

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20217348

· 综述 ·

铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素异质性耐药的研究进展

刘宇阳¹, 陈 茶^{2,3}, 黄 彬¹

(1. 中山大学附属第一医院检验科, 广东 广州 510080; 2. 广州中医药大学第二附属医院检验科, 广东 广州 510120; 3. 广东省中医院检验科, 广东 广州 510120)

[摘要] 异质性耐药指同一克隆菌株中同时存在对某种抗菌药物耐药及敏感亚群的现象。碳青霉烯类抗生素是临床治疗铜绿假单胞菌感染的常用药物, 随着其使用增加, 碳青霉烯类异质性耐药铜绿假单胞菌(CHPA)的检出率日益增高。但是, 至今没有标准、高效、低成本的 CHPA 检测方法应用于临床, 常导致 CHPA 漏检和临床治疗失败。本文对异质性耐药的定义、检测方法、CHPA 的耐药机制、临床及流行病学特征进行综述, 为临床诊断和治疗 CHPA 感染提供参考。

[关键词] 铜绿假单胞菌; 异质性耐药; 碳青霉烯类抗生素

[中图分类号] R378

Research progress of heteroresistance to carbapenems in *Pseudomonas aeruginosa*

LIU Yu-yang¹, CHEN Cha^{2,3}, HUANG Bin¹ (1. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Department of Laboratory Medicine, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China; 3. Department of Laboratory Medicine, Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

[Abstract] Heteroresistance refers to the co-existence of bacterial resistance and sensitivity to certain antimicrobial agents in the same clone. Carbapenems are the preferred drugs for the treatment of infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. With the increasing use of carbapenems, isolation rate of carbapenem-heteroresistant *Pseudomonas aeruginosa* (CHPA) gradually increased. However, there is no standard, efficient and low-cost detection method for CHPA that can be applied in clinical practice, leading to the failure of detection and treatment for CHPA infection. This paper reviewed the definition and detection methods of heteroresistance, as well as resistance mechanism, clinical and epidemiological characteristics of CHPA, provide references for clinical diagnosis and treatment of CHPA infection.

[Key words] *Pseudomonas aeruginosa*; heteroresistance; carbapenem

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)是引起医院感染的主要条件致病菌^[1]。随着抗菌药物的广泛使用, PA 耐药情况越来越严重, 常常出现多重耐药和泛耐药 PA, 导致严重且难以治疗的医院获得性感染^[2]。免疫力低下患者对 PA 具有较高

的易感性, PA 引发的感染在该类人群中可导致较高的病死率^[3]。

异质性耐药(heteroresistance, HR)现象在1947年首次被发现于革兰阴性细菌流感嗜血杆菌^[4]中, 20年后在革兰阳性细菌葡萄球菌中再次

[收稿日期] 2020-07-06

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81871703, 81772249)

[作者简介] 刘宇阳(1995-), 女(藏族), 四川省成都市人, 硕士研究生, 主要从事细菌耐药机制研究。

[通信作者] 黄彬 E-mail: huangb3@mail.sysu.edu.cn

被观察到,但直至 1970 年“异质性耐药”的概念才明确被提出。临床上常根据微生物自动化检测仪的药敏结果选择抗菌药物治疗病原菌感染。HR 菌株因难以被常规方法检出而漏检,在抗菌药物的选择压力下可能导致高水平亚群的出现,造成临床治疗失败和感染复发。随着碳青霉烯类抗生素应用增加,其相关的 HR 日益增多。目前,肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌和大肠埃希菌等临床常见病原菌^[5-11]对碳青霉烯类抗生素的异质性耐药已有较多研究^[12],但关于碳青霉烯类异质性耐药铜绿假单胞菌(carbapenem-heteroresistant *Pseudomonas aeruginosa*, CHPA)的相关报道较少。严格控制碳青霉烯类药物的使用对于减少 PA 感染者 CHPA 的发生至关重要。研究^[13]表明,2011—2015 年 CHPA 的分离率呈逐年上升趋势,我国西南地区已广泛发现 CHPA 菌株,在侵袭性 PA 中,CHPA 的检出率高达 84.9%。CHPA 的耐药机制至今尚未得到充分研究,CHPA 的检测和鉴定也缺乏统一的标准。本文对 CHPA 的研究现状包括 HR 定义、检测方法、CHPA 耐药机制、临床及流行病学特征进行综述,为临床诊断与治疗 CHPA 感染提供新思路。

1 HR 的定义

HR 指同一克隆菌株中同时存在对某种抗菌药物耐药及敏感亚群的现象,即体外药敏试验如 K-B 法检测细菌对某种抗菌药物的敏感性时,在抑菌圈内有相同种属的菌落生长^[14]。有临床意义的表型主要体现为大部分亚群敏感,但有一小部分亚群耐药,极少数亚群甚至出现高水平耐药。常规剂量抗菌药物作用下,这部分耐药亚群不能被杀死,可能导致临床应用抗菌药物治疗失败^[14-15]。

在研究 PA 的 HR 过程中,需要考虑以下几点:第一,耐药亚群的耐药水平。大多数研究采用最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)与最高不抑菌浓度(the highest noninhibitory concentration, HNIC)的比值表示耐药亚群的耐药水平^[16]。研究显示,不同细菌的异质性耐药水平略有差异。例如,鲍曼不动杆菌、PA 和肺炎克雷伯菌的 MIC 和最高不抑菌浓度的比值 > 8 时,判定为 HR^[1,17];阴沟肠杆菌的 MIC 和最高不抑菌浓度的比值 > 2 时,判定为 HR^[18]。第二,耐药亚群频率。耐药亚群频率常用耐药亚群细菌数占细菌总数的百分比表示,即大于 8 倍 MIC 浓度的抗菌药物平板上

生长的菌落数占无抗菌药物平板上生长的细菌总数的百分比。耐药亚群频率的检测极限在 10^{-7} 甚至更低,不同检测方法的敏感性有所差异^[19]。因此,有必要报告大于 8 倍 MIC 浓度抗菌药物平板的耐药亚群频率。第三,HR 的稳定性。稳定性是指异质性耐药亚群在无抗菌药物培养基中连续传代后恢复亲代菌株耐药水平的能力。稳定性直接关系到 HR 的检测水平。在 Wong 等^[20]的研究中耐万古霉素葡萄球菌 HR 是稳定的,而部分研究^[21]中 HR 是不稳定的。CHPA 通常表现为稳定的 HR^[22-23]。

综上所述,在 HR 中,除了关注耐药亚群的存在,还应关注耐药水平、耐药频率和 HR 稳定性。

2 HR 的检测方法

传统的微生物药敏试验不能识别出具有 HR 的菌株,导致 HR 漏检并可能导致抗菌药物治疗的失败。因此,及时、准确地检测 HR 菌株对于其所致感染的治疗非常重要。然而,HR 的检测至今没有标准化方法,各实验室的检测方法也各有差异。常规的 HR 检测方法有改良 K-B 法、E-test 法和菌群谱型分析法^[24]三种。近年来也开发出一些新的检测和辅助检测方法,如 PAP 曲线下面积法(PAP-AUC)^[25]、时间杀伤试验法^[26]、毛细管电泳法^[27]以及全基因组测序法^[28]等。

2.1 改良 K-B 法和 E-test 法 K-B 法和 E-test 法常用于临床药敏试验,分别检测细菌对抗菌药物的抑菌圈直径和 MIC 值。采用这两种方法在抑菌圈内通常可直观发现可能存在的 HR 菌落,但假阴性概率较高。为了增加 HR 的检出率,Andersson 等^[29]对美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)公布的药敏纸片扩散法进行了适当修改,即将菌液接种浓度从 0.5 增加到 2.0 麦氏单位,并将温箱孵育时间从 24 h 增加到 48 h。具体方法为:将菌液调至 2.0 麦氏单位后,均匀涂布于 M-H 平板,贴相应的药敏纸片或 E-test 试条,37℃孵育 48 h 后观察结果^[25]。该方法有效降低了 HR 检测的假阴性率。研究^[21]表明,改良 K-B 法和 E-test 法仍存在较高的假阴性,只能用于 HR 的初筛。

2.2 菌群谱型分析法 菌群谱型分析法(population analysis profiling, PAP)被认为是 HR 检测的金标准^[14]。将过夜培养的菌液浓度调节至 1.0×10^7 CFU/mL,取 20 μ L 涂布于梯度抗菌药物

(具体浓度根据细菌 MIC 而定,如 PA 对美罗培南 MIC 折点值为 2~8 mg/L^[30],则可选择梯度抗菌药物板浓度为 0.5~32 mg/L)平板上,37℃ 孵育 48 h 后计数菌落,其 HNIC 与 MIC 浓度比值大于 8,则判定为 HR。PAP 结果可以提供耐药亚群频率和 MIC 等信息,但过程非常繁琐,通常只用于实验室研究和一些特殊临床病例。改良 PAP 方法采用微量稀释滴定^[31](取微量菌液滴定于抗菌药物滴度平板,不涂布均匀,观察细菌是否生长),在节约成本的基础上,提高了 HR 的检出效率,但由于滴定的菌量相对较小,也可能存在假阴性。PAP 是检测异质性耐药最可靠的方法,但由于其高成本和低效率的特点,在临床应用中难以实施。

2.3 PAP-AUC PAP-AUC 是一种改良的 PAP,有研究将 PAP-AUC 作为检测异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌(heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*, hVISA)的金标准^[32]。具体操作如下:将过夜培养的菌液调节至 1.0×10^7 CFU/mL,取 100 μ L 涂布于含有 0.5、1、2、2.5 和 4 mg/L 万古霉素的脑心浸液(brain heart infusion, BHI)平板上。在 37℃ 孵育 48 h 后进行菌落计数,并使用 GraphPad Prism 软件将存活细菌数与万古霉素浓度作 AUC 曲线图,计算曲线下面积^[25]。与 PAP 相比,PAP-AUC 操作更为繁琐,成本主要由筛选试验后所需的 PAP-AUC 检测次数决定。

2.4 时间杀伤试验法 在时间杀伤试验(time-killing assay)中,细菌在抗菌药物作用下,敏感菌群被杀死,但耐药亚群不断繁殖,会出现菌落数先下降后增加的现象^[33]。将过夜菌培养液浓度调节至大于 1.0×10^5 CFU/mL,在 0.5~4 倍 MIC 值梯度抗菌药物浓度作用下,通过记录 2、4、6、8、10、12、24 和 48 h 抗菌药物作用下细菌数量的变化作时间杀伤曲线来判读结果。时间杀伤曲线法可以作为 HR 的验证方法,但其灵敏度和准确度不及 PAP,过程也相对繁琐,不适用于临床检测。此外,时间杀伤曲线法还可以用于检测抗菌药物联合应用的疗效,评估联合用药的协同作用^[34]。

2.5 毛细管电泳法 有研究表明毛细管电泳法(capillary electrophoresis, CE)可快速检测革兰阴性细菌对粘菌素的 HR 亚群。研究表明,CE 法可以根据细菌的表面特性分离不同的菌株。通过简单的 CE 运行,只需几分钟,便能清楚地检测出细菌亚群是否共存^[27]。这种新兴的细菌亚群检测技术尚

未成熟,有待研究并应用于 HR 的检测。

2.6 全基因组测序法 全基因组测序法(whole genome sequencing, WGS)已应用于细菌亚群的分析。通过分析耐药亚群基因型的变化,检测出 HR。研究^[28]表明在金黄色葡萄球菌和结核分枝杆菌中,WGS 的准确度高于传统表型检测,但在耐药亚群频率小于 10^{-2} 时灵敏度不高。也有研究^[35]表明 WGS 不能准确检测出肠道沙门氏菌的 HR 亚群。全基因组测序的分析相对复杂,对生物信息学有较高的依赖性,尚未应用于临床检测。

综上所述,为了防止 CHPA 的临床治疗失败和耐药菌株的传播,有必要规范 PAP 的操作流程,并发展出更高敏感性、更高重复性和简便的新兴检测技术(例如,在同一 M-H 平板中设置不同抗菌药物梯度形成梯度抗菌药物平板等^[29])用于临床试验。

3 CHPA 的异质性耐药机制

HR 菌株难以被临床微生物自动化仪器检出,长期用药可能导致高水平耐药亚群的出现,造成临床治疗失败和感染复发。因此,研究 HR 机制对耐药性监测和患者预后至关重要。自 1947 年首次发现 HR 现象以来,几乎在所有革兰阳性菌和革兰阴性细菌中都发现了 HR。临床分离的大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物均具有明显的异质性耐药;但只有少数文献报道了可能与 CHPA 相关的耐药机制,例如,生物膜形成、外排泵 MexAB、MexCD 的高表达和膜孔蛋白 OprD 的缺失等^[36-38]。AmpC 过表达与 CHPA 的关系尚有争议,Cabot 等^[37]认为 AmpC 过表达是 CHPA 最主要的机制,而 He 等^[13]则认为 AmpC 可能不参与 PA 的 HR。

机制研究表明,外排泵系统的过表达和膜孔蛋白的表达下调可能是 PA 对碳青霉烯类抗生素异质性耐药的主要机制。PA 通过阻止抗菌药物进入细菌或增加抗菌药物的排出,以达到对抗菌药物耐药的目的。

3.1 外排泵系统的过表达 Ikonomidis 等^[36]指出 CHPA 的机制与外排泵基因表达上调有关。与亲代菌株相比,HR 菌株外排泵相关基因包括 mexB、mexC、mexE 和 mexX 的表达都出现上调。值得注意的是,亚胺培南异质性耐药(imipenem heteroresistance, IPM-HR)菌株中 mexB 和 mexE 均表现出明显上调,美罗培南异质性耐药(meropenem

heteroresistance, MPM-HR) 菌株中 mexE 表现为明显上调, 而 mexB 与亲代菌株水平无明显差异。这一现象可能是由于亚胺培南的化学结构中缺乏一个可以被 MexAB-OprM 系统识别的杂环侧链^[38]。

3.2 膜孔蛋白 OprD 基因表达下调 PA 的 HR 亚群还表现出 OprD 基因和蛋白的表达显著降低^[36]。外排泵的上调和 OprD 基因的下调在一定程度上都促进了 CHPA 对碳青霉烯类抗生素 HR 的产生^[38-39]。

3.3 生物膜的形成 大量研究^[13]表明, 所有 CHPA 的生物膜都明显增加。生物膜延缓了抗菌药物的渗透, 降低了微生物的生长速度, 从而促进了具有不同抗性水平的亚群在细菌群体中的出现。生物膜的检测一般分为定性法和定量法两种, 定性法是指利用荧光显微镜、相差显微镜或者扫描电镜观察细菌生物膜形态, 定量法指半定量结晶紫法或者生物膜内的活菌计数法等。前者较后者更为直观。

另外, He 等^[13]通过 PCR 检测 CHPA 分离株是否产金属 β -内酰胺酶 (metallo- β -lactamase, MBLs), 发现 CHPA 中 MBLs 基因型阴性^[5], 与一般耐药机制不同。这与吴婷婷关于铜绿假单胞菌亚胺培南异质性耐药机制的研究结果一致^[34]。因此, CHPA 的耐药机制可能与外排泵系统、膜孔蛋白以及生物膜的产生有关, 与 MBLs 的产生无关。

4 CHPA 的临床及流行病学特征

尽管 CHPA 在世界范围内已被观察到, 但其流行病学资料不多^[40]。在我国 CHPA 感染患者中, IPM-HR (41.9%, 189/451) 和 MPM-HR (72.5%, 327/451) 分离株所致感染比例较高。IPM-HR 分离株的分离率 2011 年为 41.7%, 2015 年增加至 62.1%, MEM-HR 分离率也出现了上升趋势^[13]。马幸延等^[41]检测了 169 株临床分离的 PA 对多种抗菌药物的药敏情况, 检出并确认了 50 株 CHPA 菌株, 检出率为 29.59%。其中 MPM-HR 株和 IPM-HR 株的检出率分别为 26.04% (44/169) 和 13.02% (22/169), 同时对这两种抗菌药物均异质性耐药的菌株检出率为 9.47% (16/169)。如前所述, 常规临床药敏试验难以检测出 HR 的存在, HR 菌株通常被判定为敏感菌株^[42]。在 PA 的感染中, 这将导致 HR 亚群用常规剂量碳青霉烯类抗生素治疗失败。

5 小结与展望

目前, 碳青霉烯类抗生素已成为治疗 PA 感染的主要抗菌药物, 随着用药率的增加 HR 亚群频率也出现上升。为控制 CHPA 的感染和传播, 使用抗菌药物应遵循以下两种方式: 第一, 换用无 HR 现象的敏感抗菌药物, 以较低的剂量达到抗菌目的; 第二, 联合用药, 利用协同效应达到治疗效果。两种方式中应优先考虑前者。

HR 机制十分复杂, 至今尚未明确。HR 可能是细菌自然进化的工具, 因为其为细菌提供了在抗菌药物压力下继续生存的机会^[43]。深入和全面地了解 CHPA 耐药机制, 将有助于指导临床合理用药, 减少临床碳青霉烯类抗生素治疗 PA 感染的失败。PAP 作为检测 HR 的金标准, 有必要简化其检测流程, 例如, 采用微量稀释滴定 PAP 或者设计梯度抗菌药物 PAP 平板, 标准化 PAP 操作流程。同时, 发展高效快速的新兴检测技术, 为临床诊断和治疗 CHPA 感染提供参考, 减少住院患者 CHPA 的感染和传播。

[参考文献]

- [1] Buehrle DJ, Shields RK, Clarke LG, et al. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and microbiologic treatment failure[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(1): e01243-16.
- [2] Kang CI, Kim SH, Kim HB, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome [J]. *Clin Infect Dis*, 2003, 37(6): 745-751.
- [3] Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? [J]. *Clin Infect Dis*, 2002, 34(5): 634-640.
- [4] Alexander HE, Leidy G. Mode of action of streptomycin on type b *Hemophilus influenzae*: II. Nature of resistant variants[J]. *J Exp Med*, 1947, 85(6): 607-621.
- [5] Bakthavatchalam YD, Veeraraghavan B, Devanga Ragupathi NK, et al. Draft genome sequence of reduced teicoplanin-susceptible and vancomycin-heteroresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from sepsis cases[J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2017, 8: 169-171.
- [6] Walsh CC, McIntosh MP, Peleg AY, et al. In vitro pharmacodynamics of fosfomycin against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70(11): 3042-3050.
- [7] Engel H, Mika M, Denapate D, et al. A low-affinity penicil-

- lin-binding protein 2x variant is required for heteroresistance in *Streptococcus pneumoniae* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(7): 3934–3941.
- [8] Bardet L, Baron S, Leangapichart T, et al. Deciphering heteroresistance to colistin in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from Marseille, France[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61(6): e00356–17.
- [9] Halaby T, Kucukkose E, Janssen AB, et al. Genomic characterization of colistin heteroresistance in *Klebsiella pneumoniae* during a nosocomial outbreak[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(11): 6837–6843.
- [10] Ikonomidis A, Neou E, Gogou V, et al. Heteroresistance to meropenem in carbapenem-susceptible *Acinetobacter baumannii*[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(12): 4055–4059.
- [11] Metcalfe JZ, Streicher E, Theron G, et al. Mycobacterium tuberculosis subculture results in loss of potentially clinically relevant heteroresistance[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61(11): e00888–17.
- [12] Dantas RCC, Silva RTE, Ferreira ML, et al. Molecular epidemiological survey of bacteremia by multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: the relevance of intrinsic resistance mechanisms[J]. PLoS One, 2017, 12(5): e0176774.
- [13] He JC, Jia XJ, Yang SS, et al. Heteroresistance to carbapenems in invasive *Pseudomonas aeruginosa* infections[J]. Int J Antimicrob Agents, 2018, 51(3): 413–421.
- [14] El-Halfawy OM, Valvano MA. Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity[J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28(1): 191–207.
- [15] Markova N, Haydoushka I, Michailova L, et al. Cell wall deficiency and its effect on methicillin heteroresistance in *Staphylococcus aureus* [J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(3): 255–260.
- [16] 周妍君, 贾晓炯, 何建春, 等. 亚胺培南异质性耐药阴沟肠杆菌的临床特征和感染危险因素调查[J]. 中国医药导报, 2019, 16(16): 147–150.
- [17] Fernández Cuenca F, Sánchez Mdel C, Caballero-Moyano FJ, et al. Prevalence and analysis of microbiological factors associated with phenotypic heterogeneous resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* [J]. Int J Antimicrob Agents, 2012, 39(6): 472–477.
- [18] da Silva AEB, Martins AF, Nodari CS, et al. Carbapenem-heteroresistance among isolates of the *Enterobacter cloacae* complex: is it a real concern? [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2018, 37(1): 185–186.
- [19] Zheng C, Li S, Luo ZY, et al. Mixed infections and rifampin heteroresistance among *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(7): 2138–2147.
- [20] Wong SS, Ho PL, Woo PC, et al. Bacteremia caused by *staphylococci* with inducible vancomycin heteroresistance[J]. Clin Infect Dis, 1999, 29(4): 760–767.
- [21] Nicoloff H, Hjort K, Levin BR, et al. The high prevalence of antibiotic heteroresistance in pathogenic bacteria is mainly caused by gene amplification[J]. Nat Microbiol, 2019, 4(3): 504–514.
- [22] Mei SC, Gao YL, Zhu CT, et al. Research of the heteroresistance of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(4): 6129–6132.
- [23] Qin X, Zhou C, Zerr DM, et al. Heterogeneous antimicrobial susceptibility characteristics in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients[J]. mSphere, 2018, 3(2): e00615–17.
- [24] 方云, 王起, 柏长青, 等. 鲍曼不动杆菌异质性耐药研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(8): 791–796.
- [25] Wootton M, Howe RA, Hillman R, et al. A modified population analysis profile (PAP) method to detect heteroresistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital[J]. J Antimicrob Chemother, 2001, 47(4): 399–403.
- [26] Sherman EX, Wozniak JE, Weiss DS. Methods to evaluate colistin heteroresistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. Methods Mol Biol, 2019, 1946: 39–50.
- [27] Sautrey G, Duval RE, Chevalley A, et al. Capillary electrophoresis for fast detection of heterogeneous population in colistin-resistant Gram-negative bacteria [J]. Electrophoresis, 2015, 36(20): 2630–2633.
- [28] Bradley P, Gordon NC, Walker TM, et al. Rapid antibiotic-resistance predictions from genome sequence data for *Staphylococcus aureus* and *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Nat Commun, 2015, 6: 10063.
- [29] Andersson DI, Nicoloff H, Hjort K. Mechanisms and clinical relevance of bacterial heteroresistance[J]. Nat Rev Microbiol, 2019, 17(8): 479–496.
- [30] 刘玉庆, 李璐璐, 骆延波, 等. EUCAST 欧盟药敏试验标准[J]. 中国标准导报, 2016(5): 60.
- [31] Iyer RN, Hittinahalli V. Modified PAP method to detect heteroresistance to vancomycin among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates at a tertiary care hospital[J]. Indian J Med Microbiol, 2008, 26(2): 176–179.
- [32] van Hal SJ, Wehrhahn MC, Barbogiannakos T, et al. Performance of various testing methodologies for detection of heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in bloodstream isolates[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(4): 1489–1494.
- [33] Li J, Rayner CR, Nation RL, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(9): 2946–2950.
- [34] Band VI, Hufnagel DA, Jaggavarapu S, et al. Antibiotic combinations that exploit heteroresistance to multiple drugs effectively control infection[J]. Nat Microbiol, 2019, 4(10): 1627–1635.
- [35] Zwe YH, Chin SF, Kohli GS, et al. Whole genome sequencing (WGS) fails to detect antimicrobial resistance (AMR) from heteroresistant subpopulation of *Salmonella enterica* [J]. Food Microbiol, 2020, 91: 103530.
- [36] Ikonomidis A, Tsakris A, Kantzanou M, et al. Efflux system

- overexpression and decreased OprD contribute to the carbapenem heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. FEMS Microbiol Lett, 2008, 279(1): 36 - 39.
- [37] Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Tubau F, et al. Overexpression of AmpC and efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from bloodstream infections: prevalence and impact on resistance in a Spanish multicenter study [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(5): 1906 - 1911.
- [38] Terzi HA, Kulah C, Ciftci IH. The effects of active efflux pumps on antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2014, 30(10): 2681 - 2687.
- [39] Arabestani MR, Rajabpour M, Yousefi Mashouf R, et al. Expression of efflux pump MexAB-OprM and OprD of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical samples using qRT-PCR [J]. Arch Iran Med, 2015, 18(2): 102 - 108.
- [40] Anderson SE, Sherman EX, Weiss DS, et al. Aminoglycoside heteroresistance in *Acinetobacter baumannii* AB5075 [J]. mSphere, 2018, 3(4): e00271 - 18.
- [41] 马幸延, 李虹霖, 鲁洋, 等. 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素异质性耐药的临床特征与危险因素分析 [J]. 热带医学杂志, 2019, 19(4): 398 - 403.
- [42] Band VI, Crispell EK, Napier BA, et al. Antibiotic failure mediated by a resistant subpopulation in *Enterobacter cloacae* [J]. Nat Microbiol, 2016, 1(6): 16053.
- [43] Morand B, Mühlemann K. Heteroresistance to penicillin in *Streptococcus pneumoniae* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(35): 14098 - 14103.

(本文编辑:曾翠、陈玉华)

本文引用格式:刘宇阳,陈茶,黄彬. 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素异质性耐药的研究进展 [J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(8): 763 - 768. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20217348.

Cite this article as: LIU Yu-yang, CHEN Cha, HUANG Bin. Research progress of heteroresistance to carbapenems in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Chin J Infect Control, 2021, 20(8): 763 - 768. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20217348.