

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20246028

· 论 著 ·

头孢他啶/阿维巴坦单用或与氨曲南联用对碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌的体内、外抗菌活性的比较

卞丽娟^{1,2}, 郭俊哲³, 郑美娟¹

(1. 安徽医科大学第一附属医院检验科, 安徽 合肥 230022; 2. 蚌埠第五人民医院检验科, 安徽 蚌埠 233099; 3. 安徽医科大学临床医学院, 安徽 合肥 230032)

[摘要] 目的 了解头孢他啶/阿维巴坦(CZA)单用或与氨曲南(ATM)联合用药对耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌(CRE)的体内、外抗菌活性,为临床抗感染治疗提供依据。**方法** 采用微量肉汤稀释法对某院 2018—2022 年临床分离的 52 株非重复 CRE 进行 CZA 及 ATM 最低抑菌浓度(MIC)测定,采用棋盘稀释法进行联合药敏试验。时间-杀菌曲线和大蜡螟感染模型检测 CZA 单用或与 ATM 联合使用的杀菌效果。**结果** 23 株产 KPC 酶的 CRE 菌株中 91.3% (21 株)对 CZA 的 MIC \leq 4 μ g/mL, 8.7% (2 株)的菌株对 CZA 的 MIC \geq 128 μ g/mL。产 NDM、IMP、KPC+IMP、KPC+NDM 等酶型的 29 株 CRE 对 CZA 的 MIC 值均 \geq 128 μ g/mL。31 株 CZA 耐药的菌株中 93.5% (29 株)的 CZA 与 ATM 联合 FIC 值 $<$ 0.5, 6.5% (2 株)的 FIC 在 0~1。时间-杀菌曲线表明 CZA 对产 KPC 酶的菌株具有杀菌效果, CZA 联合 ATM 对耐 CZA 菌株有杀菌效果。与单药组相比, CZA 联合 ATM 处理组 CRE 感染大蜡螟生存率显著提高(中位生存时间 120 h, $P=0.001$)。**结论** CZA 对产 KPC 酶的细菌有较好的抗菌作用。CZA 与 ATM 联用对 CZA 耐药的菌株具有协同抑菌作用。

[关键词] 头孢他啶/阿维巴坦; 氨曲南; 耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌; 抗菌活性

[中图分类号] R378.2

Comparison of *in vitro* and *in vivo* antimicrobial activity of ceftazidime/avibactam alone or in combination with aztreonam against carbapenem-resistant *Enterobacterales*

BIAN Li-juan^{1,2}, GUO Jun-zhe³, ZHENG Mei-juan¹ (1. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China; 2. Department of Laboratory Medicine, The Fifth People's Hospital of Bengbu, Bengbu 233099, China; 3. Clinical College of Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the *in vivo* and *in vitro* antimicrobial activity of ceftazidime/avibactam (CZA) alone or in combination with aztreonam (ATM) against carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE), and provide evidence for clinical anti-infective therapy. **Methods** The minimum inhibitory concentrations (MICs) of CZA and ATM against 52 clinically isolated non-repetitive CRE strains in a hospital from 2018 to 2022 were determined with microbroth dilution method, and the combined antimicrobial susceptibility testing was performed with the chessboard dilution method. Time-killing curve and *Galleria mellonella* infection model were used to test the bactericidal effect of CZA alone or in combination with ATM. **Results** Among the 23 KPC-producing CRE strains, 91.3% ($n=21$) had MIC \leq 4 μ g/mL for CZA, and 8.7% ($n=2$) had MIC \geq 128 μ g/mL for CZA. MIC of CZA to 29 CRE strains (strains producing NDM, IMP, KPC+IMP, and KPC+NDM) were all \geq 128 μ g/mL. Of the 31

[收稿日期] 2024-01-08

[基金项目] 安徽省高校自然科学研究项目(KJ2021A0761)

[作者简介] 卞丽娟(1989-),女(汉族),安徽省蚌埠市人,主管技师,主要从事细菌耐药与致病机制研究。

[通信作者] 郑美娟 E-mail: zhengmjzh@164.com

CZA-resistant strains, 93.5% ($n=29$) strains had fractional inhibitory concentration (FIC) <0.5 for combination of CZA and ATM, while 6.5% ($n=2$) had FIC of $0-1$. The time-killing curve showed that CZA had bactericidal effect on KPC-producing strains, and CZA combined with ATM had bactericidal effect on CZA-resistant strains. Compared with the monotherapy group, CZA combined with ATM treatment significantly improved the survival rate of CRE-infected *Galleria mellonella* (median survival time 120 hour, $P=0.001$). **Conclusion** CZA has good antimicrobial activity against KPC-producing bacteria. The combination of CZA and ATM had synergistic bacteriostatic effect on CZA-resistant strains.

[Key words] ceftazidime/avibactam; aztreonam; carbapenem-resistant *Enterobacterales*; antimicrobial activity

碳青霉烯类抗生素抗菌谱广泛,常用于耐药革兰阴性杆菌引起临床感染的治疗。然而,随着其在临床的广泛应用,耐碳青霉烯类肠杆菌目(carbapenem-resistant *Enterobacterales*, CRE)菌株逐年增多,已在全球范围内流行^[1]。目前针对 CRE 菌株感染的治疗,可选择的抗菌药物十分有限,编码碳青霉烯酶质粒的传播,有助于 CRE 的广泛流行,CRE 感染的高发病率和病死率已成为全球公共卫生的主要威胁^[2]。碳青霉烯类抗生素耐药的主要机制是产碳青霉烯酶,常见碳青霉烯酶主要包括 KPC、NDM、IMP、VIM 和 OXA-48,其中最常见的是由 *bla*_{KPC} 编码的 A 类丝氨酸类酶 KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase)^[3-5]。由于碳青霉烯类抗生素耐药机制不同,不同抗菌药物对 CRE 菌株抗菌效果存在差异。本试验采用肉汤法测定最低抑菌浓度(MIC),棋盘法进行联合药敏试验,时间-杀菌曲线和药物治疗菌株感染动物的试验方法,评价单用头孢他啶/阿维巴坦(CZA)及其与氨曲南(ATM)联合用药的体外杀菌效果和体内抗菌效果,为临床用药提供可靠依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌株来源 收集 2018—2022 年蚌埠医科大学第一附属医院临床标本中分离的 52 株 CRE(剔除同一患者相同部位分离的重复菌株),包括 29 株肺炎克雷伯菌、20 株大肠埃希菌、2 株阴沟肠杆菌及 1 株黏质沙雷菌。主要分离自痰、血、脑脊液及尿标本,分布在重症监护病区、神经外科及呼吸科等。质控菌株大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853 来自国家卫生健康委临检中心。

1.1.2 仪器与试剂 菌株鉴定和药敏试验采用 VITEK MS 飞行时间质谱仪和 VITEK 2 全自动鉴定及药敏分析系统(法国梅里埃公司)。CZA(北京

拉索生物科技有限公司),ATM(上海源叶生物科技有限公司)。碳青霉烯酶检测试剂盒(天津一瑞生物科技股份有限公司),MH 琼脂及 MH 肉汤(英国 Oxoid 公司)。大蜡螟(中国天津惠裕德生物科技有限公司),长度(20 ± 5)mm,重量(250 ± 50)mg。

1.2 方 法

1.2.1 碳青霉烯酶检测 采用碳青霉烯酶检测试剂盒检测 5 种酶型:KPC、OXA-48、VIM、IMP 和 NDM。将纯培养菌株和样品处理液在 EP 管中充分混合,加载 50 μ L 到检测条上。室温下放置 15 min 后,结果判读依据操作说明书,质控线(C 线)区域一条红线,检测区域任何酶型出现一条或多条,即为标本含有相应的碳青霉烯酶。

1.2.2 MIC 测定及联合药敏 采用微量肉汤稀释法测定 CZA 和 ATM 对 52 株 CRE 的 MIC。棋盘稀释法检测联合药敏的分级抑菌浓度(FIC), $FIC = \text{联合药物 A 的 MIC} / \text{单独药物 A 的 MIC} + \text{联合药物 B 的 MIC} / \text{单独药物 B 的 MIC}$,协同效应为 $FIC \leq 0.5$,相加效应为 $0.5 < FIC \leq 1$,无关效应为 $1 < FIC \leq 2$,拮抗效应为 $FIC > 2$ ^[6]。结果判定根据 2022 版美国临床实验室标准化协会(CLSI)指南推荐的标准和折点。CZA 的浓度范围为 0.25/4 ~ 128/4 μ g/mL(阿维巴坦的浓度固定为 4 μ g/mL),ATM 的浓度为 0.06 ~ 128 μ g/mL。

1.2.3 时间-杀菌曲线 选取 9、19、37 号对 CZA 敏感产 KPC 的肺炎克雷伯菌,根据 CZA 对产 KPC 菌的 MIC,采用时间杀灭法检测 CZA 在 0.5、1、2、4 和 8 倍 MIC 时的杀菌效果。根据 CZA 与 ATM 联合药敏试验结果及文献推荐的方法^[7],选取 27、39、47 号对 CZA 耐药产 NDM 大肠埃希菌,取对数生长期细菌,用无菌 M-H 肉汤配制浓度为 1.0×10^6 CFU/mL 的菌悬液。细菌的 M-H 肉汤与单一或组合抗菌剂混合,并在 35 $^{\circ}$ C 下连续振荡孵育过夜。不含抗菌药物的相同肉汤作为生长对照。在 0、4、8、12 和 24 h 对肉汤样品进行 10 倍系列稀释,每个稀释样本取

100 μL 接种在 M-H 琼脂平板上,重复试验 3 次,35 $^{\circ}\text{C}$ 过夜培养,进行菌落计数,取平均值。每毫升菌液计数表示为 Nt,数据换算为 Log_{10} Nt。使用 GraphPad Prism 5 软件分析数据并绘图。

1.2.4 大蜡螟毒力试验 选取 16、22、30 号对 CZA 耐药产金属酶的菌株,以 M-H 肉汤中孵育的对数生长期细菌制备菌悬液,稀释为 3 个浓度梯度 (1.0×10^7 、 1.0×10^6 、 1.0×10^5 CFU/mL),将大蜡螟幼虫随机分为 5 组,每组 20 只幼虫,其中 1~3 组分别使用微量注射器注射相应浓度菌液 10 μL ,第 4 组为 PBS 对照组,注射 PBS 溶液 10 μL ,第 5 组为空白对照组,不做任何处理。将注射后的幼虫置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱孵育 120 h,每 24 h 观察幼虫存活量。试验重复 3 次,计算每株菌的 LD_{50} 。

1.2.5 大蜡螟感染模型建立 根据毒力试验得到的结果,配制每株菌的 80% 致死剂量对应的菌液浓度,以此浓度配制菌液感染大蜡螟幼虫。试验分为 5 组,每组 20 只幼虫,第 1、2、3 组注射相应浓度菌液 10 μL ,第 4 组为 PBS 对照组,注射 PBS 溶液 10 μL ,第 5 组为空白对照组,不做任何处理。注射完毕后,将幼虫置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 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 μL 的抗菌药物 (CZA 和 ATM 的人体剂量分别为 50、100 mg/kg)。

给第 1 组幼虫注射相应浓度的 CZA 10 μL ,给第 2 组幼虫注射相应浓度的 ATM 10 μL ,给第 3 组幼虫注射相应浓度的 CZA 和 ATM 联合药物 10 μL ,给第 4 组幼虫注射 PBS 溶液 10 μL ,第 5 组幼虫不做任何处理。将注射后的幼虫置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱继续孵育 120 h,每 24 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 22.0 软件进行统计学分析,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 52 株 CRE 碳青霉烯酶酶型及 CZA 的 MIC 值 52 株 CRE 共检出产 KPC 酶 23 株,产 NDM 酶 24 株,产 IMP 酶 1 株,产 KPC + NDM 菌 3 株,产 KPC + IMP 酶 1 株。23 株产 KPC 酶菌中 91.3% (21 株) 对 CZA 的 $\text{MIC} \leq 4 \mu\text{g/mL}$,另外 8.7% (2 株) 的菌株对 CZA 的 $\text{MIC} \geq 128 \mu\text{g/mL}$ 。29 株产金属 β -内酰胺酶 (MBL) 的菌株对 CZA 的 MIC 值均 $\geq 128 \mu\text{g/mL}$ 。见表 1。

表 1 52 株 CRE 对 CZA、ATM 的药敏测定结果

Table 1 CZA and ATM susceptibility testing results of 52 strains of CRE

菌株编号	菌株	酶型	CZA 的 MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ATM 的 MIC ($\mu\text{g/mL}$)	菌株编号	菌株	酶型	CZA 的 MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ATM 的 MIC ($\mu\text{g/mL}$)
1	大肠埃希菌	NDM	>128	64	14	肺炎克雷伯菌	KPC	1	>128
2	肺炎克雷伯菌	KPC	0.5	>128	15	肺炎克雷伯菌	KPC	1	>128
3	肺炎克雷伯菌	KPC	1	>128	16	大肠埃希菌	NDM	>128	>128
4	肺炎克雷伯菌	KPC	1	>128	17	肺炎克雷伯菌	KPC	0.5	>128
5	肺炎克雷伯菌	KPC	0.5	>128	18	肺炎克雷伯菌	KPC	2	>128
6	肺炎克雷伯菌	KPC	0.25	>128	19	肺炎克雷伯菌	KPC	1	>128
7	肺炎克雷伯菌	KPC	>128	>128	20	肺炎克雷伯菌	KPC	1	>128
8	肺炎克雷伯菌	KPC	1	>128	21	肺炎克雷伯菌	KPC	0.5	>128
9	肺炎克雷伯菌	KPC	0.5	>128	22	阴沟肠杆菌	IMP	>128	>128
10	肺炎克雷伯菌	KPC	2	>128	23	大肠埃希菌	NDM	>128	>128
11	肺炎克雷伯菌	KPC	4	>128	24	大肠埃希菌	NDM	>128	2
12	肺炎克雷伯菌	KPC	0.5	64	25	大肠埃希菌	NDM	>128	>128
13	肺炎克雷伯菌	KPC	128	>128	26	大肠埃希菌	NDM	>128	64

续表 1 (Table 1, Continued)

菌株编号	菌株	酶型	CZA 的 MIC (μg/mL)	ATM 的 MIC (μg/mL)	菌株编号	菌株	酶型	CZA 的 MIC (μg/mL)	ATM 的 MIC (μg/mL)
27	大肠埃希菌	NDM	>128	>128	40	大肠埃希菌	NDM	>128	>128
28	大肠埃希菌	NDM	>128	>128	41	大肠埃希菌	NDM	>128	>128
29	黏质沙雷菌	KPC	1	32	42	大肠埃希菌	NDM	128	>128
30	肺炎克雷伯菌	KPC + NDM	>128	>128	43	肺炎克雷伯菌	NDM	>128	1
31	肺炎克雷伯菌	KPC + NDM	>128	>128	44	大肠埃希菌	NDM	>128	>128
32	肺炎克雷伯菌	KPC + IMP	>128	>128	45	肺炎克雷伯菌	NDM	>128	>128
33	肺炎克雷伯菌	KPC + NDM	>128	>128	46	大肠埃希菌	NDM	>128	>128
34	大肠埃希菌	NDM	>128	4	47	大肠埃希菌	NDM	>128	128
35	阴沟肠杆菌	NDM	>128	>128	48	肺炎克雷伯菌	NDM	>128	>128
36	肺炎克雷伯菌	KPC	0.5	>128	49	大肠埃希菌	NDM	>128	>128
37	肺炎克雷伯菌	KPC	1	>128	50	大肠埃希菌	NDM	>128	>128
38	大肠埃希菌	NDM	>128	32	51	大肠埃希菌	NDM	>128	128
39	大肠埃希菌	NDM	>128	>128	52	肺炎克雷伯菌	KPC	1	>128

2.2 31 株 CZA 耐药菌株的联合药敏结果 选择对 CZA 耐药的 31 株菌进行 CZA 与 ATM 联合药敏试验,结果表明,93.5%(29 株)的 FIC 值<0.5,

6.5%(2 株)的 FIC 在 0.5~1,显示出良好的协同和相加效应。见表 2。

表 2 CZA 与 ATM 联合对 31 株 CZA 耐药菌株的作用效果

Table 2 Effect of combination of CZA and ATM on 31 CZA-resistant strains

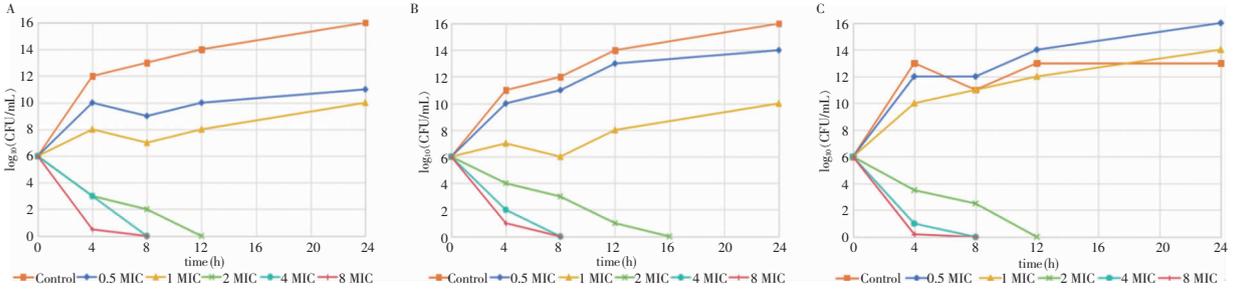
菌株编号	菌株	酶型	FIC	作用	菌株编号	菌株	酶型	FIC	作用
1	大肠埃希菌	NDM	0.125	协同	35	阴沟肠杆菌	NDM	0.188	协同
7	肺炎克雷伯菌	KPC	0.156	协同	38	大肠埃希菌	NDM	0.125	协同
13	肺炎克雷伯菌	KPC	0.125	协同	39	大肠埃希菌	NDM	0.094	协同
16	大肠埃希菌	NDM	0.188	协同	40	大肠埃希菌	NDM	0.094	协同
22	阴沟肠杆菌	IMP	0.094	协同	41	大肠埃希菌	NDM	0.188	协同
23	大肠埃希菌	NDM	0.188	协同	42	大肠埃希菌	NDM	0.156	协同
24	大肠埃希菌	NDM	0.563	相加	43	肺炎克雷伯菌	NDM	0.281	协同
25	大肠埃希菌	NDM	0.094	协同	44	大肠埃希菌	NDM	0.156	协同
26	大肠埃希菌	NDM	0.313	协同	45	肺炎克雷伯菌	NDM	0.063	协同
27	大肠埃希菌	NDM	0.156	协同	46	大肠埃希菌	NDM	0.125	协同
28	大肠埃希菌	NDM	0.078	协同	47	大肠埃希菌	NDM	0.266	协同
30	肺炎克雷伯菌	KPC + NDM	0.188	协同	48	肺炎克雷伯菌	NDM	0.156	协同
31	肺炎克雷伯菌	KPC + NDM	0.047	协同	49	大肠埃希菌	NDM	0.094	协同
32	肺炎克雷伯菌	KPC + IMP	0.125	协同	50	大肠埃希菌	NDM	0.188	协同
33	肺炎克雷伯菌	KPC + NDM	0.063	协同	51	大肠埃希菌	NDM	0.188	协同
34	大肠埃希菌	NDM	0.625	相加					

2.3 不同浓度 CZA 对产 KPC 酶菌株的杀菌效果及 CZA 联合 ATM 对产 NDM 酶菌株的杀菌效果

CZA 处理 9、19、37 号产 KPC 酶菌株,9 号菌株经药物处理,在 12 h 后检测到显著杀菌功效。此外,用

2、4 和 8 倍 MIC CZA 处理,在培养 24 h 后,9 号菌株未检测到菌落生长。19 号菌株经过药物处理,在 12 h 后检测到显著杀菌功效,用 4 和 8 倍 MIC CZA 处理,8 h 后细菌数为 0。37 号菌株用 0.5 倍 MIC 和 1 倍 MIC CZA 处理,细菌数无明显变化,用 2、4 和

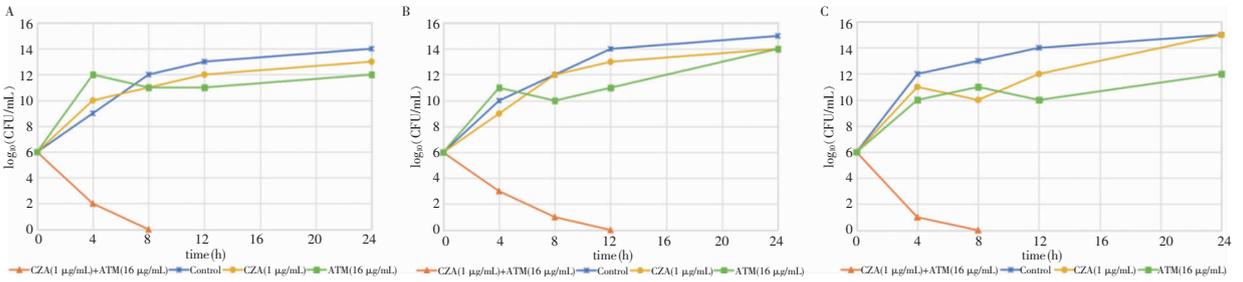
8 倍 MIC CZA 处理 12 h 后细菌数为 0。见图 1。CZA 联合 ATM 的时间 - 杀菌曲线显示 CZA 和 ATM 的组合对 27 号、39 号、47 号产 NDM 酶的菌株显示出显著的杀菌功效,孵育 8~12 h 后未检测到菌落生长。见图 2。



注:A 为 9 号肺炎克雷伯菌,B 为 19 号肺炎克雷伯菌,C 为 37 号肺炎克雷伯菌。

图 1 不同浓度 CZA 对产 KPC 酶肺炎克雷伯菌的杀菌曲线

Figure 1 Bactericidal curve of different concentrations of CZA against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*



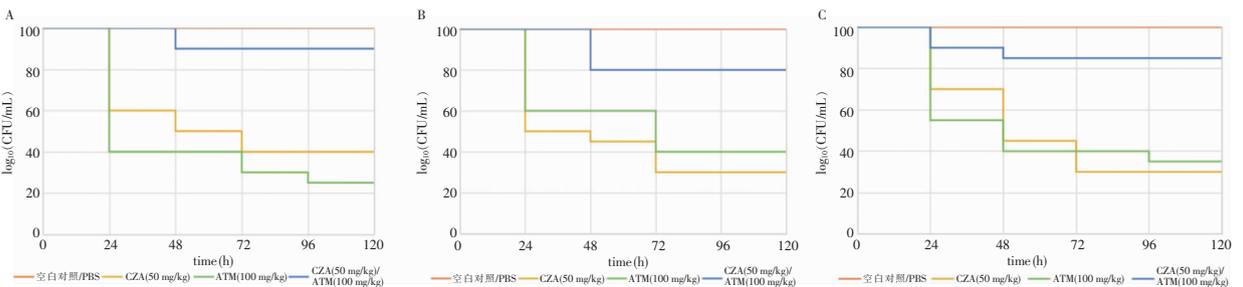
注:A 为 27 号大肠埃希菌,B 为 39 号大肠埃希菌,C 为 47 号大肠埃希菌。

图 2 CZA 联合 ATM 对产 NDM 酶大肠埃希菌的杀菌曲线

Figure 2 Bactericidal curve of CZA combined with ATM against NDM-producing *Escherichia coli*

2.4 CZA 单用及联合 ATM 对感染大蜡螟生存的影响 16、30 号菌株的 LD₅₀ 为 1.0 × 10⁶ CFU/mL, 22 号菌株的 LD₅₀ 为 1.0 × 10⁷ CFU/mL。CZA 联合 ATM 对 CRE 感染的幼虫具有保护作用,两药联

合 48 h 后,幼虫的存活率稍有下降,但仍然保持在 80%~90% 的水平,比使用单药时的存活率(中位生存时间 120 h)有大幅度提高,差异具有统计学意义 (P = 0.001)。见图 3。



注:A 为 16 号大肠埃希菌,B 为 22 号阴沟肠杆菌,C 为 30 号肺炎克雷伯菌。

图 3 CZA 单药及与 ATM 联合用药后对 CRE 感染的蜡螟幼虫生存率曲线

Figure 3 Curve of survival rates of CRE-infected *Galleria mellonella* larvae after treatment with CZA alone or in combination with ATM

3 讨论

CRE 对临床常见抗菌药物大多数耐药, 可选择的抗感染治疗药物有限, 成为临床棘手的问题^[8]。目前研究显示, CRE 的耐药机制主要是产碳青霉烯酶, 孔道蛋白缺失或表达降低而导致的外膜通透性降低, 外排泵高度表达等, 其中以产碳青霉烯酶在临床上最常见^[9-10]。

本研究中 52 株 CRE 菌株产碳青霉烯酶情况分析显示, 肺炎克雷伯菌是以产 A 类丝氨酸碳青霉烯酶 KPC 型为主, 少数菌株产 B 类 NDM 型金属酶。20 株大肠埃希菌及 2 株阴沟肠杆菌均为产 NDM 型碳青霉烯酶, 与我国的流行情况一致^[5]。酶抑制剂在临床治疗中起着非常重要的作用, 阿维巴坦是一种新型 β -内酰胺酶抑制剂, 能有效、可逆的结合碳青霉烯酶中的 A 类丝氨酸酶及部分 D 类苯唑西林酶, 已被应用于临床, 是临床治疗 CRE 感染的一线选择^[11]。本研究中, 23 株产 KPC 菌株中 91.3% 对 CZA 敏感, 8.7% 对 CZA 耐药, 与相关报道^[12] 相近。产 KPC 菌株对 CZA 大多数敏感, 但耐药菌的出现仍值得关注, 耐药菌株多出现在 CZA 治疗后, 甚至没有药物暴露史。产 KPC 酶的菌株对 CZA 耐药机制主要由 *bla*_{KPC-2} 中的氨基酸取代和缺失介导, 突变为其他亚型, 如 KPC-3 型等^[13]。此外, 外排和孔蛋白突变增强, CTX-M 或 AmpC 的突变也可导致 CZA 耐药^[12, 14]。29 株产金属酶的菌株对 CZA 耐药, MIC 值 $\geq 128 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。对于 CZA 耐药菌株的治疗, 应考虑其他有效的抗菌药物或 CZA 与其他抗菌药物的组合。CZA 联合 ATM 的主要机制是阿维巴坦能保护 ATM 免受 ESBLs、AmpC 酶水解, 使 ATM 维持抗菌活性。国外已有研究^[15-16] 表明, ATM 联合 CZA 的组合能够治疗肺炎克雷伯菌(产 NDM-1 和 OXA-48)、铜绿假单胞菌(产 NDM-1 和 AmpC)以及阴沟肠杆菌(产 NDM-1 和 KPC-4)引起的感染, 并取得良好疗效。因携带一种或多种 ESBLs, 94.7% 的 CRE 菌株对 ATM 耐药, 但在联合阿维巴坦之后, 96.9% ATM 耐药菌株 CZA-ATM 的 MIC $\leq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ ^[17]。在本研究中, CZA 对 KPC 酶产生菌株表现出良好的体外杀菌效果, CZA 对 91.3% 的菌株 MIC 值 $\leq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。然而, 其对 29 株 MBL 菌株的 MIC 值均 $\geq 128 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。CZA 和 ATM 两种药物联合后, MIC 值可降低至各自的敏感范围内, FIC 值均 < 1 , 表明具有良好的协同或相加效应。

时间杀菌试验显示, 9 号菌株在 0.5 和 1 倍 MIC 的 CZA 处理后 8 h, 产 KPC 酶的菌株出现反弹生长。在 2 倍 MIC 的 CZA 下, 菌株在处理的前 4 h 内稳定减少。处理 12 h 后未检测到菌落。对于 4 和 8 倍 MIC, 在处理 8 h 后未检测到菌落, 表明适当剂量的 CZA 对 KPC 产生菌具有良好的杀菌效果。对于产 NDM 酶菌株, 与 CZA 和 ATM 组合孵育 8~12 h 后未检测到菌落生长, 表明该组合具有良好的杀菌功效。因此, CZA 联合 ATM 方案可用于临床治疗 NDM 酶产生的 CRE 菌株。CZA 联合 ATM 对 CRE 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, 16 号菌株 CZA 单药组 24 h 后感染大蜡螟存活率仅为 60%, 而联合用药组, 感染大蜡螟的存活率仍然保持 100%, 120 h 后, CZA 单药组感染大蜡螟的存活率仅为 40%, 而联合用药组 48 h 后, 感染幼虫的存活率稍有下降, 但仍然保持在 90% 的水平, 并一直维持到 120 h, 比使用单药时的存活率大幅提高。结果表明, CZA 联合 ATM 可延长产 NDM 菌感染大蜡螟的寿命并降低其死亡率。

综上所述, CZA 对于产 KPC 的菌株具有良好的杀菌作用, 并且当与 ATM 联合时, 对基因型为 *bla*_{NDM}、*bla*_{IMP}、*bla*_{KPC} + *bla*_{IMP} 和 *bla*_{KPC} + *bla*_{NDM} 的细菌具有良好的协同杀菌作用。因此, 在临床 CZA 或 CZA 联合 ATM 可以作为 CRE 感染的早期治疗选择。本研究收集的临床菌株来源于单中心, 样本量较少, 尤其是非产酶菌株以及除 NDM 外其他产金属酶菌株更少, 缺乏对这部分菌株的研究结果, 因此结果存在着一定的局限性。以后的工作中, 扩大样本量, 加大对不同耐药机制碳青霉烯类抗生素耐药菌株的深入研究, 能够更好为临床抗感染联合用药提供可靠的实验室依据。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2021 年 CHINET 中国细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(5): 521-530. Hu FP, Guo Y, Zhu DM, et al. CHINET surveillance of antimicrobial resistance among the bacterial isolates in 2021[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2022, 22(5): 521-530.
- [2] Seo H, Lee SC, Chung H, et al. Clinical and microbiological analysis of risk factors for mortality in patients with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* bacteremia[J]. Int J Antimi-

- icrob Agents, 2020, 56(4): 106126.
- [3] Ma JY, Song XR, Li MC, et al. Global spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy[J]. Microbiol Res, 2023, 266: 127249.
- [4] 王珍珍, 赵战勤, 常永超, 等. 耐碳青霉烯革兰阴性杆菌耐药性及耐药基因 *bla_{KPC}* 的分子特征[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(10): 857 - 863.
- Wang ZZ, Zhao ZQ, Chang YC, et al. Drug resistance of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli and molecular characteristics of drug resistance gene *bla_{KPC}*[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2020, 19(10): 857 - 863.
- [5] 刘志武, 张甜甜, 徐腾飞, 等. 某医院 2020—2021 年 CRE 耐药性及碳青霉烯酶基因分析[J]. 中国抗生素杂志, 2023, 48(7): 806 - 812.
- Liu ZW, Zhang TT, Xu TF, et al. Analysis of drug resistance and carbapenemase gene of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in a hospital from 2020 to 2021[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2023, 48(7): 806 - 812.
- [6] Adaleti R, Nakipoğlu Y, Ar1c1 N, et al. Evaluation of *in vitro* efficacy of meropenem/colistin and meropenem/fosfomicin combinations on multidrug resistant Gram-negative bacilli[J]. Mikrobiyol Bul, 2023, 57(3): 365 - 377.
- [7] Aubry R, Buyck J, Prouvensier L, et al. An improved PKPD modeling approach to characterize the pharmacodynamic interaction over time between ceftazidime/avibactam and colistin from *in vitro* time-kill experiments against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2023, 67(10): e0030123.
- [8] Rebold N, Lagnf AM, Alosaimy S, et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Enterobacteriales* clinical treatment failure[J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(1): e0264722.
- [9] Gao F, Xiong ZL, Liang BS, et al. Molecular characterization and epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolated from pediatric patients in Guangzhou, southern China[J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2023, 2023: 4762143.
- [10] 沈芳, 全晶晶, 刘炉香, 等. 碳青霉烯耐药肠杆菌目细菌耐药性及耐药传播机制研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2021, 41(9): 679 - 686.
- Shen F, Quan JJ, Liu LX, et al. Resistance and transmission mechanisms of carbapenem-resistant *Enterobacteriales*[J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2021, 41(9): 679 - 686.
- [11] Sader HS, Mendes RE, Duncan L, et al. Ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, and imipenem-relebactam activities against multidrug-resistant *Enterobacteriales* from United States Medical Centers (2018 - 2022)[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2023, 106(2): 115945.
- [12] Cui QZ, Wang C, Wang QC, et al. Ceftazidime/avibactam resistance in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. Emerg Infect Dis, 2023, 29(11): 2398 - 2400.
- [13] Bongiorno D, Bivona DA, Cicino C, et al. Omic insights into various ceftazidime-avibactam-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from two southern Italian regions[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 12: 1010979.
- [14] Xiong LY, Wang Y, Wang XT, et al. Mechanisms of ceftazidime/avibactam resistance in drug-naïve bacteraemic *Enterobacteriales* strains without metallo-beta-lactamase production: associated with ceftazidime impedance[J]. Int J Antimicrob Agents, 2023, 62(2): 106877.
- [15] Bocanegra-Ibarias P, Camacho-Ortiz A, Garza-González E, et al. Aztreonam plus ceftazidime-avibactam as treatment of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia in a neutropenic patient: last resort therapy?[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 23: 417 - 419.
- [16] 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.
- [17] Zhang BY, Zhu ZC, Jia W, et al. *In vitro* activity of aztreonam-avibactam against metallo-β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* - a multicenter study in China[J]. Int J Infect Dis, 2020, 97: 11 - 18.

(本文编辑:左双燕)

本文引用格式: 卞丽娟, 郭俊哲, 郑美娟. 头孢他啶/阿维巴坦单用或与氨曲南联用对碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌的体内、外抗菌活性的比较[J]. 中国感染控制杂志, 2024, 23(10): 1206 - 1212. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20246028.

Cite this article as: BIAN Li-juan, GUO Jun-zhe, ZHENG Mei-juan. Comparison of *in vitro* and *in vivo* antimicrobial activity of ceftazidime/avibactam alone or in combination with aztreonam against carbapenem-resistant *Enterobacteriales*[J]. Chin J Infect Control, 2024, 23(10): 1206 - 1212. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20246028.