

耐碳青霉烯铜绿假单胞菌耐药机制的研究进展

高喆, 赵京明

Advances in research on the antimicrobial resistance mechanisms of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

GAO Zhe, ZHAO Jingming

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202602016>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

铜绿假单胞菌合并按蚊伊丽莎白菌肺部感染的病例分析

Analysis of pulmonary infection of *Pseudomonas aeruginosa* combined with *Elizabethkingia anophelis*

药学实践与服务. 2024, 42(5): 223-226 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202310042

耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌临床分离株耐药性及耐药基因分析

Analysis of resistance situation and resistance genes of clinical isolates of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*

药学实践与服务. 2024, 42(10): 439-444 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202309059

上海某二级医院革兰阴性菌流行特征的回顾性分析

Retrospective analysis of the epidemic characteristics of Gram-negative bacteria in a second-class hospital in Shanghai

药学实践与服务. 2024, 42(12): 528-532 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202305005

肠道菌群参与糖尿病肾病的机制研究进展

Research progress on the mechanism of gut microbiota participating in diabetes nephropathy

药学实践与服务. 2024, 42(5): 181-184, 197 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202312023

青藏高原肺结核合并念珠菌感染患者的病原菌分布特点及耐药率分析

Distribution characteristics and drug resistance rate of pathogenic bacteria in patients with pulmonary tuberculosis combined with *Candida* infection on the Tibetan plateau

药学实践与服务. 2024, 42(6): 260-262, 272 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202304014



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 综述 ·

耐碳青霉烯铜绿假单胞菌耐药机制的研究进展

高 喆¹, 赵京明² (1. 青岛大学青岛医学院, 山东 青岛 266071; 2. 青岛大学附属医院, 山东 青岛 266003)

[摘要] 铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)为革兰氏阴性条件致病菌,广泛分布于自然生态环境及临床医疗机构中。该菌依托强大的环境适应能力及基因组可塑性,已成为临床医院感染的主要致病菌,在重症监护室、烧伤科患者及免疫功能低下人群中感染风险显著增高,可诱发肺炎、血流感染、尿路感染等多种严重感染性疾病。碳青霉烯类抗生素(如亚胺培南、美罗培南)因抗菌谱广、对β-内酰胺酶具有高度稳定性,曾是临床治疗多重耐药PA感染的核心“最后防线”。然而,随着此类抗生素在临床的广泛应用,耐碳青霉烯铜绿假单胞菌(Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, CRPA)的全球检出率持续攀升,被世界卫生组织(WHO)列为最高优先级防控的ESKAPE病原体之一,不仅给临床抗感染治疗带来极大挑战,还明显增加患者病死率,加重医疗系统运行负担。为阐明PA的耐药分子机制,本文系统综述近年来PA固有耐药、获得性耐药及适应性耐药机制的研究进展,以期对CRPA的临床防控、早期诊断及新型治疗方案研发提供理论支撑与参考。

[关键词] 铜绿假单胞菌;耐碳青霉烯铜绿假单胞菌;耐药机制;碳青霉烯酶

[文章编号] 2097-2024(2026)00-0001-07

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202602016

Advances in research on the antimicrobial resistance mechanisms of carbapenem-resistant pseudomonas aeruginosa

GAO Zhe¹, ZHAO Jingming² (1. Qingdao Medical College, Qingdao University, Qingdao 266071, China; 2. Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China)

[Abstract] *Pseudomonas aeruginosa* (PA) is a Gram-negative opportunistic pathogen widely distributed in natural ecosystems and clinical settings. Leveraging its robust environmental adaptability and genomic plasticity, PA has emerged as a major predominant pathogen responsible for hospital-acquired infections. Individuals in high-risk groups, including intensive care unit (ICU) patients, burn victims, and immunocompromised populations, face a markedly elevated risk of PA infection, which can trigger a range of severe infectious diseases such as pneumonia, bloodstream infections, and urinary tract infections. Carbapenem antibiotics (e.g., imipenem, meropenem) were once regarded as the core last line of defense for clinical treatment of multidrug-resistant PA infections, attributed to their broad antimicrobial spectrum and high stability against β-lactamases. However, with the extensive clinical utilization of these agents, the global detection rate of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (CRPA) has been steadily increasing. As one of the ESKAPE pathogens prioritized highest for prevention and control by the World Health Organization (WHO), CRPA not only poses formidable challenges to clinical anti-infective therapy, but also markedly elevates patient mortality rates and imposes a substantial burden on healthcare systems. To clarify the molecular mechanisms underlying PA resistance, this review systematically summarizes the recent research advances in the intrinsic, acquired, and adaptive resistance mechanisms of PA, aiming to provide theoretical support and references for the clinical prevention and control, early diagnosis, and development of novel therapeutic regimens against CRPA.

[Key words] *Pseudomonas aeruginosa*; carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; drug resistance mechanism; carbapenemases

1 耐碳青霉烯铜绿假单胞菌流行背景

抗生素不合理应用引发的持续性选择压力,是

[基金项目] 山东省医药卫生科技发展计划项目(2019WS377)

[作者简介] 高 喆, 研究生, 研究方向: 内科学(呼吸系病),
Email: Gao15621661082@163.com

[通信作者] 赵京明, 主任医师, 研究方向: 内科学, Email:
wch7650@qdu.edu.cn

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)产生碳青霉烯耐药性的核心驱动因素。碳青霉烯类药物自临床应用以来,始终是治疗多重耐药PA所致重症感染的关键药物,但在经验性治疗中存在的药物过度使用、疗程把控失当及联合用药方案不合理等问题,加快了耐药菌株的筛选进程与进化速率。2023年中国细菌耐药监测网监测数据表明,我国PA对碳青霉烯类药物的总体耐药率为16.3%,尽

管该数值较前几年呈缓慢下降趋势,但 ICU 内耐碳青霉烯铜绿假单胞菌(*Carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa*, CRPA)感染患者的粗死亡率高达 20.0%,显著高于非 ICU 患者的 8.7%,提示临床针对 CRPA 的防控工作仍面临较大压力^[1]。

除碳青霉烯类药物外,其他广谱抗菌药物的暴露同样可间接促进 CRPA 的产生。已有研究证实,治疗前期使用第三代或第四代头孢菌素、 β -内酰胺酶抑制剂复方制剂、氨基糖苷类药物,或联用两种及以上抗菌药物,会破坏机体正常菌群的微生态平衡,增强 PA 的生存竞争优势,同时诱导其耐药基因的表达与突变,为碳青霉烯耐药性的形成创造先决条件。

CRPA 的形成与传播高度依赖医院环境的独特微生态特征,该菌株可在潮湿环境中长期存活,并通过污染医疗器械、医护人员手部接触、患者分泌物接触等途径实现交叉传播,进而引发院内聚集性感染甚至暴发流行。患者自身基础状况同样对 CRPA 的感染及耐药性形成具有显著影响。多项临床研究证实,入住 ICU、住院时长 ≥ 14 d、接受侵入性操作(如中心静脉导管置管、导尿管留置、机械通气等)、合并低白蛋白血症(血清白蛋白水平 < 35 g/L)及存在慢性基础疾病(如慢性肺部疾病、糖尿病、免疫功能缺陷等),均是 CRPA 感染的独立危险因素^[2-3]。例如,留置导尿管患者的 CRPA 感染发生率较未留置导尿管者升高 1 倍,究其原因,侵入性操作可破坏机体黏膜屏障的完整性,降低局部防御功能,为 CRPA 的定植与感染提供便利条件;而低白蛋白血症通常提示患者存在蛋白质-能量营养不良,机体免疫功能受损,感染后病情难以控制,进而间接延长抗菌药物的使用周期,加剧菌株耐药性的进化进程。

PA 的基因组具有 5.5Mbp ~ 7.0Mbp 的较大容量,且存在突变率高、可移动遗传元件丰富等特征,这些均为其耐药性的快速进化奠定分子基础。PA 可通过染色体突变、基因水平转移(如质粒、转座子、整合子介导的转移方式)等途径获取耐药基因,同时其固有耐药机制(如外膜通透性较低、外排泵系统功能发达)可与获得性耐药机制产生协同作用,进一步加速 CRPA 的形成。此外,PA 的生物膜形成能力是其耐药性进化的重要特性(详见第 2.5 节),CRPA 菌株的生物膜形成能力显著强于碳青霉烯敏感株,且与患者死亡风险升高相关^[4]。

2 耐碳青霉烯铜绿假单胞菌的耐药机制

CRPA 的耐药机制复杂多样,且多为多种机制

协同作用的结果,主要可分为酶介导耐药、非酶介导耐药两大类,近年来非编码 RNA 调控、克隆进化等新型耐药相关机制也逐渐被揭示。

2.1 酶介导耐药机制:碳青霉烯类药物降解的核心途径

酶介导耐药是 CRPA 最主要的耐药机制之一,核心在于菌株编码碳青霉烯酶或协同利用其他 β -内酰胺酶,直接降解或灭活碳青霉烯类药物,使其丧失抗菌活性。基于 Ambler 分类法, β -内酰胺酶可分为 A 类丝氨酸酶、B 类金属酶、C 类头孢菌素酶及 D 类丝氨酸酶。其中,可高效水解碳青霉烯类的碳青霉烯酶主要分布于 A、B、D 三类,A 类丝氨酸碳青霉烯酶与 B 类金属 β -内酰胺酶(metallo- β -lactamases, MBLs)在 CRPA 中最为常见。

2.1.1 A 类丝氨酸碳青霉烯酶(KPC、GES)

A 类碳青霉烯酶通过丝氨酸残基催化碳青霉烯类药物 β -内酰胺环水解,主要包含 KPC、GES 等家族,近年来新型变异体不断出现,耐药特性也随之改变。KPC 家族是 CRPA 中重要的 A 类碳青霉烯酶,其中 KPC-2 是我国 CRPA 的优势流行型别,主要存在于 ST463 型克隆中。该克隆仅在我国被检出,占国内 KPC 阳性 CRPA 菌株的 45.66%,兼具高毒力与快速环境适应能力,是临床多重耐药感染的重要致病菌^[5]。

2025 年最新研究发现,CZA 治疗压力可驱动 KPC-2 发生 D179Y 突变,产生新型变异体 KPC-33^[6],该变异体使 CRPA 对 CZA 的 MIC 值从 1 μ g/ml 升至 >128 μ g/ml,耐药性显著增强,而对碳青霉烯类药物的 MIC 值从 >128 μ g/ml 降至 32 μ g/ml,呈现“跷跷板效应”。GES 家族碳青霉烯酶的变异多样性也持续增加,2025 年 12 月报道的一株 CRPA 临床分离株(来源于 61 岁肺炎患者支气管肺泡灌洗液),通过全基因组测序(WGS)鉴定出新型 GES 家族变异体 GES-62,该菌株对多种抗菌药物耐药,且常规碳青霉烯酶快速检测方法(如 Xpert Carba-R、LAMP)无法检出,最终导致患者治疗失败死亡,提示新型 GES 变异体的隐蔽性和临床危害性^[7]。

2.1.2 B 类金属 β -内酰胺酶(IMP、VIM、NDM)

与上述依赖丝氨酸的 A 类不同,MBLs 依赖锌离子催化碳青霉烯类药物水解,具有广谱耐药特性,可对几乎所有 β -内酰胺类药物耐药(包括新型 β -内酰胺酶抑制剂复方制剂),主要包括 IMP、VIM、NDM 等家族,其中 IMP 和 VIM 在 CRPA 中分布最广泛^[8]。IMP 型 MBLs 具有极高的遗传多样性,不同亚群间同源性低,主要在亚洲地区流行,

但已呈现全球扩散趋势,可同时存在于肠杆菌科细菌和非发酵菌中。VIM 型 MBLs 主要分为 VIM-1 和 VIM-2 两个核心聚类,在全球范围内广泛分布,且常与其他耐药基因连锁,通过可移动遗传元件传播,导致 CRPA 形成多重耐药表型。2025 年宁波地区的研究显示,在 CZA 耐药的 CRPA 菌株中,*blaVIM* 的检出率显著高于敏感株,且水平基因转移是 *blaVIM* 扩散的主要方式,同时携带 *blaVIM* 的 CRPA 菌株生物膜形成能力更强,进一步增强其耐药性与致病性^[9]。此外,MBLs 可介导 CRPA 对头孢洛扎/他唑巴坦、CZA 等新型抗菌药物耐药,是限制临床治疗选择的关键因素之一^[10]。检测上,MBLs 可被 EDTA 抑制(螯合锌离子)但不受克拉维酸等传统酶抑制剂影响;A 类酶则相反,对 EDTA 无响应而可被传统抑制剂阻断,两者表型差异可用于酶型初筛。

2.1.3 D 类丝氨酸碳青霉烯酶(OXA)

D 类 OXA 型碳青霉烯酶属丝氨酸酶超家族,其对碳青霉烯类的水解效率弱于上述 A、B 类,但经关键氨基酸置换(如 OXA-48-like)可增强底物亲和力和介导临床耐药。该型酶呈显著地域性,多见于南欧国家,常与 ISCR 及 Tn1999 等可移动元件连锁。检测上,其不被 EDTA 抑制(异于 B 类),对克拉维酸等抑制剂不敏感(异于多数 A 类),确诊需依赖分子检测或特异性底物水解试验。部分成员(OXA-10、OXA-14)虽分类为青霉素酶,但特定突变下可与外膜屏障减退协同,间接升高碳青霉烯类 MIC。D 类酶水解效率虽不及 A、B 类,但其独特分子特征与检测挑战使其在 CRPA 耐药中占不可忽视的地位。

2.1.4 C 类头孢菌素酶(AmpC)

除以上碳青霉烯酶外,PA 自身携带的染色体编码 AmpC 头孢菌素酶也可参与碳青霉烯类耐药的形成。然而,典型的 AmpC 酶对碳青霉烯类的水解效率极低,其单独过表达通常不足以显著提升碳青霉烯类最低抑菌浓度(MIC)^[11]。当 AmpC 酶过量表达(如由启动子区或衰减子区突变所致)与外膜通透性降低(尤其是 OprD 孔蛋白缺失)协同存在时,外膜屏障的削弱使少量进入周质空间的碳青霉烯类药物无法被有效清除,AmpC 酶的蓄积效应才能充分显现,从而介导较高水平的碳青霉烯耐药。此外,AmpC 酶过量表达还可介导对头孢菌素类及新型 β -内酰胺酶抑制剂复合制剂的耐药,并与碳青霉烯酶共表达、外排亢进、靶位改变等耐药机制协同,进一步加剧 CRPA 的耐药程度。

2.2 非酶介导耐药机制:多重屏障的协同作用

与酶介导耐药直接水解药物的作用方式不同,非酶介导耐药机制不直接破坏碳青霉烯类药物,而是通过降低药物在细菌胞内的浓度、改变药物作用靶点等方式,使细菌获得耐药性,主要包括外膜通透性降低、外排泵系统过表达、药物作用靶点突变及生物膜形成等,且多为多种机制叠加作用。

2.2.1 外膜通透性降低

PA 的外膜是天然的抗菌屏障,碳青霉烯类药物主要通过外膜孔蛋白 OprD 进入胞内,OprD 的缺失或功能异常是 CRPA 非酶介导耐药的核心机制之一。OprD 是一种特异性孔蛋白,对亚胺培南、美罗培南等碳青霉烯类药物具有高通透性,当 OprD 基因发生突变(如截断突变、缺失突变)时,药物进入胞内的通道受阻,胞内药物浓度显著降低,导致耐药性产生。2024 年 Yang 等^[12]的研究证实,OprD(Trp415*)截断突变可破坏孔蛋白结构,构建的突变株 PAE-D1 绿色 OprD Trp415*对美罗培南的 MIC 值从 0.25 μ g/ml 升至 4 μ g/ml,耐药性提升 16 倍,且该突变单独即可解释临床分离株对亚胺培南的耐药表型。此外,OprD 的表达还可受调控因子影响,如转录抑制因子 MexT 可下调 OprD 的表达,同时上调外排泵 MexEF-OprN 的表达^[13],形成“通透性降低+外排增强”的协同耐药效应,进一步提升 CRPA 对碳青霉烯类药物的耐药水平。

2.2.2 外排泵系统过表达

PA 具有发达的外排泵系统,可将胞内的抗生素主动泵出体外,降低胞内药物浓度,其与外膜通透性降低协同作用,是 CRPA 多重耐药的重要基础。PA 的外排泵主要属于 RND 家族,其中 MexAB-OprM、MexXY-OprM、MexCD-OprJ 等与碳青霉烯耐药密切相关,且其表达受调控基因的严格控制。

MexAB-OprM 是 PA 中最主要的外排泵之一,其表达受抑制因子 MexR 调控,MexR 基因的突变可导致其对 MexAB-OprM 的抑制作用减弱,外排泵基因过表达^[14]。Yang 等的研究证实,MexR 基因发生 Gln55Pro 点突变后,其编码蛋白与启动子区域的结合活性发生改变,进而上调外排泵系统 MexAB-OprM 的表达水平;该分子机制最终导致 PAE-D1 Δ MexR 突变株与 PAO1 Δ MexR 突变株对美罗培南的 MIC 升高 4~8 倍^[12]。2025 年宁波地区的研究也显示,CZA 耐药的 CRPA 菌株中,*mexA* 基因的表达量较敏感株上调 2.04 倍,且与生物膜形成能力增强相关,提示外排泵过表达与生物膜介

导的耐药存在协同作用。

近年来,外排泵组装的分子机制研究取得新进展。在铜绿假单胞菌的主要耐药外排泵 MexAB-OprM 中,膜融合蛋白 MexA 的寡聚化是泵体功能组装的关键前提。分子动力学研究表明,MexA 的 G72S 突变可显著改变其构象平衡,使蛋白趋向不利于寡聚化的折叠状态,从而破坏 MexAB-OprM 泵体的功能性组装,恢复细菌对多种抗菌药物的敏感性^[15]。这一发现揭示了膜融合蛋白构象动态作为新型药物靶点的潜力,为靶向 RND 外排泵的抑制剂研发提供了结构基础。

2.2.3 毒力基因介导耐药

CRPA 的毒力基因可通过多种直接或间接途径介导耐药表型的产生。其中,Ⅲ型分泌系统(T3SS)相关毒力基因(如 *exoU*、*exoS*),可借助激活细胞应激信号通路、调控外排泵编码基因的表达水平、促进生物膜的形成等机制增强菌株耐药能力^[16];生物膜相关毒力基因(如 *algD*、*lasB*)^[17]能够形成致密物理屏障以阻碍抗生素向菌体内渗透,同时促进耐药基因在菌株间的水平转移效率;群体感应(QS)系统相关毒力基因(如 *lasI*/*lasR*、*rhlI*/*rhlR*)可作为核心调控枢纽^[18],协同调控毒力因子的分泌过程与耐药基因的表达活性,且不同毒力基因型的组合模式,可显著改变 CRPA 对各类抗生素的耐药发生率。

CRPA 毒力基因与耐药基因的协同作用,依赖于复杂转录调控网络的交叉互作,其中多种共享调控因子是维系二者功能联动的关键。例如,T3SS 主调控因子 ExsA 不仅可调控 *exo* 家族基因的表达,还能结合外排泵基因的启动子区域,进而调控其转录过程;QS 系统调控因子 LasR 在调控群体感应相关毒力因子的同时,还可影响 AmpC β -内酰胺酶及 OprD 孔蛋白的合成;此外,抗生素诱导的应激反应可激活 RpoS 等调控蛋白,同步上调毒力因子及耐药相关基因的表达量。该调控网络的交叉互作效应,进一步提升了 CRPA 的环境适应能力、致病潜能及耐药水平,也为临床多重耐药 CRPA 感染的治疗带来了严峻挑战。

2.2.4 药物作用靶点突变

碳青霉烯类药物的作用靶点是细菌细胞壁合成关键酶——青霉素结合蛋白(PBPs),PBPs 基因发生突变可导致酶结构改变,降低药物与靶点的结合亲和力,从而产生耐药性。在 CRPA 中,*ftsI* 基因(编码 PBP3)的突变是主要的靶点突变机制,可通过改变 PBPs 的活性中心结构,削弱碳青霉烯类药

物对细胞壁合成的抑制作用^[19]。

Yang 等的研究通过临床关联分析证实,*ftsI* (*Arg504Cys*)突变可使美罗培南的 MIC 值提升 2 倍,且与 OprD 截断突变、MexR 突变协同作用,形成高水平非酶介导碳青霉烯耐药,提示靶点突变在 CRPA 耐药进化中的叠加效应^[12]。此外,PBPs 基因的突变还可与酶介导耐药机制协同,进一步拓宽 CRPA 的耐药谱,增加临床治疗难度^[20]。

2.2.5 生物膜介导的耐药

生物膜是 CRPA 耐药的重要物理与功能屏障,其介导的耐药机制复杂,包括:①物理屏障作用:生物膜基质(如多糖、蛋白质、核酸)可阻碍抗生素渗透,使膜内药物浓度低于杀菌浓度^[21];②持留菌形成:生物膜内部分细菌进入休眠态,代谢活性显著降低,对依赖细菌活跃代谢的抗生素(如碳青霉烯类)产生耐受;③耐药基因富集:生物膜内细菌密度高,基因水平转移效率显著提升,促进耐药基因在菌株间扩散,同时生物膜微环境可诱导耐药基因表达上调。

多项研究证实^[22-24],CRPA 的生物膜形成能力显著强于碳青霉烯敏感株,且生物膜形成能力与耐药程度呈正相关。2025 年 Qiao 等^[9]对 279 株临床 CRPA 分离株的研究显示,CZA 耐药株的生物膜形成能力显著高于敏感株($P<0.001$),且生物膜阳性的 CRPA 感染患者复发率更高(13.2% vs 4.3%),临床改善率更低(67.6% vs 77.3%),提示生物膜介导的耐药对临床预后的负面影响。此外,生物膜的形成还可受群体感应系统调控,靶向群体感应系统(如抑制信号分子合成)可破坏生物膜结构,逆转 CRPA 的耐药性,成为潜在的治疗策略^[25-26]。

综上所述,非酶介导耐药的显著特征在于其“多重屏障叠加”效应:单一通路改变仅赋予低水平耐药,而外膜屏障削弱、外排泵亢进、靶位亲和力下降及生物膜物理阻隔等多重机制共存时,可在菌体内形成梯次化防御网络,协同增强耐药。该叠加效应不仅稳定提升 CRPA 对碳青霉烯类的耐药水平,还通过降低胞内药物浓度,为酶介导耐药(如 AmpC 蓄积)创造“阈值条件”——即外膜受损致药物入胞减少时,周质空间中水解效率较低的酶类亦可发挥显著灭活作用,形成两类机制的交叉协同。此外,生物膜物理屏障可阻遏免疫清除与抗生素渗透,是 CRPA 慢性感染迁延难治的重要基础。

2.3 新型耐药调控机制:非编码 RNA 的调控作用

CRPA 是临床抗感染领域的重要难题,其耐药表型由多重机制共同驱动,与前述直接降解抗生素

(酶介导)或物理性降低药物浓度(非酶介导)的经典机制不同,非编码 RNA(尤其是小 RNA, sRNA)作为转录后调控的核心元件,现已成为阐释其耐药机制的关键研究方向。CRPA 来源的 sRNA 可分为顺式作用、反式作用及蛋白结合型三类,主要通过调控靶标 mRNA 稳定性、干扰翻译起始进程、隔离功能性调控蛋白三种作用模式介导调控效应;具体可靶向干预 CRPA 的经典耐药途径,如 *ErsA*、*Sr0161* 等 sRNA 可通过分子伴侣蛋白 *Hfq* 介导,与孔蛋白 *OprD* 的 mRNA 序列互补结合并抑制其翻译,从而削弱外膜对碳青霉烯类抗生素的通透性^[27]; *RsmY/RsmZ* 等 sRNA 可解除调控蛋白对 *MexXY* 等外排泵编码基因的抑制,增强菌株的药物外排能力;部分 sRNA 还可靶向碳青霉烯酶基因转录调控因子或耐药质粒稳定性,参与酶类合成及耐药基因的水平传播^[28];此外, *Rsm* 家族及 *CrcZ* 等 sRNA 可通过调控生物膜基质合成与应激通路应答,进一步提升菌株的耐药适应性。

CRPA 中已鉴定出多个具有明确功能的 sRNA 调控网络,其中 *ErsA-Hfq-OprD* 调控轴^[29]的作用机制研究较为透彻,该通路中 *ErsA* 可与 *OprD* 的 mRNA 5' 非翻译区互补结合,在 *Hfq* 蛋白的辅助下抑制靶蛋白翻译,同时正向调控生物膜形成相关因子 *AmrZ* 的表达,形成通透性降低与生物膜增强的双重耐药调控效应; *CrcZ-Crc-Hfq*^[30] 全局调控网络则可响应环境碳源信号变化,通过 *CrcZ* 隔离 *Crc-Hfq* 复合物的方式,动态调控 *OprD* 等耐药相关基因的表达水平,进而影响菌株对碳青霉烯类药物的敏感性。基于上述调控机制,靶向 sRNA 的干预策略已展现出潜在的抗耐药应用价值,反义寡核苷酸、CRISPR-Cas 系统等技术手段可通过阻断或敲除耐药相关 sRNA,实现 CRPA 耐药表型的逆转;但该方向的研究仍面临诸多挑战,如 sRNA 表达具有时空特异性、外源核酸易被细菌内源核酸酶降解、靶向递送系统穿透外膜与生物膜的效率较低等,未来需依托高通量测序技术挖掘新型耐药相关 sRNA,并进一步优化靶向递送体系。

2.4 克隆进化与耐药基因传播机制

2.4.1 高风险克隆谱系的选择性扩增

CRPA 的克隆进化核心特征体现为高风险克隆谱系的选择性扩增。*ST235*^[31]、*ST463*^[32] 等优势克隆株依托其高环境适应性、强毒力表型及基因组可塑性,逐步确立为全球或区域范围内的流行主导菌株。此类克隆通过核心基因组变异(如外排泵编码基因、膜孔蛋白基因的序列改变)构建固有耐药

表型基础,且在抗生素选择压力下可发生耐药基因的突变进化(如 *blaKPC-2* 基因突变为 *blaKPC-33*)。同时,其可逐步形成遗传关联性显著的克隆复合体,表现出鲜明的区域分化趋势。国内研究证实,我国 CRPA 的优势克隆型包括 *ST463*、*ST1971*、*ST1076* 等^[33],其中 *ST463* 型为携带 *blaKPC-2* 基因及其变异体的优势克隆株,呈中国特有流行特征。

2.4.2 垂直克隆扩增与水平基因转移的协同传播

CRPA 耐药基因的传播依赖垂直克隆扩增与水平基因转移的协同介导。前者通过细胞分裂过程,将染色体上携带的耐药基因稳定遗传至子代菌株,进而通过医院内交叉感染诱发暴发流行;后者以接合为核心高效传递途径,借助质粒、转座子、整合子等可移动遗传元件,介导 *blaKPC*、*blaNDM* 等耐药基因跨菌株、跨物种的快速扩散。高风险克隆株凭借较强的基因组可塑性,更易捕获此类可移动遗传元件,且能有效平衡耐药表型与生长适应性,在抗生素选择压力下被优先选择并扩增。叠加医院环境中的传播循环,上述机制共同加剧了 CRPA 耐药性的蔓延态势。全基因组测序技术的应用进一步证实,CRPA 耐药基因传播具备跨区域、跨克隆的特点,这为全球范围内 CRPA 的防控工作带来了严峻挑战。

综上所述,CRPA 耐药并非单一因素所致,而是多层次机制的协同与代偿结果。不同机制在临床检测中的可操作性及干预手段的可及性存在显著差异(表 1),理解这一对应关系是实现精准抗感染治疗的前提。

3 研究展望与临床启示

CRPA 的多重耐药表型源于碳青霉烯酶合成、外膜通透性降低、外排系统激活等经典机制,以及 sRNA 调控、生物膜群体感应等新型网络;高风险克隆株(*ST463*、*ST235*)的跨区域传播与耐药基因水平转移进一步加剧防控难度。上述机制间的代偿与协同效应构成治疗失败的核心原因,亦为研究突破指明方向。

基础研究层面,应重点解析 sRNA 调控与生物膜群体感应的精细机制,阐明不同耐药通路间的代偿规律(如酶抑制后外排泵/孔蛋白是否上调)。同步推进反义寡核苷酸、CRISPR-Cas 及噬菌体疗法研发,瓶颈在于体内递送与生物膜穿透;加速快速诊断技术(床旁检测、全基因组测序)临床转化,探索 AI 辅助用药决策,将检测时间由数日压缩至数小时。

表 1 CRPA 主要耐药机制对应的检测方法与治疗策略

耐药机制	关键分子/基因	临床检测方法	靶向治疗策略	局限性
碳青霉烯酶	KPC、NDM、VIM、IMP	mCIM、EDTA 协同试验、PCR/WGS	CZA(KPC型)、头孢地尔(MBL型)	CZA对MBL无效; MBL型药物选择有限
AmpC酶+OprD缺失	ampC突变、oprD缺失	联合克拉维酸 MIC 检测、oprD测序	亚胺培南-雷利巴坦*	需OprD缺失协同才显著; 检测复杂
外排泵过表达	MexAB-OprM、MexXY-OprM	PAβN/CCCP 抑制试验	外排泵抑制剂*	无临床可用抑制剂; 存在代偿风险
孔蛋白缺失	OprD(主要)	OprD 表达检测(qRT-PCR/Western)	无特异性靶向药	检测未标准化; 多孔蛋白共缺失常见
生物膜形成	群体感应(LasR、RhlR)、藻酸盐	结晶紫染色、共聚焦显微镜	群体感应抑制剂*	体外检测耗时; 无成熟靶向药物
sRNA调控	ErsA、CrcZ、RsmY/RsmZ	RNA-seq、qRT-PCR	反义寡核苷酸、CRISPR-Cas*	递送效率低; sRNA表达时空特异
高风险克隆	ST235、ST463 等	MLST、WGS	感染控制(隔离/防护)	以预防为主, 无针对性治疗

注 mCIM: 改良碳青霉烯灭活试验; EDTA: 乙二胺四乙酸; PCR: 聚合酶链反应; WGS: 全基因组测序; MLST: 多位点序列分型; CZA: 头孢他啶-阿维巴坦; MBL: 金属β-内酰胺酶; PAβN: 苯丙氨酸-精氨酸-β-萘酰胺; CCCP: 羧基氰化物间氯苯胺; qRT-PCR: 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应; RNA-seq: 转录组测序; CRISPR: 成簇规律间隔短回文重复序列。*表示该策略尚未获临床批准, 处于临床前或临床试验阶段。

临床层面, 以药敏结果指导分层治疗: 金属 β-内酰胺酶阳性株选用头孢地尔绕过外膜^[34]; 外排泵/孔蛋白介导耐药株联用外排泵抑制剂与碳青霉烯类。需警惕“跷跷板效应”致耐药谱偏移, 动态评估联合方案。严格管控碳青霉烯类及新型酶抑制剂复合制剂使用指征, 依托抗菌药物管理项目降低选择性压力; 强化感染源隔离与接触防护, 阻断 ST463、ST235 等高风险克隆传播链, 通过多学科协作优化重症及免疫缺陷人群方案, 最终改善预后并遏制耐药传播。

【参考文献】

[1] DE PASCALE G, CORTEGIANI A, RINALDI M, et al. Incidence of hospital-acquired infections due to carbapenem-resistant Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill patients in Italy: a multicentre prospective cohort study[J]. *Crit Care*, 2025, 29(1): 32.

[2] 秦洁, 邹成韵, 陶建敏, 等. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌医院感染危险因素的 Meta 分析 [J]. *国外医药(抗生素分册)*, 2022, 43(2): 87-95.

[3] EID R, DABAR G, HANNA L R, et al. Comparison of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care and non-intensive care units and its impact on treatment decisions[J]. *Sci Rep*, 2025, 15: 11288.

[4] KARAMPATAKIS T, TSENGOULI K, BEHZADI P. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*'s resistome: pan-genomic plasticity, the impact of transposable elements and jumping genes[J]. *Antibiotics*, 2025, 14(4): 353.

[5] XIE X Q, LIU Z, HUANG J Y, et al. Molecular epidemiology and carbapenem resistance mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a hospital in Fujian, China[J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1431154.

[6] ZHOU L J, YAO J Y, ZHANG Y, et al. Global phylogeography and genetic characterization of carbapenem and ceftazidime-avibactam resistant KPC-33-producing *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *npj Antimicrob Resist*, 2025, 3: 3.

[7] PHAM T T, MUNGARD N, PFENNIGWERTH N, et al. Chal-

lenges in laboratory diagnosis and antibiotic treatment options for a newly described *Pseudomonas aeruginosa* class A beta-lactamase type GES-62 strain[J]. *GMS Infect Dis*, 2025, 13: Doc09.

[8] BONNIN R A, et al. Genetic diversity, biochemical properties, epidemiology, and detection methods of IMP- and VIM-type carbapenemases[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2025, 38(3): e00129-e00123.

[9] QIAO X H, ZHANG H, XU Y, et al. Study on resistance mechanisms and molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to ceftazidime/avibactam in a certain region of China[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2025, 15: 1643755.

[10] KARLOWSKY J A, LOB S H, ESTABROOK M A, et al. Susceptibility profile and β-lactamase content of global *Pseudomonas aeruginosa* isolates resistant to ceftolozane/tazobactam and/or imipenem/relebactam-SMART 2016-21[J]. *JAC Antimicrob Resist*, 2023, 5(3): dlad080.

[11] YIN L J, BAO Z H, HE L Y, et al. Virulence factors, molecular characteristics, and resistance mechanisms of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from pediatric patients in Shanghai, China[J]. *BMC Microbiol*, 2025, 25(1): 130.

[12] YANG Y, LI X, SUN L, et al. High level non-carbapenemase carbapenem resistance by overlaying mutations of mexR, oprD, and ftsI in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Microbiol Spectr*, 2025, 13(1): e01398-e01324.

[13] FRANDO A, PARSEK R S, OMAR J, et al. Modulation of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing cascade by MexT-regulated factors[J]. *mBio*, 2025, 16(11): e02941-e02925.

[14] KAVANAUGH L G, HINRICHSSEN M E, DUNHAM C M, et al. Regulation, structure, and activity of the *Pseudomonas aeruginosa* MexXY efflux system[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2025, 69(5): e01825-e01824.

[15] CACCIOTTO P, BASCIU A, OLIVA F, et al. Molecular rationale for the impairment of the MexAB-OprM efflux pump by a single mutation in MexA[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022, 20: 252-260.

[16] 韩美娟, 汤建华, 蒲洁琨, 等. 某院耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌 T3SS 毒力因子携带、表达和毒力与耐药的相关性及分子流行病学研究 [J]. *中国医院药学杂志*, 2025, 45(4): 402-409.

- [17] 陈宇, 王林, 秦上尚. 铜绿假单胞菌的耐药性和耐药机制 [J]. 中国农学通报, 2024, 40(12): 80-84.
- [18] 周凯, 时翠销, 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.
- [19] YANO H, NAKATA N, YAHARA K, et al. Specific variants in *ftsI* reduce carbapenem susceptibility in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Microbiol Spectr, 2025, 13(8): e01027-e01025.
- [20] YANO H, HAYASHI W, KAWAKAMI S, et al. Nationwide genome surveillance of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Japan [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2024, 68(5): e01669-e01623.
- [21] SALEEM M, SIDDIQUI M, UL HUDA H N, et al. Survival strategies of imipenem-resistant *P. aeruginosa*: a comparative analysis of surface-bound biofilms and unbound aggregates [J]. J Antibiot, 2025, 78(8): 500-510.
- [22] MA Y P, AUNG T T, LAKSHMINARAYANAN R, et al. Biofilm formation and virulence potential of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Lancet Microbe, 2023, 4(7): e489.
- [23] SENDRA E, FERNÁNDEZ-MUÑOZ A, ZAMORANO L, et al. Impact of multidrug resistance on the virulence and fitness of *Pseudomonas aeruginosa*: a microbiological and clinical perspective [J]. Infection, 2024, 52(4): 1235-1268.
- [24] 庞余, 刘向群. 铜绿假单胞菌生物膜形成能力及其耐药性关系的研究 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(59): 30-34.
- [25] 刘岩, 潘蓓珍, 杨继飞, 等. 多重耐药铜绿假单胞菌群体感应相关基因表达及其对生物膜形成和耐药性的影响 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2025, 51(4): 921-928.
- [26] ALHADRAMI H A, SAYED A M, HASSAN H M, et al. Optimized peptide inhibitor Aqs1C targets LasR to disrupt quorum sensing and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*: Insights from MD simulations and in vitro studies [J]. Int J Biol Macromol, 2025, 300: 140119.
- [27] ZHANG Y F, HAN K, CHANDLER C E, et al. Probing the sRNA regulatory landscape of *P. aeruginosa*: post-transcriptional control of determinants of pathogenicity and antibiotic susceptibility [J]. Mol Microbiol, 2017, 106(6): 919-937.
- [28] LABORDA P, LOLLE S, HERNANDO-AMADO S, et al. Mutations in the efflux pump regulator MexZ shift tissue colonization by *Pseudomonas aeruginosa* to a state of antibiotic tolerance [J]. Nat Commun, 2024, 15: 2584.
- [29] WU W Y, HUANG J H, XU Z L. Antibiotic influx and efflux in *Pseudomonas aeruginosa*: Regulation and therapeutic implications [J]. Microb Biotechnol, 2024, 17(5): e14487.
- [30] MALECKA E M, BASSANI F, DENDOOVEN T, et al. Stabilization of Hfq-mediated translational repression by the co-repressor Crc in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(12): 7075-7087.
- [31] BRÜGGEMANN H, MIGLIORINI L B, DE SALES R O, et al. Comparative genomics of nonoutbreak *Pseudomonas aeruginosa* strains underlines genome plasticity and geographic relatedness of the global clone ST235 [J]. Genome Biol Evol, 2018, 10(7): 1852-1857.
- [32] LI Y, YANG Q, CHEN M H, et al. Decadal Evolution of KPC-related plasmids in *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clone ST463 in Zhejiang, China [J]. Commun Biol, 2024, 7(1): 1646.
- [33] 曾玫, 夏君, 宗志勇, 等. 碳青霉烯类耐药革兰阴性菌感染的诊断、治疗及防控指南 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2024, 24(2): 135-151.
- [34] YAMANO Y. In vitro activity of cefiderocol against a broad range of clinically important gram-negative bacteria [J]. Clin Infect Dis, 2019, 69(Supplement_7): S544-S551.
- [收稿日期] 2026-02-25 [修回日期] 2026-08-25
[本文编辑] 陈盛新