·临床研究·

磷霉素和亚胺培南对肺炎克雷伯菌体内协同作用的评价

胡仁静[1],戴　越[2],沈兰凤[1],刘　君[3]

(1 南京医科大学附属无锡市第二人民医院,无锡 214002;2 无锡市精神卫生中心,无锡 214056;
3 无锡市第五人民医院,无锡 214005)

[摘要] **目的:**采用肺炎克雷伯菌的大蜡螟幼虫体内感染模型,探讨磷霉素与亚胺培南联合用药的体内抗菌活性。**方法:**收集南京医科大学附属无锡市第二人民医院2020年1月—12月分离自血液感染患者的碳青霉烯类耐药的肺炎克雷伯菌4株(CRKP),碳青霉烯类敏感的肺炎克雷伯菌4株(CSKP)。采用*wzi*基因测序对肺炎克雷伯荚膜血清型进行分型。采用大蜡螟毒力模型计算不同菌株96 h 80%致死量,进一步进行大蜡螟体内抗菌药物敏感实验,分析磷霉素与亚胺培南联合用药的体内抗菌活性,通过大蜡螟虫体血淋巴试验进行细菌负荷检测。**结果:***wzi*基因测序显示4株CRKP的血清型均为K64型,4株CSKP血清型为K1,K2,K50,K26。联合用药的体内抗菌活性显示:当CRKP组亚胺培南的MIC值为≤8 mg·L^{-1},磷霉素≤32 mg·L^{-1}的2株菌联合用药的抗菌效果显著优于单药,血淋巴细菌负荷清除率高;CSKP组高毒力的K1-KP531和K2-KP532两药联用优于亚胺培南单用或磷霉素单用,血淋巴细菌负荷清除率低于CSKP组低毒力菌株。**结论:**当亚胺培南MIC≤8 mg·L^{-1}及磷霉素敏感时,磷霉素与亚胺培南在大蜡螟幼虫肺炎克雷伯菌感染模型中显示有协同作用。

[关键词] 大蜡螟;肺炎克雷伯菌;毒力;亚胺培南;磷霉素

[中图分类号] R978.1;R446.5　[文献标志码] A　[文章编号] 1003-3734(2021)23-2203-07

Evaluation of the *in vivo* synergistic effect between fosfomycin and imipenem on *Klebsiella pneumoniae*

HU Ren-jing[1], DAI Yue[2], SHEN Lan-feng[1], LIU Jun[3]

(1 *The Affiliated Wuxi Second People's Hospital of Nanjing Medical University*, *Wuxi* 214002, *China*; 2 *The Mental Health Center of Wuxi*, *Wuxi* 214056, *China*; 3 *The Fifth People's Hospital of Wuxi*, *Wuxi* 214005, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the *in vivo* antibacterial activity of fosfomycin combined with imipenem by using the infection model of *Galleria mellonella* with *Klebsiella pneumonia*. **Methods**: Four strains of carbapenem resistant *Klebsiella pneumonia* (CRKP) and four strains of carbapenem sensitive *Klebsiella pneumonia* (CSKP) isolated from patients with bloodstream infection were collected from Wuxi Second People's Hospital Affiliated Nanjing Medical University on January to December 2020. The serotypes of *Klebsiella pneumoniae* capsule were typed by *wzi* gene sequencing. The virulence model of wax moth was used to calculate the 80% lethal dose of different strains in 96 h, then the antimicrobial susceptibility test of wax borer was carried out to analyze the antibacterial activity of fosfomycin combined with imipenem *in vivo*. Finally, the bacterial load was detected by the hemolymph test of wax borer. **Results**: *Wzi* gene sequencing showed that the serotypes of all the four CRKP strains were k64.

[基金项目] 江苏省医学青年人才培养(QNRC2016163);无锡市卫健委青年项目(Q201901)

[作者简介] 胡仁静,女,副主任技师,从事肺炎克雷伯菌耐药及毒力机制的研究。联系电话:(0510)68562429,E-mail:weiweihuhu112@163.com。

[通讯作者] 刘君,男,副主任技师,主要从事微生物实验诊断工作和肺克毒力机制的研究。联系电话:(0510)68561246,E-mail:liujun_4451@126.com。

The serotypes of four CSKP strains were K1, K2, K50 and k26, respectively. The *in vivo* antibacterial activity result of combined drugs showed that when the MIC value of imipenem was ≤8 mg·L^{-1} and fosfomycin ≤32 mg·L^{-1} in CRKP group, the antibacterial effect of the combination on two strains was significantly better than that of single drug, and the load clearance rate of hemolymph bacteria was higher. The antibacterial effect of the combination on K1-KP531 and K2-KP532 from high virulence in CSKP group was better than imipenem or fosfomycin alone, with the load clearance rate of hemolymph bacteria lower than that of low virulence strains in CSKP group. **Conclusion**: When imipenem MIC≤8 mg·L^{-1} and fosfomycin was sensitive, fosfomycin and imipenem showed synergistic effect in the *Klebsiella pneumoniae* infection model of *Galleria mellonella*.

[**Key words**] *Galleria mellonella*; *Klebsiella pneumoniae*; virulence; imipenem; fosfomycin

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*,Kpn)具有广泛的致病能力,造成2种不同公共卫生威胁:碳青霉烯类耐药的肺炎克雷伯菌(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumonia*,CRKP)导致的医疗相关感染和药物敏感的高毒力肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae* with high virulenc,HvKP)造成的社区获得性侵袭性感染[1]。全球范围内CRKP的检出逐年增高,且仅对少数几种抗生素敏感;HvKP增厚的荚膜层导致抗生素单用的治疗周期长且疗效差[2]。肺炎克雷伯菌导致的血液感染的死亡率高达30%[3],及时合理用药极为重要。磷霉素可作用于细菌细胞壁合成初始阶段,国内研究表明磷霉素对CRKP的耐药率低于50%,体外联合药敏试验显示磷霉素与碳青霉烯类抗生素可联用于CRKP及HvKP的治疗[4]。近年来,成本低廉的大蜡螟感染模型因伦理约束少而备受关注,大蜡螟具有与人体免疫防御系统类似的血淋巴激活途径,已经广泛用于细菌毒力检测[5-6];但是大蜡螟感染模型评估抗菌药物的体内联合药敏疗效的报道较少,本研究基于前期建立的大蜡螟的毒力模型,选择不同耐药和毒力的肺炎克雷伯菌,对磷霉素与亚胺培南联用治疗肺炎克雷伯菌体内药物疗效进行研究分析。

资料与方法

1 菌株来源

收集南京医科大学附属无锡市第二人民医院2020年1月—12月分离自血液感染患者的8株肺炎克雷伯菌,其中CRKP 4株,碳青霉烯类敏感的肺炎克雷伯菌(carbapenem-sensitive *Klebsiella pneumonia*,CSKP)4株。采用法国梅里埃公司基质辅助激光解吸电离飞行质谱进行菌种鉴定,采用法国梅里埃公司Vitek 2-Compact进行药敏检测。药敏试验参照2020年美国临床和实验室标准化协会CLSI M100[7],用微量MIC法对磷霉素、亚胺培南药敏结果进行检测或复核,采用*wzi*基因测序进行菌株的荚膜血清型的检测[8]。

2 大蜡螟毒力检测试验[9]

倍比稀释配制菌液,设浓度菌液10^8,10^7,10^6,10^5,10^4,10^3,10^2 CFU·mL^{-1}的7个试验组,第8组为注射PBS缓冲液对照组,第9组设置为空白对照组,使用50 μL微量注射器进行注射。每隔24 h观察幼虫存活量,观察至96 h,同一浓度需重复3次,计算每株菌的LD_{80}。

3 大蜡螟体内抗菌药物敏感试验[10]

根据毒力试验96 h对应的LD_{80}来进行菌液浓度的配制。每株菌设置6组,每组20只幼虫,第1~4组注射相应浓度的菌液;第5组注射无菌PBS缓冲液;第6组空白对照,37 ℃孵育。幼虫孵育2 h后进行药物注射,试验组大蜡螟幼虫(以0.25 g换算)一次性模拟人体(以50 kg换算)给药剂量进行抗菌药物治疗。大蜡螟幼虫注射剂量为5×10^{-6}人体计量(mg),亚胺培南和磷霉素的人体剂量分别为250 mg·50 kg^{-1}、8 000 mg·50 kg^{-1}。第1组幼虫给予亚胺培南(imipenem,IMP)1.25 ug·10 μL^{-1},第2组幼虫给予磷霉素(fosfomycin,FOS)40 ug·10 μL^{-1},第3组幼虫给予IMP 1.25 ug·5 μL^{-1}与FOS 40 ug·5 μL^{-1}联合治疗。将培养皿置于37 ℃的孵箱内孵育96 h,每隔24 h观察并记录每组幼虫死亡数量。每组试验平行重复3次。药物购买纯品,厂家及纯度分别为:亚胺培南(希恩思公司,95%)、磷霉素(中国食品药品检定研究院,95%)。

4 大蜡螟虫体血淋巴负荷实验

菌液的配制、菌液注射、药物注射的步骤同大蜡螟体内抗菌药物敏感试验,每株菌4组,每组28只

幼虫。菌液注射后药物注射前,每组选取 4 只收集第一次血淋巴液;自药物注射后每隔 24 h,每组选取 4 只收集一次血淋巴液。选取幼虫时,若培养皿中存在死亡或虫体变黑但未死亡的幼虫,则优先选取。吸取血淋巴液 30 μL 混匀离心取上清,取 10 μL 进行 10,100 倍稀释,原倍吸取 10 μL;10 倍,100 倍 2 个梯度各吸取 100 μL 分别涂布于血平板。将所有涂布好的平板置于 37 ℃孵箱中孵育 24 ~ 36 h。读取每个稀释度平板上菌落数 N,取平均数,血淋巴细菌负荷量/CFU·mL^{-1} = N × 稀释倍数 × 10(体液总量 100 μL·吸10 μL^{-1}) × 10(1 mL·100 μL^{-1})。

5 数据分析

用 Graphpad 6.0 软件进行数据的处理及分析,并绘制生存曲线图与血淋巴负荷试验散点图;用 SPSS 22.0 进行 96 h LD_{80}和 $lgLD_{80}$计算,并进行卡方分析。

结　果

1 药敏试验及 *wzi* 检测的结果

药敏试验结果显示:CRKP 组中 K64-KP051 和 K64-KP056 仅替加环素、多粘菌素敏感,K64-KP059、K64-KP062 替加环素、多粘菌素、磷霉素敏感,且亚胺培南的 MIC 值均为 8 μg·mL^{-1}。4 株 CSKP 菌株中 2 株产 ESBLs、2 株非产 ESBLs 菌株,具体结果见表 1。经过 *wzi* 测序:4 株 CRKP(KP051,KP056,KP059,KP062)菌株均为 K64 型;4 株 CSKP 菌株分别为 K1,K2,K50,K26,其中 K1,K2 为常见的高毒力血清型。

表 1 肺炎克雷伯菌对抗菌药物的 MIC 值分布　　μg·mL^{-1}

抗菌药物	KP051(K64)	KP056(K64)	KP059(K64)	KP062(K64)	KP531(K1)	KP532(K2)	KP612(K26)	KP613(K50)
阿米卡星	≥64	≥64	≥64	≥64	≤4	≤4	≤4	≥64
氨曲南	≥64	≥64	≥64	≥64	≤0.25	≤0.25	≥64	≥64
头孢曲松	≥64	≥64	≥64	≥64	≤1	≤1	≤1	≤1
多粘菌素	1	2	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25
庆大霉素	≥16	≥16	≥16	≥16	≤1	≤1	≥16	≥16
亚胺培南	≥16	≥16	8	8	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25
环丙沙星	≥4	≥4	≥4	≥4	1	1	1	1
哌拉西林-他唑巴坦	≥128/64	≥128/64	≥128/64	≥128/64	8/4	8/4	8/4	8/4
复方新诺明	≥16/304	≥16/304	≥16/304	≥16/304	≤1/19	≤1/19	≤1/19	≥16/304
磷霉素	≥256	≥256	16	16	16	16	16	16
替加环素	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25

2 大蜡螟毒力试验检测结果

菌株毒力检测试验中显示,8 株菌对大蜡螟的致死率均呈现出浓度依赖性。根据幼虫的生存曲线与 SPSS 结果分析,观察大蜡螟 96 h 的生存率,按照 *wzi* 分型,对菌株进行分组,8 株菌株的 LD_{80}的结果分别如下:CSKP 组 K1-KP531 和 K2-KP532 为 10^2 CFU·mL^{-1};CSKP 组 K50-KP613 为 10^5 CFU·mL^{-1};CSKP 组 K26-KP612 为 10^7 CFU·mL^{-1};CRKP 组 K64-KP051,K64-KP056,K64-KP059,K64-KP062 均为 10^6 CFU·mL^{-1},每株菌的 96 h 的 LD_{80}作为大蜡螟体内抗菌药物治疗的接种菌液浓度。*wzi* 结果结合毒力试验结果,K1-KP531 和 K2-KP532 为高毒力肺炎克雷伯菌。

3 大蜡螟体内抗菌药物疗效

大蜡螟幼虫在接受磷霉素单用、亚胺培南单用以及两药联用 3 种抗菌药物治疗方式后,96 h 生存率结果显示:CSKP 组 K1-KP531,K2-KP532,K26-KP612,K50-KP613 这 4 株菌的亚胺培南单用、亚胺培南与磷霉素两药联用的疗效优于磷霉素,亚胺培南与两药联用比较疗效无显著差异。CRKP 组 K64-KP051 和 K64-KP056 联合用药及单用药均无明显疗效;K64-KP059,K64-KP062 两药联用治疗后生存率明显高于单药治疗时的生存率。具体结果见图 1。

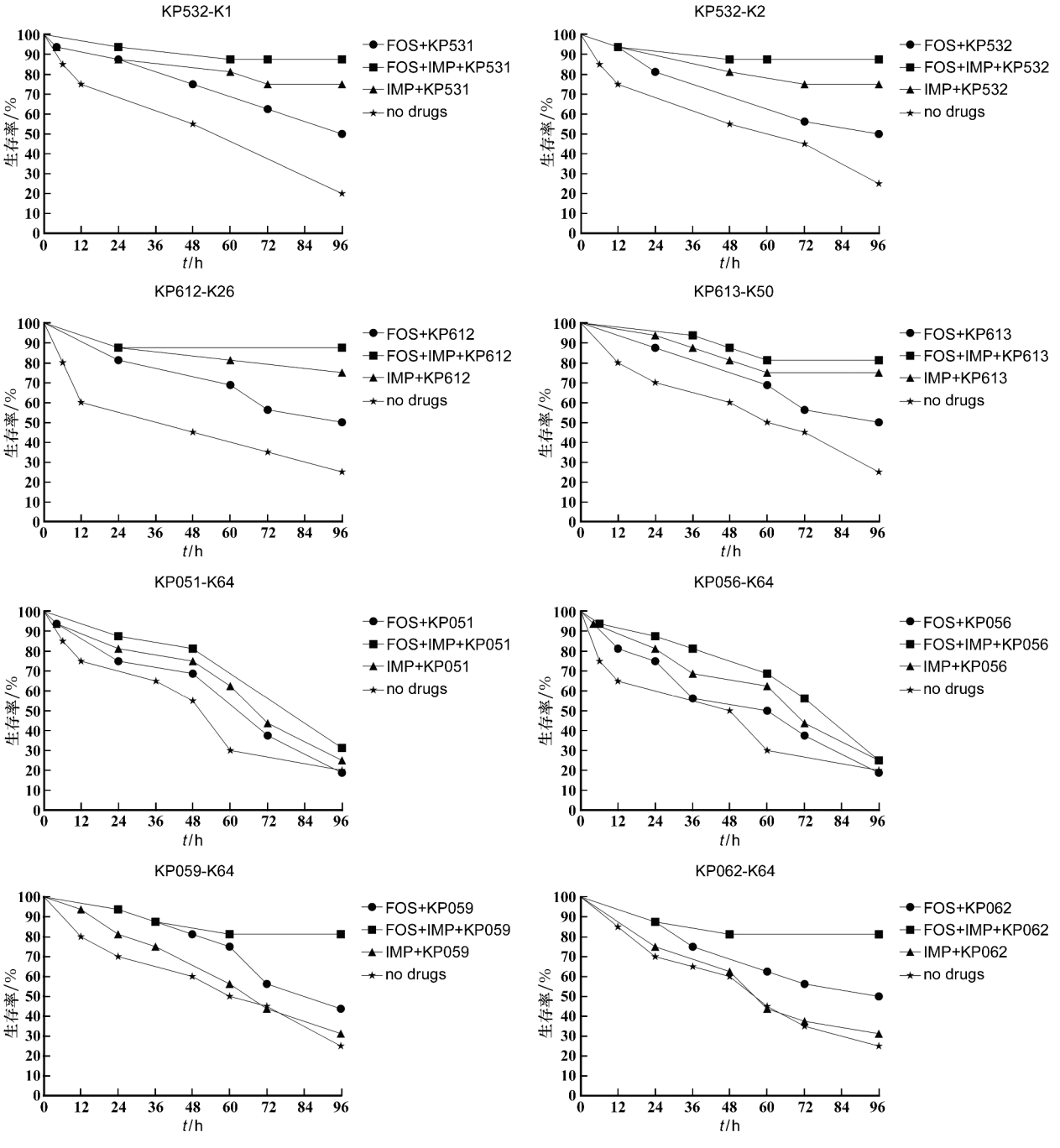


图 1 8 株菌的体内药敏生存曲线

4 大蜡螟血淋巴细菌负荷情况

CSKP 组 K1-KP531，K2-KP532，K50-KP613，K26-KP612 中亚胺培南单用、两药联用、磷霉素单用 3 种给药方式结果显示：两药连用优于亚胺培南单用或磷霉素单用，磷霉素的细菌负荷量显著高于其他两者，有显著性差异。高毒力的 K1-KP531，K2-KP532 这 3 种给药方式的血淋巴细菌负荷量清除率显著低于 K50-KP613 和 K26-KP612。CRKP 组 K64-KP051 和 K64-KP056 血淋巴细菌负荷量一直处于持续增高的状态；CRKP 组亚胺培南的 MIC 值为 ≤8 mg·L^{-1}，磷霉素 ≤32 mg·L^{-1} 的 K64-KP059 和 K64-KP062 在 96 h 内两药联用的细菌负荷显著低于单用，具体结果见图 2。

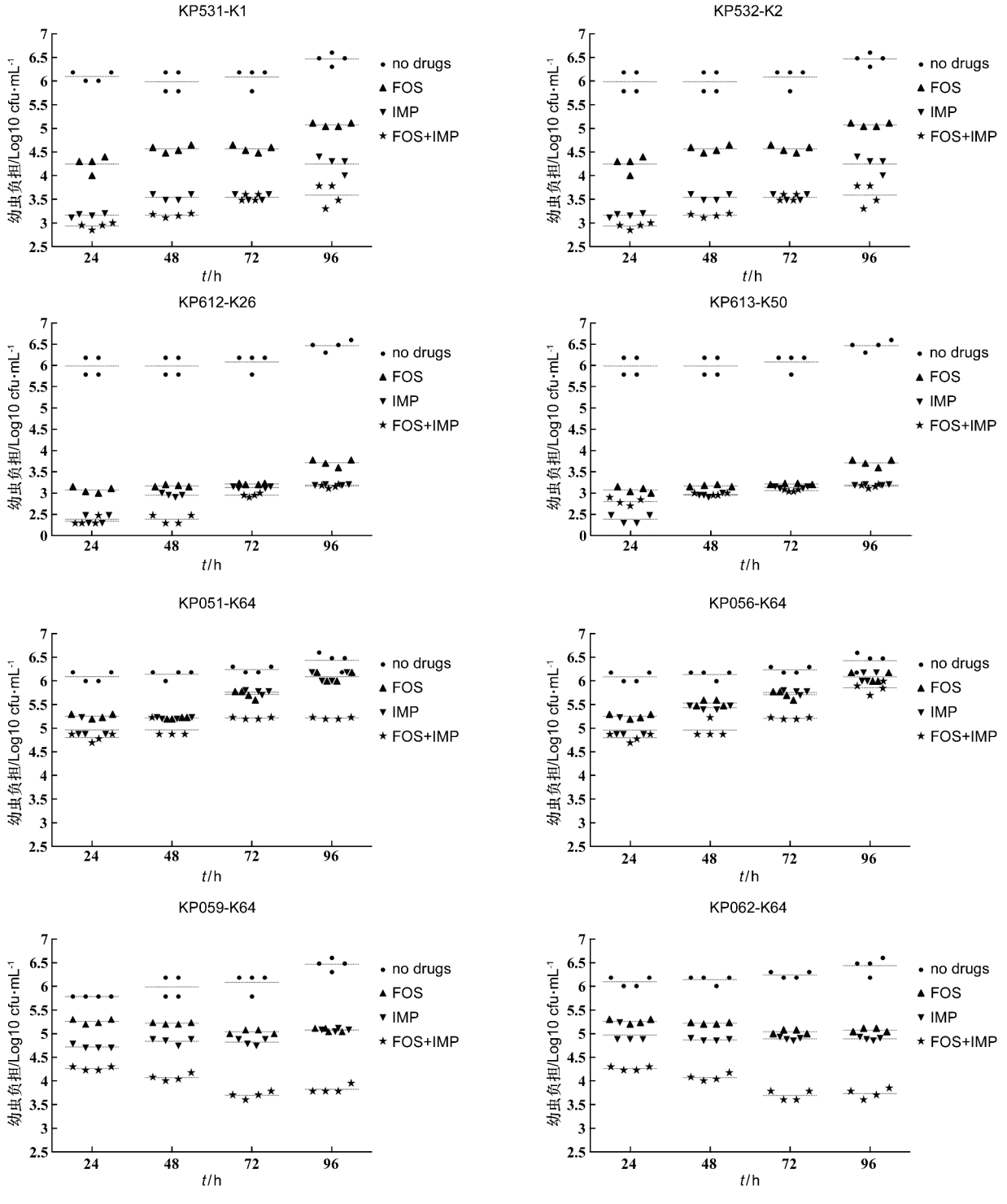


图 2　8 株菌的血淋巴散点图

讨　　论

肺炎克雷伯菌导致的血液感染是住院患者细菌性败血症的最常见病原菌，CRKP 导致的重症感染和 HvKP 迁徙性的血流感染的治疗均越来越棘手。CRKP 呈现泛耐药，可用的药物极少，耐药突变率高；HvKP 感染治疗周期长，感染灶不易清除且复发率高。抗生素的联合治疗是目前临床常见的治疗方式，目前临床大部分的联合药敏的用药经验基于体外的药敏试验，对联合用药的体内疗效的数据累积

较少。本研究采用前期建立的大蜡螟感染模型,对亚胺培南联合磷霉素体内的抗菌活性进行研究发现:CRKP 组中当亚胺培南的 MIC 值为≤8 mg·L^{-1},磷霉素≤32 mg·L^{-1}时亚胺培南联合磷霉素的疗效显著高于药物的单用。CSKP 组两药联合疗效优于单药,高毒力菌株的联合用药的清除率显著低于低毒力菌株。

荚膜 *wzi* 测序是近年来用于肺炎克雷伯菌荚膜血清型分型的重要检测方法,采用一对通用引物的检测就可以对肺炎克雷伯菌 150 多种荚膜血清型进行分型,简单快捷高效[11]。本研究中分离自血培养的 8 株肺炎克雷伯菌,采用 *wzi* 测序发现 CRKP 均为 K64 型,Yang 等[12]报道,2017 年之前我国的 CRKP 常见的血清型包括 K47 及 K64,2017 年之后 K64 型占我国 CRKP 70% 以上。本研究中 4 株 CRKP 均为 K64 型,与目前国内报道[12]一致。CSKP 组中 K1-KP531 和 K2-KP532 分离自血液感染合并肝脓肿的患者,K50-KP613 和 K26-KP612 为产 ESBLs 低毒力的菌株,K1 和 K2 为我国最为常见的高毒力的荚膜血清型。

大蜡螟感染模型显示:荚膜血清型为 K1-KP531 和 K2-KP532 型的 2 株 CSKP 96 h 的 LD_{80} 大致在 10^2 CFU·mL^{-1},毒力显著高于其他肺炎克雷伯菌,通过临床症状证实为高毒力肺炎克雷伯菌。Khalil 等[13]研究中显示,大部分的 CRKP 毒力相对较弱,但是近年来高毒合并高耐药的肺炎克雷伯菌检出率逐年增多[14],为耐药菌的感控及治疗带来极大挑战。本实验中蜡螟幼虫实验观察时间选择 96 h,文献报道的时间各有不同,从 24 ~ 120 h 不等[15]。由于肺炎克雷伯菌的治疗较为困难,病情极易反复,病程较长,为了模拟临床治疗情况,获得更加精确严谨的细菌毒力测定值,便于后续的联合用药实验,结合前期的实验模型经验,本次选择 96 h 作为观察时间。

磷霉素是广谱杀菌剂,杀菌机制为抑制细菌细胞壁的肽聚糖生物合成。磷霉素应用不仅局限于尿路感染,还可用于治疗血液感染、重症肺炎等重症感染。在欧美国家,肺炎克雷伯菌的耐药率在 20% 以下,但国内的耐药率大致在 50%[16]。指南推荐当 CRE 对磷霉素 MIC≤32 mg·L^{-1}时,可以考虑使用包含磷霉素的联合治疗方案。面对 CRKP,临床用药指南上一般推荐碳青霉烯类药物的两药或多药联合运用,以达到更佳疗效。

本研究在前期大蜡螟体内感染模型建立基础上,进一步进行磷霉素、亚胺培南单药及两药联合的蜡螟体内药敏实验。注射 96 h 的 LD_{80} 对应的浓度后,参照国内文献中注射菌液后不立即进行药物治疗的研究方案,选择在菌液注射后 2 h 进行药物注射治疗。CRKP 组 4 株菌的联合用药效果不一致,K64-KP051 和 K64-KP056 的亚胺培南的 MIC 值为 8 mg·L^{-1},磷霉素≤32 mg·L^{-1},两药连用的疗效显著高于药物的单用。K64-KP059 和 K64-KP062 为泛耐药菌株,磷霉素≥256 mg·L^{-1}、亚胺培南≥16 mg·L^{-1},联合用药无显著效果。CSKP 组 K1-KP531,K2-KP532,K50-KP613,K26-KP612 两药联用疗效优于单用,两药联用给难治性的高毒力肺炎克雷伯菌感染提供方向[16]。

大蜡螟体内药敏试验结果以虫体的死亡数量进行疗效判断,无法排除幼虫因其他原因死亡的可能性,血淋巴负荷实验将淋巴液进行培养,更加精确地对用药的疗效进行判定[17]。血淋巴实验显示,联合用药相比于单药可明显减少感染蜡螟幼虫体内的细菌负荷量。CRKP 组血淋巴结果与生存曲线的结果一致,CSKP 组高毒力肺炎克雷伯菌 3 种给药方式的血淋巴细菌负荷量清除率显著低于非高毒力菌株。

磷霉素联合亚胺培南存在相加协同作用,在治疗敏感型肺炎克雷伯菌(尤其是 K1,K2 血清型高毒力菌株)方面有极佳的效果,加快了临床治疗高毒力肺炎克雷伯菌感染的进程,减低了肺炎克雷伯菌感染并发症的风险;在治疗 K64 血清型的耐药肺炎克雷伯菌时,磷霉素与亚胺培南联合在一定程度上增强了抑菌效果,为临床治疗耐药型肺炎克雷伯菌提供了新的思路。

[参 考 文 献]

[1] ZHANG XT, OUYANG JL, HE WW, *et al*. Co-occurrence of rapid gene gain and loss in an interhospital outbreak of carbapenem-resistant hypervirulent ST11-K64 *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 579618.

[2] YU W, SHEN P, BAO Z, *et al*. *In vitro* antibacterial activity of fosfomycin combined with other antimicrobials against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2017, 50(2): 237 - 241.

[3] FALCONE M, BASSETTI M, TISEO G, *et al*. Time to appropriate antibiotic therapy is a predictor of outcome in patients with bloodstream infection caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Crit Care*, 2020, 24(1): 29.

[4] DOI Y. Treatment options for carbapenem-resistant gram-negative bacterial infections[J]. *Clin Infect Dis*, 2019, 69(Suppl 7): S565 - S575.

[5] DESBOIS AP, COOTE PJ. Utility of greater wax moth larva (galleria mellonella) for evaluating the toxicity and efficacy of new

antimicrobial agents[J]. *Adv Appl Microbiol*, 2012,78:25 - 53.
[6] LI G, SHI J, ZHAO Y, *et al*. Identification of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* isolates using the string test in combination with *Galleria mellonella* infectivity[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2020, 39(9): 1673 - 1679.
[7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Thirty informational supplement[S]. 2020.
[8] 范沁榕, 沈兰凤, 胡仁静. wzi 测序在粪便携带肺炎克雷伯菌的血清型检测中的应用[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(11): 2844 - 2850.
[9] 汤怡颖, 胡仁静. 大蜡螟感染模型在肺炎克雷伯菌毒力研究中的应用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2018, 38(8): 611 - 615.
[10] YANG H, CHEN G, HU L, *et al*. Enhanced efficacy of imipenem-colistin combination therapy against multiple-drug-resistant *Enterobacter cloacae*: *in vitro* activity and a *Galleria mellonella* model[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2018, 51(1): 70 - 75.
[11] BELLICH B, RAVENSCROFT N, RIZZO R, *et al*. Structure of the capsular polysaccharide of the KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strain KK207-2 and assignment of the glycosyltransferases functions[J]. *Int J Biol Macromol*,2019,130:536 - 544.
[12] YANG Q, JIA X, ZHOU M, *et al*. Emergence of ST11-K47 and ST11-K64 hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in bacterial liver abscesses from China: a molecular, biological, and epidemiological study[J]. *Emerg Microbes Infect*,2020, 9(1): 320 - 331.
[13] KHALIL MAF, HAGER R, ABD-EL REHEEM F, *et al*. A study of the virulence traits of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in a *Galleria mellonella* model[J]. *Microb Drug Resist*, 2019, 25(7): 1063 - 1071.
[14] ZHANG YW, JIN LY, OUYANG PW, *et al*. Evolution of hypervirulence in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China: a multicentre, molecular epidemiological analysis[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2020, 75(2): 327 - 336.
[15] ROMERA D, AGUILERA-CORREA JJ, GARCÍA-COCA M, *et al*. The *Galleria mellonella* infection model as a system to investigate the virulence of *Candida auris* strains[J]. *Pathog Dis*, 2020, 78(9): ftaa067.
[16] YAO HJ, LIU JX, JIANG XY, *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.
[17] PEREIRA T, DE BARROS P, FUGISAKI L, *et al*. Recent advances in the use of *Galleria mellonella* model to study immune responses against human pathogens[J]. *J Fungi*, 2018, 4(4): 128.

编辑:杨青/接受日期:2021 - 08 - 10