

mCIM 和碳青霉烯酶抑制剂增强试验检测 CRE 和 CRPA 产酶表型的方法学评价

尚佳文¹, 徐文娜², 许南松², 刘晓敏², 曾秋耀², 郑 炘² (1. 广东医科大学医学技术学院, 广东东莞 523808; 2. 中山大学肿瘤防治中心检验科, 华南肿瘤学国家重点实验室肿瘤医学协同创新中心, 广州 510060)

摘要: **目的** 综合评估改良碳青霉烯酶灭活试验 (mCIM) 和碳青霉烯酶抑制剂增强试验对碳青霉烯酶检测和分型能力。**方法** 采用 mCIM 和碳青霉烯酶抑制剂增强试验检测中山大学肿瘤防治中心 2019 ~ 2022 年临床分离并保存的 47 株耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌 (carbapenem-resistant *Enterobacterales*, CRE) 和 42 株耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌 (carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, CRPA) 的产酶表型, 胶体金法对检测结果进行验证比对, 通过卡方检验进行统计分析, 并从多角度综合评价。**结果** mCIM 检测 CRE 和 CRPA 的阳性率分别为 70.2% 和 35.7%, 碳青霉烯酶不确定占比为 25.5% 和 11.9%。增强试验检测 47 株 CRE: 44.7% 产 B 类金属 β 内酰胺酶, 17.0% 产 A 类碳青霉烯酶, 不产 A 或 B 类碳青霉烯酶的菌株占 38.3%; 增强试验检测 42 株 CRPA: 2.4% 产 B 类金属 β 内酰胺酶, 90.4% 产 A 类碳青霉烯酶, 同时产 A 类碳青霉烯酶和 B 类金属 β -内酰胺酶的菌株占 4.8%, 不产 A 或 B 类碳青霉烯酶的菌株占 2.4%。两种方法检测 CRE 差异有统计学意义 ($\chi^2=17.803$, $P=0.01$), 检测 CRPA 差异无统计学意义 ($\chi^2=4.632$, $P=0.592$)。胶体金法验证: 产碳青霉烯酶的阳性符合率为 84.6%, 产丝氨酸酶的阳性符合率为 80%, 产金属酶的阳性符合率为 100%。**结论** 检测 CRE 两种方法均适用且差异不大, CRPA 更推荐碳青霉烯酶抑制剂增强试验, 胶体金值得推广, 临床实验室应根据实际条件选择检测方法。

关键词: 肠杆菌目; 铜绿假单胞菌; 改良碳青霉烯酶灭活试验; 碳青霉烯酶抑制剂增强试验; 胶体金法
中图分类号: R446.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 03-165-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.03.030

Methodological Evaluation of mCIM and Carbapenemase Inhibitor-enhancing Assays to Detect CRE and CRPA Enzyme Producing Phenotypes

SHANG Jia-wen¹, XU Wen-na², XU Nan-song², LIU Xiao-min², ZENG Qiu-yao², ZHENG Xin²

(1. College of Medical Technology, Guangdong Medical University, Guangdong Dongguan 523808, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Sun Yat-sen University Cancer Center, State Key Laboratory of Oncology in South China, Collaborative Innovation Center of Cancer Medicine, Guangzhou 510060, China)

Abstract: **Objective** To comprehensively evaluate the ability of modified carbapenemase inactivation test (mCIM) and carbapenemase inhibitor enhancement test for carbapenemase detection and typing. **Methods** mCIM and carbapenemase inhibitor enhancement test were used to detect 47 strains of carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) and 42 strains of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (CRPA), which isolated and stored in Sun Yat-sen University Cancer Center from 2019 to 2022, the detection results were verified by colloidal gold method, statistical analysis was performed by chi-square test, and comprehensive evaluation was performed from multiple angles. **Results** The positive rates of CRE and CRPA detected by mCIM were 70.2% and 35.7%, and the proportion of carbapenemase uncertainty was 25.5% and 11.9%. The results of enhanced test showed that 44.7% of the CRE strains produced class B metallo- β -lactamases, 17.0% produced class A carbapenemases, and 38.3% did not produce class A or B carbapenemases. The results of enhanced test showed that 2.4% of the CRPA strains produced class B metallo- β -lactamases, 90.4% produced class A carbapenemases, 4.8% produced both class A carbapenemases and class B metallo- β -lactamases, and 2.4% did not produce class A or B carbapenemases. There was significant difference in CRE detection between the two methods ($\chi^2=17.803$, $P=0.01$), but no significant difference in CRPA detection between the two methods ($\chi^2=4.632$, $P=0.592$). The results were verified by colloidal gold method: the positive coincidence rate of carbapenemase production was 84.6%, the positive coincidence rate of serine enzyme production was 80%, and the positive coincidence rate of metalloenzyme production was 100%. **Conclusion** The two methods of CRE detection were applicable and there was no

作者简介: 尚佳文 (2000-), 女, 硕士, 研究方向: 医学检验技术。

通讯作者: 郑炘 (1984-), 男, 硕士, 副主任技师, 研究方向: 肠杆菌目细菌碳青霉烯耐药机制研究, E-mail:jiawenzx_2022@163.com。

significant difference. Carbapenemase inhibitor enhanced test is more recommended for CRPA detection, colloidal gold is worth promoting, clinical laboratories should choose the detection methods according to the actual conditions.

Keywords: enterobacterales; *Pseudomonas aeruginosa*; mCIM; carbapenemase inhibitor enhancement test; colloidal gold method

细菌耐药一直是全球卫生健康领域面临的重大挑战,在目前临床医治G⁻菌感染的药物选择中,碳青霉烯类抗生素仍是最有效的抗生素之一。根据CHINET中国细菌耐药监测网的数据分析,亚胺培南和美罗培南在普通G⁻菌中的抗菌效果相近,但二者均属广谱抗生素,滥用极易造成细菌耐药。近年来,由于广谱抗生素的广泛使用,导致了耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌(carbapenem-resistant Enterobacterales, CRE)和耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌(carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, CRPA)的检出率呈逐年上升趋势,根据吴义娟等^[1]人于2021年的研究统计,国内外CRE检出率均逐年递增,并且CRE感染后的死亡率高达50%。

CRE与CRPA的耐药机制复杂多样,其中肠杆菌目细菌对 β -内酰胺类抗生素的主要耐药机制是产超广谱 β -内酰胺酶和碳青霉烯酶^[2],而铜绿假单胞菌的耐药机制更加复杂,主要表现在生物膜形成、外排系统过度表达、产碳青霉烯酶等方面^[3]。目前用于治疗感染的新的抗生素:头孢他啶/阿维巴坦(CZA)对产KPC和OXA-48型丝氨酸碳青霉烯酶的菌株具有较高的抑菌作用,而对产生B类金属 β -内酰胺酶的菌株则没有抑菌作用^[4]。此外,目前正处于研究阶段的亚胺培南/雷利巴坦(imipenem/relebactam)^[5]和美罗培南/韦博巴坦(meropenem/vaborbactam)^[6]对产金属 β -内酰胺酶以及OXA-48型碳青霉烯酶的菌株无抗菌活性,但对产KPC型碳青霉烯酶的菌株有较强的抗菌活性。实验室准确、迅速地检测和分类耐碳青霉烯菌株中的碳青霉烯酶是治疗过程中非常关键的一步^[7]。本研究通过对实验室常用的mCIM和增强试验进行多方位比较,并用新型胶体金法进行结果比对,以期得出更适用于临床实验室广泛使用的检测方法,以供参考。

1 材料和方法

1.1 菌株来源 本研究菌株均来自中山大学肿瘤防治中心2019~2022年临床分离的47株CRE和42株CRPA,其中CRE菌株包括22株大肠埃希菌、13株肺炎克雷伯菌、4株阴沟肠杆菌、3株产气肠杆菌、3株产酸克雷伯菌和2株阴沟肠杆菌复合群。全部菌株均用全自动微生物分析仪进行鉴定及药物敏感性测试。所有菌株均采用干燥纸片法保存并存放于-80℃冰箱保存备用。阴性对照所用的大肠埃希菌ATCC25922,铜绿假单胞菌ATCC27853标准

菌株来自国家卫生健康委员会临床检验中心。

1.2 仪器与试剂 VITEK2-compact全自动微生物分析仪(法国梅里埃生物公司);1 μ l和10 μ l定量接种环(标普生物);亚胺培南和美罗培南(10 μ g/片)药敏纸片(英国OXOID公司);血平板、MH培养液、肉汤培养液(TSB)(广州市迪景微生物科技有限公司);APB-EDTA缓冲液(上海原科实业发展有限公司);VIM, KPC, NDM, OXA-23, IMP, OXA-48胶体金试剂(北京金山川科技发展有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 纸片扩散法复核:按类别分为CRE和CRPA两组分批次进行检测,复苏保存的菌株经纸片扩散法(K-B法)复核CRE和CRPA耐药情况,K-B法试验标准和结果判读标准根据2020版CLSI M100执行。

1.3.2 mCIM检测碳青霉烯酶:CRE与CRPA分别作为实验组,大肠埃希菌ATCC25922和铜绿假单胞菌ATCC27853标准菌株作阴性对照,严格按照CLSI操作标准进行,结果判读标准:抑菌圈直径6~15 mm或在16~18 mm抑菌圈内有针尖样菌落为碳青霉烯酶阳性;抑菌圈直径 ≥ 19 mm为碳青霉烯酶阴性;抑菌圈直径16~18 mm或抑菌圈直径 ≥ 19 mm抑菌圈存在针尖样菌落为碳青霉烯酶不确定。

1.3.3 碳青霉烯酶抑制剂增强试验:检测酶型实验组和对照组同上,将0.5麦氏浊度目标菌悬液涂布于MH平板,干燥后贴4张亚胺培南纸片编号A, B, C, D。纸片A:不加任何液体(空白对照);纸片B:滴加10 μ l EDTA溶液;纸片C:滴加10 μ l 3-氨基苯硼酸(APB)溶液;纸片D:滴加APB和EDTA溶液各10 μ l。35℃过夜孵育后量取结果。结果判读标准:纸片B抑菌圈直径与A相差 ≥ 5 mm,则该菌株产B类碳青霉烯酶;纸片C抑菌圈直径与A相差 ≥ 5 mm,则该菌株产A类碳青霉烯酶;如仅纸片D抑菌圈直径与A相差 ≥ 5 mm,则该菌株同时产A类碳青霉烯酶和B类金属 β 内酰胺酶;如纸片B, C, D抑菌圈直径与A相差均 < 5 mm,则该菌不产A或B类碳青霉烯酶。

1.3.4 胶体金法验证结果:实验组为CRE,对照组为大肠埃希菌ATCC25922标准菌株。参照说明书步骤进行操作并按说明书结果标准进行判读。

1.4 统计学分析 mCIM和碳青霉烯酶抑制剂增强

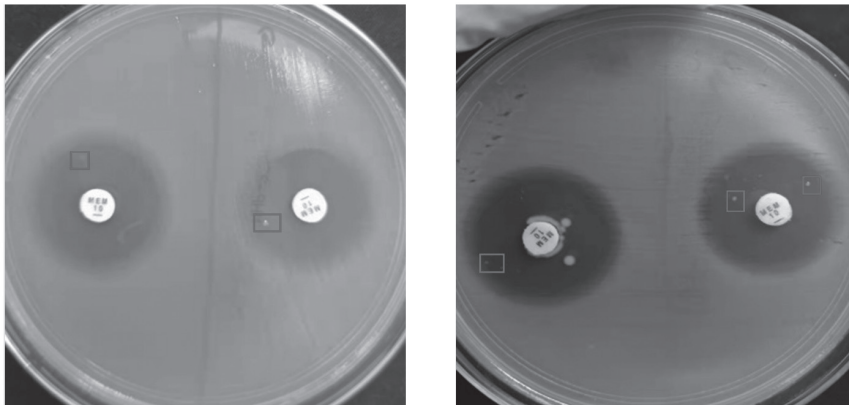
试验的结果资料及胶体金法分别对两种方法进行验证的结果资料均属于自身配对设计方案,为比较两种测定方法结果是否有差别,应采用配对 χ^2 检验。利用 SPSS 26.0 统计分析软件进行 Pearson χ^2 检验分析,检验水准 $\alpha=0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 待测菌对碳青霉烯类耐药情况 K-B 法复核结

果与 VITEK2-compact 所用的 MIC 法基本一致,菌株均可入组。

2.2 mCIM 检测碳青霉烯酶结果 见表 1, 检测部分结果见图 1。根据 CLSI 标准判读,得到 mCIM 检测 CRE 中的碳青霉烯酶阳性率为 70.2%, 不确定为 25.5%, 阴性率为 4.3%; 检测 CRPA 得碳青霉烯酶的阳性率为 35.7%, 阴性率为 52.4%, 11.9% 不确定。



注:左图为肠杆菌目 mCIM 试验图,右图为铜绿假单胞菌 mCIM 试验图,四个结果均为 D=16 ~ 18mm 产针尖样菌落碳青霉烯酶阳性

图 1 mCIM 改良碳青霉烯酶灭活试验图

表 1 mCIM 对 47 株 CRE 和 42 株 CRPA 的检测结果 [n(%)]

菌株	n	碳青霉烯酶阳性		碳青霉烯酶不确定		碳青霉烯酶阴性
		6 ~ 15mm	16 ~ 18mm (针尖菌落)	16 ~ 18mm	≥ 19mm (针尖菌落)	≥ 19mm
CRE	47	26 (55.3)	7 (14.9)	11 (23.4)	1 (2.1)	2 (4.3)
CRPA	42	0	15 (35.7)	1 (2.4)	4 (9.5)	22 (52.4)

2.3 增强试验检测碳青霉烯酶结果 根据增强试验结果判读标准,47 株 CRE 中,产 B 类金属 β -内酰胺酶占 44.7%, 不产 A 类或 B 类碳青霉烯酶占 38.3%; 42 株 CRPA 中,产 A 类碳青霉烯酶占 90.4%, 同时产 A 类碳青霉烯酶和 B 类金属 β -内酰胺酶占 4.8%, 不产 A 类或 B 类碳青霉烯酶占 2.4%。

2.4 mCIM 与碳青霉烯酶抑制剂增强试验结果比对 配对设计 χ^2 检验比较 47 株 CRE mCIM 与增强试验结果得到 $P < 0.05$, 按 $\alpha=0.05$ 水准,差异具有统计学意义 ($\chi^2=17.803$, $P=0.01$), 即两种方法结果存在差异,且 mCIM 法检出率高于增强试验,两种方法检测阳性符合率为 53.2%; 比较 42 株 CRPA mCIM 与增强试验结果,得到 $P > 0.05$, 按 $\alpha=0.05$ 水准,差异无统计学意义 ($\chi^2=4.632$, $P=0.592$), 即两种方法结果无差异,两种方法检测阳性符合率为 35.7%。

2.5 胶体金法检测 47 株 CRE 进行验证 部分结果见图 2, 数据见表 2。检测 47 株 CRE 得到产 NDM 型 20 株 (42.6%), 产 KPC 型 4 株 (8.5%), 产 IMP 型 1 株 (2.1%), 产 OXA-48 型 1 株 (2.1%), 21 株 (44.7%) 阴性。胶体金结果与 mCIM 结果进

行比对,阳性符合率为 84.6% (22/26), 与增强试验结果进行比对,产金属酶的阳性符合率为 100% (21/21), 产丝氨酸酶的阳性符合率为 80% (4/5)。

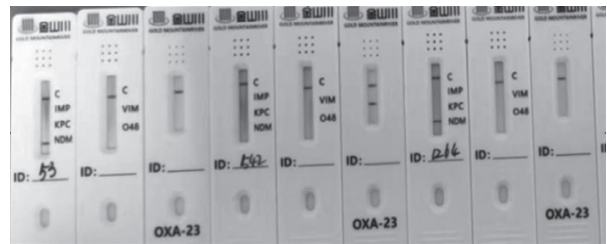


图 2 胶体金结果图

3 讨论

据 CHINET 2020 年公布的统计结果,肠杆菌目中肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类药物的平均耐药率已经上升到了 25.7%, 铜绿假单胞菌对其的平均耐药率 28.3%, 且耐药性比例均逐年增加^[8]。产碳青霉烯酶是导致肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌对碳青霉烯类药物产生耐药的主要原因^[3], 且为了加快新的抗生素在临床治疗中的推广,要求临床微生物实验室要进一步了解耐碳青霉烯类菌株是否产碳青霉烯酶及其型别,从而使用药更有针对性,故找到一种快速、准确、重复性好且价格适中的检测方法至

关重要。

表 2

CRE 的 mCIM 和增强试验与胶体金结果比对结果 [n(%)]

类 别		胶体金			总计
		金属酶 (NDM, IMP)	丝氨酸酶 (KPC, OXA-48)	阴性	
mCIM	阳性	21 (44.7)	1 (2.1)	11 (23.4)	33 (70.2)
	不确定	0	4 (8.5)	8 (17.0)	12 (25.5)
	阴性	0	0	2 (4.3)	2 (4.3)
	总计	21 (44.7)	5 (10.6)	21 (44.7)	47 (100)
增强试验	B 类碳青霉烯酶	21 (44.7)	0	0	21 (44.7)
	A 类碳青霉烯酶	0	4 (8.5)	4 (8.5)	8 (17.0)
	不产 A 或 B 类碳青霉烯酶	0	1 (2.1)	17 (36.2)	18 (38.3)
	总计	21 (44.7)	5 (10.6)	21 (44.7)	47 (100)

目前,实验室多采用 mCIM 法或结合 eCIM 法对菌株产酶及其表型进行常规测定,但 mCIM 不能区分酶型,eCIM 需额外试剂,也存在不能区分具体型别等弊端,且两种方法所需温育时间较长,不利于早期产酶的诊断^[9]。本次研究发现,mCIM 对于 CRPA 的检出率较低(35.7%),如谢国艳等^[10]人报道 mCIM 对产金属 β -内酰胺酶的铜绿假单胞菌的阳性检出率仅为 11.9%,李军等^[11]人发现 mCIM 检测碳青霉烯酶基因阳性的铜绿假单胞菌得到的实验结果均为阴性,这是因为铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素常表现为多种耐药机制共存的形式^[12],说明单一 mCIM 法不适用于 CRPA 产酶的检出。同时在本次 mCIM 法判定过程中发现,CRPA 的抑菌圈边缘内侧有均匀致密的针尖样物质,见图 3。该物质的存在影响抑菌圈直径量取,导致主观误差增大,而 mCIM 法测 CRE 无该物质干扰,综上所述,推荐用 mCIM 法检测 CRE,不建议用该方法检测 CRPA。

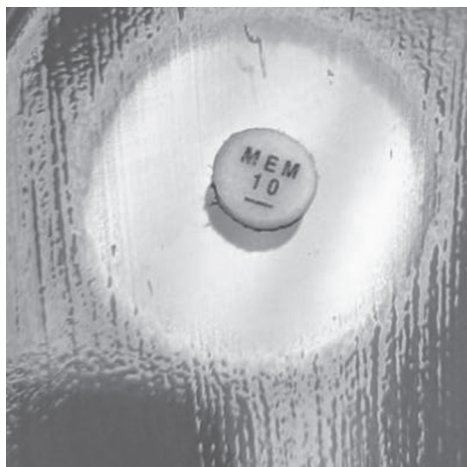


图 3 mCIM 测 CRPA 中出现的边缘致密针尖样物

增强试验利用酶抑制剂硼酸(APB)抑制 KPC 酶活性,EDTA 抑制金属酶活性原理,从而区分金属酶和丝氨酸酶,但增强试验不能检测 D 类 OXA-

48 型碳青霉烯酶且 APB 对高产 AmpC 酶合并膜孔蛋白缺失的菌株假阳性^[13]。临床微生物实验室可根据碳青霉烯酶不同型别特征,开展联合药敏试验以供临床制定更为精准的治疗方案,如金属 β -内酰胺酶不能水解氨曲南,阿维巴坦、韦博巴坦能抑制产 KPC 型碳青霉烯酶的菌株活性等^[14]。此外,不同酶抑制剂的抑酶活性也不同,如阿维巴坦对三乙炔二胺类的抑酶效果可逆,且对 A、C、D 类 β -内酰胺酶有抑菌作用,对 B 类 β -内酰胺酶无抑菌作用^[15],提示临床可以根据不同酶抑制剂的不同抑酶活性建立针对性更强的治疗方案。

胶体金法采用的酶免疫层析技术被定义为检测碳青霉烯酶的金标法^[9]。但因 CRPA 耐药机制复杂,常出现多种耐药机制共存现象,TENOVER 等^[12]人的研究表明 CRPA 除产碳青霉烯酶、高表达 OprD 基因外,还存在其他例如 AmpC 酶生产过剩和 OprD 外膜蛋白缺乏活力等耐药机制,并且随着碳青霉烯类药物进一步的选择压力,其他耐药机制也可能出现,故本研究未对 CRPA 进行胶体金验证实验。本研究中 47 株 CRE 中 mCIM,增强试验与胶体金比对结果说明三种方法均适用,但要警惕胶体金法若待测基因和目标基因不符则会产生假阴性结果。

综合来看,对于 CRE 菌株三种方法各有优缺,mCIM 法所需材料价格相对低廉,但所需温育时间较长,操作较为复杂,培养孵育共需要 28h,时间成本高,若一菌株同时产丝氨酸型碳青霉烯酶和金属 β -内酰胺酶会导致结果假阴性;增强试验需要额外购买 EDTA 和 APB 碳青霉烯酶抑制剂,操作较 mCIM 法简单,但仍需要过培养,且不能检测 D 类 OXA-48 型碳青霉烯酶;胶体金法虽然具有简便、快速、精确、结果易读的特点,但试剂价格昂贵,临床选取检测方法时应结合实际,如危重患者需要快速得到 CRE 产酶表型时,推荐用胶

体金,方便临床快速确定感染治疗方案进行救治。对于CRPA,虽然CLSI中说明mCIM方法适用于CRPA,但此次研究发现,量取结果时内缘均匀致密的针尖样物质的存在会导致结果出现偏差,增强试验阳性检出率较高,更推荐使用。

综上所述,要控制多重耐药的检出,需对碳青霉烯等广谱抗生素施行更严格的用药制度,而临床微生物实验室需不断探讨、比较,采用高效优质的检验方法,为临床提供快、精、准的用药依据,让危重感染患者更快得到有效治疗。

参考文献:

- [1] 吴义娟,李庆淑,秦贤,等.耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌主动筛查的研究进展[J].青岛大学学报(医学版),2021,57(5):787-790.
WU Yijuan, LI Qingshu, QIN Xian, et al. Advances in active screening of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* bacteria [J]. Journal of Qingdao University(Medical Sciences), 2021, 57(5): 787-790.
- [2] NOSTER J, THELEN P, HAMPRECHT A. Detection of multidrug-resistant enterobacterales-from ESBLs to carbapenemases[J]. Antibiotics (Basel) 2021, 10(9): 1140.
- [3] 孙磊,张敏敏,冀凯,等.革兰阴性杆菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制及研究进展[J].中国医药,2021,16(9):1415-1419.
SUN Lei, ZHANG Minmin, JI Kai, et al. Resistance mechanism and research progress of gram-negative bacilli to carbapenem antimicrobials [J]. China Medicine, 2021, 16(9): 1415-1419.
- [4] YIN Dandan, WU Shi, YANG Yang, et al. Results from the China Antimicrobial Surveillance Network (CHINET) in 2017 of the in vitro activities of ceftazidime-avibactam and ceftolozane-tazobactam against clinical isolates of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2019, 63(4): e02431-18.
- [5] TOOKE C L, HINCHLIFFE P, LANG P A, et al. Molecular basis of class A β -Lactamase inhibition by relebactam[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2019, 63(10): e00564-19.
- [6] NOVELLI A, DEL GIACOMO P, ROSSOLINI G M, et al. Meropenem/vaborbactam: a next generation β -lactam β -lactamase inhibitor combination[J]. Expert Review of Anti-Infective Therapy, 2020, 18(7): 643-655.
- [7] SHEU C C, CHANG Yating, LIN Shangyi, et al. Infections caused by carbapenem-resistant enterobacteriaceae: an update on therapeutic options[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 80.
- [8] 胡付品,郭燕,朱德妹,等.2018年CHINET中国细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2020,20(1):1-10.
HU Fupin, GUO Yan, ZHU Demei, et al. CHINET surveillance of bacterial resistance in China:2018 report [J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2020, 20(1): 1-10.
- [9] 喻华,徐雪松,李敏,等.肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识(第二版)[J].中国感染与化疗杂志,2022,22(4):463-474.
YU Hua, XU Xuesong, LI Min, et al. Consensus statement on laboratory detection and clinical report of carbapenemases among *Enterobacterales*(second edition) [J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2022,22(4):463-474.
- [10] 谢国艳,蔡枫,梁斌,等.mCIM法与PAE-MHT法检测铜绿假单胞菌产金属 β -内酰胺酶的性能评价[J].现代检验医学杂志,2020,35(1):57-59,64.
XIE Guoyan, CAI Feng, LIANG Bin, et al. Evaluation of modified carbapenem inactivation method and pseudomonas aeruginosa-moeified hodge test for detection of metallo-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(1): 57-59, 64.
- [11] 李军,邓凌峰,陶晓燕,等.mCIM试验检测临床产碳青霉烯酶革兰阴性杆菌的应用价值[J].中国微生物学杂志,2020,32(7):827-832.
LI Jun, DENG Lingfeng, TAO Xiaoyan, et al. Clinical evaluation of modified carbapenem inactivation method for detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli[J]. Chinese Journal of Microecology, 2020, 32(7): 827-832.
- [12] TENOVER F C, NICOLAU D P, GILL C M. Carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* -an emerging challenge[J]. Emerging Microbes & Infections, 2022, 11(1): 811-814.
- [13] 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.
Expert Consensus Compilation Group on Diagnosis, Treatment and Prevention of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* Bacterial Infections in China, Infectious Diseases Committee of Chinese Medical Education Association, Bacterial Infection and Drug Resistance Control Committee of Chinese Medical Association. Expert consensus on diagnosis, treatment and prevention of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* bacterial infections in China[J]. National Medical Journal of China, 2021, 101(36): 2850-2860.
- [14] ZHANG Wenxia, GUO Yan, YANG Yang, et al. Study of in vitro synergistic bactericidal activity of dual β -Lactam antibiotics against KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. Microbial Drug Resistance-Mechanisms Epidemiology and Disease, 2020, 26(3): 204-210.
- [15] 《 β -内酰胺类抗生素/ β -内酰胺酶抑制剂复方制剂临床应用专家共识》编写专家组. β -内酰胺类抗生素/ β -内酰胺酶抑制剂复方制剂临床应用专家共识(2020年版)[J].中华医学杂志,2020,100(10):738-747.
Writing Expert Group on *Clinical Application of Compound Preparations of β -Lactam Antibiotics / β -Lactamase Inhibitors*. Expert consensus on clinical application of compound preparations of β -lactam antibiotics / β -lactamase inhibitors (2020 edition) [J]. National Medical Journal of China,2020,100(10):738-747.

收稿日期:2022-11-28

修回日期:2023-02-02