

• 论 著 •

## 肺炎克雷伯菌肝脓肿微生物学特征和耐药情况分析\*

王春燕, 邱厚兵, 彭 胡

(泸州市中医医院检验科, 四川泸州 646000)

**摘要:**目的 探讨肺炎克雷伯菌肝脓肿患者的临床特征, 以及肺炎克雷伯菌的微生物学特征和耐药情况。方法 收集 110 例肺炎克雷伯菌肝脓肿患者的临床资料, 分为有其他肝胆疾病组和无其他肝胆疾病组进行研究, 采用黏液丝试验确定肺炎克雷伯菌的高黏液性状, 采用 PCR 扩增法进行毒力基因检测及荚膜分型, 选用纸片扩散法进行药敏试验, 并对结果进行统计学分析。结果 肺炎克雷伯菌肝脓肿常见于 40~80 岁的中老年男性, 50.00% 患者有糖尿病基础。110 株肺炎克雷伯菌中, 86.36% 的菌株具有高黏液表型, 荚膜分型以 K1、K2 血清型为主。无其他肝胆疾病组高黏液表型菌株、携毒力基因 *rmpA* 及气杆菌素的检出率明显高于有其他肝胆疾病组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。肺炎克雷伯菌对 12 种常见的抗菌药物的耐药率均较低。结论 肺炎克雷伯菌肝脓肿常见于中老年男性, 高黏液、携带毒力基因 *rmpA* 和气杆菌素的高毒力肺炎克雷伯菌是肝脓肿的主要病原菌, 对常见抗菌药物的耐药率较低。

**关键词:**肺炎克雷伯菌; 肝脓肿; 荚膜分型; 毒力基因; 抗菌药物; 耐药性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.21.005

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)21-2955-03

Analysis on biological characteristics and drug resistance situation of *Klebsiella pneumoniae* liver abscess\*

WANG Chunyan, QIU Houbing, PENG Hu

(Department of Clinical Laboratory, Luzhou Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Luzhou, Sichuan 646000, China)

**Abstract:** **Objective** To analyzed the clinical characteristics of *Klebsiella pneumoniae* liver abscess as well as the characteristics and drug resistance situation of *Klebsiella pneumoniae*. **Methods** The clinical data in 110 cases of *Klebsiella pneumoniae* liver abscess were collected and divided into the other liver diseases group and non-other liver diseases group for conducting the study. The slime test was adopted to determine the high mucus character of *Klebsiella pneumoniae*. The PCR amplification was used to detect the virulence genes and capsular type and the drug susceptibility test was performed by using the disk diffusion method. Then the results were statistically analyzed. **Results** *Klebsiella pneumoniae* liver abscess was common in 40—80 years old middle aged and elderly males. 50.00% patients had the diabetes base. In 110 strains of *Klebsiella pneumoniae*, 86.36% strains had the high mucus phenotype, the capsular types were dominated by serotype K1 and K2. The detection rats of phenotype strains, carrying virulence gene *rmpA* and aerocin in the non-other liver disease group were significantly higher than those in other liver diseases group, the difference was statistically significant ( $P < 0.01$ ). The resistance rats of *Klebsiella pneumoniae* to 12 kinds of common antibacterials were lower. **Conclusion** *Klebsiella pneumoniae* liver abscess is common in middle aged and elderly males. High mucus and high virulence *Klebsiella pneumoniae* carrying virulence gene *empA* and aerocin is main pathogenic bacterium of liver abscess, which has lower resistance rate to common antibacterials.

**Key words:** *Klebsiella pneumoniae*; liver abscess; capsular typing; virulence genes; antibacterials; drug resistance

肺炎克雷伯菌是一种革兰阴性杆菌, 又称肺炎杆菌, 是细菌性肝脓肿主要的病原菌。有资料表明肺炎克雷伯菌肝脓肿有一定的影像学征象及临床表现<sup>[1]</sup>。本文回顾性分析 110 例肺炎克雷伯菌肝脓肿患者的临床资料, 探讨肺炎克雷伯菌肝脓肿患者的临床特征, 以及肺炎克雷伯菌的微生物学特征和耐药情况。现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 回顾性分析 2014 年 1 月至 2016 年 1 月本院收治的 110 例肺炎克雷伯菌肝脓肿患者的临床资料, 对分离出的肺炎克雷伯菌进行分析, 其中 41 株为非重复肺炎克雷伯菌。按照是否患有胆囊炎或曾行肝胆手术将患者分为有其他肝胆疾病组(79 例)和无其他肝胆疾病组(31 例)。纳入标准: 所有患者均经临床确诊为肝脓肿, 腹部 B 超或 CT 结果符合肝脓肿

影像学特征; 全部患者脓液经穿刺培养证实病原菌仅为肺炎克雷伯菌; 所有患者临床资料完整。排除标准: 精神病或有精神病史患者; 家族遗传病患者; 合并慢性肝炎或传染性疾病患者; 合并严重慢性疾病或免疫疾病患者。患者及其家属均签署知情同意书, 同意参加本次研究。

## 1.2 方法

**1.2.1 微生物学特征分析** (1) 黏液丝试验, 在 37 °C 下对置于 5% 羊血琼脂平板中的肺炎克雷伯菌培养 16~18 h 后, 用接种环将菌落轻轻向上挑起, 若挑起的黏液丝长度在 5 mm 及其以上者, 则表明试验结果为阳性, 反之则为阴性; (2) 毒力基因检测及荚膜分型, 使用 PCR 扩增法进行检测, 首先将已培养好的肺炎克雷伯菌置于装有 400 μL 去离子水的离心管中, 加热 15 min(100 °C 加热)后进行 5 min 的离心(1 200 × g), 最后提

\* 基金项目: 四川省科技厅项目(ZRY2015000773)。

作者简介: 王春燕, 女, 主管技师, 主要从事临床检验研究。

取 DNA 模板,然后按照特定的引物序列合成 rmpA(底物:rm-pAF、rmpAR)和气杆菌素(底物:wcaGF、wcaGR)及 K1(底物:MagAF1、MagAR1)、K2(底物:K2wzy-F1、K2wzy-R1)、K5(底物:K5wzxR639、K5wzxR639)、K54(底物:wzxK54F、wzxK54R)、K57(底物:wzyK57F、wzyK57R)型的引物,在相对应的反应条件中进行基因扩增,最后采用 100 V 电压和 1% 琼脂糖凝胶电泳反应产物,同时使用凝胶成像仪对已电泳的反应产物进行成像。

**1.2.2 药敏试验** 采用 Oxiod 公司生产的 MH 琼脂粉和单药药敏纸片对选中非重复肺炎克雷伯菌进行纸片扩散法药敏试验;选用改良 Hodge 试验法判断对碳青霉烯类药物耐药的菌株产生碳青霉烯酶的情况;选用双纸片法(北京天坛药物生物技术开发公司生产的含酶抑制剂的头孢噻肟/克拉维酸和头孢他啶/克拉维酸药敏纸片)确认超广谱 β 内酰胺酶的产生情况;以质控菌株 ATCC25922 抑菌环直径作为药敏结果的评判标准,在直径内结果判断为有效。

**1.3 统计学分析** 采用 SPSS18.0 软件对数据进行分析,计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 肺炎克雷伯菌肝脓肿的临床特征比较** 见表 1。

**2.2 两组肺炎克雷伯菌微生物学特征比较结果** 86.36% 的菌株具有高黏液表型(95/110),其中 61 株 K1 表型,34 株 K2 表型,1 株 K5 表型,1 株 K57 表型,2 株 K54 表型,12 株未分型;81.82% (90/110) 的菌株被检出 rmpA 基因,88.18% (97/110) 的菌株被检出其气杆菌素。无其他肝胆疾病组高黏液表型菌株、携毒力基因 rmpA 及气杆菌素的检出率明显高于有肝胆疾病组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表 2。

**2.3 肺炎克雷伯菌的耐药情况** 41 株非重复肺炎克雷伯菌对 12 种常用抗菌药物的敏感性均超过 85.00%,其中:4 株呈中介耐药;2 株产碳青霉烯酶,为非高黏液、未分型菌株,分离自胆囊切除术后产生的肝脓肿;1 株产超广谱 β 内酰胺酶,为非高黏液、未分型菌株,分离自肝门胆管癌胆囊切除术后产生的肝脓肿;1

株产超广谱 β 内酰胺酶,为高黏液 K2 型菌株。见表 3。

**表 1 肺炎克雷伯菌肝脓肿的临床特征比较**

| 项目       | n   | 构成比(%) |
|----------|-----|--------|
| 性别       |     |        |
| 男        | 80  | 72.73  |
| 女        | 30  | 27.27  |
| 年龄(岁)    |     |        |
| <40      | 3   | 2.73   |
| 40~80    | 104 | 94.54  |
| >80      | 3   | 2.73   |
| 基础疾病     |     |        |
| 糖尿病      | 55  | 50.00  |
| 胆管疾病     | 27  | 24.54  |
| 腹部手术史    | 19  | 17.27  |
| 乙肝及肝硬化   | 11  | 10.00  |
| 腹腔肿瘤     | 8   | 7.27   |
| 脂肪肝      | 10  | 9.09   |
| 临床症状     |     |        |
| 发热       | 102 | 92.73  |
| 寒战       | 68  | 61.82  |
| 纳差       | 53  | 48.18  |
| 腹痛       | 50  | 45.45  |
| 脓肿个数     |     |        |
| 单发       | 88  | 80.00  |
| 多发       | 22  | 22.00  |
| 脓肿部位     |     |        |
| 左叶单发     | 17  | 19.32  |
| 右叶单发     | 71  | 80.68  |
| 白细胞计数    |     |        |
| 增高       | 82  | 74.35  |
| 正常       | 28  | 25.45  |
| 中性粒细胞百分比 |     |        |
| 增高       | 91  | 82.73  |
| 正常       | 19  | 17.27  |
| 疗效       |     |        |
| 痊愈/好转    | 106 | 96.36  |
| 死亡       | 4   | 3.64   |

**表 2 两组肺炎克雷伯菌微生物学特征比较结果[n(%)]**

| 组别       | n  | 高黏液型      | 毒力基因      |           |          | 荚膜分型      |           |         |         |         |
|----------|----|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|---------|---------|---------|
|          |    |           | 气杆菌素      | rmpA      | 未分型      | K1        | K2        | K5      | K54     | K57     |
| 无其他肝胆疾病组 | 79 | 78(98.73) | 76(96.20) | 75(94.94) | 3(3.80)  | 52(65.82) | 21(26.58) | 1(1.27) | 2(2.53) | 1(1.27) |
| 有其他肝胆疾病组 | 31 | 17(54.84) | 21(67.74) | 15(48.39) | 9(29.03) | 9(29.03)  | 13(41.94) | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) |
| $\chi^2$ |    | 36.426    | 17.304    | 32.430    | 14.587   | 12.199    | 2.457     | 0.396   | 0.799   | 0.396   |
| P        |    | 0.000     | 0.000     | 0.000     | 0.000    | 0.000     | 0.117     | 0.529   | 0.371   | 0.529   |

注:未分型指菌株的荚膜分型不属于 K1、K2、K5、K54 及 K57 的一种。

**表 3 肺炎克雷伯菌的耐药情况[n(%)]**

| 抗菌药物    | 敏感        | 中介      | 耐药      |
|---------|-----------|---------|---------|
| 左氧氟沙星   | 39(95.12) | 0(0.00) | 2(4.88) |
| 环丙沙星    | 38(92.68) | 1(2.44) | 2(4.88) |
| 阿米卡星    | 40(97.56) | 0(0.00) | 1(2.44) |
| 亚胺培南    | 39(95.12) | 0(0.00) | 2(4.88) |
| 美罗培南    | 39(95.12) | 0(0.00) | 2(4.88) |
| 复方磺胺甲噁唑 | 38(92.68) | 0(0.00) | 3(7.32) |
| 头孢他啶    | 38(92.68) | 1(2.44) | 2(4.88) |
| 头孢吡肟    | 39(95.12) | 0(0.00) | 2(4.88) |

**续表 3 肺炎克雷伯菌的耐药情况[n(%)]**

| 抗菌药物      | 敏感        | 中介      | 耐药       |
|-----------|-----------|---------|----------|
| 头孢噻肟      | 37(90.24) | 0(0.00) | 4(9.76)  |
| 头孢呋辛      | 36(87.80) | 0(0.00) | 5(12.20) |
| 哌拉西林      | 36(87.80) | 1(2.44) | 4(9.76)  |
| 哌拉西林/他唑巴坦 | 38(92.68) | 1(2.44) | 2(4.88)  |

**3 讨 论**

细菌性肝脓肿的主要致病菌是革兰阴性菌,其中将近 2/3 的致病菌为大肠埃希杆菌<sup>[2]</sup>,其余依次为粪链球菌和变形杆

菌;但近年来肺炎克雷伯菌肝脓肿的发病率高达 66.00%<sup>[3]</sup>,肺炎克雷伯菌已逐渐成为细菌性肝脓肿最主要的病原菌。Lin 等<sup>[4]</sup>研究表明:约 80.00%的肺炎克雷伯菌肝脓肿发生于肝右叶,且多为单发,主要见于 60~70 岁的老年人;寒战、高热、肝肿大及肝区疼痛等全身脓毒性反应是主要的临床症状,其中寒战与高热是最常见也是最早出现的症状。本研究结果也显示,肺炎克雷伯菌肝脓肿主要见于 40~80 岁的中老年人,其中 54.35%的患者年龄为 60~80 岁,80.68%的肝脓肿以右叶单发居多,大部分肝脓肿患者白细胞和中性粒细胞百分比明显升高。这与文献报道结果基本一致<sup>[5-6]</sup>。同时本研究显示,50%的肺炎克雷伯菌肝脓肿患者有糖尿病基础。其原因可能是由于糖尿病患者的免疫功能相对较差,对致病菌的抵抗力相对较弱,更容易感染疾病。

B 超或 CT 检查是肺炎克雷伯菌肝脓肿常用的影像学检查手段,可以确定脓肿的位置、大小及形态,为临床穿刺或引流提供手术入路选择<sup>[7]</sup>。Law 等<sup>[8]</sup>报道细菌性肝脓肿患者的 CT 结果如提示脓肿内有气体存在,则可初步判断其致病菌为肺炎克雷伯菌。这是由于脓肿内为无氧环境,肺炎克雷伯菌可使体内组织中的葡萄糖发酵产生二氧化碳。因此,脓肿内会出现气体,而且糖尿病患者体内的高糖环境会加剧气体的产生。本研究中,110 例患者经临床抗菌药物及穿刺或引流治疗后,106 例患者临床症状得到明显改善:发热等全身性症状消失、白细胞计数等逐渐恢复正常、脓肿缩小,4 例患者因并发血流感染导致败血症而死亡。提示肺炎克雷伯菌肝脓肿的临床治疗效果优良,但血流感染导致的败血症作为该病的严重并发症应在临床工作中应予以重视。

高毒力肺炎克雷伯菌具有高黏液、携带毒力基因 *rmpA* 和气杆菌素的特点,而荚膜多糖是高毒力肺炎克雷伯菌最重要的毒力决定因子。毒力基因 *rmpA* 可激活荚膜多糖来增加荚膜产量,从而使高毒力肺炎克雷伯菌具有高黏液表型<sup>[9]</sup>;荚膜多糖与血清表型所携带的基因相结合也是决定肺炎克雷伯菌毒力的关键;毒力因子气杆菌素作为一种铁载体,可与宿主自身的转铁蛋白竞争铁离子。徐丽等<sup>[10]</sup>研究称气杆菌素与菌落的黏液性相关,可增强肺炎克雷伯菌的毒性,因此携带 *rmpA* 和气杆菌素的肺炎克雷伯菌通常具有高毒力。本研究结果中,无其他肝胆疾病的肝脓肿患者的 *rmpA* 和气杆菌素检出率明显高于伴有其他肝胆疾病的患者,其原因可能是:高毒力肺炎克雷伯菌毒性较强可造成原发感染,而普通菌株的毒力有限,仅可在胆囊炎或肝胆手术后发引起继发感染。目前肺炎克雷伯菌共发现 79 个荚膜分型,其中 K1 和 K2 血清型的毒力最强<sup>[11-12]</sup>,也是高毒力肺炎克雷伯菌最常见的荚膜分型。有资料显示,83.00%分离自肝脓肿患者的肺炎克雷伯菌的荚膜分型为 K1 和 K2 血清型<sup>[13]</sup>。本研究结果也显示 86.36%的肺炎克雷伯菌表型为 K1 和 K2 血清型,提示高毒力肺炎克雷伯菌是细菌性肝脓肿的主要病原菌。吕爽等<sup>[14]</sup>研究表明肺炎克雷伯菌对常用抗菌药物的耐药呈现上升趋势,尤其对碳青霉烯类抗菌药物耐药上升较快。本研究也显示,高毒力肺炎克雷伯菌对抗菌药物的耐药率虽然较低,但有 1 株高黏液 K2 血清型菌株对超广谱  $\beta$  内酰胺类药物耐药,提示应重视及早预防高毒力高耐药的肺炎克雷伯菌株。

综上所述,肺炎克雷伯菌肝脓肿常见于中老年男性,高毒力肺炎克雷伯菌是肺炎克雷伯菌肝脓肿的主要病原菌,对常见抗菌药物的耐药率较低。同时本研究中肝脓肿患者出现的并

发症仅为血流感染,未发现眼内炎、脑膜炎等侵袭综合征<sup>[15]</sup>,这可能与本研究标本过少有关。

## 参考文献

- [1] 李婧,符颖,王吉耀,等.肺炎克雷伯菌肝脓肿的临床及影像学特征[J].中华消化杂志,2010,30(4):230-235.
- [2] 周薇,黄文芳.高毒力肺炎克雷伯菌的研究进展[J].中国感染与化疗杂志,2016,16(6):800-803.
- [3] 刘波,丁炎,王爱花,等.不同糖化血红蛋白控制水平糖尿病并发肺炎克雷伯杆菌肝脓肿患者的临床和影像学表现[J].中国全科医学,2016,19(23):2840-2844.
- [4] Lin YT, Wang FD, Wu PF, et al. Klebsiella pneumoniae liver abscess in diabetic patients: association of glyceemic control with the clinical characteristics [J]. BMC Infect Dis, 2013, 13(1):56.
- [5] 余倩,李静,李妍淳,等.血流感染患者分离的肺炎克雷伯菌高毒力荚膜型和毒力基因分析[J].临床检验杂志,2015,33(10):785-788.
- [6] 齐小梅,王晓娟,陈宏斌,等.肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌对黏菌素耐药的分子机制研究[J].中华检验医学杂志,2016,39(8):618-624.
- [7] 魏丹丹,李喜红,王莲慧,等.血液分离高黏液表型肺炎克雷伯菌的毒力基因检测及生物膜形成测定[J].中国感染与化疗杂志,2016,16(5):622-626.
- [8] Law ST, Li MK. Is there any difference in pyogenic liver abscess caused by *Streptococcus milleri* and *Klebsiella* spp?: retrospective analysis over a 10 year period in a regional hospital [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2013, 46(1):11-18.
- [9] 张成龙,郭晶晶,贾天野,等.75 例细菌性肝脓肿临床和病原学特点分析[J].传染病信息,2014,27(3):157-159.
- [10] 徐丽,林迪斯,杨靖,等.肺炎克雷伯菌 *KbvR* 调控因子对细菌生物膜与荚膜形成能力的影响[J].南方医科大学学报,2016,36(10):1435-1439.
- [11] 赵瑞珂,李艳萌,顾国浩,等.肺炎克雷伯菌分离株的耐药性与毒力基因分布及相互关系研究[J].重庆医学,2016,45(20):2820-2823.
- [12] 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.
- [13] Shelat VG, Chia CL, Yeo CS, et al. Pyogenic liver abscess: does *Escherichia coli* cause more adverse outcomes than *Klebsiella pneumoniae*? [J]. World J Surg, 2015, 39(10):2535-2542.
- [14] 吕爽,孙志,鄢超,等.1 963 株肺炎克雷伯菌的耐药性分析[J].中国实验诊断学,2016,20(10):1744-1745.
- [15] 李春娜,胡越凯,邵凌云,等.肺炎克雷伯菌致肝脓肿侵袭综合征 3 例临床分析及文献复习[J].微生物与感染,2016,11(4):247-251.