

· 临床论著 ·

米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用对多重耐药鲍曼不动杆菌体外抗菌活性的研究

关晓宣 褚云卓 白玉兰

【摘要】 目的 探讨米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用对多重耐药鲍曼不动杆菌的疗效,为有效治疗多重耐药鲍曼不动杆菌(MDR-ABA)感染提供理论依据。**方法** 常规方法培养分离细菌共54株,获得纯培养后用VITEK-2全自动分析仪鉴定鲍曼不动杆菌,应用纸片扩散法进行多种抗菌药物的药敏试验,确定其中34株为多重耐药鲍曼不动杆菌。随机选取30株采用微量肉汤稀释法测定米诺环素和头孢哌酮/舒巴坦(1:1)的单药MIC值。再采用棋盘法测定米诺环素和头孢哌酮/舒巴坦(1:1)的联用MIC值。计算FIC指数并进行相关统计学分析。**结果** 米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用FIC指数0~0.5者占35.3%,0.5~1者占58.8%,1~2者占5.9%。**结论** 米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用具有协同和叠加作用,二者之间无拮抗作用,临床上治疗由MDR-ABA引起的重症感染,可根据药敏试验结果选择联合用药。

【关键词】 多重耐药鲍曼不动杆菌;最低抑菌浓度;联合用药

Antibacterial activity of minocycline combined with cefoperazone/sulbactam against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in vitro GUAN Xiao-xuan*, CHU Yun-zhuo, BAI Yu-lan. *Infectious Diseases and Laboratory, The First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China
Corresponding author: BAI Yu-lan, Email: yulanbai131@sina.com

【Abstract】 Objective To study the drug resistance and antibacterial in vitro of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* (MDR-ABA) against minocycline combined with cefoperazone/sulbactam in order to provide laboratory data for clinical treatment. **Method** Total of 54 strains were isolated and identified by routine procedure and VITEK-2 automatic bacterial identification instrument. Totally, 34 strains were identified as MDR-ABA by the disk diffusion method. And 30 strains with random selection were determined as single drug minocycline and cefoperazone/sulbactam (1:1) MIC values by the broth micro-dilution method. Checkerboard method was applied to determine the MIC values of combination of minocycline and cefoperazone/sulbactam (1:1). The FIC index was calculated and relevant statistical analysis was carried out. **Results** FIC index 0-0.5 of minocycline and cefoperazone/sulbactam combination accounted for 35.3%, 0.5-1 accounted for 58.8%, 1-2 accounted for 5.9%. **Conclusions** Combined with minocycline, cefoperazone-sulbactam expresses synergism and additivity against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* and there is no antagonism.

【Key words】 Multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*; Minimum inhibitory concentration; Drug combination

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, ABA)作为条件致病菌广泛存在于自然界,当机体免疫力下降或接受侵袭性操作治疗时,易乘机侵入机体引起感染。ABA感染部位以呼吸道和手术切口为主,也可引发菌血症、泌尿系感染、继发性脑膜炎和呼吸机相关性肺炎等。该菌在医院环境中分布广,且可长期

存活,对危重患者和危症监护病房(critical care unit, CCU)及重症监护病房(intensive care unit, ICU)患者威胁很大,也将此类感染称作ICU获得性感染,其引起院内感染的重要性愈加受到重视。由于近年来多种抗菌药物的大量使用或滥用,导致鲍曼不动杆菌的耐药问题日趋严重,目前已引起了临床治疗中的高度重视。自1991年纽约首次暴发多重耐药的鲍曼不动杆菌(multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*, MDR-ABA)感染后,该菌耐药日益严重。2006至2007年,亚太地区不动杆菌耐药性分析表明,该菌对

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.03.012

基金项目:辽宁省教育厅资助的科研项目(No. 2010673)

作者单位:110001 沈阳市,中国医科大学附属第一医院感染科(关晓宣、白玉兰),检验科(褚云卓);沈阳市红十字会医院呼吸内科(关晓宣)

通讯作者:白玉兰, Email: yulanbai131@sina.com

一线药物碳青霉烯类的耐药率达到42.3%^[1]。比较2004至2005年与2007年中国CHINET鲍曼不动杆菌的耐药性分析结果可以了解到,鲍曼不动杆菌对亚胺培南和美罗培南敏感率分别由65.1%下降至60.6%和由56.8%下降至55.5%,2007年全国12所医院药敏结果显示MDR-ABA已经达到47.7%(4.7%~64.0%)^[2-4]。多重耐药甚至泛耐药鲍曼不动杆菌的出现,给医院感染控制及临床治疗带来了极大的困难,被称为21世纪革兰阴性菌中的“耐甲氧西林金黄色葡萄球菌”(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)^[5]。MDR-ABA的耐药机制、播散方式、流行控制以及抗感染治疗是目前众多研究者及临床医师关注的焦点^[5]。

近年来,大量的研究工作寻找治疗多重耐药的鲍曼不动杆菌的有效药物,其中包括多黏菌素、新型四环素类和新生霉素等。目前用于治疗耐亚胺培南的鲍曼不动杆菌感染可选药物极为有限,国外报道舒他西林(氨苄西林/舒巴坦),头孢哌酮/舒巴坦,多黏菌素E和多黏菌素B,新生霉素等对耐亚胺培南鲍曼不动杆菌感染有效。由于氨基糖苷类药物不易透过血-脑屏障,对于脑膜炎患者,全身用药药物浓度甚低,不能达到杀菌效果,故须加用妥布霉素、阿米卡星或庆大霉素鞘内注射,有脑室炎者尚需作侧脑室注射,或采用第三代头孢菌素联合氨基糖苷类药物治疗。呼吸道不动杆菌感染者,使用舒他西林(氨苄西林-舒巴坦)联合阿米卡星或亚胺培南治疗是一个较好的选择,但最终选择还应根据临床药敏检测结果。2005年北京某医院的细菌耐药性监测报道鲍曼不动杆菌对亚胺培南敏感率为70.7%,而对美罗培南敏感率仅为41.4%,对头孢哌酮/舒巴坦和氨苄西林/舒巴坦耐药率分别仅为25.1%和35.5%^[2]。另有研究表明耐碳青霉烯类的鲍曼不动杆菌(*carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii*, CR-ABA)往往对含舒巴坦的制剂敏感,因其产生多种水解酶是主要机制,因舒巴坦与大多数β-内酰胺类不同,可以直接作用于细菌的青霉素结合蛋白PBP-2,从而显示出其对不动杆菌的独特杀菌作用。根据2007年中国CHINET鲍曼不动杆菌的耐药性分析显示浙江大学医学院附属第一医院、北京协和医院和广州医学院附属第一医院分离的菌株对米诺环素的耐药率较低,北京协和医院和广州医学院附属第一医院分离的菌株对米诺环素的耐药率分别14.0%和24.1%^[4],远低于碳青霉烯类抗菌药物的耐药率。因此,应用体外药敏实验来探讨米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用对多重耐药鲍曼不动杆菌的体外抗菌活性,观察有无协同或叠加作用,为临床

有效地治疗MDR-ABA感染提供理论依据。

资料与方法

一、菌株

实验用鲍曼不动杆菌均取自2008年6月至2009年3月中国医科大学附属第一医院从临床标本中分离的鲍曼不动杆菌54株,经VITEK-2分析仪鉴定,采用纸片扩散法(Kirby-Bauer法)^[6]进行药敏试验,选取其中表现为多重耐药的菌株30株。

二、标准质控菌株

本研究质控菌株为大肠埃希菌ATCC25922,大肠埃希菌ATCC35218(为监控β-内酰胺/β-内酰胺酶抑制剂纸片用)由中国医科大学附属第一医院细菌室提供。

三、抗菌药物

阿米卡星、头孢吡肟、多黏菌素、头孢噻肟、头孢他啶、头孢曲松、亚胺培南、左氧氟沙星、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、莫西沙星、米诺环素的药敏纸片购自中国药品生物制品检定所。米诺环素标准品:中国药品生物制品检定所。头孢哌酮标准品:中国药品生物制品检定所。舒巴坦标准品:中国药品生物制品检定所。

四、试验方法

常规方法培养、分离细菌,获得纯培养后用VITEK-2全自动分析仪来鉴定鲍曼不动杆菌,采用纸片扩散法用多种抗菌药物进行药敏试验,将对3类以上抗菌药物耐药的菌株确定为MDR-ABA。药敏试验方法采用微量肉汤稀释法。将米诺环素和头孢哌酮/舒巴坦(1:1)的药物浓度依次倍比稀释,设置11个稀释浓度。在进行棋盘法之前,先测定单独应用受试的MIC值。单药应用对MDR-ABA的MIC测定:将浓度为 3×10^5 CFU/ml的菌悬液100 μl加入孔中,再加入抗菌药物100 μl,孔中菌最终浓度为 1.5×10^5 CFU/ml,放入(35±2)℃温箱中过夜培养,18~24 h观察结果,记录单独应用药物时的最低抑菌浓度MIC_{甲药单用}和MIC_{乙药单用}。联合药敏试验按棋盘法设计:按各单药MIC值,确定联合药敏试验的药物稀释度。一般选择6个以上的稀释度。将100 μl 3×10^5 CFU/ml的菌液加入孔中,再取每种抗菌药物50 μl加入孔中。两两组合加入96孔平板中。放入(35±2)℃温箱中过夜培养,18~24 h观察结果。记录两药联合应用时各自的MIC_{甲药联用}和MIC_{乙药联用},以计算FIC指数,即部分抑菌浓度指数,FIC指数=MIC_{甲药联用}/MIC_{甲药单用} + MIC_{乙药联用}/MIC_{乙药单用}判读标准:FIC指数≤0.5,协同作用; >0.5~1.0,叠加作用; >1.0~2.0,无相关作用; >2.0,拮抗作用。

四、统计学处理

应用SPSS软件进行分析,采用单样本配对 t 检验和几何均数,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、多重耐药菌的耐药性分析

本研究中多重耐药鲍曼不动杆菌的检出率为66.7% (36/54)。36株鲍曼不动杆菌对米诺环素的敏感性最高(80.5%, 29/36),其次为多黏菌素(66.7%, 24/36)和亚胺培南(22.2%, 8/36)。对米诺环素的耐药性最低(5.5%, 2/36),其次为多黏菌素(19.4%, 7/36)和亚胺培南(77.8%, 28/36)。对米诺环素,多黏菌素,哌拉西林/他唑巴坦的中介率最高(13.9%, 5/36),见表1。

三、米诺环素和头孢哌酮/舒巴坦单药及联合应用测定MIC值

米诺环素和头孢哌酮/舒巴坦单用MIC和联用MIC比较,差异均具有统计学意义,见表2。

四、米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦单用与联合应用对MDR-ABA浓度累积抑菌率

米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦单用与联合应用对

MDR-ABA浓度累积抑菌百分率曲线,见图1。由累积抑菌率曲线可见,米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合用药较单独用药的累积抑菌率曲线明显左移,表明在相同累积抑菌百分率下,两药联合比两药单用所需的药物浓度低,在相同的给药浓度下,联合用药比单独用药具有更高的抗菌效能。

五、米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦单用与联合应用对MDR-ABA的FIC指数分布

米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦单用与联合应用对MDR-ABA的FIC指数分布,见图2。可见米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用FIC指数0~0.5者占35.3%, 0.5~1者占58.8%, 1~2者占5.9%。提示米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用有协同和叠加作用。

讨 论

临床中对多重耐药菌株所致的全身性感染,单一用药一般不能够获得较好的效果,而主张采用抗菌药物联合应用。如何制定用药方案,参考体外联合药敏试验结果及部分抑菌指数即FIC,是评价抗菌药物联合效应的重要参数。应用体外试验协同或相加效应的

表1 36株多重耐药鲍曼不动杆菌药敏结果

	敏感		中介		耐药	
	株数	敏感率 (%)	株数	敏感率 (%)	株数	敏感率 (%)
阿米卡星	3	8.3	1	2.8	32	88.9
头孢吡肟	0	0	2	5.5	34	94.4
多黏菌素	24	66.7	5	13.9	7	19.4
头孢噻肟	1	2.8	1	2.8	34	94.4
头孢他定	0	0	1	2.8	35	97.2
头孢曲松	0	0	1	2.8	35	97.2
亚胺培南	8	22.2	0	0	28	77.8
左氧氟沙星	0	0	1	2.8	35	97.2
哌拉西林	0	0	1	2.8	35	97.2
哌拉西林/他唑巴坦	1	2.8	5	13.9	30	83.3
莫西沙星	0	0	0	0	36	100
米诺环素	29	80.5	5	13.9	2	5.5

表2 单用和联合应用抗菌药物对30株MDR-ABA的MIC值($\mu\text{g/ml}$)

抗菌药物	MIC _{范围}	MIC _G	MIC ₅₀	MIC ₉₀
米诺环素				
单用	1~8	2.42	2	8
联合应用	0.125~2	0.46	0.5	1
t		23.63	18.09	84.41
P		< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
头孢哌酮/舒巴坦				
单用	16~128	41.90	32	64
联合应用	2~32	13.20	16	32
t		12.09	6.74	13.48
P		< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

注: MIC_{范围}: 抑制细菌生长所需药物的最低浓度范围, MIC_G: MIC值的几何均数, MIC₅₀: 50%受试菌株生长所需的MIC, MIC₉₀: 90%受试菌株生长所需的MIC

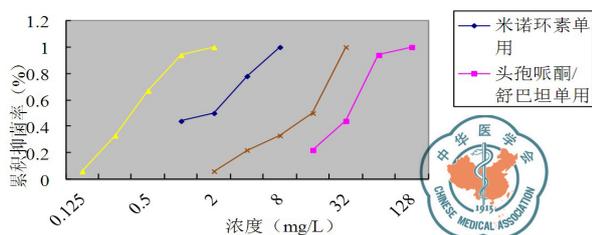


图1 米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦单用与联合运用对MDR-ABA浓度-累积抑菌百分率曲线 ($n=30$)

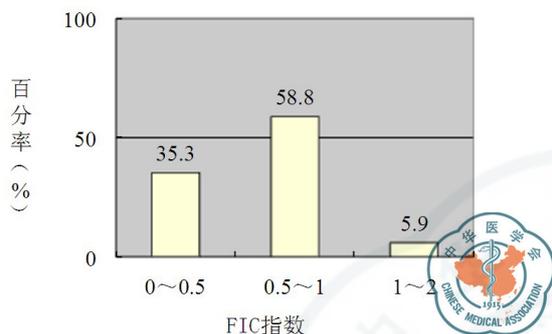


图2 米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦单用与联合运用对MDR-ABA的FIC指数分布构成

抗菌药物联合应用,可获得较好的临床效果。

米诺环素为半合成四环素类抗菌药物,在四环素类中本品抗菌作用最强且具有广谱抗菌作用。口服吸收迅速,几乎完全吸收,食物对其吸收无明显影响,生物利用度为95%^[7]。其作用机制是与核糖体30S亚基的A位置结合,阻止肽链的延长,从而抑制细菌或其他病原微生物的蛋白质合成。其虽为抑菌药,但在高浓度时也具有杀菌作用。其毒性反应包括胃肠道反应、肝毒性、对牙齿及骨发育的影响、神经系统毒性;尤其胃肠道反应的发生率及严重程度与给药剂量有关;肝毒性多在常规剂量给药10 d后出现。

头孢哌酮/舒巴坦为一复合制剂,舒巴坦为广谱酶抑制剂同时具有较弱的抗菌活性,对金黄色葡萄球菌及多数阴性杆菌产生的 β -内酰胺酶具有强大且不可逆的抑制作用,但对某些阴性杆菌染色体介导的 β -内酰胺酶无活性。头孢哌酮为第三代头孢菌素,对 β -内酰胺酶的稳定性较差,二者联合应用不但对阴性杆菌具有明显的协同抗菌活性,联合后的抗菌作用是单独应用头孢哌酮的4倍。

本研究中,单用米诺环素对MDR-ABA的 MIC_{90} 为8 $\mu\text{g/ml}$,单用头孢哌酮/舒巴坦对MDR-ABA的 MIC_{90} 为64 $\mu\text{g/ml}$,当米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用后,米诺环素和头孢哌酮/舒巴坦的 MIC_{90} 值分别下降至1 $\mu\text{g/ml}$ 和32 $\mu\text{g/ml}$ 。治疗多重耐药鲍曼不动杆菌所致的重症感染,可根据体外药敏试验结果指定用药方案,采用米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合

应用,能够快速充分杀灭病原菌,有效控制感染,减少细菌耐药性产生的同时,适当减少米诺环素的使用剂量可减少药物不良反应的发生。

综上,米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用有协同和叠加作用,二者无拮抗作用。临床上治疗由MDR-ABA引起的重症感染,可根据此药敏试验结果采用米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用。

参考文献

- Mendes RE, Bell JM, Turnidge JD, et al. Emergence and widespread dissemination of OXA-23, -24/40 and -58 carbapenemase among *Acinetobacter* spp. in Asia-pacific nations: report from the SENTRY Surveillance Program. *Antimicrob Chemother*, 2009, 63(1):55-59.
- 王瑶, 徐英春. 2004-2005年中国CHINET鲍曼不动杆菌耐药性分析. *中国感染与化疗杂志*, 2007, 7(4):279-282.
- 汪复. 2006年中国CHINET细菌耐药性监测. *中国感染与化疗杂志*, 2008, 8(1):1-9.
- 史俊艳, 张小江, 徐英春, 等. 2007年中国CHINET鲍曼不动杆菌耐药性监测. *中国感染与化疗杂志*, 2009, 9(3):196-200.
- 俞云松. 多药耐药鲍曼不动杆菌——21世纪革兰阴性菌的“MRSA”. *中华临床感染病杂志*, 2009, 2(2):65-68.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: nineteenth informational supplement M100-S19. 2009.
- 汪复, 张婴元. *实用抗感染治疗学*. 北京:人民卫生出版社, 2005:21-38.
- 李国钦. 耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌研究进展. *中国感染控制杂志*, 2008, 7(2):140-143.
- 张雪云, 褚云卓, 欧阳金鸣, 等. 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌耐药机制研究. *中国感染与化疗杂志*, 2007, 7(6):412-415.
- 徐修礼, 张鹏亮, 孙怡群, 等. 联合抗菌药物对产AmpC酶鲍曼不动杆菌的应用性研究. *医学研究杂志*, 2009, 38(3):55-58.
- Marques MB, Brookings ES, Moser SA, et al. Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41(5):881-885.
- Bajaksouzian S, Visalli MA, Jacobs MR, et al. Activities of levofloxacin, ofloxacin, and ciprofloxacin, alone and in combination with amikacin, against *acinetobacter* as determined by checkerboard and time-kill studies. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41(5):1073-1076.
- Urban C, Segal-Maurer S, Rahal JJ. Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug-resistant *acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis*, 2003, 36(1):1268-1274.
- Brahmi N, Beji O, Abidi N, et al. Epidemiology and risk factors for colonization and infection by *Acinetobacter baumannii* in an ICU in Tunisia, where this pathogen is endemic. *J Infect Chemother*, 2007, 13(6):400-404.
- 余道军, 董晓勤, 金克勤, 等. 多药联合应用抗多重耐药鲍曼不动杆菌的实验研究. *医药导报*, 2008, 27(3):280-284.
- 严智昌, 于庆萍, 孟昭彦, 等. 2001-2004年细菌耐药性监测及分析. *中华医院感染学杂志*, 2005, 15(10):1169-1173.
- 胡云建, 艾效曼, 宣天芝, 等. 2005年北京医院细菌耐药性监测. *中国感染与化疗杂志*, 2007, 7(4):259-262.
- 朱德妹, 张婴元, 汪复. 2006年上海地区细菌耐药性监测. *中国感染与化疗杂志*, 2007, 7(6):393-399.
- 糜祖煌, 秦玲. 多药耐药鲍曼不动杆菌对5类抗菌药物耐药机制研究. *中华医院感染学杂志*, 2008, 18(7):901-904.
- 李日光, 陈剑锋. 多重耐药鲍曼不动杆菌耐药性分析及治疗策略. *中国实用医药*, 2007, 2(19):14-16.
- Betrosian AP, Frantzeskaki F, Xanthaki A, et al. High-dose ampicillin-

- sulbactam as an alternative treatment of late-onset VAP from multidrug-resistant *acinetobacter baumannii*. Scand J Infect Dis,2007,39(1):38-43.
- 22 Xiao YH, Wang J, Li Y, et al. Bacterial resistance surveillance in China: a report from Mohnarín 2004-2005. Eur J Clin Microbiol Infect Dis,2008,27(8):697-708.
- 23 盛杰伯. 桑福德抗微生物治疗指南. 35版. 北京: 中国医药科技出版社,2005:55.
- 24 陆坚. 多黏菌素类治疗多重耐药革兰阴性菌感染的临床应用进展. 中国感染与化疗杂志,2007,7(6):464-467.
- 25 Timurkaynak F, Can F, Azap OK, et al. In vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aerobacter baumannii* isolated from intensive care units. Int J Antimicrob Agents,2006,27(3):224-228.
- 26 Karageorgopoulos DE, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant *acinetobacter baumannii* infections. Lancet Infect Dis,2008,8(12):751-762.

(收稿日期: 2012-09-12)

(本文编辑: 孙荣华)

关晓宣, 褚云卓, 白玉兰. 米诺环素与头孢哌酮/舒巴坦联合应用对多重耐药鲍曼不动杆菌体外抗菌活性的研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(3): 377-381.

