

eCIM 联合 mCIM 试验对肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶分型的应用*

尹娟, 朱超望, 眭阳, 周莉靖, 江春, 王莹超[△]

(南京医科大学附属苏州医院/苏州市立医院北区检验中心, 江苏苏州 215008)

摘要:目的 应用乙二胺四乙酸改良碳青霉烯灭活法(eCIM)联合改良碳青霉烯灭活法(mCIM)检测肺炎克雷伯菌(KPN)中碳青霉烯酶的分型,并初步评估其用于分型的效能。方法 以 KPN 为研究对象,eCIM 联合 mCIM 试验分析产金属酶和丝氨酸酶碳青霉烯酶的表型,以 PCR 为金标准,评估 eCIM 联合 mCIM 试验检测碳青霉烯酶分型的准确率。结果 检测 94 株耐碳青霉烯类 KPN,其中 87 株 mCIM 试验阳性,为产碳青霉烯酶株;7 株 mCIM 阴性,为非产碳青霉烯酶株。产碳青霉烯酶菌株中 75 株 eCIM 阴性,为丝氨酸酶表型;12 株 eCIM 阳性,为金属酶表型。PCR 检测碳青霉烯酶编码基因阳性株 87 株,其中丝氨酸酶 KPC-2 基因阳性 76 株,金属酶 IMP 基因阳性 12 株,1 株同时携带 KPC-2 和 IMP 基因。 χ^2 分析两种方法检测结果的一致性,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 eCIM 联合 mCIM 试验检测 KPN 中碳青霉烯酶分型,与 PCR 结果一致,不需购买特殊试剂,操作简便,易于推广,可为临床抗感染用药及医院感染控制提供重要参考。

关键词:肺炎克雷伯菌; 乙二胺四乙酸改良碳青霉烯灭活试验; 碳青霉烯酶; 金属酶; 丝氨酸酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.21.003

中图法分类号:R372

文章编号:1673-4130(2019)21-2568-05

文献标识码:A

Application of eCIM combined with mCIM test in carbapenemase typing for *Klebsiella pneumoniae**YIN Juan, ZHU Chaowang, SUI Yang, ZHOU Lijing, JIANG Chun, WANG Yingchao[△]

(Department of Clinical Laboratory, Suzhou Hospital Affiliated to Nanjing Medical University/Suzhou State Hospital North District, Suzhou, Jiangsu 215008, China)

Abstract: Objective To detect the type of carbapenemase in *Klebsiella pneumoniae* (KPN) by using ethylenediaminetetraacetic acid modified carbapenem inactivation (eCIM) combined with modified carbapenem inactivation (mCIM) test and to preliminarily evaluate its typing ability. **Methods** The phenotypes of metalloenzymes and serinase-producing carbapenemases were analyzed by eCIM combined with mCIM in KPN. The accuracy of carbapenemase typing by eCIM combined with mCIM was evaluated by using PCR as the gold standard. **Results** A total of 94 strains of carbapenem resistant KPN were detected, 87 strains of which were mCIM-test positive, and 7 strains of mCIM negative. A total of 75 strains of eCIM negative were serine enzyme phenotype, 12 strains of eCIM positive were metal enzyme phenotype in the 87 strains. A total of 87 strains of carbapenemase coding genes were detected by PCR, 76 strains carried serinase KPC-2 gene, 12 strains carried metalloproteinase IMP gene and 1 strain carrying both KPC-2 and IMP genes. Two methods showed good consistency ($P>0.05$). **Conclusion** The detection of carbapenemase in KPN by eCIM combined with mCIM is consistent with the results of PCR. Special reagents is not required. It is easy to operate and popularize. It can provide important theoretical reference for clinical anti-infective treatment and nosocomial infection control.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*; ethylenediaminetetraacetic acid modified carbapenem inactivation; carbapenemase; metalloproteinase; serine enzyme

* 基金项目:苏州科技计划指导性资助项目(SYSD2016120);南京医科大学科技发展基金资助项目(NMUB2018215)。

作者简介:尹娟,女,主管检验师,主要从事微生物方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: wangyingchao72@163.com。

本文引用格式:尹娟,朱超望,眭阳,等. eCIM 联合 mCIM 试验对肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶分型的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40 (21): 2568-2571.

随着碳青霉烯类抗菌药物在临床上的大量使用,耐碳青霉烯类药物的革兰阴性杆菌,如肺炎克雷伯菌(KPN)、粘质沙雷菌、鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌等耐药菌的检出率逐年上升。其中产碳青霉烯酶的 KPN 在临床样本中的分离率位于前列^[1]。肠杆菌科细菌对碳青霉烯类药物耐药机制分两大类:产碳青霉烯酶和非产碳青霉烯酶,并以前者为主。按照 Ambler 分子分类方法可将碳青霉烯酶分为 A、B、D 三类。A 类和 D 类为丝氨酸酶, B 类为金属酶。A 类中的 KPC, B 类中的 NDM、VIM、IMP 和 D 类中的 OXA-48 是肠杆菌科细菌中最常见的碳青霉烯酶。碳青霉烯酶基因可通过质粒、转座子或整合子等在同种菌或不同菌种间传播,导致多种革兰阴性杆菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药,给临床治疗和医院感染控制带来极大挑战^[2-4]。因此,提高临床微生物实验室人员对耐碳青霉烯类细菌碳青霉烯酶的检出率及分型的能力,有助于控制碳青霉烯酶基因在菌种间的传播。

乙二胺四乙酸改良碳青霉烯灭活(eCIM)是 2018 年美国临床和实验室标准协会(CLSI)推荐的一种最新的可对肠杆菌科细菌碳青霉烯酶表型分型的方法^[5]。eCIM 与改良碳青霉烯灭活试验(mCIM)联合使用可区分产金属酶和丝氨酸酶碳青霉烯酶的肠杆菌科细菌。与金标法 PCR 相比,这种方法不需购买特殊试剂和仪器设备,操作简便,易于在临床微生物实验室推广,可为临床抗感染用药提供重要参考。本研究以临床微生物室分离的耐碳青霉烯类药物的 KPN 为研究对象,拟探讨在临床应用实践过程中,eCIM 联合 mCIM 试验对 KPN 耐碳青霉烯酶的检出率及分型准确率。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 9 月至 2018 年 1 月苏州市立医院住院患者临床样本分离 KPN 非重复株 684 株,经 BD Phoenix 仪进行鉴定和药敏试验,选择其中耐碳青霉烯类(亚胺培南和美罗培南)KPN 94 株作为研究对象。质控标准菌株:KPN ATCCBAA 1705(KPC 阳性,丝氨酸碳青霉烯酶产生株),KPN ATCCBAA 1706(碳青霉烯酶阴性株),KPN ATCCBAA 2146(NDM 阳性,金属酶产生株)。

1.2 仪器与试剂 全自动微生物鉴定药敏分析系统购自美国 BD 公司,型号 Phoenix 100;MALDI-TOF MS 质谱仪购自德国 Bruker 公司;金属浴购自中国苏州珀西瓦尔实验设备有限公司,型号 TZL-150-2C;低温超速离心机购自美国贝克曼库尔特公司,型号 microfuge 22R centrifuge;PCR 扩增仪购自美国 Thermo 公司,型号 ARKTIK;核酸电泳仪购自美国 Bio-

Rad 公司;凝胶成像分析系统购自中国上海天能科技有限公司,型号 5200 multi;超低温冰箱购自中国海尔公司。

哥伦比亚血平板、麦康凯平板、MH 平板购自中国郑州安图生物公司;胰蛋白胨大豆肉汤购自法国科玛嘉公司;亚胺培南和美罗培南药敏纸片购自英国 OXIOD 公司,规格 10 μ g;Taq PCR Master Mix、琼脂糖 M、TAE 缓冲液、4S Red Plus 核酸染色剂、6 $\times$ 聚蔗糖凝胶上样缓冲液 III 均购自中国上海生工生物工程股份有限公司;所有引物由中国苏州金唯智生物科技有限公司合成。

1.3 方法

1.3.1 细菌鉴定及药物敏感试验 标本分区划线接种于血平板和麦康凯平板后,根据菌落形态特征分离 KPN 单菌落,使用 BD Phoenix100 全自动微生物鉴定药敏分析系统进行菌种鉴定和药物敏感试验,结果参照 CLSI 2018 年版标准判读。收集对亚胺培南和美罗培南耐药的 KPN,菌株鉴定经 MALDI-TOF MS 质谱仪确认,亚胺培南和美罗培南药敏数据经 K-B 法确认。用含 40%甘油的 LB 液体培养基保存 KPN 于 -70 $^{\circ}$ C 超低温冰箱。

1.3.2 eCIM 联合 mCIM 对碳青霉烯酶进行分型试验 mCIM 试验:取 1.0 μ L 接种环满环刮取血琼脂平板上过夜培养纯菌落,接种于 2.0 mL 胰蛋白胨大豆肉汤中,涡旋震荡混匀 10~15 s,每管放入 1 张含 10 μ g 美罗培南的无菌纸片,确认纸片浸没于菌悬液中,35 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 4 h。孵育结束时,用生理盐水制备 0.5 麦氏浊度的大肠埃希菌 ATCC 25922 悬液;用 10.0 μ L 接种环将美罗培南纸片从胰蛋白胨大豆肉汤中取出,将纸片贴于试管内壁,轻轻按压以挤去纸片上多余水分,然后将纸片取出贴于已涂布有大肠埃希菌 ATCC 25922 的 MH 平板上。100 mm 的 MH 平板贴 4 张纸片,倒置平板,35 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 18~24 h,量取抑菌圈直径。

eCIM 试验:取第 2 支含 2.0 mL 胰蛋白胨大豆肉汤的小型离心管,管壁上标记细菌名称。加入 20.0 μ L 0.5 μ mol/L 乙二胺四乙酸溶液于 2.0 mL 胰蛋白胨大豆肉汤中,乙二胺四乙酸最终浓度为 5.0 mM,剩下步骤同 mCIM 试验。mCIM 和 eCIM 试验同步进行,mCIM 和 eCIM 试验管中的美罗培南纸片贴于同 1 块已涂布有大肠埃希菌 ATCC 25922 的 MH 平板上。

结果判读的方法如下。mCIM 试验:抑菌圈直径为 6~15 mm 或为 16~18 mm 但其内有散在菌落生长,为产碳青霉烯酶阳性菌株。抑菌圈直径 $\geq$ 19 mm,为碳青

霉烯酶阴性菌株。抑菌圈直径在 16~18 mm, 不确定是否存在碳青霉烯酶。eCIM 试验: 与 mCIM 结果相比, 美罗培南抑菌圈直径之差 ≥ 5 mm, 为金属酶阳性菌株。与 mCIM 结果相比, 美罗培南抑菌圈直径之差 < 4 mm, 为金属酶阴性菌株。当 mCIM 结果为阴性时, 不解释 eCIM 结果, 因为碳青霉烯酶检测为阴性。mCIM 阳性, eCIM 阳性, 报告为金属酶阳性。mCIM 阳性, eCIM 阴性, 报告为丝氨酸酶碳青霉烯酶检测阳性。

1.3.3 菌株 DNA 提取 金属浴裂解法提取细菌总 DNA。取临床分离保存于超低温冰箱的菌株, 室温复苏后平板划线培养于血平板, 35 ℃, 5% CO₂ 培养箱培养 16 h。挑取单个菌落加入预先分装有 1 mL 无菌蒸馏水的 1.5 mL 小型离心管中, 置于 100 ℃ 金属浴, 高温裂解 15 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 100.0 μ L 分装冻存于-20 ℃ 冰箱备用。

1.3.4 碳青霉烯酶基因 PCR 检测 PCR 法检测 5 种碳青霉烯酶基因: KPC-2、OXA-48、IMP、NDM-1、VIM。反应体系为 25.0 μ L, 包括 2 $\times$ Taq PCR Master Mix 12.5 μ L、上下游引物 (10.0 μ mol/L) 各 1.0 μ L、DNA 模板 1.0 μ L、ddH₂O 9.5 μ L。反应条件为 94 ℃ 预变性 4 min, 94 ℃ 变性 30 s, 退火 (KPC-2 59 ℃; OXA48 57 ℃; IMP 57 ℃; NDM1 60 ℃; VIM 57 ℃) 30 s, 72 ℃ 延伸 (KPC-2 1 min; OXA48 45 s; IMP 2 s; NDM1 48 s; VIM 32 s)。产物经 1 g/L 琼脂糖凝胶电泳后, 用凝胶成像系统分析。PCR 引物参照文献[6-7]设计, 见表 1。

表 1 碳青霉烯酶基因 PCR 引物序列	
引物名	引物序列(5'-3')
blaKPC-F	GCT ACA CCT AGC TCC ACC TTC
blaKPC-R	ACA GTG GTT GGT AAT CCA TGC
blaOXA-48-F	TTG GTG GCA TCG ATT ATC GG
blaOXA-48-R	GAG CAC TTC TTT TGT GAT GGC
blaIMP-F	CTA CCG CAG CAG AGT CTT TG
blaIMP-R	AAC CAG TTT TGC CTT ACC AT
blaNDM-1-F	GGG CAG TCG CTT CCA ACG GT
blaNDM-1-R	GTA GTG CTC AGT GTC GGC AT
blaVIM-F	CAG ATT GCC GAT GGT GTT TGG
blaVIM-R	AGG TGG GCC ATT CAG CCA GA

1.4 统计学处理 运用 SPSS 软件对 eCIM 联合 mCIM 及 PCR 法对碳青霉烯酶分型及检出率进行 χ^2 分析, $P>0.05$ 表示二者结果一致, 差异无统计学意义。

2 结 果

2.1 eCIM 联合 mCIM 试验检测 KPN 碳青霉烯酶分型结果 94 株试验株中, mCIM 试验阴性 7 株(碳

青霉烯酶阴性), mCIM 试验阳性 87 株, eCIM 阴性(丝氨酸酶表型) 75 株, eCIM 阳性(金属酶表型) 12 株, 见图 1、表 2。

2.2 PCR 检测 KPN 碳青霉烯酶基因结果 75 株 eCIM 阴性菌株中 PCR 检测到丝氨酸酶基因 KPC-2 阳性 75 株。12 株 eCIM 试验阳性(金属酶表型) 菌株中 PCR 检测到 IMP 基因阳性 12 株, 未检测到 NDM-1 和 VIM 基因, 其中 1 例同时检测到了 KPC-2 基因, 即同时携带丝氨酸酶和金属酶两种基因。见图 2、表 3。

表 2 eCIM 联合 mCIM 试验检测 KPN 碳青霉烯酶分型结果(n)				
样本来源	碳青霉烯酶 阴性	碳青霉烯酶 阳性	丝氨酸酶 阳性	金属酶 阳性
痰液	5	64	55	9
中段尿	1	13	11	2
创面	1	6	5	1
深静脉导管	0	2	2	0
血液	0	1	1	0
咽拭子	0	1	1	0
合计	7	87	75	12

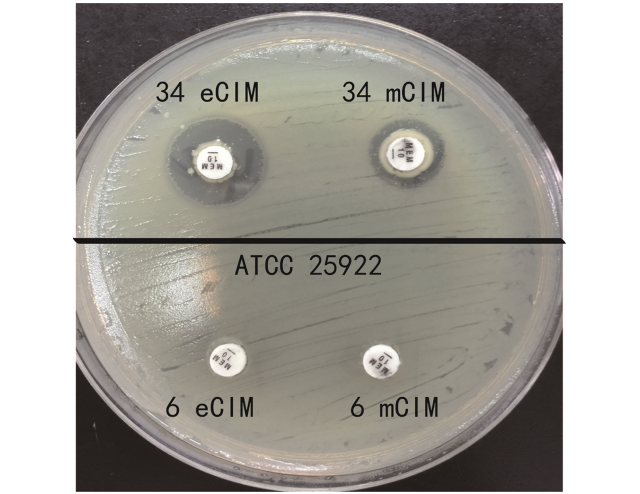


图 1 eCIM 联合 mCIM 试验碳青霉烯酶分型结果示例

表 3 KPN 碳青霉烯酶基因 PCR 检测结果			
eCIM	n	KPC-2 阳性	IMP 阳性
阴性	75	75	0
阳性	12	1*	12

注: * 表示有 1 例 IMP 阳性菌株同时检测到 KPV-2 阳性

2.3 两种方法对 KPN 碳青霉烯酶检测的一致性分析 eCIM 联合 mCIM 试验和 PCR 法对 KPN 碳青霉烯酶检出率及分型, 二者结果一致, 差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

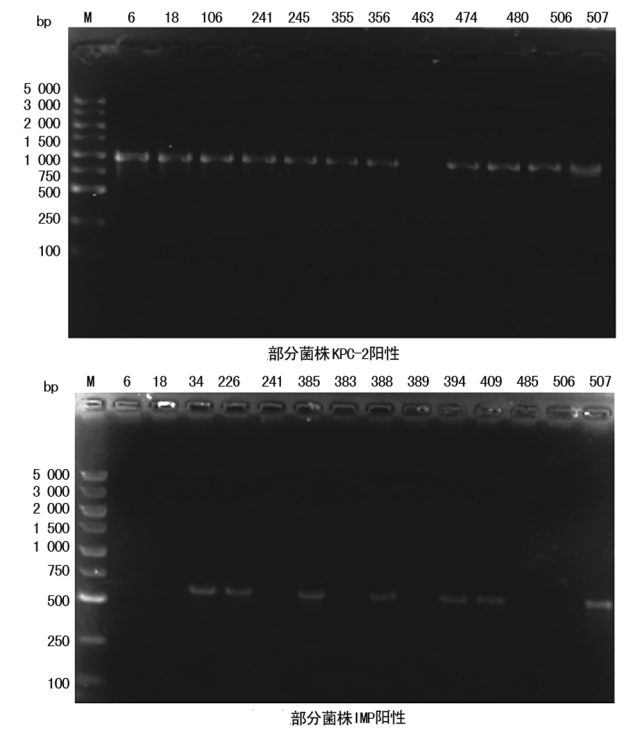


图 2 部分菌株 KPC-2 阳性和 IMP 阳性凝胶电泳图

碳青霉烯酶类型	eCIM 联合 mCIM		PCR		χ^2	P
	n	比例(%)	n	比例(%)		
丝氨酸酶	75	79.79	76	80.85	0.034	>0.05
金属酶	12	12.77	12	12.77	0.000	>0.05
合计	87	92.55	87	92.55	0.000	>0.05

3 讨 论

近年来碳青霉烯类耐药菌在临床样本中的分离率日益上升。有研究统计了 2014—2015 年,中国 27 个省市的 KPN、大肠埃希菌碳青霉烯酶耐药率分别为 8%和 2%,其中 KPN 占耐碳青霉烯类肠杆菌科的 70%,位居首位,92%的 KPN 产碳青霉烯酶,主要基因型为 KPC(63%)和 NDM(34%),有 2%的菌株同时表达 KPC 和 NDM^[1]。碳青霉烯酶基因主要通过质粒传播,给临床抗感染治疗及医院感染控制带来极大挑战。

临床微生物实验室检测碳青霉烯酶表型常见方法有改良 Hodge 试验、Carba NP 试验和 mCIM 试验等,但都无法对金属酶和丝氨酸酶表型进行区分^[8-12]。本文通过 CLSI 2018 版推荐 eCIM 联合 mCIM 试验检测临床 KPN 碳青霉烯酶并分型,结果与 PCR 法相比差异无统计学意义。eCIM 联合 mCIM 试验可对丝氨酸酶和金属酶两种碳青霉烯酶类型进行快速分型,并不需特殊试剂和特定仪器设备,准确率高^[13]。虽此法在检测同时携带金属酶和丝氨酸酶基因的菌株时,只能发现金属酶表型,但在两种基因同时携带流行的概率并不高的情况下,对碳青霉烯酶类耐药肠

杆菌(CRE)菌株筛查碳青霉烯酶并分型,按照 CLSI 2018 版的标准给临床报告 eCIM 阳性(金属酶)或阴性(丝氨酸酶),可为临床用药提供重要参考依据。

临床抗 CRE 感染治疗常联合使用多种抗菌药物。碳青霉烯类药物(亚胺培南、美罗培南等)的大量使用导致 CRE 菌株流行。头孢他啶-阿维巴坦是 2015 年在美国被批准用于治疗产 KPC 或 OXA-48 等丝氨酸酶菌株感染的复方药物^[14-15]。若临床医生根据实验室结果,在对 eCIM 试验阴性的 CRE 菌株的抗感染治疗中及时选择如头孢他啶-阿维巴坦等对产丝氨酸酶菌株特异作用的药物,精准用药,可减少产碳青霉烯酶菌株的院内流行,控制感染,提高患者生存率。

4 结 论

eCIM 联合 mCIM 试验检测 KPN 中碳青霉烯酶分型,与 PCR 结果一致性高,不需购买特殊试剂,操作简便,易于推广,可为临床抗感染用药及医院感染控制提供参考依据。

参考文献

[1] ZHANG R,CHAN E W,ZHOU H,et al. Prevalence and genetic characteristics of carbapenem-resistant enterobacteriaceae strains in China [J]. Lancet Infect Dis,2017,17 (3):256-257.

[2] FRIEDMAN N D,CARMELI Y,WALTON A L,et al. Carbapenem-resistant enterobacteriaceae:a strategic roadmap for infection control [J]. Infect Control Hosp Epidemiol,2017,38(5):580-594.

[3] ROBERT F P,ALARIC W D,GAUTAM D. The rapid spread of carbapenem-resistant enterobacteriaceae [J]. Drug Resist Updat,2016,29:30-46.

[4] IOVLEVA A,DOI Y. Carbapenem-resistant enterobacteriaceae [J]. Clin Lab Med,2017,37 (2):303.

[5] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-eighth edition: M100S [S]. Wayne, PA: CLSI, 2018.

[6] SHIBATA N,DOI Y,YAMANE K,et al. PCR typing of genetic determinants for metallo-beta-lactamases and integrase carried by gram-negative bacteria isolated in Japan,with focus on the class 3 integron [J]. J Clin Microbiol,2003,41(12):5407-5413.

[7] KRÜTTGEN A,RAZAVI S,IMÖHL M,et al. Real-time PCR assay and a synthetic positive control for the rapid and sensitive detection of the emerging resistance gene New Delhi metallo-β-lactamase-1 (blaNDM-1) [J]. Med Microbiol Immunol,2011,200(2):137-141.

(下转第 2575 页)

局限于生物素,也可以将检测相关联的某种或多种分子展示于铁蛋白笼形纳米颗粒上,构建出单功能或多功能的铁蛋白笼形纳米颗粒^[14-15],实现其特定的检测指标的高灵敏甚至超灵敏检测。

4 结 论

通过基因工程技术,采用分子生物学的手段,成功构建生物素化铁蛋白单体,并在体外自组装形成表面展示有多分子生物素的铁蛋白笼形纳米颗粒。以 HIV-1 P24 抗原检测为例,将其应用到 ELISA 检测中,与商业化的 HIV-1 P24 抗原 ELISA 试剂盒检测相比,成功实现了检测信号的放大,具有相对较高的检测灵敏度,可用于检测相对丰度较低的分析指标。

参考文献

- [1] 门冬,张先恩,张治平. 自组装病毒样纳米结构与超灵敏生物传感[J]. 东南大学学报(医学版),2011,30(1):92-99.
- [2] LI H,LIU S,DAI Z,et al. Application of nanomaterials in electrochemical enzyme biosensors[J]. Sensors,2009,9(11):8547-8561.
- [3] MEN D,ZHANG Z P,GUO Y C,et al. An auto-biotinylated bifunctional protein nanowire for ultra-sensitive molecular biosensing[J]. Biosens Bioelectron,2010,26(4):1137-1141.
- [4] PARK J S,CHO M K,LEE E J,et al. A highly sensitive and selective diagnostic assay based on virus nanoparticles[J]. Nat Nanotechnol,2009,4(4):259-264.
- [5] 贾翠娥. 浅谈 HIV 实验室检测新技术的临床应用进展[J]. 当代医药论丛,2015,13(9):156-157.
- [6] 常俊峰. 三种 HIV 抗原/抗体检测方法对 HIV 早期感染

检测的诊断研究[J]. 中国免疫学杂志,2015,31(8):1082-1084.

- [7] 李德钧,刘大鹏,孙茂利,等. 多种方法对早期 HIV 核酸阳性者系列血清的跟踪检测[J]. 中国卫生检验杂志,2012,22(12):2880-2882.
- [8] 潘玉宁,颜春荣. 张蕾,等. 基于纳米材料的生物传感技术在食品安全检测中的应用[J]. 生物加工过程,2018,16(2):17-23.
- [9] 李家萌,曹颖,赵媛,等. 纳米金在生物医学技术应用的研究现状[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2016,34(2):166-170.
- [10] MAO C,LIU A,CAO B. Virus-based chemical and biological sensing[J]. Angew Chem Int Ed Engl,2009,48(37):6790-6810.
- [11] GUO Y C,LIANG X S,ZHOU Y F,et al. Construction of bifunctional phage display for biological analysis and immunoassay[J]. Anal Biochem,2010,396(1):155-157.
- [12] RONG J H,NIU Z W,LEE L A,et al. Self-assembly of viral particles[J]. Curr Opin Colloid Interface Sci,2011,16(6):441-450.
- [13] YU Z,BRENDAN P O. Self-assembly in the ferritin nano-cage protein superfamily[J]. Int J Mol Sci,2011,12(8):5406-5421.
- [14] 沈阳,边成原,詹家荣,等. 铁蛋白系统纳米粒子的构建及其相互作用[J]. 华东理工大学学报(自然科学版),2018,44(3):308-315.
- [15] 王玲,吴洋,张盛,等. 铁蛋白的生物工程应用[J]. 中国生物工程杂志,2018,38(6):77-85.

(收稿日期:2019-02-18 修回日期:2019-05-02)

(上接第 2571 页)

- [8] 解春宝,罗江蓉,传良敏,等. 应用改良 Hodge 试验检测肠杆菌科细菌产碳青霉烯酶的研究[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(15):2034-2039.
- [9] 孙青阳,杨燕,韦文君,等. 抑制剂增强碳青霉烯类灭活法对革兰阴性杆菌碳青霉烯酶初步分类的评价[J]. 临床检验杂志,2018,36(1):14-18.
- [10] 余佳佳,刘瑛,俞静,等. 碳青霉烯类抗菌药物灭活试验筛查产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌的效能评价[J]. 检验医学,2017,32(7):628-632.
- [11] 王坚铤,吴琼,庄亦晖,等. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的耐药机制探讨[J]. 检验医学,2017,32(12):1080-1084.
- [12] 马玉兰,宋文杰,梁屹,等. CIM 与 mCIM 筛选肠杆菌科细菌产碳青霉烯酶能力比较[J]. 河北医科大学学报,2018,39(8):943-948.

- [13] 马玉兰,宋文杰,李继红,等. mCIM 与 eCIM 筛选肠杆菌科细菌碳青霉烯酶的效果评价[J]. 临床检验杂志,2018,36(9):650-654.
- [14] RODRÍGUEZ-BAÑO J,GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ B,MACHUCA I,et al. Treatment of infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-,ampc-,and carbapenemase-producing enterobacteriaceae[J]. Clin Microbiol Rev,2018,31(2):e00079-17.
- [15] TORRES A,ZHONG N,PACHL J,et al. Ceftazidime-avibactam versus meropenem in nosocomial pneumonia, including ventilator-associated pneumonia (REPROVE): a randomized, double-blind, phase 3 non-inferiority trial[J]. Lancet Infect Dis,2018,18(3):285-295.

(收稿日期:2019-02-18 修回日期:2019-05-02)