

黏液型铜绿假单胞菌耐药特征和耐药株相关基因型分析

李鸿飞^{1,2}, 邱广斌¹, 李云慧^{2△}

(1. 吉林大学附属第一医院, 吉林长春 130000; 2. 中国人民解放军第 202 医院检验科, 辽宁沈阳 110000)

摘要:目的 探讨携带不同基因型黏液型铜绿假单胞菌与抗菌药物耐药性的相关性, 为临床合理使用抗菌药物治疗携带不同基因型黏液型铜绿假单胞菌提供理论参考依据。方法 110 株铜绿假单胞菌通过药敏试验和 PCR 方法检测。结果 与 24 h 药敏结果相比, 48 h 黏液型铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南的耐药率均为 13.6%, 而对阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、左氧氟沙星和头孢他啶的耐药率在 6.4%~11.8%, 差异有统计学意义($P<0.05$)。携带 AmpC 阳性基因的菌株有 12 株(80.00%), 携带 VIM-2 阳性基因的菌株有 9 株(60.00%), 携带 OprD2 阴性基因的菌株有 11 株(73.33%)。结论 不同时间检测的黏液型铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南耐药率显著不同, 其机制与 AmpC、VIM-2 和 OprD2 基因密切相关。

关键词:黏液型铜绿假单胞菌; 耐药, 基因型; 耐碳青霉烯类; 亚胺培南; 美罗培南

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.21.002

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2018)21-2596-05

文献标识码:A

Analysis of drug resistance and genotype of drug-resistant strains of mucoid *Pseudomonas aeruginosa*LI Hongfei^{1,2}, QIU Guangbin¹, LI Yunhui^{2△}

(1. The First Clinical Hospital Affiliated to Jilin University, Changchun, Jilin 130000, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the 202nd Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Shenyang, Liaoning 110000, China)

Abstract: Objective To explore the correlation between different genotypes of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and antimicrobial resistance, and to provide theoretical reference for clinical rational use of antimicrobial agents to carry different genotypes of mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. **Methods** Totally 110 strains of *Pseudomonas aeruginosa* were tested by drug sensitivity test and PCR method. **Results** Compared with 24-hour susceptibility test, the resistance rates of 48-hour mucinous *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem and meropenem were 13.6%, while those to amikacin, tobramycin, gentamicin, cefepime, piperacillin/tazobactam, levofloxacin and ceftazidime were 6.4%—11.8%, which had significant difference($P<0.05$). There were 12 strains (80.00%) carrying AmpC positive gene, 9 strains (60.00%) carrying VIM-2 positive gene and 11 strains (73.33%) carrying OprD2 negative gene. **Conclusion** The resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem and meropenem were significantly different at different time. The mechanism was closely related to the genes of AmpC, VIM-2 and OprD2.

Key words: mucoid *Pseudomonas aeruginosa*; drug resistance, genotype; carbapenem resistant; imipenem; meropenem

铜绿假单胞菌(PA)是引起院内感染主要的革兰阴性杆菌, 是人体最重要的条件致病菌之一, 它的形态可分为非黏液型和黏液型。其中黏液型铜绿假单胞菌多分离于持续性、慢性感染的患者, 常规用药难于将其清除, 在机体抵抗力差时引起疾病。为此, 收集本院自 2012 年 1 月至 2015 年 12 月期间从各科室

就诊的患者标本中分离出的黏液型铜绿假单胞菌株, 进行耐药性分析与药敏结果报告时限分析, 对提高治愈率、指导临床用药都具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料 110 株黏液型铜绿假单胞菌, 分离于 2012 年 1 月至 2015 年 12 月中国人民解放军第 202

作者简介:李鸿飞,男,主管技师,主要从事检验微生物研究。△ 通信作者,E-mail:100719807@qq.com。

本文引用格式:李鸿飞,邱广斌,李云慧. 黏液型铜绿假单胞菌耐药特征和耐药株相关基因型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(21): 2596-2599.

医院各科室就诊的患者标本。其中,痰标本 100 株,脓液及分泌物 8 株,其他来源标本 2 株。按照相关标准化操作规程提取细菌 DNA。针对耐碳青霉烯类抗菌药物不同基因设计特异性引物,避免在 3'端产生互补序列和发夹结构,引物特异性检验采用 NCBI 数据

库中 Blast 进行匹配分析。采用 PCR 扩增 AmpC、IMP-1、SPM-1、OprD、KPC、VIM-1、VIM-2 基因,引物序列及产物见表 1。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳进行分析。

表 1 用于扩增 AmpC、IMP-1、SPM-1、OprD、KPC、VIM-1、VIM-2 序列的 PCR 引物

基因	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')	产物长度(bp)
AmpC	TGG CGC TGC AAC CTA CAC AGG A	CCG CTC GGC ATT GGG ATA G	174
IMP-1	TAC GGC TAA AGA TAC TGA A	TAA CCG CCT GCT CTA ATG T	491
SPM-1	CCC CAC TAC GAA AGC CCA CA	TCC CGC AAC GAG CAA CAA	459
OprD2	CGG CGA CAT CAG CAA CAC C	CTG GCG GAT ACG GAA CGA	431
KPC	GTA TCG CCG TCT AGT TCT GC	GGT CGT GTT TCC CTT TAG C	174
VIM-1	CAG TCT CCA CGC ACT TTC A	GCA CAA CCA CCG TAT AGC AC	268
VIM-2	TCC GAC AGT CAG CGA AAT	GCA GCA CCA GGA TAG AAG A	435

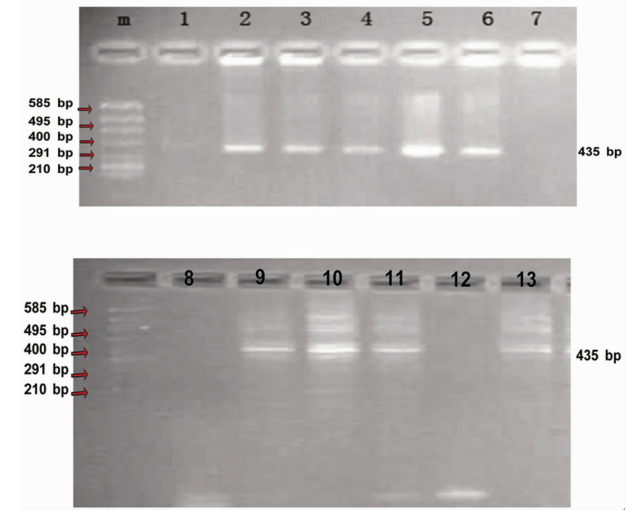
1.2 仪器与试剂 ATB 半自动细菌鉴定仪及 VITEK-2 全自动细菌鉴定仪购自法国梅里埃公司;PCR 扩增仪及电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司;GDS 8000 凝胶自动成像仪购自美国 UVP 公司;药敏分析仪购自法国梅里埃公司。胰蛋白消化的酱油肉汤、脑心浸液琼脂培养基购自美国 Becton Dickinson;两性霉素 B、二甲基亚枫、磺胺增效剂购自美国 Sigma 公司;万古霉素购自美国礼来公司;PCR 反应用 Taq 聚合酶、dNTP、PCR 引物购自大连宝生物公司。抗菌药物包括亚胺培南、阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、左氧氟沙星、头孢他啶、环丙沙星和美罗培南等药敏纸片购自温州市康泰生物科技有限公司,质控菌株为铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.3 方法 采用常规鉴定法进行菌株鉴定。标本培养、分离严格按照《全国临床检验操作规程》进行。黏液型铜绿假单胞菌菌落形态多样,无色,可见黏稠状、露滴状及胶冻状菌落、菌落边缘不规则。用接种环挑取无金属光泽、无特殊气味的菌落,分离纯化后所有菌株经 Vitek2 Compact 全自动微生物分析仪鉴定为铜绿假单胞菌,并进行复测。纸片法测定 10 种常用抗菌药物做药敏试验。按照美国临床和实验室标准协会 M100-22 标准实施。质控菌株为铜绿假单胞菌 ATCC27853。恒温 35℃ 24 h 记录第 1 次药敏结果,48 h 记录第 2 次药敏结果,72 h 记录第 3 次药敏结果。药敏试验结果参照美国临床实验室标准委员会 2011 年标准进行判读。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计分析,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验或 Fisher's 精确检验,所有统计检验均为双侧概率检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黏液型铜绿假单胞菌对抗菌药物的耐药结果 110 株黏液型铜绿假单胞菌对 10 种抗菌药物的耐药性结果见表 2。研究结果发现,24 h 黏液型铜绿假单胞菌对阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、哌拉西林/他唑巴坦、左氧氟沙星、头孢他啶的耐药率在 0.0%~4.5%,而对亚胺培南、美罗培南、头孢吡肟和环丙沙星的耐药率为 7.3%~9.1%。与 24 h 药敏结果相比,48 h 黏液型铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南的耐药率均为 13.6%,而对阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、左氧氟沙星和头孢他啶的耐药率在耐药率为 6.4%~11.8%,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 48 h 药敏结果相比,72 h 黏液型铜绿假单胞菌对上述抗菌药物的耐药率差异无统计学意义($P>0.05$)。



注:VIM-2 基因特异性条带为 435 bp;M 表示 DNA 标志物;1、7、8、12 泳道为阴性;2~6、9~11、13 泳道为阳性(435 bp)

图 1 VIM-2 基因 PCR 产物 2% 琼脂糖凝胶电泳图

2.2 不同基因型黏液铜绿假单胞菌与耐药性的关系

通过药敏试验可知,110 株黏液铜绿假单胞菌中有 15 株对亚胺培南和美罗培南有耐药性。为了深入研究其耐药机制,本文采用 PCR 方法对 15 株耐碳青霉烯类抗菌药物的菌株进行研究。结果发现,其中携带 AmpC 阳性基因的菌株有 12 株(80.00%),携带 IMP-1 阳性基因菌株有 2 株(13.33%),携带 VIM-1 阳性基因

菌株有 5 株(33.33%),携带 VIM-2 阳性基因菌株有 9 株(60.00%),携带 OprD2 阳性基因菌株有 4 株(26.67%),OprD2 阴性菌株有 11 株(73.33%),携带 SPM-1 基因阳性菌株有 4 株(26.67%),携带 KPC 阳性基因菌株有 5 株(33.33%)。见表 3 和图 1~3。

表 2 不同时间黏液型铜绿假单胞菌药敏结果[n(%)]

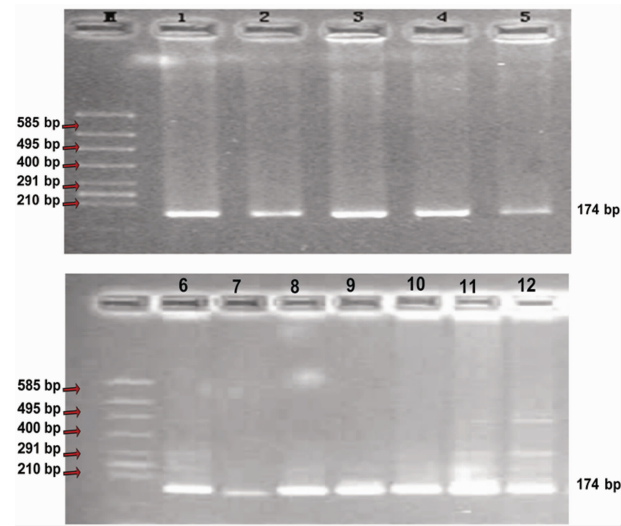
抗菌药物	24 h			48 h			P*	72 h			P#
	敏感	中介	耐药	敏感	中介	耐药		敏感	中介	耐药	
亚胺培南	99(90.0)	2(1.8)	9(8.2)	90(81.8)	5(4.5)	15(13.6)	0.02	88(80.0)	7(6.4)	15(12.6)	0.48
阿米卡星	97(88.2)	11(10.0)	2(1.8)	90(81.8)	9(8.2)	11(10.0)	0.04	88(80.0)	10(9.1)	12(10.9)	0.38
妥布霉素	98(89.1)	9(8.2)	3(2.7)	91(82.7)	10(9.1)	9(8.2)	0.04	89(80.9)	11(10.0)	10(9.1)	0.42
庆大霉素	96(87.3)	10(9.1)	4(3.6)	89(80.9)	8(7.3)	13(11.8)	0.14	87(79.1)	9(8.2)	14(12.7)	0.34
头孢吡肟	94(85.5)	7(6.4)	9(8.2)	81(73.6)	10(9.1)	19(17.3)	0.03	80(72.7)	9(8.2)	21(19.1)	0.16
哌拉西林/他唑巴坦	105(95.5)	5(4.5)	0(0.0)	99(90.0)	4(3.6)	7(6.4)	0.04	99(90.0)	3(2.7)	8(7.3)	0.12
左氧氟沙星	101(91.8)	4(3.6)	5(4.5)	92(83.6)	5(4.5)	13(11.8)	0.04	90(81.8)	6(5.5)	14(12.7)	0.31
头孢他啶	93(84.5)	12(10.9)	5(4.5)	84(76.4)	11(10.0)	15(13.6)	0.03	82(74.5)	12(10.9)	16(14.5)	0.23
环丙沙星	88(80.0)	12(10.9)	10(9.1)	83(75.5)	15(13.6)	12(10.9)	0.03	83(75.5)	12(10.9)	15(13.6)	0.36
美罗培南	101(91.8)	1(0.9)	8(7.3)	91(82.7)	4(3.6)	15(13.6)	0.02	89(80.9)	6(5.5)	15(13.6)	0.25

注: * 表示 24 h 药敏结果与 48 h 药敏结果比较; # 表示 48 h 药敏结果与 72 h 药敏结果比较

表 3 不同基因型黏液铜绿假单胞菌与耐药性的关系

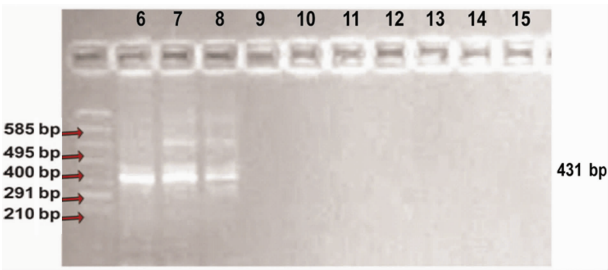
基因	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
AmpC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/
IMP-1	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	+	+
VIM-1	+	/	/	+	/	+	/	+	+	/	/	/	/	/	/
VIM-2	+	+	/	+	+	/	+	+	/	+	+	+	/	/	/
OprD2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	+	+	/	+	+
SPM-1	+	/	/	/	/	/	/	/	/	/	+	/	/	+	+
KPC	+	+	/	/	/	/	+	/	/	+	+	/	/	/	/

注: / 表示未检出; + 表示该种药物基因阳性



注: AmpC 基因特异性条带为 174 bp; M 表示 DNA 标志物; 1~12 泳道均为阳性

图 2 AmpC 基因 PCR 产物 2% 琼脂糖凝胶电泳图



注: AmpC 基因特异性条带为 431 bp; M 表示 DNA 标志物; 1~4 阳性; 9~15 阴性

图 3 OprD2 基因 PCR 产物 2% 琼脂糖凝胶电泳图

3 讨 论

本研究通过比较黏液型铜绿假单胞菌 24、48、72 h 药敏结果,结果发现 24 h 检测到的黏液型铜绿假单胞菌对亚胺培南、阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、左氧氟沙星、头孢他啶和美罗培南的敏感率均在 80.0% 以上。与 24 h 药敏

结果相比,48 h 黏液型铜绿假单胞菌对亚胺培南、阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、左氧氟沙星、头孢他啶和美罗培南的敏感率均显著下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与 48 h 药敏结果相比,72 h 黏液型铜绿假单胞菌对上述抗菌药物的敏感率差异无统计学意义($P > 0.05$),结果提示 24 h 体外药敏试验不能准确反映黏液型铜绿假单胞菌药敏情况。有研究发现黏液型铜绿假单胞菌生长极其缓慢,常规 24 h 内有时不能形成肉眼可见菌落或菌落极小,报告结果易造成药敏结果出现偏差^[1]。有研究指出,Vitek 2 Compact 分析仪有对黏液型铜绿假单胞菌药敏结果出现缺失情况,此外,由于黏液阻滞菌株生长,导致细菌生长速度减慢^[2-3]。通常在 48 h 才可见 1.5 mm 大小的菌落,而用 K-B 法做药敏试验,往往要求 24 h 内报告结果,因此,有可能会错误判断抗菌药物对细菌的药敏结果,特别是当被检菌对多种抗菌药物耐药时,准确的药敏结果就显得尤为重要^[4]。因此,建议将黏液型铜绿假单胞菌药敏试验延长至 48 h。

本研究发现,24 h 黏液型铜绿假单胞菌对阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、哌拉西林/他唑巴坦、左氧氟沙星和头孢他啶的耐药率为 0.0%~4.5%,而对亚胺培南、美罗培南、头孢吡肟和环丙沙星的耐药率为 7.3%~9.1%。与 24 h 药敏结果相比,48 h 黏液型铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南的耐药率均为 13.6%,而对阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、左氧氟沙星和头孢他啶的耐药率为 6.4%~11.8%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 48 h 药敏结果相比,72 h 黏液型铜绿假单胞菌对上述抗菌药物的耐药率差异无统计学意义($P > 0.05$)。因此,建议临床上应严格控制碳青霉烯类药物的使用,尽量通过个体化治疗、联合用药、短期用药等手段提高抗菌药物的抗菌能力,严格避免用药时间过长和治疗不规范等因素诱发新的耐药株^[5-6]。

本研究发现 110 株黏液铜绿假单胞菌中有 15 株对亚胺培南和美罗培南有耐药性。为了深入研究其耐药机制,通过查阅大量国内外文献发现,AmpC、IMP-1、VIM-1、VIM-2、OprD2、SPM-1 和 KPC 基因是研究中常用的鉴定耐碳青霉烯类抗菌药物的特异性基因,所以选取上述基因进行研究。有报道铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南耐药率为 16.5%^[7-8],MOGHOOFEI 等^[9]报道的耐药率为 15.0%。而本研究中黏液型铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南耐药率均为 13.6%,结果提示这种差异可能与标本来源、菌株的表型及分布区域有关^[10-11]。CHELLIAH 等^[12]研究发现 100 株铜绿假单胞菌有 82.0% AmpC 阳性基因,AmpC 阳性菌株与 β 内酰胺类抗菌药物耐药差异有统计学意义($P < 0.05$)。与本研究中黏液型铜绿假单胞菌株 AmpC 基因携带率 80.00%(12/15)

相似,结果提示本研究中黏液型铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南耐药可能与 AmpC 酶的高表达密切相关。有研究报道 OprD2 编码基因突变可导致 OprD2 基因表达缺失,进而导致铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药^[13]。而本研究发现黏液型铜绿假单胞菌 OprD2 缺失率为 73.33%(11/15),显著高于文献报道的铜绿假单胞菌 OprD2 基因缺失率^[14],结果提示黏液型铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南耐药可能与 OprD2 基因缺失率密切相关。ABIRI 等^[15]报道在伊朗克尔曼沙医院的 225 株铜绿假单胞菌株中,分别有 33.7%(76/225)和 18.1%(41/225)的菌株对亚胺培南和美罗培南耐药,其中对亚胺培南耐药的 76 株铜绿假单胞菌中,44.7%(34/76)菌株携带 IMP-1 基因,1.3%(1/76)携带 VIM-2 基因。IMP-1 基因的携带率与本研究结果[33.33%(5/15)]相似,而 VIM-2 基因携带率显著低于本研究[60.0%(9/15)]结果。以上结果提示,不同基因型黏液型铜绿假单胞菌对不同的抗菌药物耐药性不同,耐碳青霉烯类抗菌药物的机制与携带 AmpC 和 VIM-2 基因,以及 OprD2 基因的缺失密切相关。

4 结 论

在不同时间检测黏液型铜绿假单胞菌对不同抗菌药物的耐药率显著不同,其耐碳青霉烯类抗菌药物的机制与 AmpC、VIM-2 和 OprD2 基因密切相关。由于本研究中样本数量有限,且样本主要来源于门诊及 ICU 病房长期感染的重症患者,可能使本研究有一定的局限性,这有待于扩大样本量,更为深入研究黏液型铜绿假单胞菌基因型与其对碳青霉烯类抗菌药物耐药性的关系,同时,有待下一步进行同源性分析确认菌株是否同一来源。

参考文献

- [1] RUSSO P, STIGLIANI M, PROTA L, et al. Gentamicin and leucine inhalable powder: what about antipseudomonal activity and permeation through cystic fibrosis mucus[J]. Int J Pharm, 2013, 440(2): 250-255.
- [2] EHSAN Z, CLANCY J P. Management of Pseudomonas aeruginosa infection in cystic fibrosis patients using inhaled antibiotics with a focus on nebulized liposomal amikacin[J]. Future Microbiol, 2015, 10(5): 1901-1912.
- [3] MORENO-SASTRE M, PASTOR M, ESQUISABEL A, et al. Pulmonary delivery of tobramycin-loaded nanostructured lipid carriers for Pseudomonas aeruginosa infections associated with cystic fibrosis[J]. Int J Pharm, 2016, 498(1/2): 263-273.
- [4] LONG T E, KEDING L C, LEWIS D D, et al. Anionic fluoroquinolones as antibacterials against biofilm-producing Pseudomonas aeruginosa [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2016, 26(4): 1305-1309.
- [5] DAVIS R, BROWN P D. Multiple antibiotic resistance index, fitness and virulence potential in(下转第 2603 页)

- [5] 费凤英,衣萍,林见敏.血清淀粉样蛋白 A 与 C 反应蛋白联合检测的临床应用价值[J]. 检验医学,2014,29(10): 1031-1033.
- [6] 杨兰辉,苏艳丹,丁恒,等. C-反应蛋白和淀粉样蛋白 A 在手足口病诊疗中的应用研究[J]. 检验医学与临床,2012, 9(22):2838-2839.
- [7] ABBAS M H,CHOUDHRY M N,HAMZA N,et al. Admission levels of serum amyloid a and procalcitonin are more predictive of the diagnosis of acute appendicitis compared with c-reactive protein[J]. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech,2014,24(6):488-494.
- [8] SAULNIER P J,DIETER B P,TANAMAS S K,et al. Association of serum amyloid a with kidney outcomes and All-Cause mortality in American Indians with type 2 diabetes[J]. Am J Nephrol,2017,46(4):276-284.
- [9] 王胜,束新华,叶珍,等.血清淀粉样蛋白 A 在肺癌诊断中的应用[J]. 中华检验医学杂志,2016,39(3):220-224.
- [10] ZHOU H B,CHEN M J,ZHANG G F,et al. Suppression of lipopolysaccharide-induced inflammatory response by fragments from serum amyloid a[J]. J Immunol,2017, 199(3):1105-1112.
- [11] GLIBERT B,BOURLEAUX V,PEETERS R,et al. Analytical performance verification of the beckman coulter AU5800 clinical chemistry analyser against recognized quality specifications reveals relevance of method harmonization[J]. Clin Lab,2016,62(1/2):57-72.
- [12] BOURNER G,DE LA SALLE B,GEORGE T,et al. IC-SH guidelines for the verification and performance of automated cell counters for body fluids[J]. Int J Lab Hematol,2014,36(6):598-612.
- [13] 中华人民共和国卫生行业标准. 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证:WS/T 420—2013[S]. 北京:中国标准出版社,2013.
- [14] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of quantative measurement methods: EP5-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [15] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach: EP6-A[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [16] Clinical and Laboratory Standards Institute. C28-A2 How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline-second edition: C28-82 [S]. Wayne, PA: CLSI, 2000.
- [17] CUI M, JU S Q, SHI Y J, et al. Performance verification of the iris iQ200 sprint automated urine microscopy analyzer in a hospital routine laboratory[J]. Clin Lab, 2017, 63(10):1607-1612.

(收稿日期:2018-02-06 修回日期:2018-05-12)

(上接第 2599 页)

- respiratory *Pseudomonas aeruginosa* from Jamaica[J]. J Med Microbiol, 2016, 9(6):4-12.
- [6] SU H, YE Q, WAN Q, et al. Predictors of mortality in abdominal organ transplant recipients with pseudomonas aeruginosa infections[J]. Ann Transplant, 2016, 21(7): 86-93.
- [7] EMAMI S, NIKOKAR I, GHASEMI Y, et al. Antibiotic resistance pattern and distribution of *psla* gene among biofilm producing pseudomonas aeruginosa isolated from waste water of a burn center[J]. Jundishapur J Microbiol, 2015, 8(11):e23669.
- [8] MAROUI I, BARGUIGUA A, ABOULKACEM A, et al. First report of VIM-2 metallo-beta-lactamases producing pseudomonas aeruginosa isolates in morocco[J]. J Infect Chemother, 2016, 22(3):127-132.
- [9] MOGHOOFEI M, FAZELI H, POURSIINA F, et al. Morphological and bactericidal effects of amikacin, meropenem and imipenem on pseudomonas aeruginosa[J]. Jundishapur J Microbiol, 2015, 8(11):e25250.
- [10] BENTHALL G, TOUZEL R E, HIND C K, et al. Evaluation of antibiotic efficacy against infections caused by planktonic or biofilm cultures of *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* in galleria mellonella[J]. Int J Antimicrob Agents, 2015, 46(5):538-545.
- [11] ZHANG J F, ZHU H Y, SUN Y W, et al. *Pseudomonas aeruginosa* infection after pancreatoduodenectomy: risk factors and clinic impacts[J]. Surg Infect (Larchmt), 2015, 16(6):769-774.
- [12] CHELLIAH A, THYAGARAJAN R, KATRAGADDA R, et al. Isolation of MRSA, ESBL and AmpC-beta-lactamases from neonatal sepsis at a tertiary care hospital[J]. J Clin Diagn Res, 2014, 8(6):24-27.
- [13] KUMARI H, BALASUBRAMANIAN D, ZINCKE D, et al. Role of *Pseudomonas aeruginosa* AmpR on beta-lactam and non-beta-lactam transient cross-resistance upon pre-exposure to subinhibitory concentrations of antibiotics[J]. J Med Microbiol, 2014, 63(4):544-555.
- [14] LEE J Y, KO K S. OprD mutations and inactivation, expression of efflux pumps and AmpC, and metallo-beta-lactamases in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from South Korea[J]. Int J Antimicrob Agents, 2012, 40(2):168-172.
- [15] ABIRI R, MOHAMMADI P, SHAVANI N, 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.

(收稿日期:2018-01-02 修回日期:2018-04-08)