

• 论 著 •

耐亚胺培南铜绿假单胞菌头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联合用药评估

彭健桥¹, 曾赤佳¹, 李帼宁¹, 仇杭佳¹, 马均宝²

(1. 佛山市禅城区中心医院检验科, 广东佛山 528031; 2. 佛山市第一人民医院检验科, 广东佛山 528000)

摘要:目的 分析佛山地区耐亚胺培南铜绿假单胞菌对常用抗菌药物的耐药特征, 探讨头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联合使用的药敏情况。方法 收集 2011 年 1 月至 2014 年 9 月临床分离的耐亚胺培南铜绿假单胞菌, 分析其对常用抗菌药物的耐药情况, 并采用微量棋盘稀释法测定头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联合使用对耐亚胺培南铜绿假单胞菌的药敏情况, 计算部分抑菌浓度(FIC)指数。结果 分离的 1 000 株耐亚胺培南铜绿假单胞菌对 16 种抗菌药物的耐药率总体呈逐年上升趋势。两种抗菌药物联合使用主要表现为协同作用(76.0%)和相加作用(20.3%), 有 3.7% 的菌株表现为无关作用, 未发现拮抗作用。结论 佛山地区耐亚胺培南铜绿假单胞菌的耐药率逐年上升, 头孢哌酮/舒巴坦和阿米卡星联合对绝大多数菌株表现为协同作用或相加作用, 临床医生应关注各种抗菌药物的耐药谱变化, 并根据药敏结果合理选用抗菌药物。

关键词:铜绿假单胞菌; 亚胺培南; 耐药性; 联合用药

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)13-1902-03

Evaluation of combined effects of cefoperazone/sulbactam and amikacin against strains of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Peng Jianqiao¹, Zeng Chijia¹, Li Guoning¹, Chou Hangjia¹, Ma Junbao²

(1. Department of Clinical Laboratory, Chancheng District Center Hospital of Foshan City, Foshan, Guangdong 520831, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Foshan First People's Hospital, Foshan, Guangdong 52800, China)

Abstract: **Objective** To investigate the characteristics of resistance of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to commonly used antibacterial agents in Foshan area, and to explore sensitivity of combined utilization of cefoperazone/sulbactam and amikacin against strains of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Methods** Collected clinical isolates of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from January 2011 to September 2014, and the characteristics of resistance of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* to commonly used antibacterial agents were analysed. The sensitivity of combined utilization of cefoperazone/sulbactam and amikacin against strains of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* was assessed by using microscale checkerboard dilution method, and the fractional inhibitory concentration (FIC) index was calculated. **Results** A total of 1 000 strains of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* were isolated, and their resistance rates against 16 kinds of commonly used antibacterial agents increased year by year. The FIC results of cefoperazone/sulbactam combined with amikacin suggested that the main interaction was synergism (76.0%) and additivity (20.3%), with only 3.7% of non-effect. No antagonism was observed. **Conclusion** Antibacterial resistance of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* increase year by year. The interaction of cefoperazone/sulbactam and amikacin is characterized by synergism and additivity. The clinicians should pay attention to changes of resistance spectrum in various antibacterial agents, and promote rational use of antibacterial agents according to results of antibacterial-susceptibility test.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*; imipenem; antibacterial resistance; drug combination

近年来铜绿假单胞菌的耐药率在不断增加, 特别是耐亚胺培南铜绿假单胞菌的相继出现, 给临床抗感染治疗带来很大困难。亚胺培南为碳青霉烯类抗菌药物, 因其抗菌谱广, 被认为是目前控制感染性疾病最为有效的抗菌药物之一。然而, 随着临床对碳青霉烯类抗菌药物的广泛应用甚至是不合理使用, 其耐药性也逐年增加^[1-2]。耐亚胺培南铜绿假单胞菌日益增多并形成多重耐药, 给临床治疗带来很多困扰。本研究对 2011~2014 年临床分离的 1 000 株耐亚胺培南铜绿假单胞菌的耐药情况进行分析, 并探讨头孢哌酮/舒巴坦和阿米卡星联合应用对耐亚胺培南铜绿假单胞菌的抗菌效果。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集佛山市禅城区中心医院和佛山市第一人民医院 2011 年 1 月至 2014 年 9 月临床分离的 1 000 株耐亚胺培南铜绿假单胞菌, 剔除同一患者相同部位的重复菌株, 其中

2011 年分离 180 株、2012 年 256 株、2013 年 270、2014 年 294 株。菌株分别来自痰液、脓液、伤口分泌物、胸腔积液、腹水、尿液等标本, 以痰液为主。质控菌株铜绿假单胞菌 ATCC27853 购自卫生部临床检验中心。

1.2 仪器与试剂 MicroScan WalkAway 40 全自动微生物分析系统及配套鉴定和药敏板(德国西门子公司)。头孢哌酮/舒巴坦注射用粉剂购自美国辉瑞制药有限公司, 阿米卡星粉剂购自中国药品生物制品检定所, M-H 琼脂购自英国 Oxoid 公司。

1.3 方法

1.3.1 细菌鉴定和体外药敏试验 按照仪器操作说明进行细菌鉴定及最小抑菌浓度(MIC)测定。药敏结果判断标准参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)M100-S24 标准^[3]。

1.3.2 联合药敏试验 挑取分离纯化的 2~3 个菌落, 用 3~5 mL 无菌生理盐水校正浓度至 0.5 McFarland(约 1.5×10^8

cfu/mL)。将头孢哌酮/舒巴坦和阿米卡星用无菌水配制成原液,其浓度为 5 120 μg/mL,将头孢哌酮/舒巴坦和阿米卡星原液以无菌水倍比稀释成 1 280、640、320、160、80、40、20、10、5 μg/mL,按照微量棋盘稀释法进行联合药敏试验^[4-5],两两组合加入琼脂平板中(加入琼脂后,每个药物浓度稀释 10 倍),得到含有不同浓度的头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星平板,以及单独含有不同浓度的头孢哌酮/舒巴坦、阿米卡星平板。多点接种待检菌,35℃培养 18~24 h,观察并记录结果,通过计算部分抑菌浓度(FIC)指数判断相互作用。FIC=联合用药时甲药 MIC/单独应用甲药时 MIC+联合应用乙药时 MIC/单独应用乙药时 MIC,当 FIC<0.5 时为协同作用;FIC 指数 0.5~<1

时为相加作用;FIC 指数 1~2 时为无关作用;FIC>2 时为拮抗作用^[6]。

1.4 统计学处理 采用 WHONET5.4 软件分析细菌菌谱及耐药性;采用 SPSS19.0 统计学软件进行统计分析,计数资料以例数或百分率表示,耐药率比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 耐亚胺培南铜绿假单胞菌对抗菌药物的耐药率 耐亚胺培南铜绿假单胞菌对 16 种抗菌药物的耐药率呈现不同程度的逐年增加。见表 1。

表 1 耐亚胺培南铜绿假单胞菌对抗菌药物的耐药率[n(%)]

抗菌药药物	2011 年(n=180)	2012 年(n=256)	2013 年(n=270)	2014 年(n=294)	χ^2	P
阿米卡星	47(26.0)	256(35.8)	270(36.8)	294(40.0)	0.60	>0.05
氨基南	180(100.0)	256(100.0)	270(100.0)	294(100.0)	—	—
环丙沙星	63(35.2)	256(40.5)	270(50.2)	294(55.4)	9.87	<0.05
美罗培南	174(96.6)	256(98.5)	270(100.0)	294(100.0)	5.46	>0.05
哌拉西林	111(61.5)	256(65.6)	270(70.5)	294(86.2)	16.66	<0.05
哌拉西林/他唑巴坦	147(81.6)	256(86.4)	270(89.5)	294(96.3)	10.14	<0.05
头孢吡肟	82(45.6)	256(50.6)	270(55.6)	294(72.6)	16.81	<0.05
头孢噻肟	118(65.8)	256(72.6)	270(86.2)	294(92.6)	27.50	<0.05
头孢他啶	116(64.6)	256(71.6)	270(85.6)	294(91.4)	25.89	<0.05
米诺环素	105(58.6)	256(62.6)	270(72.1)	294(80.5)	12.57	<0.05
复方磺胺甲噁唑	180(100.0)	256(100.0)	270(100.0)	294(100.0)	—	—
头孢哌酮-舒巴坦	145(80.5)	256(86.6)	270(90.5)	294(94.6)	11.02	<0.05
头孢三嗪	180(100.0)	256(100.0)	270(100.0)	294(100.0)	—	—
庆大霉素	180(100.0)	256(100.0)	270(100.0)	294(100.0)	—	—
妥布霉素	180(100.0)	256(100.0)	270(100.0)	294(100.0)	—	—
左氧氟沙星	136(75.6)	256(81.6)	270(82.6)	294(90.4)	6.91	>0.05

—:无数据。

2.2 头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联用和单独使用的抑菌浓度比较 头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联用后较单独使用半数抑菌浓度(MIC50)和 90%抑菌浓度(MIC90)下降 1~2 倍。见表 2。

表 2 头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联合和单独使用的抑菌浓度比较(μg/mL)			
药物名称	MIC 范围	MIC50	MIC90
头孢哌酮/舒巴坦	1~128	16	128
阿米卡星	1~256	64	128
头孢哌酮/舒巴坦联合阿米卡星	1~128	8	64

2.3 头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联用的相互作用 头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联用时,1 000 株耐亚胺培南铜绿假单胞菌中 FIC<0.5 的菌株 760 株(76.0%),FIC 指数 0.5~<1 的菌株 203 株(20.3%),FIC 指数 1~2 的菌株 37 株(3.7%),未发现 FIC>2 的菌株。头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联用对 1 000 株耐亚胺培南铜绿假单胞菌以协同作用和相加作用为

主,无拮抗作用。

3 讨 论

铜绿假单胞菌是院内感染检出率最高的革兰阴性菌之一,患者一旦感染,将大大延长住院时间,增加患者经济负担。碳青霉烯类抗菌药物是治疗多重耐药铜绿假单胞菌引起感染的最有效抗菌药物之一,但金属 β -内酰胺酶的产生严重降低了其治疗效果,同时碳青霉烯酶主要分布于临床分离的铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌^[7],多重耐药菌株呈逐年递增趋势,单用抗菌药物效果并不理想。耐亚胺培南铜绿假单胞菌耐多药及泛耐药现象严重,其原因可能与多耐药基因表达及膜孔蛋白缺失有关^[8]。1 000 株耐亚胺培南铜绿假单胞菌对 16 种抗菌药物的耐药率呈现不同程度的逐年增加,与童照威等^[9]报道的耐药趋势基本一致。

头孢哌酮/舒巴坦的抗菌成分为头孢哌酮,为第 3 代头孢菌素,通过在细菌繁殖期抑制敏感细菌细胞壁粘肽的生物合成而达到杀菌作用。除对奈瑟菌科和不动杆菌,舒巴坦对其他细菌不具有任何有效的抗菌活性。但用细菌进行的生化研究显示,舒巴坦对由 β -内酰胺类抗菌药物耐药菌株产生的多数重要

的 β -内酰胺酶具有不可逆性的抑制作用。氨基糖苷类药物属静止期杀菌剂,以细菌的 RNA 为靶点,参与干扰基因复制和表达的许多步骤,对常见革兰阴性杆菌如铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌等的抗菌药物后效应(PAE)较长、杀菌作用完全。但在耐亚胺培南铜绿假单胞菌中常常表现为耐药。抗菌药物的单独使用对多重耐药菌株感染治疗作用有限,并且易诱导病原菌产生耐药性。因此,联合用药治疗成为临床上解决多重耐药菌感染较有效的途径之一,可以探讨与其他药物联合应用的杀菌效果,从而达到有效治疗的目的。另外,联合用药可降低氨基糖苷类抗菌药物在肾皮质的浓度,减轻其肾脏毒性^[10]。

有研究根据 5 年耐亚胺培南铜绿假单胞菌耐药性监测及耐药机制提出,在理论上使用阿米卡星与头孢他啶或头孢哌酮/舒巴坦是有效的治疗方式^[11],但在国内公开发表的文献中,未见探讨头孢哌酮/舒巴坦单用及其与阿米卡星联合应用对耐亚胺培南铜绿假单胞菌抗菌效果的报道。王云凤等^[12]研究表明,耐亚胺培南菌株除对头孢哌酮钠、阿米卡星和哌拉西林钠/他唑巴坦钠耐药率低于 40.0%外,对头孢他啶、庆大霉素、妥布霉素、哌拉西林钠和头孢吡肟的耐药率均高于 40.0%,对氨曲南、头孢噻肟钠、头孢曲松钠、环丙沙星、左氧氟沙星和亚胺培南/西司他汀钠耐药率为 57.7%~100%,与本研究耐药率存在差异。本研究相应抗菌药物的耐药率稍偏高,可能与地区差异、地区用药差异、产生耐药机制不同有关,需要进一步研究佛山地区耐药机制存在的差异。本实验结果表明,头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联合应用,能明显降低各自的 MIC 值,有 76.0%的菌株表现为协同作用,20.3%的菌株表现为相加作用,没有发现拮抗现象。体外药敏试验结果显示头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联合应用为临床治疗耐亚胺培南铜绿假单胞菌感染提供了实验依据,是对耐亚胺培南铜绿假单胞菌感染有限治疗手段的一个重要补充。

综上所述,佛山地区耐亚胺培南铜绿假单胞菌耐药率逐年上升,头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星联合药敏试验表明 96.3%的菌株有协同或相加作用,临床医生应关注各种抗菌药物的耐药谱变化,根据药敏结果合理选用抗菌药物。

参考文献

[1] 叶慧芬,陈惠玲,刘平,等. 广州地区多重耐药铜绿假单胞菌相关耐药基因的研究[J]. 检验医学,2010,25(4):228-291.

[2] 苏维奇,朱元祺,孔繁荣. 青岛地区耐亚胺培南铜绿假单胞菌金属 β -内酰胺酶检测及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(2):205.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S24 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. Wayne, PA, USA:CLSI,2014.

[4] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S16 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement[S]. Wayne,PA, USA:CLSI,2006.

[5] Dastidar SG,Manna A,Kumar KA,et al. Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones[J]. Int J Antimicrob Agents,2004,23(1):99-102.

[6] 倪语星,尚红. 临床微生物学与检验[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2010:581.

[7] 孙长贵,杨燕,杨丽君,等. 临床细菌耐药流行病学变化[J]. 临床检验杂志,2012,30(10):803-812.

[8] 王丽娟,李武平,史皆然,等. 76 例耐亚胺培南铜绿假单胞菌 B 类碳青霉烯酶与耐药现状研究[J]. 国际医学检验杂志,2013,34(5):559-561.

[9] 童照威,李晓峰,宋群,等. 2007-2010 年铜绿假单胞菌临床分布特征与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(16):3643-3645.

[10] 陈庆刚. β -内酰胺类与氨基糖苷类抗生素联用效果观察[J]. 现代中西医结合杂志,2002,11(23):2363.

[11] 时东彦,魏宏莲. 5 年间耐亚胺培南铜绿假单胞菌耐药性监测及耐药机制探讨[J]. 中华医学感染学杂志,2010,20(12):1654-1656.

[12] 王云凤,聂立岩. 铜绿假单胞菌科室分布及耐药性分析[J]. 临床误诊误治,2012,25(12):62-64.

(收稿日期:2015-04-18)

(上接第 1901 页)

[3] 俞云松. 多药耐药鲍曼不动杆菌——21 世纪革兰阴性菌的“MR-SA”[J]. 中华临床感染病杂志,2009,2(2):65-68.

[4] 曹美华,于水清. 淄博市临淄区人民医院 2011~2012 年 313 株鲍曼不动杆菌临床感染分布及耐药分析[J]. 中国实用医刊,2013,40(22):80-81.

[5] 孟峻,张军力,王俊瑞,等. 鲍曼不动杆菌感染的临床分布及耐药性分析[J]. 内蒙古医科大学学报,2014,36(4):293-296.

[6] 葛学顺,陶晓军,陈维开,等. 鲍曼不动杆菌的临床分布及耐药情况分析[J]. 中国实验诊断学,2014,18(7):1162-1164.

[7] Dijkshoorn L,Nemec A,Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Nat Rev Microbiol,2007,5(12):939-951.

[8] 徐一鸣,王蓓,蒋晓飞. 2008 至 2012 年鲍曼不动杆菌临床感染分布及耐药特征分析[J]. 检验医学,2014,29(3):245-248.

[9] 朱德妹,汪复,胡付品,等. 2010 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2011,11(5):321-329.

[10] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2011 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2012,12(5):321-329.

[11] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2012 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2013,13(5):321-330.

[12] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2013 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2014,14(5):365-374.

[13] 张利国,周颖,张琼丹,等. 2010 年至 2013 年我院鲍曼不动杆菌耐药趋势分析[J]. 中国药业,2014,23(18):89-92.

[14] 邱志芳. 300 例鲍曼不动杆菌耐药分析[J]. 医学美容美容:中旬刊,2014,23(8):593-594.

[15] Peleg AY,Seifert H,Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen[J]. Clin Microbiol Rev,2008,21(3):538-582.

(收稿日期:2015-05-08)

