

铜绿假单胞菌耐药机制及中医药治疗研究进展

丁雪霏¹ 丁军颖^{2,3} 赵京霞^{1,2,3} 郭玉红^{1,3,4} 刘清泉^{1,2,3,4}

(1 首都医科大学附属北京中医医院, 北京, 100010; 2 北京市中医研究所, 北京, 100010; 3 中医感染性疾病基础研究北京市重点实验室, 北京, 100010; 4 北京中医医院顺义医院, 北京, 101300)

摘要 随着抗生素的不规范使用, 近年细菌耐药率越来越高。临床尤以感染性疾病的多见病原菌——铜绿假单胞菌最为突出, 不仅是临床急危重症的棘手问题, 也是国际医学界的难题和焦点。为此, 作者综述了近5年来铜绿假单胞菌耐药机制研究进展, 并对 β -内酰胺酶、主动外排系统、密度感应系统等主要耐药机制着力阐述, 进而阐释相关的中医药治疗措施, 以期在抗生素治疗无效时探索中医药治疗思路提供依据。

关键词 铜绿假单胞菌; β -内酰胺酶; 主动外排系统; 密度感应系统; 中医药

Research Progress on Resistance Mechanisms of *Pseudomonas Aeruginosa* and Treatment from Traditional Chinese Medicine

Ding Xuefei¹, Ding Junying^{2,3}, Zhao Jingxia^{1,2,3}, Guo Yuhong^{1,3,4}, Liu Qingquan^{1,2,3,4}

(1 *Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Capital Medical University, Beijing, 100010, China*; 2 *Beijing Research Institute of TCM, Beijing, 100010, China*; 3 *Beijing Key Laboratory of Basic Study on TCM Infection Disease, Beijing, 100010, China*; 4 *Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine Shunyi branch, Beijing 101300, China*)

Abstract As the unreasonable application of antibiotics, the bacterial resistance rate is getting higher and higher, especially the *pseudomonas aeruginosa*, which was the main pathogenic bacteria in infectious diseases, and this was not only the difficult problem of clinical acute and severe diseases but also the trouble and focus internationally. Therefore, the resistant mechanism research progress of *pseudomonas aeruginosa* in the recent five years were reviewed. The main resistant mechanism of beta lactamase, active efflux system and quorum sensing system were focused on, and the relevant Traditional Chinese Medicine treatment were detailed, in order to provide a basis for exploring the Traditional Chinese Medicine treatment when antibiotic treatment has no efficacy.

Key Words *Pseudomonas Aeruginosa*; Beta Lactamase; Active Efflux System; Quorum Sensing System; Traditional Chinese Medicine

中图分类号: R378.99 + 1 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2016.10.004

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas Aeruginosa*, PA)属假单胞菌属, 革兰氏阴性杆菌, 是医院感染的主要条件致病菌, 能引起各种感染性疾病, 是临床常见致病菌。2014年CHINET细菌耐药监测数据显示, 该菌在临床感染致病菌的检出率居第四位。近年, 由于抗菌药物的不规范使用, 其耐药率逐年递增, 多药耐药数量和耐药率也逐年攀升, 成为临床治疗的难题, 尤其为急危重症的治疗带来了极大困扰。PA已逐渐成为院内感染多重耐药的代表性革兰氏阴性菌, 耐药机制尤其复杂。

1 铜绿假单胞菌耐药机制

1.1 获得性耐药 PA能够通过整合子、转座子等可移动遗传单位获得外源耐药基因, 并整合到自己的染色体中进行转录, 从而获得耐药。整合子在整

合酶催化作用下将游离耐药基因盒整合到59 bp特异性识别位点上, 特异性整合的耐药基因盒可被自由整合或切除, 非特异性整合则不可。国内外多项研究表明, I类整合子最常见, II、III类整合子比较少见。I类整合子中研究最多的为磺胺类耐药基因dfrAs, 是最常见的基因盒, 其次为氨基糖苷类耐药基因aadA, β -内酰胺类耐药基因等其他基因盒检出率很低^[1-2]。同时, I类整合子的3个开放阅读框中溴乙锭耐药基因(qacE Δ 1)与磺胺耐药基因(sulI)检出率很高, 可作为I类整合子的标志基因^[3]。整合子能够在同类生物中水平转移, 且自然转换可以促进其不同物种之间转移^[4], 加之人类不断发现新的基因盒, 表明整合子可以通过其基因的灵活性和多样性适应环境, 广泛传播, 成为多重耐药菌迅速发展

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81373813; 81503399)

作者简介: 丁雪霏, 在读研究生, 研究方向: 耐药菌感染, 单位: 首都医科大学附属北京中医医院, 邮编: 100010

通信作者: 丁军颖, E-mail: 18211197728@126.com; 刘清泉, E-mail: liuqingquan2003@126.com, 电话: (010) 52176965, 首都医科大学附属北京中医医院, 邮编: 100010

的重要原因。

1.2 固有耐药 PA 通过灭活酶、膜通透性下降、主动外排系统过度表达、药物作用的靶位改变、产生生物膜及密度感应系统等机制对抗菌药物产生耐药。

1.2.1 产生灭活酶 PA 可产生 β -内酰胺酶、氨基糖苷类修饰酶、氯霉素乙酰转移酶等,其中 β -内酰胺酶可使 β -内酰胺类抗生素分子开环失活,是主要的耐药机制。 β -内酰胺酶主要包括 C 类头孢菌素酶(AmpC)、超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamases, ESBLs) 和金属酶(metallo- β -lactamase, MBL)等。

1.2.1.1 β -内酰胺酶 1) ESBLs: ESBLs 是一类由质粒介导的,能水解头孢菌素类、青霉素类及单环类抗菌药物,但对头霉素类、碳青霉烯类抗菌药物及酶抑制剂敏感的 β -内酰胺酶。ESBLs 有 2 种分类方法,Ambler 等人根据氨基酸序列的差别将其分为 A、B、C、D 四类,随后 Bush 等人根据功能将其分为 4 个群,大多数 ESBLs 属于前者的 Ambler A 类,后者的 2be 群,少数属于前者 Ambler D 类,功能群的 Bush-d 类^[5]。A 类 ESBLs 可分为 TEM、SHV、PER、VEB、GES、IBC 型,虽底物谱相似,但其基因却多半不同源,呈现出明显的地域差异。属于 D 类的 OXA 型 ESBLs 有 3 个基因来源,对不同抗菌药物水解活性各有差异,且自报道以来,仅国内就至少有 127 个成员^[6]。

ESBLs 由质粒介导,其编码基因大多位于质粒上,细菌可通过多种方式使 ESBLs 基因在细菌间水平转移和传播,还可将这些耐药基因进行整合、重组,甚至可以将其整合到染色体上垂直传播,形成多重耐药,是铜绿假单胞菌耐药性日趋严重的重要原因^[7]。

2) AmpC 酶: AmpC 酶是一种不被克拉维酸抑制的丝氨酸头孢菌素酶,水解底物首选头孢菌素,分为染色体编码和质粒编码 2 种。染色体编码的 AmpC 有可诱导性,即正常状态下为低水平表达,在有诱导作用的 β -内酰胺类抗生素存在时,产酶量会显著上升。人们还在不断地探索诱导 AmpC 产酶的因素,如一项国外研究发现,在编码 AmpC 的染色体中插入 ISAbal 元件,此基因会提供高效启动子 blaAmpC 基因,使其成为超表达 AmpC 酶^[8];另一项国内研究发现,密度感应系统 QS 中的 las QS 系统可能直接或间接影响 AmpC 的基因诱导表达^[9];此外,一些 DNA 结合蛋白如 AmpR、AmpD 可转化为 AmpC 活化因子从而调节 AmpC 的表达。质粒编码的 AmpC 酶

自上世纪 80 年代被分离出以来,世界各地不断发现 MIR、ACT、DHA、CMY、FOX、MOX 等新型质粒 AmpC 酶,且分布存在地区差异。Mai M. Helmy 和 Reham Wasfi 用 PCR 扩增方法研究发现,CMY 型为主要的 AmpC 酶,占 143 例孤立细菌的 86.9%,其次为 DHA、FOX、EBC、MOX^[10]。质粒编码的 AmpC 酶有更广的水解底物,不水解碳青霉烯类抗菌药物,多恒定表达,不受诱导^[11]。

3) MBL: 近年来,随着碳青霉烯类抗菌药物的广泛应用,PA 金属 β -内酰胺酶的耐药性显著上升。MBL 依赖金属锌离子而发生催化活性,能够水解除单环类几乎所有的 β -内酰胺酶类抗菌药物,其编码基因广泛存在于染色体及质粒、转座子、整合子等移动元件中,大部分通过可移动原件在细菌间水平传播,少部分为垂直传播,为临床治疗带来极大的困难。目前已发现几种 MBL 类型,包括 IMP、VIM、SPM、GIM 和 SIM 等,又包括若干亚型,其中 IMP、VIM 对临床影响最大,二者均大部分位于整合子 I 中,在细菌中水平传播。IMP、VIM 的分布存在地区差异,来自伊朗的一项研究表明,75% 产 MBL 酶的铜绿假单胞菌均携带 IMP 基因,VIM 型包括 VIM-1、4、5、7、8、9 等,其中 VIM-1 型则较 VIM2 型更为常见^[12],VIM-7 可水解亚胺培南及青霉素;国内研究也表明 IMP 型所占比例最大,其 IMP-1 基因占 24.21%,其他类型较为少见^[13]。Tada 等研究表明基因突变是 IMP 型铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗菌药物产生耐药的重要原因^[14]。

1.2.1.2 氨基糖苷类修饰酶 PA 对氨基糖苷类抗菌药物耐药的原因包括产氨基糖苷类修饰酶、细菌 16S rRNA 基因甲基化酶和氨基糖苷类抗菌药物作用靶位 16S rRNA 基因突变等,其中产 AME 为主要原因。16S rRNA 基因甲基化酶可保护自身 30S 核糖体不与氨基糖苷类抗菌药物结合,造成 PA 对所有氨基糖苷类药物高度耐药。氨基糖苷类修饰酶按功能可分为乙酰转移酶(AAC)、磷酸转移酶(APH)、核苷转移酶(ANT)3 类^[15],可对进入菌内的氨基糖苷类抗菌药物进行修饰,使其失活。编码 AME 的耐药基因位于质粒及转座子、整合子等移动元件中,常见的基因型有 aac(3')-II、aac(6')-I、aac(6')-II、ant(2'')-I、ant(3'')-I、aph(3')-VI 等,其中 aac(6')-I 介导对妥布霉素和阿米卡星耐药,aac(6')-II 和 ant(2'')-I 对妥布霉素和庆大霉素耐药,aph(3')-VI 对阿米卡星耐药^[16]。一项研究表明 ant(2'')-I 和 aac(3')-II a 为最常见的基因

型,分别占 78.87%、47.88%,同时展示了不同基因与表型之间的关系^[17],这与国内研究并不相符^[18],说明耐药基因存在地区差异,可能与使用抗菌药物种类有关,需要我们有针对性的研究,为临床合理选择抗菌药物提供支持。

1.2.2 膜通透性下降 PA 细胞膜上有特异性孔蛋白,可作为渗透性小或渗透不完全的分子进入细菌体内的通道,当膜孔蛋白丢失或表达下降时,抗菌药物则不能进入菌内,导致耐药。膜特异性孔蛋白包括 OprC、OprD、OprE、OprF、OprG 和 OprH^[19],OprD 的高突变型和调节性使其成为 PA 耐碳青霉烯类抗菌药物的最基本机制,其中 OprD2 的缺失或突变作为耐亚胺培南(IPM)的重要机制得到了国内外学者的广泛重视。OprD2 为亚胺培南的唯一特异性通道,可发生多点突变、缺失突变、插入突变,其中最常见的缺失、突变有 2 种:一种为编码区 395-405 位 11 bp DNA 片段小缺失,引起移码突变,导致复制提前终止;另一种为启动子上游-519 位到编码区 685 位的 1204 bp DNA 片段的大缺失,不能转录 mRNA,导致 OprD2 蛋白缺失,形成耐药^[20]。丁军颖等通过实验研究检测北京中医医院 2014 年铜绿假单胞菌对 20 种抗生素的敏感性,发现有 9 株菌对 20 种抗生素均耐药,但 OPRD2 耐药基因表达率也并非 100%^[21]。OprD 的表达水平除受 MexT、CopR 等基因调节,也受调控因子影响,如高水平的 c-di-GMP 通过减少 OprD 的量提高 PA 对抑菌浓度 IPM 的适应性,锌离子通过 CzcRS 双组份调节系统提高 PA 毒力等,其调控因子还有很多,值得我们进一步探索。

1.2.3 主动外排系统过度表达 PA 细胞膜上的主动外排系统是一种质子泵,由 3 种蛋白构成:1)外膜通道蛋白,如 OprM、OprJ、OprN 等,位于细胞膜外,形成门通道,排出抗菌药物;2)内膜蛋白,如 MexB、MexD、MexF、MexY,可识别药物并将其转运出菌体,但无特异性;3)膜融合蛋白或辅助蛋白,如 MexA、MexC、MexE、MexX 等,连接内外膜蛋白。3 者共同作用将抗菌药物排出体外。现已发现 4 种主要的主动外排系统,包括 MexAB-oprM、MexXY-oprM、MexCD-oprJ、MexEF-oprN,其中 MexAB-oprM 的研究最为深入,其次为 MexXY-oprM。

MexAB-oprM 是 PA 中发现的第一个 RND 型外排系统,在野生菌株中低表达,为固有耐药机制之一,其水解底物最广。MexAB-oprM 由 MexA、MexB、OprM 3 种蛋白构成,均由同一操纵子 mexO 所编码,

受多种调控基因调节,如 mexR、nalC、nalD,编码阻遏蛋白 mexR、nalC、nalD,当调控基因突变时,可使 mexO 失去抑制而增强表达,引起对 β -内酰胺类、氟喹诺酮类抗菌药物、四环素类和 β -酰胺酶抑制剂的耐药;其过表达也对美罗培南 MIC 影响明显,却几乎不影响 IMP。研究发现,QS 系统也可影响 MexAB-oprM 的表达,当细菌数量达到 10^{-7} 个/mL 时,便会激活 QS 系统,诱导、增强 MexAB-oprM 转录和表达^[22]。MexXY 由 MexX 和 MexY 2 种蛋白组成,均由 MexXY 操纵子编码,可借助 OprM 获得自身缺失的外膜蛋白,因此 MexAB-oprM 表达降低可影响 MexXY 的活性。MexXY-oprM 的阻遏调控基因为 mexZ,其突变可导致对氨基糖苷类、红霉素和氟喹诺酮类抗菌药物耐药^[23-24]。MexAB-oprM 还可抑制 OprD 的转录,影响 PA 对亚胺培南的耐药性。关于各主动外排系统之间的相互影响及与其他耐药机制的互相作用仍需进一步研究。

1.2.4 靶位改变 抗菌药物与细胞膜上特异性结合的靶位有青霉素结合蛋白(Penicillin-Binding-Proteins, PBP)、16 s 核糖体 RNA(16 sr RNA)和拓扑异构酶。PBP 位于细胞内膜,参与合成细菌细胞壁肽聚糖,包括内肽酶、转肽酶和羧肽酶, β -内酰胺类抗菌药物可与之结合,干扰细胞壁生成,还可触发 PA 的自溶酶活性。PBP 结构分为两部分:青霉素结合位点和非青霉素结合位点,PA 主要通过 PBP 基因突变改变自身结构,使其与 β -内酰胺类抗菌药物亲和力降低或消失而耐药。有国外研究显示,PBP 还可以诱导 AmpC 酶高度表达^[25]。截止到 2013 年在 PA 中已经发现了 8 中 PBP,其中 PBP2 和 PBP3 与耐碳青霉烯类抗菌药物有关,实验发现 IMP 对 PBP2 有高度依赖性,推测 PBP2 为 IPM 的作用靶点^[26]。

1.2.5 生物膜 生物膜在 PA 耐药机制中起到了重要作用,但其作用机制尚不完全清楚,目前主要有 3 种推论:渗透限制、营养限制和表型^[27]。

渗透限制学说认为,生物被膜阻止了抗生素渗入,是有生物膜的 PA 耐药的主要机制。生物膜外的基质屏障作用曾被认为是主要的耐药机制:基质带有大量阴离子,可吸附阳离子抗菌药物;还带有酶,可灭活部分抗菌药物。当结合位点饱和或酶消耗殆尽时,抗菌药物仍能通过机制屏障,且生物膜对氟喹诺酮类抗生素表现为高通透性,而敏感性却远低于浮游菌,所以该机制并不能完全解释 PA 生物膜的耐药机制。

营养限制学说认为,表层 PA 容易获得养料氧

气,代谢率高,抗菌药物多针对代谢活跃的细菌,因此表层细菌易被杀死;深层细菌因有基质包绕,不易获得营养,代谢率低,且代谢产物不易排出,造成周围环境偏酸,可使大部分抗菌药物失活,二者共同作用,使深层细菌极难清除,当环境适宜时,残留的深层细菌便会迅速繁殖。

表型推断学说从基因角度解释生物膜的耐药机制。PA 生物膜形成可分为 5 个阶段,每个阶段都有不同的基因激活产生独特的表型,当影响抗菌药活性的基因被激活时,便会对细菌耐药性产生影响。例如细生物膜主要成分之一为藻酸盐,由 algD 编码合成,其基因突变可产生大量藻酸盐,导致生物膜耐药性大大增加,又能直接作用于宿主,抑制其免疫功能。该学说已成为生物膜耐药机制的主要研究方向。

1.2.6 密度感应系统 密度感应系统 (Quorum Sensing System, QS) 是通过细菌密度来调节细菌生命活动的细胞间信号传导系统,影响着 PA 外毒素、弹性蛋白酶、溶血素、生物膜、鼠李糖脂等多种致病因子的表达。PA 中存在 3 个 QS 系统:受高丝氨酸 (Acyl-homoserine Lactone, HSL) 调控的 Las、RhI 系统和喹诺酮信号系统 (Pseudomonas Quinolone Signal, PQS)。Las 系统激活 LasI 蛋白质转录,合成 PA 自诱导物 3-氧代十二烷基-L-高丝氨酸内酯,与受体蛋白 LasR 结合启动下游基因表达。RhI 系统由 PhII 合成的自诱导物 N-丁酰-L-高丝氨酸内酯和受体 RhIR 构成。两系统虽有不同调节因子,但 LasR 和 RhIR 有大量的重叠,说明 Las、RhI 系统并不完全独立。PQS 系统以 2-庚基-3-羟基-4-喹诺酮为信号分子,不依赖 AHL,以分级调控的方式水平调控 PA 多种毒性因子的表达。3 个系统之间也存在级联调控关系,干扰 QS 系统会明显降低 PA 的致病能力,探讨 QS 系统之间及与外界环境的相互调节关系,将是以后研究的重点^[28-30]。

2 中医药对铜绿假单胞菌的认识及治疗

中医学对铜绿假单胞菌感染有独特的认识见解。早期普遍认为与伏邪相关。早在《黄帝内经》就提到一类与时气不合的疾病,这为后世伏邪学说奠定了基础。吴又可可在《瘟疫论》中首次提出伏邪概念,吴鞠通在《温病条辨》中进一步详细阐述,至清代,各医家对伏气温病的认识已扩展到温病以外的外感疾病。历代医家不断完善伏邪学说,为现代中医药应用提供了丰富的理论支持。

伏邪治疗原则为扶正透邪。因此,在治疗耐药

菌感染时,不仅重视益气养血扶正,更重要的是解毒清热透邪外出。喻嘉言在《医门法律·痢疾门》中指出——邪陷入里,虽百日之久,仍当引邪由里出表,若但从里去,不死不休。刘清泉教授的扶正透邪芪归银方同理而出,其运用中医理论和辨证分型思维模式,积多年临床实践——始终以扶正透邪治则治疗细菌性肺炎,据法遣方用药而形成,已证实临床疗效肯定^[30]。

中医理论认为耐药菌感染的核心病机是正气不足、邪毒内伏,其临床表现为虚实夹杂,多以气血亏虚、气机不畅为本,以血瘀、痰凝、湿热夹杂为标,与伏邪致病特点相似。目前临床治疗此类疾病通常广泛应用寒凉的抗生素及清热解毒类中药制剂,较少顾及患者正气。马明坤等人用清热法对上呼吸道常见致病菌做了体外抑菌实验(163 株致病菌中包括 17 株铜绿假单胞菌),以清热合剂以银翘散为底方进行加减,实验表明清热合剂对除外肺炎克雷伯菌之外的上呼吸道常见致病菌均有一定抑菌作用,其中对铜绿假单胞菌抑制作用最强,但总体效果仍差强人意^[31]。刘清泉教授则认为扶正与祛邪并重,提倡鼓动正气透邪外出。扶正透邪代表方剂芪归银,以黄芪配当归益气 and 营清热,既避免苦寒伤阳,又可透邪外出,二者配伍,为当归补血汤,气血双补,并可退虚热;当归和金银花配伍,取自四妙勇安汤,补血活血,祛邪外出;结合青蒿退虚热、除蒸热;虎杖清热化瘀,全方补而不腻,给邪以出路。临床应用显示,芪归银方可明显减低感染者的死亡率^[32]。芪归银在体外对铜绿假单胞菌无直接抑菌作用;但可降低头孢他啶、头孢哌酮舒巴坦、亚胺培南西司他丁钠的 MIC 和 MBC 值,并对 β -内酰胺酶水解具有明显抑制作用^[33],可使耐亚胺培南的 PA 的敏感性得到一定程度恢复,从而逆转其耐药性^[34];同时证实,可调节机体免疫平衡,使感染所致的免疫紊乱趋于平衡^[35],相关机制有待进一步研究揭示。

3 展望

铜绿假单胞菌耐药机制复杂,存在天然耐药和获得性耐药,且可二者并存,这极大地加重了临床治疗困难,所以进一步深入研究阐明其确切耐药机制,从而针对性发展治疗措施势在必行;同时,尤其在抗生素针对病原菌治疗困境难脱时,中医药以人为本的扶正透邪治疗理念也值得着力探索。

参考文献

- [1] John Kiiru, Patrick Butaye, Bruno M Goddeeris, et al. Analysis for prevalence and physical linkages amongst integrons, ISEcp1, ISCR1,

- Tn21 and Tn7 encountered in *Escherichia coli* strains from hospitalized and non-hospitalized patients in Kenya during a 19-year period(1992-2011)[J]. *BMC Microbiology*, 2013, 13:109.
- [2] Bamidele T Odumosu, Bolanle A Adeniyi, Ram Chandra. Analysis of integrons and associated gene cassettes in clinical isolates of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* from Southwest Nigeria[J]. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2013, 12:29.
- [3] 孙超. 铜绿假单胞菌多重耐药分析[J]. *医学信息*, 2015, 28(42): 448-449.
- [4] Sara Domingues, Klaus Harms, W. Florian Fricke, et al. Natural Transformation Facilitates Transfer of Transposons, Integrons and Gene Cassettes between Bacterial Species[J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(8): e1002837.
- [5] Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39(6):1211-1233.
- [6] 刘文恩, 刘晓一, 张运丽, 等. 中国湖南省铜绿假单胞菌中两个新型 OXA 型超广谱 β -内酰胺酶耐药基因的检测[J]. *中华检验医学杂志*, 2009, 32(8):881-884.
- [7] 郭小慧, 张莉萍. 铜绿假单胞菌耐药机制的最新研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(9):968-971.
- [8] George A. Jacoby. AmpC β -Lactamases[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2009(1):161-182.
- [9] 赵京明, 成炜, 蒋捍东. 铜绿假单胞菌群体感应系统调控生物膜形成与 AmpC 基因表达的研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(9):1724-1727.
- [10] Mai M. Helmy, Reham Wasfi. Phenotypic and Molecular Characterization of Plasmid Mediated AmpC β -Lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., and *Proteus mirabilis* Isolated from Urinary Tract Infections in Egyptian Hospitals[J]. *BioMed Research International*, 2014, 2014:171548.
- [11] 刘春明. 铜绿假单胞菌耐药机制的研究进展[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(21):4634-4637.
- [12] Ramin Abiri, Pantea Mohammadi, Navid Shavani, et al. Detection and Genetic Characterization of Metallo- β -Lactamase IMP-1 and VIM-2 in *Pseudomonas aeruginosa* Strains From Different Hospitals in Kermanshah, Iran [J]. *Jundishapur J Microbiol*, 2015, 8(9): e22582.
- [13] 李智伟, 王昌敏, 郭淑丽, 等. 铜绿假单胞菌金属 β -内酰胺酶基因检测研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2015, 25(20):4561-4563.
- [14] Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, et al. IMP-43 and IMP-44 metallo- β -lactamases with increased carbapenemase activities in multidrug-resistant *pseudomonas aeruginosa*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(9):4427-4432.
- [15] Yadegar A, Sattari M, Nour Amir M, Gholam Reza G; Prevalence of the Genes Encoding Aminoglycoside-Modifying Enzymes and Methicillin Resistance Among Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* in Tehran, Iran[J]. *Microb Drug Resist*, 2009, 15:109-113.
- [16] Farzam Vaziri, Shahin Najar Peerayeh, Qorban Behzadian Nejad, et al. The prevalence of aminoglycoside-modifying enzyme genes (aac(6')-I, aac(6')-II, ant(2'')-I, aph(3')-VI) in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Clinical Science*, 2011, 66(9):1519-1522.
- [17] Neda Soleimani, Mahdi Aganj, Liaqat Ali, et al. Frequency distribution of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes in uropathogenic *E. coli* isolated from Iranian hospital[J]. *Research Notes*, 2014, 7:842-846.
- [18] 王结珍, 孙各琴, 朱涛, 等. 铜绿假单胞菌氨基糖苷类耐药表型及耐药基因的检测[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(17):3542-3544.
- [19] 吴伟清, 李国明. 铜绿假单胞菌耐药机制的研究进展[J]. *医学综述*, 2012, 18(22):3812-3815.
- [20] Jilu Shen, Yaping Pan, Yaping Fang. Role of the Outer Membrane Protein OprD2 in Carbapenem-Resistance Mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Plos One*, 2015, 10(10):e0139995.
- [21] 丁军颖, 桂红, 洪燕英, 等. 基于耐药基因 OPRD2 探讨铜绿假单胞菌的临床感染特性[J]. 10, 27(10):69-71.
- [22] Sanchez P, Rojo F, Martinez JL. Transcriptional regulation of mex R, the repressor of *Pseudomonas aeruginosa* MexAB-OprM multidrug efflux pump[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2002, 207(1):63-68.
- [23] 姚慧琳. 铜绿假单胞菌 MexAB-OprM, MexXY-OprM 主动外排系统的耐药作用[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2012, 12(1):32-35.
- [24] 魏志华. MexXY-OprM 主动外排系统在铜绿假单胞菌多重耐药机制中的作用[J]. *安徽医学*, 2014, 35(12):1636-1638.
- [25] Bartolomé Moyá, Alejandro Beceiro, Gabriel Cabot, et al. Pan- β -Lactam Resistance Development in *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains; Molecular Mechanisms, Penicillin-Binding Protein Profiles, and Binding Affinities[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, 56(9):4771-4778.
- [26] 梁文, 李博, 董萌萌, 等. 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素耐药机制研究进展[J]. *中国抗生素杂志*, 2013, 38(9):641-646.
- [27] 徐笑洋, 邱晨. 铜绿假单胞菌生物膜耐药的研究进展[J]. *广东医学*, 2012, 33(10):1510-1511.
- [28] Steven T. Rutherford, Bonnie L. Bassler. Bacterial Quorum Sensing: Its Role in Virulence and Possibilities for Its Control[J]. *Cold Spring Harb Perspect Medicine*, 2012, 2:a012427.
- [29] 肖骏, 沈立新, 赵琳, 等. 半枝莲对铜绿假单胞菌群体感应系统的抑制作用[J]. *中国抗生素杂志*, 2014, 39(12):885-890.
- [30] 梁海华, 沈立新, 马艳玲, 等. 铜绿假单胞菌中群体感应系统研究进展[J]. *微生物学通报*, 2010, 37(7):1028-1053.
- [31] 马明坤, 闻卫利, 魏葆琳, 等. 清热合剂对上呼吸道感染常见致病菌的体外抑菌试验[J]. *天津医药*, 2015, 43(1):38-41.
- [32] 刘清泉, 孙宏源, 高洁, 等. 耐药菌感染中医病机探讨及临床中药疗效观察[J]. *中国中医药*, 2010, 97:213-214.
- [33] 孔令博, 刘清泉, 吴珺, 等. 扶正透邪方体外干预多重耐药铜绿假单胞菌研究[J]. *环球中医药*, 2012, 5(2):81-84.
- [34] 高洁, 刘清泉, 田金洲, 等. 芪归银方对耐亚胺培南 PA 耐药作用的影响[J]. *中医杂志*, 2012, 53(16):1408-1411.
- [35] 孔令博, 刘清泉, 王兰, 等. 芪归银方对多重耐药铜绿假单胞菌感染大鼠淋巴细胞增殖的影响[J]. *中医杂志*, 2013, 54(18):1585-1587, 1599.