

DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20252328

· 论著 ·

## 海南省高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药及毒力因子特征的初步研究

李天娇<sup>1</sup>, 龙文芳<sup>2</sup>, 陈颖<sup>2</sup>, 张培<sup>1</sup>, 陈英<sup>1</sup>

(1. 海南省人民医院检验科, 海南 海口 570311; 2. 海南医科大学公共卫生学院, 海南 海口 571199)

**[摘要]** 目的 分析海南某医院耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)的分子流行病学特征, 探讨高毒力 CRKP(hv-CRKP)与非 hv-CRKP 的耐药基因、毒力因子分布差异及临床意义, 为优化治疗和防控策略提供依据。方法 回顾性收集 2023 年 7 月—2024 年 6 月海南省某医院分离的 CRKP 菌株, 通过药敏试验检测其耐药表型, 采用聚合酶链式反应(PCR)检测碳青霉烯酶基因(KPC-2、NDM-1、IPM)及毒力因子(*rmpA/rmpA2*、*iucA*、*iroB* 等), 并分析其科室来源、标本分布及耐药-毒力特征。结果 共分离 CRKP 菌株 76 株, 总分离率为 7.7%(76/985), 菌株主要分布于重症监护病房(ICU, 28.9%)和神经外科 ICU(23.6%), 呼吸道标本占比最高(60.5%)。耐药基因以 KPC-2(72.4%)和 NDM-1(21.1%)为主, 毒力因子 *mrkD*(Ⅲ型菌毛, 85.5%)和 *fimH*(I 型菌毛, 84.2%)普遍存在。在 76 株 CRKP 中, 39 株(51.3%)符合 hv-CRKP 标准, 均携带 KPC-2 基因(100%), 其耐药基因和毒力因子 *rmpA2*(97.4%)、*iucA*(100%)、*iroB*(89.7%)检出率均高于非 hv-CRKP(KPC-2, 43.2%; *rmpA2*, 0; *iucA*, 8.1%; *iroB*, 13.5%)。hv-CRKP 的主要特征为 KPC-2 耐药基因与 *rmpA2 + iucA + iutA + iroB* 毒力因子组合(64.1%)。hv-CRKP 与非 hv-CRKP 耐药表型不同, hv-CRKP 对氨基糖苷类和复方磺胺甲噁唑的敏感率高于非 hv-CRKP。结论 该院 CRKP 菌株中, hv-CRKP 和非 hv-CRKP 占比相当。hv-CRKP 以携带 KPC-2 耐药基因与 *rmpA2 + iucA + iutA + iroB* 毒力因子组合为主要特征, 携带多种毒力因子菌株的比例高于非 hv-CRKP。两者对 β-内酰胺类和喹诺酮类药物普遍耐药, hv-CRKP 对氨基糖苷类和复方磺胺甲噁唑的耐药率低于非 hv-CRKP, 其氨基糖苷类敏感性优势为治疗提供新选择。建议通过分子分型指导差异化用药, 并强化 ICU 感染控制措施以遏制耐药菌扩散。

**[关键词]** 肺炎克雷伯菌; 碳青霉烯类耐药; 耐药基因; 毒力因子; 差异性

**[中图分类号]** R378.1 R978.1

## Characteristics of resistance and virulence factors of hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Hainan Province

LI Tianjiao<sup>1</sup>, LONG Wenfang<sup>2</sup>, CHEN Ying<sup>2</sup>, ZHANG Pei<sup>1</sup>, CHEN Ying<sup>1</sup> (1. Department of Laboratory Medicine, Hainan General Hospital, Haikou 570311, China; 2. School of Public Health, Hainan Medical University, Haikou 571199, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze the molecular epidemiological characteristics of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) in a hospital in Hainan Province, explore the differences in the distribution of resistance genes and virulence factors between hypervirulent CRKP (hv-CRKP) and non-hv-CRKP, analyze the clinical significance, and provide basis for optimizing treatment and prevention strategies. **Methods** CRKP strains isolated from a hospital in Hainan Province from July 2023 to June 2024 were collected retrospectively. Their resistance phenotypes were detected by antimicrobial susceptibility testing. Carbapenemase genes (KPC-2, NDM-1, IPM) and virulence factors (*rmpA/rmpA2*, *iucA*, *iroB*, etc.) were detected by polymerase chain reaction (PCR). Department source, speci-

[收稿日期] 2024-05-30

[基金项目] 海南省自然科学基金高层次人才项目(821RC1114); 海南省临床医学中心建设项目资助

[作者简介] 李天娇(1975-), 女(汉族), 海南省海口市人, 主任技师, 主要从事细菌耐药机制研究。

[通信作者] 龙文芳 E-mail: hnsea2013@126.com

men distribution, and resistance-virulence characteristics were analyzed. **Results** A total of 76 strains of CRKP were isolated, with an overall isolation rate of 7.7% (76/985). The strains were mainly distributed in the intensive care unit (ICU) (28.9%) and neurosurgery ICU (23.6%), with the highest proportion of strains isolated from respiratory tract specimens (60.5%). The resistance genes were mainly KPC-2 (72.4%) and NDM-1 (21.1%), and the virulence factors *mrkD* (type III pili, 85.5%) and *fimH* (type I pili, 84.2%) were commonly presented. Among 76 strains of CRKP, 39 strains (51.3%) met the criteria for hv-CRKP and all carried KPC-2 gene (100%). The detection rates of resistance genes and virulence factors *rmpA2* (97.4%), *iucA* (100%), and *iroB* (89.7%) were all higher than those of non-hv-CRKP strains (KPC-2, 43.2%; *rmpA2*, 0; *iucA*, 8.1%; *iroB*, 13.5%). The main characteristics of hv-CRKP was the combination of KPC-2 resistance gene and *rmpA2 + iucA + iutA + iroB* virulence factors (64.1%). Antimicrobial resistance phenotype of hv-CRKP was different from non-hv-CRKP. hv-CRKP presented higher susceptibility rates to aminoglycosides and compound sulfamethoxazole than non-hv-CRKP. **Conclusion** The proportion of hv-CRKP and non-hv-CRKP strains in this hospital is comparable. hv-CRKP is characterized by carrying the KPC-2 resistance gene in combination with *rmpA2 + iucA + iutA + iroB* virulence factors, and the proportion of strains carrying multiple virulence factors is higher than that of non-hv-CRKP. Both are generally resistant to  $\beta$ -lactams and quinolones. hv-CRKP has lower resistance rates to aminoglycosides and compound sulfamethoxazole than non-hv-CRKP. Its advantage of aminoglycoside susceptibility provides a new treatment option. It is recommended to guide differential medication through molecular typing and strengthen infection control measures in ICU to curb the spread of antimicrobial-resistant bacteria.

**[Key words]** *Klebsiella pneumoniae*; carbapenem resistance; resistance gene; virulence factor; difference

肺炎克雷伯菌是重要的医院感染和社区获得性感染病原体,可导致严重系统性感染<sup>[1]</sup>。国内专家达成共识,根据黏液性状、荚膜血清型和毒力因子,可将肺炎克雷伯菌分为高毒力肺炎克雷伯菌(hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKP)和经典肺炎克雷伯菌(classical *Klebsiella pneumoniae*, cKP)<sup>[2]</sup>。cKP多从长期住院、抵抗力低的患者中分离,常表现为多重耐药;而hvKP多从社区青壮年急性肝脓肿或全身感染患者中分离,病情危急,但体外药敏检测结果多敏感。然而,随着碳青霉烯类抗生素的广泛使用和质粒介导的碳青霉烯酶耐药基因的水平转移,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)不断增加,高毒力且耐碳青霉烯类抗生素的肺炎克雷伯菌(hv-CRKP)逐渐在全球范围内被报道,hv-CRKP已经成为威胁全球公共健康的病原菌<sup>[3-4]</sup>,其耐药性及与细菌毒力的关系也引起了全球关注<sup>[5]</sup>。hv-CRKP形成机制复杂。目前较为公认的判定标准是:至少对一种碳青霉烯类药物不敏感;携带*rmpA*或*rmpA2*,并同时携带*iucA*、*iroB*、*iutA*中两种或以上毒力因子组合即可定义为hv-CRKP<sup>[2,6]</sup>。2015年王辉等<sup>[7]</sup>第一次报道hv-CRKP菌株的存在,之后hv-CRKP相继在浙江<sup>[8]</sup>、四川<sup>[9]</sup>、香港<sup>[10]</sup>等多地

出现并流行,成为临床患者的主要威胁。因此,本研究收集某医院2023年7月—2024年6月的CRKP菌株,采用聚合酶链式反应(PCR)、琼脂糖凝胶电泳和测序等方法筛查菌株耐药基因及毒力因子,了解hv-CRKP在该院的流行情况,以期为控制hv-CRKP的传播提供理论依据,并为临床医生合理使用抗菌药物提供帮助。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株信息** 收集并于-80℃保存海南省某医院2023年7月—2024年6月从患者培养物分离的CRKP非重复菌株。通过医院信息系统(HIS)及实验室信息管理系统(LIS)提取2023年7月—2024年6月该院培养分离的所有肺炎克雷伯菌的临床基本信息和体外药敏试验结果。

**1.2 主要仪器与试剂** 质谱仪 VITEK MS(法国生物梅里埃公司),VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定仪及 AST-334 药敏卡(法国生物梅里埃公司),血平板(安图公司),Tanon™核酸染料(中国上海天能),2×Taq PCR MasterMix(中国北京天根),梯度PCR仪(德国 Eppendorf),全自动数码凝胶图像分析系统(Tanon-4100,中国天能)。测序外送上海生

工公司。

### 1.3 方法

1.3.1 菌株鉴定及药敏试验 从-80℃复苏 76 株 CRKP, 将待测菌磁珠涂抹于血平板一区并进行三区划线, 35℃培养箱培养 18 h 后, 使用 VITEK MS 质谱仪对单一菌落进行鉴定, 确认为肺炎克雷伯菌。使用 VITEK 2 Compact 系统及配套 AST-334 药敏卡对分离纯化的菌落进行体外药敏检测, 依据 2024 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)折点判断其为敏感、中介或耐药。体外药敏结果统计分析应用 WHONET 软件。质控菌株为 ATCC 25922 大肠埃希菌和 ATCC 27853 铜绿假单胞菌。

1.3.2 拉丝试验 将受试菌株接种于 5% 羊血琼脂平板, 35℃孵育过夜。用细菌接种环轻柔向上挑起菌落, 如不能挑起黏液丝或黏液丝长度<5 mm, 判定为拉丝试验阴性; 如挑起的黏液丝长度≥5 mm, 判定为拉丝试验阳性, 即高黏液表型<sup>[11]</sup>。

1.3.3 细菌 DNA 模板制备 挑取 3 个肺炎克雷伯菌菌落放入 EP 管, 并加入 200 μL 无菌去离子水, 轻轻震荡, 使其充分混匀。随后, 将 EP 管放入沸水浴中 10 min 后离心 5 min(12 000 r/min), 吸取上清液 100 μL 放入全新无菌 EP 管中 -80℃ 保存。

1.3.4 PCR 扩增碳青霉烯酶耐药基因和毒力因子 采用 PCR 法进行基因扩增。扩增基因包括 3 种碳青霉烯酶耐药基因(KPC-2、NDM-1、IMP)和 11 种毒力因子(K1、K2、K5、K20、*rmpA*、*rmpA2*、*fimH*、*mrkD*、*iucA*、*iutA*、*iroB*)。根据文献报道或自行设计的引物, 均由上海生物工程有限公司合成, 见表 1。扩增过程包括预变性、循环和终延伸三个阶段。预变性阶: 95℃, 30 s; 循环阶段: 变性 95℃, 10 s, 退火 60℃, 10 s, 延伸 72℃, 30 s, 循环重复 30 次; 终延伸阶段: 72℃, 30 s。阳性对照: KPC-2(893 bp) 和 NDM-1(292 bp) 由广州呼吸疾病研究所卓超教授惠赠。

表 1 CRKP 耐药基因引物及扩增产物大小

Table 1 Primers and amplification product size of CRKP resistance genes

引物名称	引物序列(5'-3')	产物长度(bp)
NDM-1-F	CAGCACACTTCCTATCTC	292 <sup>[12]</sup>
NDM-1-R	CCGCAACCATCCCCCTCTT	
IMP-F	TTGACACTCCATTACTG	139 <sup>[13]</sup>
IMP-R	GATTGAGAATTAAAGCCACTCT	
KPC-2-F	ATGTCACTGTATCGCCGTCT	893 <sup>[14]</sup>
KPC-2-R	TTTCAGAGCCTACTGCC	

表 2 CRKP 毒力因子引物<sup>[2,15-16]</sup>及扩增产物大小

Table 2 Primers<sup>[2,15-16]</sup> and amplification product size of CRKP virulence factors

引物名称	引物序列(5'-3')	产物长度(bp)
K1-F	GTTAGGTATTGCAAGCCATGC	1 046
K1-R	GCCCAGGTTAACGAAATCCGT	
K2-F	GGAGCCATTGAATTGGCTTG	1 121
K2-R	TCCCTAGCACTGGCTTAAGT	
K5-F	TGGTAGTGATGCTCGCGA	280
K5-R	CCTGAACCCACCCCAATC	
K20-F	CGGTGCTACAGTCATCATT	741
K20-R	GTTATACGATGCTCAGTCGC	
<i>rmpA</i> -F	ACGACTTTCAAGAGAAATGA	535
<i>rmpA</i> -R	CATAGATGTCATAATCACAC	
<i>rmpA2</i> -F	CTTTATGTGCAATAAGGATGTT	447
<i>rmpA2</i> -R	CCTCCTGGAGAGTAAGCATT	
<i>MrkD</i> -F	CCACCAACTATTCCCTCGAA	240
<i>MrkD</i> -R	ATGGAACCCACATCGACATT	
<i>fimH</i> -1-F	ATGAACGCCCTGGCCTTTGC	688
<i>fimH</i> -1-R	GCTGAACGCCCTATCCCTG	
<i>iucA</i> -F	CTCTTCCCGCTCGCTATACT	116
<i>iucA</i> -R	GCATTCCACGCTTCACTTCT	
<i>iutA</i> -F	AATCACCTGGGGCTGGATGCT	683
<i>iutA</i> -R	CCGCACCTCCACGCCGTAAAT	
<i>iroB</i> -F	CCGCAAAGAGACGAACCGCCTT	546
<i>iroB</i> -R	CGGGCAATCCCCGCTTGACTT	

1.3.5 琼脂糖凝胶电泳验证及测序 PCR 扩增产物经 120 V, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳 30 min, 采用凝胶成像系统观察结果并拍照, 然后送上海生工生物工程公司测序。测序结果通过 BLAST 进行同源性比对。

## 2 结果

2.1 CRKP 来源科室及标本类型分布 2023 年 7 月—2024 年 6 月从该院不同科室不同感染部位共分离 985 株肺炎克雷伯菌, 其中 CRKP 共 76 株(7.7%)。76 株 CRKP 来源于 12 个科室, 其中重症监护病房(ICU)22 株(28.9%), 占比较高, 其次为神经外科 ICU 18 株(23.6%), 呼吸 ICU 12 株(15.8%); 标本类型主要为呼吸道标本(46 株, 60.5%), 其次为血标本(10 株, 13.2%)。见表 3。CRKP 分离时间以 2023 年 8、9 月为检出高峰(分别为 8、10 株), 可能与夏季感染风险增加相关。

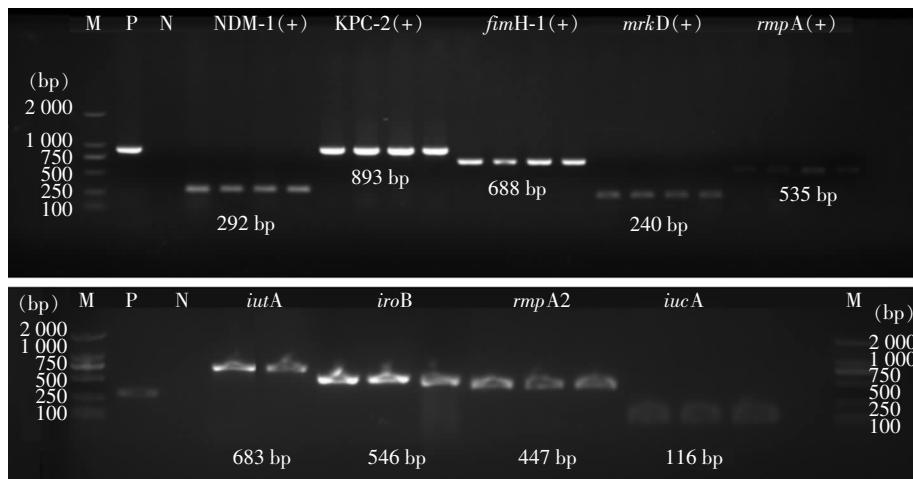
**表 3** 76 株 CRKP 来源科室和标本类型分布

**Table 3** Distribution of department sources and specimen types of 76 strains of CRKP

项目	株数(%)	项目	株数(%)
科室分布		标本类型	
重症 ICU	22(28.9)	呼吸道标本	46(60.5)
神经外科 ICU	18(23.6)	血	10(13.2)
呼吸 ICU	12(15.8)	尿	6(7.9)
肝胆胰外科	4(5.3)	引流液	6(7.9)
儿科病房	4(5.3)	分泌物	4(5.3)
传染科二区	4(5.3)	胆汁	2(2.6)
其它科室	12(15.8)	脑脊液	2(2.6)

**2.2 耐药基因和毒力因子携带情况** 对 76 株 CRKP 菌株进行 PCR 扩增, 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳显示, 阳性对照、KPC-2 (893 bp) 和 NDM-1 (292 bp), 以及目标基因 NDM-1、KPC-2、*fimH-1*、*mrkD*、*rmpA*、*iucA*、*iutA*、*iroB*、*rmpA2* 均出现特异性条带, 阴性对照无特异性条带, 见图 1。

将 PCR 扩增产物测序结果进行 BLAST 比对, 确认基因为 *bla<sub>KPC-2</sub>*、*bla<sub>NDM-1</sub>*、*bla<sub>IMP</sub>* 耐药基因和 *fimH-1*、*mrkD*、*rmpA*、*rmpA2*、*iucA*、*iutA*、*iroB* 毒力因子。76 株 CRKP 中, 55 株检出 KPC-2 (72.4%), 16 株检出 NDM-1 (21.1%), 4 株检出 IMP (5.3%); 毒力因子中, 65 株检出 *mrkD* 毒力因子 (85.5%); 64 株



注:M 为 marker(2 000 bp), P 为阳性对照(KPC-2, 893 bp/NDM-1, 292 bp); N 为空白对照(水)。

**图 1** 部分 CRKP 耐药基因和毒力因子 PCR 扩增产物电泳图

**Figure 1** Electrophoresis results of PCR amplification product of partial CRKP resistance genes and virulence factors

检出 *fimH-1* 毒力因子 (84.2%); 各有 42 株检出 *iucA*、*iutA* 毒力因子 (各占 55.3%)。未检测出 K1、

K2、K5、K20 毒力因子。见表 4。

**表 4** 76 株 CRKP 耐药基因和毒力因子检出情况

**Table 4** Detection of resistance genes and virulence factors of 76 CRKP strains

项目	检出株数	占比(%)	项目	检出株数	占比(%)
耐药基因			<i>iutA</i>	42	55.3
KPC-2	55	72.4	<i>iroB</i>	40	52.6
NDM-1	16	21.1	<i>rmpA2</i>	38	50.0
IMP	4	5.3	<i>rmpA</i>	8	10.5
毒力因子			K1	0	0
<i>fimH-1</i>	64	84.2	K2	0	0
<i>mrkD</i>	65	85.5	K5	0	0
<i>iucA</i>	42	55.3	K20	0	0

2.3 hv-CRKP 和非 hv-CRKP 碳青霉烯耐药基因、毒力因子分布及体外药敏差异 基于菌株药敏试验、拉丝试验、碳青霉烯耐药基因及毒力因子检测结果,76 株 CRKP 中 39 株(51.3%)为 hv-CRKP,37 株(48.7%)为非 hv-CRKP。两种特征 CRKP 碳青霉烯耐药基因、毒力因子分布及体外药敏结果见表 5、6。

表 5 hv-CRKP 和非 hv-CRKP 碳青霉烯耐药基因、毒力因子分布

Table 5 Distribution of carbapenem-resistant genes and virulence factors in hv-CRKP and non-hv-CRKP

耐药基因/毒力因子	hv-CRKP [n=39, 株(%)]	非 hv-CRKP [n=37, 株(%)]	差异特征分析
<b>耐药基因</b>			
高黏液表型(HM)	2(5.1)	0(0)	两组差异不明显,无法作为鉴别标志
<b>碳青霉烯耐药基因</b>			
KPC-2	39(100)	16(43.2)	KPC-2 是 hv-CRKP 的核心耐药基因
NDM-1	5(12.8)	11(29.7)	NDM-1 更常见于非 hv-CRKP
IPM	0(0)	4(10.8)	未发现 hv-CRKP 携带 IPM 耐药基因
<b>毒力因子</b>			
荚膜(K 抗原)			
K1	0(0)	0(0)	hv-CRKP 和非 hv-CRKP 均未检测出
K2	0(0)	0(0)	K1、K2、K5、K20 的荚膜 K 抗原,可能存在其它荚膜血清型,有待进一步研究。
K5	0(0)	0(0)	毒力因子 <i>rmpA</i> 、 <i>rmpA2</i> 、 <i>iucA</i> 、 <i>iutA</i> 、
K20	0(0)	0(0)	<i>iroB</i> 是 hv-CRKP 和非 hv-CRKP 主要鉴别标志物,在 hv-CRKP 中检出率高于非 hv-CRKP,而 <i>fimH-1</i> 、 <i>mrkD</i> 非 hv-CRKP 鉴别标志物,两组间检出率差异较小
<i>rmpA</i>	8(20.5)	0(0)	
<i>rmpA2</i>	38(97.4)	0(0)	
铁载体			
<i>iucA</i>	39(100)	3(8.1)	
<i>iutA</i>	34(87.2)	8(21.6)	
<i>iroB</i>	35(89.7)	5(13.5)	
菌毛			
<i>fimH-1</i>	39(100)	25(67.6)	
<i>mrkD</i>	39(100)	26(70.3)	
毒力因子组合			
<i>rmpA2 + iucA + iroB</i>	2(5.1)	0(0)	<i>rmpA2 + iucA + iutA + iroB</i> 为
<i>rmpA2 + iucA + iutA</i>	1(2.6)	0(0)	hv-CRKP 最常见的毒力因子组合
<i>rmpA2 + iucA + iutA + iroB</i>	25(64.1)	0(0)	(64.1%)
<i>rmpA + rmpA2 + iucA + iutA + iroB</i>	8(20.5)	0(0)	

表 6 hv-CRKP 和非 hv-CRKP 体外药敏结果[株(%)]

Table 6 In vitro antimicrobial susceptibility testing results of hv-CRKP and non-hv-CRKP (No. of isolates [%])

抗菌药物	hv-CRKP (n=39)	非 hv-CRKP(n=37)	抗菌药物	hv-CRKP (n=39)	非 hv-CRKP(n=37)
氨苄西林/舒巴坦	39(100)	37(100)	头孢吡肟	36(92.3)	37(100)
阿莫西林/克拉维酸	39(100)	37(100)	头孢哌酮/舒巴坦	39(100)	37(100)
哌拉西林/他唑巴坦	39(100)	37(100)	头孢西丁	38(97.4)	37(100)
头孢唑林	39(100)	37(100)	氨曲南	34(87.2)	37(100)
头孢呋辛	39(100)	37(100)	阿米卡星	3(7.7)	18(48.6)
头孢他啶	39(100)	37(100)	庆大霉素	4(10.3)	23(62.2)
头孢曲松	39(100)	37(100)	替加环素	0(0)	1(2.7)
头孢噻肟	39(100)	37(100)	左氧氟沙星	35(89.7)	37(100)
			复方磺胺甲噁唑	2(5.1)	23(62.2)

### 3 讨论

本研究显示,2023 年 7 月—2024 年 6 月该院 CRKP 分离率为 7.7%,略低于中国细菌耐药监测网(CARSS, <https://www.carss.cn/>)公布的 2023 年全国 CRKP 平均分离率(10.8%),但高于 2023 年 CARSS 公布的海南省 CRKP 分离率(3.9%),提示医院内传播压力增加。CRKP 主要分布于重症 ICU、神经外科 ICU 和呼吸 ICU,这些科室患者多为危重症,常接受侵入性手术或长期卧床,大量使用抗菌药物,免疫功能低下,更容易受到耐药菌的攻击。76 株 CRKP 的主要标本来源为呼吸道(60.5%),其次为血(13.2%)和尿(7.9%),这一结果与 2020 年中国细菌耐药监测报告<sup>[17]</sup>显示的 CRKP 主要分离自呼吸道标本的结论一致。hv-CRKP 与非 hv-CRKP 在耐药表型上存在差异,hv-CRKP 对氨基糖苷类和复方磺胺甲噁唑的敏感性高于非 hv-CRKP。76 株 CRKP 菌株耐药基因分析显示,KPC-2 是主要耐药基因(72.4%),其次是 NDM-1(21.1%),与国内其他地区研究<sup>[18]</sup>结果一致。

毒力因子分析显示,*mrkD*(85.5%)和*fimH*(84.2%)是主要毒力因子,表明 CRKP 普遍存在 I 型和 III 型菌毛,这与已有研究<sup>[16]</sup>结果一致。此外,与铁载体系统相关的因子(*iucA*、*iutA*、*iroB*)检出率较高,这些因子有助于细菌在宿主体内获取铁元素,增强其生存和致病能力。*rmpA2* 和 *rmpA* 与高毒力表型相关,hv-CRKP 中 *rmpA2* 检出率高达 97.4%,而非 hv-CRKP 中完全缺失这些因子。

本研究发现,hv-CRKP 与非 hv-CRKP 在耐药基因和毒力因子分布上有明显差异。hv-CRKP 均携带 KPC-2 基因,表明该基因为核心耐药基因,并可能与毒力质粒形成“耐药 - 毒力复合质粒”<sup>[19]</sup>。非 hv-CRKP 中 KPC-2 检出率为 43.2%,低于 hv-CRKP。NDM-1 单独存在于 11 株(29.7%)非 hv-CRKP 中,5 株(12.8%)hv-CRKP 中检出 NDM-1,且和 KPC-2 同时存在,可见 NDM-1 更常见于非 hv-CRKP,这与 NDM-1 常位于接合性较强的 IncX3 型质粒上有关<sup>[20]</sup>。从毒力因子组合来看,所有 hv-CRKP 均携带 *iucA*,97.4% 携带 *rmpA2*,89.7% 携带 *iroB*,87.2% 携带 *iutA*,64.1% 的菌株同时携带这四种毒力因子,携带比例高于非 hv-CRKP(0)。此类组合与高毒力表型密切相关,而非 hv-CRKP 中,仅 13.5% 检出 *iroB*,8.1% 检出 *iucA*,*rmpA*/

*rmpA2* 完全缺失,表明其致病性主要依赖耐药性而非毒力增强。

CRKP 携带多种耐药基因和毒力因子,增强了其生存和致病能力,导致临床治疗面临巨大挑战。因此,研究本地区 hv-CRKP 的耐药机制和毒力因子的流行病学对临床治疗具有重要参考价值,可为抗菌药物合理使用提供依据。同时,需加强耐药基因和毒力因子的监测,及时发现高毒力和高耐药性菌株,并采取有效防控措施。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

### [参 考 文 献]

- [1] Dong N, Yang XM, Chan EW, et al. *Klebsiella* species: taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance[J]. EBioMedicine, 2022, 79: 103998.
- [2] 中国老年医学学会检验医学分会,上海市医学会检验医学专科分会,上海市微生物学会临床微生物学专业委员会. 高毒力肺炎克雷伯菌实验室检测专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(11): 1164–1172.  
Laboratory Medicine Branch of Chinese Geriatrics Society, Shanghai Society of Laboratory Medicine, Clinical Microbiology Division of Shanghai Society of Microbiology. Expert consensus on laboratory testing for hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2023, 46(11): 1164–1172.
- [3] Liao WJ, Liu Y, Zhang W. Virulence evolution, molecular mechanisms of resistance and prevalence of ST11 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China: a review over the last 10 years[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 23: 174–180.
- [4] 王莲慧,魏丹丹,万腊根,等. 高毒力荚膜血清型肺炎克雷伯菌克隆株毒力和耐药性的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(4): 286–290.  
Wang LH, Wei DD, Wan LG, et al. Report of hypervirulent capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae* clones groups with enhanced virulence and antimicrobial resistance[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2016, 39(4): 286–290.
- [5] Merlet A, Cazanave C, Dutronc H, et al. Primary liver abscess due to CC23-K1 virulent clone of *Klebsiella pneumoniae* in France[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(9): E338–E339.
- [6] Li LL, Li S, Wei XZ, et al. Infection with carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: clinical, virulence and molecular epidemiological characteristics[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2023, 12(1): 124.
- [7] Zhang YW, Zeng J, Liu WE, et al. Emergence of a hyperviru-

- lent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolate from clinical infections in China[J]. J Infect, 2015, 71(5): 553 – 560.
- [8] Shu LB, Dong N, Lu J, et al. Emergence of OXA-232 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* that carries a pLVPK-like virulence plasmid among elderly patients in China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63(3): e02246 – 18.
- [9] Feng Y, Lu Y, Yao ZH, et al. Carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* of sequence type 36[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(7): e02644 – 17.
- [10] Dong N, Yang XM, Zhang R, et al. Tracking microevolution events among ST11 carbapenemase-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* outbreak strains[J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1): 146.
- [11] Tan TY, Cheng Y, Ong M, et al. Performance characteristics and clinical predictive value of the string test for detection of hepato-virulent *Klebsiella pneumoniae* isolated from blood cultures[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2014, 78(2): 127 – 128.
- [12] 郑波, 吕媛, 李耘. 携带 bla<sub>NDM-1</sub> 基因泛耐药肠杆菌科细菌的检测方案[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 26(11): 845 – 848.
- Zheng B, Lv Y, Li Y. Scheme for detection proposal for Metallo-β-lactamase NDM-1-producing multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* with bla<sub>NDM-1</sub> gene[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2010, 26(11): 845 – 848.
- [13] Xiong JH, Alexander DC, Ma JH, et al. Complete sequence of pOZ176, a 500-kilobase IncP-2 plasmid encoding IMP-9-mediated carbapenem resistance, from outbreak isolate *Pseudomonas aeruginosa* 96 [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(8): 3775 – 3782.
- [14] 苏丹虹, 李敏亮, 金光耀, 等. 肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌产 KPC 酶的检测研究[J]. 中国抗生素杂志, 2009, 34(11): 684 – 687, 712.
- Su DH, Li ML, Jin GY, et al. The analysis on the detection of and *Klebsiella pneumoniae* KPC type carbapenemase produced by *Escherichia coli*[J]. Chinese Journal of Antibiotics,
- 2009, 34(11): 684 – 687, 712.
- [15] 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(Pt 5): 541 – 547.
- [16] El Fertas-Aissani R, Messai Y, Alouache S, et al. Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens [J]. Pathol Biol (Paris), 2013, 61(5): 209 – 216.
- [17] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2020 年 CHINET 中国细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(4): 377 – 387.
- Hu FP, Guo Y, Zhu DM, et al. CHINET surveillance of bacterial resistance: results of 2020[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2021, 21(4): 377 – 387.
- [18] Zhang R, Liu LZ, Zhou HW, et al. Nationwide surveillance of clinical carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) strains in China[J]. EBioMedicine, 2017, 19: 98 – 106.
- [19] Gu DX, Dong N, Zheng ZW, et al. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study[J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(1): 37 – 46.
- [20] Liu BM, Shui LL, Zhou K, et al. Impact of plasmid-encoded H-NS-like protein on bla<sub>NDM-1</sub>-bearing IncX3 plasmid in *Escherichia coli*[J]. J Infect Dis, 2020, 221(S2): S229 – S236.

(本文编辑:翟若南)

**本文引用格式:**李天娇,龙文芳,陈颖,等.海南省高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药及毒力因子特征的初步研究[J].中国感染控制杂志,2025,24(9):1222 – 1228. DOI:10.12138/j.issn.1671 – 9638.20252328.

**Cite this article as:** LI Tianjiao, LONG Wenfang, CHEN Ying, et al. Characteristics of resistance and virulence factors of hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Hainan Province[J]. Chin J Infect Control, 2025, 24(9): 1222 – 1228. DOI: 10.12138/j.issn.1671 – 9638.20252328.