

[文章编号] 1007-7669(2024)06-0476-05

[DOI号] 10.14109/j.cnki.xyylc.2024.06.15

多黏菌素 B 联合抗菌药对不同耐药基因型耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌的体外协同作用

范陈良, 吴晓燕, 李小四, 郁俊杰

(嘉兴市第二医院 检验科, 浙江 嘉兴 314000)

[关键词] 多黏菌素 B; 耐碳青霉烯类肠杆菌科; 多药耐药基因; 微生物敏感性试验

[摘要] 目的 评价多黏菌素 B 与美罗培南、阿米卡星、磷霉素联合对携带不同耐药基因的耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌 (CRE) 的体外抗菌效果。方法 收集本院检验科 2019 年至 2021 年分离的 CRE 76 株, 进行细菌鉴定并确认碳青霉烯酶基因型, 采用微量肉汤稀释法测定多黏菌素 B、美罗培南、阿米卡星、磷霉素对 CRE 的最低抑菌浓度 (MIC), 采用微量棋盘稀释法进行多黏菌素 B 与美罗培南、阿米卡星、磷霉素的体外联合药敏试验, 计算部分抑菌浓度指数 (FICI) 判断相互作用。结果 经鉴定, 76 株 CRE 中有携带 bla_{KPC} 基因 24 株, 携带 bla_{NDM} 基因 28 株, 携带 $bla_{OXA-48-like}$ 基因 24 株。CRE 菌株对多黏菌素 B、美罗培南、阿米卡星、磷霉素的耐药率分别为 3%、92%、39%、45%。多黏菌素 B 与美罗培南的协同 + 部分协同率最高, 为 54%, 其次为磷霉素 (43%), 最低为阿米卡星 (18%)。对于携带 bla_{KPC} 、 $bla_{OXA-48-like}$ 、 bla_{NDM} 基因的 CRE, 多黏菌素 B 与磷霉素联合的协同 + 部分协同率分别为 37%、42%、50%, 与美罗培南联合分别为 75%、21% 和 64%, 与阿米卡星联合分别为 8%、25%、21%。未发现多黏菌素 B 与这三种抗菌药物存在拮抗作用。结论 多黏菌素 B 联合美罗培南对 CRE 的协同抑菌作用最好, 联合效果与细菌耐药基因型有关, 积极开展耐药基因检测有助于促进临床合理使用抗菌药物。

[中图分类号] R978.1

[文献标志码] A

In vitro synergistic effect of polymyxin B combined with antibacterial drugs on different resistant genotypes of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*

FAN Chen-liang, WU Xiao-yan, LI Xiao-si, YU Jun-jie

(Department of Laboratory Medicine, the Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing ZHEJIANG 314000, China)

[KEY WORDS] polymyxin B; carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*; multiple drug resistance gene; microbial sensitivity tests

[ABSTRACT] AIM To assess the *in vitro* antibacterial activity of polymyxin B in combination with meropenem, amikacin, and fosfomycin against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) strains carrying various resistance genes. METHODS A total of 76 CRE strains isolated from the clinical laboratory of our hospital between 2019 and 2021 were collected for identification and confirmation of carbapenemase genotype. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of polymyxin B, meropenem, amikacin, and fosfomycin against CRE were determined using the broth microdilution method.

[收稿日期] 2023-05-04 [接受日期] 2024-03-01

[基金项目] 浙江省卫生健康科技计划项目 (2021KY1109)

[作者简介] 范陈良, 男, 副主任技师, 学士, 主要从事细菌耐药机制的研究, E-mail: jxeyfan@163.com

[责任作者] 吴晓燕, E-mail: wxy87751@163.com

The *in vitro* combined sensitivity tests of polymyxin B with meropenem, amikacin, and fosfomycin were performed using the microdilution checkerboard method to calculate the fractional inhibitory concentration index (FICI) for determining their interactions. RESULTS Among the 76 strains of CRE, 24 strains were identified to carry the bla_{KPC} , while 28 strains carried the bla_{NDM} and another 24 strains carried the $bla_{OXA-48-like}$. The drug-resistance rates of CRE strains to polymyxin B, meropenem, amikacin, and fosfomycin were determined as 3%, 92%, 39%, and 45%, respectively. The highest synergistic + partial synergistic rate was observed in combination of polymyxin B with meropenem (54%), followed by fosfomycin (43%) and amikacin (18%). For CRE carrying bla_{KPC} , $bla_{OXA-48-like}$, or bla_{NDM} , the synergistic + partial synergistic rates of polymyxin B combined with fosfomycin were 37%, 42%, and 50%, respectively, while combined with meropenem were 75%, 21%, and 64%, respectively, and combined with amikacin were 8%, 25%, and 21%, respectively. No antagonistic effect was observed between polymyxin B and these three antibiotics. CONCLUSION The combination of polymyxin B and meropenem exhibits the best synergistic antibacterial effect against CRE, and the combined effect is related to the drug-resistance genotype of bacteria, so active detection of drug-resistance genes can help to promote the rational use of antibiotics in clinical practice.

耐碳青霉烯类杆菌目细菌 (carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, CRE) 在临床上日益增多, 是严重感染 (如脓毒症、尿路感染和医院获得性肺炎) 的常见病原体, CRE 的多重耐药给临床治疗带来困惑^[1]。多黏菌素 B 和多黏菌素 E (黏菌素) 对大多数 CRE 显示出较好的体外活性, 被广泛用于此类感染的治疗^[2]。由于该类药物存在明显异质性耐药, 不推荐单独应用, 其与多种其他抗生素联用时对 CRE 有协同作用^[3-5]。导致细菌对碳青霉烯类药物耐药的原因有多种, 主要机制包括产碳青霉烯酶, 临床常见 KPC、NDM 和 OXA-48 型碳青霉烯酶, 这也是我国 CRE 最重要的耐药机制^[6]。目前尚不清楚不同类型的碳青霉烯酶是否会影 响体外和体内试验联合治疗疗效。本研究应用体外联合药敏试验评价多黏菌素 B 与磷霉素、阿米卡星、美罗培南联合用药对不同耐药基因的 CRE 的协同效果, 旨在为临床 CRE 感染提供最佳联合用药方案。

材料与方法

菌株来源 收集本院检验科 2019 年至 2021 年临床分离的非重复 CRE 76 株, 来源包括痰 ($n=30$)、尿液 ($n=25$)、胆汁 ($n=7$)、分泌物 ($n=6$)、引流液 ($n=3$)、血液 ($n=2$)、支气管肺泡灌洗液 ($n=1$)、脑脊液 ($n=1$)、胸水 ($n=1$)。

仪器与试剂 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪 (MALDI-TOFMS) 和 Vitek2 Compact 全自动细菌鉴定和药敏系统购自法国生物梅里埃公司, CARBA 5 碳青霉烯酶检测试剂盒购自复星诊断科技 (上海) 有限公司, 细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型) 购自天根生物科技 (北京) 有限公司, S100 型 PCR 荧

光定量分析仪、PowerPac™ Basic 凝胶电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司。多黏菌素 B-磷霉素 (批号: VH06201)、多黏菌素 B-阿米卡星 (批号: VH05199)、多黏菌素 B-美罗培南 (批号: VH05200) 联合药敏板 (微量肉汤稀释法) 购自浙江省温州康泰生物科技有限公司。

细菌鉴定及最低抑菌浓度 (MIC) 测定 全部菌株经 Vitek2 Compact 细菌鉴定仪鉴定细菌菌种, 再经 MALDI-TOF MS 进行菌种确认; 用碳青霉烯酶胶体金免疫层析法初筛碳青霉烯酶基因型, 然后采用分子生物学方法 (多重聚合酶链反应) 确认 CRE 菌株中碳青霉烯酶基因 (包括 bla_{KPC} 、 bla_{NDM} 、 bla_{IPM} 、 bla_{VIM} 和 $bla_{OXA-48-like}$)。引物设计参考文献^[7], 反应体系共 20 μ L: Premix Taq™ 6 μ L, 上游引物、下游引物 (50 μ mol \cdot L⁻¹) 各 1 μ L, DNA 模板 2 μ L, 无菌双蒸水 2 μ L。反应条件: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 57 $^{\circ}$ C 40 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min。采用微量肉汤稀释法测定多黏菌素 B、阿米卡星、磷霉素、美罗培南对 76 株 CRE 菌株的 MIC; 磷霉素 MIC 检测根据美国临床和实验室标准协会 (CLSI) 标准^[8], 药敏培养基中加入 25 mg \cdot L⁻¹ 的 6-磷酸葡萄糖。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。

体外联合药敏试验及药物相互作用判定 采用微量棋盘稀释法进行多黏菌素 B 与其他三种抗菌药物 (阿米卡星、磷霉素、美罗培南) 对 76 株 CRE 菌株的联合药敏试验, 通过计算部分抑菌浓度指数 (fractional inhibitory concentration index, FICI) 判断药物相互作用。FICI= 联合用药时甲药 MIC/单独用药时甲药 MIC + 联合用药时乙药 MIC/单独用药时乙药 MIC; FICI \leq 0.5 两药为协同作用, 0.5 < FICI < 1 两药为部分协同作用, FICI=1 两药为相加作用, 1 < FICI \leq 4 两药为无

关作用, FICI > 4 两药为拮抗作用^[9]。

药敏结果判断 参照 CLSI M100-S32 标准^[8]判断菌株对药物的敏感性: 阿米卡星 MIC ≤ 16 mg · L⁻¹ 判断为敏感, MIC ≥ 64 mg · L⁻¹ 为耐药; 磷霉素 MIC ≤ 64 mg · L⁻¹ 为敏感, MIC ≥ 256 mg · L⁻¹ 为耐药; 美罗培南 MIC ≤ 1 mg · L⁻¹ 为敏感, MIC ≥ 4 mg · L⁻¹ 为耐药。参照美国食品与药物管理局 (FDA) 标准判断菌株对多黏菌素 B 的敏感性: MIC ≤ 2 mg · L⁻¹ 为敏感, MIC ≥ 4 mg · L⁻¹ 为耐药^[10]。

统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 协同率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著意义。

结 果

细菌类型及其碳青霉烯基因型 76 株 CRE 经鉴定分别为肺炎克雷伯菌 53 株 (bla_{KPC} 19 株, bla_{NDM} 10 株, $bla_{OXA-48-like}$ 24 株), 大肠埃希菌 12 株 (bla_{KPC} 3 株, bla_{NDM} 9 株), 阴沟肠杆菌 7 株 (bla_{NDM} 7 株), 产气肠杆菌 2 株 (bla_{KPC} 1 株, bla_{NDM} 1 株), 枸橼酸杆菌属 2 株 (bla_{KPC} 1 株, bla_{NDM} 1 株); 其中携带 bla_{KPC} 基因 24 株, 携带 bla_{NDM} 基因 28 株, 携带 $bla_{OXA-48-like}$ 基因 24 株。

细菌的药物敏感性 76 株 CRE 对四种抗菌药物的耐药率见表 1。其中 2 株 (3%) 对多黏菌素 B 耐药, MIC₉₀ 值为 1 mg · L⁻¹; 70 株 (92%) 对美罗培南耐药, MIC 0.5~256 mg · L⁻¹; 30 株 (39%) 对阿米卡星耐药, MIC 1~1 024 mg · L⁻¹; 34 株 (45%) 对磷霉素耐药,

MIC 0.5~1 024 mg · L⁻¹。

联合用药作用 多黏菌素 B 与阿米卡星、磷霉素、美罗培南联合对 76 株 CRE 的抗菌活性及 FICI 见表 2。多黏菌素 B 与美罗培南、磷霉素联合对 CRE 显示较好的协同作用, 协同 + 部分协同率分别为 54%、43%, 与多黏菌素 B 联合阿米卡星 (19%) 相比差异有显著意义 ($\chi^2=11.119$, $P=0.001$; $\chi^2=20.770$, $P=0.001$)。多黏菌素 B 与美罗培南联合对 bla_{KPC} 型、 bla_{NDM} 型 CRE 表现出较高协同作用, 协同 + 部分协同率分别为 75%、64%, 与 $bla_{OXA-48-like}$ 型 (21%) 相比差异有显著意义 ($\chi^2=12.021$, $P=0.001$; $\chi^2=8.209$, $P=0.004$)。多黏菌素 B 与磷霉素联合对各型 CRE 均有一定的协同作用, 协同率 8%~21%, 对 $bla_{OXA-48-like}$ 型及 bla_{NDM} 型 CRE 部分协同率分别达 42% 和 50%。多黏菌素 B 与阿米卡星联合对 $bla_{OXA-48-like}$ 型 CRE 的协同率为 25%, 对 bla_{KPC} 型、 bla_{NDM} 型的协同率均为 0。没有任何组合显示出有拮抗作用。多黏菌素 B 与磷霉素联合对 2 株多黏菌素 B 耐药 CRE (分别携带 bla_{KPC} 和 $bla_{OXA-48-like}$ 基因) 显示部分协同作用, 见表 3。

讨 论

多黏菌素类在临床上对 CRE 具有较好的抗菌活性, 被认为是对抗耐药细菌的重要防线^[11], 其主要通过破坏革兰阴性菌外膜的完整性而起抗菌作用。本研究分析了多黏菌素 B 对 76 株 CRE 的抗菌活性, 其

表 1 76 株不同基因型耐碳青霉烯肠杆菌目细菌对四种抗菌药物的敏感性

耐药基因	抗菌药物	最低抑菌浓度 (MIC) / mg · L ⁻¹			敏感性 / 株 (%)	
		MIC 范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀	敏感	耐药
bla_{KPC} (n=24)	多黏菌素 B	0.25~16	0.5	1	22 (91)	1 (4)
	美罗培南	0.5~128	32	128	3 (12)	19 (79)
	阿米卡星	1~1 024	2	1 024	19 (79)	5 (21)
	磷霉素	0.5~1 024	128	1 024	10 (42)	11 (46)
$bla_{OXA48-like}$ (n=24)	多黏菌素 B	0.5~4	0.5	1	23 (96)	1 (4)
	美罗培南	4~32	16	32	0 (0)	24 (100)
	阿米卡星	1 024	1 024	1 024	0 (0)	24 (100)
	磷霉素	64~1 024	256	1 024	1 (4)	13 (54)
bla_{NDM} (n=28)	多黏菌素 B	0.5~1	0.5	1	28 (100)	0 (0)
	美罗培南	0.5~256	32	128	1 (4)	27 (96)
	阿米卡星	1~1 024	4	8	27 (96)	1 (4)
	磷霉素	1~1 024	64	1 024	15 (54)	10 (36)
合计 (n=76)	多黏菌素 B	0.25~16	0.5	1	73 (96)	2 (3)
	美罗培南	0.5~256	16	256	4 (5)	70 (92)
	阿米卡星	1~1 024	16	1 024	46 (61)	30 (39)
	磷霉素	0.5~1 024	128	1 024	26 (34)	34 (45)

表 2 多黏菌素 B 与三种抗菌药物联合对 76 株不同基因型耐碳青霉烯类杆菌目细菌的相互作用* 株 (%)

耐药基因	抗菌药物组合	协同	部分协同	相加	无关	拮抗	协同 + 部分协同
<i>bla</i> _{KPC} (n=24)	多黏菌素 B+ 磷霉素	2 (8)	7 (29)	7 (29)	8 (33)	0	9 (37)
	多黏菌素 B+ 阿米卡星	0	2 (8)	4 (17)	18 (75)	0	2 (8)
	多黏菌素 B+ 美罗培南	5 (21)	13 (54)	3 (13)	3 (13)	0	18 (75) ^f
<i>bla</i> _{OXA-48-like} (n=24)	多黏菌素 B+ 磷霉素	4 (17)	6 (25)	7 (29)	7 (29)	0	10 (42)
	多黏菌素 B+ 阿米卡星	6 (25)	0	16 (67)	2 (8)	0	6 (25)
	多黏菌素 B+ 美罗培南	3 (13)	2 (8)	12 (50)	7 (29)	0	5 (21)
<i>bla</i> _{NDM} (n=28)	多黏菌素 B+ 磷霉素	6 (21)	8 (29)	2 (7)	12 (43)	0	14 (50)
	多黏菌素 B+ 阿米卡星	0	6 (21)	1 (4)	21 (75)	0	6 (21)
	多黏菌素 B+ 美罗培南	4 (14)	14 (50)	10 (36)	0	0	18 (64) ^f
合计 (n=76)	多黏菌素 B+ 磷霉素	12 (16)	21 (27)	16 (21)	27 (36)	0	33 (43) ^e
	多黏菌素 B+ 阿米卡星	6 (8)	8 (11)	21 (27.6)	41 (54)	0	14 (19)
	多黏菌素 B+ 美罗培南	12 (16)	29 (38)	25 (33)	10 (13)	0	41 (54) ^e

*: 部分抑菌浓度指数 (FICI) ≤ 0.5 为协同作用, 0.5 < FICI < 1 为部分协同作用, FICI = 1 为相加作用, 1 < FICI ≤ 4 为无关作用, FICI > 4 为拮抗作用。经 χ^2 检验: 与多黏菌素 B+ 阿米卡星相比, ^e $P < 0.01$; 与多黏菌素 B+ 美罗培南对 *bla*_{OXA-48-like} 型的作用相比, ^f $P < 0.01$

表 3 2 株多黏菌素 B 耐药菌的体外联合药敏试验结果

抗菌药物	最低抑菌浓度 / mg · L ⁻¹		部分抑菌浓度指数	
	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{OXA-48-like}	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{OXA-48-like}
多黏菌素 B	16	4	—	—
磷霉素	64	256	—	—
阿米卡星	1 024	1 024	—	—
美罗培南	128	16	—	—
多黏菌素 B+ 磷霉素	4+32	2+32	0.8	0.6
多黏菌素 B+ 阿米卡星	16+1 024	4+1 024	2	2
多黏菌素 B+ 美罗培南	16+64	4+8	2	2

中携带 *bla*_{KPC} 基因 24 株、携带 *bla*_{NDM} 基因 28 株、携带 *bla*_{OXA-48-like} 基因 24 株, 发现耐药率仅为 3%, 与文献报道^[12]一致。同时, 本研究结果显示不同耐药基因型 CRE 对阿米卡星的耐药率有所不同, *bla*_{OXA-48-like} 基因型耐药率达 100%, 而 *bla*_{KPC} 与 *bla*_{NDM} 型耐药率则分别为 21% 与 4%, 提示临床上经验性联合使用阿米卡星治疗 CRE 感染时需考虑细菌携带的耐药基因型。

目前抗菌药物联合使用仍是治疗 CRE 感染的主要手段, TUMBARELLO 等^[13]通过 Meta 分析发现, 联合用药患者的死亡率明显低于单药 (分别为 34% 和 54%); 同时考虑多黏菌素 B、磷霉素单药容易诱导耐药, 且多黏菌素 B 存在异质性耐药的可能, 建议尽量使用联合给药。本研究在 76 株 CRE 中筛选了多黏菌素 B 与阿米卡星、磷霉素、美罗培南三种抗生药的不同组合。研究结果发现, 多黏菌素 B 与美罗培南对 CRE 具有相对较好的协同作用, 协同 + 部分协同率最高, 为 54%, 其次是与磷霉素联合 (43%); 从基因型上看, 多黏菌素 B 与美罗培南对携带 *bla*_{KPC} 基因的 CRE 协同 + 部分协同率最高, 达 75%, 其次为携带 *bla*_{NDM} 基因的 CRE (64%), 对 *bla*_{OXA-48-like} 基因型 CRE 协同作用最小 (21%), 与文献报道及相关指南、共

识^[14-16]相一致, 同时也说明同样的联合方案对携带不同耐药基因 CRE 体外实验存在差异。

目前体外两药联合方案较多, 不同联合方案对于不同酶型的不同菌种所产生的协同效应存在差异^[17]。本研究显示, 对于携带 *bla*_{KPC}、*bla*_{NDM} 基因的 CRE, 多黏菌素 B- 美罗培南的协同 + 部分协同率最高 (协同 + 部分协同率分别为 75%、64%), 其次为多黏菌素 B- 磷霉素 (协同 + 部分协同率分别为 38%、50%)。对于携带 *bla*_{OXA-48-like} 基因的 CRE, 则以多黏菌素 B- 磷霉素的协同效果最好 (协同 + 部分协同率为 42%), 多黏菌素 B- 美罗培南对其协同率仅为 13%, 与 OLSSON 等^[5]的研究结果 (协同率 10%) 相似。研究表明, OXA-48-like 型碳青霉烯酶对碳青霉烯类抗生素耐药往往由膜孔蛋白缺失或变异引起的, 如膜孔蛋白 OmpK35 和 OmpK36 变异^[18], 这可能是影响多黏菌素 B- 美罗培南对携带 *bla*_{OXA-48-like} 基因 CRE 的协同率的原因。

本研究中 2 株多黏菌素 B 耐药的 CRE 分别携带 *bla*_{KPC} 和 *bla*_{OXA-48-like} 基因, 体外联合药敏发现, 多黏菌素 B 与磷霉素联合时对这 2 株耐药菌表现部分协同作用, 而与美罗培南、阿米卡星联合时呈现无关作用。尤其是对 *bla*_{OXA-48-like} 基因型 CRE, 多黏菌素 B 与磷霉素联合后, 多黏菌素 B 的 MIC 由 4 mg · L⁻¹ 下降至 2 mg · L⁻¹, 磷霉素 MIC 由 256 mg · L⁻¹ 下降至 32 mg · L⁻¹, 提示当临床上 CRE 对多黏菌素 B 耐药时磷霉素可以成为联合方案的候选药物。

多黏菌素 B 联合用药的机制可能因其能够诱导破坏细菌外膜, 导致细菌外膜通透性增加, 从而促进第二种抗生素的进入^[19,20], 也可能是通过对抗细菌外膜相关外排泵的功能而发挥作用^[19], 具体协同作用机

制仍需进一步研究。

综上所述,多黏菌素 B 联合不同抗菌药对 CRE 的体外协同作用存在差异,多黏菌素 B 联合美罗培南对 CRE 的协同抑菌作用最好,联合效果与细菌耐药基因型有关。临床应积极开展耐药基因检测,对具有不同耐药机制的 CRE 感染考虑使用不同的抗菌药物组合,同时需要进行更多的临床研究确认这些联合用药的疗效。

[参考文献]

- [1] CHOI U, LEE CR. Distinct roles of outer membrane porins in antibiotic resistance and membrane integrity in *Escherichia coli* [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 953.
- [2] TSUJI BT, POGUE JM, ZAVASCKI AP, et al. International consensus guidelines for the optimal use of the polymyxins: endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP) [J]. *Pharmacotherapy*, 2019, 39 (1): 10–39.
- [3] CAI Y, CHAI D, WANG R, et al. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2012, 67 (7): 1607–1615.
- [4] AYE SM, GALANI I, YU H, et al. Polymyxin triple combinations against polymyxin-resistant, multidrug-resistant, kpc-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 64 (8): e00246–20.
- [5] OLSSON A, HONG M, AL-FARSI H, et al. Interactions of polymyxin B in combination with aztreonam, minocycline, meropenem, and rifampin against *Escherichia coli* producing NDM and OXA-48-group carbapenemases [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65 (12): e0106521.
- [6] 中国碳青霉烯耐药肠杆菌科细菌感染诊治与防控专家共识编写组, 中国医药教育协会感染疾病专业委员会, 中华医学会细菌感染与耐药防控专业委员会. 中国碳青霉烯耐药肠杆菌科细菌感染诊治与防控专家共识 [J]. *中华医学杂志*, 2021, 101 (36): 2850–2860.
- [7] REHMAN MU, YANG H, ZHANG S, et al. Emergence of *Escherichia coli* isolates producing NDM-1 carbapenemase from waterfowls in Hainan island, China [J]. *Acta Trop*, 2020, 207: 105485.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 33th ed. CLSI supplement M100 [S]. Wayne, PA: CLSI, 2022.
- [9] BAI Y, LIU B, WANG T, et al. *In vitro* activities of combinations of rifampin with other antimicrobials against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59 (3): 1466–1471.
- [10] HUMPHRIES R, BOBENCHIK AM, HINDLER JA, et al. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100, 31st edition [J]. *J Clin Microbiol*, 2021, 59 (12): e0021321.
- [11] NANG SC, AZAD MAK, VELKOV T, et al. Rescuing the last-line polymyxins: achievements and challenges [J]. *Pharmacol Rev*, 2021, 73 (2): 679–728.
- [12] 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.
- [13] TUMBARELLO M, TRECARCHI EM, de ROSA FG, et al. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70 (7): 2133–2143.
- [14] TANGDEN T, HICKMAN RA, 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.
- [15] YAO H, LIU J, JIANG X, et al. Analysis of the clinical effect of combined drug susceptibility to guide medication for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* patients based on the Kirby-Bauer disk diffusion method [J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14: 79–87.
- [16] SY CL, CHEN PY, CHENG CW, et al. Recommendations and guidelines for the treatment of infections due to multidrug resistant organisms [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2022, 55 (3): 359–386.
- [17] SHEU CC, CHANG YT, LIN SY, et al. Infections caused by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: an update on therapeutic options [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10 (1): 80–85.
- [18] 韩仁如, 胡付品. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌中 OXA-48 家族碳青霉烯酶分子流行病学研究进展 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2019, 19 (6): 687–690. HAN RR, HU FP. Recent advances in molecular epidemiology of OXA-48 family carbapenemases in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* [J]. *Chin J Infect Chemother*, 2019, 19 (6): 687–690.
- [19] BOWERS DR, CAO H, ZHOU J, et al. Assessment of minocycline and polymyxin B combination against *Acinetobacter baumannii* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59 (5): 2720–2725.
- [20] NATION RL. Conclusion [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1145: 363–364.