

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20233384

· 论 著 ·

11 种联合方案对耐碳青霉烯类肠杆菌的体外联合药敏试验

陆国平^{1,2}, 唐浩³, 夏兆新¹, 门万琪¹, 沈继录¹

(1. 安徽医科大学第一附属医院 安徽省公共卫生临床中心检验科, 安徽 合肥 230000; 2. 安徽医科大学附属阜阳医院检验科, 安徽 阜阳 236000; 3. 安徽医科大学第二附属医院检验科, 安徽 合肥 230601)

[摘要] **目的** 观察头孢他啶/阿维巴坦(CZA)联合氨曲南(ATM), 亚胺培南(IPM)、美罗培南(MEM)分别联合头孢他啶(CAZ)、头孢哌酮/舒巴坦(SCF)、阿米卡星(AK)、左氧氟沙星(LEV)和磷霉素(FOS)对产 KPC、NDM 和 IMP 的耐碳青霉烯类肠杆菌(CRE)的体外联合药物敏感性。**方法** 选取从临床标本中分离的 38 株非重复 CRE, 采用微量肉汤稀释法测定抗菌药物对菌株的最低抑菌浓度(MIC), 棋盘稀释法进行联合药敏试验, 计算部分抑菌浓度指数(FIC)判定联合效果。**结果** CZA 对 22 株产 KPC 菌株的 MIC 均 $\leq 4 \mu\text{g/mL}$, 对 16 株产 B 类金属酶 NDM、IMP 菌株的 MIC 均 $> 128 \mu\text{g/mL}$, 联合 ATM 后协同率为 100%; IPM 与 MEM 分别联合 SCF 协同率最强, 分别为 63.2%、68.4%, 协同率与相加率之和为 100%, IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低, 为 40.5%。在肺炎克雷伯菌(KP)中, IPM 与 MEM 联合 SCF 协同率均为 68%, 协同率与相加率之和均为 100%, IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低, 为 24%; 大肠埃希菌(ECO)中, IPM 与 MEM 联合 SCF 协同率分别为 44.4%、77.8%, 协同率与相加率之和为 100%, IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低, 为 66.7%。基因型 KPC 菌株中, IPM 与 MEM 联合 SCF 协同率分别为 72.7%、63.6%, 协同率与相加率之和均为 100%, IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低, 为 22.7%; 基因型 NDM 菌株中, IPM 与 MEM 联合 SCF 协同率分别为 46.7%、80.0%, 协同率与相加率之和为 100%, IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低, 为 64.3%。所有联合方案均无拮抗作用。**结论** CZA 单独或联合 ATM 对 CRE 菌株有效。IPM 与 MEM 分别联合其他抗菌药物中, IPM 与 MEM 联合 SCF 的协同率与相加率之和最高, IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低。不是所有联合方案都有效, 同一菌株不同联合方案的效果不同, 同一联合方案对不同菌株效果也不同, 两药间的剂量配比也很重要。

[关键词] 联合药敏; 部分抑菌浓度指数; 耐碳青霉烯类肠杆菌; 基因型; 棋盘稀释法; 联合用药

[中图分类号] R181.3⁺2 R378

In vitro combined antimicrobial susceptibility test of 11 combined regimens against carbapenem-resistant Enterobacterales

LU Guo-ping^{1,2}, TANG Hao³, XIA Zhao-xin¹, MEN Wan-qi¹, SHEN Ji-lu¹ (1. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Anhui Public Health Clinical Center, Hefei 230000, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Fuyang Hospital of Anhui Medical University, Fuyang 236000, China; 3. Department of Laboratory Medicine, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China)

[Abstract] **Objective** To observe the *in vitro* susceptibility test result of ceftazidime/avibactam (CZA) combined with aztreonam (ATM), as well as imipenem (IPM) and meropenem (MEM) respectively combined with ceftazidime (CAZ), cefoperazone/sulbactam (SCF), amikacin (AK), levofloxacin (LEV) and fosfomycin (FOS) to

[收稿日期] 2022-09-19

[基金项目] 安徽省教育厅 2020 年安徽省高校合作攻关和公共卫生协同创新项目(GXXT-2020-016); 阜阳市卫生健康委科研课题(FY2021-130); 安徽医科大学校基金资助项目(2022xkj215)

[作者简介] 陆国平(1986-), 女(汉族), 安徽省安庆市人, 副主任技师, 主要从事临床微生物检验和细菌耐药性研究。

[通信作者] 沈继录 E-mail: shenjilu@ahmu.edu.cn

KPC-, NDM- and IMP-producing carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE). **Methods** 38 non-repetitive CRE strains were isolated from clinical specimens. The minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial agents against CRE strains was determined by micro-broth dilution method. Combined antimicrobial susceptibility test was performed by the chessboard dilution method. Fractional inhibitory concentration (FIC) index was calculated to determine the combined effect. **Results** The MICs of CZA to 22 KPC-producing strains were $\leq 4 \mu\text{g/mL}$, to 16 class B metallo-enzyme (NDM and IMP)-producing strains were $> 128 \mu\text{g/mL}$. The synergy rate of CZA was 100% after combined with ATM. The synergy rate of IPM or MEM combined with SCF was the highest, which were 63.2% and 68.4% respectively, and the sum of synergy rate and addition rate was 100%, while the sum of synergy rate and addition rate of IPM combined with FOS was the lowest (40.5%). Among *Klebsiella pneumoniae* (KP) strains, the synergy rates of IPM or MEM combined with SCF were both 68%, the sum of synergy rate and addition rate was 100%, the sum of synergy rate and addition rate of IPM combined with FOS was the lowest (24%). Among *Escherichia coli* (ECO), the synergy rates of IPM or MEM combined with SCF were 44.4% and 77.8% respectively, the sum of synergy rate and addition rate was 100%, the sum of synergy rate and addition rate of IPM combined with FOS was the lowest (66.7%). Among genotype KPC strains, the synergy rates of IPM or MEM combined with SCF were 72.7% and 63.6% respectively, the sum of synergy rate and addition rate was 100%, the sum of synergy rate and addition rate of IPM combined with FOS was the lowest (22.7%). Among genotype NDM strains, the synergy rates of IPM or MEM combined with SCF were 46.7% and 80.0% respectively, the sum of synergy rate and addition rate was 100%, the sum of synergy rate and addition rate of IPM combined with FOS was the lowest (64.3%). All combined schemes had no antagonistic effect. **Conclusion** CZA alone or in combination with ATM is effective for CRE strains. Among all the combinations of IPM and MEM respectively with other antimicrobial agents, the sum of synergy rate and addition rate of IPM and MEM combined with SCF is the highest, and the sum of synergy rate and addition rate of IPM combined with FOS is the lowest. Not all combination schemes are effective. The effect of different combination schemes on the same strain is different, and the effect of the same combination scheme on different strains is also different. The dose ratio between two agents is also important.

[Key words] combined antimicrobial susceptibility test; fractional inhibitory concentration index; carbapenem-resistant Enterobacterales; genotype; checkerboard dilution method; combined medication

随着抗生素、糖皮质激素、抗肿瘤药物在临床广泛应用及创伤手术增加,耐碳青霉烯类肠杆菌(carbapenem-resistant Enterobacterales, CRE)临床检出逐年增加^[1],CRE引起的感染发病率和病死率也不断增高,给临床带来严重挑战,已威胁全球公共健康。新抗菌药物的开发需要时间,重新组合失效的抗菌药物成为另一种解决方案,有研究^[2]报道联合治疗比单一治疗病死率更低。临床很少单独使用碳青霉烯类抗生素治疗 CRE 感染,多见碳青霉烯类联合多粘菌素类、替加环素、磷霉素(FOS)^[3]。头孢他啶/阿维巴坦(CZA)单独或联合氨曲南(ATM)治疗 CRE 也是一种好的选择^[4]。本文采用棋盘稀释法联合药敏试验,探讨以亚胺培南(IPM)、美罗培南(MEM)为代表的碳青霉烯类抗生素分别与其他 5 种抗生素联合的方案,及 CZA 联合 ATM 方案对 CRE 的体外活性,为临床治疗提供试验依据。

1 资料与方法

1.1 菌株 收集 2017 年 8 月—2021 年 3 月安徽某医院检验科临床标本分离的非重复 CRE 128 株,其中,肺炎克雷伯菌(KP)93 株,弗氏柠檬酸杆菌(CFR)2 株,阴沟肠杆菌(ECL)5 株(IPM 与 MEM 敏感 4 株),黏质沙雷菌(SMA)4 株,产气肠杆菌(EAE)1 株,产酸克雷伯菌(KOX)2 株,大肠埃希菌(ECO)21 株(IPM 与 MEM 敏感 10 株)。从中选取 KP 25 株、ECO 9 株、ECL 1 株、CFR 2 株、KOX 1 株,共 38 株 CRE。基因型分类为 KPC 22 株、NDM 15 株、IMP 1 株。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922、大肠埃希菌 ATCC BAA-1705、大肠埃希菌 ATCC BAA-2146。

1.2 培养基和抗菌药物 药敏试验用英国 OXOID

公司阳离子调节 Mueller-Hinton 肉汤。抗菌药物纸片为英国 OXOID 公司商品。抗菌药物粉剂 IPM、头孢他啶(CAZ)、阿米卡星(AK)、左氧氟沙星(LEV)、MEM、舒巴坦、FOS、阿维巴坦、ATM、头孢哌酮均为标准品,购自合肥诺卓生物公司。96 孔无菌培养板购自五中区郭巷华瑞聚合网店。碳青霉烯酶检测试剂盒(NG-Test[®] CARBA 5),批号 W20040311,购自长沙中生众捷生物技术有限公司。

1.3 碳青霉烯酶检测(胶体金免疫层析法) 将样本与提取缓冲液在 EP 管中均匀混合,放置 10 min,加入该混合液到检测卡样本孔中,室温放置 15 min 后读取结果。

1.4 微量肉汤稀释法测定最低抑菌浓度(MIC) 将系列稀释的抗菌药物中加入一定浊度肉汤稀释的细菌共同孵育 16~24 h,96 孔平皿无菌生长孔中最低药物浓度为该菌 MIC。试验操作及药敏结果判定参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)2020 年 M100s-30th 的标准,头孢哌酮/舒巴坦(SCF)参照 CLSI 中头孢哌酮折点,FOS 微量肉汤稀释法在 CLSI 中无折点,本文仅就联合药敏试验前后 MIC 变化判断联合效果。

1.5 棋盘稀释法 采用微量肉汤稀释法测定 38 株 CRE 的 MIC,药敏试验质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922。IPM、MEM、CAZ、ATM、AK、LEV 浓度范围为 0.25~128 $\mu\text{g}/\text{mL}$,FOS 为 0.5~256 $\mu\text{g}/\text{mL}$,SCF(头孢哌酮与舒巴坦配比 2:1)浓度范围(0.25/0.125~128/64) $\mu\text{g}/\text{mL}$,CZA(阿维巴坦浓度固定 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$)浓度范围(128/4~0.06/4) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。每孔分别加入联合用药的抗菌药物共 100 μL ,及浓度为 10^6 CFU/mL 的菌悬液 100 μL (新鲜菌落制备 0.5 麦氏单位的接种菌液,再用 2 倍 MH 肉汤稀释 10^2 倍),微孔板最终接种浓度为 5×10^5 CFU/mL。35 $^{\circ}\text{C}$ 培养 16~20 h,读取结果并记录单药和两药联合时 MIC 值,具体棋盘稀释法操作步骤参考文献[5]。

部分抑菌浓度(fractional inhibitory concentration, FIC)指数作为联合药敏试验结果的判断依据($\text{FIC} = \text{MIC}_{\text{甲药联合}} / \text{MIC}_{\text{甲药单药}} + \text{MIC}_{\text{乙药联合}} / \text{MIC}_{\text{乙药单药}}$), $\text{FIC} \leq 0.5$ 为协同作用, $0.5 < \text{FIC} \leq 1$ 为相加作用, $1 < \text{FIC} \leq 2$ 为无关作用, $\text{FIC} > 2$ 为拮抗作用^[5-6]。 $\text{MIC}_{\text{甲药联合}}$ 和 $\text{MIC}_{\text{乙药单药}}$ 的 MIC 折点参照甲与乙药单药 MIC 的 CLSI 2020 年 M100s-30th 的判断标准读取结果。FOS 的微量肉汤稀释法在 CLSI 中无折

点,联合后 MIC 读取同单药 MIC 读取,仅就联合药敏试验前后 MIC 变化判断联合效果。

1.6 耐药菌株等定义 CRE 定义为 IPM、MEM 等任一碳青霉烯类抗生素耐药^[7]。“11 种联合方案”即 CZA 联合 ATM,IPM、MEM 分别联合 CAZ、SCF、AK、LEV、FOS 共 11 种联合药敏试验方案。

2 结果

2.1 抗菌药物对各 CRE 菌株的 MIC 结果 微量肉汤稀释法对选取的 38 株菌进行联合药敏试验,CZA 对产 KPC 酶菌株的 MIC 值均 $\leq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$,为敏感,但对产 B 类金属酶 NDM、IMP 菌株的 MIC 值均 $> 128 \mu\text{g}/\text{mL}$,为耐药;IPM 的 MIC 值均 $\geq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$,MEM 的 MIC 值均 $\geq 8 \mu\text{g}/\text{mL}$,SCF 的 MIC 值均 $\geq 64 \mu\text{g}/\text{mL}$,CAZ 的 MIC 值均 $\geq 32 \mu\text{g}/\text{mL}$,为耐药;LEV 对 34 株菌的 MIC 值 $\geq 2 \mu\text{g}/\text{mL}$,为耐药;ATM 对 3 株菌 MIC 值 $\leq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$,为敏感,对 35 株菌的 MIC 值 $\geq 64 \mu\text{g}/\text{mL}$,为耐药;AK 对 26 株的 MIC $\leq 16 \mu\text{g}/\text{mL}$,为敏感,对 12 株的 MIC $\geq 128 \mu\text{g}/\text{mL}$,为耐药;FOS 只有 1 株 MIC 为 $16 \mu\text{g}/\text{mL}$,其余 37 株均 $\geq 256 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。见表 1。

2.2 11 种联合方案对 38 株 CRE 的联合作用结果

联合药敏试验的每种方案所选取的 2 种药物在独立药敏试验中均判断为耐药(除 FOS)。联合药敏试验结果显示,11 种联合方案均无拮抗作用。CZA 联合 ATM 协同率为 100%,IPM、MEM 联合 SCF 协同率分别为 63.2%、68.4%,协同率与相加率之和为 100%,MEM 联合 FOS 的协同与相加率之和为 56.8%,IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低,为 40.5%。其余联合试验结果见表 2。

2.3 11 种联合方案在 KP 与 ECO 中的作用情况

CZA 联合 ATM 在 ECO 和 KP 中协同率为 100%。在 KP 中,IPM 与 MEM 联合 SCF 协同率均为 68%,协同率与相加率之和均为 100%,MEM 联合 FOS 的协同与相加率之和为 40%,IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低,为 24%。在 ECO 中,IPM 与 MEM 联合 SCF 协同率分别为 44.4%、77.8%,协同率与相加率之和为 100%,MEM 联合 FOS 的协同率与相加率之和为 88.9%,IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低,为 66.7%。其余详见表 3。

表 1 38 株 CRE 对不同抗菌药物的 MIC 值

Table 1 MIC values of different antimicrobial agents against 38 CRE strains

编号	细菌	基因型	CAZ	CZA	SCF	ATM	IPM	MEM	AK	LEV	FOS
3	CFR	NDM	>128	>128	>128	64	4	8	2	32	>256
8	KP	KPC	>128	0.5	>128	>128	16	32	1	8	>256
11	KP	KPC	>128	4	>128	>128	64	>128	>128	32	>256
16	KP	KPC	>128	4	>128	>128	64	>128	>128	32	>256
18	KP	KPC	>128	1	>128	>128	64	>128	>128	32	>256
19	KP	KPC	>128	2	>128	>128	64	>128	>128	32	>256
22	KP	KPC	>128	1	>128	>128	64	>128	1	64	>256
23	KP	NDM	>128	>128	>128	>128	16	64	1	8	>256
26	KP	KPC	>128	2	>128	>128	64	>128	>128	32	>256
30	KP	KPC	>128	2	>128	>128	32	>128	>128	32	>256
38	KP	NDM	>128	>128	>128	>128	8	32	16	0.25	>256
41	ECO	NDM	>128	>128	>128	>128	8	32	2	0.125	>256
43	KP	KPC	>128	0.5	>128	>128	32	128	8	4	>256
44	KP	KPC	128	0.5	>128	>128	64	128	4	8	>256
46	KP	KPC	128	0.25	>128	>128	64	>128	8	8	>256
49	KP	KPC	64	0.5	>128	>128	64	128	8	8	>256
50	KP	KPC	>128	0.5	128	>128	64	128	16	4	>256
52	KP	KPC	128	<0.125	>128	>128	128	128	4	64	>256
53	KP	KPC	32	0.25	>128	64	64	>128	8	64	>256
58	ECL	IMP	>128	>128	64	>128	4	16	2	2	>256
59	KP	KPC	32	0.5	>128	>128	128	>128	4	128	>256
62	KP	KPC	32	0.25	>128	>128	64	>128	8	32	>256
65	KP	KPC	128	0.5	128	>128	128	>128	8	64	>256
67	KP	KPC	64	0.25	>128	>128	128	>128	16	64	>256
69	ECO	NDM	>128	>128	>128	<0.125	8	64	4	32	256
77	KP	KPC	>128	2	>128	>128	32	>128	>128	64	>256
90	ECO	NDM	>128	>128	>128	>128	8	128	2	32	>256
98	ECO	NDM	>128	>128	>128	>128	8	32	1	32	>256
102	ECO	NDM	>128	>128	>128	128	8	16	2	32	256
106	ECO	NDM	>128	>128	>128	64	8	32	128	16	>256
108	KP	KPC	>128	2	>128	>128	64	>128	>128	32	>256
110	KP	NDM	>128	>128	>128	128	8	32	2	1	>256
111	ECO	NDM	>128	>128	>128	4	8	64	>128	32	256
112	KOX	NDM	>128	>128	>128	128	8	16	8	2	>256
114	CFR	NDM	>128	>128	>128	>128	8	16	2	4	16
118	KP	KPC	>128	1	>128	>128	64	>128	>128	64	>256
120	ECO	NDM	>128	>128	>128	0.25	8	16	128	0.5	256
127	ECO	NDM	>128	>128	>128	>128	8	32	4	16	>256

表 2 11 种联合方案对 38 株 CRE 菌株协同、相加、无关、拮抗作用情况

Table 2 Synergic, addition, irrelevant and antagonistic effects of 11 combined regimens on 38 CRE strains

联合方案	联合菌数(株)	协同率[株(%)]	相加率[株(%)]	协同率+相加率[株(%)]	无关率[株(%)]	拮抗率[株(%)]
CZA + ATM	13	13(100)	0	13(100)	0	0
IPM + AK	12	2(16.7)	4(33.3)	6(50.0)	6(50.0)	0
IPM + CAZ	38	11(28.9)	25(65.8)	36(94.7)	2(5.3)	0
IPM + SCF	38	24(63.2)	14(36.8)	38(100)	0	0
IPM + LEV	34	7(20.6)	22(64.7)	29(85.3)	5(14.7)	0
IPM + FOS	37	4(10.8)	11(29.7)	15(40.5)	22(59.5)	0
MEM + AK	12	3(25.0)	3(25.0)	6(50.0)	6(50.0)	0
MEM + CAZ	38	10(26.3)	18(47.4)	28(73.7)	10(26.3)	0
MEM + SCF	38	26(68.4)	12(31.6)	38(100)	0	0
MEM + LEV	34	6(17.6)	27(79.4)	33(97.1)	1(2.9)	0
MEM + FOS	37	7(18.9)	14(37.8)	21(56.8)	16(43.2)	0

表 3 11 种联合方案在 KP 与 ECO 中协同、相加、无关、拮抗作用情况

Table 3 Synergic, addition, irrelevant and antagonistic effects of 11 combined regimens on KP and ECO

联合方案	KP(n = 25)						ECO(n = 9)					
	联合菌数(株)	协同率[株(%)]	相加率[株(%)]	协同率+相加率[株(%)]	无关率[株(%)]	拮抗率[株(%)]	联合菌数(株)	协同率[株(%)]	相加率[株(%)]	协同率+相加率[株(%)]	无关率[株(%)]	拮抗率[株(%)]
CZA + ATM	3	3(100)	0	3(100)	0	0	9	9(100)	0	9(100)	0	0
IPM + AK	9	0	3(33.3)	3(33.3)	6(66.7)	0	3	2(66.7)	1(33.3)	3(100)	0	0
IPM + CAZ	25	5(20.0)	18(72.0)	23(92.0)	2(8.0)	0	9	4(44.4)	5(55.6)	9(100)	0	0
IPM + SCF	25	17(68.0)	8(32.0)	25(100)	0	0	9	4(44.4)	5(55.6)	9(100)	0	0
IPM + LEV	23	4(17.4)	17(73.9)	21(91.3)	2(8.7)	0	7	1(14.3)	4(57.1)	5(71.4)	2(28.6)	0
IPM + FOS	25	0	6(24.0)	6(24.0)	19(76.0)	0	9	4(44.4)	2(22.2)	6(66.7)	3(33.3)	0
MEM + AK	9	0	3(33.3)	3(33.3)	6(66.7)	0	3	3(100)	0	3(100)	0	0
MEM + CAZ	25	4(16.0)	11(44.0)	15(60.0)	10(40.0)	0	9	5(55.6)	4(44.4)	9(100)	0	0
MEM + SCF	25	17(68.0)	8(32.0)	25(100)	0	0	9	7(77.8)	2(22.2)	9(100)	0	0
MEM + LEV	23	2(8.7)	20(87.0)	22(95.7)	1(4.3)	0	7	1(14.3)	6(85.7)	7(100)	0	0
MEM + FOS	25	1(4.0)	9(36.0)	10(40.0)	15(60.0)	0	9	4(44.4)	4(44.4)	8(88.9)	1(11.1)	0

2.4 11 种联合方案在不同基因型菌株中的作用情况 CZA 联合 ATM 在产 B 类金属酶 NDM、IMP 菌株中协同率均为 100%；基因型 KPC 菌株中，IPM、MEM 联合 SCF 协同率均 60% 以上，分别为 72.7%、63.6%，协同率与相加率之和均为 100%，MEM 联合 FOS 的协同率与相加率之和为 31.8%，

IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低，为 22.7%；基因型 NDM 菌株中，IPM 与 MEM 联合 SCF 协同率 40% 以上，分别为 46.7%、80.0%，协同率与相加率之和为 100%，MEM 联合 FOS 的协同率与相加率之和为 92.9%，IPM 联合 FOS 的协同率与相加率之和最低，为 64.3%。其余详见表 4。

表 4 11 种联合方案在不同基因型菌株中的协同、相加、无关、拮抗作用情况

Table 4 Synergic, addition, irrelevant and antagonistic effects of 11 combined regimens on strains with different genotypes

联合方案	KPC(n=22)						NDM(n=15)						IMP(n=1)				
	联合菌数(株)	协同率 [株(%)]	相加率 [株(%)]	协同率+相加率 [株(%)]	无关率 [株(%)]	拮抗率 [株(%)]	联合菌数(株)	协同率 [株(%)]	相加率 [株(%)]	协同率+相加率 [株(%)]	无关率 [株(%)]	拮抗率 [株(%)]	联合菌数(株)	协同率 [株(%)]	相加率 [株(%)]	无关率 [株(%)]	拮抗率 [株(%)]
CZA+ATM	0	N	N	N	N	N	12	12(100)	0	12(100)	0	0	1	1(100)	0	0	0
IPM+AK	9	0	3(33.3)	3(33.3)	6(66.7)	0	3	2(66.7)	1(33.3)	3(100)	0	0	0	N	N	N	N
IPM+CAZ	22	4(18.2)	16(72.7)	20(90.9)	2(9.1)	0	15	7(46.7)	8(53.3)	15(100)	0	0	1	0	1(100)	0	0
IPM+SCF	22	16(72.7)	6(27.3)	22(100)	0	0	15	7(46.7)	8(53.3)	15(100)	0	0	1	1(100)	0	0	0
IPM+LEV	22	4(18.2)	16(72.7)	20(90.9)	2(9.1)	0	11	3(27.3)	6(54.5)	9(81.8)	2(18.2)	0	1	0	0	1(100)	0
IPM+FOS	22	0	5(22.7)	5(22.7)	17(77.3)	0	14	4(28.6)	5(35.7)	9(64.3)	5(35.7)	0	1	0	1(100)	0	0
MEM+AK	9	0	3(33.3)	3(33.3)	6(66.7)	0	3	3(100)	0	3(100)	0	0	0	N	N	N	N
MEM+CAZ	22	3(13.6)	9(40.9)	12(54.5)	10(45.5)	0	15	7(46.7)	8(53.3)	15(100)	0	0	1	0	1(100)	0	0
MEM+SCF	22	14(63.6)	8(36.4)	22(100)	0	0	15	12(80.0)	3(20.0)	15(100)	0	0	1	0	1(100)	0	0
MEM+LEV	22	2(9.1)	20(90.9)	22(100)	0	0	11	3(27.3)	7(63.6)	10(90.9)	1(9.1)	0	1	1(100)	0	0	0
MEM+FOS	22	0	7(31.8)	7(31.8)	15(68.2)	0	14	7(50.0)	6(42.9)	13(92.9)	1(7.1)	0	1	0	1(100)	0	0

注:N 为未进行联合药敏试验。

3 讨论

随着抗菌药物的广泛应用,细菌耐药形势十分严峻。据 2014—2019 年全国细菌耐药检测网(CARSS)^[8]报道,CRE 检出率逐年升高。在 CRE 耐药性增高甚至出现全耐药的背景下,联合用药治疗是潜在的解决方法。联合药敏试验目前没有统一论与标准,使用最多的是替加环素与多粘菌素同时或分别与其他抗菌药物联合^[9-12],更多药的联合药敏试验研究可为临床提供更广泛的选择。

研究显示,CZA 联合 ATM 的药敏试验协同作用为 97.5%;IPM 与 CAZ 的联合药敏试验对 20% 菌株有协同作用;IPM 和 FOS 联合用药治疗 4 周,临床改善;IPM 和 MEM 分别与 FOS 联合药敏试验协同作用率为 42%、33%;MEM 联合 SCF 用药可改善新生儿多药耐药肺炎的免疫功能^[3,5,13-15]。另有研究^[16]证实 MEM 和 AK 联合用药治疗耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌小鼠肺炎模型的体内疗效有效。尽管组合治疗疗效可期,但选择理想的抗菌药物组合方案耗时,每种潜在联合方案的有效性取决于菌株的反应,使得确定最佳抗菌药物联合方案变得困难。

本研究对 CZA 联合 ATM,及 IPM、MEM 分别与其他常用抗菌药物的联合进行药敏试验,未发现拮抗作用。CZA 对产 KPC 菌株敏感,但对产 B

类金属酶 NDM、IMP 菌株耐药,联合 ATM 后,具有很好的协同作用,与文献^[13, 17]报道一致。在基因型 KPC 菌株和 KP 中,IPM、MEM 联合 SCF 协同率均 60% 以上,协同率与相加率之和为 100%;在 NDM 菌株和 ECO 中,IPM、MEM 联合 SCF 协同率均 40% 以上,协同率与相加率之和均为 100%,MEM+SCF 协同率均高于 IPM+SCF。研究^[18-20]显示,碳青霉烯类抗生素联合 FOS 对铜绿假单胞菌具有协同杀菌作用,但对 CRE 菌株的联合药敏情况未知。本研究中,IPM+FOS 对 KPC 与 NDM 菌株的协同率与相加率之和分别为 22.7%、64.3%,MEM+FOS 在 KPC、NDM 菌株中协同率与相加率之和分别为 31.8%、92.9%。在联合治疗效果不佳、病情较重、或经济条件允许的情况下,可以推荐提前使用 CZA 治疗 KPC 型 CRE 菌株感染,CZA 联合 ATM 治疗 B 类金属酶型 CRE 感染。

本试验选取了 KPC、NDM、IMP 三种基因型菌株进行联合药敏试验,均收到很好的联合作用效果。IPM、MEM 分别与各抗菌药物的联合药敏试验在不同酶型中作用结果稍有差异,NDM 菌株的 IPM+LEV 和 MEM+LEV 协同率与相加率之和低于 KPC 菌株,IPM+SCF 和 MEM+SCF 协同率与相加率之和与 KPC 菌株相同,其余联合方案协同率与相加率之和均高于 KPC 菌株。KP 与 ECO 联合药敏试验结果比较,KP 中的 IPM+LEV 协同率与相

加率之和高于 ECO, CZA + ATM、IPM + SCF 和 MEM + SCF 协同率与相加率之和与 ECO 相同, 其余联合方案协同率与相加率之和均低于 ECO。

此外, 不同菌株的两药最佳 MIC 配比不尽相同。配比发现, 联合药敏试验的 MIC 从低到高, 可能联合无效。临床需依据具体的联合药敏试验, 也需考虑患者的身体状况、细菌 MIC 值、感染部位等, 在具体两药 MIC 配比试验基础上, 根据患者综合情况选择适合的配比。例如患者有出血倾向, 而 SCF 可引起凝血功能障碍和出血^[21], 碳青霉烯类与 SCF 联合时, 应选前者剂量大后者剂量小的最佳配比, 并实时监测凝血功能。

本试验中收集的产金属酶型 NDM、IMP 菌株相对少, 特别是 IMP 菌株仅 1 株, 由于 IMP 菌株数量有限, 结果未具体分析。另外 CRE 菌株除 KP 外其他种类的细菌数量较少。本文主要做了碳青霉烯类抗生素 IPM、MEM 分别与其他 5 种抗菌药物的联合药敏试验, 厄他培南和多立培南分别与其他抗菌药物联合药敏试验暂时未做, 待后续有更多酶型和不同类型细菌后再补充研究。

综上所述, 本试验选取了 NDM、KPC 和 IMP 基因型菌株和不同种类细菌, 比较 11 种联合方案对不同基因型和菌株类型的效果, 证实了不是所有联合方案都有效, 同一菌株不同联合方案效果不同, 同一联合方案对不同菌株效果也不同, 两药间的剂量配比也很重要, 提示临床治疗时最好依据具体的联合药敏试验结果选择和联合抗菌药物。但该方法试验操作繁琐, 费时费力, 一般实验室难以常规开展进行。目前临床大多采用定性的纸片或 E-test 条进行联合药敏试验^[22], 且无判断标准, 只能大致观察是否有联合作用。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] Hu FP, Guo Y, Yang Y, et al. Resistance reported from China antimicrobial surveillance network (CHINET) in 2018[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38(12): 2275 - 2281.

[2] 宋晓蕾, 王明贵. 预测产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌所致血流感染病死率的有关因素: 联合治疗的重要性[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(2): 141.

Song XL, Wang MG. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy

[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2014, 14(2): 141.

- [3] 曹玲, 肖斌, 陈丽丹, 等. 碳青霉烯类药物联合用药治疗广泛耐药肺炎克雷伯菌的研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(12): 1195 - 1200.
- Cao L, Xiao B, Chen LD, et al. Advances in combined use of carbapenem antibiotics for the treatment of extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2017, 16(12): 1195 - 1200.
- [4] Yasmin M, Fouts DE, Jacobs MR, et al. Monitoring ceftazidime-avibactam and aztreonam concentrations in the treatment of a bloodstream infection caused by a multidrug-resistant *Enterobacter sp.* carrying both *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-4 and New Delhi metallo- β -lactamase-1[J]. Clin Infect Dis, 2020, 71(4): 1095 - 1098.
- [5] 郝敏, 秦晓华. 亚胺培南联合 8 种抗菌药物对产 KPC-2 酶肺炎克雷伯菌的体外联合药敏试验[J]. 中国感染与化疗杂志, 2019, 19(4): 410 - 416.
- Hao M, Qin XH. In vitro antibacterial activity of imipenem combined with another antimicrobial agent against KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2019, 19(4): 410 - 416.
- [6] Zhang WX, Guo Y, Li JY, et al. In vitro and in vivo bactericidal activity of ceftazidime-avibactam against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2018, 7: 142.
- [7] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2018 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020, 20(1): 1 - 10.
- Hu FP, Guo Y, Zhu DM, et al. CHINET surveillance of bacterial resistance in China: 2018 report[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2020, 20(1): 1 - 10.
- [8] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014—2019 年细菌耐药性监测报告[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(1): 15 - 30.
- China Antimicrobial Resistance Surveillance System. Antimicrobial resistance of bacteria: surveillance report from China Antimicrobial Resistance Surveillance System in 2014 - 2019 [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(1): 15 - 30.
- [9] 左同坤, 汤庆, 惠亮亮, 等. 替加环素联合头孢哌酮舒巴坦治疗多重耐药菌致重症肺炎的效果[J]. 中国当代医药, 2021, 28(3): 80 - 82, 94.
- Zuo TK, Tang Q, Hui LL, et al. Effect of tigecycline combined with cefoperazone sulbactam in the treatment of severe pneumonia caused by multi-drug resistant bacteria[J]. China Modern Medicine, 2021, 28(3): 80 - 82, 94.
- [10] 李燕菊, 汪海涛, 马新萍, 等. 多粘菌素 B 联合头孢哌酮舒巴坦钠和替加环素治疗多重耐药鲍曼不动杆菌肺炎的疗效观察[J]. 药物评价研究, 2021, 44(2): 376 - 380.
- Li YJ, Wang HT, Ma XP, et al. Efficacy of polymyxin B combined with cefoperazone sodium and sulbactam sodium and tigecycline in treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter*

- baumannii pneumonia[J]. Drug Evaluation Research, 2021, 44(2): 376-380.
- [11] 崔跃. 不同剂量头孢哌酮舒巴坦联合替加环素对肺部多重耐药菌感染患者凝血功能的影响[J]. 中国现代医药杂志, 2021, 23(2): 57-59.
- Cui Y. Effects of different doses of cefoperazone sulbactam sodium combined with tigecycline on coagulation function in patients with pulmonary multidrug-resistant bacteria infection [J]. Modern Medicine Journal of China, 2021, 23(2): 57-59.
- [12] 胡帮芹, 杨忆, 赵洪琼, 等. 替加环素与多黏菌素单药或联合治疗碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌血流感染有效性的 Meta 分析[J]. 临床药物治疗杂志, 2019, 17(2): 39-45.
- Hu BQ, Yang Y, Zhao HQ, et al. Efficacy of combination therapy for the treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: a systematic review and Meta-analysis[J]. Clinical Medication Journal, 2019, 17(2): 39-45.
- [13] Maraki S, Mavromanolaki VE, Moraitis P, et al. Ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, and imipenem-relebactam in combination with aztreonam against multidrug-resistant, metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2021, 40(8): 1755-1759.
- [14] Nakamura I, Yamaguchi T, Aoki K, et al. Imipenem plus fosfomicin as salvage therapy for vertebral osteomyelitis[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2020, 65(1): e01746-20.
- [15] Lin MJ, Zhu SX, Weng HM, et al. Effect of cefoperazone sulbactam sodium combined with meropenem on the immune function in the treatment of neonatal pneumonia caused by multidrug-resistant bacteria[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(6): 6342-6351.
- [16] Ota K, Kaku N, Yanagihara K. Efficacy of meropenem and amikacin combination therapy against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* mouse model of pneumonia[J]. J Infect Chemother, 2020, 26(12): 1237-1243.
- [17] Cairns KA, Hall V, Martin GE, et al. Treatment of invasive IMP-4 *Enterobacter cloacae* infection in transplant recipients using ceftazidime/avibactam with aztreonam; a case series and literature review [J]. Transpl Infect Dis, 2021, 23(2): e13510.
- [18] 刘云宁, 李小凤, 汤建华, 等. 磷霉素与其他抗菌药物对多重耐药铜绿假单胞菌的联合药敏试验研究[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(12): 1149-1152.
- Liu YN, Li XF, Tang JH, et al. Combination antimicrobial susceptibility testing of fosfomicin and other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(12): 1149-1152.
- [19] Albiero J, Mazucheli J, Barros JPDR, et al. Pharmacodynamic attainment of the synergism of meropenem and fosfomicin combination against *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo- β -lactamase[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63(6): e00126-19.
- [20] Drusano GL, Neely MN, Yamada WM, et al. The combination of fosfomicin plus meropenem is synergistic for *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 in a hollow-fiber infection model[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(12): e01682-18.
- [21] Wang W, Liu YM, Yu C, et al. Cefoperazone-sulbactam and risk of coagulation disorders or bleeding: a retrospective cohort study[J]. Expert Opin Drug Saf, 2020, 19(3): 339-347.
- [22] 郎磊, 李娜, 陈露, 等. 替加环素联合 5 种抗菌药物对耐碳青霉烯的肺炎克雷伯菌体外抗菌作用的研究[J]. 天津医科大学学报, 2020, 26(3): 276-279.
- Lang L, Li N, Chen L, et al. In vitro antibacterial activity study of tigecycline combined with 5 antibacterial agents against CRKP [J]. Journal of Tianjin Medical University, 2020, 26(3): 276-279.

(本文编辑:翟若南、左双燕)

本文引用格式:陆国平,唐浩,夏兆新,等. 11 种联合方案对耐碳青霉烯类肠杆菌的体外联合药敏试验[J]. 中国感染控制杂志, 2023, 22(3):287-294. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20233384.

Cite this article as: LU Guo-ping, TANG Hao, XIA Zhao-xin, et al. *In vitro* combined antimicrobial susceptibility test of 11 combined regimens against carbapenem-resistant Enterobacterales[J]. Chin J Infect Control, 2023, 22(3): 287-294. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233384.