

铜绿假单胞菌异质性耐药及新型抗菌活性物质的研究进展

高璇, 徐宁*, 王文娟

浙江工业大学, 浙江 杭州

收稿日期: 2021年12月10日; 录用日期: 2022年1月7日; 发布日期: 2022年1月14日

摘要

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)在自然界中分布广泛, 是重症监护室最常见的细菌, 又是院内感染最主要的死因。而异质性耐药是指细菌内部存在一个或多个亚群比其余种群具有更高的耐药性。异质性耐药可能会引起治疗的失败, 给患者带来不必要的痛苦和经济损失。本文就铜绿假单胞菌的耐药现状、检测方法、临床异质性耐药的检出情况、耐药机制和新研发活性物质的进展作如下综述。

关键词

铜绿假单胞菌, 异质性耐药, 抗生素, 抗菌活性物质

Progress on Heteroresistance and Antibacterial Active Substance of *Pseudomonas aeruginosa*

Xuan Gao, Ning Xu*, Wenjuan Wang

Zhejiang University of Technology, Hangzhou Zhejiang

Received: Dec. 10th, 2021; accepted: Jan. 7th, 2022; published: Jan. 14th, 2022

Abstract

Pseudomonas aeruginosa (PA) is the most common bacteria in intensive care units and the main cause of death in hospital infections, which widely distributed in nature. Heteroresistance means that different subgroups of bacteria show different sensitivities to a certain antibacterial. Since

*通讯作者。

heteroresistance often causes treatment failure, it brings unnecessary pain and economic loss to patients. In this paper, the research status, detection methods, heterogeneity resistance of existing drugs, resistance mechanism and the progress of newly developed drugs of PA are summarized as follows.

Keywords

Pseudomonas aeruginosa, Heteroresistance, Antibiotic, Antibacterial Active Substance

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)是革兰染色阴性杆菌的一种, 俗称绿脓杆菌。它是一种条件致病菌, 在正常人或者正常情况下不致病, 但免疫力低下或者罹患某些疾病的患者容易致病。根据中国细菌耐药性监测网报道[1], 2019年在统计其所属医院细菌耐药情况时, 发现在临床分离的革兰氏阴性致病菌中, 其分离率已仅次于大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌, 居于第3位, 已成为医院感染的主要病原菌之一, 同时它又是院内感染最主要的死因(病死率高达50%) [2]。

异质性耐药(Heteroresistance)作为一个引起抗生素治疗感染失败的重要原因, 是指细菌内部的不同亚群对某种抗菌药物表现出不同的敏感性[3]。异质性耐药常常会在普通药敏检测中被定义为敏感, 但是使用抗菌药物进行治疗却收效甚微, 甚至能从异质性耐药菌株中检测到具有极高耐药性的亚群。

异质性耐药在临床中会引起治疗的失败[4] [5], 导致严重的后果, 给患者带来不必要的身心折磨和经济损失。同时, 异质性耐药也是菌群从部分耐药转变为完全耐药的一个过程。因此, 研究异质性耐药对于认识致病菌株耐药的发展过程, 以及评估治疗方案和指导临床使用抗菌药物具有重要的意义。

2. 异质性耐药的发现

1997年日本学者[6]首次从患者痰液中分离出对甲氧西林异质性耐药的金黄色葡萄球菌, 自此以来, 不断陆续发现肠球菌异质性耐药、铜绿假单胞菌异质性耐药[7]、鲍曼不动杆菌异质性耐药[8]、大量葡萄球菌异质性耐药[9]的情况。

异质性耐药菌株也因其特性, 给感染病患的治疗带来了很大的困难。一名41岁男性患者[10], 其因感染了对万古霉素的异质性耐药的金黄色葡萄球菌, 在近两年的治疗时间里, 病情反复甚至用药治疗无效。而鲍曼不动杆菌对多粘菌素和碳青霉烯类药物的异质性耐药也引起了治疗的失败[11]。一位31岁的女性患者[4], 存在静脉注射药物的滥用史, 多次入院治疗, 用药无改善, 检测发现是感染了异质性耐药的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌。甚至一位四个月大的男婴[5], 接受心脏手术后感染了耐甲氧西林金黄色葡萄球菌, 接受万古霉素治疗后, 症状暂时消退, 12天后症状又迅速恶化。

3. PA 耐药形势

由于抗菌药物的不合理应用, 多重耐药、广泛耐药菌感染不断增加, 作为院感的重要目标菌, PA的耐药情况也是日益严峻, 多重耐药PA的出现, 使临床医生面临无药可选的困难处境。

李玮等[12]分析临床患者中分离出PA, 353株PA中对头孢唑啉、头孢呋辛、头孢噻肟、氨苄西林/

舒巴坦耐药率均大于 95%，这些临床 PA 仅对阿米卡星有着较高的敏感性。余建洪[13]等人研究所在医院的耐碳青霉烯 PA，发现其对亚胺培南耐药率高达 90.22%，高于美罗培南(69.57%)。其中 92 株 PA 对氨基糖苷类药物的耐药率也达到了中等水平(>36.0%)，而对氨基糖苷类的耐药率相对较低(<18.0%)。与沈阳地区报道[14]的 PA 对亚胺培南、美罗培南、阿米卡星、复方新诺明、环丙沙星耐药性相对较低不完全相符，证实了耐药性情况存在一定的区域差异性。目前 PA 对哌拉西林、头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素、左氧氟沙星保持着较好的敏感性，以上这几种药物可以作为临床 PA 经验治疗选择药物。

冯娜娜[15]等人调查重症监护病房情况显示，PA 引发的感染中 20.8% 的患者在 28 d 内死亡。而 PA 引起的呼吸机相关性肺炎患者的死亡率可达 30%~50% [16]。PA 这类条件致病菌，免疫力低下人群或部分患者容易致病，预后及治愈效果不佳，死亡率居高不下，一旦造成这类细菌的院内传播，势必造成更严重的后果，故 PA 的耐药情况更应该得到重视。

4. PA 异质性耐药的检测方法

目前检测 PA 异质性耐药主要通过 K-B 法或 E-test 法初步检测，即利用抗生素纸片(包括 E-test)的琼脂扩散方法，检测在透明的抑菌圈内是否有生长的菌落，再对存在该现象的疑似菌株采用群体分析法来进行确认。

群体分析法(population analysis profiling, PAP)是用于检测是否存在异质性耐药的一个“金标准”。其检测方法是：使细菌在 2 倍梯度的抗生素与琼脂培养基或液体培养基的环境下生长，观察其生长情况并进行单菌落计数，或观察其是否生长(浊度 PAP 法)。异质菌亚群的最大非抑菌浓度，比原细菌群体的最低抑菌浓度 ≤ 4 倍，则为“同质性”；如果 >8 倍，则为“异质性”；如果 $=8$ 倍，则为“中等异质性” [3]。

改良后的群体分析法[17]是通过待测菌株与给定的异质性耐药对照菌株间 PAP 曲线下面积的比率来判断待测菌株为敏感株、异质性耐药株还是耐药株，但该方法对对照菌株的耐药稳定性的要求很高。

在 Time-Killing 研究中，将细菌暴露在 4 倍菌株的最小抑菌浓度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)的抗生素条件下，检测菌株的生长。若该菌株为异质性耐药，开始活菌数会适度减少，培养 8~12 h 左右时间后大量重新生长，表明有一小部分耐药 PA 亚群在抗生素条件下存活下来，并大量增殖。该方法可一定程度上证实菌株中耐药亚群的存在。

Hu 等人[18]开发了一种高度敏感的 EZMTT 方法来进行抗生素敏感性测试(AST)，能捕捉到“隐藏”耐药性，该方法检测部分耐药性比传统的浊度检测方法灵敏度高出约 30%，有潜力成为新型的异质性耐药检测方法。

有时 K-B 法检测时抑菌圈中无菌落生长，但在用 PAP 法检测时却能够发现异质性耐药的存在。因此，对于异质性耐药的判定，目前还是应该以 PAP 方法为准，纸片法仅适用于临床的快速检测。

5. PA 临床异质性耐药检出比例及亚群频率

5.1. 头孢吡肟

头孢吡肟(Cefepime)是 20 世纪 90 年代由 BMS 公司开发的新型四代头孢菌素类药物，目前已用于临床治疗多种细菌感染性疾病。Jia 等[19]首次报道了从临床中分离的 PA 对头孢吡肟的异质性耐药现象。提供了首个临床证据，证明在体内的 PA 对头孢吡肟异质性耐药可被视为抗生素治疗过程中从易感到完全耐药进化的中间阶段。从 192 株符合研究要求的临床分离的 PA 中检测出 110 株(57.29%)对头孢吡肟异质性耐药，并且它们之间没有克隆关系。

5.2. 碳青霉烯类

碳青霉烯类药物是抗菌活性最强的非典型 β -内酰胺抗生素。目前临床治疗 PA 感染的药物有限, 而碳青霉烯对 PA 有较强的抑制效果, 目前是用于治疗 PA 感染的重要药物。然而随着耐碳青霉烯类抗生素的铜绿日益增多, 临床上也出现了比较多的碳青霉烯类异质性耐药的情况。

Ikonomidis 等[20]检测出对碳青霉烯类药物异质性耐药的 PA 临床分离株, 对其进行碳青霉烯类测试, 所有四株菌株的突变亚群的 MIC 值比原生细胞至少高四倍。Mei 等人[21]分析医院 140 株临床 PA 分离株中, 有 20 株 PA 菌株(18.87%)对亚胺培南异质性耐药, 且对亚胺培南异质性耐药的 PA 突变频率在 6×10^{-7} ~ 4.5×10^{-9} 之间。Xu 等人[22]从 131 株临床分离菌株中, 对亚胺培南敏感的铜绿中筛选出了 46 株异质性耐药菌(35.1%), 耐药亚群的频率为 2×10^{-7} 至 5.3×10^{-6} 。Pournaras 等[23]从医院病人分离出的 PA 中, 发现了 14 株(27.5%)表面上对碳青霉烯敏感的 PA, 实际上为异质性耐药菌。PAP 分析证实亚群能在浓度分别为 18mg/L 和 12mg/L 的亚胺培南和美罗培南浓度下增长, 频率从 6.9×10^{-5} 到 1.1×10^{-7} , 这表明它们可能无法通过标准琼脂稀释 MIC 测试检测出来。HE 等人[23]在 451 个感染侵入性 PA 的病人中, 发现 383 分离株(84.9%)对碳青霉烯类具有异质性耐药。其中美罗培南的异质耐药发生率很高(72.5%), 其次是亚胺培南(54.3%), 而其中 189 株(41.9%)同时对美罗培南和亚胺培南异质性耐药。Oikonomou 等[24]在使用亚胺培南和美罗培南进行的 PAP 检测中, 异质性耐药亚群体在没有抗生素的情况下传代培养后再次测试时, 显示出比本地群体高 2~4 倍的 MIC。亚胺培南类异耐药亚群的频率为 5×10^{-7} ~ 10^{-2} 。

5.3. 哌拉西林/他唑巴坦

Pournaras 等人[25]研究了从医院病人尿路感染样本中分离出的 PA 菌株(PA7171)。其对哌拉西林/他唑巴坦(16 mg/L)敏感。然而, 该分离菌株在哌拉西林/他唑巴坦纸片和试验试纸条周围的抑菌圈内出现菌落生长, 这意味着可能存在异质性耐药亚群。对其进行 PAP 群体分析, 结果表明, PA7171 在哌拉西林/他唑巴坦存在下生长, 浓度达到了 128 mg/L, 亚群频率为 10^{-7} 。

5.4. 粘菌素

没有其它抗生素可用时, 粘菌素将作为最后的治疗手段。铜绿对粘菌素异质性耐药的表型报道相对较少。Hermes 等人[26]发现多粘菌素 B 在 PA 中的异质性耐药并不常见, 有几个分离株表现出对多粘菌素 B 的 MIC 值升高的异质性亚群, 但仅在一个碳青霉烯类耐药株中发现异质性耐药情况。Lin 等[27]分析了临床分离的 231 株碳青霉烯, 其中检测到 9 株(3.90%)异质性耐药菌。对粘菌素的 MIC 比亲代的增高了 4~32 倍。亚群的频率为 3.61×10^{-8} ~ 7.06×10^{-6} 。11 株耐粘菌素或异质性耐药菌株中有 5 株(45.45%)表现出多重耐药。

目前临床的异质性耐药菌检出比例居高不下, 而异质性耐药的性质将会为未来的给药及评估带来极大的困难。目前只能采用多种抗生素或化合物联用的情况来降低单一抗生素异质性耐药带来的临床治疗失败。然而, 在组合不同的抗生素时必须小心, 因为药物联用的疗效具有高度的物种特异性, 而且大多数组合表现出拮抗作用。解决异质性耐药面临的问题还是需要: 准确得知细菌的表型, 精准快速的检测异质性耐药, 才能为给药治疗提供参考标准, 避免因异质性耐药而导致的临床治疗失败。

6. PA 的异质性耐药机制

PA 对各种抗菌药物具有很高的内在耐药性[28], 这种耐药性涉及到几种机制, 包括: 膜蛋白(*OprD*)的改变导致细胞膜透性的改变; 药物水解酶水解药物, 而药物修饰酶修饰药物, 使其失活; 一些酶参与外排泵的基因表达增加, 使药物从细胞中泵出; 一些酶导致靶标改变, 使药物无法与靶标结合等。

6.1. 染色体编码内酰胺酶 *AmpC* 的过量产生

许多研究已经证实, *AmpC* 过表达和外排系统上调通常有助于该物种对头孢吡肟产生耐药性[29][30]。Jia 等人[19]研究发现, 异质性耐药现象的出现可能是 PA 高水平表达 *AmpC* β -内酰胺酶可以增加产生生物膜[31]的能力。此外, PA 的 *AmpC* β -内酰胺酶的转录调控因子 *AmpR* 可以调控大量抗菌暴露[32]下的一系列毒力基因, 从而协同促进异质性耐药株的出现。临床病例进一步证实了 PA 的头孢吡肟异质性耐药, 通常是由 *AmpC* 的产生介导的, 在长时间的头孢菌素抗生素治疗下, 可以作为从易感到完全耐药的过渡阶段。

6.2. 外排泵 *MexAB* 的高表达和 *OprD* 孔蛋白的低表达

在临床分离株中, 对亚胺培南的异质性耐药的 PA 可能由于孔蛋白 *OprD* 的低表达, 影响了细胞膜的通透性, 以及外排泵 *MexAB* 的过表达, 加速药物被泵出。Ikonomidis 等人[20]研究发现, 突变的亚群与各自的本地亚群相比, 异质性亚群中 *MexB* 和 *MexY* 基因的转录水平显著升高, 而 *MexE* 基因的转录水平保持不变。*OprD* 基因表达显著降低, 孔蛋白 *OprD* 蛋白带强度降低。Mei 等人[21]研究显示, 在亚胺培南异质性耐药的 PA 中外排泵 *MexAB* 的表达量显著高于亚胺培南敏感的菌株。PA 对亚胺培南的异质性耐药可能与外排泵 *MexAB* 的高表达有关。同时, *OprD* 发生突变可能调节 PA 对亚胺培南的抗性。Xu 等人[22]研究显示, 对亚胺培南异质性耐药的 PA 菌株中 *OprD* 的表达水平下调。但 *MexE* 和 *MexY* 的转录水平均显著高于各自的天然亚群。外排系统的边上调可能间接影响亚胺培南的耐药性。He 等人[23]研究发现, 异质性耐药亚群产生的生物膜水平均高于他们的本地菌株。外排系统过表达和 *OprD* 降低可能是 PA 对碳青霉烯产生抗性的原因之一。

6.3. 双组分调节系统突变

Lin 等人[27]发现粘菌素异质性耐药主要是由于双组分调节系统(TCSs) (*PhoPQ* 和 *PmrAB*)的突变而形成的。9 株异质性耐药菌株中有 8 株存在非同义 *PmrB* 替换, 2 株 *PhoQ* 发生改变。相应的, *PmrB* 或 *PhoQ* 取代株中 *PmrA* 或 *PhoP* 表达水平上调。*PmrH* 基因的转录水平在所有被研究的分离株中均呈上升趋势。其中 PA 的粘菌素耐药和异质性耐药主要涉及 *PmrAB* 调节系统的改变。

临床异质性耐药检出比例及其相关机制汇总见表 1。

Table 1. Heteroresistance and mechanism

表 1. 药物异质性耐药情况及机制

药物	临床耐药情况及占比	耐药基因及酶	耐药机制
头孢吡肟	110 株(57.3%)对头孢吡肟异质性耐药[19]	<i>AmpC</i> β -内酰胺酶	<i>AmpC</i> 过表达和外排系统上调可以增加产生生物膜的能力
碳青霉烯类	4 株基因不相关的 PA 临床分离株[20]	<i>MexB</i> 和 <i>MexY</i> 基因的转录水平升高、 <i>OprD</i> 基因表达降低, 孔蛋白 <i>OprD</i> 蛋白强度降低	孔蛋白 <i>OprD</i> 的低表达, 影响了细胞膜的通透性, 以及流出泵的过表达, 加速药物被泵出
亚胺培南	20 株(18.87%)对亚胺培南具有异质性耐药的 PA 菌株[21]	外排泵 <i>MexAB</i> 的表达量显著高于敏感的菌株	对亚胺培南的异质性耐药与外排泵 <i>MexAB</i> 的高表达有关
亚胺培南	46 株(35.1%)异质性耐药 PA 菌株[22]	<i>OprD</i> 的表达水平下调, <i>MexE</i> 和 <i>MexY</i> 的转录水平均显著升高	孔蛋白 <i>OprD</i> 的低表达, 影响了细胞膜的通透性, 以及流出泵的过表达, 加速药物被泵出

Continued

粘菌素	9 株(6%)异质性耐药 PA 菌株[27]	8 株存在非同义 PmrB 替换, 2 株 PhoQ 发生改变。PmrB 或 PhoQ 取代株中 PmrA 或 PhoP 表达水平上调	粘菌素异质性耐药主要是由于双组分调节系统(TCSs)(PhoPQ 和 PmrAB)的突变而形成的
-----	------------------------	---	--

7. 抗 PA 感染药物及其新型活性物质研发

7.1. 临床使用抗生素

临床常应用于治疗 PA 感染的药物主要有头孢菌素、氨基糖苷类、氟喹诺酮类、碳青霉烯类等。像碳青霉烯类药物主要有美洛培南和亚胺培南, 是目前用于 PA 耐多药感染的有效药物之一, 但目前碳青霉烯类的异质性耐药的临床检出常有报道, 大型医院内由于 PA 耐药性迅速增加, 广泛耐药(XDR)、全耐药(PDR)甚至异质性耐药菌株不断增多, 使可应用的敏感药物非常有限, 治疗非常困难。

7.2. 抗 PA 的新型活性物质

目前细菌对于抗生素的耐药率逐渐升高, 我们可能正在耗尽有效的抗生素, 与此同时, 新的抗生素药物的临床管道已经干涸。2019 年, 世界卫生组织[33]确认了临床开发中的 32 种抗生素, 其中仅有六种被归类为创新型。抗生素短缺正影响着处于各个发展水平的国家。而异质性耐药的出现, 更将会加剧这个情况。目前迫切需要获得高质量的抗微生物药物, 如何获得它们是目前科研工作者们的首要任务。

Iio 等人[34]合成了 L: 5-乙氧基-2-巯基苯并咪唑、[Bi(L)2X3]2、[Bi(L)3X3]结构型的十大新型苯钼配合物。配合物在不同浓度下对所有细菌均表现出抗菌活性。其中配合物 3 和 8 对细菌 PA 的 MIC 为 32 mg/mL。

陈婷等[35]合成一系列 N-取代苯基-5-取代苯基-3H-1,2,4-三氮唑-3-硫酮化合物。对系列化合物进行筛选, 其中 6a、6b、6d、6f、6g、6h、6k、6m 和 6p 等 9 个化合物有较为不错的抑菌效果。MIC 测试结果表明, 6a、6d、6h、6k、6m 对于 PA 的抑制效果较好, MIC 值均在 50~100 μg/mL 范围内。

谭丽等人[36]研究了 Lycosin-I, 是一种从穴狼蛛毒液中分离出的富含 α-螺旋结构的多肽, 隶属于阳离子抗菌肽家族。lycosin-I 的体外活性筛选证明其对 PA 有不错的抑菌能力, 尤其对于多重耐药 PA, 在 8 μg/mL 时就可以表现出不错的抗菌性能。

王彩虹等人[37]对鹅去氧胆酸经修饰制得到鹅去氧胆酸氨基酸酯或小肽酯衍生物。通过纸片法测定抑菌直径 d, 其中 3a、3b 和 3c 对铜绿假单胞杆菌均有抑制活性。

叶祥等人[38]在洛美沙星、左氧氟沙星和加替沙星的 C-7 位引入含顺式、反式环己基结构的新侧链。化合物 7 对于金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的抗菌活性比洛美沙星更强, 而其对于 PA 的活性则与洛美沙星相近。而化合物 8 对大肠埃希菌和铜绿假单胞菌的活性与洛美沙星相近。

王广成等人[39]合成得到了一种新型的甲硝唑-苯胺类化合物。其中以(E)-4-(2-(4-(2-(2-甲基-5-硝基-1H-咪唑-1-基)乙氧基)苯亚甲基)胍基)苯磺酰胺活性最好, 对大肠杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的 MIC 分别为 1.56、0.78、0.39 和 0.39 μg/mL。

Moustafa 等人[40]用肽结合的磷酸二胺酸吗啉低聚物(PPMOs), 实现治疗假单胞菌的精确抗生素方法。以 ACPP(酰基载体蛋白)、LPXC(UDP-(3-O-酰基)-N-乙酰氨基葡萄糖脱乙酰酶)和 RPSJ(30S 核糖体蛋白 S10)为靶点的 PPMOs 抑制了几株多药耐药临床 PA 的体外生长, 其水平相当于对敏感菌株有效的水平。在急性肺炎模型中, 单独或与妥布霉素联合使用 PPMO 可减少 24 小时治疗小鼠的肺细菌负担, 并降低

感染后 5 天的发病率。在同一模型中, PPMOs 降低了广泛耐药 PA 的细菌负担, 并与常规抗生素相比具有更好的存活率。

8. 总结与展望

PA 作为重要的院内感染致病菌, 全球多个国家已经报道了与其有关的异质性耐药现象。细菌的异质性耐药难以被常规的检测方法检测, 对药物治疗效果的评估带来了困难, 这将对今后耐药菌感染的治疗造成很大的困扰。

虽然, 现在有很多学者正在呼吁建立一个可以检测异质性的诊断程序, 但遗憾的是, 目前还没有规范的鉴定异质性耐药 PA 的方案。基于对异耐药细菌的情况进行综述, 希望能出现规范的异质性耐药的检测和鉴定方法, 准确和标准化的异耐药检测将转化为更好的治疗结果, 这对于开发基于表型读数的诊断工具提出了一个重要的挑战。

在暂无精准快速的检测方法的情况下, 目前也有不少研究小组正在开发抗 PA 的新型活性物质, 现已报道的部分新型化合物在体外对于 PA 有较好的抑制作用, 这将为以后的治疗提供更多的选择。

研究异质性耐药, 对细菌耐药的预防、控制和指导临床用药具有重要意义。探索新的系统性检测方法, 快速、准确地检出异质性耐药菌株也显得尤为重要。对于探索 PA 的异质性耐药的未知领域, 我们任重而道远。

参考文献

- [1] 佚名. 2019 年全国细菌耐药监测报告[R]. 北京: 国家卫生健康委合理用药专家委员会, 2020.
- [2] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 汪复, 蒋晓飞, 徐英春, 等. 2016 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(5): 481-491.
- [3] El-Halfawy, O.M. and Valvano, M.A. (2015) Antimicrobial Heteroresistance: An Emerging Field in Need of Clarity. *Clinical Microbiology Reviews*, **28**, 191-207. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-14>
- [4] Alam, M.R., Donabedian, S., Brown, W., Gordon, J., Chow, J.W., Zervos, M.J., *et al.* (2001) Heteroresistance to Vancomycin in *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Microbiology*, **39**, 3379-3381. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.9.3379-3381.2001>
- [5] Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T. and Tenover, F.C. (1997) Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clinical Strain with Reduced Vancomycin Susceptibility. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **40**, 135-136. <https://doi.org/10.1093/jac/40.1.135>
- [6] Hiramatsu, K., Aritaka, N., Hanaki, H., Kawasaki, S., Hosoda, Y., Hori, S., *et al.* (1997) Dissemination in Japanese Hospitals of Strains of *Staphylococcus aureus* Heterogeneously Resistant to Vancomycin. *Lancet*, **350**, 1670-1673. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)07324-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)07324-8)
- [7] Pournaras, S., Ikonomidis, A., Markogiannakis, A., Spanakis, N., Maniatis, A.N. and Tsakris, A. (2007) Characterization of Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* Heterogeneously Resistant to Carbapenems. *Journal of Medical Microbiology*, **56**, 66-70. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46816-0>
- [8] Pournaras, S., Ikonomidis, A., Markogiannakis, A., Maniatis, A.N., Tsakris, A., *et al.* (2005) Heteroresistance to Carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **55**, 1055-1056. <https://doi.org/10.1093/jac/dki115>
- [9] Sancak, B., Yagci, S., Gür, D., Gülay, Z., Ogunc, D., Söyletir, G., *et al.* (2013) Vancomycin and Daptomycin Minimum Inhibitory Concentration Distribution and Occurrence of Heteroresistance among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Blood Isolates in Turkey. *BMC Infectious Diseases*, **13**, Article No. 583. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-583>
- [10] Kirby, A., Mohandas, K., Broughton, C., Neal, T.J., Smith, G.W., Pai, P., *et al.* (2009) *In Vivo* Development of Heterogeneous Glycopeptide-Intermediate *Staphylococcus aureus* (hGISA), GISA and Daptomycin Resistance in a Patient with Methicillin-Resistant *S. aureus* Endocarditis. *Journal of Medical Microbiology*, **58**, 376-380. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.006486-0>
- [11] Savini, V., Catavittello, C., Talia, M., Febbo, F., Balbinot, A., Pompilio, A., *et al.* (2009) Misidentification of Ampicillin-Sulbactam Heteroresistance in *Acinetobacter baumannii* Strains from ICU Patient. *Journal of Infection*, **58**,

- 316-317. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2009.02.001>
- [12] 李玮, 王凯亮, 熊祝嘉, 李俊秋, 崔翠莲. 353 株铜绿假单胞菌医院感染的临床分布与耐药性分析[J]. 中国实验诊断学, 2015(7): 1107-1109.
- [13] 余建洪, 李敏, 何小平, 陈喻, 张肃川, 张小丹. 2016-2018 年某医院耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌的耐药性及临床特征分析[J]. 安徽医药, 2021, 25(5): 931-934.
- [14] 莫善颖, 李梦薇, 韦柳华, 等. 铜绿假单胞菌的临床分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 23(22): 5553-5555.
- [15] 冯娜娜, 李华茵, 宋元林, 王琴, 周春妹, 谢红梅. 医院铜绿假单胞菌性肺炎对抗菌药物耐药性及死亡率相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(13): 2917-2919+2957.
- [16] Sharma, K.K. and Kalawat, U. (2010) Emerging Infections: Shewanella—A Series of Five Cases. *Journal of Laboratory Physicians*, **2**, 61-65. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.72150>
- [17] Iyer, R. and Hittinahalli, V. (2008) Modified PAP Method to Detect Heteroresistance to Vancomycin among Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates at a Tertiary Care Hospital. *Indian Journal of Medical Microbiology*, **26**, 176-179. [https://doi.org/10.1016/S0255-0857\(21\)01939-3](https://doi.org/10.1016/S0255-0857(21)01939-3)
- [18] Hu, Q., Yu, Y., Gu, D., Xie, L., Chen, X., Xu, N., *et al.* (2019) Detection of “Hidden” Antimicrobial Drug Resistance. *ACS Infectious Diseases*, **5**, 1252-1563. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.9b00132>
- [19] Jia, X., Ma, W., He, J., Tian, X., Liu, H., Zou, H., *et al.* (2019) Heteroresistance to Cefepime in *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **55**, Article No. 105832. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.10.013>
- [20] Alexandros, I., Athanassios, T., Maria, K., Spanakis, N., Maniatis, A.N. and Pournaras, S. (2010) Efflux System Overexpression and Decreased OprD Contribute to the Carbapenem Heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiology Letters*, **279**, 36-39. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00997.x>
- [21] Mei, S., Gao, Y., Zhu, C., Dong, C. and Chen, Y. (2014) Research of the Heteroresistance of *Pseudomonas aeruginosa* to Imipenem. *International Journal of Clinical & Experimental Medicine*, **8**, 6129-6132.
- [22] Xu, Y., Zheng, X., Zeng, W., Chen, T., Liao, W., Qian, J., *et al.* (2020) Mechanisms of Heteroresistance and Resistance to Imipenem in *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Drug Resistance*, **13**, 1419-1428. <https://doi.org/10.2147/IDR.S249475>
- [23] He, J., Jia, X., Yang, S., Xu, X., Sun, K., Li, C., *et al.* (2017) Heteroresistance to Carbapenems in Invasive *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **51**, 413-421. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.10.014>
- [24] Oikonomou, O., Panopoulou, M. and Ikonomidis, A. (2011) Investigation of Carbapenem Heteroresistance among Different Sequence Types of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates Reveals Further Diversity. *Journal of Medical Microbiology*, **60**, 1556-1558. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.032276-0>
- [25] Spyros, P., Alexandros, I., Evangelia, N., Kantzanou, M., Maniatis, A.N. and Tsakris, A. (2008) Piperacillin/Tazobactam-Heteroresistant *Pseudomonas aeruginosa* from Urinary Infection, Successfully Treated by Piperacillin/Tazobactam. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **61**, 757-758. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm528>
- [26] Hermes, D.M., Pitt, C.P., Lutz, L., Teixeira, A.B., Ribeiro, V.B., Netto, B., *et al.* (2013) Evaluation of Heteroresistance to Polymyxin B among Carbapenem-Susceptible and-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Medical Microbiology*, **62**, 1184-1189. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.059220-0>
- [27] Lin, J., Xu, C., Fang, R., Cao, J., Zhang, X., Zhao, Y., *et al.* (2019) Resistance and Heteroresistance to Colistin in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Wenzhou, China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **63**, Article ID: e00556-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00556-19>
- [28] Hall, C.W., Hinz, A.J., Gagnon, L., Zhang, L., Nadeau, J.P., Copeland, S., *et al.* (2018) *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Antibiotic Resistance Gene *ndvB* Expression Requires the RpoS Stationary-Phase Sigma Factor. *Applied and Environmental Microbiology Journal*, **84**, Article ID: e02762-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02762-17>
- [29] Endimiani, A., Perez, F. and Bonomo, R.A. (2008) Cefepime: A Reappraisal in an Era of Increasing Antimicrobial Resistance. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, **6**, 805-824. <https://doi.org/10.1586/14787210.6.6.805>
- [30] Hocquet, D., Nordmann, P. and Garch, F.E. (2006) Involvement of the MexXY-OprM Efflux System in Emergence of Cefepime Resistance in Clinical Strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **50**, 1347-1351. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.4.1347-1351.2006>
- [31] Bagge, N., Hentzer, M., Andersen, J.B., Ciofu, O., Givskov, M. and Høiby, N. (2004) Dynamics and Spatial Distribution of Beta-Lactamase Expression in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48**, 1168-1174. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.4.1168-1174.2004>

- [32] Balasubramanian, D., Schneper, L., Merighi, M., Smith, R., Narasimhan, G., Lory, S., *et al.* (2012) The Regulatory Repertoire of *Pseudomonas aeruginosa* AmpC-Lactamase Regulator AmpR Includes Virulence Genes. *PLoS ONE*, **7**, Article No. e34067. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034067>
- [33] World Health Organization (2020, October 13) Antimicrobial Resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- [34] Ozturk, I.I., Sirinkaya, E.T., Cakmak, M., Gurgan, M., Ceyhan, D., Panagiotou, N., *et al.* (2020) Structural and Biological Features of Bismuth(III) Halide Complexes with Heterocyclic Thioamides. *Journal of Molecular Structure*, **1227**, Article ID: 129730. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129730>
- [35] 陈婷, 师健友, 戚宝文, 白兰, 周艳平, 段醒妹, 等. N-取代苯基-5-取代苯基-3H-1,2,4-三唑-3-硫酮衍生物的合成及抗菌活性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(4): 437-449.
- [36] 谭丽, 程优, 柏乐, 王玲, 贺腊姑, 胡敏. 抗菌肽 lycosin-I 对铜绿假单胞菌临床分离株的体外抗菌活性分析[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(4): 253-258.
- [37] 王彩虹, 单志炜, 邓国为, 张耀谋. 新型鹅去氧胆酸衍生物的合成及其抗菌活性[J]. 合成化学, 2019, 27(8): 638-642.
- [38] 叶祥, 周晶, 潘佳, 何菱, 齐庆蓉. 新型氟喹诺酮类衍生物的设计合成及其体外抗菌活性的初探[J]. 华西药学杂志, 2015, 30(1): 1-4.
- [39] 王广成, 何典雄, 刘文超, 彭知云. 新型甲硝唑-苯胺类化合物的设计, 合成及抗菌活性研究[J]. 化学试剂, 2016, 38(7): 602-607.
- [40] Moustafa, D.A., Wu, A.W., Zamora, D., Daly, S.M., Sturge, C.R., Pybus, C., Geller, B.L., *et al.* (2021) Peptide-Conjugated Phosphorodiamidate Morpholino Oligomers Retain Activity against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* *in Vitro* and *in Vivo*. *mBio*, **12**, Article ID: e02411-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.02411-20>