

## · 综述 ·

## 高毒力肺炎克雷伯菌研究进展

陈辞言 杜艳

【摘要】肺炎克雷伯菌(KP)为常见的医院获得性和社区获得性感染病原菌,近年来肺炎克雷伯菌所致的肝脓肿患者例数逐渐增加,且多伴随肝外感染,故得到了广泛关注。这种引起肝脓肿的肺炎克雷伯菌具有较高毒力以及高黏液特性,易导致健康个体感染,因此将其定义为高毒力肺炎克雷伯菌(hvKP)。高毒力肺炎克雷伯菌感染的临床特点、对抗菌药物的敏感性以及分子生物学特性,均不同于传统的肺炎克雷伯菌(cKP),故对高毒力肺炎克雷伯菌的毒力基因进行研究有助于明确该细菌的致病机制,有助于尽早诊断和治疗该细菌导致的感染,有效改善高毒力肺炎克雷伯菌感染者的预后。

【关键词】高毒力肺炎克雷伯菌;毒力基因;高黏液性;铁载体;耐药特点

**Progress on hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*** Chen Ciyan, Du Yan. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University; Yunnan Institute of Laboratory Diagnosis; Yunnan Key Laboratory of Laboratory Medicine, Kunming 650032, China  
Corresponding author: Du Yan, Email: duyan\_m@139.com

【Abstract】*Klebsiella pneumoniae* (KP) is a common hospital-acquired and community-acquired pathogen. In recent years, patients with liver abscess caused by KP and accompanying extrahepatic infection have gradually increased, and causing widespread concern. The pathogen, which caused liver abscess, and characterized by high virulence and high mucinous, is easy to cause infection among healthy individual. Therefore, it is defined as hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hvKP). Compared with classic *Klebsiella pneumoniae* (cKP), the clinical characteristics of hvKP infection, sensitivity to antibiotics, and molecular biological characteristics are significantly different. It will be a fine way to understand the pathogenic mechanism of the bacteria by studying the virulence gene of hvKP, which may help to early diagnose and medical treatment of the infection caused by the bacteria, and will effectively improve the prognosis of patients with hvKP infection.

【Key words】Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*; Virulence gene; Hypermucoviscous; Siderophores; Drug-resistance characteristic

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是常见的条件致病菌,常导致医院内感染,如肺炎、尿路感染等<sup>[1]</sup>。1986年在中国台湾首次报道了由KP感染导致的肝脓肿病例,患者继而出现了化脓性脑膜炎、前列腺脓肿、脓毒性眼炎等症状,尽管积极应用抗菌药物治疗,但最终仍导致患者失明<sup>[2]</sup>。与传统肺炎克雷伯菌(classic *Klebsiella pneumoniae*, cKP)相比,这种导致健康宿主非传统部位严重感染的菌株,其菌落在琼脂培养基上表现出高黏液特性,故将这种具有高黏液性、高致病性的KP定义为高毒力肺炎克雷伯菌(hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKP)。过去30余年

中, hvKP在全球范围传播,导致危及生命的重症肺炎、肝脏和其肝外部位的脓肿、脑膜炎、眼炎和坏死性筋膜炎等<sup>[3]</sup>。与cKP感染不同, hvKP感染者大多属于社区获得性感染,约半数hvKP感染者无基础疾病,且发病年龄并不局限于老年人<sup>[4]</sup>,故需要引起足够的重视。

有文献报道<sup>[5]</sup>, 2例hvKP感染者中1例患者以视神经障碍就诊,就诊时右眼眼睑肿胀和角膜水肿,无相关疾病史,CT显示肝脏和前列腺脓肿,对其肝脏脓液标本和房水进行细菌培养检出hvKP;另1例患者以发热和泌尿系统感染症状就诊,既往有糖尿病和高血压病史,有视力下降和肺部感染症状,CT显示肺和前列腺脓肿,但无肝脓肿,头部MRI增强扫描显示有脑脓肿,对其痰液、尿液、前列腺液和房水进行培养均检出hvKP。以上2个病例提示hvKP感染的发病过程可表现为隐匿性起病,患者就诊时已表现为转移性感染继而病情进展加重。因此,对hvKP的毒力基因

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2019.02.001

基金项目: 2017年云南省医学学科带头人培养项目(No. D-2017023)

作者单位: 650032 昆明市,昆明医科大学第一附属医院检验科、云南省实验诊断研究所、中国云南省检验医学重点实验室

通信作者: 杜艳, Email: duyan\_m@139.com;

以及耐药研究可有助于更好地了解其传播机制,为治疗和预防hvKP感染提供理论依据。

### 一、hvKP相关的毒力因素

1. hvKP的血清型: hvKP中与肝脓肿相关血清型至少有6个,分别为K1、K2、K5、K20、K54和K57<sup>[6]</sup>,其中主要流行的K1和K2型毒力最强,K1和K2型hvKP的荚膜在细菌抗吞噬和抗补体过程中亦必不可少<sup>[7-8]</sup>。大多数K1型菌株属于ST23序列型,而大多数K2型归属于ST86和ST65序列型<sup>[1]</sup>。使用PCR方法检测血清型特异性wzy和wzx等位基因,可以帮助鉴定菌株的荚膜血清型<sup>[4]</sup>。Ye等<sup>[1]</sup>对NUTH-K2044(ST23,K1型)进行的完整序列测定,是首次对导致肝脓肿的hvKP菌株进行测序,该菌株中含有一个长度为224 kb的质粒,并携带了iroBCD、iucABCDiutA和rmpA/A2毒力基因,其中的一些基因簇被认为与hvKP相关联。但目前是否所有hvKP菌株均含有pK2044样质粒,以及质粒上是否还有其他决定hvKP特性的保守基因等尚未明确,有待进一步研究。

2. hvKP的毒力基因: 黏液表型调控基因A (regulator of the mucoid phenotype, rmpA) 调控荚膜大量合成,导致hvKP具有黏稠性状。rmpA基因是由质粒介导的细胞外多糖调节因子,携带rmpA基因的菌株与菌株的高黏液表型密切相关<sup>[9]</sup>。当剔除hvKP质粒上表达黏液表型的rmpA基因,菌株不仅会失去黏液性状,还会使菌株抗血清能力变弱<sup>[10]</sup>。rmpA基因在毒力方面的重要作用已在动物模型中得到证实,当剔除rmpA基因后细菌毒力会降低1 000倍<sup>[11]</sup>。hvKP菌株的黏液表型与rmpA基因和rmpA2基因相关,rmpA2基因有80%的序列与rmpA基因的3'-端DNA序列一致<sup>[12]</sup>,同时有少数hvKP菌株携带rmpA基因,但其黏液实验为阴性,无高黏液表型<sup>[4]</sup>。rmpA基因与hvKP的相关性十分紧密,对导致原发性肝脓肿和继发性肝脓肿的KP菌株对比分析,发现所有导致原发性肝脓肿的KP菌株均携带rmpA基因<sup>[6]</sup>,并且有学者对收集到的45株导致肝脓肿的KP菌株进行分析发现所有菌株均携带rmpA基因<sup>[9]</sup>。但同时也存在少数hvKP菌株不携带rmpA基因<sup>[13-14]</sup>;相反,从肝脓肿分离得到的菌株中6.6%~17.9%携带rmpA基因,但并无高黏液表型特征,由此可以认为hvKP菌株的高黏液表型并不仅由rmpA基因调控<sup>[1, 15]</sup>,可能还存在其他基因对hvKP的高黏液特性进行调控。

黏液相关基因A (mucoviscosity-associated gene A, magA) 是位于染色体上的基因,仅存在于K1血清型中,被认为是高黏液表型的介导因子。故magA基因被用来识别K1荚膜血清型,而wzy基因能够识别K2荚膜血清型<sup>[12]</sup>。Qu等<sup>[7]</sup>对菌株基因进行分析,其中检测到的K1型菌株数量与检测到携带magA基因的菌株数一致;Zhang等<sup>[14]</sup>对7株K1型hvKP菌株基因分析发现,这些菌株均携带magA基因,以上结果可提示magA基因是K1型特有基因,但在肝脏以外的其他部位发生的KP相关感染中很少发现magA基因的存在<sup>[16]</sup>。非肝脏

hvKP脓肿所分离菌株中magA基因为阴性,这表明除magA基因外,还存在其他参与荚膜高黏液表型并导致侵入性毒力的基因。

### 二、摄铁系统

除少数原始细菌外,铁是所有生命生存和繁殖所需的重要营养素。在许多致病菌中铁摄取系统被认为是重要的毒力因子,其可使致病菌在缺乏铁的宿主环境中也能繁殖并引起感染<sup>[17]</sup>。3价铁离子的摄取是由kfuA、kfuB和kfuC (3价铁ABC转运体) 基因编码<sup>[12]</sup>,将携带kfu基因的菌株接种到小鼠胃肠道后表现出很强毒力,但将菌株接种到小鼠腹腔中并未表现出相同毒力,提示kfu主要作用是促进菌株在肠道内定植<sup>[18]</sup>。

Russo等<sup>[19]</sup>在腹水和缺乏铁的培养基中分别培养hvKP和cKP,腹水培养的hvKP产生的铁载体是cKP的6倍,而铁缺乏的培养基中hvKP产生的铁载体是cKP的9.6倍,这表明铁载体的增加可以作为鉴别hvKP菌株的一项特征。hvKP的铁摄取能力在很大程度上介导其毒力的增强,hvKP有4种铁载体肠杆菌素、沙门菌素、耶尔森菌素和气杆菌素,hvKP具有使气杆菌素过表达的能力,并增强hvKP体内和体外毒力<sup>[20]</sup>,此外气杆菌素基因和气杆菌素的产生在hvKP菌株中显著多于cKP菌株。这4种铁载体有各自的编码基因,其中肠杆菌素由ent基因编码,iro编码沙门菌素,irp编码耶尔森菌素,而气杆菌素由iuc基因编码。有研究表明,与cKP相比,气杆菌素可以使hvKP中的铁载体增加,气杆菌素是一种重要的毒力因子<sup>[19]</sup>。通过人为干预使hvKP基因位点发生突变,产生了缺乏气杆菌素的菌株hvKPΔiucA、缺乏沙门菌素的菌株hvKPΔiroB、缺乏肠杆菌素和沙门菌素的菌株hvKPΔentB、缺乏耶尔森菌素的菌株hvKPΔirp2和缺乏肠杆菌素、沙门菌素和耶尔森菌素的菌株hvKPΔentΔirp2。当破坏气杆菌素的合成,可以使腹水和血清中培养的hvKP生长力降低或存活减少。腹水中hvKPΔiucA的生长明显低于野生型hvKP,并且hvKPΔiucA在小鼠中的毒力也弱于野生型。使用腹水、尿液和血清对野生型hvKP进行体外培养,当破坏了iucA基因,铁载体在这3种液体中分别减少了95%、94%和100%<sup>[21]</sup>。其余基因破坏也会使铁载体的产生有不同程度的减少,包括联合破坏entB和irp2基因,铁载体的减少程度都没有iucA基因对铁载体产生的影响显著,由此可以表明气杆菌素减少对铁载体产生的影响显著。Struve等<sup>[18]</sup>研究发现hvKP的毒力与气杆菌素关联很强,并且hvKP毒力由质粒编码,表明气杆菌素和质粒在编码hvKP的超强毒力中发挥关键作用。将菌株置于铁充足的LB培养基中,铁载体量的产生会相应减少,提示在高浓度铁条件下,铁载体会适当调节。

### 三、hvKP的耐药

hvKP对抗菌药物的耐药情况远低于cKP菌株,但其机

制仍有待研究,推测有可能是因hvKP菌株不能获得相关的耐药质粒,或者某些耐药基因在菌株转变为高毒力菌株过程中丢失<sup>[22]</sup>。章丹等<sup>[26]</sup>对127例肺炎克雷伯菌感染所致菌血症患者的回顾性分析显示,所分离的22株hvKP的药敏分析中,除哌喹妥因(13.6%)外,hvKP对其余抗菌药物敏感性均高于85%,而cKP对所有抗菌药物的敏感性均低于hvKP。与cKP相比,hvKP除对氨苄西林天然耐药外,对大多数抗菌药物敏感<sup>[23-24]</sup>,但随着治疗过程中抗菌药物应用越来越频繁,hvKP耐药率也呈逐年增高趋势<sup>[25]</sup>。目前已发现产超广谱β-内酰胺酶(extended-spectrum β-lactamases, ESBLs)的hvKP菌株,并对碳青霉烯类药物耐药,且大多数菌株携带bla<sub>CTX-M</sub>基因,这表明bla<sub>CTX-M</sub>基因与hvKP菌株的质粒发生了融合<sup>[4, 13]</sup>。Zhang等<sup>[13]</sup>分离的87株hvKP中12.6% (11/87)为产ESBLs菌株,其中1株对碳青霉烯类耐药。汪强等<sup>[27]</sup>对分离的hvKP菌进行分析,发现112株hvKP中有26株ESBLs阳性菌株对亚胺培南和美洛培南以外的抗菌药物的耐药率均高于86株ESBLs阴性菌株,故可认为产ESBLs是细菌对β-内酰胺类抗菌药物耐药的主要机制。Wei等<sup>[28]</sup>从1例烧伤感染的患者分离出1株同时携带bla<sub>NDM-1</sub>基因和bla<sub>KPC-2</sub>基因的hvKP菌株,对包括厄他培南、美罗培南和亚胺培南在内所有β-内酰胺类、喹诺酮类、氨基糖苷类、磺胺类和大环内酯类抗菌药物均耐药。

#### 四、小结

hvKP已经成为威胁人类健康的重要细菌,虽然目前研究显示hvKP耐药率并无cKP严重,但仍应提高警惕,对于hvKP毒力和铁载体研究有助于预防和控制多重耐药菌株。当前研究中K1和K2荚膜血清型占绝大多数,但其他导致严重感染的血清型仍不可忽视,同一血清型hvKP的毒力不等,这可能与某些基因的表达有关,仍需进一步研究来证实。铁载体可协助hvKP在铁含量偏低的宿主环境中摄取铁,从而导致宿主感染,需要引起足够的重视。全面认识hvKP可为临床预防和早期治疗hvKP感染提供更加可靠的依据。

#### 参 考 文 献

- [1] Ye M, Tu J, Bi Y, 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.
- [2] Liu YC, Cheng DL, Lin CL. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess associated with septic endophthalmitis[J]. Arch Intern Med, 1986, 146(10): 1913-1916.
- [3] Patel PK, Russo TA, Karchmer AW. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*[J]. Open Forum Infect Dis, 2014, 1(1): ofu028.
- [4] Liu YM, Li BB, Zhang W, et al. Clinical and molecular characteristics of emerging hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in mainland China[J]. Antimicrob Agent Chemother, 2014, 58(9): 5379-5385.
- [5] Namikawa H, Yamada K, Fujimoto H, et al. Two unusual cases of successful treatment of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* invasive syndrome[J]. BMC Infect Dis, 2016, 16(1): 680.
- [6] Tan TY, Ong M, Cheng Y, et al. Hypermucoviscosity, rmpA, and aerobactin are associated with community-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremic isolates causing liver abscess in Singapore[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2019, 52(1): 30-34.
- [7] Remya P, Shanthi M, Sekar U. Occurrence and characterization of hyperviscous K1 and K2 serotype in *Klebsiella pneumoniae*[J]. J Lab Physicians, 2018, 10(3): 283-288.
- [8] Khaertynov KS, Anokhin VA, Rizvanov AA, et al. Virulence factors and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from neonates with sepsis[J]. Front Med (Lausanne), 2018, 5: 225.
- [9] Qu TT, Zhou JC, Jiang Y, et al. Clinical and microbiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae* liver abscess in East China[J]. BMC Infect Dis, 2015, 15(1): 161.
- [10] Hsu CR, Lin TL, Chen YC, et al. The role of *Klebsiella pneumoniae* rmpA in capsular polysaccharide synthesis and virulence revisited[J]. Microbiology, 2011, 157(12): 3446-3457.
- [11] Nassif X, Fournier JM, Arondel J, et al. Mucoid phenotype of *Klebsiella pneumoniae* is a plasmid-encoded virulence factor[J]. Infect Immun, 1989, 57(2): 546-552.
- [12] Shankar C, Veerarghavan B, Leb N, et al. Whole genome analysis of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* isolates from community and hospital acquired bloodstream infection[J]. BMC Microbiol, 2018, 18(1): 6.
- [13] Zhang Y, Zhao C, Wang Q, et al. High prevalence of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* infection in China: geographic distribution, clinical characteristics, and antimicrobial resistance[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(10): 6115-6120.
- [14] Zhang R, Lin D, Chan EW, et al. Emergence of carbapenem-resistant serotype K1 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strains in China[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(1): 709-711.
- [15] Melot B, Brisse S, Breurec S, et al. Community-acquired meningitis caused by a CG86 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain: first case report in the Caribbean[J]. BMC Infect Dis, 2016, 16(1): 736.
- [16] Yu WL, Ko WC, Cheng KC, et al. Association between rmpA and magA genes and clinical syndromes caused by *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan[J]. Clin Infect Dis, 2006, 42(10): 1153-1158.
- [17] Lamb AL. Breaking a pathogen's iron will: Inhibiting siderophore production as an antimicrobial strategy[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1854(8): 1054-1070.
- [18] Struve C, Roe CC, Stegger M, et al. Mapping the evolution of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*[J]. MBio, 2015, 6(4): e00630.
- [19] Russo TA, Olsen R, Macdonald U, et al. Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*[J]. Infect Immun, 2014, 82(6): 2356-2367.
- [20] Baily DC, Drake EJ, Grant TD, et al. Structural and functional characterization of aerobactin synthetase IucA from a hypervirulent pathotype of *Klebsiella pneumoniae*[J]. Biochemistry, 2016, 55(25): 3559-3570.



- [21] Rosso TA, Olsen R, Macdonald U, et al. Aerobactin, but not yersiniabactin, salmochelin, or enterobactin, enables the growth/survival of hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* ex vivo and in vivo[J]. Infect Immun, 2015, 83(8):3325-33.
- [22] Li W, Sun W, 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.
- [23] Compain F, Babosan A, Brisse S, et al. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae*[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(12):4377-4380.
- [24] Wang XL, Xie YZ, Li G, et al. Whole-genome-sequencing characterization of bloodstream infection-causing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* of capsular serotype K2 and ST374[J]. Virulence, 2018, 9(1):510-521.
- [25] Li W, Sun GZ, Yu YH, et al. Increasing occurrence of antimicrobial-resistant hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* isolates in China[J]. Clin Infect Dis, 2014, 58(2):225-232.
- [26] 章丹, 余方友. 血流感染高毒力肺炎克雷伯菌的临床危险因素及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(16):2353-2361.
- [27] 汪强, 葛玉梅, 刘建芳, 等. 肝脓肿高毒力肺炎克雷伯菌耐药性及毒力基因型流行性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(24):5531-5586.
- [28] Wei DD, Wan LG, Liu Y. Draft genome sequence of an NDM-1- and KPC-2-Coproducing hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from burn wound infections[J]. Genome Announc, 2018, 6(13):e00192-18.
- (收稿日期: 2018-09-14)  
(本文编辑: 孙荣华)

陈辞言, 杜艳. 高毒力肺炎克雷伯菌研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2019, 13(2):89-92.

