莉娟, 储雯雯, 王 梦, 闫 涛, 龚 真, 周 强, 刘 周

(安徽医科大学第二附属医院检验科, 安徽 合肥 230601)

[摘要] **目的** 分析 T6SS 阳性耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)临床感染特征, 以及其耐药、毒力基因检出率和生物膜形成能力, 为临床防控 CRKP 感染提供参考数据。**方法** 收集 2019 年 1 月—2022 年 12 月安徽某三甲医院临床分离的 CRKP 菌株及患者资料, PCR 法检测 T6SS 基因、毒力基因、耐药基因和分子分型, 96 孔板结晶紫染色法检测生物膜形成能力。**结果** 共纳入 160 株 CRKP。标本来源以痰(46.9%)和血(26.3%)为主。CRKP 菌株呈现多重耐药表型, 以携带 bla_{KPC} (80.6%) 为主, 其次为 bla_{NDM} (17.5%)。根据是否携带 T6SS 将 CRKP 分为 T6SS 阳性组(129 株, 80.6%)和 T6SS 阴性组(31 株, 19.4%)。T6SS 阳性组患者患慢性肺部疾病和心脏疾病比例高于 T6SS 阴性组($P < 0.05$), 且预后较阴性组差($P < 0.05$)。T6SS 阳性组中, $iucA$ 、 $mrkD$ 、 $rmpA2$ 、 $peg344$ 、 $wabG$ 、 $fimH$ 检出率均高于 T6SS 阴性组(均 $P < 0.05$)。CRKP 中以 ST11 型(68.8%)为主, 其中 K64-ST11 型占比 70.9%, K47-ST11 型占比 25.5%。T6SS 阳性组 ST11 型和 K64-ST11 型 CRKP 占比均高于 T6SS 阴性组(均 $P < 0.05$)。T6SS 阳性组 CRKP 生物膜形成能力强于 T6SS 阴性组($P < 0.001$)。两组除 bla_{OXA-48} 基因外, 在携带其他碳青霉烯类耐药基因和抗菌药物耐药率方面差异无统计学意义。**结论** 该地区 CRKP 呈现多重耐药, CRKP 菌株 T6SS 检出率高, T6SS 阳性 CRKP 毒力基因检出率更高, 且生物膜形成能力更强。

[关键词] 肺炎克雷伯菌; T6SS; 毒力基因; 耐碳青霉烯类; 碳青霉烯酶

[中图分类号] R181.3⁺2 R378.99⁺6

Clinical infection characteristics and virulence genes of T6SS-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*

LIU Li-juan, CHU Wen-wen, WANG Meng, YAN Tao, GONG Zhen, ZHOU Qiang, LIU Zhou (Department of Laboratory Medicine, The Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the clinical infection characteristics, detection rates of antimicrobial resistance and virulence genes, as well as biofilm formation ability of T6SS-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP), provide reference for clinical prevention and control of CRKP infection. **Methods** Clinically isolated CRKP strains and patients' data from a tertiary first-class hospital in Anhui Province from January 2019 to December 2022 were collected. T6SS genes, virulence genes, antimicrobial resistance genes, and molecular typing were detected with polymerase chain reaction method. Biofilm formation ability was detection with 96-well plate crystal violet staining method. **Results** A total of 160 CRKP strains were included in study. The main sources of specimens were sputum (46.9%) and blood (26.3%). CRKP strains exhibited multidrug-resistant phenotype, mainly carrying bla_{KPC} (80.6%), followed by bla_{NDM} (17.5%). CRKP were divided into T6SS-positive group ($n = 129$, 80.6%) and T6SS-negative group ($n = 31$, 19.4%) based on whether they carried T6SS. The proportion of patients with chronic pulmonary and heart diseases in T6SS-positive group was higher than that in T6SS-negative

[收稿日期] 2023-09-04

[基金项目] 安徽医科大学校级基金项目(2022xkj172);安徽省高校 2023 年度科研计划基金项目(2023AH053175);安徽医科大学第二附属医院临床研究培育计划基金项目(2021LCYB04)

[作者简介] 刘莉娟(1998-),女(汉族),湖北省荆门市人,硕士研究生,主要从事细菌耐药机制及分子流行病学研究。

[通信作者] 刘周 E-mail: liuzhou0112@ahmu.edu.cn

group ($P < 0.05$), and the prognosis was worse than negative group ($P < 0.05$). In T6SS-positive group, the detection rates of *iucA*, *mrkD*, *rmpA2*, *peg344*, *wabG*, and *fimH* were all higher than those in T6SS-negative group (all $P < 0.05$). The main type in CRKP was ST11 (68.8%), with K64-ST11 accounting for 70.9% and K47-ST11 accounting for 25.5%. The proportions of ST11 CRKP and K64-ST11 CRKP in T6SS-positive group were both higher than T6SS-negative group (both $P < 0.05$). Biofilm formation ability of CRKP in T6SS-positive group was stronger than T6SS-negative group ($P < 0.001$). Except *bla_{OXA-48}* gene, there was no statistical difference in carrying of other carbapenem resistance genes and antimicrobial resistance rates between the two groups. **Conclusion** CRKP in this area exhibits multidrug resistance, with a higher detection rate of T6SS. T6SS-positive CRKP has a higher detection rate of virulence genes and stronger biofilm formation ability.

[Key words] *Klebsiella pneumoniae*; T6SS; virulence gene; carbapenem resistance; carbapenemase

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是引起医院感染常见的革兰阴性杆菌^[1]。随着碳青霉烯类抗生素的广泛应用,临床出现耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)播散流行^[2]。VI型分泌系统(type VI secretion system, T6SS)是一种新的毒力因子,在KP中可通过分泌效应蛋白实现抗菌和抗宿主功能,与医院环境适应性、生物膜形成及宿主内定植能力密切相关,并能促进基因水平转移,以及毒力因子和耐药基因的传播^[3-4]。

T6SS组成结构复杂,包含多种蛋白,其中内管蛋白Hcp和刺突蛋白VgrG是T6SS向靶细胞释放效应蛋白的关键成分,同时也是T6SS的关键分泌蛋白。IcmF是具有ATP酶活性的膜间蛋白,是T6SS的必要成分,参与效应蛋白进入靶细胞^[5-7]。研究^[7-9]证明这三种蛋白在T6SS发挥生理学功能中的重要性,并将编码此三种蛋白的基因同时阳性认定为T6SS阳性。

尽管T6SS在血流感染KP中的检出率已有相关报道^[10],但其在CRKP中的检出率,及其和毒力基因、耐药基因之间的关系研究较少。因此,本研究回顾性分析安徽地区某省级综合性三级甲等医院2019年1月—2022年12月CRKP临床分离株的感染特征,检测T6SS在CRKP中的检出率,以及T6SS阳性CRKP毒力基因、耐药基因的检出率和生物膜形成能力,以期对CRKP的临床防控和治疗提供相关依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集2019年1月—2022年12月安徽地区某省级综合性三级甲等医院临床分离的非重复CRKP菌株。判定标准为对至少一种碳青霉烯类抗生素耐药或携带碳青霉烯酶耐药基因的KP。同时

收集CRKP来源患者的性别、年龄、基础疾病、抗菌药物使用情况和临床转归等临床资料。本研究经该院伦理委员会审查同意(批准号:PJ-YX2022-083)。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定和药物敏感性(药敏)试验 血琼脂平板培养细菌并分离纯化,应用Microflex-LT/SH型质谱分析仪(德国BRUKER公司)进行细菌鉴定,应用VITEK 2 Compact全自动细菌分析仪(法国BioMérieux公司)检测CRKP抗菌药物耐药性,结果判定参考美国临床实验室标准化协会(CLSI)2020年版标准^[11]。

1.2.2 T6SS基因、毒力基因检测 采用煮沸法提取菌株DNA模板,PCR检测T6SS关键基因*hcp*、*icmF*、*vgrG*,扩增条件及方法参见文献^[5]。上述三个关键基因均阳性判定为T6SS阳性^[5],并根据该结果将菌株分为T6SS阳性组和T6SS阴性组。同时采用PCR法检测毒力基因,包括*iucA*、*allS*、*iroB*、*mrkD*、*rmpA*、*rmpA2*、*entB*、*wabG*、*fimH*、*peg344*和*ybtS*,扩增条件及方法参见文献^[12]。

1.2.3 分子分型、荚膜血清分型和耐药基因检测 采用多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)检测CRKP序列分型(sequence typing, ST),PCR法检测管家基因*gapA*、*infB*、*mdh*、*pgi*、*phoE*、*rpoB*和*tonB*,将序列提交至MLST数据库,最终确定ST型^[13]。采用PCR法联合测序技术检测CRKP菌株荚膜*wzi*分型^[14]。采用PCR法检测*bla_{KPC}*、*bla_{IMP}*、*bla_{VIM}*、*bla_{NDM}*和*bla_{OXA-48}*5种耐药基因,将序列提交至BLAST网站进行比对,最终确定碳青霉烯酶耐药基因分型。扩增条件及方法参见文献^[15]。

1.2.4 生物膜形成试验 采用96孔板结晶紫染色法评估生物膜形成能力^[7]。随机选取T6SS阳性、阴性菌株各10株,制备成0.5麦氏比浊单位(McF)菌悬液,每孔中加入10 μL菌悬液和190 μL MHB

肉汤,每个菌株设置 3 个重复孔,36℃ 培养 48 h 后弃去所有菌液并使用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗 3 遍。干燥后采用 200 μL 0.1% 结晶紫染色 30 min, PBS 洗净多余染料后干燥。每孔加入无水乙醇后,采用酶标仪测量 570 nm 处吸光度,得出相对于对照的生物膜测量值。每板最后 3 个孔加入 200 μL MHB 肉汤作为阴性对照。

1.2.5 统计分析 应用 WHONET 2021 软件分析菌株对抗菌药物的耐药率,应用 GraphPad Prism 8.0 软件作图,其他统计分析应用 SPSS 21.0 软件。计数资料比较采用卡方检验和 Fisher 确切概率法,计量资料比较采用 *t* 检验,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株情况及临床患者感染特征 共纳入非重复菌株 160 株。其中 T6SS 阳性菌株 129 株(80.6%),T6SS 阴性菌株 31 株(19.4%)。标本来源为痰(75 株,46.9%)、血(42 株,26.3%)、尿(15 株,9.4%)、脓及分泌物(14 株,8.7%)、腹腔积液及关节腔液(8 例,5.0%)、胆汁(3 株,1.9%)、穿刺液(2 株,1.3%)、尖端引流管(1 株,0.6%)。T6SS 阳性组与阴性组患者在性别、年龄、标本来源等方面差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。T6SS 阳性组患者患慢性肺部疾病、循环系统疾病比例均高于阴性组,其预后较 T6SS 阴性组患者差(均 $P < 0.05$)。见表 1。

2.2 体外药敏试验及耐药基因检测结果 药敏试验结果显示,CRKP 对多黏菌素 B、替加环素、头孢他啶/阿维巴坦耐药率分别为 3.1%、8.1%、25.6%,对

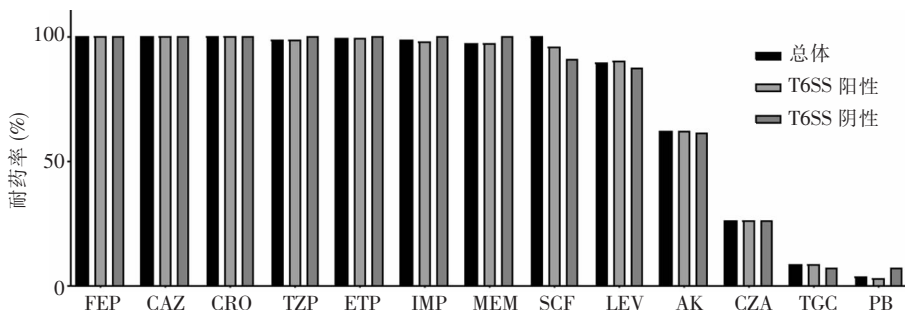
表 1 T6SS 阳性组与阴性组患者临床特征比较[例(%)]

Table 1 Comparison of clinical characteristics between patients in T6SS-positive group and T6SS-negative group (No. of cases [%])

研究指标	T6SS 阳性组 (n = 129)	T6SS 阴性组 (n = 31)	χ^2	P
年龄 ≥ 65 岁	62(48.1)	12(38.7)	0.879	0.348
性别			1.525	0.217
男	86(66.7)	17(54.8)		
女	43(33.3)	14(45.2)		
使用碳青霉烯类抗生素*	67(51.9)	16(51.6)	0.099	0.753
标本种类				
痰	63(48.8)	12(38.7)	1.029	0.310
血	34(26.4)	8(25.8)	0.004	0.950
尿	9(7.0)	6(19.4)	3.168	0.075
其他	23(17.8)	5(16.1)	0.050	0.823
基础疾病				
高血压	48(37.2)	6(19.4)	3.563	0.059
糖尿病	22(17.1)	7(22.6)	0.514	0.473
慢性肺部疾病	40(31.0)	4(12.9)	4.109	0.043
神经系统疾病	57(44.2)	14(45.2)	0.010	0.922
循环系统疾病	46(35.7)	4(12.9)	6.024	0.014
实体恶性肿瘤	22(17.1)	6(19.4)	0.092	0.762
临床预后			4.267	0.039
治愈或好转	65(50.4)	22(71.0)		
死亡或放弃治疗	64(49.6)	9(29.0)		

注: * 表示发生 CRKP 感染前。

其余药物耐药率均较高。T6SS 阳性组和阴性组菌株对不同抗菌药物耐药率比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见图 1。



注:FEP 为头孢吡肟,CAZ 为头孢他啶,CRO 为头孢曲松,TZP 为哌拉西林/他唑巴坦,ETP 为厄他培南,IMP 为亚胺培南,MEM 为美罗培南,SCF 为头孢哌酮/舒巴坦,LEV 为左氧氟沙星,AK 为阿米卡星,CZA 为头孢他啶/阿维巴坦,TGC 为替加环素,PB 为多黏菌素 B。

图 1 T6SS 阳性组和 T6SS 阴性组菌株对抗菌药物的耐药率

Figure 1 Antimicrobial resistance rates of strains in T6SS-positive group and T6SS-negative group

PCR 法检测碳青霉烯类耐药基因, *bla_{KPC}*、*bla_{IMP}*、*bla_{NDM}*、*bla_{OXA-48}* 在 CRKP 中的检出率分别为 80.6%、1.9%、17.5%、2.5%, 未检测出 *bla_{VIM}*。检测出的 *bla_{KPC}* 基因型均为 KPC-2, *bla_{NDM}* 中检测出 NDM-1、NDM-4、NDM-5、NDM-7。 *bla_{KPC}*、*bla_{IMP}*、*bla_{NDM}* 检出率在 T6SS 阳性组和 T6SS 阴性组间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$), *bla_{OXA-48}* 在 T6SS 阴性组的检出率高于 T6SS 阳性组($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 T6SS 阳性组和 T6SS 阴性组耐药基因分析[株(%)]

Table 2 Antimicrobial resistance genes in T6SS-positive group and T6SS-negative group (No. of isolates [%])

耐药基因	总体 (n = 160)	T6SS 阳性组 (n = 129)	T6SS 阴性组 (n = 31)	P
<i>bla_{KPC}</i>	129(80.6)	105(81.4)	24(77.4)	0.615
<i>bla_{NDM}</i>	28(17.5)	21(16.3)	7(22.6)	0.407
<i>bla_{IMP}</i>	3(1.9)	3(2.3)	0(0)	1.000
<i>bla_{OXA-48}</i>	4(2.5)	1(0.8)	3(9.7)	0.023
<i>bla_{VIM}</i>	0(0)	0(0)	0(0)	-

注: - 表示数据不存在。

2.3 分子分型及毒力基因检测结果 MLST 结果显示, CRKP 中以 ST11 型(68.8%)为主, 其次为 ST15 型(6.3%)。T6SS 阳性组中 ST11 型 CRKP 的占比高于 T6SS 阴性组($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 T6SS 阳性组和 T6SS 阴性组分子分型分析[株(%)]

Table 3 Molecular typing of T6SS-positive group and T6SS-negative group (No. of isolates [%])

型别	总体 (n = 160)	T6SS 阳性组 (n = 129)	T6SS 阴性组 (n = 31)	P
ST11	110(68.8)	94(72.9)	16(51.6)	0.022
ST15	10(6.3)	7(5.4)	3(9.7)	0.642
ST307	5(3.1)	5(3.9)	0(0)	0.584
ST656	4(2.5)	4(3.1)	0(0)	1.000
ST1899	2(1.3)	0(0)	2(6.5)	0.037
ST37	2(1.3)	1(0.8)	1(3.2)	0.351
其他	27(16.8)	18(13.9)	9(29.0)	0.044

荚膜血清分型显示, CRKP 中以 K64、K47 型为主, 二者序列分型均为 ST11 型, 且在 ST11 型 CRKP 中占比分别为 70.9%、25.5%, K64-ST11 型 CRKP 占比高于 K47-ST11 型($P < 0.05$)。根据

T6SS 是否阳性分组, 比较 CRKP 荚膜血清分型差异。T6SS 阳性组中 K64 型 70 株(54.3%), K47 型 20 株(15.5%), K19 型 6 株(4.6%)。T6SS 阴性组中 K64 型、K47 型各 8 株(25.8%), K19 型 2 株(6.5%)。T6SS 阳性组 K64 型 CRKP 占比高于 T6SS 阴性组($P = 0.004$)。毒力因子检测结果显示, T6SS 阳性组中 *iucA*、*mrkD*、*rmpA2*、*peg344*、*wabG*、*fimH* 检出率均高于 T6SS 阴性组(均 $P < 0.05$)。见表 4。

表 4 T6SS 阳性组和 T6SS 阴性组荚膜分型及毒力因子分析[株(%)]

Table 4 Capsular serotype and virulence factors of T6SS-positive group and T6SS-negative group (No. of isolates [%])

研究指标	T6SS 阳性组 (n = 129)	T6SS 阴性组 (n = 31)	χ^2	P
荚膜血清型				
K2	0(0)	1(3.2)	-	0.194
K19	6(4.6)	2(6.5)	< 0.001	1.000
K30	4(3.1)	0(0)	-	1.000
K47	20(15.5)	8(25.8)	1.838	0.175
K63	0(0)	2(6.5)	-	0.037
K64	70(54.3)	8(25.8)	8.101	0.004
其他	29(22.5)	10(32.2)	1.296	0.255
毒力因子				
<i>allS</i>	7(5.4)	3(9.7)	0.771	0.380
<i>iroB</i>	4(3.1)	4(12.9)	3.203	0.074
<i>iucA</i>	81(62.8)	13(41.9)	4.486	0.034
<i>entB</i>	129(100)	30(96.8)	-	0.194
<i>mrkD</i>	123(95.3)	23(74.2)	14.010	< 0.001
<i>rmpA</i>	27(20.9)	3(9.7)	2.077	0.149
<i>rmpA2</i>	80(62.0)	11(35.5)	7.173	0.007
<i>peg344</i>	55(42.6)	7(22.6)	4.235	0.040
<i>wabG</i>	123(95.3)	25(80.6)	5.814	0.016
<i>fimH</i>	100(77.5)	14(46.2)	12.775	< 0.001
<i>ybtS</i>	103(79.8)	25(80.6)	0.010	0.920

注: - 表示采用 Fisher 确切概率法, χ^2 值不存在。

2.4 生物膜形成能力分析 随机选取 T6SS 阳性、阴性菌株各 10 株进行生物膜形成定量检测, 结果显示相应生物膜形成量分别为 0.082 ± 0.015 、 0.044 ± 0.008 , 阴性对照生物膜形成量为 0.037 ± 0.001 。T6SS 阳性组生物膜形成量高于 T6SS 阴性组, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。

3 讨论

近年来,CRKP 的检出率逐渐上升,并由于其多重耐药性迅速传播。CRKP 获取毒力质粒后可转变为高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, CR-hvKP),严重影响 KP 相关感染患者的预后。T6SS 能促进毒力基因和耐药基因的水平转移,因此,本研究探索 T6SS 阳性 CRKP 临床感染特征,及其与毒力、耐药基因和生物膜形成之间的关系。

T6SS 和毒力基因检测发现 CRKP 中 T6SS 检出率高达 80.6%。T6SS 阳性菌株 *iucA*、*mrkD*、*rmpA2*、*peg344*、*wabG*、*fimH* 检出率均高于 T6SS 阴性菌株(均 $P < 0.05$),而这些基因与菌毛、荚膜、铁载体和脂多糖等常见的毒力因子密切相关。*iucA* 编码铁载体气杆菌素,目前在大多数高毒力 KP 中存在;*rmpA2* 是黏液表型调节因子,其表达会上调荚膜产生;*fimH* 和 *mrkD* 分别参与编码 1 型和 3 型菌毛;*wabG* 编码脂多糖产生的相关基因^[16];*peg344* 编码未知功能的代谢转运蛋白,在高毒力 KP 中广泛流行,利用 *peg344* 阳性检测高毒力 KP 具有高灵敏度、特异度^[17]。毒力基因检测结果提示 T6SS 阳性 CRKP 菌株携带更多的毒力基因,T6SS 阳性 CRKP 可能拥有更强的毒力。

生物膜是细胞外基质包裹的细菌菌群,包括 KP 在内的多种微生物均具有生物膜形成能力。生物膜的形成可使 KP 免受免疫系统和抗菌药物对其的杀伤作用,且有多种毒力基因参与生物膜的形成^[18]。因此,本研究对比 T6SS 阳性、阴性 CRKP 生物膜形成量,发现 T6SS 阳性组生物膜形成能力强于 T6SS 阴性组,提示 T6SS 有可能参与生物膜的形成,导致细菌在人体内定植,造成慢性感染。同时,临床资料统计结果显示,T6SS 阳性组患者患慢性肺部疾病与心脏疾病的比例均高于 T6SS 阴性组(均 $P < 0.05$),且预后更差,这表明 T6SS 阳性菌株可能具有更强的毒力。综合分析毒力基因、生物膜形成能力及患者预后等情况,T6SS 阳性 CRKP 菌株可能在具备多重耐药特点的同时具有更强的毒力,因此,临床医务人员应加强对 T6SS 阳性 CRKP 的感染防控意识。

本研究对 CRKP 进行了 ST 型和荚膜血清分型检测,ST11 型 CRKP 占比 68.8%,且 T6SS 阳性 CRKP 中 ST11 型检出率高于 T6SS 阴性 CRKP。

根据荚膜血清分型将 ST11 型分为 K64-ST11 型和 K47-ST11 型,K64-ST11 型检出率为 70.9%,高于 K47-ST11 型(25.5%),且 K64-ST11 型在 T6SS 阳性组检出率高于 T6SS 阴性组($P < 0.05$)。有研究^[19]报道 K64-ST11 型菌株的毒力较 K47-ST11 型高,且 K64-ST11 型检出率逐渐增高,高于 K47-ST11 型,进一步证明了 T6SS 阳性菌株可能与高毒力有关。

随着抗菌药物的广泛、甚至是不规范使用,耐碳青霉烯类肠杆菌(CRE)的检出率逐渐上升。CRKP 耐药机制中最主要的是携带碳青霉烯酶类耐药基因,其可以使 β -内酰胺类抗生素失活,导致对绝大多数此类抗生素耐药^[20]。常见的碳青霉烯酶分型包括 A 类丝氨酸酶(KPC 型最常见),B 类金属酶(NDM 型、VIM 型、IMP 型等),D 类丝氨酸酶(OXA 型常见)。本研究结果显示,CRKP 中最常见的碳青霉烯酶基因型为 KPC,其次是 NDM,而 VIM、IMP、OXA-48 较少见,其中以 KPC-2 最多,其次是 NDM-1、NDM-5。T6SS 阳性组和阴性组碳青霉烯类耐药基因和抗菌药物耐药率比较无明显差异,这与其他研究结果不同,可能因为本研究 T6SS 阳性组和阴性组均以 ST11 型 CRKP 为主,其缺乏 R-M 系统和 CRISPR-Cas 系统,更容易获得耐药性。

综上所述,本研究对于该地区 T6SS 在 CRKP 中的分布、相关感染特征、毒力基因、耐药基因、生物膜形成能力进行了分析,发现 T6SS 在 CRKP 中的检出率较高,且携带 T6SS 的 CRKP 毒力基因检出率更高,被认为与高毒力相关的基因 *iucA*、*rmpA*、*rmpA2*、*peg344* 在 CRKP 中的检出率也较高,CR-hvKP 检出率的增加可能使临床治疗更加困难。但目前回顾性研究样本量不够,存在一定局限性,后续可以检测患者感染普通 KP 至 CRKP 过程中,T6SS 的携带情况及表达量的变化,更客观地反映菌株产生耐药性的同时其毒力如何变化,为临床防治 CRKP 感染提供依据。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] Lai CC, Yu WL. *Klebsiella pneumoniae* harboring carbapenemase genes in Taiwan: its evolution over 20 years, 1998 - 2019[J]. Int J Antimicrob Agents, 2021, 58(1): 106354.
- [2] Della Rocca MT, Foglia F, Crudele V, et al. Antimicrobial resistance changing trends of *Klebsiella pneumoniae* isolated over the last 5 years[J]. New Microbiol, 2022, 45(4): 338 -

- 343.
- [3] Li WZ, Liu XF, Tsui W, et al. Identification and comparative genomic analysis of type VI secretion systems and effectors in *Klebsiella pneumoniae* [J]. Front Microbiol, 2022, 13: 853744.
- [4] 殷冠坤, 靳龙阳, 王辉. 肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌 VI 型分泌系统研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2021, 41(8): 640-644.
- Yin GK, Jin LY, Wang H. Advances in *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* type VI secretion systems[J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2021, 41(8): 640-644.
- [5] Liu PL, Yang AW, Tang B, et al. Molecular epidemiology and clinical characteristics of the type VI secretion system in *Klebsiella pneumoniae* causing abscesses[J]. Front Microbiol, 2023, 14: 1181701.
- [6] Weber BS, Kinsella RL, Harding CM, et al. The secrets of *Acinetobacter secretion*[J]. Trends Microbiol, 2017, 25(7): 532-545.
- [7] Liao WJ, Huang HH, Huang QS, et al. Distribution of type VI secretion system (T6SS) in clinical *Klebsiella pneumoniae* strains from a Chinese hospital and its potential relationship with virulence and drug resistance[J]. Microb Pathog, 2022, 162: 105085.
- [8] Storey D, McNally A, Åstrand M, et al. *Klebsiella pneumoniae* type VI secretion system-mediated microbial competition is PhoPQ controlled and reactive oxygen species dependent[J]. PLoS Pathog, 2020, 16(3): e1007969.
- [9] Hsieh PF, Lu YR, Lin TL, et al. *Klebsiella pneumoniae* type VI secretion system contributes to bacterial competition, cell invasion, type-1 fimbriae expression, and *in vivo* colonization [J]. J Infect Dis, 2019, 219(4): 637-647.
- [10] Zhang Y, Xu YH, Huang Y. Virulence genotype and correlation of clinical severeness with presence of the type VI secretion system in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bloodstream infections[J]. Infect Drug Resist, 2022, 15: 1487-1497.
- [11] Humphries R, Bobenchik AM, Hindler JA, et al. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100, 31st edition [J]. J Clin Microbiol, 2021, 59(12): e0021321.
- [12] Turton JF, Payne Z, Coward A, et al. Virulence genes in isolates of *Klebsiella pneumoniae* from the UK during 2016, including among carbapenemase gene-positive hypervirulent K1-ST23 and 'non-hypervirulent' types ST147, ST15 and ST383 [J]. J Med Microbiol, 2018, 67(1): 118-128.
- [13] 杭修兵, 肖晓, 储雯雯, 等. 血流感染肺炎克雷伯菌临床特征、毒力基因及分子流行病学研究[J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(8): 839-844.
- Hang XB, Xiao X, Chu WW, et al. Clinical characteristics, virulence genes, and molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* in bloodstream infection[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2022, 47(8): 839-844.
- [14] Wang J, Ma RJ, Pan F, et al. The molecular epidemiology of prevalent *Klebsiella pneumoniae* strains and humoral antibody responses against carbapenem-resistant *K. pneumoniae* infections among pediatric patients in Shanghai [J]. mSphere, 2022, 7(5): e0027122.
- [15] 何红, 黄紫嫣, 李军, 等. 改良 Hodge 试验、CNPt 及 mCIM 筛选肺炎克雷伯菌产碳青霉烯酶的价值[J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(5): 375-379.
- He H, Huang ZY, Li J, et al. Value of modified Hodge test, Carba NP test, and modified carbapenem inactivation method for screening carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2019, 18(5): 375-379.
- [16] Paczosa MK, Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2016, 80(3): 629-661.
- [17] Yan C, Zhou Y, Du SH, et al. Recombinase-aided amplification assay for rapid detection of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hvKp) and characterization of the hvKp pathotype [J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(2): e0398422.
- [18] Guerra MES, Destro G, Vieira B, et al. *Klebsiella pneumoniae* biofilms and their role in disease pathogenesis[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 877995.
- [19] 王伟, 康海全, 赵树龙, 等. KL47 型和 KL64 型 ST11 碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌分子流行病学特征[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(6): 819-823.
- Wang W, Kang HQ, Zhao SL, et al. Molecular epidemiological characteristics of ST11-KL47 and ST11-KL64 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2022, 32(6): 819-823.
- [20] Jee Y, Carlson J, Rafai E, et al. Antimicrobial resistance: a threat to global health[J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(9): 939-940.

(本文编辑: 翟若南)

本文引用格式: 刘莉娟, 储雯雯, 王梦, 等. T6SS 阳性 CRKP 临床感染特征及毒力基因分析[J]. 中国感染控制杂志, 2024, 23(4): 488-493. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20244940.

Cite this article as: LIU Li-juan, CHU Wen-wen, WANG Meng, et al. Clinical infection characteristics and virulence genes of T6SS-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Chin J Infect Control, 2024, 23(4): 488-493. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20244940.