

DOI:10.13350/j.cjpb.230515

• 临床研究 •

铜绿假单胞菌分泌系统毒力基因携带及耐药性研究

袁果*,程苗,杨杰

(南阳医学高等专科学校第一附属医院,河南南阳 473000)

【摘要】 目的 探讨本院铜绿假单胞菌的临床分布、毒力基因携带情况及与耐药之间关系。方法 本院门诊及住院患者送检的样本中分离而来的铜绿假单胞菌菌株作为研究对象。采用革兰染色法和全自动微生物鉴定系统进行菌种鉴定。采用KB纸片法测定铜绿假单胞菌对临床常用抗生素耐受性。运用PCR技术检测分离菌株分泌系统毒力基因。结果 本次研究中共分离出272株铜绿假单胞菌,痰液标本213份(78.31%),尿液标本15份(5.15%)、血液标本8份(2.94%)、分泌物标本22份(8.09%)、穿刺液标本8份(2.94%)、其他标本6份(2.21%)。呼吸内科检出86株,其次是ICU(42株)和普外科(26株)。检出的铜绿假单胞菌对氨曲南、左旋氧氟沙星、环丙沙星、哌拉西林、头孢哌酮/舒巴坦、美罗培南、亚胺培南、头孢吡肟、头孢他啶、庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星和多粘菌素B耐药率分别为34.93%、41.18%、39.71%、24.63%、31.62%、21.69%、18.75%、20.22%、18.38%、26.10%、23.90%、7.72%和0.00%。毒力基因exoS、exoT、exoU、exoY、pscC、tssB1、tssB2、tse1、tse2和tse3检出率分别为75.37%、90.07%、28.68%、62.50%、70.22%、84.56%、86.03%、79.78%、85.29%和81.99%。多耐药菌exoS携带率85.07%,非多耐药菌携带率72.20%,组间差异有统计学意义($\chi^2=4.5120, P<0.05$)。多耐药菌exoU携带率43.28%,非多耐药菌携带率23.90%,组间差异有统计学意义($\chi^2=9.2738, P<0.05$)。结论 本院铜绿假单胞菌的分布以呼吸内科和ICU为主。临床治疗应根据药敏试验结果合理选择抗菌药物,以避免耐药菌产生。携带exoS和exoU基因菌株耐药率较高。

【关键词】 铜绿假单胞菌;临床分布;毒力基因;耐药性

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)05-0570-05

[Journal of Pathogen Biology. 2023 May;18(5):570-574.]

Multicenter study on clinical characteristics and drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa*

YUAN Guo, CHENG Miao, YANG Jie (The First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang 473000, Henan, China)*

【Abstract】 **Objective** The clinical distribution, the carrying of virulence genes and the relationship between them and drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* were investigated. **Methods** The strains of *P. aeruginosa* isolated from the samples submitted by the outpatient and inpatient patients of our hospital were taken as the research object. Gram staining method and automatic microbial identification system were used for bacterial identification. The tolerance of *P. aeruginosa* to commonly used clinical antibiotics was determined by KB disk method. The virulence genes of the secretory system of the isolated strains were detected by PCR technique. **Results** A total of 272 strains of *P. aeruginosa* were isolated in this study. *P. aeruginosa* was detected in 213 sputum samples (78.31%), 15 urine samples (5.15%), 8 blood samples (2.94%), 22 secretion samples (8.09%), 8 puncture fluid samples (2.94%), and 6 other samples (2.21%). There were 86 strains of *P. aeruginosa* in respiratory department, followed by 42 strains in ICU and 26 strains in general surgery. The resistance rates of *P. aeruginosa* to amtreonam, levofloxacin, ciprofloxacin, piperacillin, cefoperazone/sulbactam, meropenem, imipenem, cefepime, ceftazidime, gentamicin, tobramycin, amikacin and polymyxin B were 34.93%, 41.18%, 39.71%, 24.63%, 31.62%, 21.69%, 18.75%, 20.22%, 18.38%, 26.10%, 23.90%, 7.72% and 0% respectively. The detection rates of virulence genes *exoS*, *exoT*, *exoU*, *exoY*, *pscC*, *tssB1*, *tssB2*, *tse1*, *tse2* and *tse3* were 75.37%, 90.07%, 28.68%, 62.50%, 70.22%, 84.56%, 86.03%, 79.78%, 85.29% and 81.99% respectively. The *exoS* carrying rate of multidrug resistant bacteria was 85.07%, and that of non-multidrug resistant bacteria was 72.20%. The *exoS* carrying rate between groups was statistically significant ($\chi^2 = 4.5120, P < 0.05$). The *exoU* carrying rate of multidrug resistant bacteria was 43.28%, and that of non-multidrug resistant bacteria was 23.90%. The *exoU* carrying rate between groups was statistically significant ($\chi^2 = 9.2738, P < 0.05$). **Conclusion** The distribution of *P. aeruginosa* was mainly in the department of respiratory department and ICU. According to the results of drug sensitivity test, antimicrobial agents should be reasonably selected to avoid the emergence of drug-resistant bacteria. The drug resistance rate of strains carrying *exoS* and *exoU* was higher.

* **【通讯作者(简介)】** 袁果(1988-),女,河南南召人,本科,主管技师。主要从事临床检验工作。E-mail:efzw3346@21cn.com

【Key words】 *Pseudomonas aeruginosa*; clinical distribution; virulence gene; drug resistance

铜绿假单胞菌是一类广泛分布在自然界属于条件致病菌,是院内感染的常见致病菌。它可分布于人类呼吸道、皮肤表面等部位,一旦身体虚弱、抵抗力下降,其便可引发感染,并影响患者预后^[1]。铜绿假单胞菌对头孢菌素、头孢霉素类、克林霉素、达托霉素、夫西地酸、糖肽类、大环内酯类和利福平等抗生素存在天然耐药。因而临床上治疗铜绿假单胞菌药物受到了一定限制。铜绿假单胞菌在药物选择压力下不断进化,对多种常用抗生素产生不同程度耐受性,多重耐药菌和泛耐药菌检出率较高,从而给合理选择抗生素治疗带来挑战^[2-3]。2017年世界卫生组织将耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌纳入对人类健康构成最大威胁耐药菌之一^[4]。中国细菌耐药监测网于2019年发布的报告显示,我国铜绿假单胞菌分离率为12.0%(较上一年度下降0.4%),排名位于革兰阴性菌第三,耐药铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南的耐药率在2018年短暂上升,之后连续三年呈下降趋势^[5-6]。

铜绿假单胞菌的致病性和耐药性与多种因素有关。铜绿假单胞菌具有多种毒力因子,这些毒力因子给铜绿假单胞菌逃离宿主免疫和进一步侵袭宿主提供有利条件^[7]。其中铜绿假单胞菌分泌系统是重要的毒力因素之一,它可以使铜绿假单胞菌获取获取养分和向宿主分泌毒素。它在铜绿假单胞菌造成感染和致病的过程中发挥着重要作用^[8]。近年来随着研究的深入,Ⅲ型分泌系统(type III secretion system, T3SS)和Ⅵ型分泌系统(type VI secretion system, T6SS)备受关注^[9]。目前对T3SS的研究中以exoS、exoT、exoU和exoY为主。exoS和exoT基因属于侵袭型基因,其引起症状较轻。exoU和exoY则属于细胞毒性基因。ExoU对宿主的细胞具有毒性作用,它的早期表达和分泌是铜绿假单胞菌引起急性重症感染的重要机制^[10]。T6SS能产生毒力蛋白并且促进铜绿假单胞菌生物被膜的形成,因而T6SS与铜绿假单胞菌的耐药性和致病性有着密切关系^[11-12]。

本次研究通过对本院门诊及住院患者临床信息及铜绿假单胞菌临床分布情况、耐药监测数据进行收集,同时采用PCR扩增T3SS和T6SS中的有关基因进行研究,旨在探索铜绿假单胞菌的毒力基因与耐药性的关系,为铜绿假单胞菌感染的控制和治理提供依据。

材料与方法

1 材料

1.1 菌株来源 以2022年本院门诊及住院患者送检的样本中分离而来的铜绿假单胞菌菌株作为研究对

象。同一患者同一样本分离的相同菌株则剔除研究。排除被污染,不合格的菌株。样本收集,菌株培养均符合《全国临床检验操作规程》中的相关要求。

1.2 仪器与试剂 MicroScan WalkAway-40全自动微生物鉴定系统,德国西门子;离心机,德国SIGMA公司;PTC-100 PCR仪和紫外凝胶成像仪,美国Bio-Rad公司。DNA Ladder Marker,美国Gibco公司;PCR反应试剂,宝生物工程(大连)有限公司。药敏纸片,北京天坛药物生物技术开发公司。

2 方法

2.1 菌株鉴定 用接种环挑选培养好的单个饱满菌落,进行分离纯化并采用革兰染色法进行初步菌种鉴定。然后采用全自动微生物鉴定系统进行再次鉴定,操作方法参照使用手册。

2.2 药敏试验 采用K-B纸片法检测铜绿假单胞菌对氨曲南、左旋氧氟沙星、环丙沙星、哌拉西林、头孢哌酮/舒巴坦、美罗培南、亚胺培南、头孢吡肟、头孢他啶、庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星和多粘菌素B的耐受性。质量控制标准参考2021年版美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准,根据“CHINET中国细菌耐药监测网”技术方案判读药敏试验结果,质控菌株:铜绿假单胞菌ATCC 27853。

2.3 菌株核酸提取 采用煮沸法提取铜绿假单胞菌DNA。用接种环挑选培养好的单个饱满菌落置入盛有500 μL去离子水的1.5 mL EP管中,2 000 r/min(离心半径15 cm)离心5 min,去上清。收集菌体,并置入盛有500 μL去离子水的1.5 mL EP管中,并放入100 °C水浴锅,水浴12 min。冷却15 min,然后4 °C 12 000 r/min(离心半径8.7 cm)离心10 min。采用移液枪分离上清置新EP管内,即为铜绿假单胞菌DNA。

2.4 PCR检测毒力基因 引物设计参照文献^[9]、文献^[13]和GenBank,并由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。反应体系:2 × Taq Master MIX 12.5 μL, 10 × PCR buffer 2.5 μL, dNTPs 4 μL, DNA模板液 4 μL, 上下游引物各 1 μL, ddH₂O 补足 50 μL。反应条件:95 °C 预变性 8 min; 95 °C 变性 40 s, 退火温度和时间见表1和表2, 72 °C 延伸 1 min, 循环 35 次; 72 °C 终延伸 10 min。采用移液枪依次将PCR扩增产物加入电泳胶孔槽中, 120 V 电泳 35 min, 置于紫外凝胶电泳成像仪观测结果。

表 1 T3SS 毒力基因 PCR 检测
Table 1 PCR detection of T3SS virulence gene

基因 Gene	引物序列 Primer sequence	退火温度 Annealing temperature	产物长度 (bp) Product length
exoS	F:TCAGGATACCCGGATCACTACGCGG R:TCAGGATACCCGGATCACTACGCGG	55 °C 40 s	586
exoT	F:AGAACCCGCTCTTCGCTGGCTGAGTT R:CAGCTCGCTCGCTTGCACAAGT	56 °C 40 s	348
exoU	F:CCTTAGCCATCTCAACGGTAGGTC R:GAGGCGAAGCTGGGGAGGTA	58 °C 30 s	136
exoY	F:CACCATCGTATCGACGCTCATC R:TTGCTCAGATGCTGCCACAC	56 °C 30 s	281
pscC	F:CATCTACCGCAGCAAACCTGA R:CAGGCTCTGGTTCGACAACT	55 °C 40 s	364

表 2 T6SS 毒力基因 PCR 检测
Table 2 PCR detection of T6SS virulence gene

基因 Gene	引物序列 Primer sequence	退火温度 Annealing temperature	产物长度 (bp) Product length
tssB1	F:AGTGCAGATCGAGTACGACG R:TCTTGCCGTCCATGTAAGGT	55 °C 40 s	362
tssB2	F:ATGGCCAAAGAAGGCTCGGT R:TCCTGCTTGCCAGGACCT	55 °C 40 s	209
tse1	F:AGGAGCTAGACGTAGTAG R:AGCTCGCTCGCTTGCACAAGT	55 °C 40 s	348
tse2	F:AGGAGCTAGACGTAGTAG R:AGGAGCTAGACGTAGTAG	58 °C 30 s	136
tse3	F:ATGGCCAAAGAAGGCTCGGT R:TCCTGCTTGCCAGGACCT	55 °C 40 s	364

2.5 统计学分析 采用 SPSS25 软件对毒力基因与多重耐药菌之间关系进行分析,计数资料以百分率表示,组间比较采用卡方检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 铜绿假单胞菌分布情况

2022 年度本院送检有效标本中分离出 272 株铜绿假单胞菌,其中痰液标本 213 份(78.31%)检出铜绿假单胞菌,尿液标本 15 份(5.15%)、血液标本 8 份(2.94%)、分泌物标本 22 份(8.09%)、穿刺液标本 8 份(2.94%)、其他标本 6 份(2.21%)检出铜绿假单胞菌。科室分布情况:呼吸内科检出 86 株(31.62%),ICU 检出 42 株(15.44%)、普外科检出 26 株(9.56%)、普内科检出 7 株(2.57%)、烧伤科检出 19 株(6.99%)、神经外科检出 12 株(4.41%)、神经内科 3 株(1.10%)、急诊科 11 株(4.04%)、泌尿科 16 株(5.88%)、内分泌 13 株(4.78%)、耳鼻喉 4 株(1.47%)、妇产科 7 株(2.57%)、儿科 5 株(1.84%)和其他科室 21 株(7.72%)。

2 铜绿假单胞菌耐药情况

本次研究中铜绿假单胞菌对临床常用的不同抗生

素产生了不同的耐受性,其中对喹诺酮类抗生素左旋氧氟沙星和环丙沙星耐药率分别为 41.18% 和 39.71%;对第四代头孢菌素头孢吡肟和第三代头孢菌素类头孢他啶耐药率分别为 20.22% 和 18.38%;对氨基糖苷类抗生素庆大霉素、妥布霉素和阿米卡星耐药率分别为 26.10%、23.90% 和 7.72%;对碳青霉烯类抗生素美罗培南和亚胺培南耐药率分别为 21.69% 和 18.75%;未检出多粘菌素 B 耐药株(表 3)。

3 不同标本间毒力基因分布

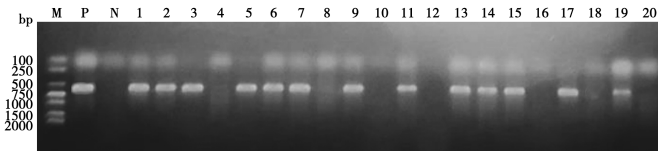
本次研究中携带 T3SS 毒力基因 *exoS*、*exoT*、*exoU*、*exoY* 和 *pscC* 铜绿假单胞菌株数依次为 205、245、78、170 和 191 株。其中 *exoT* 检出株数最多,而 *exoU* 检出株数最少。携带 T6SS 毒力基因 *tssB1*、*tssB2*、*tse1*、*tse2* 和 *tse3* 株数依次为 230、234、217、232 和 223 株(图 1)。T6SS 毒力基因中各基因检出相差不大,不同标本毒力基因检出率略有不同(表 4)。

表 3 铜绿假单胞菌对临床常用抗生素的药敏率
Table 3 Drug sensitivity rate of *P. aeruginosa* to commonly used clinical antibiotics

抗生素 Antibiotic	耐药 Drug resistance		中介 Drug intermediary		敏感 Drug sensitive	
	株数 Strains	耐药率(%) Drug resistance rate	株数 Strains	耐药率(%) Drug resistance rate	株数 Strains	耐药率(%) Drug resistance rate
氨曲南	95	34.93	51	18.75	126	46.32
左旋氧氟沙星	112	41.18	25	9.19	135	49.63
环丙沙星	108	39.71	28	10.29	136	50.00
哌拉西林	67	24.63	61	22.43	144	52.94
头孢哌酮/舒巴坦	86	31.62	57	20.96	129	47.43
美罗培南	59	21.69	11	4.04	202	74.26
亚胺培南	51	18.75	13	4.78	208	76.47
头孢吡肟	55	20.22	42	15.44	175	64.34
头孢他啶	50	18.38	39	14.34	183	67.28
庆大霉素	71	26.10	26	9.56	175	64.34
妥布霉素	65	23.90	8	2.94	199	73.16
阿米卡星	21	7.72	2	0.74	249	91.54
多粘菌素 B	0	0.00	1	0.37	271	99.63

表 4 不同标本见毒力基因分布[n, %]
Table 4 Distribution of virulence genes in different samples

项目 Item	痰液 Sputum	尿液 Urine	血液 Blood	分泌物 Secretion	穿刺液 Puncture fluid	其他 Others	合计 Total
<i>exoS</i>	162(76.06)	12(80.00)	6(75.00)	16(72.73)	5(62.50)	4(66.67)	205(75.37)
<i>exoT</i>	197(92.49)	14(93.33)	6(75.00)	19(86.36)	4(50.00)	5(83.33)	245(90.07)
<i>exoU</i>	62(29.11)	5(33.33)	2(25.00)	6(27.27)	1(12.50)	2(33.33)	78(28.68)
<i>exoY</i>	135(63.38)	9(60.00)	6(75.00)	12(54.55)	5(62.50)	3(50.00)	170(62.50)
<i>pscC</i>	151(70.89)	11(73.33)	5(62.50)	14(63.64)	6(75.00)	4(66.67)	191(70.22)
<i>tssB1</i>	183(85.92)	13(86.67)	7(87.50)	18(81.82)	4(50.00)	5(83.33)	230(84.56)
<i>tssB2</i>	189(88.73)	12(80.00)	6(75.00)	17(77.27)	6(75.00)	4(66.67)	234(86.03)
<i>tse1</i>	172(80.75)	12(80.00)	5(62.50)	19(86.36)	5(62.50)	4(66.67)	217(79.78)
<i>tse2</i>	191(89.67)	13(86.67)	4(50.00)	15(68.18)	4(50.00)	5(83.33)	232(85.29)
<i>tse3</i>	177(83.10)	13(86.67)	6(75.00)	17(77.27)	5(62.50)	5(83.33)	223(81.99)
合计 Total	213	15	8	22	8	6	272



M DNA 标记物 P 阳性对照 N 阴性对照 1~20 分离株

图 1 exoS 基因 PCR 扩增电泳图

M DNA Maker P Positive control N Negative control 1-20 Separated strains

Fig. 1 The PCR amplification electrophoresis of exoS gene

4 不同毒力基因与多重耐药菌的关系

多重耐药菌毒力基因 *exoS*、*exoU* 检出率为 85.07%、43.28%，非多重耐药株检出率为 72.20%、23.90%，差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 4.5120, 9.2738$ ，均 $P < 0.05$)；多重耐药菌毒力基因 *exoT*、*exoY*、*pscC*、*tssB1*、*tssB2*、*tse1*、*tse2* 和 *tse3* 检出率为 86.57%、70.15%、76.12%、85.07%、88.06%、82.09%、91.04% 和 86.57%，非多重耐药株各毒力基因检出率为 91.22%、60.00%、68.29%、84.39%、85.37%、79.02%、83.41% 和 80.49%，差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$) (表 5)。

表 5 不同菌株毒力基因分布
Table 5 Distribution of virulence genes of different strains

项目 Item	标本总数 Total number of specimens				χ^2	P	合计 Total
	多重耐药菌 (n=67) Multidrug resistant bacteria		非多重耐药株 (n=205) Non-multidrug resistant strain				
	株数 No.	%	株数 No.	%			
<i>exoS</i>	57	85.07	148	72.20	4.5120	0.0337	205
<i>exoT</i>	58	86.57	187	91.22	1.2224	0.2689	245
<i>exoU</i>	29	43.28	49	23.90	9.2738	0.0023	78
<i>exoY</i>	47	70.15	123	60.00	2.2193	0.1363	170
<i>pscC</i>	51	76.12	140	68.29	1.4792	0.2239	191
<i>tssB1</i>	57	85.07	173	84.39	0.0181	0.8929	230
<i>tssB2</i>	59	88.06	175	85.37	0.3049	0.5808	234
<i>tse1</i>	55	82.09	162	79.02	0.2941	0.5876	217
<i>tse2</i>	61	91.04	171	83.41	2.3438	0.1258	232
<i>tse3</i>	58	86.57	165	80.49	1.2636	0.2610	223

讨论

本次研究分离出 272 株铜绿假单胞菌，其中痰液标本数量最多，共 218 份检出铜绿假单胞菌，表明呼吸道是铜绿假单胞菌定植和感染的高风险部位，也提示了排痰不畅、呼吸道痰液淤积后形成的气道微环境更有利于铜绿假单胞菌定植。铜绿假单胞菌对环境适应性强，广泛存在于医院内病房、空调系统、医疗设备和器械表面等，而患者体质虚弱易发感染。因此，慢性阻塞性肺疾病、支气管扩张等存在排痰不畅的患者即为

铜绿假单胞菌定植和感染的危险人群，临床工作中应更佳注重对该类人群的护理，注意排痰，定期送检痰液标本，从而早发现早治疗，提高患者临床疗效。院内科室分布情况中呼吸内科占比最高，共检出 86 株 (31.62%) 铜绿假单胞菌，其次是 ICU、普外科和烧伤科。呼吸内科、ICU、普外科和烧伤科中铜绿假单胞菌分布最多，其共同点为这些科室患者病情较重、住院时间较长、气管插管以及呼吸机辅助通气的应用频率较高、广谱抗生素应用较多同时应用时间较长，这些因素的共同作用导致了患者气道黏膜完整性破坏，为病菌入侵提供了通道，同时免疫功能较弱也导致了病菌易在患者体内定植，引发感染，严重者甚至有发生败血症的风险^[14]。

本次研究铜绿假单胞菌对不同抗生素均产生了不同程度耐受性，其中对喹诺酮类左氧氟沙星和环丙沙星耐药率较高。由于铜绿假单胞菌对多种临床常用抗生素天然耐药，因而治疗和控制铜绿假单胞菌感染的药物具有一定局限性。目前常见治疗药物的有喹诺酮类抗生素、氨基糖苷类抗生素、头孢菌素类抗生素、碳青霉烯类抗生素以及多粘菌素类抗生素等。不同地区的铜绿假单胞菌对这些抗生素的耐受性存在一定差异。其耐药机制较为复杂，如铜绿假单胞菌的外膜通透性相较于其他细菌更低，仅一部分相对分子量较小抗生素可通过，使得对部分抗生素天然耐药。同时，它可产生 β -内酰胺酶、氨基糖苷修饰酶、乙酰转移酶等对抗菌药物进行修饰和水解，从而抗生素失效^[15-16]。多粘菌素是一类脂肽类抗生素，由多黏芽孢杆菌产生，其抑菌效果通过作用与革兰阴性菌的脂多糖并改变细菌外膜渗透性实现^[17]。临床常见的多粘菌素类抗生素为多粘菌素 B，在本次研究中显示对于铜绿假单胞菌的耐药率达到了 0%，具有较高的敏感性，但其存在一定的神经毒性和肾毒性，不适用于临床应用，但也有研究^[26]报道多粘菌素联合美罗培南治疗有助于革兰阴性菌感染转归，同时直到患者治愈也未出现肾毒性迹象，这一报道对未来多粘菌素治疗铜绿假单胞菌感染的临床应用提供了一个新的研究思路。

铜绿假单胞菌的分泌系统是近年来的研究热点，它们在铜绿假单胞菌对人体的入侵和持续感染中起着重要作用。同时，也有研究发现这些毒力因子与铜绿假单胞菌的耐药有着一定联系，且不同铜绿假单胞菌携带的毒力基因存在一定差异。本次研究中对 T3SS 和 T6SS 中各选出的 5 个常见毒力基因进行研究，结果显示 *exoT* 检出率最高，其次是 *tssB2* 和 *tse2*，*exoU* 检出率最低。在多耐药菌和非多耐药菌中 *exoS* 和 *exoU* 组间差异明显。方雪瑶等^[18]研究认为发现携带 *exoU* 基因铜绿假单胞菌对亚胺培南和氟喹诺酮类抗

菌药物的耐药率显著高于 *exoS* 基因。鞠晓红等^[19] 研究显示老年组 *ecoS*+/*ecoU*+ 阳性率、*exoS* 和 *ecoU* 的总阳性率均高于非老年组, *ecoS*+/*ecoU*+ 组对亚胺培南和左氧氟沙星耐药率明显高于其他基因型。周蓓蓓等^[9] 研究中对 T3SS 和 T6SS 中的毒力基因进行了检测, 并对每个基因型铜绿假单胞菌的耐药程度进行对比, 结果显示痰液和血液来源铜绿假单胞菌 T3SS 毒力基因 *ecoU* 携带率和对亚胺培南的耐药率存在明显差异。目前铜绿假单胞菌的耐药机制尚不完全清楚, 它对多种抗生素天然耐药, 且易形成生物膜使得临床治疗棘手。在本次研究中发现 *exoS* 和 *exoU* 阳性率在多耐药菌和非多耐药菌存在差异, 提示在临床治疗时检出铜绿假单胞菌携带 *ecoS* 和 *ecoU* 基因时, 该菌株对亚胺培南、氟喹诺酮类耐受性较强。

【参考文献】

[1] Kumarage J, Khonyongwa K, Khan A, et al. Transmission of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* between twoflexible ureteroscopes and an outbreak of urinary tract infection: the fragility of endoscope decontamination [J]. JHospInfect, 2019, 102(1): 89-94.

[2] Catho G, Martischang R, Boroli F, et al. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM carbapenemase in an intensive care unit and its termination by implementation of waterless patient care[J]. Crit Care, 2021, 25(1): 301.

[3] Campana EH, Xavier DE, Petrolini FV, et al. Carbapenem-resistant and cephalosporin - susceptible: A worrisome phenotype among *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Brazil[J]. Braz J Infect Dis, 2017, 21(1): 57-62.

[4] World Health Organization. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed [EB/OL]. (2017-02-17).

[5] 国家卫生健康委合理用药专家委员会. 2019 年全国细菌耐药监测报告[J]. 中国合理用药探索, 2021, 18(3): 1-11.

[6] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2021 年 CHINET 中国细菌耐药监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(5): 521-530.

[7] Teiji S, Masaru S, Kiyoshi M, et al. Association between *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion, antibiotic

resistance, and clinical outcome: a review [J]. Critical Care, 2014, 18(6): 668-678.

[8] Sawa T, Hamaoka S, Kinoshita M, et al. *Pseudomonas aeruginosa* type III secretory toxin *exoU* and its predicted homologues [J]. Toxins, 2016, 8(11): 307.

[9] 周蓓蓓, 王凌波, 张秀彩, 等. 铜绿假单胞菌 T3SS 和 T6SS 的基因分布特性及与耐药的相关性 [J]. 温州医科大学学报, 2022, 52(12): 981-986.

[10] 蒋月婷, 欧阳浩新, 吴爱武, 等. 多重耐药铜绿假单胞菌毒力基因与耐药的相关性 [J]. 热带医学杂志, 2016, 16(5): 604-607.

[11] Allsopp LP, Wood TE, Howard SA, et al. RsmA and AmrZ orchestrate the assembly of all three type VI secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2017(114): 7707-7712.

[12] Cho HH, Kwon KC, Kim S, et al. Correlation between virulence genotype and fluoroquinolone resistance in Carbapenem Resistant *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Ann Lab Med, 2014, 34(4): 286-292.

[13] 朱健铭, 翁幸璧, 姜如金, 等. 铜绿假单胞菌临床分离株毒力基因分子流行病学研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(19): 2315-2320.

[14] Pachori P, Gothwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit: a critical review [J]. Genes & diseases, 2019, 6(2): 109-119.

[15] Siriyong T, Murray RM, Bidgood LE, et al. Dual β -Lactam combination therapy for multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection: Enhanced efficacy *in vivo* and comparison with monotherapies of penicillin-binding protein inhibition [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 9098-9110.

[16] Logan LK, Gandra S, Mandal S, et al. Multidrug- and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in children, United States, 1999-2012 [J]. J Pediatric Infect Dis Soc, 2017, 6(4): 352-359.

[17] Huang T, Zeng M, Fu H, et al. A novel antibiotic combination of linezolid and polymyxin B octapeptide PBOP against clinical *Pseudomonas aeruginosa* strains [J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2022, 21(1): 1-11.

[18] 方雪瑶, 胡龙华, 杭亚平, 等. 铜绿假单胞菌 III 型分泌系统相关毒力基因在抗菌药物中表达差异的研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(12): 1390-1393.

[19] 鞠晓红, 李瑶, 王月华, 等. 铜绿假单胞菌毒力基因 *exoS*、*exoU* 临床分布及耐药性研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(1): 48-51.

【收稿日期】 2022-11-12 【修回日期】 2023-02-05



(上接 569 页)

[7] Bothuyn-Queste E, Hannebicque-Montaigne K, Canis F, et al. Is the bacterial vaginosis risk factor of prematurity? Study of a cohort of 1336 patients in the hospital of Arras [J]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris), 2017, 41(3): 262-270.

[8] United States Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guideline [S]. MMWR, 2021, 70(4): 65-70.

[9] Africa CW, Nel J, Stemmet M. Anaerobes and bacterial vaginosis in pregnancy: virulence factors contributing to vaginal colonisation [J]. Int Environ Res Public Health, 2017, 11(7): 6979-7000.

[10] 江飞云. 细菌性阴道病与自发性早产的相关性分析 [D]. 皖南医学院, 2021.

[11] 张华杰, 丁森, 何宏舸. 细菌性阴道病菌群特点及感染因素分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(8): 968-971.

[12] 孔丽君, 张莉, 李光辉. 妊娠期细菌性阴道病与围产结局的关系 [J]. 新乡医学院学报, 2015, 32(3): 262-264.

[13] Doerflinger SY, Throop AL, Herbst-Kralovetz MM. Bacteria in the vaginal microbiome alter the innate immune response and barrier properties of the human vaginal epithelia in a species-specific manner [J]. J Infect Dis, 2014, 209(12): 1989-1999.

[14] 王西叶, 蒋益炯, 金晶, 等. 孕 28 周后妊娠合并细菌性阴道病发病分析及对妊娠结局的影响 [J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(14): 3277-3280.

【收稿日期】 2022-12-08 【修回日期】 2023-02-20