

DOI:10.13350/j.cjpb.241211

• 论著 •

铜绿假单胞菌的耐药性及毒力基因研究

任志芳^{1*}, 朱岩坤², 梁会娟³

(1. 濮阳医学高等专科学校, 河南濮阳 457000; 2. 河南省疾病预防控制中心; 3. 新乡医学院第三附属医院)

【摘要】 目的 探讨铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)的耐药性及其毒力基因的分布特征,为临床合理使用抗生素和开发新型抗菌药物提供理论依据。方法 选取新乡医学院第三附属医院临床送检的316株PA菌株,纸片扩散法(Kirby-Bauer method)进行抗生素敏感性测试。利用PCR技术检测毒力基因 $exoS$ 、 $exoU$ 的携带情况。结果 316株PA菌株中,95株为黏液型(30.06%),221株为非黏液型(69.94%)。黏液型PA中,67株来自痰液(70.53%),14株来自创面分泌物(14.74%),9株来自中段尿(9.47%),5株来自血液(5.26%)。非黏液型PA中,170株来自痰液(76.92%),22株来自创面分泌物(9.95%),13株来自中段尿(5.88%),16株来自血液(7.24%)。黏液型PA中,34株来自呼吸科(35.79%),12株来自烧伤科(12.63%),20株来自ICU(21.05%),4株来源于神经内科(4.21%),4株来源于肿瘤科(4.21%),3株来源于血液科(3.16%),其他科室18株(18.95%)。非黏液型PA中,110株来自呼吸科(49.77%),33株来自烧伤科(14.93%),22株来自ICU(9.95%),21株来源于神经内科(9.50%),13株来源于肿瘤科(5.88%),11株来源于血液科(4.98%)其他科室11株(4.98%)。呼吸科、ICU、其他科室构成比差异有统计学意义($P < 0.05$)。黏液型PA对美罗培南、亚胺培南、阿米卡星的耐药性低于10%,而对头孢他啶的耐药性超过30%。此外,尚未发现对多粘菌素B产生耐药性的菌株。对于非黏液型PA,其对美罗培南、亚胺培南的耐药性同样低于10%,但对头孢他啶、左氧氟沙星、环丙沙星、庆大霉素的耐药性超过30%,同样未出现对多粘菌素B耐药的菌株。在不同分型的铜绿假单胞菌菌株中,对美罗培南、亚胺培南、庆大霉素、阿米卡星的耐药性差异有统计学意义($P < 0.05$),而对哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、左氧氟沙星、环丙沙星的耐药性差异无统计学意义($P > 0.05$)。在黏液型PA中,75株携带毒力基因,占比达到78.95%。29株菌体携带($exoU+$ / $exoS-$)基因型,占30.53%,而46株菌体携带($exoU-$ / $exoS+$)基因型,占48.42%。另外,有20株菌体未检出毒力基因,占21.05%。在非黏液型PA中,213株携带毒力基因,占比高达96.38%。其中,88株菌体携带($exoU+$ / $exoS-$)基因型,占39.82%,125株菌体携带($exoU-$ / $exoS+$)基因型,占56.56%。未检出毒力基因的菌体有8株,占3.62%。对比不同分型的铜绿假单胞菌菌株,毒力基因携带率差异有统计学意义($P < 0.05$)。($exoU+$ / $exoS-$)基因型与($exoU-$ / $exoS+$)基因型之间的携带率差异无统计学意义($P > 0.05$)。 $exoU+$ 组($n=117$)与 $exoU-$ 组($n=199$)菌株在对哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南、亚胺培南、左氧氟沙星、环丙沙星、阿米卡星的耐药率差异有统计学意义($P < 0.05$),而在对头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素的耐药率差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 PA菌株以非黏液型为主,主要分离自呼吸科,不同分型PA菌株对临床常见抗菌药物的耐药率存在一定差异性,非黏液型PA菌株毒力基因携带率较高。携带 $exoU$ 毒力基因的PA菌株对临床常用抗菌药物的耐药率高于不携带 $exoU$ 毒力基因的菌株。

【关键词】 铜绿假单胞菌;耐药性;毒力基因

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)12-1447-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2024 Dec.;19(12):1447-1451.]

Study on drug resistance and virulence genes of *Pseudomonas aeruginosa*

REN Zhifang¹, ZHU Yankun², LIANG Huijuan³ (1. Puyang Medical College, Puyang 457000, Henan, China; 2. Henan Provincial Center for Disease Control and Prevention; 3. The Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University)*

【Abstract】 **Objective** To explore the drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* (PA) and the distribution characteristics of its virulence genes, so as to provide a theoretical basis for the rational use of antibiotics in clinical practice and the development of new antibacterial drugs. **Methods** 316 strains of PA from different departments and sources of specimens submitted for clinical examination in the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College were selected. Antibiotic susceptibility testing was performed by the Kirby-Bauer method. The carrying status of virulence genes $exoS$ and $exoU$ was detected by PCR technology. **Results** Among the 316 strains of PA, 95 strains were mucoid (30.06%), and 221 strains were non-mucoid (69.94%). Among mucoid PA, 67 strains were from sputum (70.53%), 14 strains were from wound secretions (14.74%), 9 strains were from midstream urine (9.47%), and 5 strains were from blood (5.26%). Among non-mucoid PA, 170 strains were from sputum (76.92%), 22 strains were from wound secretions

* **【通讯作者(简介)】** 任志芳(1987-),女,河南卫辉人,硕士,讲师,研究方向:微生物学。E-mail: rzf2024@163.com

(9.95%), 13 strains were from midstream urine (5.88%), and 16 strains were from blood (7.24%). Among mucoid PA, 34 strains were from the respiratory department (35.79%), 12 strains were from the burn department (12.63%), 20 strains were from the ICU (21.05%), 4 strains were from the neurology department (4.21%), 4 strains were from the oncology department (4.21%), and 3 strains were from the hematology department (3.16%). and 18 strains were from other departments (18.95%). Among non-mucoid PA, 110 strains were from the respiratory department (49.77%), 33 strains were from the burn department (14.93%), 22 strains were from the ICU (9.95%), 21 strains were from the neurology department (9.50%), 13 strains were from the oncology department (5.88%), and 11 strains are from the hematology department (4.98%) and 11 strains were from other departments (4.98%). There were significant differences in the composition ratios of the respiratory department, ICU, and other departments ($P < 0.05$). For mucoid PA, the drug resistance to meropenem, imipenem, and amikacin was lower than 10%, while the drug resistance to ceftazidime exceeds 30%. In addition, no strain resistant to polymyxin B had been found. For non-mucoid PA, its drug resistance to meropenem and imipenem was also lower than 10%, but the drug resistance to ceftazidime, levofloxacin, ciprofloxacin, and gentamicin exceeds 30%. Similarly, no strain was resistant to polymyxin B appears. Among different types of PA strains, the differences in drug resistance to meropenem, imipenem, gentamicin, and amikacin were statistically significant ($P < 0.05$), while the differences in drug resistance to piperacillin/tazobactam, ceftazidime, cefepime, levofloxacin, and ciprofloxacin were not statistically significant ($P > 0.05$). In mucoid PA, 75 strains carried virulence genes, accounting for 78.95%. 29 strains carried the (*exoU*+/*exoS*-) genotype, accounting for 30.53%, while 46 strains carried the (*exoU*-/*exoS*+) genotype, accounting for 48.42%. In addition, 20 strains did not detect virulence genes, accounting for 21.05%. In non-mucoid PA, 213 strains carried virulence genes, accounting for as high as 96.38%. Among them, 88 strains carried the (*exoU*+/*exoS*-) genotype, accounting for 39.82%, and 125 strains carried the (*exoU*-/*exoS*+) genotype, accounting for 56.56%. There were 8 strains without virulence genes detected, accounting for 3.62%. Comparing different types of PA strains, the difference in virulence gene carriage rate was statistically significant ($P < 0.05$). The difference in carriage rate between the (*exoU*+/*exoS*-) genotype and the (*exoU*-/*exoS*+) genotype was not statistically significant ($P > 0.05$). There were significant differences in the drug resistance rates of strains in the *exoU*+ group ($n=117$) and the *exoU*- group ($n=199$) to piperacillin/tazobactam, meropenem, imipenem, levofloxacin, ciprofloxacin, and amikacin ($P < 0.05$), while there was no significant difference in the drug resistance rates to ceftazidime, cefepime, and gentamicin ($P > 0.05$). **Conclusion** PA strains were mainly non-mucoid, and which were mainly isolated from the respiratory department. Different types of PA strains had certain differences in the drug resistance rates to common clinical antibacterial drugs. The non-mucoid PA strains had a higher carrying rate of virulence genes. The drug resistance rate of PA strains carrying the *exoU* virulence gene to commonly used clinical antibacterial drugs was higher than that of strains not carrying the *exoU* virulence gene.

【Keywords】 *Pseudomonas aeruginosa*; drug resistance; virulence genes

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)是一种广泛存在于自然环境及人体皮肤表面的革兰阴性条件致病菌,常见于烧伤或创伤部位、中耳道、角膜、尿道以及呼吸道,感染的患者往往面临抗生素治疗周期长、治疗难度大的挑战^[1]。随着广谱抗菌药物的广泛使用,该菌的耐药性显著增加,多重耐药菌株的检出率逐年上升,已经成为临床抗感染治疗中的一大难题^[2-3]。相关流行病学研究结果表明,在疾病治疗过程中,由PA产生的耐药性引起的并发症已被证实会导致住院时间和患者护理总成本翻倍^[4-5]。

近年来,研究揭示了Ⅲ型分泌系统(Type III Secretion System, T3SS)是PA感染的关键致病机制,PA利用T3SS将效应蛋白直接注入宿主细胞内,从而改变宿主细胞的肌动蛋白骨架动力学,并干扰宿主细胞的信号传导,最终导致宿主细胞的死亡^[6]。PA的T3SS分泌四种已知的效应蛋白,这些蛋白也被称为

毒力因子:胞外酶U(Extracellular Enzyme U, ExoU)、胞外酶S(Extracellular Enzyme S, ExoS)、胞外酶T(Extracellular Enzyme T, ExoT)和胞外酶Y(Extracellular Enzyme Y, ExoY)^[7-8]。这些编码效应蛋白的基因在PA菌株中的分布并不均匀。大多数菌株都携带*exoT*和*exoY*基因,但*exoT*和*exoY*对毒力的影响相对较小,而*exoS*和*exoU*在PA的致病机制中扮演着至关重要的角色^[9]。为了提高医院抗菌治疗效果和指导临床合理使用抗菌药物,本次研究对临床分离的316株PA菌株的耐药性及毒力基因进行分析研究,结果报告如下。

材料与方法

1 菌株来源

选取新乡医学院第三附属医院临床送检标本中分离出的PA菌株共316株,剔除同一患者相同部位的

重复菌株。

2 菌株鉴定及药敏试验

临床送检痰液标本接种于血琼脂平板、麦康凯平板以及含有万古霉素的巧克力平板上,并进行分区划线。尿液、分泌物、脓液和胸腹水等样本则接种到血琼脂平板和麦康凯平板上,同样进行分区划线培养。血液样本首先进行增菌处理,随后转种至血琼脂平板上进行分区划线。所有平板均放置于 35 °C 的恒温恒湿培养箱中,培养 18~24 h,以观察琼脂平板表面的菌落特征,包括大小、形状、边缘、透明度和颜色等。黏液型菌落指在血平板上于 35 °C 孵育 18~24 h 后生长出的无色透明、水滴状、边缘不规则的小菌落。在 48 h 内,这些菌落可能发展成大而融合、黏稠、胶冻状的菌落,溶血现象时有时无。使用接种环难以挑起这些菌落,不具备上述特征的则被判定为非黏液型菌株。在质量控制方面,采用 ATCC27853 作为阳性对照菌株。使用 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析仪进行细菌鉴定,并采用 35 °C 条件下孵育 24 h 的血 M-H 平板,采用 K-B 纸片扩散法执行体外药物敏感性测试。药敏测试结果的解释将依据 2023 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)发布的相关指南进行。

3 *exoS*、*exoU* 毒力基因检测

3.1 DNA 模板提取 使用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(天根)从临床菌株中提取 DNA。取 1 mL 细菌培养液离心,去上清,加缓冲液 GA 悬浮细菌。加入 GB 振荡后水浴,加无水乙醇混匀。将液体离心后加 GD 缓冲液再离心。加 PW 漂洗液两次离心后晾干。将吸附柱移至新离心管,加 TE 缓冲液静置后离心收集 DNA。确保 DNA 浓度和纯度,-20 °C 保存。

3.2 PCR 扩增 *exoS*、*exoU* 毒力基因 引物根据参考文献[10]设计,由华大基因公司合成。反应体系包括 2 μL 的 DNA 模板,12.5 μL 的 PCR Master Mix,上下引物各 1 μL(浓度为 10 μmol),加入 8.5 μL 的 ddH₂O,补足至 25 μL。通过聚合酶链反应(PCR)对目标基因进行扩增,扩增条件如下:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,55 °C 退火 35 s,72 °C 延伸 1 min,共 35 个循环;72 °C 终延伸 5 min。为了防止假阳性和假阴性的出现,每个样本都进行了重复实验。

3.3 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳检测 使用电子天平称取 0.4 g 琼脂糖,与 20 mL 1×TBE 溶液混合后,微波炉加热至沸腾,重复加热 7~8 次使琼脂糖溶解。冷却至 60 °C 后加 1 μL 核酸染料并摇匀。倒入制胶器,插梳子,保证凝胶厚度 3~5 mm,室温凝固。取下梳子,将胶置于电泳槽中。取 4 μL PCR 产物和 4 μL Marker 点样,电泳电压先 120 V,后 80 V,条带至凝胶 2/3 时停止,用 BIO-RAD 系统拍照记录。

4 统计分析

使用 SPSS 26.0 对所有数据进行描述性统计分析,计算菌株的标本来源、科室分布及耐药率。采用卡方检验比较不同菌株标本来源、科室分布、耐药性及毒力基因之间的差异,分析毒力基因 *exoU* 表达与耐药率的关系, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 黏液型 PA 与非黏液型 PA 标本来源及科室分布

316 株 PA 菌株中,95 株为黏液型 PA(30.06%, 95/316),221 株为非黏液型 PA(69.94%, 221/316)。95 株黏液型 PA 中,67 株分离自痰液标本(70.53%, 67/95),14 株分离自创面分泌物(14.74%, 14/95),9 株分离自中段尿标本(9.47%, 9/95),5 株分离自血液标本(5.26%, 5/95)。221 株非黏液型 PA 中,170 株分离自痰液标本(76.92%, 170/221),22 株分离自创面分泌物(9.95%, 22/221),13 株分离自中段尿标本(5.88%, 13/221),16 株分离自血液标本(7.24%, 16/221)。不同分型 PA 菌株标本来源构成比差异无统计学意义($P > 0.05$)。95 株黏液型 PA 中,34 株来源于呼吸科(35.79%, 34/95),12 株来源于烧伤科(12.63%, 12/95),20 株来源于 ICU(21.05%, 20/95),4 株来源于神经内科(4.21%, 4/95),4 株来源于肿瘤科(4.21%, 4/95),3 株来源于血液科(3.16%, 3/95),18 株来源于其他科室(18.95%, 18/95)。221 株非黏液型 PA 中,110 株来源于呼吸科(49.77%, 110/221),33 株来源于烧伤科(14.93%, 33/221),22 株来源于 ICU(9.95%, 22/221),21 株来源于神经内科(9.50%, 21/221),13 株来源于肿瘤科(5.88%, 13/221),11 株来源于血液科(4.98%, 11/221),11 株来源于其他科室(4.98%, 11/221)。不同分型 PA 菌株标本来源于呼吸科、ICU、其他科室构成比差异有统计学意义($P < 0.05$),烧伤科、神经内科、肿瘤科、血液科构成比差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2 黏液型 PA 与非黏液型 PA 耐药率对比

药敏试验结果显示:黏液型 PA 对美罗培南、亚胺培南、阿米卡星的耐药率低于 10%,对头孢他啶的耐药率高于 30%,未产生对多粘菌素 B 的耐药株,非黏液型 PA 对美罗培南、亚胺培南的耐药率低于 10%,对头孢他啶、左氧氟沙星、环丙沙星、庆大霉素的耐药率高于 30%,未产生对多粘菌素 B 的耐药株。不同分型 PA 菌株对美罗培南、亚胺培南、庆大霉素、阿米卡星的耐药率差异有统计学意义($P < 0.05$),对哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、左氧氟沙星、环丙沙星的耐药率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表1 黏液型 PA 与非黏液型 PA 科室分布对比
Table 1 Comparison of department distribution between mucinous pa and non mucinous PA

临床科室 Clinical department	黏液型 PA (n=95)		非黏液型 PA (n=221)		χ^2	P
	Mucous PA		Non mucinous PA			
	株数 No.	构成比 (%) Ratio	株数 No.	构成比 (%) Ratio		
呼吸科	34	35.79	110	49.77	5.238	0.022
烧伤科	12	12.63	33	14.93	0.288	0.592
ICU	20	21.05	22	9.95	7.100	0.008
神经内科	4	4.21	21	9.50	2.554	0.110
肿瘤科	4	4.21	13	5.88	0.365	0.546
血液科	3	3.16	11	4.98	0.519	0.471
其他	18	18.95	11	4.98	15.557	0.000

表2 黏液型 PA 与非黏液型 PA 耐药率对比
Table 2 Comparison of drug resistance rates between mucinous PA and non mucinous PA

抗菌药物 Antibiotics	黏液型 PA (n=95)		非黏液型 PA (n=221)		χ^2	P
	Mucous PA		Non mucinous PA			
	耐药株 Drug-resistant strain	耐药率 Rate (%)	耐药株 Drug-resistant strain	耐药率 Rate (%)		
	株数 No.	构成比 (%) Ratio	株数 No.	构成比 (%) Ratio		
哌拉西林/他唑巴坦	12	12.63	45	20.36	2.686	0.101
头孢他啶	30	31.58	81	36.65	0.750	0.386
头孢吡肟	20	21.05	60	27.15	1.306	0.253
美罗培南	3	3.16	22	9.95	4.213	0.040
亚胺培南	1	1.05	19	8.60	6.379	0.012
左氧氟沙星	28	29.47	88	39.82	3.061	0.080
环丙沙星	26	27.37	85	38.46	3.588	0.058
庆大霉素	10	10.53	102	46.15	36.858	0.000
阿米卡星	5	5.26	42	19.00	9.909	0.002
多粘菌素 B	0	0.00	0	0.00	-	-

3 黏液型 PA 与非黏液型 PA *exoS*、*exoU* 毒力基因携带情况

黏液型 PA 中,75 株携带毒力基因(78.95%,75/95),其中 29 株携带(*exoU*+/ *exoS*-)基因型(30.53%,29/95),46 株携带(*exoU*-/*exoS*+)基因型(48.42%,46/95),20 株未检出毒力基因(21.05%,20/95)。非黏液型 PA 中,213 株携带毒力基因(96.38%,213/221),其中 88 株携带(*exoU*+/ *exoS*-)基因型(39.82%,88/221),125 株携带(*exoU*-/*exoS*+)基因型(56.56%,125/221),8 株未检出毒力基因(3.62%,8/221)。不同分型 PA 菌株毒力基因携带率差异有统计学意义($\chi^2 = 25.002, P < 0.05$),(*exoU*+/ *exoS*-)基因型、(*exoU*-/*exoS*+)基因型携带率差异无统计学意义($P > 0.05$)。

4 毒力基因 *exoU* 表达与耐药率分析

316 株 PA 菌株,按照是否携带 *exoU*,分为 *exoU* 十组($n = 117$),*exoU*-组($n = 199$)。两组菌株对哌拉

西林/他唑巴坦、美罗培南、亚胺培南、左氧氟沙星、环丙沙星、阿米卡星的耐药率差异有统计学意义($P < 0.05$),对头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素的耐药率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表3 毒力基因 *exoU* 表达与耐药率分析
Table 3 Expression of virulence gene *exoU* and analysis of drug resistance rate

抗菌药物 Antibiotics	<i>exoU</i> +(n=117)		<i>exoU</i> -(n=199)		χ^2	P
	耐药株 Drug-resistant strain	耐药率 Rate (%)	耐药株 Drug-resistant strain	耐药率 Rate (%)		
哌拉西林/他唑巴坦	35	29.91	22	11.06	17.726	0.000
头孢他啶	47	40.17	64	32.16	2.075	0.150
头孢吡肟	35	29.91	45	22.61	2.078	0.149
美罗培南	15	12.82	10	5.03	6.146	0.013
亚胺培南	13	11.11	7	3.52	7.166	0.007
左氧氟沙星	65	55.56	51	25.63	28.404	0.000
环丙沙星	57	48.72	54	27.14	15.061	0.000
庆大霉素	43	36.75	69	34.67	0.139	0.709
阿米卡星	29	24.79	18	9.05	14.419	0.000
多粘菌素 B	0	0.00	0	0.00		

讨论

PA 可分为黏液型和非黏液型两大类,特别是黏液型 PA,它能够分泌一种类似荚膜的物质^[11]。本次研究,316 株 PA 菌株中,95 株为黏液型(30.06%),221 株为非黏液型(69.94%)。黏液型 PA 主要来源于痰液(70.53%),创面分泌物(14.74%),中段尿(9.47%)和血液(5.26%)。非黏液型 PA 来源相似,但比例略有不同。不同分型 PA 菌株标本来源构成比无显著差异($P > 0.05$)。在科室分布上,黏液型 PA 主要来自呼吸科(35.79%),ICU(21.05%)和其他科室(18.95%)。非黏液型 PA 主要来自呼吸科(49.77%),烧伤科(14.93%)和 ICU(9.95%)。呼吸科、ICU 和其他科室的构成比差异显著($P < 0.05$),而烧伤科、神经内科、肿瘤科和血液科无显著差异($P > 0.05$)。近年来,有关黏液型 PA 感染的病例报告数量显著上升。特别是在呼吸内科等关键科室,黏液型 PA 更容易导致患者出现囊性肺纤维化、慢性支气管炎以及支气管扩张并发感染等症状,因此,临床和实验室工作人员应当给予足够的关注。

本次研究发现,黏液型 PA 对美罗培南、亚胺培南、阿米卡星耐药率 $< 10\%$,对头孢他啶耐药率 $> 30\%$,未对多粘菌素 B 耐药。非黏液型 PA 对美罗培南、亚胺培南耐药率 $< 10\%$,对头孢他啶、左氧氟沙星、环丙沙星、庆大霉素耐药率 $> 30\%$,未对多粘菌素 B 耐药。不同分型 PA 对美罗培南、亚胺培南、庆大霉素、阿米卡星耐药率对比有显著差异($P < 0.05$),对哌

拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、左氧氟沙星、环丙沙星耐药率对比无显著差异($P>0.05$)。在本研究中,我们发现黏液型铜绿假单胞菌(PA)对多种抗菌药物的耐药性普遍低于非黏液型PA。这一发现与临床应用中的效果存在差异。分析原因可能在于本次实验采用的是体外药敏试验,该试验仅能评估浮游状态下的细菌,因此无法充分反映由生物膜介导的耐药性^[12]。黏液型PA分泌的多糖藻酸盐形成的生物被膜具有强大的渗透屏障作用,能够减少抗菌药物的穿透,降低药物浓度,从而导致一定程度的耐药性^[13-15]。因此,在治疗黏液型铜绿假单胞菌感染时,应考虑采取措施去除由藻酸盐构成的生物被膜。

PA的T3SS分泌系统释放四种主要的毒力蛋白:*exoY*能够破坏内皮细胞的完整性,*exoS*能够干扰肌动蛋白细胞骨架的重组,*exoT*能够抑制中性粒细胞的功能,而*exoU*则能够破坏宿主细胞的细胞膜^[16]。这些毒力因子的共同作用显著提高了患者遭受致命性感染的风险。其中,*exoS*和*exoU*的临床意义尤为关键,PA通常以*exoU*-/*exoS* +的侵袭型和*exoU* +/*exoS*-的细胞毒型形式存在。本次研究中,黏液型PA中,75株(78.95%)携带毒力基因,其中29株(30.53%)为(*exoU* +/*exoS*-)基因型,46株(48.42%)为(*exoU*-/*exoS* +)基因型,20株未检出(21.05%)。非黏液型PA中,213株(96.38%)携带毒力基因,其中88株(39.82%)为(*exoU* +/*exoS*-)基因型,125株(56.56%)为(*exoU*-/*exoS* +)基因型,8株未检出(3.62%)。分型PA菌株毒力基因携带率对比差异显著($P<0.05$),但基因型携带率对比无显著差异($P>0.05$)。与朱柏珍等^[17]研究结果相近。

*exoU*展现出强大的磷脂酶活性,能够引发上皮细胞、巨噬细胞以及中性粒细胞的迅速裂解和细胞坏死^[18]。本次研究进一步分析毒力基因*exoU*的表达与耐药率的关系,可以发现携带*exoU*基因的PA菌株对多种抗生素的耐药率显著高于不携带*exoU*基因的菌株。这表明*exoU*基因的表达可能与细菌的耐药性增强有关。深入了解毒力基因与耐药性之间的联系,对于指导临床合理用药和开发新的治疗策略具有重要意义。例如,通过靶向细菌的毒力因子、利用噬菌体来消灭细菌,以及操纵微生物以对抗感染,或者采用酶活性抑制剂等方法,可以有效减少药物抗性的产生^[19-20]。因此,在临床治疗中,了解PA菌株是否携带*exoU*基因可能有助于指导抗生素的选择和治疗方案的制定。

综上所述,黏液型PA与非黏液型PA在耐药率和毒力基因携带情况上存在显著差异。同时,毒力基因*exoU*的表达与耐药率的关联为临床治疗提供了新的思路,未来的研究应进一步探讨*exoU*基因表达与

耐药性之间的具体机制,以便更好地控制PA感染。同时,应关注新型抗菌药物的研发,特别是针对黏液型PA菌株的治疗策略,以应对日益严峻的耐药性问题。通过多学科合作,结合临床、实验室和流行病学研究,可为PA感染防控和治疗提供全面和有效的策略。

【参考文献】

- [1] Thi MTT, Wibowo D, Rehm BHA. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22):8671-8672.
- [2] Newman JW, Floyd RV, Fothergill JL. The contribution of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors and host factors in the establishment of urinary tract infections [J]. FEMS Microbiol Lett, 2017, 364(15):124.
- [3] 陈惠刚, 李桂艳, 马微. 老年下呼吸道感染铜绿假单胞菌的病原学特征分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2024, 19(1):74-78.
- [4] Dimatac EL, Alejandria MM, Montalban C, et al. Clinical outcomes and costs of care of antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections[J]. Philipp J Microbiol Infect Dis, 2017, 32(1):159-167.
- [5] 袁果, 程苗, 杨杰. 铜绿假单胞菌分泌系统毒力基因携带及耐药性研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(5):570-574.
- [6] Cornelis, & R. Guy. The type III secretion injectisome[J]. Nat Rev Microbiol, 2016, 4(11):811-825.
- [7] Howell HA, Logan LK, Hauser AR. Type III secretion of ExoU is critical during early *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia[J]. Mbio, 2018, 4(2):49-52.
- [8] 杜峰, 谭文彬. 铜绿假单胞菌耐药机制的研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(10):1231-1234, 封3.
- [9] Bradbury RS, Roddam LF, Merritt A, et al. Virulence gene distribution in clinical, nosocomial and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Med Microbiol, 2020, 59(8):881-890.
- [10] Park MH, Kim SY, Roh EY, et al. Difference of type 3 secretion system (T3SS) effector gene genotypes (*exoU* and *exoS*) and its implication to antibiotics resistances in isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from chronic otitis media[J]. Auris Nasus Larynx, 2017, 44(3):258-265.
- [11] 许政衡, 黄勇, 柯海霞, 等. 呼吸道分泌物分离黏液型铜绿假单胞菌IMP, TEM基因携带情况及毒力特征[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(1):1-5.
- [12] 钟为群, 曾艳. 黏液型和非黏液型铜绿假单胞菌的分布及其对16种抗菌药物的耐药性分析[J]. 抗感染药学, 2018, 15(6):945.
- [13] 刘景武, 付素兰, 张蕊, 等. 2015年-2016年分离的黏液型铜绿假单胞菌与非黏液型铜绿假单胞菌耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, (22):3327-3328.
- [14] 赵育林, 鲍亚玲, 于美荣, 等. 医院铜绿假单胞菌分布及耐药性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(1):82-85.
- [15] 崔国艳, 李壮, 崔佳, 等. 铜绿假单胞菌丙酮代谢关键酶基因的克隆表达及生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(5):547-551, 556.
- [16] 孙慕溱, 曹梅, 张龙, 等. 铜绿假单胞菌毒力基因与耐药性关系分析[J]. 包头医学院学报, 2022, 38(5):5-9.
- [17] 朱柏珍, 李小燕, 方容. 黏液型铜绿假单胞菌毒力基因*exoS*、*exoU*检测及耐药性分析[J]. 今日药学, 2019, 29(10):687-690.
- [18] Ramirez JC, Fleiszig SM, Sullivan AB, et al. Traversal of multilayered corneal epithelia by cytotoxic *Pseudomonas aeruginosa* requires the phospholipase domain of *exoU* [J]. Invest Ophthalmol Visual Sci, 2019, 53(1):448-453.
- [19] 孙倩楠. 新疆地区铜绿假单胞菌III型分泌系统毒力基因研究[D]. 新疆医科大学, 2019.
- [20] 孙慕溱. 铜绿假单胞菌毒力因子与耐药性关系[D]. 安徽理工大学, 2021.