

磷霉素与妥布霉素联合应用对呼吸道感染常见菌的体外抗菌活性

王秋菊, 宋晓玉, 全 勇, 张 莉, 吴立春, 叶 波(四川省肿瘤医院检验科, 成都 610041)

【摘要】 目的 评价磷霉素与妥布霉素联合应用对慢性呼吸道感染常见菌的体外抗菌活性, 为临床治疗常见菌引起的慢性呼吸道感染提供依据。**方法** 采用琼脂稀释法和肉汤稀释法检测磷霉素与妥布霉素(4:1)联合应用混合试剂及两种药物单独使用对 97 株妥布霉素不敏感菌株的最低抑菌浓度(MIC), 计算部分抑菌浓度(FIC)指数, 应用 FIC 指数来计算和判读两种抗菌药物联合应用对慢性呼吸道感染常见菌的体外抗菌效果。**结果** 与分别单独使用磷霉素和妥布霉素相比, 磷霉素和妥布霉素混合试剂对 97 株妥布霉素不敏感菌株的 MIC 值显著降低, 分别有 80.4% 的菌株表现为协同作用, 16.5% 的菌株表现为相加作用, 3.1% 的菌株表现为无关作用, 没有拮抗作用发生。**结论** 磷霉素与妥布霉素联合应用对慢性呼吸道感染常见菌主要表现为协同和相加作用, 且以协同作用为主。

【关键词】 磷霉素; 妥布霉素; 抑菌浓度指数; 最低抑菌浓度

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.23.012 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)23-3479-03

Antibacterial activity in vitro of combination of fosfomycin and tobramycin against common pathogenic bacteria of respiratory tract infection WANG Qiu-ju, SONG Xiao-yu, QUAN Yong, ZHANG Li, WU Li-chun, YE Bo (Department of Clinical Laboratory, Sichuan Provincial Cancer Hospital, Chengdu, Sichuan 610041, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the in vitro activities of combination of fosfomycin and tobramycin (FTI) against common pathogenic bacteria of chronic respiratory infections, so as to provide a base for the treatment of chronic respiratory infections caused by these common pathogenic bacteria. **Methods** The MIC of FTI (fosfomycin : tobramycin was 4 : 1), fosfomycin and tobramycin against 97 tobramycin-resistant strains were detected by agar dilution method and broth dilution method, respectively. The fractional inhibitory concentration (FIC) index was calculated according to MIC values. **Results** The MIC of FTI against 97 tobramycin-resistant strains were significantly lower than those of fosfomycin and tobramycin. Fosfomycin and tobramycin showed synergism in 80.4% of the strains, additivity in 16.5% of the strains, non-interaction in only 3.1% of the strains. There was no strain antagonizing FTI. **Conclusion** The combination of tobramycin and fosfomycin have good synergistic and additive effects against common pathogenic bacteria of chronic respiratory infections, and synergies is the main performance.

【Key words】 fosfomycin; tobramycin; fractional inhibitory concentration; minimal inhibitory concentration

金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌是临床痰标本中常见的几种细菌,多来源于肺囊性纤维化或服用免疫抑制剂的患者^[1]。近年来随着抗菌药物的大量使用,3 种细菌的耐药率呈逐年上升趋势并出现了一些多重耐药甚至泛耐药菌株。磷霉素是一种经胃肠外给药且毒性极小的磷酸抗菌药物,对革兰阳性和革兰阴性细菌均有效,能抑制细菌细胞壁肽聚糖的合成^[2-3]。磷霉素性质稳定,具有良好的耐受性和临床效果,因而常被用于治疗泌尿道轻微感染,但对于严重的泌尿道感染并不推荐使用。相反,氨基糖苷类药物常被用于治疗各种细菌引起的感染,但其大量使用也导致其耐药率不断攀升,且其潜在的肾毒性和细胞毒性也限制了此类药物的大量使用^[4]。妥布霉素是一种对革兰阴性菌尤其有效的氨基糖苷类药物,它通过抑制细菌蛋白质的合成而快速杀灭细菌,但其具有肾毒性和耳毒性的不良反应,尤其在长期大量使用妥布霉素容易导致毒性的累积,容易导致严重的毒副作用^[5]。为探讨是否能通过这两种药物的联合应用,以达到最大的抗菌疗效及对患者最小的

毒副作用,国外学者研究发现磷霉素与妥布霉素按质量比 4 : 1 的比例混合对治疗支气管扩张具有一定疗效^[6]。故本研究通过磷霉素与妥布霉素(4 : 1)联合使用与两种药物分别应用对下呼吸道感染常见 3 种细菌抗菌效果进行比较,探讨治疗难治性下呼吸道感染更有效的方法,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 质控菌株铜绿假单胞菌(ATCC 27853)、大肠埃希菌(ATCC 25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、粪肠球菌(ATCC 29212)均来源于美国菌种保藏中心(ATCC),所有菌株对妥布霉素最低抑菌浓度(MIC)范围为 0.25~1 024 mg/L,对磷霉素的 MIC 范围为 0.1~409.6 mg/L。所有菌株的 MIC 值均参照临床实验室标准化委员会(CLSI)标准经 3 次重复试验进行鉴定,结果在 CLSI 标准范围内。33 株金黄色葡萄球菌、32 株铜绿假单胞菌和 32 株肺炎克雷伯菌均分离自四川省肿瘤医院的痰液标本,每种细菌至少有 30 株对妥布霉素不敏感,而这些细菌可对阿米卡星和庆大霉素敏感或不敏感,

根据细菌对妥布霉素/庆大霉素/阿米卡星的敏感(S)或耐药(R)情况,可分为 4 种类型:R/R/R、R/S/S、R/S/R、R/R/S,3 种细菌在 4 种类型中分布见表 1。

表 1 97 株对妥布霉素不敏感菌株的特征

菌株名称	n	对妥布霉素/庆大霉素/阿米卡星 S 或 R			
		R/R/R	R/S/S	R/S/R	R/R/S
金黄色葡萄球菌	33	18	7	1	7
铜绿假单胞菌	32	26	0	3	3
肺炎克雷伯菌	32	25	0	4	3

注:R 表示耐药,S 表示敏感。

1.2 抗菌药物 磷霉素钠、硫酸妥布霉素、葡萄糖-6-磷酸均购自西格玛奥德里奇。

1.3 磷霉素和妥布霉素混合试剂(FTI)配制 FTI 按照质量比 4∶1 比例配制,磷霉素和 FTI 的所有反应孔均加入葡萄糖-6-磷酸使其最终浓度达到 25 mg/L。

1.4 MIC 值检测 所有的 MIC 值均通过琼脂平板稀释法和微量肉汤稀释法两种方法进行检测,MIC 值为在 35 ℃ 孵育 18~24 h 后肉眼可见生长被抑制的最低浓度,FTI 的 MIC 值为两种药物按质量比 4∶1 的混合浓度(如 FTI5 mg/L=4 mg/L 磷霉素+1 mg/L 妥布霉素)。97 株细菌的 MIC 值都分别用妥布霉素 0.25~1 024 mg/L、磷霉素 0.1~409.0 mg/L 及 FTI 的所有浓度进行检测,所有操作均参照 CLSI 标准进行。

1.5 部分抑菌浓度(FIC)指数的计算及结果判读 FIC 指数=甲药联合应用/甲药单独使用 MIC+乙药联合应用/乙药单独使用 MIC,当 FIC 指数小于或等于 0.5 时为协同作用。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。

2 结 果

2.1 质控菌株的 MIC 值 质控菌株铜绿假单胞菌(ATCC 27853)、大肠埃希菌(ATCC 25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、粪肠球菌(ATCC 29212)对妥布霉素和磷霉素的 MIC 值均在国际标准参考范围内。

2.2 单独使用妥布霉素和加入磷霉素后所有菌株的 MIC 值比较 对于 97 株对妥布霉素不敏感的菌株,与单独使用妥布霉素组相比,FTI 组对所有菌株的 MIC₅₀ 值从 32 mg/L 降至 4 mg/L。加入磷霉素后与单独使用妥布霉素相比,所有菌株的 MIC 最高值从大于 512 mg/L 降至 64 mg/L。对于金黄色葡萄球菌,单独使用妥布霉素组的 MIC₅₀ 值是 FTI 组的 4 倍,对于铜绿假单胞菌和肺炎克雷伯菌,单独使用妥布霉素组的 MIC₅₀ 值均是 FTI 组的 8 倍(表 2)。

表 2 妥布霉素单独使用及与磷霉素联合使用的 MIC 值(mg/L)

菌株名称	n	妥布霉素的 MIC ₅₀ 和 MIC 值范围	
		妥布霉素	FTI
金黄色葡萄球菌	33	16(4~256)	4(2~64)
铜绿假单胞菌	32	64(8~>512)	8(4~64)
肺炎克雷伯菌	32	32(4~>512)	4(2~64)
所有菌株	97	32(4~>512)	4(2~64)

2.3 单独使用磷霉素和加入妥布霉素后所有菌株的 MIC 值比较 对于 97 株对妥布霉素不敏感的菌株,与单独使用磷霉素组相比,FTI 组对所有菌株的 MIC₅₀ 值从 51.2 mg/L 降至 6.4 mg/L。加入妥布霉素后与单独使用磷霉素相比,所有菌株的 MIC 最高值从 204.8 mg/L 降至 25.6 mg/L。对于金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和肺炎克雷伯菌,单独使用磷霉素组的 MIC 值均是 FTI 组的 8 倍(表 3)。

表 3 磷霉素单独及与妥布霉素联合使用的 MIC 值(mg/L)

菌株名称	n	磷霉素的 MIC ₅₀ 和 MIC 值范围	
		磷霉素	FTI
金黄色葡萄球菌	33	25.6(3.2~102.4)	3.2(1.6~25.6)
铜绿假单胞菌	32	51.2(12.8~204.8)	6.4(3.2~25.6)
肺炎克雷伯菌	32	25.6(3.2~102.4)	3.2(6.4~25.6)
所有菌株	97	51.2(3.2~204.8)	6.4(1.6~25.6)

2.4 妥布霉素与磷霉素联合应用的 FIC 指数构成比 妥布霉素与磷霉素联合应用对 97 株妥布霉素不敏感慢性呼吸道感染常见菌 FIC≤0.5 为 78 株(80.4%),FIC>0.5~1.0 为 16 株(16.5%),FIC>1.0~2.0 为 3 株(3.1%),无 FIC>2.0 的菌株,即无拮抗作用发生。

3 讨 论

本研究主要探讨磷霉素与妥布霉素的联合应用对呼吸道感染最常见 3 种细菌的体外抗菌效果,磷霉素被选为联合应用的主要成分(80%),是因为它对革兰阳性和革兰阴性细菌均能达到良好的杀菌效果,同时又具有很好的安全性能。然而磷霉素的抗菌过程具有时间依赖性,对铜绿假单胞菌等易产生多重耐药的革兰阴性细菌效果一般,且其极高的突变率也容易导致细菌耐药^[7-8]。妥布霉素的抗菌效果快,具有浓度依赖性,对多重耐药的革兰阴性菌感染非常有效且不易导致细菌耐药,但妥布霉素在联合应用中只占一小部分(20%),主要是为了减少氨基糖苷类药物堆积而产生的毒副作用。合并多种细菌感染是以慢性呼吸道感染为特征的多种肺部疾病致病或致死的重要原因,其中最重要的就是铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和金黄色葡萄球菌,且他们的耐药率呈逐年上升的趋势,因而本研究将这 3 种细菌作为主要研究对象。

本研究结果发现,对于 97 株对妥布霉素不敏感的菌株,与单独使用磷霉素或妥布霉素相比,磷霉素与妥布霉素按 4∶1 的比例联合应用后,其效力大大增强。磷霉素中加入妥布霉素后能使抑制所有菌株的最低磷霉素浓度从 204.8 mg/L 降至 25.6 mg/L;在妥布霉素中加入磷霉素后能使抑制所有菌株的最低妥布霉素浓度从大于 512 mg/L 降至 64 mg/L。近年来,抗菌药物的联合应用已成为治疗难治性慢性呼吸道感染的热点,有研究发现,头孢他啶与阿米卡星在治疗铜绿假单胞菌引起的呼吸机相关肺炎中能起到很好的效果,并有可能阻止细菌耐药的产生^[9]。磷霉素与氨基糖苷类中的阿米卡星联合应用可用于治疗由于机械通气引起的呼吸机相关支气管炎和肺炎,且二者联合应用对治疗对阿米卡星不敏感的革兰阴性菌感染效果显著,联合应用后能使抑制所有菌株的最低阿米卡星浓度和最低磷霉素浓度大大降低,这与本研究中磷霉素和妥布霉素联合应用后的效果类似,磷霉素与其他氨基糖苷类药物联合应

用是否会具有类似的效果还有待进一步研究^[10-11]。

以慢性呼吸道感染为特征的多种疾病易产生抗菌药物耐药是目前受到极大关注的一个问题,这些患者对目前常用的抗菌药物普遍耐药,使他们的临床用药受到很大限制。当病情加重时,抗菌药物的联合应用普遍用于延缓细菌对抗菌药物耐药的产生,因而本研究将磷霉素与妥布霉素联合应用以期达到这样的效果。磷霉素在日本和欧洲用于治疗尿路感染已超过 20 年,但已报道的尿道感染常见菌(大肠杆菌)对其耐药率仍低于 2%,磷霉素还能减轻氨基糖苷类药物产生的肾毒性^[12]。由于妥布霉素在联合应用中的成分只占 20%,因而其毒性也能得到大幅度减低,因而磷霉素与妥布霉素的联合应用具有很好的应用前景,其体内应用效果及安全性还有待进一步验证和研究。

参考文献

- [1] Campodónico VL, Gadjeva M, Paradis-Bleau C, et al. Airway epithelial control of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis[J]. Trends Mol Med, 2008, 14(3): 120-133.
- [2] Arnold HM, Sawyer AM, Kollef MH. Use of adjunctive aerosolized antimicrobial therapy in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia[J]. Respir Care, 2012, 57(8): 1226-1233.
- [3] Grif K, Dierich MP, Pfaller K, et al. In vitro activity of fosfomycin in combination with various antistaphylococcal substances[J]. J Antimicrob Chemother, 2001, 48(2): 209-217.
- [4] Falagas ME, Matthaiou DK, Karveli EA, et al. Meta-analysis: randomized controlled trials of clindamycin/aminoglycoside vs. beta-lactam monotherapy for the treatment of intra-abdominal infections[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2007, 25(5): 537-556.
- [5] Al-Aloul M, Miller H, Alapati S, et al. Renal impairment in cystic fibrosis patients due to repeated intravenous ami-

- noglycoside use[J]. Pediatr Pulmonol, 2005, 39(1): 15-20.
- [6] MacLeod DL, Barker LM, Sutherland JL, et al. Antibacterial activities of a fosfomycin/tobramycin combination: a novel inhaled antibiotic for bronchiectasis[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 64(4): 829-836.
- [7] Abu-Salah T, Dhand R. Inhaled antibiotic therapy for ventilator-associated tracheobronchitis and ventilator-associated pneumonia: an update[J]. Adv Ther, 2011, 28(9): 728-747.
- [8] Nilsson AI, Berg OG, Aspevall O, et al. Biological costs and mechanisms of fosfomycin resistance in *Escherichia coli*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(9): 2850-2858.
- [9] Lu Q, Yang J, Liu Z, et al. Nebulized ceftazidime and amikacin in ventilator-associated pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 184(1): 106-115.
- [10] Montgomery AB, Vallance S, Abuan T, et al. A randomized double-blind placebo-controlled dose-escalation phase 1 study of aerosolized amikacin and fosfomycin delivered via the PARI investigational eFlow® inline nebulizer system in mechanically ventilated patients[J]. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv, 2014, 27(6): 441-448.
- [11] Montgomery AB, Rhomberg PR, Abuan T, et al. Potentiation effects of amikacin and fosfomycin against selected amikacin-nonsusceptible Gram-negative respiratory tract pathogens[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(7): 3714-3719.
- [12] Luyt CE, Bréchet N, Combes A, et al. Delivering antibiotics to the lungs of patients with ventilator-associated pneumonia: an update[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2013, 11(5): 511-521.

(收稿日期: 2015-03-12 修回日期: 2015-06-15)

(上接第 3478 页)

- [2] 胡晓, 刘晓璐, 郭仁勇. 部分地区健康人群 D-二聚体参考范围的建立[J]. 浙江预防医学, 2013, 25(7): 92-94.
- [3] 方怡, 王鸿利. D-二聚体不同检测方法在深静脉血栓和肺栓塞诊断中的选择及其意义[J]. 诊断学理论与实践, 2005, 4(5): 420-422.
- [4] 王鸿利, 王学锋. D-二聚体检测的方法及其临床应用[J]. 中华医学杂志, 2004, 84(2): 171-173.
- [5] Jennings I, Woods TA, Kitchen DP, et al. Laboratory D-dimer measurement: improved Agreement between methods through calibration[J]. Thromb Haemost, 2007, 98(5): 1127-1135.
- [6] Lippi G, Favaloro EJ. D-dimer measurement and laboratory feedback[J]. J Emerg Med, 2009, 37(1): 82-83.

- [7] 彭吉芳, 乐丽霞, 扈新爱. 健康人血浆 D-二聚体正常参考值调查分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2012, 11(8): 626-628.
- [8] Harper PL, Theakston E, Ahmed J, et al. D-dimer concentration increases with age reducing the clinical value of the D-dimer assay in the elderly [J]. Intern Med J, 2007, 37(9): 607-613.
- [9] Prisco D, Grifoni E. The role of D-dimer testing in patients with suspected venous thromboembolism [J]. Semin Thromb Hemost, 2009, 35(1): 50-59.
- [10] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科技文献出版社, 2004: 136-139.

(收稿日期: 2015-03-21 修回日期: 2015-06-20)