

网络出版时间: 2021-9-7 14:56 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210907.1400.005.html>

肺炎克雷伯菌肝脓肿小鼠模型的制备与评价

郑亚虹¹, 岳程程¹, 张慧¹, 贺玲玲¹, 戴媛媛², 刘艳艳^{1,3,4}, 李家斌^{1,3,4,5}

摘要 目的 构建稳定且可靠的肺炎克雷伯菌肝脓肿(KP-LA)小鼠模型,为该疾病的后续研究提供依据。方法 选择肺炎克雷伯菌(KP)临床分离菌株181608为实验菌株,将不同浓度的细菌悬液通过腹腔注射,利用改良寇式法计算半数致死量(LD₅₀),以1/2的LD₅₀浓度注射C57BL/6J小鼠。通过小鼠一般情况、体质量变化、白细胞计数、HE染色以及肝脏菌落计数等指标综合评价该模型。结果 根据改良寇式法计算出KP在C57BL/6J小鼠中的LD₅₀约为10⁴ CFU/ml。小鼠感染细菌24 h取肝脏脓肿部位的细菌培养结果为阳性,通过菌落形态、拉丝试验阳性和质谱结果鉴定致病菌为KP。HE染色结果提示小鼠感染后肝脏出现大面积坏死以及炎性细胞的大量浸润。随着感染时间的延长,小鼠精神状态变差,加之进食量的减少,体质量逐渐降低。检测造模小鼠的白细胞数高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。除此之外,谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和炎症因子白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6和肿瘤坏死因子(TNF)- α 在肝脓肿组明显升高,且RT-qPCR结果也显示炎性和趋化因子IL-1 β 、IL-6、IL-10和单核细胞趋化蛋白(MCP)-1的mRNA水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论

通过腹腔注射成功建立KPLA小鼠感染模型,为肝脓肿的研究提供稳定和易复制的动物模型。

关键词 肺炎克雷伯菌;肝脓肿;动物模型

中图分类号 R 515.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)11-1701-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.11.005

化脓性肝脓肿(pyogenic liver abscess, PLA)是肝脏常见的感染性疾病,其中80%由细菌感染导致^[1-3]。数据统计显示,由肺炎克雷伯菌(*Klebsiella*

pneumoniae, KP)引起的肝脓肿(*Klebsiella pneumoniae* liver abscess, KPLA)占比高达50%^[3-4]。KPLA早期发病隐匿,缺乏特异性临床特征,明确诊断时多为进展期,失去了最佳治疗时期。较经典的KP而言,高毒力的KP(hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKP)感染侵袭肝脏后,易体内播散导致肝外侵袭性综合征的发生,使临床治疗难度系数增加^[5]。目前针对KPLA的治疗局限于抗菌药物使用和介入引流等方法,从源头遏制疾病的发展可能性极低,相关研究较少,主要原因可能与缺乏稳定的KPLA小鼠模型用于其基础研究有关。有学者利用雄性新西兰兔、小型猪等动物构建肝脓肿模型^[6-9],但存在造模成本高和特异性的分子抗体缺乏等缺点,使得此模型不能被广泛应用。因而该研究以期通过hvKP感染C57BL/6J雄鼠建立稳定的肝脓肿小鼠模型,从而得以进一步探索KPLA的发病机制及干预靶点,来阻止或者延缓疾病进展。

1 材料与方法

1.1 菌株来源和实验动物 本研究所用菌株来自安徽省细菌耐药监测中心收集的临床送检标本,KP菌株181608从肝脓肿患者中分离,经鉴定荚膜血清K1型,黏液相关基因A(magA)和黏液表型调节基因A(rmpA)均为阳性。SPF级6周龄的C57BL/6J雄鼠,体质量(15 $\pm$ 1)g,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,实验动物许可证号:SCXK(鲁)20190003。饲养条件:SPF级小鼠房,室温22 $^{\circ}$ C,相对湿度50%~80%,自由进食水,适应性喂养3d后进行实验。本实验已通过安徽医科大学动物伦理委员会审查(No. LLSC20190253)。

1.2 主要试剂 10%多聚甲醛购于上海生工生物工程股份有限公司;RT-qPCR试剂盒购于日本TaKaRa公司;MacConkey Agar, MHA(Mueller-Hinton Agar)和LB(Luria-Bertani)培养基购于英国Oxoid公司;TRIzol试剂购于美国Invitrogen公司;ELISA试剂盒购于上海源叶生物科技有限公司;谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)测试盒和谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)测试盒购于南

2021-06-29 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号:81673242、81973983);2019年度合肥市自主创新政策“借转补”资金项目(编号:J2019Y04)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院感染病科,合肥 230022

² 安徽医科大学附属省立医院检验科,合肥 230001

³ 安徽省细菌耐药性监控中心,合肥 230022

⁴ 安徽医科大学细菌耐药研究所,合肥 230022

⁵ 安徽医科大学附属巢湖医院感染病科,巢湖 238000

作者简介: 郑亚虹,女,博士,医师;

李家斌,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: lijiaabin@ahmu.edu.cn

京建成生物工程研究所有限公司。

1.3 菌液准备 挑取单个菌落,置于 10 ml 的 LB 液体培养基中,37 ℃、220 r/min 条件下培养至对数生长期,收集细菌后用无菌 PBS 重悬。

1.4 半数致死量(median lethal dose, LD₅₀)的测定 将重悬的菌液配成 0.5 麦氏浊度,倍比稀释为 7 个梯度浓度,分别为 1.5 × 10⁷ 个/ml、1.5 × 10⁶ 个/ml、1.5 × 10⁵ 个/ml、1.5 × 10⁴ 个/ml、1.5 × 10³ 个/ml、1.5 × 10² 个/ml 和 1.5 × 10 个/ml。用 7 组不同浓度的菌液通过腹腔注射感染小鼠,每组 6 只,注射剂量 0.1 ml/10 g 体质量。连续观察 7 d,记录小鼠生存情况。利用改良寇式法计算 LD₅₀。

1.5 肝脓肿小鼠模型的建立 小鼠随机分为健康对照组(CON 组)和肝脓肿模型组(KLA 组)。异氟烷麻醉小鼠后,腹部备皮,75% 乙醇溶液消毒,于小鼠腹正中中线靠右 1~2 cm 倾斜插入 2 ml 注射器针头,注意针头勿插入太深,确定回抽无血后,以 1/2 LD₅₀ 浓度注射小鼠。CON 组注射等量的 PBS。期间密切观察小鼠情况,24 h 内出现死亡的予以排除。

1.6 标本的收集与处理 血液:异氟烷麻醉小鼠后,摘除眼球取血,部分全血置于含 EDTA 1.5 ml 的 EP 管中用于血细胞的计数,剩余全血置于不含 EDTA 的 EP 管中,离心后取上清液,用于后续生化指标和炎症指标的检测。于 -80 ℃ 冰箱保存,避免反复冻融。

肝脏:小鼠取血后,颈椎脱臼法处死小鼠。肉眼观察肝脏表面有无形成脓肿,以及脓肿形状、大小和分布位置。取脓肿部位的肝脏组织,无菌 PBS 洗净后,置于 10% 多聚甲醛中固定。取肝脏 100 mg,研磨成匀浆,用于肝脏菌落计数,剩余的肝脏组织 -80 ℃ 冰箱保存。

1.7 指标观察

1.7.1 一般情况、体质量和脏器系数 是否主动摄食饮水;是否呆滞、竖毛、嗜睡;鼻腔及眼眶有无分泌物;有无气促,有无喘鸣音;记录各个时间点小鼠体质量变化,处死小鼠后完整取出肝脏,进行称量,计算脏器系数 = (脏器重量/小鼠体质量) × 100%。

1.7.2 全血细胞计数、生化指标和炎症指标检测 使用全自动血液分析仪(XE-2100,日本希森美康公司)分析全血细胞中的白细胞总数、中性粒细胞数绝对值、淋巴细胞数绝对值、中性粒细胞数百分比以及淋巴细胞数百分比。采用南京建成生物有限公司的生化试剂盒,通过微板法检测 ALT 和 AST 的水平。采用上海源叶生物科技有限公司提供的酶联免

疫吸附试验(ELISA)检测小鼠血浆白细胞介素(interleukin, IL)-1β、IL-6 和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α 的水平。严格参照试剂盒检测说明书操作。

1.7.3 肝脓肿的病理鉴定 脓肿部位的肝组织通过 10% 多聚甲醛固定后,常规进行脱水、透明、浸蜡和包埋,制成 3 μm 的切片(Leica RM2135,德国),石蜡切片后进行 HE 染色,全自动显微镜扫描读取结果。

1.7.4 荧光定量聚合酶链反应方法(RT-qPCR) 收集小鼠肝脏组织,用 TRIzol 法提取肝脏总 RNA。将总 RNA 依照逆转录试剂盒的方法逆转录成 cDNA, -20 ℃ 保存。指标的基因序列经 GenBank 获得,并由 Primer Premier 5.0 设计,引物序列见表 1。PCR 反应体系为 20 μl,扩增条件:94 ℃ 3 min,94 ℃ 15 s,60 ℃ 60 s,共 35 个循环,每个样本重复 3 次,设置复孔参照。扩增实验结束,读取 CT 值。

表 1 引物序列表

基因名称	引物序列(5'-3')
GAPDH	正向引物: AGGTCGGTGTGAACGGATTTG
	反向引物: GGGGTCGTTGATGGCAACA
IL-1β	正向引物: GCCTCGTCTCTCGGACCCATAT
	反向引物: TCCTTTGAGGCCCAAGGCCACA
IL-6	正向引物: CTGCAAGAGACTTCCATCCAG
	反向引物: AGTGGTATAGACAGGTCTGTTGG
MCP-1	正向引物: GGCTGGAGAGCTACAAGAGG
	反向引物: GGTGACACAGACCTCTCTC
IL-10	正向引物: GCTCCTAGAGCTCGGACTGC
	反向引物: TGCTTCTCTGCCTGGGGCATCA

MCP-1: 单核细胞趋化蛋白-1

1.7.5 肝脓肿小鼠病原菌的鉴定 取造模组小鼠肝脓肿部位组织,将肝脏研磨成匀浆,取 50 μl 用涂布器均匀涂布在 MHA 和麦康凯平板上,培养箱 37 ℃ 孵育过夜。每个样品涂 3 个平板,设立 2 个空白对照组。第 2 天上午观察细菌大小形态并进行拉丝实验。同时挑选新鲜菌落,通过 Clin-TOF II 飞行时间质谱系统(北京毅新博创生物科技有限公司)进行鉴定。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计分析软件进行实验数据统计。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述。数据符合正态分布,两组间数据采用两独立样本 *t* 检验。对单因素重复测量的数据采用单因素重复测量方差分析。检验水准 *P* < 0.05。

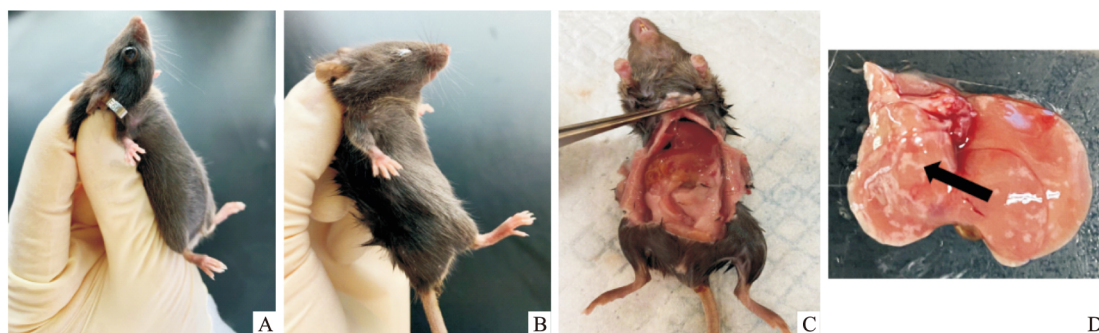


图1 KLA 小鼠动物模型

A: CON 小鼠; B: KLA 小鼠; C: KLA 小鼠解剖图; D: 肝脏脓肿(箭头为脓肿部位)

2 结果

2.1 LD₅₀结果 根据改良寇式法计算出肺炎克雷伯菌在 C57BL/6J 小鼠中的 LD₅₀ 约为 10⁴ CFU/ml。

2.2 KLA 小鼠模型的成功构建 小鼠腹腔注射肺炎克雷伯菌 24 h 后,一般情况变差,如进食减少、气促、呆滞、竖毛、嗜睡、眼角分泌物增多等(图 1B)。颈椎脱臼法处死小鼠,即可见腹腔内形成少量脓液,脏器粘连,且肝脏表面出现花斑样散在分布的脓肿,大小不一(图 1C、1D)。造模过程中,有 8/10 小鼠形成肉眼可见的肝脓肿(成模率 80%)。

2.3 肝脏脓肿部位的细菌培养结果 MHA 琼脂培养基上形成较大的灰白色黏液菌落; MacConkey 培养基中 KP 分解乳酸在培养基表面形成红色的菌落;以棉签钝头挑起菌落,易拉成丝,即拉丝实验阳性;最后质谱鉴定感染小鼠致病菌为 KP。见图 2。

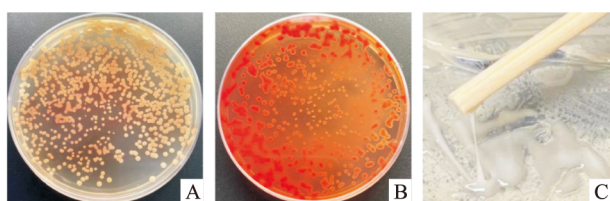


图2 细菌培养结果

A: MHA 培养基; B: MacConkey 培养基; C: 拉丝实验

2.4 CON 和 KLA 组小鼠肝脏 HE 染色结果

CON 组小鼠肝细胞正常,中央静脉周围无明显炎性渗出,而 KLA 小鼠感染 24 h 后出现肝脏内炎性细胞的大量浸润和肝细胞胞质空泡样变性坏死,48 h 肝细胞的坏死面积增大,由于肝脏恢复缓慢,168 h 后仍有小范围肝细胞坏死和炎性细胞浸润。见图 3。

2.5 小鼠感染 KP 后体质量降低

小鼠感染 KP 后

体质量随时间(感染前和感染后的 12、24、48、120、168 h)推移逐渐降低,差异有统计学意义($P = 0.016$)。见表 2。

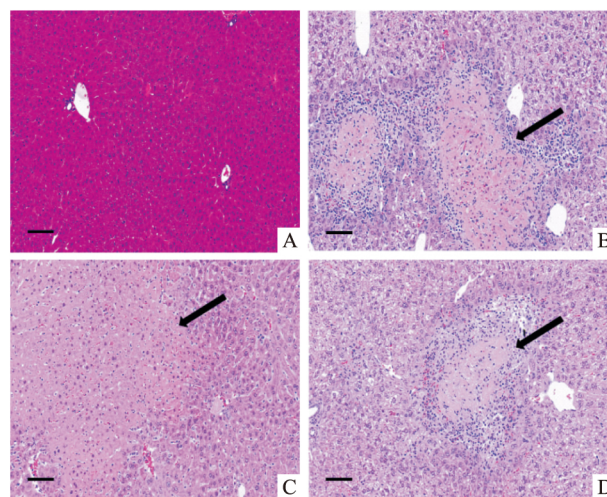


图3 小鼠肝组织病理学改变 HE ×200

A: CON 组; B: 24 h; C: 48 h; D: 168 h; 黑色箭头所指为脓肿部位

表2 造模小鼠体质量随时间的变化($\bar{x} \pm s$)

时间(h)	体质量
0	18.60 ± 1.27
12	18.06 ± 1.03
24	17.50 ± 0.70
48	16.77 ± 0.86
120	15.3 ± 1.43
168	13.97 ± 1.40
F 值	20.46
P 值	0.016

2.6 小鼠感染 KP 后肝脏重量和脏器系数的改变

小鼠感染细菌 24 h 后,肝脏取材称重发现 KLA 小鼠的绝对肝重和相对肝重较 CON 组均有所增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表3 CON组和KLA组小鼠肝重以及脏器系数比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

项目	CON组	KLA组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
绝对肝重(g)	1.05 ± 0.050	1.13 ± 0.090	-2.643	0.017
脏器系数(%)	0.04 ± 0.002	0.05 ± 0.003	-2.358	0.030

2.7 小鼠感染KP后血细胞计数的改变 血常规结果显示,小鼠感染细菌24 h后,白细胞计数较CON组升高,差异有统计学意义($P=0.028$),而血红蛋白、中性细胞绝对值以及中性细胞百分比两组间差异无统计学意义。见表4。

表4 CON组与KLA组小鼠血细胞计数比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

变量	CON组	KLA组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
血红蛋白(g/L)	145.00 ± 4.24	125.00 ± 14.09	1.420	0.108
白细胞计数($\times 10^9/L$)	5.30 ± 0.14	8.27 ± 1.38	-2.875	0.028
中性细胞绝对值($\times 10^9/L$)	0.21 ± 0.01	0.29 ± 0.13	-0.829	0.439
中性粒细胞百分比(%)	3.40 ± 0.28	6.20 ± 1.83	-2.101	0.080

2.8 小鼠感染KP后血液生化指标的改变 与CON组小鼠比较,KLA小鼠感染24 h后血清ALT($P=0.0359$)和AST($P<0.0001$)明显升高,差异有统计学意义。见图4。

2.9 小鼠感染KP后对血清炎症因子水平的影响

ELISA结果显示,KLA组小鼠感染24 h后,血清炎症因子(IL-1 β 、IL-6和TNF- α)较对照组明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。见图5。

2.10 小鼠感染KP后对肝组织炎症因子mRNA水平的影响 与CON组小鼠比较,KLA小鼠感染24 h后肝组织中IL-1 β ($P<0.001$)、IL-6($P<0.05$)、IL-10($P<0.05$)和MCP-1($P<0.05$)水平明显增加,差异有统计学意义。见图6。

3 讨论

近年来,广谱抗生素的滥用以及人群基础疾病谱的改变导致KPLA成为全球严重的感染性疾病,

致残和致死率逐年上升。有限的治疗手段无法满足临床需求,新药的研究与开发已推上日程,然而现有的KPLA模型不足以真实体现药物基础研究的效果,故构建稳定的KPLA动物模型对于疾病治疗手段的探索至关重要。

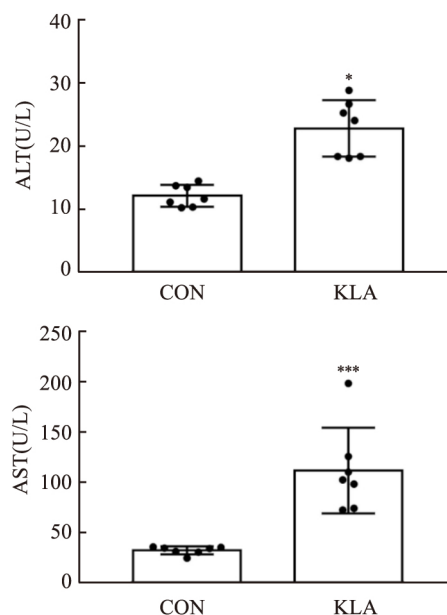


图4 CON组和KLA小鼠感染24 h血清ALT和AST水平与CON组比较: * $P<0.05$, *** $P<0.001$

本实验通过腹腔注射hvKP成功构建KPLA小鼠模型。肝脓肿模型的构建主要包含实验动物、细菌以及造模方式这三个要素。以往针对KPLA的研究使用免疫力缺陷的小鼠,如在糖尿病小鼠基础上灌胃KP,但造模的成功率较低,且在后续的研究中无法排除糖尿病本身或者高血糖的干扰^[4]。本研究选择免疫力正常的雄鼠完成了KPLA小鼠模型的制备,脓肿成模率为80%,这可能与临床菌株的来源和基因型、细菌浓度和注射方式有关。流行病学研究^[1]显示,hvKP主要感染健康的年轻人群,且患

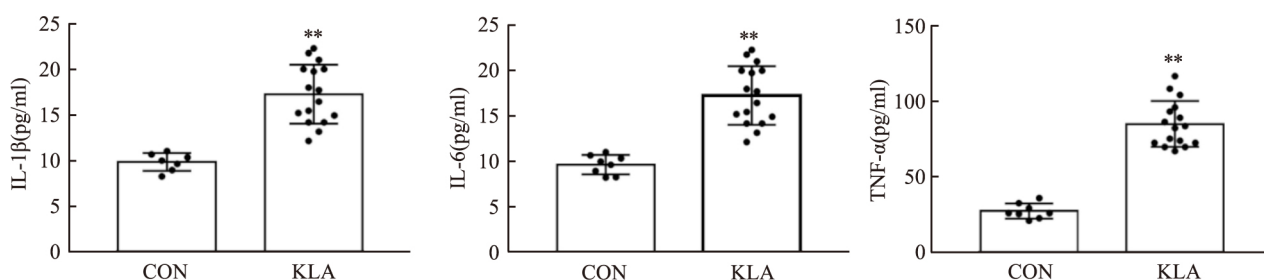


图5 CON小鼠和KLA小鼠感染24 h后血清IL-1 β 、IL-6和TNF- α 表达水平与CON组比较: ** $P<0.01$

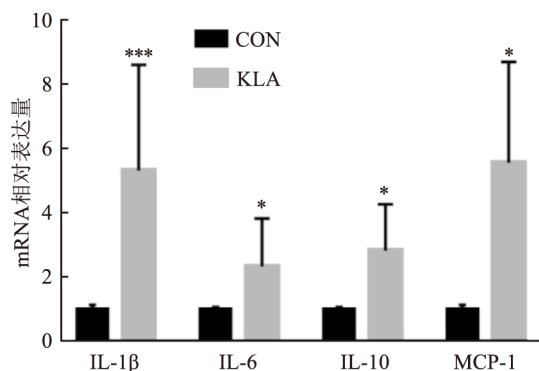


图6 小鼠感染24 h后两组肝组织中IL-1β、IL-6、IL-10和MCP-1 mRNA表达水平
与CON组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

病率男性高于女性。引起KPLA的hvKP多数呈黏液丝试验阳性,荚膜血清型以K1或K2为主,占全部菌株的80%^[2]。另外,hvKP菌株常携带rmpA和magA等毒力基因,它们编码的蛋白参与细菌荚膜的形成,赋予荚膜高黏液表型,是促进肝脓肿形成的重要原因^[3-14]。本研究为了增加造模成功的概率选择从肝脓肿患者痰液中分离的hvKP临床菌株,此菌株经鉴定发现荚膜血清K1型,毒力基因rmpA和magA均为阳性。其次,临床上hvKP更易侵袭年轻的男性个体,为了增加造模成功的概率,选用周龄较小的雄性小鼠构建感染模型。除此之外,正确的造模方式是成功的关键,本研究选择贴近肝脏的部位进行腹腔注射,由于实验选择的hvKP具有高黏液性荚膜,可以抵抗宿主补体系统介导的杀菌作用,从而轻易的定植在肝脏表面形成脓肿。

小鼠感染细菌后,出现主动摄食减少,蜷缩立毛,呼吸加快以及眼角分泌物增多等症状,随着时间的延长,体质量也明显下降,这与张梅玲^[5]的报道一致。模型构建成功除了肉眼可见的脓肿形成之外,另一个重要的依据便是肝脏的病理结果。HE结果显示大面积坏死肝细胞的边缘聚集着众多浸润的炎性细胞,这也导致感染小鼠的绝对肝重和相对肝重均明显大于对照组的原因。本实验中,肝脓肿小鼠体内白细胞计数和中性粒细胞数处于较高水平,考虑可能与菌体本身或细菌代谢产物刺激有关。临床上常用ALT和AST来评价肝脏的功能^[14],肝脓肿患者检测中这两项指标是升高的,与本实验中KPLA小鼠的结果一致。越来越多的研究^[15]表明,细菌侵袭肝脏,激活肝脏局部免疫系统,引起炎症反应会分泌大量的炎症因子,持续不断的免疫系统激

活是促进肝脓肿发生的诱因。造模过程中发现小鼠肝脏和血清中促炎因子较CON组明显升高,有效抑制炎症因子的释放或许是延缓KPLA进展的另一种途径。

综上所述,通过上述方法成功建立了hvKP腹腔感染的肝脓肿动物模型,并对模型进行全面评价,为KPLA早期诊断标志物的寻找和筛查、炎症机制的探讨、毒力因子的致病性以及小鼠对细菌的免疫机制等研究提供了良好的实验动物模型。

参考文献

- Li W, Chen H, Wu S, et al. A comparison of pyogenic liver abscess in patients with or without diabetes: a retrospective study of 246 cases [J]. BMC Gastroenterol, 2018, 18(1): 144.
- 王霞, 张红瑾, 门永忠. 超声介入治疗糖尿病合并细菌性肝脓肿的临床护理 [J]. 重庆医学, 2013, 42(17): 2052, 2056.
- Tsai F C, Huang Y T, Chang L Y, et al. Pyogenic liver abscess as endemic disease, Taiwan [J]. Emerg Infect Dis, 2008, 14(10): 1592-600.
- Fazili T, Sharngoe C, Endy T, et al. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: an emerging disease [J]. Am J Med Sci, 2016, 351(3): 297-304.
- Shon A S, Bajwa R P, Russo T A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed [J]. Virulence, 2013, 4(2): 107-18.
- Thompson W M, Stude R A, McDonald M I, et al. Computed tomographic evaluation of an experimental model for pyogenic liver abscesses [J]. Invest Radiol, 1985, 20(2): 152-8.
- Alberti D, Borsellino A, Locatelli C, et al. Percutaneous transhepatic alcoholization: a new therapeutic strategy in children with chronic granulomatous disease and liver abscess [J]. Pediatr Infect Dis J, 2002, 21(11): 1081-3.
- Zatelli A, Bonfanti U, Zini E, et al. Percutaneous drainage and alcoholization of hepatic abscesses in five dogs and a cat [J]. J Am Anim Hosp Assoc, 2005, 41(1): 34-8.
- Nielsen O L, Iburg T, Aalbaek B, et al. A pig model of acute *Staphylococcus aureus* induced pyemia [J]. Acta Vet Scand, 2009, 51(1): 14.
- Zhang M, Pan L, Xu D, et al. The NF-κB signaling pathway serves an important regulatory role in *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses [J]. Exp Ther Med, 2018, 15(6): 5443-9.
- Lin Y T, Siu L K, Lin J C, et al. Seroepidemiology of *Klebsiella pneumoniae* colonizing the intestinal tract of healthy Chinese and overseas Chinese adults in Asian countries [J]. BMC Microbiol, 2012, 12: 13.
- Yeh K M, Kurup A, Siu L K, et al. Capsular serotype K1 or K2, rather than magA and rmpA, is a major virulence determinant for *Klebsiella pneumoniae* liver abscess in Singapore and Taiwan [J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(2): 466-71.

- [3] Struve C, Bojer M, Nielsen E M, et al. Investigation of the putative virulence gene *magA* in a worldwide collection of 495 *Klebsiella* isolates: *magA* is restricted to the gene cluster of *Klebsiella pneumoniae* capsule serotype K1 [J]. *J Med Microbiol*, 2005, 54 (Pt 11) : 1111 – 3.
- [4] Yu W L, Ko W C, Cheng K C, et al. Association between *rpmA* and *magA* genes and clinical syndromes caused by *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan [J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 42(10) : 1351 – 8.
- [5] 张梅玲. 糖尿病小鼠调节肺炎克雷伯菌肝脓肿发病机制的分子机制 [J]. 合肥: 安徽医科大学, 2017.
- [6] Wang Y D, Chen W D, Yu D, et al. The G-protein-coupled bile acid receptor, Gpbar1 (TGR5), negatively regulates hepatic inflammatory response through antagonizing nuclear factor κ light-chain enhancer of activated B cells (NF- κ B) in mice [J]. *Hepatology*, 2011, 54(4) : 1421 – 32.

Construction and evaluation of *Klebsiella pneumoniae* liver abscess mouse model

Zheng Yahong, Yue Chengcheng, Zhang Hui, et al

(Dept of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To establish a stable and reliable mouse model of *Klebsiella pneumoniae* liver abscess (KP-LA) for deep research. **Methods** The clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*(KP) 181608 were selected as the experimental strains. Mice were intraperitoneally injected with bacterial suspensions of different concentrations. Lethal dose 50 (LD₅₀) was calculated by the modified coon method, and the concentration of liver abscess model mice was 1/2 LD₅₀. The general condition, weight change, blood routine examination, HE staining and liver bacterial burden were recorded to comprehensively evaluate the model and verify its effect. **Results** The LD₅₀ of KP was 10⁴ CFU/ml according to the improved Karber's method. The result of bacterial culture from the site of liver abscess was positive, and the infected bacteria was identified as KP by colony morphology, positive wire-drawing test and mass spectrometry. The results of HE staining suggested large area of necrosis and infiltration of inflammatory cells in liver of KLA mice. With the extension of the infection time, the mental state of KLA mice became worse, coupling with the decrease of food intake, eventually the weight obviously decreased. The number of leukocytes in infected mice were higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). In addition, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and inflammatory factors [interleukin (IL) -1 β , IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α)] significantly increased in KLA group, and RT-qPCR results also showed higher mRNA levels of inflammatory and chemokine factors [IL-1 β , IL-6, IL-10 and monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)] than those of the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The KPLA mouse is successfully established by intraperitoneal injection, providing a stable and easy-to-replicate animal model of liver abscess for further study.

Key words *Klebsiella pneumoniae*; liver abscess; animal models