

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.06.025

头孢他啶-阿维巴坦在耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌中的药物敏感性分析

王 琴, 邹自英, 谭积善, 刘 媛, 熊 杰[△]

(中国人民解放军西部战区总医院检验科, 成都 610083)

摘要:目的 了解新药头孢他啶-阿维巴坦(CZA)在耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)中的药物敏感性,为临床合理用药提供依据。**方法** 选取 2015—2017 年从临床各科标本中分离获得的 96 株 CRKP,用改良碳青霉烯灭活试验(mCIM 试验)和乙二胺四乙酸(EDTA)协同碳青霉烯灭活试验(eCIM 试验)检测碳青霉烯酶,用 K-B 法检测 CZA 的药物敏感性。**结果** 96 株 CRKP 中,mCIM 阳性 44 株(45.83%)、eCIM 阳性 20 株(20.83%)、产丝氨酸酶 24 株(25.00%)、产金属酶 20 株(20.83%)、CZA 敏感 78 株(81.25%)。其中,疑为假敏感 2 株。**结论** CZA 对 CRKP 存在着较高的敏感性,检测 CRKP 是否产碳青霉烯酶,以及产酶类型的检测更有利于指导临床对该药物的合理使用。

关键词:头孢他啶-阿维巴坦; 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌; 药物敏感性试验**中图法分类号:**R446.5**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2019)06-0802-03

Analysis of the drug sensibility of Ceftazidime-avibactam in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*

WANG Qin, ZOU Ziyang, TAN Jishan, LIU Yuan, XIONG Jie[△]

(Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Western Command of PLA, Chengdu, Sichuan 610083, China).

Abstract: **Objective** To investigate the drug sensibility of Ceftazidime-avibactam (CZA) in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP), so as to provide a basis for rational use of drugs in clinical practice. **Methods** A total of 96 strains of CRKP were isolated from clinical specimens in 2015—2017. MCIM test and eCIM test was used to detect carbapenemases. And K-B test was used to detect the drug sensibility of CZA. **Results** For the species from which were chosen from CRKP was examined mCIM positive were 44 strains (45.83%). ECIM positive were 20 strains (20.83%). In the test, 24 serine carbapenemase were detected (25.00%). And 20 metallo- β -lactamase were detected (20.83%). In the drug sensitivity test of CAZ, 78 strains were detected (81.25%), while there were 2 fake sensitive. **Conclusion** CZA is highly sensitive to CRKP. It is beneficial to guide the rational use of the CAZ in clinic according to detected whether CRKP produces carbapenemase.

Key words: ceftazidime-avibactam; carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; drug sensitivity test

在我国,革兰阴性肠杆菌科肺炎克雷伯菌是院内感染占第 2 位的致病菌^[1]。随着抗菌药物长期、大量使用,造成细菌耐药性逐渐增强,耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)检出逐年增多,给临床治疗带来了很大的困难,临床迫切需要新的抗菌药物来应对困难。头孢他啶-阿维巴坦(CZA)由第 3 代头孢菌素头孢他啶(CAZ)和 β -内酰胺酶抑制剂阿维巴坦组合而成。阿维巴坦能够恢复或增强头孢他啶抗菌活性,该组合对耐药革兰阴性细菌具有强有力的杀菌活性。本文对本院 2015—2017 年检测出的 96 株 CRKP 对 CZA 的药物敏感性进行分析,为临床合理用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源

选择 2015—2017 年临床各科标本

中分离获得的 96 株 CRKP,去除重复菌株。CRKP 选取碳青霉烯类抗菌药物不敏感(中介或耐药)的肺炎克雷伯菌,即依据 2018 年美国临床和实验室标准协会(CLSI)M100 标准亚胺培南(IMI)最低抑菌浓度(MIC) $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ 和(或)厄他培南(ETP)最低抑菌浓度(MIC) $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ 的肺炎克雷伯菌。

1.2 仪器与试剂 VITEK2 COMPACT 全自动微生物分析鉴定仪、GNI 鉴定卡、AST-GN13 药敏卡均为法国梅里埃公司产品。美罗培南、IMI、ETP 纸片为北京天坛生物科技有限公司产品。MH 琼脂平板为郑州贝瑞特生物公司产品。胰酪胨大豆肉汤培养基(TSB)为 Oxoid 产品。CZA 纸片由阿斯利康公司赠予。质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922、阴沟肠杆菌 ATCC700323、肺炎克雷伯菌 ATCCBAA1705、

ATCCBAA1706 和 ATCCBAA2146 购自中国工业菌种保藏所。

1.3 方法

1.3.1 菌株鉴定和药敏试验 严格按照《全国临床检验操作规程(第 3 版)》采集分离培养标本,获得纯培养后,采用 GNI 鉴定卡和 AST-GN13 药敏卡在 VITEK2 COMPACT 鉴定仪上进行菌株鉴定和药物敏感试验,并用纸片扩散法(K-B)作为补充试验,复核药敏结果。K-B 法检测 CZA 的药物敏感性试验方法严格按《全国临床检验操作规程(第 3 版)》操作。改良碳青霉烯灭活试验(mCIM 试验)和乙二胺四乙酸(EDTA)协同碳青霉烯灭活试验(eCIM 试验)严格按照 2018 年 CLSI M100 操作^[1]。

1.3.2 结果判读 K-B 法检测 CZA 的药物敏感性试验方法结果判读标准:CAZ 抑菌环 ≥ 21 mm 判为敏感^[2]。mCIM 试验结果判定标准:美罗培南抑菌圈直径为 6~15 mm 或直径为 16~18 mm 但抑菌圈内有散在菌落则该试验结果为阳性,待测株产生碳青霉烯酶,纸片中的美罗培南被该酶降解,结果为无抑菌圈或抑制大肠埃希菌 ATCC25922 的活性降低;抑菌圈直径 ≥ 19 mm 该试验结果为阴性,待测菌株不产碳青霉烯酶,纸片中的美罗培南不被水解,仍能抑制大肠埃希菌 ATCC 25922 的生长。eCIM 试验与 mCIM 结果相比,若美罗培南抑菌圈直径之差 ≥ 5 mm,待测菌株产金属酶,与不含 EDTA 管相比,该酶活性将被 EDTA 抑制,纸片中的美罗培南不被水解,仍能抑制大肠埃希菌 ATCC 25922 的生长;eCIM 试验与 mCIM 结果相比,若美罗培南抑菌圈或直径之差 ≤ 4 mm,待测菌株产生丝氨酸碳青霉烯酶,该酶活性将不受 EDTA 影响^[2]。

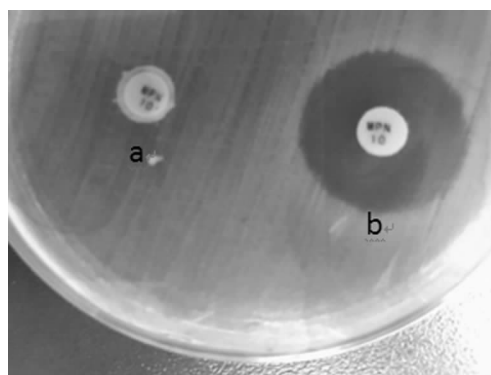
1.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel2010 对数据进行整理。

2 结 果

2.1 CRKP 标本来源 96 株 CRKP 标本来自痰液 62 株(64.58%)、尿液 14 株(14.58%)、血液 8 株(8.33%)、分泌物 4 株(4.17%)、其他标本 8 株(8.33%)。

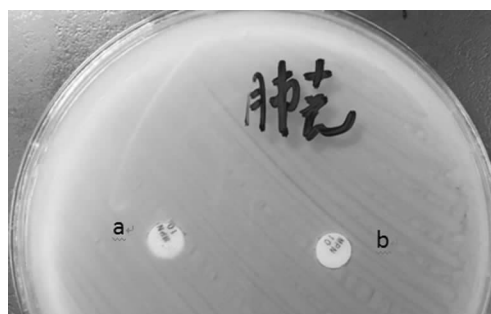
2.2 CRKP 分布科室构成 96 株 CRKP 来源于干部病房 20 株(20.83%)、脑外科 18 株(18.75%)、重症监护病房 8 株(8.33%)、普外 8 株(8.33%)、泌尿外科 6 株(6.25%)、心脏外科 6 株(6.25%)、其他科室 30 株(31.25%)。

2.3 mCIM、eCIM 及 K-B 法药敏结果 96 株 CRKP 中,mCIM 阳性 44 株(45.83%)、eCIM 阳性 20 株(20.83%)、产丝氨酸酶 24 株(25.00%)、产金属酶 20 株(20.83%)、CZA 敏感 78 株(81.25%),其中,可疑假敏感性 2 株。mCIM 试验和 eCIM 试验结果见图 1~2。



注:a 为 mCIM 阳性(抑菌环直径为 6 mm);b 为 eCIM 阳性(抑菌环直径为 22 mm)

图 1 产金属酶菌株 eCIM 试验与 mCIM 试验结果



注:a 为 mCIM 阳性(抑菌环直径为 6 mm);b 为 eCIM 阴性(抑菌环直径为 6 mm)

图 2 产丝氨酸酶菌株 eCIM 试验与 mCIM 试验结果

3 讨 论

目前,肺炎克雷伯菌的分离率和耐药率都出现上升的趋势,全耐药、耐碳青霉烯类高毒力菌株越来越多^[3-5]。肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制较多,包括碳青霉烯酶的产生、细菌外膜渗透性改变、主动外排系统活跃、细菌生物膜的产生以及细菌对药物的修饰机制^[6-7]。其中,最为重要的耐药机制为碳青霉烯酶的产生。碳青霉烯酶根据氨基酸序列分类可将 β -内酰胺酶分为 A、B、C、D 4 类,其中 A、B 和 D 类具有水解碳青霉烯类活性的酶被称为碳青霉烯酶。其中 A 类主要包括 KPC、SME、IMI、NMC、GES,B 类主要包括 NDM-1、IMP、VIM、GIM、SPM;D 类主要是 OXA。A 和 D 类为丝氨酸酶,B 类称为金属酶^[8],肠杆菌科细菌最常见的为 A 类和 B 类。本研究中,采用 mCIM 试验检测碳青霉烯酶,而 mCIM 试验与 eCIM 试验联合使用以区分产金属酶和产丝氨酸酶的 CRKP。

阿维巴坦是 β -内酰胺类 β -内酰胺酶抑制剂, β -内酰胺酶丝氨酸能亲核攻击阿维巴坦酰胺键,开环形成酶-抑制剂复合体,而对酶产生抑制,且不发生水解,再经环合成形成内酰胺环又得阿维巴坦;其攻击阿维巴坦导致开环的速率远远大于合环从而使 β -内酰胺酶基本处于抑制状态^[7-10]。阿维巴坦可广泛抑制 A、C 类和某些 D 类的 β -内酰胺酶而对 B 类酶无效。本研究中,产丝氨酸酶 24 株,占 25.00%;产金属酶 20 株,

占 20.83%,且有 2 株 CRKP,采用 mCIM 试验与 eCIM 试验联合检测为产金属酶,而 CZA 敏感,再次复核 2 株菌株仍为 mCIM 阳性,eCIM 阳性且 CZA 敏感;分析发现这 2 例均曾多次送检,其 CAZ、IMI、ETP 结果均为耐药,且药敏结果与第 1 次检出一致,显示 K-B 法检测 CZA 的药敏结果可能存在着一定的假敏感性,应用分子方法检测其是否产金属酶。研究表明,如果感染患者一开始选择的治疗药物不当,即使后来调整为敏感的抗菌药物,也不能提高患者的生存率^[9]。所以检测 CRKP 是否产酶及产酶类型与药敏试验结果结合病情综合考虑,制订合理的用药方案,尽量避免频繁更换抗菌药物,更有助于指导临床用药,减少耐药菌株的产生^[10-11]。与其他酶抑制剂相比,阿维巴坦自身结构可经逆反应恢复而具有长效的抑制酶作用,且阿维巴坦不会诱导 β 内酰胺酶的产生,显示出在克服细菌产 β 内酰胺酶耐药难题的潜能^[12-15]。本研究显示,CZA 对 CRKP 的敏感性可达 81.25%,对不产酶的和产丝氨酸的 CRKP 敏感性可达 100.00%。

综上所述,CZA 对 CRKP 存在着较高的敏感性,且不易产生耐药,是值得期待的新药。而采用 mCIM 试验和 eCIM 试验检测 CRKP 是否产碳青霉烯酶,以及产酶类型的检测更有利于指导临床对该药物的合理使用。

参考文献

[1] 田磊,陈中举,孙自镛,等. 2005—2014 年 CHINET 肠杆菌属细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2016,16(3):275-283.

[2] CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100[S]. 28th. Wayne, PA, USA: CLSI, 2018:112-122.

[3] 崔畅,朱卫民,唐小红. 2010—2013 年我院肺炎克雷伯菌感染的临床及耐药分析[J]. 中国抗生素杂志,2015,40

(5):372-381.

[4] 魏丹丹,陈可奇,王莲慧,等. 重症监护病房高毒力肺炎克雷伯菌感染的临床与分子特征[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(22):5056-5059.

[5] 汪强,葛玉梅,刘建芳,等. 肝脓肿高毒力肺炎克雷伯菌耐药性及毒力基因型流行性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(24):5531-5533.

[6] CHEN L, MATHEMA B, CHAVDA K D, et al. Carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding[J]. Trends Microbiol, 2014, 22(12): 686-696.

[7] 杨柳,张智洁,秦晓松. 肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类的耐药机制与危险因素[J]. 中国抗生素杂志,2018,43(2): 163-168.

[8] BUSH K, JACOBY G A. Updated functional classification of beta-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(3): 969-976.

[9] 胡忠杰,苗佩宏. 循证药学与合理使用抗菌药物[J]. 医药导报,2008,27(6):721-723.

[10] 倪明,田德英. 细菌耐药——挑战与对策[J]. 医药导报,2016,35(3):219-223.

[11] 白慧,韩冬茹,文友民,等. 165 例感染性疾病临床会诊分析[J]. 医药导报,2016,35(12):1374-1378.

[12] 杨帆,王明华. 值得期待的新 β 内酰胺酶抑制剂阿维巴坦及其复合制剂[J]. 第三军医大学学报,2013,35(23): 2498-2501.

[13] 曾志旋,曹胜华,陈林. 新型 β 内酰胺酶抑制剂——阿维巴坦的研究进展[J]. 国外医药抗生素分册,2014,35(2): 58-62.

[14] 徐泽奇,徐泽宇. 抗革兰阴性细菌感染抗生素的研发新进展[J]. 药学报,2013,48(7):993-1004.

[15] 林惠贞,方松柏,赵宏伟,等. 治疗革兰阴性细菌感染的新型抗菌药物头孢他啶-阿维巴坦[J]. 医药导报,2016,35(7):735-738.

(收稿日期:2018-08-12 修回日期:2018-12-22)

(上接第 801 页)

Method comparison and bias estimation using patient samples: EP9-A2[S]. 2nd ed. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.

[5] 陈红燕,裘海文. 检验结果参考变化值建立的探讨[J]. 检验医学,2015,30(5):529-532.

[6] 吴际,郑卫东,李广华,等. 不同检测系统凝血四项结果的可比性验证[J]. 临床输血与检验,2015,17(1):26-29.

[7] 许安春,熊大迁,杨芳. 不同分析质量要求在血细胞分析多系统极差检验可比性验证方案中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(7):900-902.

[8] 中华人民共和国卫生行业标准. 医疗机构内定量检验结果的可比性验证指南: WS/T 407-2012[S]. 北京: 中华人

民共和国卫生部,2012.

[9] 中华人民共和国行业标准. 临床血液学检验常规项目分析质量要求: WS/T 406-2012[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部,2012.

[10] 魏昊,丛玉隆. 中国实验室国家认可委员会技术委员会医学分会. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京: 中国计量出版社,2004:72-75.

[11] 曹荣桂,申子瑜. 医院管理学-临床实验室管理分册[M]. 北京: 人民卫生出版社,2003:143.

[12] 中国合格评定国家认可中心(CNAS). 医学实验室——质量和能力的特殊要求[M]. 北京: CNAS,2012.

(收稿日期:2018-08-20 修回日期:2018-12-21)