

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.15.011

耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌毒力基因的表达与耐药性研究*

刘康¹, 王万俊¹, 王亚平¹, 吴珍珍², 刘莉莉¹, 李小明^{1△}

1. 安徽医科大学附属安庆第一人民医院检验科, 安徽安庆 246003;

2. 安庆医药高等专科学校, 安徽安庆 246003

摘要:目的 探讨临床检测的耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌中Ⅲ型分泌系统(T3SS)4种毒力基因(exoT、exoY、exoS、exoU)的表达情况及其对抗菌药物的耐药性。方法 收集安徽医科大学附属安庆第一人民医院2022—2023年临床检测的各种来源的耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌87株,采用Vitek2-Compact仪器对菌株进行鉴定,并且进行药敏试验,采用聚合酶链反应对T3SS的4种毒力基因(exoT、exoY、exoS、exoU)进行检测,比较不同毒力基因型组合与抗菌药物耐药性之间的关系。结果 87株耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌表达exoT与exoY基因的阳性率均为100.00%(87/87),exoS基因阳性率为77.01%(67/87),exoU基因阳性率为27.59%(24/87)。共检出4种类型的T3SS毒力基因型组合,以exoT+/exoY+/exoS+/exoU-基因型组合为主,阳性率为71.26%(62/87),其次是exoT+/exoY+/exoS-/exoU+基因型组合,阳性率为21.84%(19/87)。药敏试验结果显示,exoT+/exoY+/exoS-/exoU+基因型组合对大部分常见抗菌药物,如阿米卡星、妥布霉素、头孢吡肟、头孢他啶、头孢哌酮/舒巴坦、环丙沙星、哌拉西林的耐药率均明显高于exoT+/exoY+/exoS+/exoU-基因型组合,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 该院检出的耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌携带表达的T3SS毒力基因主要以exoT+/exoY+/exoS+/exoU-基因型组合为主,不同毒力基因型组合的耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌对常见抗菌药物的耐药性存在差异。

关键词:耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌; Ⅲ型分泌系统; 毒力基因; 细菌耐药性; 抗菌药物

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)15-2193-05

Expression of virulence genes and drug resistance of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa**LIU Kang¹, WANG Wanjun¹, WANG Yaping¹, WU Zhenzhen², LIU Lili¹, LI XiaoYue^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Anqing First People's Hospital Affiliated to Medical University, Anqing, Anhui 246003, China; 2. Anqing Medical College, Anqing, Anhui 246003, China

Abstract: Objective To investigate the expression of four virulence genes (exoT, exoY, exoS, exoU) of type III secretion system (T3SS) in clinical carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and their resistance to antimicrobial agents. **Methods** A total of 87 strains of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from various sources in Anqing First People's Hospital Affiliated to Anhui Medical University from 2022—2023 were collected. Vitek2-Compact instrument was used to identify the strains, and drug sensitivity test was performed. Polymerase chain reaction was used to detect the four virulence genes (exoT, exoY, exoS and exoU) of T3SS, and the relationship between different virulence genotype combinations and antimicrobial resistance was compared. **Results** The positive rates of exoT and exoY genes in 87 strains of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* were both 100.00% (87/87), the positive rate of exoS gene was 77.01% (67/87), and the positive rate of exoU gene was 27.59% (24/87). Four types of T3SS virulence genotype combinations were detected, and the predominant genotype combination was exoT+/exoY+/exoS+/exoU-, with a positive rate of 71.26% (62/87), followed by exoT+/exoY+/exoS-/exoU+ genotype with a positive rate of 21.84% (19/87). Drug susceptibility test results showed that exoT+/exoY+/exoS-/exoU+ genotype combination was more sensitive to most common antimicrobial agents, for example, the resistance rates of amikacin, tobramycin, cefepime, ceftazidime, cefoperazone/sulbactam, ciprofloxacin and piperacillin were significantly higher than those of exoT+/exoY+/exoS+/exoU- genotype combinations, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The T3SS virulence genes of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* detected in this hospital were mainly exoT+/exoY+/exoS+/exoU- genotypes. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with different virulence genotype combinations had different

* 基金项目:安徽省高校自然科学基金项目(2023AH053435);安庆市2022年度医疗卫生类自筹经费科技计划项目(2022Z3006);皖南医学院校级科研项目(JXYY202279)。

作者简介:刘康,男,主管检验师,主要从事分子微生物学方面研究。△ 通信作者,E-mail:18496701@qq.com。

drug resistance to common antimicrobial agents.

Key words: carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; type III secretion system; virulence genes; drug resistance of bacteria; antimicrobial agent

铜绿假单胞菌(PA)在医院内是检出最多的病原菌之一,在自然界中广泛存在,它属于一种条件致病菌^[1],也是导致院内获得性肺炎的主要原因。有研究表明,在医院内感染的细菌中,PA 感染程度更严重,其对抗菌药物的耐药性逐渐增加。由于耐碳青霉烯类抗菌药物的使用频率增加,导致耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌(CR-PA)检出率越来越高,临床治疗 CR-PA 感染越来越困难。Ⅲ型分泌系统(T3SS)是 PA 感染的主要系统,其主要由 4 种毒力基因(exoT、exoY、exoS 和 exoU)构成^[2]。exoT 基因在 PA 中普遍表达,其能够攻击宿主的炎症细胞^[3];exoY 具有核苷酸环化酶的作用,造成细胞膜通透性明显改变而发生水肿破裂;exoS 基因能够抵御宿主细胞吞噬作用,诱导细胞凋亡机制发生;exoU 具有磷脂酶 A2 活性,对宿主细胞的细胞膜有伤害作用,加速细胞裂解破坏死亡^[4]。本文主要对临床分离的耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌表达的毒力基因进行鉴定,掌握本院 CR-PA 菌株携带 exoT、exoY、exoS 和 exoU 基因组合形式,研究不同组合的毒力基因型对常见抗菌药物耐药率,指导临床更精准地治疗 CR-PA 菌株的感染。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集安徽医科大学附属安庆第一人民医院检验科 2022—2023 年临床检出的 CR-PA 87 株。所有 CR-PA 菌株均采用质谱仪及法国梅里埃 Vitek2-Compact 仪器进行检测鉴定。

1.2 仪器与试剂 血平板、Vitek2-Compact 细菌鉴定仪购自法国梅里埃公司,药敏纸片、Tap PCR Master Mix、DNA Maker DL600、核酸染料、上样缓冲液、琼脂糖凝胶均购自江苏愚公生物科技有限公司,电泳仪购自兰杰柯生物科技有限公司,聚合酶链反应(PCR)仪购自天隆生物科技有限公司,胰蛋白酶购自杭州百思生物科技有限公司。4 种毒力基因引物参照文献^[5]合成,引物序列由上海生工生物工程有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物合成序列

目的基因	引物序列(5'→3')	基因片段大小(bp)
exoS	正向:GCGAGGTCAGCAGAGTATCG	118
	反向:TTCGGGCTCACTGTGGATGCC	
exoU	正向:CCGTTGTGGTGGCCGTTGAAG	134
	反向:CCAGATGTTACCGACTCGC	
exoT	正向:AATCGCCGTCCAACATGCATGCG	152
	反向:TGTTCCGCCGAGGTACTGCTC	
exoY	正向:CGGATCTATGGCAGGGAGG	289
	反向:GCCCTTGATGCACTCGACCA	

1.3 菌株鉴定及药敏试验 采用质谱仪及 Vitek2-Compact 仪器对临床检出的 CR-PA 进行鉴定及药敏试验,采用 2022 版美国临床和实验室标准协会标准将所检测的药敏试验结果分析判读。采用纸片扩散法对相关抗菌药物进行补充。药敏试验结果采用 WHONET5.6 软件进行分析,实验采用的 PA 质控菌株为 ATCC27853。

1.4 细菌 DNA 提取 采用煮沸法提取细菌基因组 DNA,取分离培养的 CR-PA 菌落 1~2 个放入 1.5 mL 离心管中,加入 300 μL ddH₂O,在 100 °C 水浴锅中加热 10 min,然后采用离心机以 12 000 r/min 离心 5 min,收集上清液细菌 DNA,将提取的 DNA 放入 -20 °C 冰箱保存。

1.5 检测 T3SS 毒力基因 采用 PCR 检测毒力基因,PCR 反应体系:正向引物 1 μL,反向引物 1 μL, DNA 模板 2 μL,2×Tap PCR Master Mix 20 μL,26 μL ddH₂O,反应总体积 50 μL。PCR 反应程序:95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 30 s,退火温度 55 °C 30 s,延伸 72 °C 30 s,共 32 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min,最终于 4 °C 保存产物。PCR 产物用 3% 琼脂糖凝胶电泳分析。

1.6 PCR 产物测序 PCR 阳性产物委托上海生工生物工程有限公司对其测序,测序结果与美国国立生物技术信息中心(NCBI)数据库发布收录的基因序列进行分析比对。

1.7 统计学处理 采用 SPSS24.0 统计软件进行数据分析处理。菌株标本来源及科室分布采用例数或百分率描述。不同致病毒力基因型对常用抗菌药物的耐药性采用 χ^2 检验进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 87 株 CR-PA 科室分布情况 从不同科室检出 87 株 CR-PA,来源科室依次为重症监护病房(ICU)28 株(32.18%),神经外科 25 株(28.74%),呼吸内科 5 株(5.75%),肿瘤科 4 株(4.60%),康复医学科 4 株(4.60%),急诊科 4 株(4.60%),胃肠外科 3 株(3.45%),肝胆外科 3 株(3.45%),其他科室 11 株(12.64%)。

2.2 87 株 CR-PA 标本分布情况 87 株 CR-PA 标本主要集中在痰液标本与分泌物标本,痰液标本占比最高,为 64 株(73.56%),分泌物标本 14 株(16.09%),中段尿标本 5 株(5.75%),血液标本 2 株(2.30%),其他标本 2 株(2.30%)。

2.3 87 株 CR-PA 对 12 种常见抗菌药物的耐药率 87 株 CR-PA 对常见抗菌药物耐药率最高的是替卡西林/克拉维酸,为 77.0%,其次是亚胺培南(70.1%)和美罗培南(63.2%);耐药率最低的抗菌药物是黏菌

素,仅为 8.0%。87 株 CR-PA 对大部分抗菌药物均有一定的耐药性,其耐药率均高于 30.0%,如头孢他啶、头孢哌酮/舒巴坦、亚胺培南、美罗培南、左氧氟沙星、替卡西林/克拉维酸、哌拉西林等。药敏试验结果见表 2。

表 2 87 株 CR-PA 对常见抗菌药物的药敏试验结果(%)

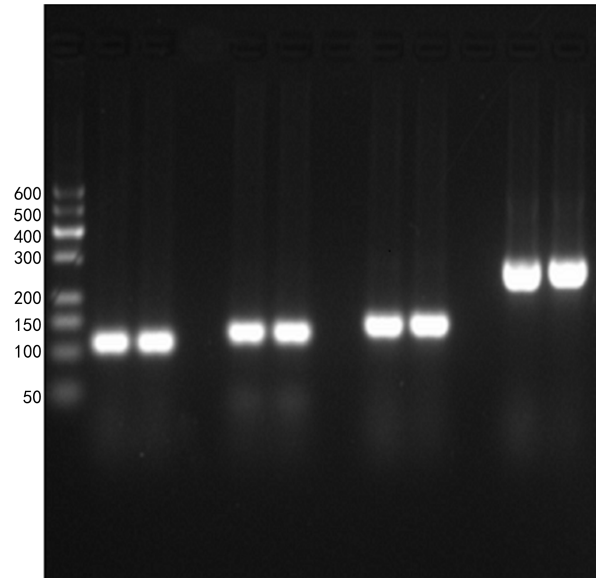
抗菌药物	耐药	中介	敏感
阿米卡星	24.1	0.0	75.9
妥布霉素	27.6	5.7	66.7
头孢吡肟	17.2	31.1	51.7
头孢他啶	42.5	2.3	55.2
头孢哌酮/舒巴坦	39.1	34.5	26.4
亚胺培南	70.1	0.0	29.9
美罗培南	63.2	25.3	11.5
左氧氟沙星	35.6	16.1	48.3
环丙沙星	29.9	10.3	59.8
替卡西林/克拉维酸	77.0	9.2	13.8
哌拉西林	50.6	18.4	31.0
黏菌素	8.0	2.3	89.7

2.4 T3SS 的 4 种毒力基因分布 87 株 CR-PA 检出 4 种毒力基因(exoT、exoY、exoS、exoU),其中 exoT 和 exoY 基因阳性率均为 100.00%(87/87),exoS 基因阳性率为 77.01%(67/87),exoU 基因阳性率为 27.59%(24/87)。PCR 阳性基因电泳图见图 1。本研究共检出 4 种类型的毒力基因型组合,以 exoT+/exoY+/exoS+/exoU- 基因型组合为主,阳性率为 71.26%(62/87),其次是 exoT+/exoY+/exoS-/exoU+ 基因型组合,阳性率为 21.84%(19/87),exoT+/exoY+/exoS+/exoU+ 基因型组合阳性率为

5.75%(5/87),exoT+/exoY+/exoS-/exoU- 基因型组合阳性率为 1.15%(1/87)。T3SS 毒力基因及基因型组合在不同年龄、性别中的分布情况见表 3。

2.5 毒力基因测序 PCR 产物送去上海生工生物工程有限公司测序,将测得的 exoT、exoY、exoS 和 exoU 基因序列与 NCBI 数据库收录的基因序列进行分析比对,一致性均在 97%以上,测序结果见图 2。

bp M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11



注:M为 DL600 DNA 标记物;1,2 为 exoS 阳性条带;4,5 为 exoU 阳性条带;7,8 为 exoT 阳性条带;10,11 为 exoY 阳性条带;3,6,9 为空白泳道。

图 1 致病毒力基因 PCR 阳性产物电泳图

表 3 T3SS 毒力基因及基因型组合在不同年龄、性别患者中的分布情况比较[n(%),n=87]

基因及基因型组合	n	性别		年龄	
		男	女	<60 岁	≥60 岁
exoT	87	65(74.71)	22(25.29)	34(39.08)	53(60.92)
exoY	87	65(74.71)	22(25.29)	34(39.08)	53(60.92)
exoS	67	49(56.32)	18(20.69)	26(29.89)	41(47.13)
exoU	24	20(22.99)	4(4.60)	8(9.20)	16(18.39)
exoT+/exoY+/exoS+/exoU-	62	44(50.57)	18(20.69)	25(28.74)	37(42.53)
exoT+/exoY+/exoS-/exoU+	19	15(17.24)	4(4.60)	7(8.05)	12(13.79)
exoT+/exoY+/exoS+/exoU+	5	5(5.75)	0(0.00)	1(1.15)	4(4.60)
exoT+/exoY+/exoS-/exoU-	1	1(1.15)	0(0.00)	1(1.15)	0(0.00)

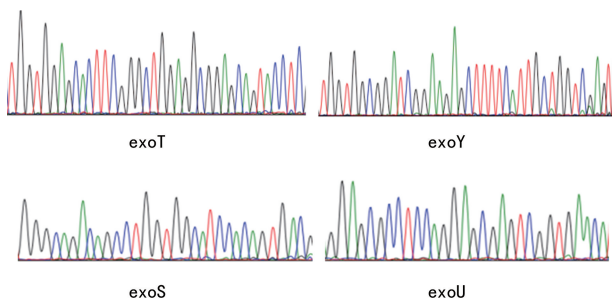


图 2 毒力基因测序结果

2.6 exoS 与 exoU 基因在 87 株 CR-PA 标本中的分布情况 87 株 CR-PA 检测的菌株全部含有 exoT 与 exoY 基因,在此不单独分析。不同标本均以 exoT+/exoY+/exoS+/exoU- 基因型组合为主,其中痰液标本基因构成比为 67.19%(43/64),分泌物标本基因构成比为 78.57%(11/14),中段尿标本基因构成比为 100.00%(5/5)。exoS 基因总阳性率在痰液标本中的构成比为 71.88%(46/64),分泌物标本为 85.71%(12/14),中段尿标本为 100.00%(5/5);ex-

oU 基因总阳性率在痰液、分泌物及中段尿标本中的构成比分别为 32.81% (21/64)、14.29% (2/14) 和

0.00% (0/5)。exoS 与 exoU 基因型标本构成情况见表 4。

表 4 exoS 与 exoU 基因型标本构成情况比较 (%)

基因型组合	n	痰液 (n=64)	分泌物 (n=14)	中段尿 (n=5)	其他标本 (n=4)
exoT+/exoY+/exoS+/exoU-	62	43(67.19)	11(78.57)	5(100.00)	3(75.00)
exoT+/exoY+/exoS-/exoU+	19	18(28.13)	1(7.14)	0(0.00)	0(0.00)
exoT+/exoY+/exoS+/exoU+	5	3(4.69)	1(7.14)	0(0.00)	1(25.00)
exoT+/exoY+/exoS-/exoU-	1	0(0.00)	1(7.14)	0(0.00)	0(0.00)
exoS 总阳性	67	46(71.88)	12(85.71)	5(100.00)	4(100.00)
exoU 总阳性	24	21(32.81)	2(14.29)	0(0.00)	1(25.00)

2.7 不同基因型组合 CR-PA 对常见抗菌药物的耐药率比较 CR-PA 携带的毒力基因主要存在两种组合形式,以 exoT+/exoY+/exoS+ exoU- 和 exoT+/exoY+/exoS- exoU+ 基因型组合为主,两种基因型组合对抗菌药物的耐药性有差异。药敏试验结果显示,exoT+/exoY+/exoS- exoU+ 基因型组合对大部分常见抗菌药物,如阿米卡星、妥布霉素、头孢吡肟、头孢他啶、头孢哌酮/舒巴坦、环丙沙星、哌拉西林的耐药率均明显高于 exoT+/exoY+/exoS+ exoU- 基因型组合,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。exoT+/exoY+/exoS- exoU+ 基因型组合对抗菌药物的耐药率大部分在 50.0% 以上,耐药情况明显。exoS 与 exoU 两种基因组合对不同抗菌药物的耐药率见表 5。

表 5 不同基因型组合 CR-PA 对常见抗菌药物的耐药率比较 (%)

抗菌药物	exoT+/exoY+/ exoT+/exoY+/		χ^2	P
	exoS+exoU- (n=62)	exoS- exoU+ (n=19)		
阿米卡星	14.5	47.4	9.081	0.003
妥布霉素	16.1	52.6	10.421	0.001
头孢吡肟	9.7	36.8	7.965	0.005
头孢他啶	33.9	68.4	7.128	0.008
头孢哌酮/舒巴坦	30.6	63.2	6.507	0.011
亚胺培南	69.4	63.2	0.256	0.613
美罗培南	56.5	78.9	3.115	0.078
左氧氟沙星	24.2	68.4	12.577	<0.001
环丙沙星	19.4	63.2	13.383	<0.001
替卡西林/克拉维酸	72.6	89.5	2.312	0.128
哌拉西林	43.5	73.7	5.284	0.022
黏菌素	6.5	10.5	0.352	0.553

3 讨 论

PA 在临床上属于最重要的非发酵革兰阴性杆菌,是一种条件致病菌。在免疫力低下时,PA 可引发多种感染,如烧伤感染、导管尿路感染、血流感染及囊

性纤维化肺炎等^[6]。PA 有非常复杂的耐药机制,主要包括内在性、获得性和适应性 3 种途径^[7-8]。CR-PA 主要存在于 ICU、神经外科、呼吸科等重点科室^[9-12],它的检出对相关科室提出了重要挑战,由于耐药机制复杂导致治疗非常棘手。PA 致病机制中,T3SS 是一个至关重要的感染途径,该系统受到多种精密复杂的调控,能造成宿主细胞的免疫系统破坏^[13],增加感染风险,它会加重感染的严重程度,从而影响患者的临床表现及预后康复。T3SS 是由于 PA 为了保护自己不被消灭而进化的系统,主要分泌 exoT、exoY、exoS 和 exoU 4 种效应蛋白,从而发挥杀伤细胞的作用。exoT 能够诱导细胞凋亡,这个功能使 exoT 成为一种有效的致命毒性蛋白。除此之外,exoT 还可调节激酶活化,对宿主细胞的吞噬功能产生巨大影响,促使 PA 逃避宿主免疫系统的杀伤清除。exoY 含有核苷酸环化酶的功能,它可以破坏宿主细胞的免疫屏障,导致免疫力低下患者发生急性或慢性感染。exoU 是一种含有磷脂酶 A2 活性,并且有高毒性的致病分泌蛋白,能够造成宿主细胞迅速破坏裂解,它常与严重的急性肺损伤、败血症死亡相关^[14-15]。exoS 能够抵抗宿主细胞吞噬杀伤,诱导细胞发生凋亡,它的毒性作用仅仅低于 exoU,能够促使 PA 在极端宿主免疫应答下生存,被认为是 PA 存活必不可少的重要致病毒力基因。

本研究主要是对临床分离的 87 株 CR-PA 进行分析,病原菌主要来自 ICU 与神经外科,标本类型主要是痰液 73.56% (64/87) 及分泌物 16.09% (14/87),与孙慕溱等^[16] 研究结果相似,所有 CR-PA 都携带 T3SS 毒力基因。检出的 CR-PA 全部携带 exoT 与 exoY 基因,阳性率为 100.00%,但是 exoS 和 exoU 基因阳性率不同,exoS 基因为 77.01%,exoU 基因为 27.59%。虽然检出的 exoU 基因占比少,但是该基因的细胞毒性被认为是 exoS 的 100 倍。通常情况下,exoS 和 exoU 基因一般不会同时出现,具有排他性,主要以 exoS+ exoU- (侵袭型) 或 exoS- exoU+ (细胞毒型) 的组合方式出现。本研究共检出 4 种 T3SS 毒力基因型组合,以 exoT+/exoY+/exoS+/exoU- 基因型组合为主,占 71.26%,与周凯

等^[17]研究数据相似。另外 3 种基因型组合形式分别为 *exoT*+/*exoY*+/*exoS*-/*exoU*+ (21.84%)、*exoT*+/*exoY*+/*exoS*+/*exoU*+ (5.75%)、*exoT*+/*exoY*+/*exoS*-/*exoU*- (1.15%)。在痰液标本中, *exoS*+/*exoU*- 基因型与 *exoS*-/*exoU*+ 基因型阳性率均最高, 与方雪瑶等^[18]研究相同。*exoU* 基因主要出现在痰液标本中, 可能与它的致病机制有关。国外 HARDY 等^[14]研究表明, *exoU* 通过靶向宿主质膜和诱导 caspase-1 介导的炎症通路, 破坏肺微血管内皮细胞屏障的完整性, 对肺部造成严重损伤, 导致重症肺炎发生。毒力基因检测结果与国外 OLANIRAN 等^[19]研究数据相似, *exoS* 与 *exoU* 基因存在的主要形式为 *exoS*+/*exoU*-, 说明在不同地区 *exoS* 与 *exoU* 基因的组合存在相似性。87 株 CR-PA 全部含有 T3SS 毒力基因, 说明该系统对 PA 的感染致病性具有重大作用。

作为院内感染的重要病原菌之一, 入住 ICU 的患者更趋向产生 CR-PA, 治疗多重耐药的 PA 面临非常大的挑战^[20]。*exoS* 与 *exoU* 基因存在两种组合形式, *exoT*+/*exoY*+/*exoS*-/*exoU*+ 基因型组合对大部分常见抗菌药物耐药率均高于 *exoT*+/*exoY*+/*exoS*+/*exoU*- 基因型组合, 如阿米卡星、妥布霉素、头孢吡肟、头孢他啶、头孢哌酮/舒巴坦、环丙沙星、哌拉西林, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 与文献^[21]报道相似。携带 *exoT*+/*exoY*+/*exoS*-/*exoU*+ 基因型对喹诺酮类抗菌药物耐药率高, 可能与其 *gyrA* 基因突变及外排泵表达过度有关, 使其耐药率急剧上升。药敏试验结果显示, CR-PA 对黏菌素的耐药率非常低, 仅为 8.0%, 表明难治性 CR-PA 可采用黏菌素联合其他抗菌药物进行治疗, 这将作为最后的治疗策略。

综上所述, 本研究主要发现 T3SS 的 4 种毒力基因型组合形式。不同的 CR-PA 毒力基因型之间耐药率存在差异, 应针对不同基因型组合选择合适的抗菌药物, 确保患者用药的科学性与安全性。分析院内 CR-PA 毒力基因型, 可为医院感染预防控制 CR-PA 提供理论依据。

参考文献

[1] JURADO-MARTÍN I, SAINZ-MEJÍAS M, MCCLEAN S. *Pseudomonas aeruginosa*: an audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(6): 3128.

[2] 何媛, 宋贵波. 铜绿假单胞菌毒力因子及调控机制的研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2023, 51(2): 94-99.

[3] 万璐, 吴小军. 铜绿假单胞菌 III 型分泌系统效应蛋白的作用及机制研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2022, 39(11): 1092-1095.

[4] 韩美娟, 汤建华, 刘云宁. 铜绿假单胞菌分泌系统及其毒力因子研究进展[J]. 神经药理学报, 2022, 12(6): 45-50.

[5] KHODAYARY R, NIKOKAR I, MOBAYEN M R, et al.

High incidence of type III secretion system associated virulence factors (exoenzymes) in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian burn patients[J]. BMC Res Notes, 2019, 12(1): 28.

[6] 李霖, 黄文治, 乔甫. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌血流感染患者的预后及其影响因素研究[J]. 华西医学, 2023, 38(3): 352-357.

[7] 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.

[8] 俞蕙. 碳青霉烯类耐药铜绿假单胞菌耐药机制与治疗现状[J]. 临床儿科杂志, 2023, 41(8): 561-565.

[9] 赵越, 黄雅轩, 阙熠芳, 等. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌感染的临床特征及相关危险因素研究[J]. 中国实验诊断学, 2023, 27(12): 1421-1425.

[10] HORNA G, RUIZ J. Type 3 secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Microbiol Res, 2021, 246: 126719.

[11] 张绮萍, 陆锦琪, 金建文, 等. 2018—2022 年某三甲医院耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌临床分离株分布及耐药性[J]. 中华医院感染学杂志, 2024, 34(5): 658-662.

[12] 林秀娟, 朱健强, 周勇. 神经外科耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌肺部感染的危险因素分析[J]. 广州医科大学学报, 2021, 49(2): 1-5.

[13] TUON F F, DANTAS L R, SUSS P H, et al. Pathogenesis of the *pseudomonas aeruginosa* biofilm: a review[J]. Pathogens, 2022, 11(3): 300.

[14] HARDY K S, TUCKEY A N, RENEMA P, et al. ExoU induces lung endothelial cell damage and activates pro-inflammatory caspase-1 during *pseudomonas aeruginosa* infection[J]. Toxins (Basel), 2022, 14(2): 152.

[15] HARDY K S, TESSMER M H, FRANK D W, et al. Perspectives on the *pseudomonas aeruginosa* type III secretion system effector ExoU and its subversion of the host innate immune response to infection[J]. Toxins (Basel), 2021, 13(12): 880.

[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] 周凯, 时翠娟, 宋国滨, 等. 铜绿假单胞菌 QS 系统调控基因和毒力基因的携带、表达及与耐药的相关性[J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(5): 748-753.

[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] OLANIRAN O B, DONIA A, ADELEKE O E, et al. Prevalence of type III secretion system (T3SS) and biofilm development in genetically heterogeneous clinical isolates of *pseudomonas aeruginosa* from Nigeria[J]. Curr Microbiol, 2023, 80(11): 349.

[20] 吕鹏, 张茉莉, 赵泓, 等. 多重耐药铜绿假单胞菌感染治疗药物研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(6): 720-725.

[21] 张秀彩, 张肖肖, 王忠永, 等. 铜绿假单胞菌中 T3SS 毒力基因分布、表达及与抗菌药物耐药相关性研究[J]. 临床检验杂志, 2019, 37(1): 14-18.