

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20233310

## 论著·临床微生物与感染监测专题

## 亚胺培南联合磷霉素对多重耐药鲍曼不动杆菌的试验研究

王亚萍<sup>1</sup>, 郭 普<sup>2</sup>, 汪华学<sup>1</sup>

(蚌埠医学院第一附属医院 1. 重症医学科; 2. 检验科, 安徽 蚌埠 233004)

**[摘要]** **目的** 探索以亚胺培南为基础用药, 对临床分离多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-AB)的体内外抗菌方法。**方法** 用微量肉汤稀释法及棋盘法测定 7 株临床分离的 MDR-AB 对亚胺培南、磷霉素、阿米卡星、替加环素、多粘菌素 B 5 种抗菌药物的最低抑菌浓度(MIC)及联合 MIC, 并计算部分抑菌浓度指数(FICI)。用时间杀菌曲线法判断亚胺培南联合磷霉素的杀菌效果。选取菌株 AB6624、AB0153 构建体外生物膜模型, 结晶紫染色法半定量生物膜。激光共聚焦显微镜观察使用亚胺培南联合磷霉素对生物膜细菌的杀伤作用。流式细胞仪检测亚胺培南及磷霉素单药与联合用药对细菌活性氧(ROS)表达的影响。建立大蜡螟感染模型, 记录亚胺培南及磷霉素单药与联合用药时大蜡螟存活率。**结果** 亚胺培南联合磷霉素对 5 株 MDR-AB 具有协同作用; 亚胺培南联合磷霉素对菌株 AB6624、AB0153 分别在 4、8 h 的菌落数较单药组降低 $>2\log_{10}$  CFU/mL; 亚胺培南联合磷霉素抑制菌株生物膜形成并对菌株 AB0153 生物膜结构具有破坏作用; 亚胺培南联合磷霉素可以提高菌株 AB0153 胞内 ROS 水平, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与对照组相比, 亚胺培南联合磷霉素处理组大蜡螟生存率提高(中位生存时间 96 h), 差异具有统计学意义( $P = 0.022$ )。**结论** 亚胺培南联合磷霉素对 MDR-AB 具有协同作用, 并可能通过抑制生物膜形成及提高细菌胞内 ROS 水平发挥作用。

**[关键词]** 多重耐药鲍曼不动杆菌; 亚胺培南; 磷霉素; 生物膜; 大蜡螟; 联合药敏试验

**[中图分类号]** R978.1

## Effect of imipenem combined with fosfomycin on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*

WANG Ya-ping<sup>1</sup>, GUO Pu<sup>2</sup>, WANG Hua-xue<sup>1</sup> (1. Department of Critical Care Medicine; 2. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore imipenem-based *in vitro* and *in vivo* antibacterial methods against clinically isolated multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDR-AB). **Methods** The minimal inhibitory concentrations (MICs) and combined MICs of seven clinically isolated MDR-AB strains against 5 antimicrobial agents (imipenem [IMP], fosfomycin [FOS], amikacin [AMI], tigecycline [TGC], and polymyxin B [PB]) were detected using broth microdilution and checkerboard methods. Fractional inhibitory concentration index (FICI) was calculated. Bactericidal effect of imipenem combined with fosfomycin was determined by time-bactericidal curve. The strains AB6624 and AB0153 were selected to construct the *in vitro* biofilm model, and biofilm was semi-quantitatively detected by crystal violet staining. Killing effect of imipenem combined with fosfomycin on biofilm bacteria was observed with laser scanning confocal microscopy. Effects of imipenem alone or in combination with fosfomycin on bacterial reactive oxygen species expression were detected by flow cytometry. Wax moth infection model was constructed, and survival rates of wax moth treated with imipenem and fosfomycin alone or in combination were recorded. **Results** Imipenem combined with fosfomycin had synergistic effect on 5 MDR-AB strains. After combined treat-

[收稿日期] 2022-09-01

[基金项目] 安徽省重点研究与开发计划项目(1804h08020256); 安徽省高校自然科学研究项目(KJ2021A0761)

[作者简介] 王亚萍(1997-), 女(汉族), 河南省汝南县人, 硕士研究生, 主要从事鲍曼不动杆菌重症感染性研究。

[通信作者] 汪华学 E-mail: huaxuew2010@163.com

ment of imipenem and fosfomycin, colony numbers of AB6624 and AB0153 at 4 and 8 hour were lower than those with single-drug-treatment group by more than  $2\log_{10}$  CFU/mL. The combined use of imipenem and fosfomycin inhibited the formation of AB0153 biofilm and destroyed its structure. It also increased the intracellular ROS level in AB0153, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). Compared with control group, imipenem combined with fosfomycin treatment group improved the survival rate of wax moth (median survival time 96 hours), with statistically significant difference ( $P = 0.022$ ).

**Conclusion** Imipenem combined with fosfomycin has synergistic effect on MDR-AB, and may play a role by inhibiting biofilm formation and increasing intracellular ROS level of bacteria.

**[Key words]** multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*; imipenem; fosfomycin; biofilm; wax moth; combined drug susceptibility test

鲍曼不动杆菌是一种革兰阴性的机会性致病菌, 可导致免疫功能低下和危重患者发生医院感染<sup>[1-2]</sup>。近年来, 多重耐药鲍曼不动杆菌(multidrug resistance *Acinetobacter baumannii*, MDR-AB)感染的报道不断增多, 而临床上可供选择的治疗药物有限, 抗菌药物联合应用被认为是潜在有效的治疗方法<sup>[3-5]</sup>。作为  $\beta$ -内酰胺类抗生素之一的碳青霉烯类药物通过与青霉素结合蛋白共价结合来抑制细菌细胞壁的合成<sup>[6]</sup>。磷霉素(FOS)是一种由链霉菌属产生的磷酸烯醇丙酮酸类似物, 可以干扰细菌细胞壁形成并具有穿透细菌生物膜的能力<sup>[7]</sup>, 与其他抗菌药物联合使用对包括鲍曼不动杆菌在内的非发酵菌有很强的抗菌活性<sup>[8-11]</sup>。本研究通过体内外试验, 研究亚胺培南(IMP)联用 FOS 对 7 株体外分离 MDR-AB 的抗菌活性, 同时比较 IMP 与 FOS、阿米卡星(AMK)、替加环素(TGC)、多粘菌素 B(PB)的体外协同作用, 进一步探讨 IMP 联合 FOS 对 MDR-AB 生物膜形成及活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生的影响, 为临床防治 MDR-AB 感染提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 试剂及仪器 亚胺培南(CAS 号: 74431 - 23 - 5)、磷霉素钠(CAS 号: 26016 - 99 - 9)购自美国 CSNpharm 公司。MH 琼脂及 MH 肉汤购自英国 Oxoid 公司。贝博® BBcellProbe® 活细菌/死细菌染色试剂盒购自上海贝博生物科技有限公司。活性氧检测试剂盒及 D-PBS 均购自上海碧云天生物技术有限公司。磷酸盐缓冲液, K-B 药敏由蚌埠医学院第一附属医院检验科微生物室提供。VITEK 比浊仪购自法国生物梅里埃公司; 酶标仪购自瑞士 Tecan 贸易股份公司; 流式细胞仪购自美国克曼库

尔特公司; 超高分辨率激光扫描共聚焦显微镜购自德国蔡司公司。

1.1.2 试验菌株与动物 临床分离的 7 株 MDR-AB 均由蚌埠医学院第一附属医院检验科提供。药敏质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853。大蜡螟购自中国天津尚伟轩鱼需有限公司, 长度 15~25 mm, 重量 200~300 mg。

### 1.2 试验方法

1.2.1 菌株鉴定 菌株通过 VITEK 2 Compact 细菌鉴定仪以及飞行时间质谱系统鉴定, 耐药性通过 K-B 纸片法进行检测, 药敏结果判定参照 2020 版美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)<sup>[12]</sup>标准。

1.2.2 最低抑菌浓度(MIC)及部分抑菌浓度指数(FICI)测定 根据 CLSI 2020 版推荐的微量肉汤稀释法测定 7 株 MDR-AB 对 IMP、FOS、PB、AMK、TGC 的单药 MIC, 根据单药 MIC 结果继续使用微量棋盘法测定 7 株 MDR-AB 对 IMP 分别与 FOS、TGC、PB 的联合 MIC 并计算 FICI。FICI =  $MIC_{A药联用} / MIC_{A药单用} + MIC_{B药联用} / MIC_{B药单用}$ 。判断标准: FICI  $\leq 0.5$ , 协同作用; FICI  $> 2.0$ , 拮抗作用;  $0.5 < FICI \leq 1.0$ , 相加作用;  $1.0 < FICI \leq 2.0$ , 无关作用<sup>[12]</sup>。

1.2.3 时间杀菌曲线 选取菌株 AB6624 与 AB0153, 用无菌 M-H 肉汤将孵育的对数生长期细菌制备菌悬液调节至  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL。然后根据两株菌单药 MIC 结果, 选择  $4 \times MIC$  的 IMP 与  $3 \times MIC$  的 FOS 单药或者联合用药与菌液共孵育, 同时把不加入药物的菌液同步培养作为空白对照组。分别在 0、4、8、12、24 h 从各组中取 10  $\mu$ L 菌液, 并用无菌磷酸盐缓冲液(PBS)阶梯性稀释 10 倍, 混匀后各取 10  $\mu$ L 接种于 MHA 琼脂平板上, 37 $^{\circ}$ C 培养箱培养 12 h 后进行菌落计数并构建杀菌曲线。判断标准: 协同效应定义为联合比单药最强

效应的抗菌药物超过细菌初始量  $2\log_{10}$  CFU/mL 的减少;杀菌效应定义为细菌菌落数较初始接种菌落数降低  $\geq 3\log_{10}$  CFU/mL<sup>[13]</sup>。

#### 1.2.4 菌落生物膜测定

1.2.4.1 结晶紫染色法半定量生物膜 以 M-H 肉汤中孵育的对数生长期细菌制备菌悬液,调节菌悬液浓度至  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL,将菌液接种于 96 孔聚苯乙烯平板,每株菌接种 3 孔,每孔 100  $\mu$ L。设空白对照组、对照组、IMP( $0.5 \times \text{MIC}$ )组、FOS( $0.5 \times \text{MIC}$ )组、IMP + FOS( $0.5 \times \text{MIC}$  的 IMP +  $0.5 \times \text{MIC}$  的 FOS)组,分别加入等体积抗菌药物,将 96 孔板置于 37℃ 恒温培养箱孵育 48 h,吸出菌液,使用 PBS 冲洗 3 遍去除游离菌,室温晾干。每孔加入 200  $\mu$ L 95% 甲醇固定 15 min,自然风干后再加入 200  $\mu$ L 0.01% 的结晶紫染色液染色 15 min;吸出结晶紫染色液,使用 PBS 反复冲洗,自然风干后加入 95% 乙醇 200  $\mu$ L 放入 37℃ 恒温培养箱充分溶解生物膜上的结晶紫,于 590 nm 处用全波段酶标仪测定光密度(OD)值。

1.2.4.2 共聚焦显微镜观察菌落生物膜内细菌活力 生物膜制备同 1.2.4.1,将菌液接种于共聚焦皿中培养 48 h,然后吸出菌液,使用 0.85% 氯化钠溶液冲洗三遍去除游离菌,按说明书使用贝博® BBcell-Probe® 活细菌/死细菌染色试剂盒中 PI 和 BBcell-Probe® N01 两种荧光染液对菌落生物膜进行染色,染色结束后使用 0.85% 氯化钠溶液清洗,重复清洗 2 遍最后用吸水纸吸干水分,避光转移并使用激光共聚焦扫描显微镜观察。

1.2.5 细菌 ROS 水平检测 以 M-H 肉汤中孵育的对数生长期细菌制备菌悬液,调节菌悬液浓度至  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL,接种 2 mL 菌液于 5 mL 玻璃管中。设置空白对照组、IMP( $0.5 \times \text{MIC}$ )组、FOS( $0.5 \times \text{MIC}$ )组、IMP + FOS( $0.5 \times \text{MIC}$  的 IMP +  $0.5 \times \text{MIC}$  的 FOS)组及活性氧阳性对照组,按照分组分别加入 10  $\mu$ L 抗菌药物及活性氧阳性对照,将玻璃管置于 37℃ 恒温培养箱孵育 30 min,离心后用 0.85% 氯化钠溶液洗 2 次,然后根据说明书配置浓度为 10  $\mu$ M ROS 检测荧光探针(DCFH-DA)工作液,使用 200  $\mu$ L 重悬细菌后置于 37℃ 恒温培养箱避光孵育 30 min,离心后加入 0.85% 氯化钠溶液洗两次,再用 200  $\mu$ L PBS 重悬,立即上流式细胞仪检测,每组收集  $10^5$  个细菌的数据。

#### 1.2.6 构建大蜡螟模型

1.2.6.1 大蜡螟毒力检测试验 以 M-H 肉汤中孵育的对数生长期细菌制备菌悬液,倍比稀释成菌液浓度分别为  $10^7$ 、 $10^6$ 、 $10^5$  的 3 个试验组,第 4 组为注射 PBS 对照组,第 5 组设置为空白对照组,使用 25  $\mu$ L 微量注射器注射。将幼虫置于 37℃ 培养箱孵育 96 h,每 24 h 观察幼虫存活量。同一浓度重复 3 次,计算每株菌的 LD<sub>50</sub>。

1.2.6.2 大蜡螟体内抗菌药物敏感试验 根据毒力试验得到的 LD<sub>50</sub> 配制菌液浓度感染大蜡螟幼虫。每株菌设置 5 组,每组 15 只幼虫,其中 1~3 组为试验组,注射相应浓度菌液;第 4 组为 PBS 对照组,注射 PBS 缓冲液;第 5 组为空白对照组。注射完毕后将幼虫置于 37℃ 培养箱中孵育 2 h,然后对试验组幼虫模拟人体剂量一次性给予 10  $\mu$ L 抗菌药物,分为 IMP 单药组、FOS 单药组和 IMP + FOS 联合组,其中 IMP 和 FOS 的人体剂量分别为 50、160 mg/kg。注射完抗菌药物后,将幼虫置于 37℃ 培养箱继续孵育 96 h,每 12 h 观察并记录每组幼虫死亡数量,比较存活率。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,每组试验重复 3 次,采用 *t* 检验进行比较,对于生存率曲线比较,使用 Log-rank(Mantel-Cox) 检验分析结果。 $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 以 IMP 为基础的联合用药对 7 株临床分离 MDR-AB 的 MIC 及 FICI IMP 联合 FOS 对其中 5 株 MDR-AB 的 FICI 值为 0.281 2~0.5,为协同作用;对其中两株菌 FICI 为 0.5~1.0,为相加作用。IMP + FOS 组联用较其他组协同率高。见表 1。

2.2 IMP 联合 FOS 对 MDR-AB 的杀菌曲线 IMP 联合 FOS 对菌株 AB6624 的杀菌曲线显示,4  $\times$  MIC 的 IMP 与 3  $\times$  MIC 的 FOS 联合处理组在 8 h 的细菌菌落数较 IMP 和 FOS 单药应用降低  $> 2\log_{10}$  CFU/mL,说明两药联合有协同效应,见图 1。菌株 AB0153 的杀菌曲线显示,4  $\times$  MIC 的 IMP 与 3  $\times$  MIC 的 FOS 处理组在 4 h 的细菌菌落数较两药单药应用时降低  $> 2\log_{10}$  CFU/mL,说明两药联合具有协同效应。4  $\times$  MIC 的 IMP 与 3  $\times$  MIC 的 FOS 联合处理组在 24 h 的细菌菌落数较初始接种量降低  $> 3\log_{10}$  CFU/mL,说明两药联用具有杀菌效应,见图 2。

表 1 IMP 与 4 种抗菌药物单用及联合用药对 MDR-AB 的作用结果( $n = 7$ )

Table 1 Effect of imipenem alone and in combination with four antimicrobial agents on MDR-AB ( $n = 7$ )

分离株	MIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )				FICI				
	IMP	FOS	AMK	TGC	PB	IMP + FOS	IMP + AMK	IMP + TGC	IMP + PB
AB6624	32	512	>1 024	2	1	0.5	<0.375	0.625	0.5
AB0153	32	1 024	>1 024	2	1	0.312 5	<1.25	0.75	0.375
AB2758	64	1 024	>1 024	2	1	0.281 2	<0.312 5	1.5	1.25
AB6317	64	512	1 024	2	1	0.375	0.375	0.312 5	0.375
AB615	64	512	>1 024	1	1	0.5	<0.75	0.562 5	0.5
AB614	64	1 024	>1 024	2	1	0.515 6	<1	0.312 5	0.515 6
AB7182	32	512	>1 024	2	1	0.625	<0.75	0.375	0.625

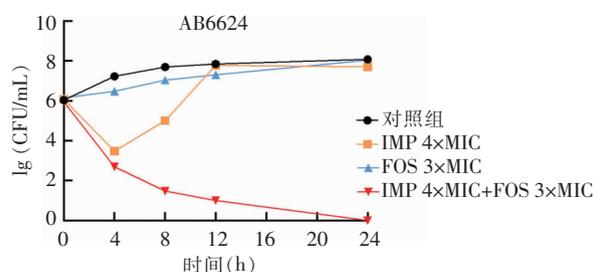


图 1 IMP 联合 FOS 对菌株 AB6624 的杀菌曲线

Figure 1 Bactericidal curve of imipenem combined with fosfomycin against strain AB6624

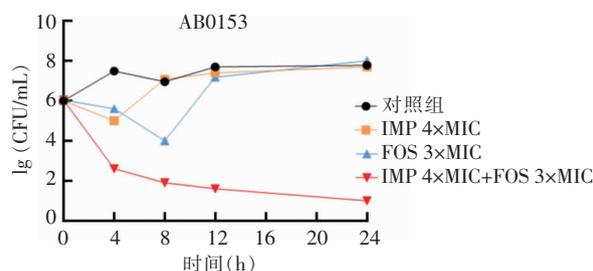


图 2 IMP 联合 FOS 对菌株 AB0153 的杀菌曲线

Figure 2 Bactericidal curve of AB0153 with combined use of imipenem and fosfomycin

2.3 IMP 联合 FOS 对 AB6624、AB0153 生物膜的影响 选取菌株 AB6624、AB0153,通过结晶紫染色法测定 IMP 联合 FOS 对菌株生物膜体外抑制活性。培养 48 h 后,AB6624 与 AB0153 的两药联合处理组 OD(590)值均低于对照组(均  $P < 0.01$ ),表明 IMP 联合 FOS 对 MDR-AB 生物膜形成具有抑制作用。见表 2。

2.4 IMP 联合 FOS 对 MDR-AB 生物膜内细菌活力的影响 激光共聚焦显微镜进一步观察 IMP 联合 FOS 对 MDR-AB 生物膜形成以及膜内细菌存活的影响。根据前期试验结果,选取菌株 AB0153 进行试验,与对照组相比,IMP 联合 FOS 处理组生物膜

表 2 结晶紫染色法测定 IMP 与 FOS 单药及联合用药对菌株 AB6624、AB0153 生物膜形成的影响( $n = 3$ )

Table 2 Effect of imipenem and fosfomycin alone and in combination on biofilm formation of strains AB6624 and AB0153 by crystal violet staining ( $n = 3$ )

组别	AB6624	AB0153
空白对照组	0.55 ± 0.06	1.64 ± 0.33
IMP	0.59 ± 0.02	0.63 ± 0.09
FOS	0.53 ± 0.06	0.60 ± 0.06
IMP + FOS	0.21 ± 0.02*	0.14 ± 0.04**

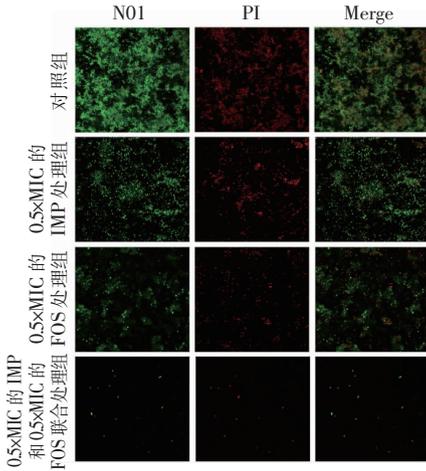
注:空白对照组为只加入细菌而无任何抗菌药物;IMP 组加入细菌及  $0.5 \times \text{MIC}$  的 IMP;FOS 组加入细菌及  $0.5 \times \text{MIC}$  的 FOS;IMP + FOS 组加入细菌及  $0.5 \times \text{MIC}$  的 IMP 和  $0.5 \times \text{MIC}$  的 FOS。\* 表示与 IMP 组相比, $P < 0.01$ ; \*\* 表示与 IMP 组相比, $P < 0.001$ 。

结构稀疏,细菌数量低于对照组及单药处理组,说明两药联合对细菌生物膜形成具有抑制作用。根据不同颜色荧光强度推算,两药处理组生物膜中包埋的死菌比例高于对照组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),表明两药联合对 MDR-AB 生物膜中细菌具有抑制作用。见图 3、4。

2.5 IMP 联合 FOS 对 MDR-AB 内 ROS 水平影响

为了探究 IMP 联合 FOS 的杀菌机制,采用流式细胞仪分析两药联合对菌株 AB0153 胞内 ROS 水平影响,相比于对照组及单药处理组,IMP 联合 FOS 处理组 ROS 水平升高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示两药联合可能通过提高细菌内 ROS 水平发挥杀菌作用。见图 5、6。

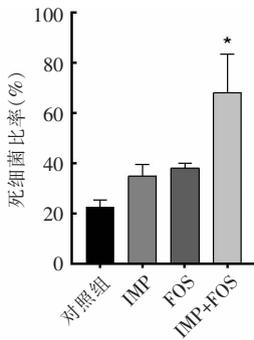
2.6 IMP 单药及联合用药大蜡螟生存率 菌株 AB0153 的  $\text{LD}_{50}$  为  $1.0 \times 10^6$  CFU/mL;IMP 联合 FOS 对 MDR-AB 感染的幼虫具有保护作用,两药联合可以提高大蜡螟幼虫的生存率(中位生存时间 96 h),差异具有统计学意义( $P = 0.022$ )。见图 7。



注：绿色为活菌，红色为死菌。

图 3 激光共聚焦显微镜观察 IMP 联合 FOS 对菌株 AB0153 生物膜内细菌活力影响 (×40)

Figure 3 Effect of imipenem combined with fosfomycin on bacterial activity in biofilm of strain AB0153 observed by laser scanning confocal microscopy (×40)



注：\* 表示  $P < 0.05$ 。

图 4 各药物处理组生物膜中包埋的死细菌所占比率图

Figure 4 Percentage of dead bacteria embedded in biofilm of drug-treated groups

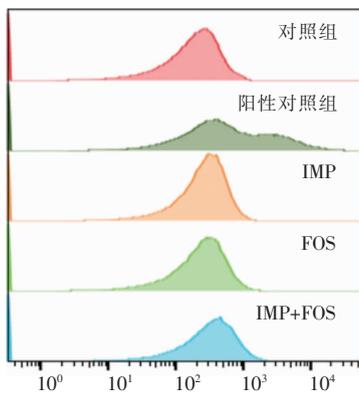
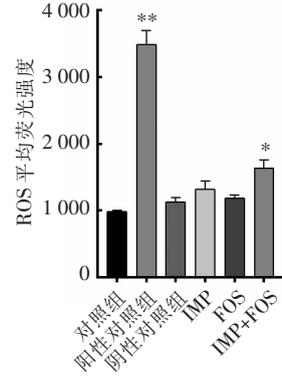


图 5 IMP 与 FOS 单药及联合用药细菌内 ROS 水平变化流式细胞术检测峰图 (n=3)

Figure 5 Flow cytometry detection of ROS level in bacteria treated with imipenem and fosfomycin alone and in combination (n=3)



注：\* 表示  $P < 0.05$ ；\*\* 表示  $P < 0.01$ 。

图 6 各组 ROS 平均荧光强度检测比较图

Figure 6 Comparison of ROS average fluorescence intensity in each group

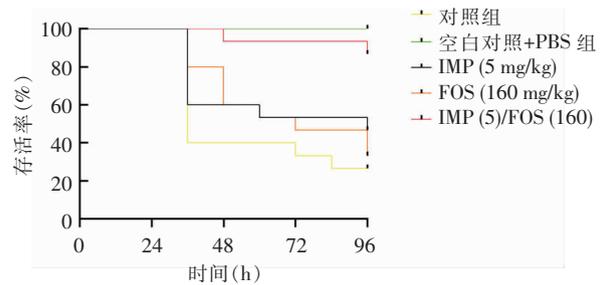


图 7 IMP 与 FOS 单药及联合用药后蜡螟幼虫生存率曲线

Figure 7 Survival rate curve of wax moth larvae treated with imipenem and fosfomycin alone and in combination

### 3 讨论

鲍曼不动杆菌是医院内免疫功能低下及危患者发生侵袭性感染的常见病原菌,近年来抗菌药物的滥用导致 MDR-AB 的流行。碳青霉烯类抗生素是临床治疗耐多药革兰阴性杆菌感染的一线药物,其耐药性的增加使 MDR-AB 相关感染难以根除<sup>[4]</sup>。根据 2021 年 CHINET 中国细菌耐药监测结果,耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌对 IMP 的耐药率高达 99.5%。FOS 既往被用于治疗大肠埃希菌引起的非复杂性尿路感染,近期研究<sup>[8, 14]</sup>表明,FOS 联合其他抗菌药物对铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌等非发酵菌具有很强的抗菌活性,具体作用机制尚不明确。

本研究表明,IMP 联合 FOS 对 MDR-AB 主要表现为协同作用,两药联合具有明显的杀菌效应,相比于联合其他抗菌药物协同率高。生物膜形成是细菌的一种耐药机制,细菌可以在生物膜中生长并躲避机体免疫应答,阻碍抗菌药物发挥作用,而 FOS

与其他抗菌药物联合使用可以穿透细菌生物膜结构并抑制生物膜形成<sup>[7, 15]</sup>。本试验选取的 MDR-AB 菌株具有强生物膜形成能力, IMP 联合 FOS 可以显著抑制其生物膜形成并破坏生物膜结构, 生物膜内活菌数量降低, 提示两药联合可能通过抑制生物膜形成发挥协同作用。ROS 是生物有氧能量代谢中生成的副产物, 当细菌在抗菌药物作用下发生 ROS 过量积累时可以通过芬顿反应产生大量羟自由基, 羟自由基可以直接损伤 DNA、破坏蛋白质及脂质, 从而导致细胞死亡, 近年来被认为是与杀菌抗生素活性相关的机制之一<sup>[16]</sup>。本研究发现, 相比于空白对照组和单药处理组, IMP 联合 FOS 可以提高细菌内 ROS 水平, 说明两药联合可能通过促进 ROS 的产生发挥协同作用。体内大蜡螟感染模型试验进一步验证两药的协同效应, IMP 联合 FOS 治疗后的感染组大蜡螟存活率高于单药治疗组以及对照组, 说明两药联合对感染鲍曼不动杆菌的大蜡螟幼虫具有保护作用。

综上所述, 本试验通过收集临床的 MDR-AB, 构建体内外试验观察 IMP 联合 FOS 的抗菌活性, 发现两药联合具有协同作用, 并且可以通过抑制细菌生物膜形成及促进 ROS 产生参与杀菌过程。两药联合较单药应用对感染 MDR-AB 的大蜡螟具有更好的疗效, 为 IMP 联合 FOS 临床治疗 MDR-AB 感染提供了证据。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

## [参考文献]

[1] Weiner LM, Webb AK, Limbago B, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the national healthcare safety network at the centers for disease control and prevention, 2011–2014[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2016, 37(11): 1288–1301.

[2] Kaushik V, Tiwari M, Joshi R, et al. Therapeutic strategies against potential antibiofilm targets of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237(4): 2045–2063.

[3] Chaisathaphol T, Chayakulkeeree M. Epidemiology of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria in adult hospitalized patients at Siriraj Hospital[J]. *J Med Assoc Thai*, 2014, 97(Suppl 3): S35–S45.

[4] Ibrahim S, Al-Saryi N, Al-Kadmy IMS, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals[J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(10): 6987–6998.

[5] Yu KH, Zeng WL, Xu Y, et al. Bloodstream infections caused by ST2 *Acinetobacter baumannii*: risk factors, antibiotic regimens, and virulence over 6 years period in China[J]. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2021, 10(1): 16.

[6] Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, et al. Carbapenems: past, present, and future[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(11): 4943–4960.

[7] Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, et al. Fosfomicin[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2016, 29(2): 321–347.

[8] Sirijatuphat R, Thamlikitkul V. Preliminary study of colistin versus colistin plus fosfomicin for treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(9): 5598–5601.

[9] Singkham-In U, Chatsuwat T. In vitro activities of carbapenems in combination with amikacin, colistin, or fosfomicin against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2018, 91(2): 169–174.

[10] Nwabor OF, Terbtthakun P, Voravuthikunchai SP, et al. Evaluation of the synergistic antibacterial effects of fosfomicin in combination with selected antibiotics against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2021, 14(3): 185.

[11] Sertcelik A, Baran I, Akinci E, et al. Synergistic activities of colistin combinations with meropenem, sulbactam, minocycline, disodium fosfomicin, or vancomycin against different clones of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains [J]. *Microb Drug Resist*, 2020, 26(5): 429–433.

[12] Allen GP, Cha R, Rybak MJ. In vitro activities of quinupristin-dalfopristin and cefepime, alone and in combination with various antimicrobials, against multidrug-resistant *Staphylococci* and *Enterococci* in an in vitro pharmacodynamic model [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46(8): 2606–2612.

[13] Vollono L, Falconi M, Gaziano R, et al. Potential of curcumin in skin disorders[J]. *Nutrients*, 2019, 11(9): 2169.

[14] Albiero J, Mazucheli J, Barros JPDR, et al. Pharmacodynamic attainment of the synergism of meropenem and fosfomicin combination against *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo- $\beta$ -lactamase[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(6): e00126–19.

[15] Bridier A, Briandet R, Thomas V, et al. Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review[J]. *Biofouling*, 2011, 27(9): 1017–1032.

[16] Van Acker H, Coenye T. The role of reactive oxygen species in antibiotic-mediated killing of bacteria[J]. *Trends Microbiol*, 2017, 25(6): 456–466.

(本文编辑:陈玉华)

本文引用格式:王亚萍,郭普,汪华学. 亚胺培南联合磷霉素对多重耐药鲍曼不动杆菌的试验研究[J]. 中国感染控制杂志, 2023, 22(1): 74–79. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233310.

Cite this article as: WANG Ya-ping, GUO Pu, WANG Hua-xue. Effect of imipenem combined with fosfomicin on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Chin J Infect Control*, 2023, 22(1): 74–79. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233310.