

磷霉素与 4 种抗菌药物对泌尿系统分离铜绿假单胞菌的协同作用研究

黄正谷, 苏世芳[△](重庆市公共卫生医疗救治中心检验科 400036)

【摘要】 目的 研究磷霉素与 4 种抗菌药物分别联合应用对 40 株临床分离铜绿假单胞菌的体外抗菌活性。方法 采用常规培养方法和微生物分析仪对细菌进行分离、鉴定。采用 K-B 纸片扩散法进行药敏试验。采用琼脂倍比稀释法和微量棋盘法测定最低抑菌浓度(MIC), 计算部分抑菌浓度指数(FICI)。结果 40 株铜绿假单胞菌对大多数抗菌药物具有耐药性。磷霉素单独使用对铜绿假单胞菌具有较好的抗菌活性, 耐药率为 37.5%; 磷霉素与 4 种抗菌药物联用后, 对铜绿假单胞菌表现为相加和无关作用, 协同作用较少, 未见拮抗作用。结论 治疗铜绿假单胞菌引起的泌尿系统感染, 磷霉素仍是一个可供选择的抗菌药物。

【关键词】 磷霉素; 铜绿假单胞菌; 尿路感染; 协同作用

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.13.013 文章编号: 1672-9455(2015)13-1850-02

Study on synergy of fosfomycin combined with 4 kinds of antimicrobial agents against Pseudomonas aeruginosa strains isolated from urinary system HUANG Zheng-gu, SU Shi-fang[△] (Department of Clinical Laboratory, Chongqing Municipal Public Health Medical Center, Chongqing 400036, China)

【Abstract】 **Objective** To study the in vitro antibacterial activity of fosfomycin combined with other 4 kinds of antimicrobial agents against 40 clinically isolated strains of Pseudomonas aeruginosa. **Methods** The bacteria were isolated and identified by the conventional culture and the microbiological analyzer. The drug sensitive test was performed by using Kirby-Bauer disk diffusion test and the minimal inhibitory concentration(MIC) was examined by using the agar double dilution test and the microdilution checkerboard technique. The fractional inhibitory concentration index(FICI) was calculated. **Results** A total of 40 strains of Pseudomonas aeruginosa were resistant to most of antimicrobial agents. The fosfomycin exclusive use had a good antibacterial activity to Pseudomonas aeruginosa and the resistance rate was 37.5%; the combination use of fosfomycin with 4 kinds of antimicrobial agent showed the additive action and independent action, little synergic effect and no antagonism. **Conclusion** Fosfomycin is still a choice of antibacterial drugs to treat the urinary tract infection induced by Pseudomonas aeruginosa.

【Key words】 fosfomycin; Pseudomonas aeruginosa; urinary tract infection; synergy

近年来,随着广谱头孢菌素类、碳青霉烯类和喹诺酮类等抗菌药物在医院临床上的广泛应用,致使高度耐药的铜绿假单胞菌在泌尿系统感染中的比例不断增高^[1],给临床治疗带来极大困难。为探索磷霉素对泌尿感染铜绿假单胞菌治疗的新方案,本研究拟以本院泌尿系统分离的铜绿假单胞菌为研究对象,分别检测磷霉素单独或与其他抗菌药物协同对铜绿假单胞菌的抗菌活性,为磷霉素在临床泌尿感染的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 40 株非重复铜绿假单胞菌分离自本院 2012~2013 年的尿液标本。质控菌株铜绿假单胞菌(ATCC 27853)由卫生部临床检验中心提供。

1.1.2 培养基 M-H 琼脂及肉汤培养基(Oxoid)购于重庆庞通医疗器械有限公司。

1.1.3 抗菌药物 所有抗菌药物纸片为英国 Oxoid 产品;磷霉素、6-磷酸葡萄糖购于 Sigma 公司;亚胺培南(USP 标准物质)、左氧氟沙星(LEV)、环丙沙星(CIP)、庆大霉素(GEN)为中国药品生物制品检定所产品。

1.1.4 仪器 VITEK-2 COMPACT 全自动微生物分析系统和 ATB 微生物检测系统购于法国生物梅里埃公司。

1.2 方法

1.2.1 细菌培养和鉴定 细菌培养和鉴定按照《全国临床检

验操作规程》的常规技术操作及 API 细菌生化鉴定条件进行鉴定,鉴定系统为法国生物梅里埃公司 API 和 VITEK-2 系统。

1.2.2 药敏试验 药敏采用 K-B 纸片扩散法测抑菌圈直径,用 VITEK-2 测最低抑菌浓度(MIC)。磷霉素、亚胺培南、头孢他啶、左氧氟沙星和庆大霉素药敏试验采用琼脂平板倍比稀释法。药敏结果判定依据美国临床实验室标准化委员会(CLSI) 2013 年标准。

1.2.3 药物协同试验 磷霉素、亚胺培南、头孢他啶、左氧氟沙星和庆大霉素分别以灭菌 MH 肉汤稀释,使抗菌药物的浓度分别为 $8 \times \text{MIC}$ 、 $4 \times \text{MIC}$ 、 $2 \times \text{MIC}$ 、 $1 \times \text{MIC}$ 、 $1/2 \times \text{MIC}$ 、 $1/4 \times \text{MIC}$ 、 $1/8 \times \text{MIC}$ 。将配好的不同浓度的两种协同作用药物按棋盘法设计,两两组合加入 96 孔无菌微孔板中,每种抗菌药物取 $50 \mu\text{L}$ 分别排列在 96 孔板的行与列上,然后再将浓度为 $1 \times 10^6 \text{ CFU/mL}$ 的菌液 $100 \mu\text{L}$ 加入孔中, 37°C 培养过夜。结果判断以完全无细菌生长的最低药物浓度为 MIC。

1.2.4 部分抑菌浓度指数(FICI)指数计算与判读标准 采用 FICI 分析药物的协同作用: $\text{FICI} = \text{A 药联合时的 MIC} / \text{A 药单用时的 MIC} + \text{B 药联合时的 MIC} / \text{B 药单用时的 MIC}$ 。判定标准: $\text{FICI} \leq 0.5$ 为协同作用; $0.5 < \text{FICI} \leq 1$ 为相加作用; $1 < \text{FICI} \leq 2$ 为无关作用; $\text{FICI} > 2$ 为拮抗作用。

2 结果

2.1 临床分离铜绿假单胞菌的药物敏感性 40 株铜绿假单

胞菌对亚胺培南等 15 种药敏纸片的药敏结果如表 1 所示。除抗菌药物阿米卡星、环丙沙星、头孢哌酮/舒巴坦、头孢他啶和妥布霉素的耐药率低于 30%，对其他抗菌药物均具有较高的耐药性。此外，亚胺培南耐药的铜绿假单胞菌与亚胺培南敏感的菌株相比，对抗菌药物具有更高的耐药性。

表 1 亚胺培南耐药和敏感铜绿假单胞菌的耐药分布[n(%)]

| 抗菌药物 | 亚胺培南耐药(n=13) | 亚胺培南敏感(n=27) |
|-----------|--------------|--------------|
| 阿米卡星 | 4(30.77) | 2(7.41) |
| 奈替米星 | 9(69.23) | 3(11.11) |
| 庆大霉素 | 10(76.92) | 6(22.22) |
| 妥布霉素 | 8(61.54) | 3(11.11) |
| 头孢他啶 | 4(30.77) | 5(18.52) |
| 头孢哌酮 | 7(53.85) | 7(25.93) |
| 头孢吡肟 | 7(53.85) | 5(18.52) |
| 环丙沙星 | 8(61.54) | 1(3.70) |
| 左氧氟沙星 | 9(69.23) | 3(11.11) |
| 氨曲南 | 5(38.46) | 7(25.93) |
| 美洛培南 | 11(84.62) | 3(11.11) |
| 头孢哌酮/舒巴坦 | 2(15.38) | 2(7.41) |
| 哌拉西林 | 7(53.85) | 7(25.93) |
| 哌拉西林/他唑巴坦 | 7(53.85) | 6(22.22) |

2.2 联合抑菌试验 尿液分离的铜绿假单胞菌对磷霉素的耐药率为 37.5%，亚胺培南耐药和铜绿假单胞菌对磷霉素的敏感性差异无统计学意义(P>0.05)。磷霉素与 4 种抗菌药物分别联合应用对 40 株铜绿假单胞菌的体外抗菌活性如表 2 所示。结果表明，磷霉素与 4 种抗菌药物联合应用，对铜绿假单胞菌多数呈相加和无关作用，协同作用较少，未见拮抗作用。

表 2 FICI 指数分布百分率(%)

| 联合药物组 | FICI | | | |
|-----------|------|-------|-------|----|
| | ≤0.5 | 0.5~1 | 1.0~2 | >2 |
| 磷霉素+庆大霉素 | 12.5 | 60.0 | 27.5 | 0 |
| 磷霉素+头孢他啶 | 2.5 | 30.0 | 67.5 | 0 |
| 磷霉素+亚胺培南 | 5.0 | 55.0 | 40.0 | 0 |
| 磷霉素+左氧氟沙星 | 17.5 | 75.0 | 7.5 | 0 |

3 讨论

尿路感染是临床常见的感染性疾病之一，革兰阴性菌是尿路感染的主要病原菌。而近年来，由于广谱抗菌药物的广泛应用及复杂尿路感染患者的增多，铜绿假单胞菌的分离率逐年增高，同时铜绿假单胞菌的耐药性给临床治疗带来很大的困难。本研究发现临床分离铜绿假单胞菌具有较高的耐药性，尿液分离的铜绿假单胞菌对磷霉素的耐药率高达 37.5%，比国内外的报道略高^[2-3]。

革兰阳性菌和革兰阴性菌都具有细胞壁结构，细胞壁的主要成分是肽聚糖，在细胞壁合成的初期，需要磷酸烯醇丙酮酸参与合成二磷酸尿嘧啶-N-乙酰葡萄糖胺丙酮酸盐^[4]，磷霉素作为一种较早发现的天然抗菌药物，其分子结构与磷酸烯醇丙酮酸结构相似，其与细菌竞争同一转移酶，使细菌的细胞壁合成受到阻碍从而导致细菌死亡，因此对革兰阳性菌和革兰阴性菌

都具有较强的抗菌作用^[5]。

有研究显示，亚胺培南耐药菌株对其他抗菌药物均具有较高的耐药性，提示针对亚胺培南耐药菌株应根据药敏结果选择抗菌药物。磷霉素对铜绿假单胞菌具有较高的敏感性，并且亚胺培南耐药和敏感的菌株对磷霉素的药物敏感性无明显差异，说明对于多重耐药铜绿假单胞菌，磷霉素依然是一个可供选择的抗菌药物。国外研究发现磷霉素对铜绿假单胞菌具有较好的抗菌活性，而国内研究发现磷霉素对铜绿假单胞菌具有较高的耐药性，有研究显示铜绿假单胞菌的耐药率高达 71%^[4]，本院铜绿假单胞菌对磷霉素具有较高的敏感性可能是因为本院临床上已经有 5 年未使用磷霉素。

在本研究中，磷霉素与其他 4 种抗菌药物联合应用只对少部分菌株具有协同作用，而对大部分菌株只有相加和无关作用。协同作用比例远低于国内外的报道^[6-7]，部分研究报道庆大霉素与磷霉素协同作用可达到 80%^[8]。此研究差异可能是由于不同地区流行的菌株类型不同。

磷霉素是广谱抗菌药物，虽然本研究显示磷霉素与其他抗菌药物联合应用只对少部分铜绿假单胞菌具有协同作用，但是磷霉素单独使用对铜绿假单胞菌仍具有较高的抗菌活性，并且对泌尿系统常见的肠杆菌科细菌具有较高的活性并与其它抗菌药物具有协同作用^[9]，因此磷霉素是治疗泌尿系统感染的药物之一。

参考文献

- Venier AG, Lavigne T, Jarno P, et al. Nosocomial urinary tract infection in the intensive care unit; when should *Pseudomonas aeruginosa* be suspected? Experience of the French National surveillance of nosocomial infections in the intensive care unit, Rea-Raisin[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(1): 13-15.
- 燕成岭, 樊淑珍. 泌尿系感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 内蒙古医学院学报, 2011, 33(6): 459-462.
- Karlowisky JA, Lagacé-wiens PR, Simner PJ, et al. Antimicrobial resistance in urinary tract pathogens in Canada from 2007 to 2009; CANWARD surveillance study[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(7): 3169-3175.
- 尹雄章, 杜光, 孙明辉. 磷霉素的作用机制及临床应用[J]. 医药导报, 2011, 30(12): 1608-1613.
- 汤韧, 高艳, 范燕. 97 例注射用磷霉素钠不良反应文献分析[J]. 中国药物警戒, 2013, 10(9): 560-562.
- 聂大平, 马荣, 刘永娥. 磷霉素对革兰阴性菌的体外抗菌活性研究[J]. 大连医科大学学报, 2010, 32(5): 577-579.
- Kastoris AC, Rafailidis PI, Vouloumanou EK, et al. Synergy of fosfomycin with other antibiotics for Gram-positive and Gram-negative bacteria[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2010, 66(4): 359-368.
- 范燕, 裴斐, 梁蓓蓓, 等. 磷霉素与五种氨基糖苷类抗菌药物对 20 株铜绿假单胞菌的联合药敏研究[J]. 中国药物应用与监测, 2007, 4(1): 47-49.
- Hernández MS, García JA, Muñoz JL. In vitro activity of fosfomycin against ESBL-producing enterobacteria of urinary origin[J]. Rev Esp Quimioter, 2009, 22(1): 25-29.