

美罗培南联合头孢哌酮舒巴坦对3种多重耐药革兰氏阴性杆菌的抗菌活性研究^Δ

刘燕琳^{1*}, 宋传杰^{2,3}, 尹玲¹, 梁晓燕¹, 张晗¹, 李长征^{2,3#} (1. 泰山医学院附属医院, 山东泰安 271000; 2. 山东大学附属肿瘤医院, 济南 250117; 3. 山东省医学科学院, 济南 250117)

中图分类号 R969 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)21-2912-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.21.09

摘要 目的: 研究美罗培南(MPN)联合头孢哌酮舒巴坦(SCF)对3种多重耐药(MDR)革兰氏阴性杆菌的抗菌活性。方法: 收集2016年1—12月泰山医学院附属医院收治患者的痰、血、尿、腹水或引流液标本, 从中分离得到的MDR-大肠埃希菌(EC)、MDR-肺炎克雷伯菌(KPN)、MDR-鲍曼不动杆菌(AB)各50株, 采用琼脂稀释法、棋盘法测定MPN、SCF、MPN+SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的半数抑菌浓度(MIC₅₀)、90%抑菌浓度(MIC₉₀)及平均抑菌浓度(MIC_G), 计算联合抑菌浓度(FIC)指数, 采用K-B纸片法进行药敏试验。结果: MPN单用时MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的MIC_G分别为36.82、82.45、34.32 μg/mL, SCF单用时MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的MIC_G分别为42.14、112.67、24.11 μg/mL, MPN+SCF时MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的MIC_G分别为25.97、56.64、11.36 μg/mL, MDR-EC、MDR-KPN中的MIC_G为MPN+SCF<MPN<SCF, MDR-AB中的MIC_G为MPN+SCF<SCF<MPN, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。MPN+SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的FIC最高分别为>0~0.5(78.00%)、>0~0.5(72.00%)、>0.5~1.0(82.00%)。结论: MPN联合SCF可有效提高对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB等MDR革兰氏阴性杆菌的抗菌活性, 且两药联用具有协同作用。

关键词 美罗培南; 头孢哌酮舒巴坦; 多重耐药; 革兰氏阴性杆菌; 抗菌活性

Study on Antibacterial Activities of Meropenem Combined with Cefoperazone Sulbactam to 3 Kinds of Multidrug Resistant Gram-negative Bacteria

LIU Yanlin¹, SONG Chuanjie^{2,3}, YIN Ling¹, LIANG Xiaoyan¹, ZHANG Han¹, LI Changzheng^{2,3} (1. The Affiliated Hospital of Taishan Medical University, Shandong Tai'an 271000, China; 2. The Affiliated Tumor Hospital of Shandong University, Jinan 250117, China; 3. Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250117, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study antibacterial activities of meropenem (MPN) combined with cefoperazone sulbactam (SCF) to 3 kinds of multidrug resistance (MDR) Gram-negative bacteria. METHODS: Each 50 strains of MDR-*Escherichia coli* (MDR-EC), MDR-*Klebsiella pneumoniae* (MDR-KPN) and MDR-*Acinetobacter baumannii* (MDR-AB) were isolated from sputum, blood, urine, ascites or drainage specimens of patients during Jan. to Dec. in 2016 from the affiliated hospital of Taishan medical university. The agar dilution method and board method were used to determine MIC₅₀, MIC₉₀ and MIC_G of MPN, SCF, MPN+SCF to MDR-EC, MDR-KPN, MDR-AB and calculate fractional inhibitory concentration (FIC). Drug sensitivity test was conducted by K-B disk method. RESULTS: In terms of the MIC_G to MDR-EC, MDR-KPN, MDR-AB, MPN alone were respectively 36.82, 82.45, 34.32 μg/mL; SCF alone were respectively 42.14, 112.67, 24.11 μg/mL; MPN combined with SCF were respectively 25.97, 56.64, 11.36 μg/mL. In terms of MIC_G to MDR-EC, MDR-KPN, MIC_G showed that MPN+SCF<MPN<SCF; in terms of MIC_G to MDR-AB, MIC_G showed that MPN+SCF<SCF<MPN, with statistical significance ($P<0.05$). The highest of FIC of MPN+SCF to MDR-EC, MDR-KPN and MDR-AB was respectively >0-0.5 (78.00%), >0-0.5 (72.00%), >0.5-1.0 (82.00%). CONCLUSIONS: MPN combined with SCF can effectively improve antibacterial activities to MDR Gram-negative bacteria as MDR-EC, MDR-KPN, MDR-AB. MPN combined with SCF has synergistic effects.

KEYWORDS Meropenem; Cefoperazone sulbactam; Multidrug resistance; Gram-negative bacteria; Antibacterial activity

革兰氏阴性杆菌是临床上常见的感染性疾病病原菌之一, 是指革兰氏染色反应呈红色的细菌。对于其引起的感染常用治疗方法为给予抗菌药物, 如美罗培南

(MPN)、头孢哌酮舒巴坦(SCF)等; 抗菌药物可有效杀伤病原菌而控制患者的病情^[1]。但近年来, 受抗菌药物、激素等的广泛使用、用药不规范、药物滥用等因素的影响, 导致革兰氏阴性杆菌出现多重耐药(MDR)而影响疗效。大肠埃希菌(*Escherichia coli*, EC)、肺炎克雷伯菌(*klebsiella pneumoniae*, KPN)、鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)是较为常见的耐药病原菌, 且耐药状况日趋严重^[2]。为此, 在本研究中笔者检测

Δ 基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目(No.2015-264)

* 副主任药师, 副教授, 硕士。研究方向: 临床药理学。电话: 0538-6236471。E-mail: tyfyypcg@163.com

通信作者: 副主任医师。研究方向: 消化道肿瘤的临床及基础。电话: 0531-67626991。E-mail: liczdoc@163.com

了MPN联合SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的抗菌活性,旨在为临床合理使用抗菌药物提供参考。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

2016年1—12月于泰山医学院附属医院呼吸内科、重症医学科(ICU)、神经科、心胸外科、消化科患者痰、血、尿、腹水或引流液等临床标本中分离得到的MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB标本各50株,所有菌株鉴定及药敏试验结果均按2010版美国临床实验室标准化协会(CLSI)推荐的标准实施^[3]。MDR-EC:痰液37株,尿液3株,血液6株,腹水或引流液4株;MDR-KPN:痰液41株,尿液3株,血液2株,腹水或引流液4株;MDR-AB:痰液40株,尿液2株,血液3株,腹水或引流液5株。

1.2 试验器材

20 mL试管20支、无菌吸管、锥形瓶、10 μL移液枪、100 μL移液枪、200 μL移液枪、1 000 μL移液枪。MicroScan Walk Away 40全自动微生物分析仪及专用NC31鉴定板(美国Dade公司)

1.3 试验药品

注射用SCF(辉瑞制药有限公司,规格:1 g,批准文号:国药准字H10960113);注射用MPN(海口市制药有限公司,规格:0.25 g,批准文号:国药准字H20093396);SCF、MPN药敏纸片、铜绿假单胞菌ATCC 27853(英国Oxoid公司);0.9%氯化钠注射液、0.01 mol/L磷酸盐缓冲液(pH=7.2)、灭菌蒸馏水(安图生物有限公司)。

1.4 培养基

Mueller-hinton(M-H)琼脂(英国Oxoid公司)。

1.5 菌悬液的配制

所有标本于细菌平板上分纯并在培养箱过夜12 h培养,后选取10株菌落分别加入0.9%氯化钠注射液配成10个0.5麦氏单位浓度的溶液;同时,精确称取1:1的注射用SCF、注射用MPN各10 μg分别溶于灭菌蒸馏水、0.01 mol/L磷酸盐缓冲液(pH=7.2)中,配成SCF+蒸馏水、SCF+0.01 mol/L磷酸盐缓冲液、MPN+蒸馏水、MPN+0.01 mol/L磷酸盐缓冲液的贮备液,质量浓度均为5 120 μg/mL,采用琼脂稀释法分别用灭菌蒸馏水按倍比稀释法将上述贮备液配成10个浓度(256、128、64、32、16、8、4、2、1、0.5 μg/mL),即得。

1.6 单药的药敏试验

选取MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB纯菌落各50株接种到NC31鉴定板上,采用MicroScan Walk Away 40全自动微生物分析仪对菌株进行鉴定和药敏试验,药敏试验采用K-B纸片法,试验方法及结果判断标准参照2010版CLSI,质控菌株为铜绿假单胞菌ATCC 27853。结果,均符合2010版CLSI的药敏质控范围。

1.7 联合药敏试验

以棋盘法将配好的10个0.5麦氏单位浓度溶液均匀涂布于M-H琼脂培养基表面,放置5 min,待平板表面水分吸收后,将SCF、MPN药敏纸片贴于平板上,两纸片之间相距20 mm,置于培养箱37℃孵育过夜10 h,取出,观察结果。试验方法及结果判断标准参照2010版CLSI。

1.8 观察指标

观察SCF、MPN、SCF+MPN分别对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的半数抑菌浓度(MIC₅₀)、90%抑菌浓度(MIC₉₀)及平均抑菌浓度(MIC_G)。

1.9 联合抑菌浓度(FIC)指数的确定

FIC指数为联合用药时各药的MIC值(最小抑菌浓度)分别除以单药时MIC值的商的和。相互作用解释为:0<FIC≤0.5为协同作用;0.5<FIC≤1.0为相加作用;1.0<FIC≤2.0为无关作用;FIC>2.0为拮抗作用^[4]。

1.10 统计学方法

采用SPSS 16.0统计软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MPN、SCF、MPN+SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的MIC比较

MDR-EC、MDR-KPN中的MIC_G为MPN+SCF<MPN<SCF,MDR-AB中的MIC_G为MPN+SCF<SCF<MPN,差异均有统计学意义($P<0.05$),详见表1、图1~3[图中MPV(单)为MPN单用时的MIC;MPN(联)为MPN联合SCF时MPN的MIC;SCF(单)为SCF单用时的MIC;SCF(联)为MPN联合SCF时SCF的MIC]。

2.2 MPN+SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的FIC值

MPN+SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的FIC值见表2。

表1 MPN、SCF、MPN+SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的MIC比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}$)

Tab 1 Comparison of MIC of MPN, SCF and MPN+SCF to MDR-EC, MDR-KPN, MDR-AB($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}$)

组别	n	MDR-EC			MDR-KPN			MDR-AB		
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC _G	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC _G	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC _G
SCF	50	16.00	64.00	42.14	32.00	128.00	112.67	16.00	32.00	24.11 [*]
MPN	50	16.00	64.00	36.82 [*]	32.00	128.00 [*]	82.45 [*]	16.00	64.00	34.32
MPN+SCF	50	8.00	32.00	25.97 ^{**}	16.00	64.00	56.64 ^{**}	8.00	32.00	11.36 ^{**}

注:与SCF比较,^{*} $P<0.05$;与MPN比较,[#] $P<0.05$

Note: vs. SCF, ^{*} $P<0.05$; vs. MPN, [#] $P<0.05$

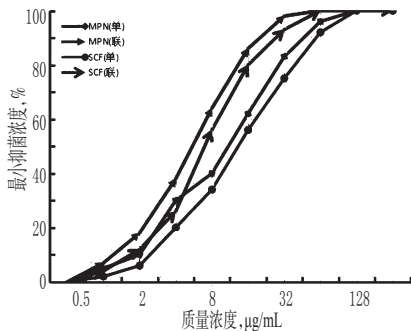


图1 MPN、SCF、MPN+SCF对MDR-EC的MIC
Fig 1 MIC of MPN, SCF, MPN+SCF to MDR-EC

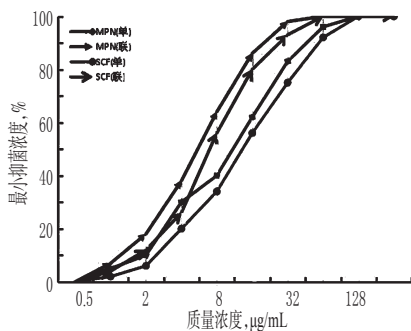


图2 MPN、SCF、MPN+SCF对MDR-KPN的MIC
Fig 2 MIC of MPN, SCF, MPN+SCF to MDR-KPN

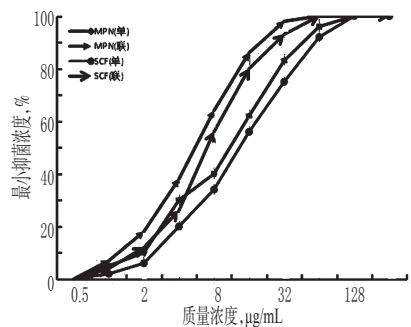


图3 MPN、SCF、MPN+SCF对MDR-AB的MIC
Fig 3 MIC of MPN, SCF, MPN+SCF to MDR-AB

表2 MPN+SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的FIC值

Tab 2 FIC of MPN+SCF to MDR-EC, MDR-KPN, MDR-AB

类别	MDR-EC		MDR-KPN		MDR-AB	
	株数,株	占比, %	株数,株	占比, %	株数,株	占比, %
0<FIC≤0.5	39	78.00	36	72.00	6	12.00
0.5<FIC≤1.0	7	14.00	9	18.00	41	82.00
1.0<FIC≤2.0	4	8.00	5	10.00	3	6.00
FIC>2.0	0	0	0	0	0	0

3 讨论

EC、AB均为条件致病菌,KPN是肠杆菌科克雷伯氏菌属中最为重要的一类病原菌,三者均为革兰氏阴性杆菌,均可引起医院获得性肺炎、菌血症等疾病,且3种病原菌耐药状况较为严重,特别是在ICU,其爆发、流行、病死率高等问题给临床治疗带来挑战。

目前,治疗MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB等所致

感染药物较少。SCF是一种临床常用的抗菌复合制剂,其成分中的舒巴坦属于 β -内酰胺类抗菌药物,可在细菌繁殖期抑制细胞壁黏肽的生物合成;头孢哌酮为不可逆的竞争性 β -内酰胺酶(ESBLs)抑制剂,可与 β -内酰胺酶发生不可逆的反应而使该酶失去活性,其已成为治疗革兰氏阴性杆菌的首选药物^[5-6]。有研究表明,碳青霉烯类(KPC)药物是临床上治疗革兰氏阴性杆菌的最后一道防线,其可通过抑制细菌细胞壁的合成而产生抗菌作用,已被广泛应用于多种革兰氏阴性杆菌的治疗,且疗效显著^[7]。但有研究认为,在MDR革兰氏阴性杆菌治疗中,单用药的疗效较低,但二药或三药联合治疗可发挥药物协同或相加的效果,从而提高抗菌效果^[8]。

本研究通过检测MPN联合SCF对上述3种MDR革兰氏阴性杆菌的抗菌活性,发现MPN单用时MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的MIC_G分别为36.82、82.45、34.32 μ g/mL,SCF单用时MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的MIC_G分别为42.14、112.67、24.11 μ g/mL,MPN+SCF时MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的MIC_G分别为25.97、56.64、11.36 μ g/mL,MDR-EC、MDR-KPN中的MIC_G为MPN+SCF<MPN<SCF,MDR-AB中的MIC_G为MPN+SCF<SCF<MPN,差异均有统计学意义。这表明,MPN联合SCF可有效提高MDR革兰氏阴性杆菌的抗菌活性,提示其可作为临床治疗MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的用药方案。本研究结果还显示,MPN+SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB的FIC值最高的分别为>0~0.5(78.00%)、>0~0.5(72.00%)、>0.5~1.0(82.00%)。这表明,MPN联合SCF对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB具有协同作用;这可能是由于MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB耐药机制主要与ESBLs、KPC的改变等有关^[9-10],MPN可抑制细菌细胞壁的合成,SCF可抑制MDR-AB的ESBLs的作用,使MDR-AB未能有效产生ESBLs等,促使MPN不被KPC水解,从而抑制MDR-AB细胞壁黏肽的生物合成,减少ESBLs产生,达到协同作用。但本研究中,MPN联合SCF后对MDR-KPN的MIC值较单用MPN、SCF低,但仍处于较高水平(56.64 μ g/mL),这表明MPN联合SCF的效果一般,提示MDR-KPN的耐药性除与细菌本身存在耐药基因有关外,可能还与临床上过多或频繁使用MPN和SCF有关,如给予多种大剂量抗菌药物、预防性和经验性用药等^[11-12],从而加快细菌耐药性的进程,导致其疗效下降。因此,在临床工作中,应通过药敏试验和抗菌活性试验等药学监测手段,掌握MPN联合SCF的最佳使用剂量,以达到更佳的效果。

综上所述,MPN联合SCF可有效提高对MDR-EC、MDR-KPN、MDR-AB等MDR革兰氏阴性杆菌的抗菌活性,且两药联用具有协同作用。

参考文献

[1] Lob SH, Badal RE, Bouchillon SK, et al. Epidemiology

胰岛素-葡萄糖对体外循环下联合瓣膜置换术患者的心肌保护作用

秦建华*,张雪容,马庆军#,何 亮,田永芳(新疆维吾尔自治区人民医院,乌鲁木齐 830001)

中图分类号 R605 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)21-2915-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.21.10

摘 要 目的:探讨胰岛素-葡萄糖对体外循环下联合瓣膜置换术患者的心肌保护作用。方法:120例在我院接受体外循环下联合瓣膜置换术治疗的患者,按照随机数字表法分为对照组(60例)和观察组(60例)。所有患者均按照常规操作进行手术,对照组患者采用4℃托马斯停跳液与氧合血按照1:4(V:V)混合进行心肌保护。观察组患者心肌保护方法与对照组相同,但在4℃托马斯停跳液中加入胰岛素注射液10 IU/L和葡萄糖注射液10 g/L。观察并比较两组患者麻醉诱导前(T₀)、体外循环结束时(T₁)、术后12 h(T₂)、术后24 h(T₃)、术后48 h(T₄)、术后72 h(T₅)血浆脑钠肽(BNP)、心肌肌钙蛋白I(cTn I)水平、主动脉开放后自动复跳率、T₁时血管活性药物(多巴胺)使用量、术后并发症发生情况和不良反应发生情况。结果:T₀时,两组患者血浆BNP、cTn I水平比较,差异无统计学意义(P>0.05)。T₁₋₅时,两组患者BNP、cTn I水平显著高于T₀时,差异均有统计学意义(P<0.05),且cTn I水平在T₄时开始降低,BNP水平在T₅ h时开始降低。此外,观察组患者BNP、cTn I水平在T₁₋₅时显著低于对照组,差异均有统计学意义(P<0.05)。主动脉开放后,两组患者自动复跳率比较,差异无统计学意义(P>0.05)。观察组患者多巴胺使用量(T₁时)、术后并发症总发生率显著少于对照组,差异均有统计学意义(P<0.05)。两组患者术中及术后均未见严重药物相关不良反应发生。结论:胰岛素-葡萄糖可以减轻体外循环下联合瓣膜置换术患者的心肌损害,减少血管活性药物使用量,降低术后并发症发生率,安全性亦较好。

关键词 胰岛素;体外循环;联合瓣膜置换术;心肌保护;脑钠肽;心肌肌钙蛋白I

Protective Effects of Insulin-glucose on Myocardium in Patients Receiving Combined Cardiac Valve Replacement under Cardiopulmonary Bypass
QIN Jianhua, ZHANG Xuerong, MA Qingjun, HE Liang, TIAN Yongfang (Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830001, China)

and suscep-tibility of gram-negative appendicitis pathogens: SMART 2008-2010[J].*Surg Infect(Larchmt)*, 2013, 14(2):203-208.

[2] 陈泉芳,邹小英,王威,等.某院呼吸科2007—2011年肺部感染革兰阴性杆菌的分布及耐药性分析[J].*现代预防医学*, 2014, 41(16):3052-3055.

[3] 史利克,王悦,王世博,等.不同抗菌药物诱导革兰阴性菌释放内毒素的体外试验研究[J].*中华医院感染学杂志*, 2015, 25(21):4805-4807, 4833.

[4] Rumbo C, Tom, is M, Fernandez Moreira E, *et al.* The acinetobacter baumannii omp33-36 porin is a virulence factor that induces apoptosis and modulates autophagy in human cells[J].*Infect Immun*, 2014, 82(11):4666-4680.

[5] 丁力,王宪德,高扬,等.头孢西丁等8种抗菌药物单用或联用对产ESBLs肺炎克雷伯菌的体外抗菌活性比较[J].*中国药房*, 2015, 26(2):216-218.

[6] 谭俊青,李嵩文,王康椿,等.头孢哌酮-舒巴坦联合中药对泛耐药鲍曼不动杆菌抗菌活性的研究[J].*检验医学*, 2016, 31(5):350-354.

[7] 张晓亮.某院革兰阴性杆菌对美罗培南与亚胺培南体外敏感性比较[J].*中国医院药学杂志*, 2015, 35(5):447-449.

[8] 姜飞,邓丽华,李洪春,等.鲍曼不动杆菌美罗培南体外诱导后对常用抗菌药物敏感性降低及其机制研究[J].*中华临床感染病杂志*, 2016, 9(3):230-235.

[9] 张英,安翠平,聂冰,等.不同配比头孢哌酮钠/舒巴坦对革兰阴性杆菌体外抗菌效果的影响[J].*临床误诊误治*, 2015, 28(12):102-104.

[10] 陈约慧,陈若飞,詹玲玲,等.头孢哌酮/舒巴坦对临床常见革兰阴性杆菌抗菌活性的研究[J].*中华医院感染学杂志*, 2016, 26(21):4855-4858.

[11] 孙中霞,朱团结,黎宁君,等.强化抗菌药物治疗对泛耐药鲍氏不动杆菌感染的治疗评价[J].*中华医院感染学杂志*, 2016, 26(4):739-741.

[12] 陈雪梅.重症监护室呼吸机相关性肺炎发生的危险因素和病原菌分布及药敏分析[J].*中国药房*, 2015, 26(20):2777-2779.

* 副主任医师,硕士研究生。研究方向:体外循环的心肌保护。
电话:0991-8564735。E-mail:1535666524@qq.com
通信作者:主任医师。研究方向:血液保护。电话:0991-8564735

(收稿日期:2017-04-07 修回日期:2017-05-10)
(编辑:陈 宏)