

DOI:10.13350/j.cjpb.220415

• 临床研究 •

医院铜绿假单胞菌感染分布及耐药机制研究*

朱雄林¹,冯显红¹,杨梅^{2**},章革民¹,姚广冰¹

(1.湖北省武汉市新洲区人民医院,湖北武汉 430400;2 武汉市新洲区妇幼保健院)

【摘要】 **目的** 研究铜绿假单胞菌感染分布,对临床常用抗生素耐药情况和流行特点,为铜绿假单胞菌感染的控制和
治疗提供依据。 **方法** 收集住院患者临床标本中分离出铜绿假单胞菌,采用 K-B 纸片扩散法测定铜绿假单胞
菌对临床常用抗生素耐受水平。采用 eCIM 试验检测产碳青霉烯酶菌。采用 PCR 技术检测耐药基因和毒力基因。 **结
果** 分离出 84 株铜绿假单胞菌,其中 24 株产碳青霉烯酶。耳鼻喉、ICU、普内科、心血管内科、感染内科、消化内科、综合
内科、中西医结合科、儿一科、儿二科、普外科、骨一科、脑外科、泌尿肛肠科分别检出铜绿假单胞菌株数为:1、23、5、3、9、
14、2、4、7、5、1、2、7 和 1 株。24 株产酶株中有 16 株来自 ICU。碳青霉烯耐药铜绿假单胞菌对哌拉西林、庆大霉素、妥布
霉素、头孢他啶、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、左氧氟沙星、氨基曲南、环丙沙星、阿米卡星、头孢吡肟、亚胺培南、
美罗培南、替卡西林/棒酸、多粘菌素 B 和诺氟沙星耐药率分别为 100.00%、87.50%、87.50%、100.00%、45.83%、
45.83%、79.17%、100.00%、79.17%、50.00%、100.00%、100.00%、100.00%、66.67%、12.50% 和 75.00%。24 株碳青
霉烯耐药株中共计检出 17 株 IMP 阳性,15 株 VIM 阳性,7 株 SPM 阳性,2 株 GIM 阳性,7 株 OprD2 基因缺失,6 株
KPC 阳性。24 株碳青霉烯耐药株中共计检出 24 株 plcH 阳性,24 株 aprA 阳性,24 株 algD 阳性,17 株 exoS 阳性,11 株
exoT 阳性,3 株 exoU 阳性,17 株 exoY 阳性,10 株 pys 阳性和 3 株 oacIR 阳性。 **结论** 铜绿假单胞菌主要分离自
ICU,产酶率最高。IMP 型和 VIM 型是本次研究中检出最多的耐药基因型。

【关键词】 铜绿假单胞菌;感染分布;耐药机制**【中图分类号】** R378**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1673-5234(2022)04-0446-05***

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Apr;17(4):446-450.]

Study on infection distribution and drug resistance mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalZHU Xiong-lin¹, FENG Xian-hong¹, YANG Mei², ZHANG Ge-min¹, YAO Guang-bing¹ (1. Xinzhou
District People's Hospital, Wuhan 430400, China; 2. Wuhan Xinzhou District Maternal and Child Health Care Hospital)

【Abstract】 **Objective** To study the distribution of *P. aeruginosa* infection, drug resistance to common clinical antibi-
otics and epidemic characteristics, so as to provide basis for the control and treatment of *P. aeruginosa* infection. Method
P. aeruginosa was isolated from clinical specimens of hospitalized patients and identified by automatic bacterial identifica-
tion instrument. K-B disk diffusion method was used to determine the tolerance of *P. aeruginosa* to common clinical anti-
biotics. The carbapenemase producing bacteria were detected by eCIM test, PCR was used to detect drug resistance genes
and virulence genes. Result 84 strains of *P. aeruginosa* were isolated, of which 24 strains produced carbapenemase. The
number of *Pseudomonas aeruginosa* strains detected in Otolaryngology, ICU, general medicine, cardiovascular medicine,
Infectious Medicine, Gastroenterology, general internal medicine, Department of integrated traditional Chinese and Western
medicine, Department of Pediatrics, Department of Pediatrics, Department of Pediatrics, Department of general surgery,
Department of orthopedics, Department of brain surgery and Department of Urology, anorectal medicine were 1, 23, 5, 3,
9, 14, 2, 4, 7, 5, 1, 2, 7 and 1 respectively. 16 of the 24 enzyme producing strains were from ICU. The resistance rates of
carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* to piperacillin, gentamicin, tobramycin, ceftazidime, piperacillin/tazobac-
tam, cefoperazone/sulbactam, levofloxacin, aztreonam, ciprofloxacin, amikacin, cefepime, imipenem, meropenem, ticarcillin/
clavulanic acid, polymyxin B and norfloxacin were 100.00%, 87.50%, 87.50%, 100.00%, 45.83%, 45.83%, 79.17%,
100.00%, 79.17%, 50.00%, 100.00%, 100.00%, 100.00%, 66.67%, 12.50% and 75.00%. Detection of drug resistance
genes; among the 24 carbapenem resistant strains, 17 strains were IMP positive, 15 strains were VIM positive, 7 strains
were SPM positive, 2 strains were GIM positive, OprD2 gene were not detected in 7 strains and 6 strains were KPC posi-
tive. Among the 24 carbapenem resistant strains, 24 strains were plcH positive, 24 strains were aprA positive, 24 strains
were algD positive, 17 strains were exoS positive, 11 strains were exoT positive, 3 strains were exoU positive, 17 strains

* **【基金项目】** 武汉市卫生和计划生育委员会科研项目(No. WX17C28)。** **【通讯作者】** 杨 梅, E-mail: yexiyou285ecv@163.com**【作者简介】** 朱雄林(1978-),男,湖北武汉人,本科,主治医师。研究方向:感染性疾病诊断与治疗。E-mail: zhiwo7253bloi@163.com

were *exoY* positive, 10 strains were *pys* positive and 3 strains were *oacR* positive. **Conclusion** *P. aeruginosa* isolated from ICU was the most detected, and the enzyme production rate was the highest. IMP and VIM were the most resistant genotypes detected in this study.

【Key words】 *Pseudomonas aeruginosa*; infection distribution; drug resistance mechanism

铜绿假单胞菌(PA)又称为绿脓杆菌,属于革兰阴性杆菌,潮湿的环境是它存在重要的条件,广泛分布在自然界中的水、空气和土壤中,还定植在人类的皮肤表面、消化道和呼吸道等部位。PA是条件致病菌,易引发体质虚弱、抵抗力差的患者感染,如老年患者、术后患者。PA具有易定植和耐药机制复杂等特点。它可以引起人体多部位感染,如消化道、呼吸道、尿路感染、肺部、心脏瓣膜和手术部位感染,甚至引起血流感染。PA是临床常见致病菌,它引发的感染位居导致院内感染的革兰阴性菌前列,并呈上升趋势,已成为重点防控的病原菌之一。临床上治疗时多采用抗生素,随着广谱类抗生素的使用,使得PA对多种抗生素产生耐受性^[1-2]。多重耐药和泛耐药铜绿假单胞菌的出现使得临床治疗难度增加。碳青霉烯类抗生素一度是治疗多重耐药和泛耐药PA的主要手段,但是产碳青霉烯酶铜绿假单胞菌的出现使得治疗更加棘手。PA的致病性与它携带的毒力基因的种类和数量有关^[3]。本次研究对临床分离的PA的耐药性、耐药基因和毒力基因三个方面进行研究,为PA感染的控制和治疗提供依据。

材料与方 法

1 临床资料

收集住院患者临床标本中分离出铜绿假单胞菌共149株。同一病例同一部位取首株,剔除重复毒株。所有菌株均经革兰染色法检验,并经法国梅里埃ATB Expression自动细菌鉴定仪鉴定为PA。

2 仪器与试剂

ATB Expression自动细菌鉴定仪,法国梅里埃;3K15冷冻离心机,德国SIGMA公司;S1000 PCR扩增仪、Sub Cell GT电泳仪、chemiDoc XRS+凝胶成像分析系统,美国伯乐(Bio-Rad);恒温水平摇床,美国赛默飞世尔;低温冰箱,青岛海尔。Mueller-Hinton(MH)琼脂培养基、肉汤培养基和药敏纸片,英国OXOID公司;PA DNA提取试剂盒,德国QIAGEN公司;Taq DNA酶、MgCl₂、dNTPs、10×PCRbuffer,上海生工技术服务公司。

3 方 法

3.1 标本采集及培养 标本采集和培养参照《全国临床检验操作规程》,收集患者痰液、腹水、尿液、血液和伤口分泌物标本并培养鉴定。

3.2 药敏试验 采用K-B纸片扩散法测定

PA对哌拉西林、庆大霉素、妥布霉素、头孢他啶、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、左氧氟沙星、氨曲南、环丙沙星、阿米卡星、头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南、替卡西林/棒酸、多粘菌素B和诺氟沙星的耐受性,判读标准参照美国临床实验室标准化协会制定的2020版试验标准(CLSI 2020)。

3.3 eCIM 试验检测产碳青霉烯酶菌 选取平板上培养新鲜饱满的细菌10 μl菌落于TSB肉汤中,振荡混匀10~15 s,将含10 μg美罗培南药敏纸片侵入于菌悬液中,大气环境中35±2℃中培养4 h±15 min。生理盐水制备0.5麦氏浊度的大肠埃希菌ATCC 25922(美罗培南敏感株)菌悬液,用棉拭子沾取菌液并挤掉多余菌液,均匀涂布整个MH培养基表面。将美罗培南纸片从TSB肉汤中取出,并挤压去多余水分,然后将美罗培南纸片取出贴于已涂布有大肠埃希菌ATCC 25922的MH平板上。干燥10 min后,倒置平板,35℃恒温培养18 h~24 h,用游标卡尺量取抑菌圈直径。阳性判读标准:美罗培南抑菌圈直径为6-15 mm或直径为16-18 mm但抑菌圈内有散在菌落。(若待测株产生碳青霉烯酶,纸片中的美罗培南被该酶降解,结果为无抑菌圈或抑制大肠埃希菌ATCC 25922的活性降低,摘自CLSI 2020标准)

3.4 DNA模板制备 采用煮沸法提取细菌DNA,选取培养好的饱满菌落3~5个,放入到含600 μl ddH₂O的1.5 ml EP管中,振荡混匀。100℃水浴8 min,10 000 r/min(离心半径10.5 cm)离心10 min,取上清液,-20℃保存备用。

3.5 产碳青霉烯酶PA耐药基因检测 本次研究对临床常见的耐药力基因进行检测,引物设计参照GenBank和相关文献。PCR反应体系共50 μl:Taq DNA酶12.5 μl,MgCl₂ 2 μl,dNTPs 4 μl,上下游引物各1 μl,DNA模板液5 μl,10×Taq PCR buffer 5 μl,ddH₂O 19.5 μl。PCR反应条件:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,退火条件参照表1时间45 s,72℃延伸40 s,循环35次;72℃终延伸10 min,4℃保存。

3.6 产碳青霉烯酶铜绿假单胞菌毒力基因检测 对临床常见的9种毒力基因进行检测,引物设计参照GenBank和相关文献,见表2。PCR反应体系同方法3.5。PCR反应条件:95℃预变性5 min;95℃变性5 min 30 s,55℃退火30 s,72℃延伸40 s,循环35次;72℃终延伸10 min,4℃保存。取2 μl PCR产物经

1.5%琼脂糖凝胶电泳,EB染色25 min后,采用凝胶成像分析系统对扩增特异性亮带进行拍照和分析。

表1 铜绿假单胞菌耐药基因引物序列
Table 1 Primer sequence of drug resistance gene of *P. aeruginosa*

基因名称 Gene name	引物序列(5'-3') Primer sequence	退火温度(°C) Annealing temperature	产物长度(bp) Product length	参考文献 Reference
IMP	TGAGCAAGTTATCTGTATTC TTAGTTGCTTGGTTTGTATG	57	740	[4]
IMP1	ATGAGCAAGTTATCTGTATT TTAGTTGCTTGGTTTGTATG	57	860	[4]
IMP2	ATGAAGAAATATTTTGT TAGTACTTGGCTGTGATG	59	720	[4]
VIM	TTATGGAGCAGCAACGATGT CGAATGCGCAGCACCAGG	57	780	[4]
VIM1	TTATGGAGCAGCAACCGATGT CAAAAGTCCCGCTCCAACGA	59	920	[5]
VIM2	AAAGTTATGCCGCACTCACC TGCAACTTCATGTTATGCCG	57	865	[5]
SPM	CCTACAATCTAACGGCGAC TCGCCGTGTCAGGTATAAC	57	380	[4]
GIM	AACCTTGACCGAACGCGAG CTCATGACTCCTCAGGAG	57	450	[4]
OrpD2	GCGCATCTCCAAGACCATG GCCACGCGATTTGACGGAG	56	193	[5]
KPC	GTCTAGTCTGCTGTCTTG CTTGTCATCTTGTAGGCG	56	920	[2]

表2 铜绿假单胞菌毒力基因引物序列
Table 2 The primer sequence of *P. aeruginosa* virulence gene

基因名称 Gene name	引物序列(5'-3') Primer sequence	产物长度(bp) Product length	参考文献 Reference
plcH	P1:ATGACCGAAAACCTGGAAATCCCGC P2:TGGTTCTGCGAACTACCCAC	359	[6]
aprA	P1:ATGTCCAGCAATCTCTTGCATTG P2:GGCGTGAACCTGCCCAGCGA	288	[6]
algD	P1:ATGCGAATCAGCATCTTTGGTTTG P2:GCCAGGTCCAGGTCCCGCT	291	[6]
exoS	P1:TCAGCGGCAATCTACTACTTTCCGCC P2:GCCAGGGTTCGTGATGCTCCCGG	572	[7]
exoT	P1:TCAGCAGAACCCGCTCTTTCGT P2:GCCAGGCGCGTGTGATCCTTC	407	[6]
exoU	P1:CCGTGCGCAGCAGCGCCGGAAGTTC P2:GAACGCGCGCGGCTCATTGTTGA	428	[7]
exoY	P1:ACCATGCGTATCGACGGTCATC P2:TTGCTGAGATGCTGGTCGACAC	281	[6]
pys	P1:TGCCGTTACGACTCAGGAGTG P2:GTTCTGGCTTCCTGGAGGGGT	231	[6]
oacLR	P1:ATGAGTGGGTTGTGGTCCCTG P2:AGTCTCTTCGACTGGAGATT	240	[6]

结果

1 铜绿假单胞菌在临床各科室中的分布

本研究共分离出84株PA,其中24株产碳青霉烯

酶铜绿假单胞菌(Carbapenem-resistant *P. aeruginosa*, CRPA),占28.57%。其中ICU分离出PA和CR-PA均最多,分别为23和16株,其中产碳青霉烯酶菌占69.57%。耳鼻喉科、消化内科、消化内科、中西医结合科、普外科、骨一科和泌尿肛肠科均检出PA,未检出CRPA(表3)。

表3 铜绿假单胞菌在临床各科室中的分布
Table 3 The Distribution of *P. aeruginosa* in clinical departments

科室 Department	PA	CRPA	CRPA比例(%) CRPA ratio
耳鼻喉	1	0	0.00
ICU	23	16	69.57
普内科	5	2	40.00
心血管内科	3	1	33.33
感染内科	9	1	11.11
消化内科	14	0	0.00
综合内科	2	0	0.00
中西医结合科	4	0	0.00
儿一科	7	1	14.29
儿二科	5	1	20.00
普外科	1	0	0.00
骨一科	2	0	0.00
脑外科	7	2	28.57
泌尿肛肠科	1	0	0.00
合计 Total	84	24	28.57

2 药敏试验

本次研究中将碳青霉烯耐药铜绿假单胞菌和碳青霉烯敏感株对临床常用抗生素分开进行药敏试验。碳青霉烯耐药铜绿假单胞菌对哌拉西林、庆大霉素、妥布霉素、头孢他啶、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、左氧氟沙星、氨曲南、环丙沙星、阿米卡星、头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南、替卡西林/棒酸、多粘菌素B和诺氟沙星耐药株数分别为:24、21、21、24、11、11、19、24、19、12、24、24、24、16、3和18株,耐药率分别为:100.00%、87.50%、87.50%、100.00%、45.83%、45.83%、79.17%、100.00%、79.17%、50.00%、100.00%、100.00%、100.00%、66.67%、12.50%和75.00%。碳青霉烯敏感铜绿假单胞菌对上述抗生素耐药率分别为:36.67%、31.67%、30.00%、20.00%、11.67%、11.67%、30.00%、28.33%、26.67%、11.67%、16.67%、0.00%、0.00%、8.33%、1.67%和28.33%。碳青霉烯耐药铜绿假单胞菌对多种抗生素呈高度耐药,而碳青霉烯敏感株对抗生素对多数抗生素耐药程度较低,这与PA极易产生耐药性有关。PA引起的感染在用任何抗生素治疗期间,3~4 d内可变为耐药。

3 耐药基因检测结果

24株碳青霉烯耐药株中,共计检出17株IMP阳性,15株VIM阳性,7株SPM阳性,2株GIM阳性,7

株 OprD2 基因缺失,6 株 KPC 阳性。其中 IMP 阳性菌株中有 11 株 IMP1 型,3 株 IMP2 型,3 株未分型。VIM 阳性菌株中有 4 株 VIM1 型,6 株 VIM2 型,5 株未分型(图 1)。

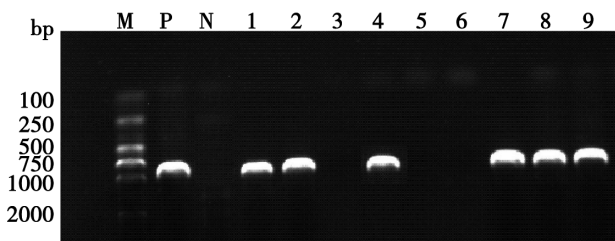


图 1 铜绿假单胞菌 IMP1 PCR 电泳图
Fig. 1 The PCR electrophoresis of *P. aeruginosa* IMP1

4 毒力基因检测结果

24 株碳青霉烯耐药株耐药基因检出情况:24 株 plcH 阳性,24 株 aprA 阳性,24 株 algD 阳性,17 株 exoS 阳性,11 株 exoT 阳性,3 株 exoU 阳性,17 株 exoY 阳性,10 株 pys 阳性和 3 株 oacLR 阳性。

讨论

铜绿假单胞菌对外界条件具有高度适应性、产毒性和侵入性。有研究显示 PA 特别容易在烧伤创口形成生物膜,一旦形成,就很难清除^[8]。它在肺部感染中能够引起 80% 囊性纤维化患者呼吸系统问题^[9]。PA 是院内感染的主要致病菌,体质虚弱的患者,老年患者和术后患者极易发生感染^[10]。日本学者在 2006 年研究中发现 PA 对氟喹诺酮类、氨基糖苷类和 β 内酰胺类抗生素分别达到 17.8%~18.1%,3.8%~7.7% 和 10.6%~18.2%,而近 10 年的报告中 PA 对氟喹诺酮类、氨基糖苷类和 β 内酰胺类抗生素的耐药性与之前相比呈上升趋势^[11-12]。目前碳青霉烯类抗生素是治疗 PA 引起感染的有效药物,特别是治疗多重耐药铜绿假单胞菌。临床常用碳青霉烯类抗生素有美罗培南、亚安培南和帕尼培南等,其中亚安培南一度是革兰阴性菌耐药率最低的药物。但是,随着碳青霉烯类抗生素临床上的广泛使用,PA 对亚安培南等抗生素的耐药性呈上升趋势,同时对碳青霉烯类抗生素耐药的 PA 常常对多种抗生素具有耐受性,甚至发展成为泛耐药菌^[12]。2015 年一份调查显示产碳青霉烯酶铜绿假单胞菌为 8.7%~50.4%^[11]。本次研究中 84 株 PA 共计分离出 24 株产碳青霉烯酶菌株,分离率 28.57%。其中 ICU 分离出 PA 和产碳青霉烯酶铜绿假单胞菌均最多,分别为 23 株和 16 株,其中产碳青霉烯酶菌占 69.57%。耳鼻喉科、消化内科、消化内科、中西医结合科、普外科、骨一科和泌尿肛肠科均检出

PA,未检出产碳青霉烯酶铜绿假单胞菌。ICU 分离出产碳青霉烯酶铜绿假单胞菌比例最高,可能与 ICU 患者体质虚弱,治疗时间长有关。来自西班牙的一份研究显示 PA 在院内感染中约占有所有感染的 10.5%,其中 ICU 的感染率较高^[13]。

铜绿假单胞菌耐药机制复杂多样,它可以通过获得耐药基因,抗生素作用靶位基因突变,细胞膜通透性下降,外排泵机制和产酶水解抗生素等方式产生对抗生素耐受性^[14-15]。本次研究中选用了治疗 PA 的临床常用抗生素。其中哌拉西林、庆大霉素、妥布霉素和头孢他啶是 A 组首选药,哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦(舒普深)、左氧氟沙星、氨曲南、环丙沙星、阿米卡星、头孢吡肟(马思平)、亚胺培南(泰能)和美罗培南是 B 组首选药,替卡西林/棒酸和多粘菌素 B 是 C 组替代药,诺氟沙星则是 U 组用药。用药规则上若 A 组敏感,则优先选用。若 A 组耐药或不能用时,则选用 B 组。C 组为替代药,首选药耐药或不能用时,替代使用。U 组仅用于治疗泌尿系感染。研究中碳青霉烯耐药铜绿假单胞菌仅对多粘菌素 B 耐药率较低,而碳青霉烯敏感株对除哌拉西林以外所有抗生素耐药率均低于 30%。金属 β -内酰胺酶(MBLs)是 PA 常见的碳青霉烯酶,能够水解除氨曲南以外所有 β 内酰胺酶类抗生素。IMP 型和 VIM 型是 MBLs 中最常见的基因型,其中 VIM 型最早发现于意大利,2003 年在我国上海地区发现一株携带 VIM 型基因的 PA。本次研究中检出了 IMP 型、VIM 型、SPM 型和 KPC 型基因,其中 IMP 型和 VIM 型最多。OprD2 是一种底物特异性蛋白,它能够促使碳青霉烯类抗生素、肽类和氨基酸进入到 PA 细胞中。OprD2 缺失可以降低碳青霉烯类药物进入细胞中,从而抑制药物发挥作用。研究中有 7 株 OprD2 基因缺失,缺失率为 29.17%,这可能促使了菌株对碳青霉烯类抗生素耐药。磷脂酶 C 能够分解细胞膜上的磷脂,并生成某种活性物质。PA 具有多个产磷脂酶 C 相关的编码基因。溶血磷脂酶 C (Hemolytic phospholipase C, PLCH, 约 78 ku) 由 plcH 基因编码,它能够分解宿主细胞膜。藻酸盐是 PA 生物膜胞外多聚基质的主要成分具有抗吞噬作用,algD 基因表达产物参与藻酸盐的生物合成。PA 螯铁蛋白能够与宿主细胞竞争铁离子,它的合成与 pys 基因表达密切相关。oacLR 能够表达一种内毒素,破坏宿主细胞。PA III 型分泌系统(T3SS),在 PA 感染过程中起着至关重要的作用。exoU、exoS、exoT、exoY 基因均表达胞外酶通过 T3SS 进入宿主细胞,促进炎性介质释放、引起细胞骨架重排、导致细胞坏死凋亡,同时它降低宿主机体免疫力、增强细菌侵袭力、抵抗吞噬细胞吞噬,使得 PA 感染加重。本次研究中产

碳青霉烯类均携带了 *plcH*、*aprA*、*algD* 编码基因,这与朱健铭等^[6] 研究结果相近。而 *exoU*、*exoS*、*exoT*、*exoY* 检出率与朱健铭,方雪瑶和鞠晓红等研究有一定差异^[6-7,16],这可能与不同地域有关。

【参考文献】

[1] Luciana CC,Stephanie GC,Natacha M, et al. Mechanisms of carbapenem resistance in endemic *Pseudomonas aeruginosa* isolates after an SPM-1 metallo-β-lactamase producing strain subsided in an intensive care unit of a teaching hospital in Brazil[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016, 111(9): 551-558.

[2] 李小菊. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌感染危险因素、耐药分析及分子流行病学研究[D]. 南昌大学, 2019.

[3] Rangel SM, Logan LK, Hauser AR. The ADP-ribosyltransferase domain of the effector protein *exoS* inhibits phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa* during pneumonia[J]. MBio, 2014, 5(3): 1014-1080.

[4] 张若文. 烧伤病房耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌耐药机制及分子流行病学研究[D]. 吉林大学, 2012.

[5] 杨春. 耐碳青霉烯类抗菌药物肠杆菌科细菌耐药机制研究[D]. 吉林大学, 2016.

[6] 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.

[7] 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.

[8] Thi MTT, Wibowo D, Rehm BHA. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8671.

[9] Firoz A, Haris M, Hussain K, et al. Can targeting iron help in combating chronic pseudomonas infection? a systematic review [J]. Cureus, 2021, 13(3): e13716.

[10] Yusuf E, Van Herendael B, Verbrugge W, et al. Emergence of antimicrobial resistance to *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit: association with the duration of antibiotic exposure and mode of administration [J]. Ann Intensive Care, 2017, 7(1): 72.

[11] Mensa J, Barberan J, Soriano A, et al. Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by *Pseudomonas aeruginosa*: guidelines by the Spanish Society of Chemotherapy [J]. Rev Esp Quimioter, 2018, 31(1): 78-100.

[12] Abdallah M, Badawi M, Amirah MF, et al. Impact of carbapenem restriction on the antimicrobial susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in the ICU [J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72(11): 3187-3190.

[13] Liu Q, Li X, Li W, et al. Influence of carbapenem resistance on mortality of patients with *Pseudomonas aeruginosa* infection: a meta-analysis [J]. Sci Rep, 2015(5): 11715.

[14] Rossi Goncalves I, Dantas RCC, Ferreira ML, et al. Carbapenem-resistant, *Pseudomonas aeruginosa*: association with virulence genes and biofilm formation [J]. Braz J Microbiol, 2017, 48(2): 211-217.

[15] Hong DJ, Bae IK, Jang IH, et al. Epidemiology and characteristics of metallo β-lactamase-producing, *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Infect Chemother, 2015, 47(2): 81-97.

[16] 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】 2022-01-19 【修回日期】 2022-03-16

(上接 445 页)

使得空气中有害病毒大量集聚与传播^[11]。检测猪 PRV-gB 抗体阳性率为 82.50%,但是这并不代表猪对于此类病毒的抵抗率高。

2012 年我国颁布的动物疾病预防相关规划中指出,截止到 2022 年,全部养猪场都需要完成伪狂犬病的净化,净化率要达到国家标准^[12-13]。重庆市猪伪狂犬病流行严重,如何进行猪伪狂犬病的预防和净化成为一项重点工作^[14]。一般情况下,免疫是进行疾病预防和净化的有效手段和措施^[15],因此需要积极确立科学合理的免疫方案和政策,及时进行免疫检测和验证,积极选择合理的生物安全措施进行疾病防控,做好日常清洁和消毒,注重养猪场的日常管理,严格把关,争取到 2022 年实现国家的净化要求。

【参考文献】

[1] 陈驰,曹明珠,吕林,等. 2018-2019 年苏豫赣三省猪伪狂犬病病毒野毒抗体流行病学调查[J]. 畜牧与兽医, 2020, 52(1): 122-124.

[2] 孙颖,陈焕春,吴斌,等. 2018 年伪狂犬病病毒的流行特征及其遗传变异分析[J]. 畜牧兽医学报, 2020, 51(3): 584-593.

[3] 朱小甫,吴旭锦. 2013 年-2017 年陕西省猪伪狂犬病病毒分子流行病学调查与 gE 基因序列变异分析[J]. 动物医学进展, 2019, 40(2): 22-27.

[4] 宁慧波,李聪,张婷婷,等. 2016-2018 年我国规模化猪场伪狂犬病病毒感染的血清学及传播风险因素调查[J]. 畜牧与兽医, 2020, 416

(3): 103-112.

[5] 高建鹏,蒲敬伟,武磊,等. 北疆某规模化猪场伪狂犬病野毒感染的净化[J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(12): 47-49.

[6] 杨源,王军,张云丹,等. 2017-2018 年贵州省 9 个规模化养猪场主要疾病免疫效果评估[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019, 26(8): 94-97.

[7] 高许雷,郑辉,邹敏,等. 2012~2017 年我国部分地区规模化猪场 PRV 野毒流行病学调查[J]. 中国动物传染病学报, 2020, 133(1): 91-94.

[8] 段群棚,陈忠伟,何颖,等. 2014-2018 年广西 6 种猪主要病毒性繁殖障碍疫病流行病学调查[J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(2): 526-535.

[9] 蔡桂全,陶建平. 武汉地区猪场中 5 种病毒性疾病的病原检测与分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2020, 1(7): 107-110.

[10] 张树金,曾昊,于江,等. 2015-2017 年山东地区 CSFV, PRRSV 和 PRV 的流行病学调查与分析[J]. 中国兽医学报, 2019, 31(7): 1064-1069.

[11] 李海琴,康昭风,谭美芳,等. 江西省猪伪狂犬病原流行病学调查及其 gB、gE 及 TK 基因遗传变异分析[J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(2): 132-139.

[12] 胡玲玲,汤德元,曾智勇,等. 贵州省猪伪狂犬病的分子流行病学调查及变异分析[J]. 中国兽医学报, 2019, 39(8): 1448-1452.

[13] 翁珊珊,张文宏. 人感染伪狂犬病病毒(猪疱疹病毒 1 型)研究进展[J]. 传染病信息, 2019, 32(1): 26-29.

[14] 肖丽,丛锋,刘向楠,等. 猪伪狂犬病病毒和猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体同步检测的液相芯片技术[J]. 动物医学进展, 2018, 39(4): 36-39.

[15] 华利忠,刘剑锋,冯志新,等. 猪伪狂犬病病毒新流行变异毒株的研究进展[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(2): 476-480.

【收稿日期】 2021-11-17 【修回日期】 2022-02-16