

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2018.01.006

· 论 著 ·

高毒力肺炎克雷伯菌血流感染的临床特点

马荣, 王晓丹, 聂大平

(大连医科大学第二临床学院, 辽宁 大连 116027)

[摘要] **目的** 了解高毒力肺炎克雷伯菌(hvKP)血流感染(BSI)的微生物学和临床特点。**方法** 收集 2013 年 4 月—2016 年 3 月大连医科大学第二临床学院 159 例肺炎克雷伯菌 BSI 患者的菌株和临床资料。应用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。**结果** hvKP BSI 在 159 例肺炎克雷伯菌 BSI 患者中占 35.22%(56/159), 其中 K1 和 K2 型分别占 51.79%和 26.79%。hvKP BSI 感染来源主要为肝脓肿(26 株, 46.43%), 经典型肺炎克雷伯菌(cKP) BSI 主要是原发性菌血症(41 株, 39.81%)。两组患者不同感染类型比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 57.782, P < 0.001$), hvKP BSI 患者以社区获得性为主(89.29%), cKP BSI 患者以医院获得性为主(73.79%)。两组患者不同基础疾病构成比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 36.532, P < 0.001$), hvKP BSI 患者主要为糖尿病(50.00%), cKP BSI 患者主要为恶性肿瘤(45.63%)。hvKP BSI 患者感染性休克发生率高于 cKP BSI 患者(32.14% vs 8.74%), 差异有统计学意义($\chi^2 = 14.096, P < 0.001$)。hvKP 产 ESBLs 的比率为 5.36%(3/56), cKP 产 ESBLs 的比率为 47.57%(49/103), 二者差异有统计学意义($\chi^2 = 29.375, P < 0.001$)。未发现产 KPC 的 hvKP。hvKP 对头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟、氨基糖苷、庆大霉素、左氧氟沙星及复方磺胺甲噁唑的耐药率均低于 cKP, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** hvKP BSI 多见于社区感染, 感染来源和基础疾病不同于 cKP BSI, 易产生感染性休克。实验室和临床医生都应重视 hvKP 感染并密切关注其耐药趋势的演变。

[关键词] 高毒力肺炎克雷伯菌; 经典型肺炎克雷伯菌; 肺炎克雷伯菌; 血流感染; 社区感染; 医院感染

[中图分类号] R446.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2018)01-0026-05

Clinical features of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection

MA Rong, WANG Xiao-dan, NIE Da-ping (The Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, China)

[Abstract] **Objective** To understand the microbiological and clinical features of bloodstream infection(BSI) with high virulent *Klebsiella pneumoniae*(hvKP). **Methods** The strains and clinical data of 159 patients with *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) BSI at the Second Hospital of Dalian Medical University from April 2013 to March 2016 were collected. Statistical analysis was performed using SPSS 19.0 software. **Results** 35.22%(56/159)of patients were with hvKP BSI, K1 and K2 serotypes in hvKP BSI accounted for 51.79% and 26.79% respectively. The main source of hvKP BSI was liver abscess($n = 26, 46.43\%$), the classic type of *K. pneumoniae* (cKP) BSI was primary bacteremia($n = 41, 39.81\%$). Difference in different types of infection between two groups of patients was statistically significant($\chi^2 = 57.782, P < 0.001$), 89.29% of hvKP BSI was community-associated infection(CAI), and 73.79% of cKP BSI was healthcare-associated infection(HAI). Difference in underlying diseases between two groups of patients was statistically significant($\chi^2 = 36.532, P < 0.001$), 50.00% of hvKP BSI patients had diabetes, 45.63% of cKP BSI patients had malignant tumor. Incidence of septic shock in hvKP BSI patients was higher than that of cKP BSI patients(32.14% vs 8.74%; $\chi^2 = 14.096, P < 0.001$). The proportion of ESBLs-producing of hvKP and cKP were 5.36%(3/56) and 47.57%(49/103) respectively, difference was statistically significant($\chi^2 =$

[收稿日期] 2017-01-20

[作者简介] 马荣(1964-), 女(汉族), 辽宁省大连市人, 副主任技师, 主要从事临床微生物研究。

[通信作者] 聂大平 E-mail: wsw2703@163.com

29.375, $P < 0.001$). *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase(KPC)-producing hvKP was not found. Resistance rates of hvKP to ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam, gentamicin, levofloxacin, and compound sulfamethoxazole were all lower than cKP(all $P < 0.05$). **Conclusion** hvKP BSI is common in CAI, infection sources and underlying diseases are difference from cKP BSI, hvKP BSI is prone to cause septic shock. Both laboratories and clinicians should pay attention to hvKP infection and the change trend of antimicrobial resistance.

[Key words] hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*; classic *Klebsiella pneumoniae*; *Klebsiella pneumoniae*; blood-stream infection; community-associated infection; healthcare-associated infection

[Chin J Infect Control, 2018, 17(1): 26-30]

二十世纪八十年代中期,肺炎克雷伯菌所致的肝脓肿首先在台湾受到关注,因为这种肺炎克雷伯菌可感染无基础疾病的健康人,有远距离转移感染的能力,即肝脓肿可转移到脑、肺和眼形成脑脓肿、肺脓肿和眼内炎^[1]。该菌株有特殊表型,即在血平板上形成高黏菌落,拉丝试验的长度 >5 mm 等特点,这些特点形成的基础是丰富的荚膜多糖。荚膜多糖的合成与细菌中胞外多糖合成调节因子 *rpmA* 基因密切相关。这种高黏性能可抵御中性粒细胞吞噬,故将高黏表型肺炎克雷伯菌命名为高毒力肺炎克雷伯菌(hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKP),高黏菌落和 *rpmA* 基因是其标志^[1-3]。此外,它们有特定的荚膜多糖血清型(K1、K2、K5、K20、K54 和 K57),临床最常见和毒力最强的菌株是 K1 和 K2 型肺炎克雷伯菌,因为它们较其他血清型有更强的抗吞噬能力和对血清的抵抗力^[4]。hvKP 可作为正常菌群定植于人体上呼吸道和肠道^[5-6],主要引起社区获得性感染,如肝脓肿、社区获得性肺炎(community-associated pneumonia, CAP)、泌尿系统感染、坏死性筋膜炎等^[1-7]。这些感染原来主要见于亚洲地区,近年来已蔓延到全球。引起的血流感染(bloodstream infection, BSI)也日益增多,对其感染来源和临床特点的报道不多,故本研究将某医院 2013 年 4 月—2016 年 3 月 hvKP BSI 与经典型肺炎克雷伯菌(classic *Klebsiella pneumoniae*, cKP)BSI 进行比较,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集 2013 年 4 月—2016 年 3 月

大连医科大学第二临床学院 159 例肺炎克雷伯菌 BSI 患者的菌株和临床资料。社区感染和医院感染按照国家卫生部 2001 年发布的《医院感染诊断标准(试行)》判定。

1.2 方法

1.2.1 仪器和试剂 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪,PCR 扩增仪(Light Cycler 480),紫外分析仪电泳仪。试剂:PCR 反应液,DNA 产物纯化试剂盒(天根生化科技有限公司),PCR 引物,DNA-Maker DL2000(大连宝生物工程有限公司)。

1.2.2 药敏和产 ESBLs 株鉴定 159 株细菌由 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪鉴定为肺炎克雷伯菌,产 ESBLs 菌株也由该仪器判定。药敏判断标准参考美国临床实验室标准化协会(CLSI) 2013 年标准。

1.2.3 肺炎克雷伯菌高黏表型、K1、K2 和 *rpmA* 基因检测和高毒力菌判定 (1)拉丝试验:使用接种环挑取血平板上生长菌落,其黏液丝长度 ≥ 5 mm 为阳性, < 5 mm 为阴性。(2)多重 PCR 扩增 K1、K2 和 *rpmA* 基因:煮沸法提取细菌 DNA, K1、K2 和 *rpmA* 基因的引物和产物大小见表 1,反应条件参考文献^[8]; PCR 反应体系 25 μ L,三对引物正反引物各 1 μ L,模板 4 μ L,反应液 12.5 μ L,蒸馏水补足至 25 μ L。(3)反应条件:预变性 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 45 s, 58 $^{\circ}$ C 90 s, 72 $^{\circ}$ C 90 s, 35 个循环;延伸 72 $^{\circ}$ C 10 min。(4)PCR 产物确定:取 PCR 产物 10 μ L 进行 2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外成像仪观察,纯化 PCR 产物,大连市宝生物工程有限公司测序,在 BLAST、GenBank 上检索比对。拉丝试验和 *rpmA* 基因同时阳性判为 hvKP^[9]。

表 1 K1、K2 荚膜型及 *rpmA* 基因 PCR 扩增引物、产物大小

Table 1 Primers and product sizes of PCR amplification of capsular types K1 and K2, and *rpmA* gene

目的基因	引物	序列(5'-3')	产物(bp)
Capsular type K1	MagAF1	GGTGCTCTTTACATCATTGC	1 283
	MagAR1	GCAATGGCCATTTGCGTTAG	
Capsular type K2	wzy_K2-F1	GACCCGATATTCATACTTGACAGAG	641
	wzy_k2-R1	CCTGAAGTAAAATCGTAAATAGATGGC	
<i>rpmA</i>	<i>rpmA</i> -F	ACTGGGCTACCTCTGCTTCA	516
	<i>rpmA</i> -R	CTTGCATGAGCCATCTTTCA	

1.3 统计分析 应用 SPSS 19.0 软件进行数据分析。计数资料采用 χ^2 检验, $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 hvKP 和荚膜多糖血清型检出率 PCR 扩增血清型 K1、K2 和 *rpmA* 基因扩增出条带分别为 1 283、641 和 516 bp, 与预测值相符。见图 1。测序结果 K1、K2、*rpmA* 分别为 AB 355924. 1、AB 362363. 1 和 AB 289642. 1, 符合率为 99. 9%。159 例肺炎克雷伯菌 BSI 分离株中, 拉丝试验阳性菌株为 56 株, *rpmA* 基因阳性株 59 株, 二者共同阳性 56 株, 即 35. 22% (56/159) 为 hvKP。K1 型为 51. 79% (29/56), K2 型为 26. 79% (15/56)。

2.2 hvKP 和 cKP BSI 患者感染来源 hvKP BSI 感染来源主要为肝脓肿 (26 株, 46. 43%) 和 CAP (13 株, 23. 21%); cKP BSI 主要是原发性菌血症 (41 株, 39. 81%) 和胆道感染 (28 株, 27. 18%)。hvKP 和 cKP BSI 患者的不同感染来源构成比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 77. 639, P < 0. 001$)。见表 2。

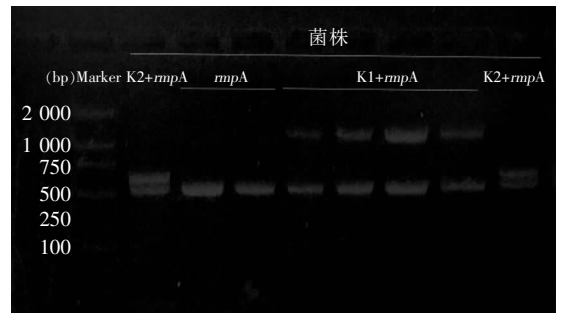


图 1 hvKP K1、K2 和 *rpmA* 基因 PCR 扩增产物电泳图
Figure 1 Electrophoresis map of polymerase chain reaction amplification products of K1, K2 and *rpmA* gene of hvKP

表 2 cKP 及不同血清型 hvKP BSI 感染来源分布

Table 2 Infection sources of cKP BSI and different serotypes of hvKP BSI

感染来源	hvKP			小计[例(%)]	cKP[例(%)]
	K1 型(例)	K2 型(例)	其他型(例)		
肝脓肿	18	8	0	26(46. 43)	0(0. 00)
原发性菌血症	2	1	4	7(12. 50)	41(39. 81)
CAP	5	5	3	13(23. 21)	7(6. 80)
医院获得性肺炎(HAP)	0	1	1	2(3. 57)	16(15. 53)
胆道感染	3	0	2	5(8. 93)	28(27. 18)
泌尿系统感染	1	0	2	3(5. 36)	11(10. 68)
合计	29	15	12	56(100. 00)	103(100. 00)

2.3 hvKP 和 cKP BSI 患者临床特点 hvKP 和 cKP BSI 患者在年龄、性别、30 d 内死亡情况比较, 差异均无统计学意义(均 $P > 0. 05$)。两组患者不同感染类型比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 57. 782, P < 0. 001$), hvKP BSI 患者以社区获得性为主 (89. 29%), cKP BSI 患者以医院获得性为主

(73. 79%)。两组患者不同基础疾病构成比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 36. 532, P < 0. 001$), hvKP BSI 患者主要为糖尿病 (50. 00%), cKP BSI 患者主要为恶性肿瘤 (45. 63%)。hvKP BSI 患者感染性休克发生率高于 cKP BSI 患者 (32. 14% vs 8. 74%), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 14. 096, P < 0. 001$)。见表 3。

表 3 hvKP 和 cKP BSI 患者的临床特点[例(%)]

Table 3 Clinical features of patients with hvKP BSI and cKP BSI(No. of cases[%])

基本信息	hvKP(n=56)	cKP(n=103)	χ^2	P
年龄(岁)			0.879	0.348
≥60	25(44.64)	54(52.43)		
<60	31(55.36)	49(47.57)		
性别			0.018	0.892
男	32(57.14)	60(58.25)		
女	24(42.86)	43(41.75)		
感染类型			57.782	<0.001
社区获得性	50(89.29)	27(26.21)		
医院获得性	6(10.71)	76(73.79)		
基础疾病			36.532	<0.001
糖尿病	28(50.00)	32(31.07)		
胆道疾病	2(3.57)	4(3.88)		
肝硬化	5(8.93)	13(12.62)		
脑血管疾病	2(3.57)	14(13.59)		
慢性肾病	2(3.57)	8(7.77)		
恶性肿瘤	7(12.50)	47(45.63)		
肺部疾病	1(1.79)	3(2.91)		
心脏病	1(1.79)	1(0.97)		
自身免疫性疾病	2(3.57)	0(0.00)		
无基础疾病	8(14.29)	1(0.97)		
感染性休克			14.096	<0.001
是	18(32.14)	9(8.74)		
否	38(67.86)	94(91.26)		
30 d 内死亡			2.323	0.127
是	4(7.14)	16(15.53)		
否	52(92.86)	87(84.47)		

2.4 hvKP 和 cKP 对常见抗菌药物的耐药情况

hvKP 产 ESBLs 的比率为 5.36% (3/56), cKP 产

ESBLs 的比率为 47.57% (49/103), 二者差异有统计学意义($\chi^2 = 29.375, P < 0.001$)。未发现产 KPC 的 hvKP。hvKP 对头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟、氨曲南、庆大霉素、左氧氟沙星及复方磺胺甲噁唑的耐药率均低于 cKP, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

本研究显示 159 例肺炎克雷伯菌 BSI 患者中 56 例为 hvKP BSI, 占 35.22%, 其中, K1 和 K2 型占 78.57% (44/56), 且 K1 型肺炎克雷伯菌远多于 K2 型。56 例 hvKP BSI 中社区获得性感染 50 例, 占 89.29%, 感染来源主要是肝脓肿和 CAP, 与文献^[10-11]报道一致。hvKP 易感染糖尿病患者, 与高糖环境损害机体免疫系统, 进而增强 hvKP 合成荚膜多糖能力、提高细菌侵袭力和抵抗中性粒细胞吞噬的能力有关^[12]; 而且它们也能感染无基础疾病的健康人。本研究中 hvKP BSI 中糖尿病患者为 50.00%, 无基础疾病感染者为 14.29%, 高于 cKP BSI 的 31.07% 和 0.97%。cKP BSI 感染来源主要是原发性菌血症、胆道感染和 HAP, 基础疾病主要是恶性肿瘤。两种肺炎克雷伯菌 BSI 患者的年龄与性别差异无统计学意义。

表 4 hvKP 与 cKP 对常见抗菌药物耐药情况

Table 4 Antimicrobial resistance of hvKP and cKP

抗菌药物	hvKP(n=56)		cKP(n=103)		χ^2	P
	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)		
哌拉西林/他唑巴坦	0	0.00	10	9.71	16.479	0.015*
头孢他啶	1	1.79	29	28.16	29.375	<0.001
头孢曲松	3	5.36	49	47.57	11.036	<0.001
头孢吡肟	0	0.00	18	17.48	13.208	0.001
氨曲南	3	5.36	31	30.10	7.010	<0.001
亚胺培南	0	0.00	4	3.88	5.796	0.298*
阿米卡星	0	0.00	7	6.80	5.796	0.052*
庆大霉素	3	5.36	22	21.36	19.42	0.008
左氧氟沙星	3	5.36	20	19.42	19.42	0.016
复方磺胺甲噁唑	3	5.36	20	19.42	19.42	0.016

* :Fisher 确切概率法

hvKP BSI 特点是病情重、进展快、发生脓毒性休克风险高。有研究^[13]表明在肺炎克雷伯菌 BSI 中, hvKP 与脓毒性休克的发生相关。上海报道了 3 例由 K2 型肺炎克雷伯菌所致的肺炎, 患者在 24 h

内死亡^[14]。本研究 hvKP BSI 感染性休克发生率高于 cKP BSI。但 30 d 内病死率与 cKP BSI 没有差异。hvKP BSI 感染性休克主要集中在肝脓肿和 CAP, 发生感染性休克者 77.78% 的患有糖尿病。

研究^[15]表明糖尿病血糖控制不佳的患者在感染肺炎克雷伯菌时,感染性休克出现的概率增加,因此,对 hvKP BSI 的糖尿病患者,一定要关注血糖的控制。

hvKP 除对氨基西林天然耐药外,通常对临床常用抗菌药物敏感,随着耐药质粒在医院内传播,国内已出现产 ESBLs 和 KPC hvKP^[16-17],本研究中 hvKP BSI 产 ESBLs 比率为 5.36%,尚未发现产 KPC 的 hvKP,3 株产酶菌均来自医院获得性感染。来源可能是定植于机体呼吸道和肠道的 hvKP 在抗菌药物使用过程中筛选出耐药质粒或从其他产 ESBLs 肠杆菌中获得耐药质粒。感染这种高侵袭力加耐药基因的菌株会增加治疗的难度和费用,故应合理使用抗菌药物,加强监测,做好隔离,减少医院内流行。

总之 hvKP BSI 多为社区获得性感染,患者多有糖尿病,容易发生感染性休克。实验室和临床医生都应重视 hvKP 感染并密切关注其耐药趋势的演变。

[参考文献]

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

[2] Guo S, Xu J, Wei Y, et al. Clinical and molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* ventilator-associated pneumonia in mainland China [J]. *BMC Infect Dis*, 2016, 16(1): 608-613.

[3] Hsu CR, Lin TL, Chen HC, et al. The role of *Klebsiella pneumoniae rmpA* in capsular polysaccharide synthesis and virulence revisited [J]. *Microbiology*, 2011, 157(Pt 12): 3446-3457.

[4] Lee HC, Chuang YC, Yu WL, et al. Clinical implications of hypermucoviscosity phenotype in *Klebsiella pneumoniae* isolates: association with invasive syndrome in patients with community-acquired bacteraemia [J]. *J Intern Med*, 2006, 259(6): 606-614.

[5] Lin YT, Wang YP, Wang FD, et al. Community-onset *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan: clinical features of the disease and associated microbiological characteristics of isolates from pneumonia and nasopharynx [J]. *Front Microbiol*, 2015, 9: 122.

[6] Chung DR, Lee H, Park MH, et al. Fecal carriage of serotype K1 *Klebsiella pneumoniae* ST23 strains closely related to liver abscess isolates in Koreans living in Korea [J]. *Eur J Clin*

Microbiol Infect Dis, 2012, 31(4): 481-486.

[7] Cheng NC, Yu YC, Tai HC, et al. Recent trend of necrotizing fasciitis in Taiwan: focus on monomicrobial *Klebsiella pneumoniae* necrotizing fasciitis [J]. *Clin Infect Dis*, 2012, 55(7): 930-939.

[8] Turton JF, Perry C, Elgohari S, et al. PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets [J]. *J Med Microbiol*, 2010, 59(pt5): 541-547.

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

[10] Cubero M, Grau I, Tubau F, et al. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clones causing bacteraemia in adults in a teaching hospital in Barcelona, Spain (2007-2013) [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22(2): 154-160.

[11] Liu YM, Li BB, Zhang YY, et al. Clinical and molecular characteristics of emerging hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in mainland China [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(9): 5379-5385.

[12] Lee CH, Chen IL, Chuah SK, et al. Impact of glycemic control on capsular polysaccharide biosynthesis and opsonophagocytosis of *Klebsiella pneumoniae*: Implications for invasive syndrome in patients with diabetes mellitus [J]. *Virulence*, 2016, 7(7): 770-778.

[13] Togawa A, Toh H, Onozawa K, et al. Influence of the bacterial phenotypes on clinical manifestation in *Klebsiella pneumoniae* bacteremia patients: A retrospective cohort study [J]. *J Infect Chemother*, 2015, 21(7): 531-537.

[14] Zhang Y, Sun J, Mi C, et al. First report of two rapid-onset fatal infections caused by a newly emerging hypervirulent *K. pneumoniae* ST86 strain of serotype K2 in China [J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 721-725.

[15] Angus DC, Wax RS. Epidemiology of sepsis: an update [J]. *Crit Care Med*, 2001, 29(7 Suppl): S109-S116.

[16] 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.

[17] Zhang R, Lin D, Chan EW, et al. Emergence of carbapenem-resistant serotype K1 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strains in China [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 60(1): 709-711.

(本文编辑:张莹、陈玉华)