

# 耐碳青霉烯类肠杆菌耐药性及联合药敏试验研究

苏爱美 韦涌涛 王东平

**【摘要】目的** 探讨医院耐碳青霉烯类肠杆菌(CRE)耐药性,观察两种抗菌药物联合对产KPC、NDM酶的CRE菌株体外敏感性,筛选有效的抗感染治疗方案。**方法** 收集2022年1月至12月青岛市第八人民医院临床标本中分离的非重复CRE共37株,采用WHONET 5.6软件统计耐药率,微量肉汤稀释法测定抗菌药物对菌株的最低抑菌浓度(MIC),棋盘法对头孢他啶/阿维巴坦(CZA)联合氨曲南(ATM),亚胺培南(IPM)分别联合黏菌素(COL)、替加环素(TGC)、厄他培南(ETP)、头孢他啶(CAZ)、头孢哌酮/舒巴坦(SCF)、阿米卡星(AK)和左氧氟沙星(LEV)进行联合药敏试验,计算部分抑菌浓度指数(FIC)判定协同率与相加率。**结果** CRE对COL、CZA和TGC的耐药率为0%(0/37)、27.0%(10/37)和35.1%(13/37),对AK和ATM的耐药率为78.4%(29/37)和94.6%(35/37),对头孢曲松(CRO)、CAZ、头孢吡肟(FEP)、环丙沙星(CIP)、LEV、庆大霉素(CN)、氨苄西林/舒巴坦(SAM)、哌拉西林/他唑巴坦(TZP)、SCF、ETP、IPM和美罗培南(MEM)的耐药率均为100%(37/37)。CZA对27株产KPC菌株的MIC均 $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ,为敏感;对10株产B类金属酶NDM菌株的MIC均 $> 128 \mu\text{g/ml}$ ,为耐药,联合ATM后协同率为100%(10/10)。IPM + SCF的协同率为75.7%(28/37),协同率与相加率之和均为100%(37/37)。IPM + AK的协同率与相加率最低,为34.4%(10/29)。KPC酶型菌株中,IPM + SCF的协同率为66.7%(18/27),协同率与相加率之和为100%(27/27),IPM + AK的协同率与相加率之和最低,为28.6%(6/21);NDM酶型菌株中,IPM + SCF的协同率为100%(10/10),IPM + AK的协同率与相加率之和最低,为37.5%(3/8)。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 + SCF的协同率与相加率之和最高,可作为临床经验用药参考。

**【关键词】**耐碳青霉烯类肠杆菌;棋盘法;联合药敏;部分抑菌浓度指数

**Resistance and combined drug sensitivity test of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*** Su Aimei, Wei Yongtao, Wang Dongping. Department of Clinical Laboratory, Qingdao Eighth People's Hospital, Qingdao 266100, China

Corresponding author: Wei Yongtao, Email: Weiyongtao29901@163.com

**【Abstract】Objective** To analyze the drug resistance of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) in hospital, and to observe the susceptibility test result in vitro of the combined two drugs to KPC- and NDM-producing CRE to screen effective anti-inflammation therapy. **Methods** Total of 37 non-repetitive CRE strains were isolated from clinical specimens from Qingdao Eighth People's Hospital from January 2022 to December 2022. The drug resistance rate was calculated by whonet 5.6 software. The minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial agents against CRE strains was determined by micro broth dilution method. Ceftazidime/avibactam (CZA) combined with aztreonam (ATM), as well as imipenem (IPM) respectively combined with colistin (COL), tigecycline (TGC), ertapenem (ETP), ceftazidime (CAZ), cefoperazone/sulbactam (SCF), amikacin (AK), or levofloxacin (LEV) was performed by the chessboard dilution method. Fractional inhibitory concentration (FIC) index was calculated to determine the synergy rate and additive rate. **Results** The resistance rates of CRE to COL, TGC and CZA were 0 (0/37), 27.0% (10/37) and 35.1% (13/37), the resistance rates to AK and ATM were 78.4% (29/37) and 94.6% (35/37), the resistance

rates to Ceftriaxone (CRO), CAZ, cefepime (FEP), Ciprofloxacin (CIP), LEV, gentamicin (CN), ampicillin/sulbactam (SAM), piperacillin/tazobactam (TZP), SCF, ETP, IPM and Meropenem (MEM) were 100% (37/37). The MICs of CZA to 27 KPC-producing strains were  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  (sensitive), and to 10 class B metallo-enzyme NDM-producing strains were  $> 128 \mu\text{g/ml}$  (resistant), the synergy rate of CZA was 100% (10/10) after combined with ATM. The synergy rate of IPM combined with SCF was the highest (75.7%, 28/37), and the sum of synergy rate and addition rate was 100% (37/37). The sum of synergy rate and addition rate of IPM combined with AK was the lowest (34.4%, 10/29). Among the KPC enzyme types strains, the synergy rate of IPM combined with SCF was 66.7% (18/27), the sum of synergy rate and addition rate was 100% (27/27). The sum of synergy rate and addition rate of IPM combined with AK was the lowest (28.6%, 6/21). Among the NDM enzyme types strains, the synergy rates of IPM combined with SCF was 100% (10/10), the sum of synergy rate and addition rate of IPM combined with AK was the lowest (37.5%, 3/8). All combined schemes had no antagonistic effect.

**Conclusions** CZA alone or in combination with ATM are effective for CRE strains. IPM and SCF had the highest synergy rate and addition rate, which could provide reference for clinical experienced medication.

**【Key words】** Carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*; Checkerboard testing; Combined antimicrobial susceptibility test; Fractional inhibitory concentration index

碳青霉烯类抗菌药物是治疗多重耐药(multidrug-resistance, MDR)革兰阴性菌所致感染最有效的抗菌药物之一。近年来,由于产超广谱 $\beta$ -内酰胺酶(extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase, ESBL)的细菌对多种头孢菌素类抗菌药物出现耐药以及碳青霉烯类抗菌药物被广泛使用,导致耐碳青霉烯类肠杆菌(carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, CRE)检出率呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>,目前在全球大部分国家和地区均有CRE流行<sup>[2]</sup>。根据2021年CHINET中国细菌耐药监测显示,2005至2021年17年间,肺炎克雷伯菌对亚胺培南(imipenem, IPM)和美罗培南(meropenem, MEM)耐药率由2005年的3.0%、2.9%升高至2018年的25.0%和26.3%,在2019至2021年略有下降,但耐药率仍超过23.1%<sup>[3]</sup>。由于CRE广泛耐药甚至全耐药的特征,导致感染者住院时间延长、治疗失败和病死率高,使临床抗感染治疗面临无药可用的困境,亟需开展联合药敏试验。

本研究通过分析CRE菌株耐药性,评价头孢他啶/阿维巴坦(ceftazidime/avibactam, CZA)联合氨曲南(aztreonam, ATM),以IPM为代表的碳青霉烯类抗菌药物分别联合黏菌素(colistin, COL)、替加环素(tigecycline, TGC)、厄他培南(ertapenem, ETP)、头孢他啶(ceftazidime, CAZ)、头孢哌酮/舒巴坦(cefoperazone/sulbactam, SCF)、阿米卡星(amikacin, AK)和左氧氟沙星(levofloxacin, LEV) 8种常见药物的联合应用方案对CRE的体外活性,旨在寻找有效的

抗菌药物组合,为临床精准治疗CRE所致感染和院感防控提供实验室参考依据,现报道如下。

## 资料与方法

### 一、一般资料

根据CRE定义<sup>[4]</sup>收集2022年1月至12月青岛市第八人民医院临床各类标本中分离的37株非重复菌株,其中,CR肺炎克雷伯菌(CR *Klebsiella pneumoniae*, CR-KPN) 23株,CR大肠埃希菌(CR *Escherichia coli*, CR-ECO) 6株,CR产酸克雷伯菌(CR *Klebsiella oxytoca*, CR-KOX) 3株,CR阴沟肠杆菌(CR *Enterobacter cloacae*, CR-ECL) 3株,CR弗劳地枸橼酸杆菌(CR *Citrobacter freundii*, CR-CFR) 2株,见表1。

### 二、仪器与试剂

VITEK-2 compact(法国Bio-Merieux)全自动微生物鉴定及药敏分析仪,以及对应的GN、AST-N335卡做病原菌鉴定和药敏试验, Kirby-Bauer法补充药敏试验。药敏纸片、阳离子调节 Mueller-Hinton肉汤为英国Oxoid公司,96孔无菌培养板等均由济南百博生物技术有限公司提供。抗菌药物CZA、ATM、IPM、COL、TGC、ETP、CAZ、SCF、AK和LEV标准品购自中国食品药品检定研究院。质控菌株大肠埃希菌ATCC25922购自山东省临床检验中心。碳青霉烯酶检测试剂盒(NG-Test® CARBA 5)购于长沙中生众捷生物技术有限公司。

表1 37株非重复菌株标本来源

菌株来源	株数
CR-KPN	23
痰液	13
尿液	4
脓液	4
血液	2
CR-ECO	6
尿液	4
血液	1
胆汁	1
CR-KOX	3
痰液	3
CR-ECL	3
痰液	1
脓液	2
CR-CFR	2
痰液	1
血液	1

三、碳青霉烯酶检测

按照试剂盒操作说明，在EP管中将样本和提取缓冲液充分搅拌，使其均匀混合，静置10 min后将混合液加于加样孔中，放置室温15 min读取结果。

四、最低抑菌浓度测定

参照美国临床和实验室标准协会（Clinical & Laboratory Standards, CLSI）2022年M100s-32th<sup>[5]</sup>推荐的微量肉汤稀释法测定37株CRE对不同抗菌药物的（minimal inhibitory concentration, MIC）值。SCF参照CLSI中头孢哌酮的药敏试验折点。

五、肉汤微量稀释棋盘法

所有抗菌药物标准品按照CLSI M100中规定要求稀释抗菌药物。药物测试浓度范围分别为CZA（头孢他啶/阿维巴坦，128/4~0.06/4 μg/ml）、ATM（0.125~128 μg/ml）、IPM（0.5~512 μg/ml）、COL（0.06~64 μg/ml）、TGC（0.125~128 μg/ml）、ETP（0.06~64 μg/ml）、CAZ（0.5~512 μg/ml）、AK（0.25~256 μg/ml）、LEV（0.25~256 μg/ml），SCF（2：1）按（头孢哌酮/舒巴坦，0.5/0.25~512/256 μg/ml）配制。根据棋盘法设计原理和CLSI M07中肉汤微量稀释法的操作要求，将不同浓度的2种抗菌药物两两组合加入96孔板，每种药物加入25 μl，再加入浓度为10<sup>6</sup> CFU/ml的菌悬液50 μl，最终接种浓度为5 × 10<sup>5</sup> CFU/ml。（35 ± 2）℃培

养18~20 h，记录单独用药时MIC（MIC<sub>甲药单药</sub>和MIC<sub>乙药单药</sub>）以及选择两药联用最佳组合效应时各自的MIC值（MIC<sub>甲药联合</sub>和MIC<sub>乙药联合</sub>），部分抑菌浓度指数（fractional inhibitory concentration index, FIC）<sup>[6]</sup>作为判断依据。FIC = MIC<sub>甲药联合</sub>/MIC<sub>甲药单药</sub> + MIC<sub>乙药联合</sub>/MIC<sub>乙药单药</sub>。FIC ≤ 0.5为协同作用，0.5 < FIC ≤ 1为相加作用，1 < FIC ≤ 2为无关作用，FIC > 2为拮抗作用<sup>[7]</sup>。根据FIC值判断协同、相加、无关和拮抗作用后计算协同率、相加率、无关率和拮抗率。

六、数据处理

采用WHONET 5.6软件对常用抗菌药物进行耐药率统计分析，计数资料（检出率、耐药率、协同率和相加率）采用百分比（%）表示。

结 果

一、37株CRE对抗菌药物的耐药性

对CRE的体外抗菌活性最高的前3位抗菌药物为COL、CZA和TGC，耐药率为0%、27.0%和35.1%，对AK和ATM的耐药率为78.4%和94.6%，对CRO、CAZ、FEP、CIP、LEV、CN、SAM、TZP、SCF、ETP、IPM和MEM的耐药率均为100%，见表2。

表2 37株CRE对常用抗菌药物的耐药率[株（%）]

抗菌药物	株（%）
黏菌素（COL）	0（0.0）
头孢他啶/阿维巴坦（CZA）	10（27.0）
替加环素（TGC）	13（35.1）
阿米卡星（AK）	29（78.4）
氨曲南（ATM）	35（94.6）
头孢曲松（CRO）	37（100.0）
头孢他啶（CAZ）	37（100.0）
头孢吡肟（FEP）	37（100.0）
环丙沙星（CIP）	37（100.0）
左氧氟沙星（LEV）	37（100.0）
庆大霉素（CN）	37（100.0）
氨苄西林/舒巴坦（SAM）	37（100.0）
哌拉西林/他唑巴坦（TZP）	37（100.0）
头孢哌酮/舒巴坦（SCF）	37（100.0）
厄他培南（ETP）	37（100.0）
亚胺培南（IPM）	37（100.0）
美罗培南（MEM）	37（100.0）

## 二、37株CRE菌株对抗菌药物的MIC值

CZA对27株产KPC酶菌株的MIC值均 $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ , 为敏感, 对10株产NDM酶菌株的MIC值均 $> 128 \mu\text{g/ml}$ , 为耐药; ATM对2株菌的MIC值 $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ , 为敏感, 对35株菌的MIC值 $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ , 为耐药; IPM的MIC值均 $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ , 为耐药; COL的MIC值均 $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ , 为敏感; TGC对24株菌的MIC值 $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ , 为敏感, 对13株菌的MIC值 $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ ,

为耐药; ETP的MIC值均 $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ , 为耐药; CAZ的MIC值均 $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ , 为耐药; SCF的MIC值均 $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ , 为耐药; AK对8株菌的MIC值 $\leq 16 \mu\text{g/ml}$ , 为敏感, 对29株菌的MIC值 $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ , 为耐药; LEV的MIC值均 $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ , 为耐药, 见表3。

## 三、8种联合方案对37株CRE菌株药敏试验协同结果

联合方案中的2种药物在独立药敏试验中均表

表3 37株CRE对常用抗菌药物的MIC值

编号	细菌	酶型	CZA	ATM	IPM	COL	TGC	ETP	CAZ	SCF	AK	LEV
1	KPN	KPC	1	$> 128$	64	1	0.5	16	64	64	128	64
2	KPN	KPC	0.5	64	32	0.5	8	8	64	128	64	32
3	ECL	NDM	$> 128$	64	8	0.5	1	8	64	64	64	32
4	ECO	KPC	1	4	64	1	0.25	16	128	128	64	8
5	KPN	KPC	0.25	32	64	0.25	0.5	8	128	256	128	8
6	KPN	KPC	1	64	64	1	1	32	64	64	16	64
7	ECO	NDM	$> 128$	$> 128$	16	1	2	4	64	64	128	32
8	ECO	NDM	$> 128$	64	8	0.5	8	4	64	64	8	16
9	KPN	KPC	0.25	$> 128$	32	0.25	8	64	64	128	64	16
10	KPN	KPC	0.5	$> 128$	8	0.5	0.5	64	64	64	128	16
11	KOX	KPC	0.5	64	64	0.5	1	16	128	128	64	8
12	KPN	KPC	1	$> 128$	128	1	1	$> 64$	64	64	16	8
13	KPN	KPC	1	64	64	1	0.5	32	64	64	128	64
14	KPN	KPC	0.125	64	64	0.125	1	64	64	128	4	32
15	KPN	KPC	0.125	$> 128$	128	0.125	16	32	64	64	64	32
16	ECO	NDM	$> 128$	2	16	1	8	8	256	64	16	32
17	KPN	NDM	$> 128$	$> 128$	8	1	2	8	128	128	128	16
18	KPN	KPC	0.125	64	64	0.5	0.5	16	128	128	64	16
19	ECL	NDM	$> 128$	$> 128$	8	0.5	8	8	256	64	64	8
20	KPN	KPC	0.125	$> 128$	64	0.125	8	8	128	128	128	32
21	ECL	NDM	$> 128$	$> 128$	8	2	0.5	4	128	128	256	16
22	KPN	KPC	0.125	$> 128$	128	0.125	1	32	64	64	64	16
23	KPN	KPC	0.5	$> 128$	8	0.5	0.5	32	64	64	64	32
24	ECO	KPC	1	64	64	0.06	1	16	128	128	128	16
25	KPN	KPC	1	$> 128$	128	1	1	$> 64$	128	64	64	32
26	KPN	KPC	2	$> 128$	16	1	0.5	32	128	128	16	16
27	ECO	NDM	$> 128$	$> 128$	16	0.25	8	8	128	64	64	16
28	KPN	KPC	1	$> 128$	128	1	2	$> 64$	256	256	64	8
29	CFR	NDM	$> 128$	32	16	1	8	8	128	128	128	8
30	KPN	KPC	2	$> 128$	32	0.5	2	32	128	128	16	64
31	KPN	KPC	2	$> 128$	16	0.25	0.5	32	128	64	128	32
32	KOX	KPC	2	$> 128$	128	0.5	8	$> 64$	256	256	128	32
33	KOX	KPC	2	$> 128$	32	0.5	16	32	128	128	64	32
34	KPN	KPC	1	32	32	0.5	1	32	128	128	128	16
35	KPN	KPC	0.5	$> 128$	128	0.06	1	$> 64$	64	64	64	16
36	CFR	NDM	$> 128$	$> 128$	16	1	16	8	128	64	64	4
37	KPN	KPC	1	$> 128$	128	1	8	$> 64$	128	64	16	4

现为耐药（除COL）。CZA + ATM的协同率最高，为100%，其次是IPM + SCF，为75.7%，协同率与相加率之和为100%。IPM + AK协同率与相加率最低，为34.4%，见表4。

四、8种联合方案在不同酶型菌株中的药敏试验协同结果

CZA + ATM在NDM酶型菌株中协同率为100%。KPC酶型菌株中，IPM + SCF协同率为66.7%，协同率与相加率之和均为100%，IPM +

AK协同率与相加率之和最低，为28.6%；NDM酶型菌株中，IPM + SCF协同率为100%，IPM + AK协同率与相加率之和最低，为37.5%，见表5~6。

五、8种联合方案在相同酶型不同CRE菌株中的协同率与相加率

在相同酶型不同CRE菌株中，CZA + ATM、IPM + SCF协同率与相加率之和均为100%。IPM + AK在CR-KPN中协同率与相加率最低，为25.0%，见表7~8。

表 4 8 种联合方案对 37 株 CRE 菌株协同、相加、无关以及拮抗作用

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	10	10（100.0）	0（0.0）	10（100.0）	0（0.0）	0（0.0）
IPM + COL	37	0（0.0）	28（75.7）	28（75.7）	9（24.3）	0（0.0）
IPM + TGC	13	0（0.0）	7（53.8）	7（53.8）	6（16.2）	0（0.0）
IPM + ETP	37	23（62.2）	4（10.8）	27（73.0）	10（27.0）	0（0.0）
IPM + CAZ	37	8（21.6）	18（48.6）	26（70.3）	11（29.7）	0（0.0）
IPM + SCF	37	28（75.7）	9（24.3）	37（100.0）	0（0.0）	0（0.0）
IPM + AK	29	5（17.2）	5（17.2）	10（34.4）	19（65.6）	0（0.0）
IPM + LEV	37	12（32.4）	13（35.1）	25（67.6）	12（32.4）	0（0.0）

表 5 8 种联合方案在 27 株 KPC 酶型菌株中协同率、相加率、无关率和拮抗率

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	0	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）
IPM + COL	27	0（0.0）	23（85.2）	23（85.2）	4（14.8）	0（0.0）
IPM + TGC	7	0（0.0）	3（42.9）	3（42.9）	4（57.1）	0（0.0）
IPM + ETP	27	19（70.4）	3（11.1）	22（81.5）	5（18.5）	0（0.0）
IPM + CAZ	27	6（22.2）	14（51.9）	20（74.1）	7（25.9）	0（0.0）
IPM + SCF	27	18（66.7）	9（33.3）	27（100.0）	0（0.0）	0（0.0）
IPM + AK	21	3（14.3）	3（14.3）	6（28.6）	15（71.4）	0（0.0）
IPM + LEV	27	9（33.3）	9（33.3）	18（66.7）	9（33.3）	0（0.0）

表 6 8 种联合方案在 10 株 NDM 酶型菌株中协同率、相加率、无关率和拮抗率

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	10	10（100.0）	0（0.0）	10（100.0）	0（0.0）	0（0.0）
IPM + COL	10	0（0.0）	5（50.0）	5（50.0）	5（50.0）	0（0.0）
IPM + TGC	6	0（0.0）	4（66.7）	4（66.7）	2（33.3）	0（0.0）
IPM + ETP	10	4（40.0）	1（10.0）	5（50.0）	5（50.0）	0（0.0）
IPM + CAZ	10	2（20.0）	4（40.0）	6（60.0）	4（40.0）	0（0.0）
IPM + SCF	10	10（100.0）	0（0.0）	10（100.0）	0（0.0）	0（0.0）
IPM + AK	8	2（25.0）	1（12.5）	3（37.5）	5（62.5）	0（0.0）
IPM + LEV	10	3（30.0）	4（40.0）	7（70.0）	3（30.0）	0（0.0）

表7 8种联合方案在KPC菌株中协同率与相加率

联合方案	CR-KPN ( <i>n</i> = 22)		CR-ECO ( <i>n</i> = 2)		CR-KOX ( <i>n</i> = 3)	
	联合菌数 (株)	协同率 + 相加率 [株 (%) ]	联合菌数 (株)	协同率 + 相加率 [株 (%) ]	联合菌数 (株)	协同率 + 相加率 [株 (%) ]
CZA + ATM	0	0 (0.0)	0	0 (0.0)	0	0 (0.0)
IPM + COL	22	15 (68.2)	2	1 (50.0)	3	2 (66.7)
IPM + TGC	5	2 (40.0)	0	0 (0.0)	2	1 (50.0)
IPM + ETP	22	12 (54.5)	2	1 (50.0)	3	2 (66.7)
IPM + CAZ	22	20 (90.9)	2	2 (100.0)	3	3 (100.0)
IPM + SCF	22	22 (100.0)	2	2 (100.0)	3	3 (100.0)
IPM + AK	16	4 (25.0)	2	1 (50.0)	3	1 (33.3)
IPM + LEV	22	15 (68.2)	2	2 (100.0)	3	1 (33.3)

表8 8种联合方案在NDM菌株中协同率与相加率

联合方案	CR-KPN (1株)		CR-ECO (4株)		CR-ECL (3株)		CR-CFR (2株)	
	联合菌数 (株)	协同率 + 相加率 [株 (%) ]	联合菌数 (株)	协同率 + 相加率 [株 (%) ]	联合菌数 (株)	协同率 + 相加率 [株 (%) ]	联合菌数 (株)	协同率 + 相加率 [株 (%) ]
CZA + ATM	1	1 (100.0)	4	4 (100.0)	3	3 (100.0)	2	2 (100.0)
IPM + COL	1	1 (100.0)	4	3 (75.0)	3	2 (66.7)	2	1 (50.0)
IPM + TGC	0	0 (0.0)	3	2 (66.7)	1	1 (100.0)	2	1 (50.0)
IPM + ETP	1	1 (100.0)	4	3 (75.0)	3	2 (66.7)	2	2 (100.0)
IPM + CAZ	1	1 (100.0)	4	4 (100.0)	3	2 (66.7)	2	2 (100.0)
IPM + SCF	1	1 (100.0)	4	4 (100.0)	3	3 (100.0)	2	2 (100.0)
IPM + AK	1	0 (0.0)	2	1 (50.0)	3	2 (66.7)	2	1 (50.0)
IPM + LEV	1	1 (100.0)	4	3 (75.0)	3	2 (66.7)	2	2 (100.0)

## 讨 论

随着有创诊疗技术及广谱抗菌药物的广泛应用, CRE菌株检出越来越多, 每年CRE感染病例数约14万例, 由CRE造成的归因病死率可高达26%~44%<sup>[8]</sup>。肠杆菌许多种属均可发展为CRE, 常见的有KPN、ECO、ECL和CFR等<sup>[9]</sup>。CRE对碳青霉烯类药物的耐药机制以产酶为主<sup>[10]</sup>, 包括A类丝氨酸碳青霉烯酶(以KPC为主)、B类金属 $\beta$ -内酰胺酶(以NDM为主)和D类丝氨酸碳青霉烯酶(以OXA-48为主)。在我国, CRE主要产KPC、NDM和OXA-48碳青霉烯酶, 成人感染以KPC为主<sup>[11]</sup>。在本研究中, CRE菌株以KPN和ECO为主, CR-KPN检出23株(62.2%), CR-ECO检出6株(16.2%)。37株CRE中均检测到产碳青霉烯酶, 其中以产KPC为主, 共27株(73.0%); 产NDM共10株(27.0%)。不同菌种间产酶的主要型别差异较大, 其中CR-KPN主要以产KPC为主, 检出22株(95.7%); 而CR-ECO以产NDM为主, 检出4株(66.7%)。与高春海等<sup>[12]</sup>研究不同, CRE菌株在

不同医疗机构间存在差异。CHINET在2016至2018年对全国24个省市共36家医院的935株CRE菌株进行的大型研究报道<sup>[13]</sup>, 97.4%的CRE菌株产碳青霉烯酶。其中437株成人样本中, CR-KPN占75.7%, 其次为CR-ECO(9.8%), 与本研究数据基本一致。本研究未检测到携带VIM、IMP和OXA-48的CRE菌株。

在体外药敏试验中, COL、TGC和一些氨基糖苷类药物是少数可能对CRE保持抗菌活性的药物<sup>[14-15]</sup>。本研究结果显示, 37株CRE对COL均敏感, 对CZA和TGC的耐药率分别为27.0%和35.1%, 对AK和ATM的耐药率分别为78.4%和94.6%, 对其他常用抗菌药物的耐药率为100%。在CRE高耐药性背景下, 多项研究正在尝试有效的联合方案以治疗CRE感染<sup>[7, 16]</sup>。本研究中CZA对产KPC酶的菌株100%敏感, 对产NDM酶的菌株100%耐药, 与ATM联合后协同率为100%, 与文献<sup>[17-18]</sup>报道一致。其次, IPM + SCF的协同率为75.7%, 协同率与相加率之和为100%。IPM + COL、IPM + ETP、IPM + CAZ、IPM + LEV、IPM + TGC协同率与相加率和

依次为75.7%、73.0%、70.3%、67.6%和53.8%。IPM + AK协同率与相加率最低,仅为34.4%。本研究KPC和NDM两种酶型中,IPM与各抗菌药物以及在相同酶型不同CRE菌株中的联合药敏试验结果略有不同。对于KPC菌株,IPM + COL、IPM + ETP以及IPM + CAZ协同率与相加率之和>NDM菌株,IPM + SCF协同率与相加率之和等于NDM菌株,其他组合的协同率与相加率之和均低于NDM菌株。IPM + SCF协同率与相加率之和最高,均为100%,而IPM + AK协同率与相加率之和最低,分别为28.6%和37.5%。

目前我国多黏菌素类、TGC和CZA是治疗CRE感染的有限可选药物,但存在不少限制。如COL的异质性耐药和严重的肾毒性、TGC引起的低血糖、肝功能衰竭和血浆 $\gamma$ -谷氨酰转移酶水平升高等药物不良反应<sup>[19]</sup>。CZA作为一种新型酶抑制剂抗菌药物,于2019年被我国批准用于成人复杂性腹腔感染和复杂性尿路感染等疾病的治疗。其特点是可以抑制OXA-48和A类碳青霉烯酶的活性,但无法抑制金属酶的活性。ATM属于单环 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物,对产生金属酶的细菌具有很强的杀菌作用,但却会被A类和C类 $\beta$ -内酰胺酶水解,两者联合应用可以起到互补作用。体外药敏试验显示,ATM和CZA联合使用对各种酶型的CRE均有较好疗效<sup>[20]</sup>。通过延长输注时间、优化药物代谢动力学/药效学等方法,可以防止治疗失败和继发耐药,是治疗CRE感染的关键策略,可作为首选方案。以CZA为基础的早期治疗或挽救治疗可以提高临床治疗有效率、细菌清除率及改善预后<sup>[21]</sup>。尽管目前已经有国内学者报道产KPC型的KPN出现了耐CZA趋势<sup>[22]</sup>,但本研究中并未发现这类菌株,可能与本地区流行的CRE菌株单一有关。因此推荐应用CZA治疗产KPC型CRE菌株感染,对于B类金属酶型或者无法获得碳青霉烯酶检测结果的CRE菌株感染,建议采用CZA联合ATM治疗。其次,以碳青霉烯类为基础的联合方案中以IPM + SCF的联合用药为首选。SCF中头孢哌酮是广谱三代头孢菌素,舒巴坦钠可以阻断 $\beta$ -内酰胺酶生成,减低染色体或质粒介导 $\beta$ -内酰胺酶的作用<sup>[23]</sup>,与IPM联合实验显示了较好的协同与相加作用。尤其在NDM酶型中,IPM的MIC均 $\leq 16 \mu\text{g/ml}$ ,与SCF的协同率为100%。在棋盘法药敏试验中,IPM与COL或TGC的联合方案未显示出协同作用,部分与以往报道的协同作用较好不同<sup>[24]</sup>,但有研究

与本研究结果一致<sup>[16]</sup>,是否由体内外药物分布与个体代谢差异所导致,尚待进一步研究。另外,ETP联合其他碳青霉烯类药物的“双碳”方案组合是基于ETP与KPC酶间的高亲和性,易被KPC酶水解,进而促使另一种碳青霉烯类药物发挥抗菌作用。与传统意义上的协同作用存在一定差异,并非真正的协同作用。

本研究主要分析CAZ + ATM,IPM与其他7种抗菌药物的联合药敏试验,ETP和MEM分别与其他抗菌药物联合药敏试验尚未进行,所选菌株和酶型也较少,待后续有更多不同类型细菌和酶型后再补充研究。肉汤微量稀释棋盘法虽是联合药敏试验的标准参考方法,因其操作繁琐且常规实验室可操作性差,因此,操作简单的纸片法不失为可选择的方法之一<sup>[25]</sup>,但只能大致定性观察是否有联合作用。建议临床微生物实验室常规开展碳青霉烯酶型检测,为最优治疗方案提供依据<sup>[26]</sup>。同时主动筛查患者及周围环境的CRE,早期发现CRE定植或感染,采取积极有效的防控措施,预防医院内感染和传播<sup>[27]</sup>。

## 参 考 文 献

- [1] 杨勇文,李从荣,李珍,等. 武汉地区耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药基因的研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2017,11(4):352-358.
- [2] Paveenkittiporn W, Lyman M, Biedron C, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacterales* in Thailand, 2016-2018[J]. Antimicrob Resist Infect Control,2021,10(1):88.
- [3] 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.
- [4] Centers for Disease Control and Prevention. CRE technical Information[EB/OL]. [2022-04-18]. <https://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/technical-info.html#Definition>.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. M100-S32. Wayne, PA: CLSI, 2022.
- [6] 汪复,张婴元主编. 实用抗感染治疗学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2020.
- [7] 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.
- [8] McConville TH, Sullivan SB, Gomez-Simmonds A, et al. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* colonization (CRE) and subsequent risk of infection and 90-day mortality in critically ill patients, an observational study[J]. PLoS One,2017,12(10):e0186195.
- [9] Hansen GT. Continuous evolution: perspective on the epidemiology of carbapenemase resistance among *Enterobacterales* and other Gram-negative bacteria[J]. Infect Dis Ther,2021,10(1):75-92.
- [10] Castanheira M, Deshpande L M, Mendes RE, et al. *Enterobacterales* prevalence of carbapenemase genes among carbapenem-nonsusceptible collected in US hospitals in a five-year period and

- activity of ceftazidime/avibactam and comparator agents[J]. JAC Antimicrob Resist,2022,4(5):314-317.
- [11] Zhang P, Shi Q, Hu H, et al. Emergence of ceftazidime/avibactam resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China[J]. Clin Microbiol Infect,2020,26(1):124e1-124e4.
- [12] 高春海, 邱晓丽, 张彩凤, 等. 临沂地区分离耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌产酶型别与耐药性分析[J]. 中华检验医学杂志,2022,45(1):71-76.
- [13] Han R, Shi Q, Wu S, et al. Dissemination of carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) among carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolated from adult and children patients in China [J]. Front Cell Infect Microbiol,2020,10:314.
- [14] Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018 [EB/OL]. [2022-01-22]. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-Antimicrobial-Resistance-Europe-2018.pdf>.
- [15] Sheu CC, Chang YT, Lin SY, et al. Infections caused by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: An update on therapeutic options [J]. Front Microbiol,2019,10:80.
- [16] 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.
- [17] Maraki S, Mavromanolaki VE, Moraitis P, et al. Ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, and imipenem-relebactam in combination with aztreonam against multidrug-resistant, metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis,2021,40(8):1755-1759.
- [18] 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.
- [19] 黄声雷, 胡必杰, 郭玮, 等. 耐碳青霉烯类肠杆菌198株临床分离株耐药性及其耐药基因[J]. 中华医院感染学杂志,2023,33(11):1-5.
- [20] 任艳丽, 王云英, 蒋敏, 等. 不同碳青霉烯酶型肠杆菌科细菌感染的治疗策略研究[J]. 中国抗生素杂志,2021,46(04):339-345.
- [21] Tsolaki V, Mantzaris K, Mpakalis A, et al. Ceftazidime-avibactam to treat life-threatening infections by carbapenem-resistant pathogens in critically ill mechanically ventilated patients[J]. Antimicrob Agents Chemother,2020,64(3):e02320-02319.
- [22] XuY, Song W, Huang P, et al. A rapid carbapenemase genes detection method with Xpert carba-R from positive blood cultures compared with NG-test carba 5 and sequencing[J]. Infect Drug Resist,2022,15(4):7719-7725.
- [23] Lv Q, Deng Y, Zhu X, et al. Effectiveness of cefoperazone-sul-bactam alone and combined with tigecycline in the treatment of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* pulmonary infection[J]. J Coll Physicians Surg Pak,2020,30(3):332-334.
- [24] Tängdén T, Hickman R A, Forsberg P, et al. Evaluation of double- and triple-antibiotic combinations for VIM-and NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* by in vitro time-kill experiments[J]. Antimicrob Agents Chemother,2014,58(3):1757-1762.
- [25] 丁丽, 陈佰义, 李敏, 等. 碳青霉烯类耐药革兰阴性菌联合药敏试验及报告专家共识[J]. 中国感染与化疗杂志,2023,23(1):80-90.
- [26] 袁瑾懿, 林东昉. 2022年美国感染病学会对产超广谱 $\beta$ 内酰胺酶肠杆菌目细菌, 碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌和难治性耐药铜绿假单胞菌感染的治疗指导[J]. 中国感染与化疗杂志,2023,23(2):265-271.
- [27] 缪兴全, 孟秀娟. 患者及医院环境CRE主动筛查及防控策略研究进展[J]. 中国感染控制杂志,2022,21(12):1257-1263.
- (收稿日期: 2023-06-17)  
(本文编辑: 孙荣华)

苏爱美, 韦涌涛, 王东平. 耐碳青霉烯类肠杆菌耐药性及联合药敏试验研究 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2023,17(5):333-340.