

## 碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌的联合药敏研究

夏静静<sup>1</sup>, 龚美亮<sup>2</sup>, 徐雅萍<sup>2</sup>, 周玉<sup>2</sup>, 方向群<sup>1</sup>

解放军总医院, 北京 100853 <sup>1</sup>南楼呼吸科; <sup>2</sup>南楼检验科

**摘要:** 目的 评价头孢哌酮/舒巴坦(CFS)与利福平(RFP)、米诺环素(MIN)及左氧氟沙星(LEV)对临床分离碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌(CRAB)的体外联合抑菌作用。方法 采用棋盘法设计,微量肉汤稀释法测定抗菌药物对60株临床分离的CRAB的最低抑菌浓度(MIC),并计算抑菌指数(FIC指数)判断联合抑菌效应。结果 CFS与RFP联用后,80%为协同作用,16.7%为相加作用,3.3%为无关作用,无拮抗作用;CFS与MIN联用后,11.7%为协同作用,45%为相加作用,35%为无关作用,8.3%为拮抗作用;CFS与LEV联用时,6.7%为协同作用,40%为相加作用,53.3%为无关作用,无拮抗作用。上述药物联用后,各药MIC<sub>50</sub>均明显降低,浓度-累积抑菌率曲线均表现为左移。结论 CFS与RFP、MIN联用对CRAB体外联合抗菌效应主要表现为协同和相加作用。CFS与LEV联用主要表现为无关作用,但仍有近半数菌株表现为协同和相加作用。

**关键词:** 头孢哌酮/舒巴坦;利福平;米诺环素;左氧氟沙星;鲍曼不动杆菌;碳青霉烯耐药;联合用药;药敏实验

中图分类号: R 453.2 文献标识码: A 文章编号: 1005-1139(2012)02-0179-03 DOI: CNKI:11-3275/R.20110824.1619.003

网络出版时间: 2011-08-24 16:19:12 网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20110824.1619.003.html

### Combined drug sensitivity test of carbapenem-resistant acinetobacter Baumannii

XIA Jing-jing<sup>1</sup>, GONG Mei-liang<sup>2</sup>, XU Ya-ping<sup>2</sup>, ZHOU Yu<sup>2</sup>, FANG Xiang-qun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Respiratory Diseases in Southern Building; <sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine in Southern Building Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: FANG Xiang-qun. Email: fangxiangqun@hotmail.com

**Abstract: Objective** To evaluate the combined in vitro inhibitory effect of cefoperazone/sulbactam (CFS), rifampicin (RFP), minocycline(MIN) and levofloxacin(LEV) on clinically isolated carbapenem-resistant acinetobacter Baumannii (CRAB) strains. **Methods** Combined in vitro inhibitory effect of CFS, RFP, MIN and LEV was assayed by detecting the maximal inhibitory concentration and calculating the fractional inhibitory concentration (FIC) index for 60 CRAB strains with the micro-broth dilution method. **Results** Combined CFS and RFP showed 80% synergic effect, 16.7% additive effect, 3.3% indifferent effect and no antagonistic effect on CRAB strains. Combined CFS and MIN displayed 11.7% synergic effect, 45% additive effect, 35% indifferent effect and 8.3% antagonistic effect on CRAB strains. Combined CFS and LEV demonstrated 6.7% synergic effect, 40% additive effect, 53.3% indifferent effect and no antagonistic effect on CRAB strains. The MIC<sub>50</sub> of these drugs was significantly lower when they were used in combination with their concentration-accumulative curves shifted to the left. **Conclusion** Combined CFS, RFP and MIN shows a combined in vitro synergic and additive inhibitory effect on CRAB strains. Combined CFS and LEV displays an indifferent effect on CRAB strains, and a synergic and additive effect on nearly 50% CRAB strains.

**Key words:** cefoperazone/sulbactam; rifampicin; minocycline; levofloxacin; acinetobacter baumannii; carbapenem-resistant; drug combination; antibiotics susceptibility test

鲍曼不动杆菌是常见的院内感染菌之一,近年来分离率逐渐升高。碳青霉烯类抗菌药物曾是治疗鲍曼不动杆菌感染的有效药物,但随着该类药物应用增多,碳青霉烯耐药的鲍曼不动杆菌(carbapenem-resistant acinetobacter baumannii, CRAB)菌株逐渐增多,CRAB所致感染的抗菌药物治疗是临床上的一个难点。本研究对临床分离的CRAB菌株进行体外联合药敏实验,以期治疗

CRAB所致感染提供实验依据。

### 材料和方法

**1 菌株来源** 本院老年病房2008年1月-2011年1月分离的来自不同病人CRAB共60株,全部菌株均使用法国生物梅里埃公司VITEK细菌鉴定仪或API革兰阴性细菌鉴定卡鉴定。药敏质控菌株为大肠埃希菌ATCC25922、ATCC35218和铜绿假单胞菌ATCC27853。

**2 仪器和试剂** 比浊仪(法国生物梅里埃公司);12导微量加样器(Eppendorf公司);96孔平板(天津金章公司);MH肉汤及MH琼脂平板(OXOID

收稿日期: 2011-07-04

修回日期: 2011-08-08

作者简介: 夏静静,女,在读硕士。研究方向:肺部感染病原学及治疗对策。Email: summer111.163.com@163.com

通信作者: 方向群,男,主任医师,硕士研究生导师。研究方向:肺部感染病原学及治疗对策。Email: fangxiangqun@hotmail.com

公司); 头孢哌酮/舒巴坦(2:1)购自辉瑞制药公司; 米诺环素、利福平及左氧氟沙星标准品均购自中国药品生物制品检定所。

**3 菌悬液配制** 从已经分纯并过夜培养的 MH 琼脂平板上挑取 3-5 个菌落, 接种于 MH 肉汤中增菌 6h。菌液用 3ml MH 肉汤以比浊仪校正至 0.5MacFarland, 再用 MH 肉汤稀释至  $1.5 \times 10^5$ CFU/ml。

**4 抗菌药物储备液配制** 利福平储备液浓度为  $640 \mu\text{g/ml}$ , 余药储备液浓度为  $1920 \mu\text{g/ml}$ 。

**5 微量肉汤稀释法** 将头孢哌酮/舒巴坦、利福平、米诺环素及左氧氟沙星以灭菌 MH 肉汤倍比稀释成 12 个浓度, 分别为 128、64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.063  $\mu\text{g/ml}$ 。将配好的不同浓度的两种抗菌药物按棋盘法设计两两组合加入 96 孔平板中, 每种抗菌药物  $50 \mu\text{l}$ , 再将  $1.5 \times 10^5$ CFU/ml 菌液  $100 \mu\text{l}$  加入每孔中,  $37^\circ\text{C}$  过夜培养。观察指标, 记录单独应用各药的最低抑菌浓度 (MIC<sub>甲药单用</sub> 和 MIC<sub>乙药单用</sub>), 并选择最佳组合效应两药联用时各自的 MIC (MIC<sub>甲药联用</sub> 和 MIC<sub>乙药联用</sub>), 以计算 FIC 指数。

**6 FIC 指数计算和判读标准<sup>[1]</sup>**  $\text{FIC 指数} = \text{MIC}_{\text{甲药联用}} / \text{MIC}_{\text{甲药单用}} + \text{MIC}_{\text{乙药联用}} / \text{MIC}_{\text{乙药单用}}$  FIC 指数  $\leq 0.5$ , 协同作用;  $0.5 < \text{FIC} \leq 1$ , 相加作用;  $1 < \text{FIC} \leq 2$ , 无关作用;  $\text{FIC} > 2$ , 拮抗作用。

## 结果

**1 药物单用和联用对 CRAB 的 MIC 比较** 头孢哌酮/舒巴坦与利福平联用后, 二者的 MIC<sub>50</sub> 与 MIC<sub>90</sub> 明显下降; 头孢哌酮/舒巴坦与米诺环素联用后, 头孢哌酮/舒巴坦的 MIC<sub>50</sub> 与 MIC<sub>90</sub> 分别为单药的 1/2 和 1/4, 米诺环素的 MIC<sub>50</sub> 也为单药的 1/4; 头孢哌酮/舒巴坦与左氧氟沙星联用后, 头孢哌酮/舒巴坦的 MIC<sub>50</sub> 与 MIC<sub>90</sub> 分别为单药的 1/2 和 1/4, 左氧氟沙星的 MIC<sub>50</sub> 也为单药的 1/2, 表明各药物组合联用后有联合效应。见表 1。

**2 浓度-累积抑菌百分率曲线** 头孢哌酮/舒巴坦 (CFS) 与利福平 (RFP)、米诺环素 (MIN) 及左氧氟沙星 (LEV) 联用后, 各药物的浓度-累积抑菌百分率曲线均表现为左移, 表明了各药物组合有联合效应, 分别见图 1、图 2、图 3。

**3 药物联用对 CRAB 的 FIC 分布** 头孢哌酮/舒巴坦联合利福平主要表现为协同及相加作用 (96.7%), 极少数 (3.3%) 表现为无关作用; 头孢哌酮/舒巴坦与米诺环素联用时, 虽然有 8.3% 表现为拮抗及 35.0% 表现为无关作用, 但仍有 56.7%

表现为协同及相加作用; 头孢哌酮/舒巴坦联合左氧氟沙星时, 由抑菌指数分布看出两药联合主要表现为无关作用, 但二者联用后各药的 MIC<sub>50</sub> 和 MIC<sub>90</sub> 降低, 且二者的浓度-累积抑菌曲线左移, 也表明了二者仍有一定的联合效应。各组药物联用对 CRAB 的抑菌指数 (FIC 指数) 分布, 见表 2。

表 1 头孢哌酮/舒巴坦与利福平、米诺环素及左氧氟沙星单用与联用对 CRAB 的 MIC

Tab1 Effect of CFS and combined CFS, RFP, MIN, LEV on MIC of CRAB ( $\mu\text{g/ml}$ , n=60)

Antibiotics		Alone		Combined with	
		MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
CFS+RFP	CFS	128	256	0.25	16
	RFP	8	16	2	4
CFS+MIN	CFS	128	256	64	64
	MIN	8	16	2	16
CFS+LEV	CFS	128	256	64	64
	LEV	2	4	1	4

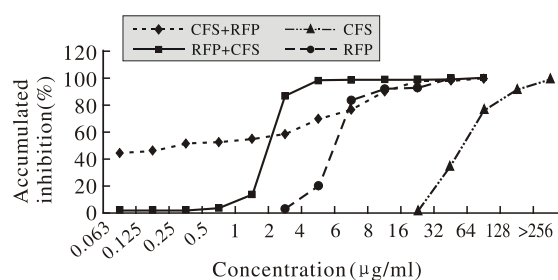


图 1 CFS 与 RFP 单用与联合应用后的浓度-累积抑菌百分率曲线  
Fig 1 Concentration-accumulative inhibition percentage curves for CRAB after treatment with combined CFS and RFP

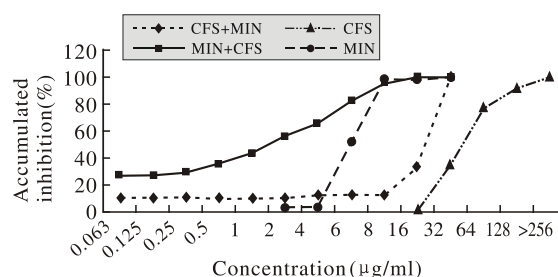


图 2 CFS 与 MIN 单用与联合应用后的浓度-累积抑菌百分率曲线  
Fig 2 Concentration-accumulative inhibition percentage curves for CRAB after treatment with combined CFS and MIN

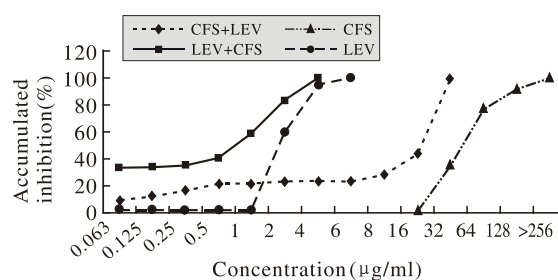


图 3 CFS 与 LEV 单用与联合应用后的浓度-累积抑菌百分率曲线  
Fig 3 Concentration-accumulative inhibition percentage curves for CRAB after treatment with combined CFS and LEV

(下转封3)

(上接 180 页)

表 2 头孢哌酮 / 舒巴坦与利福平、米诺环素及左氧氟沙星联用对 60 株 CRAB 的抑菌指数分布构成比。

Tab 2 Distribution of FIC indexes in 60 CRAB strains after treatment with combined CFS, RFP, MIN and LEV (n, %)

Antibiotics	FIC ≤ 0.5	0.5 < FIC ≤ 1	1 < FIC ≤ 2	FIC > 2
CFS+RFP	48(80.0)	10(16.7)	2(3.3)	0(0)
CFS+MIN	7(11.7)	27(45.0)	21(35.0)	5(8.3)
CFS+LEV	4(6.7)	24(40.0)	32(53.3)	0(0)

## 讨论

近年来鲍曼不动杆菌分离率逐年上升, CRAB 感染逐渐增加, 但临床上对 CRAB 感染缺乏新的有效抗菌药物<sup>[2-3]</sup>。舒巴坦对 CRAB 具有抗菌活性, 机制在于它能不可逆地结合不动杆菌的青霉素结合蛋白 PBP2, 对这些细菌有直接的抑菌作用, 同时还对水解碳青霉烯的某些苯唑西林酶即 OXA 类 β - 内酰胺酶具有抑制作用, 头孢哌酮 / 舒巴坦在治疗 CRAB 感染中有一定的疗效<sup>[4]</sup>。鲍曼不动杆菌对头孢哌酮 / 舒巴坦的耐药率有逐年上升趋势, 2008 年为 14.6%, 2009 年上升到 23.6%<sup>[5]</sup>, 在目前缺乏新的治疗 CRAB 的抗菌药物条件下, 联合用药成为一种重要的治疗手段。本研究以头孢哌酮

/ 舒巴坦为中心联合其他抗菌药物进行联合药敏, 发现头孢哌酮 / 舒巴坦与利福平及米诺环素联合用药后主要表现为协同及相加作用, 各药的 MIC<sub>50</sub> 和 MIC<sub>90</sub> 明显下降, 表明上述药物组合对 CRAB 具有较好的体外抑菌活性。头孢哌酮 / 舒巴坦与左氧氟沙星联合用药后多数为无关作用, 但仍有近半数菌株表现为协同作用, 表明对 CRAB 仍有一定的联合效应。因此, 对于 CRAB 感染可考虑采用头孢哌酮 / 舒巴坦与利福平及米诺环素联合用药以达到更好的临床疗效, 但其临床疗效如何, 有待于进一步的临床观察。

## 参考文献

- 1 Eliopoulos GM, Moellering RC. Antimicrobial combinations [A]. Antibiotics in laboratory medicine [C]. Baltimore, 1996: 330-336.
- 2 张晓兵, 龚雅利, 刘智勇, 等. 鲍氏不动杆菌的临床分布特征及耐药趋势分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18 (3): 428-430.
- 3 徐礼锋, 祝进, 陆军, 等. 鲍氏不动杆菌 5 年感染监测 [J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16 (9): 1065-1066, 972.
- 4 王辉, 郭萍, 孙宏莉, 等. 碳青霉烯类耐药的不动杆菌分子流行病学及其泛耐药的分子机制 [J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29 (12): 1066-1073.
- 5 汪复, 朱德妹, 胡付品, 等. 2009 年中国 CHINET 细菌耐药性检测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10 (5): 325-334.