

优化抗生素联合应用的研究

张丽华 王凌峰 孟昭彦 于庆萍 高柏青 巴特 王晓冬 马文慧 李跃宇 张军

【摘要】 目的 了解环丙沙星、阿米卡星与抗铜绿假单胞菌的 β 内酰胺类药物体外联用的抗菌活性,优化抗生素治疗方案。方法 采用棋盘法设计,微量肉汤稀释法测定上述抗生素不同组合对 33 株临床分离的铜绿假单胞菌的最低抑菌浓度 (MIC),判定联合效应,计算其药代动力学/药效学 (PK/PD) 参数。结果 阿米卡星与头孢他啶联用主要表现为协同作用,协同比率为 57.6%;环丙沙星与头孢他啶、头孢吡肟、亚胺培南/西司他丁、美罗培南联用以协同和相加作用为主。氨基糖苷类和氟喹诺酮类抗生素,在 PK/PD 研究中,以血药浓度峰值 (C_{max})/MIC 为主要参数; β 内酰胺类抗生素以血药浓度超过 MIC 的时间 ($T > MIC$) 为主要参数。结论 抗菌药物联用后, MIC 显著降低,抗菌作用明显增强。所有抗生素的联用均以协同和相加作用为主,无拮抗作用。PK/PD 研究,对制定合理给药方案、提高临床疗效具有重要作用。

【关键词】 抗菌药; 药代动力学; 假单胞菌,铜绿; 微生物敏感性试验; 药效学

Optimization of antibiotics in combination ZHANG Li-hua, WANG Ling-feng, MENG Zhao-yan, YU Qing-ping, GAO Bai-qing, BA Te, WANG Xiao-dong, MA Wen-hui, LI Yao-yu, ZHANG Jun. Department of Pharmacy, the Third Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Baotou 014010, P. R. China. Corresponding author: WANG Ling-feng, Email: wlf7413@vip.sina.com, Tel: 0472-5992882

【Abstract】 Objective To evaluate the antibacterial activity of Ciprofloxacin, Amikacin in combination with β -lactams against Pseudomonas aeruginosa strains in vitro, to optimize treatment regime for antibiotics on the basis of pharmacokinetics (PK)/pharmacodynamics (PD) and drug sensitivity tests. Methods With checkerboard titration method, the minimal inhibitory concentrations (MIC) of a combination of antibiotics in different concentrations for 33 clinically isolated Pseudomonas aeruginosa strains were determined by broth dilution. Fractional inhibitory concentrations (FIC) were calculated for judging synergic effect of antibiotics. Results The combination of Amikacin and Ceftazidime showed synergic effects (accounting for 57.6%). The combinations of Ciprofloxacin with Ceftazidime, Cefepime, Imipenem/Cilastatin, Meropenem showed synergic or additive effect. In the study with PK/PD, C_{max}/MIC was the principal parameters for evaluation of aminoglycoside and fluoroquinolone antibiotics, while $T > MIC$ was the principal parameter to be used to evaluate β -lactams antibiotics. Conclusion When antibiotics are used in combination, MICs can be reduced significantly and antibacterial activities are enhanced remarkably. The combination of antibiotics results mainly in synergic or additive effect, and no inhibitory effect is observed. PK/PD analysis plays an important role in planning optimal combination regime to raise clinical efficacy.

【Key words】 Anti-bacterial agents; Pharmacokinetics; Pseudomonas aeruginosa; Microbial sensitivity tests; Pharmacodynamics

随着抗生素的普遍应用,具有多重耐药性的铜绿假单胞菌菌株日益增多。目前,临床上多采用联合应用抗生素的治疗方式,药代动力学/药效学 (PK/PD) 的研究成为现代治疗学的热点。根据 PK/PD、最低抑菌浓度 (MIC) 制定给药方案,对提高临床疗效、降低不良反应、防止耐药菌的产生具有重要作用。笔者通过对铜绿假单胞菌进行体外药物敏

感试验,结合 PK/PD 参数,为临床制定合理用药方案、控制严重铜绿假单胞菌感染提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料来源

33 株铜绿假单胞菌为 2006 年 1—12 月从笔者医院烧伤病房和重症监护病房送检标本中分离所得,其中创面分泌物 23 株、痰液 10 株。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853,均购自卫生部临床检验中心微生物室。阿米卡星 (效价 655 U/mg,批号 130335-200204)、环丙沙星 (含量 84.9%,批号 130451-200302)、头孢他啶 (含量 84.2%,批号 130484-200502)、头孢吡肟 (含

基金项目:内蒙古包头医药卫生基金 (2006-49)

作者单位:014010 包头,内蒙古医学院第三附属医院药剂科 (张丽华、高柏青、王晓冬),烧伤科 (王凌峰、巴特、张军),检验科 (孟昭彦、于庆萍、马文慧、李跃宇)

通讯作者:王凌峰, Email: wlf7413@vip.sina.com, 电话: 0472-5992882

量 83.0%, 批号 130524-200502)、美罗培南(含量 87.2%, 批号 130506-200401)均购自北京天坛药物生物技术开发公司,亚胺培南/西司他丁(批号 20060106)购自杭州默沙东制药有限公司。肉汤培养基(M-H,英国 Oxoid 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细菌悬液和抗生素储备液的制备 将细菌用等渗盐水稀释、比浊, M-H 肉汤稀释至 1.5×10^6 集落形成单位(CFU)/mL。选取适量的头孢他啶、头孢吡肟、亚胺培南/西司他丁、美罗培南、环丙沙星,分别用 pH 值 6.0、7.0 的磷酸盐缓冲液(PBS)溶解,阿米卡星以 pH 值 7.8 的 PBS 溶解,使抗生素储备液的浓度为 3.84 g/L,置 4℃ 冰箱保存备用。

1.2.2 微量肉汤稀释法 参照文献[1]操作。将抗生素储备液以灭菌 PBS 倍比稀释成 3.84、1.92、0.96…… 9.45×10^{-4} g/L,取上述抗生素药液各 1 mL,分别加入 14 mL 肉汤中,得到 256、128、64、32……0.063 mg/L 等系列浓度。再将上述稀释的不同浓度的抗生素按棋盘法设计,两两组合加入 96 孔培养板中(每种抗生素取 50 μL),取 1.5×10^6 CFU/mL 的菌液 100 μL 加入孔中,37℃ 过夜培养。记录单独应用两药的 MIC,并选择达最佳组合效应的 MIC_{甲药联用} 和 MIC_{乙药联用}。

1.2.3 抗生素的体外联合效应 实验过程中均以质控菌株的 MIC 判断是否符合美国国家临床实验室标准化委员会标准,计算抑制 50%、90% 的菌株生长所需的最低抗生素浓度(MIC₅₀、MIC₉₀)及 MIC 的几何均数(MIC_G)。抑菌浓度指数(FIC) = $MIC_{甲药联用} \div MIC_{甲药单用} + MIC_{乙药联用} \div MIC_{乙药单用}$,用以

判断抗生素的联合效应。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。

1.2.4 PK/PD 参数计算方法 (1)对时间依赖性抗生素,常取血药浓度超过 MIC 的时间(T > MIC)为 40% ~ 50% 的给药间隔^[2]。(2)对浓度依赖性抗生素,氨基糖苷类:血药浓度峰值(C_{max})/MIC ≥ 8 ~ 10,临床有效率可达 90%^[3];氟喹诺酮类:C_{max}/MIC ≥ 10 ~ 12^[4],可达最大杀菌率。

2 结果

2.1 环丙沙星联合 4 种 β 内酰胺类抗生素的抑菌效果

上述抗生素的联合效应以协同和相加作用为主,无拮抗作用,见表 1。

2.2 头孢他啶联合阿米卡星的抑菌效果

2 种抗生素体外联合效应为协同作用 19 株(57.6%),相加作用 14 株(42.4%),无关、拮抗作用 0 株。

2.3 几种抗生素联用的 MIC

抗生素联用后, MIC 显著降低,抗菌作用明显增强。联用比单用下降 2 ~ 3 个稀释倍数。见表 2。

2.4 PK/PD 参数

2.4.1 时间依赖性抗生素 4 种 β 内酰胺类抗生素的用量、C_{max}、给药时间间隔^[5]、MIC(与环丙沙星联合)值及维持最佳疗效所需 T > MIC 见表 3。

2.4.2 浓度依赖性抗生素 氨基糖苷类、氟喹诺酮类抗生素的剂量、C_{max}、MIC(与头孢他啶联合)及获取最佳治疗效果的 C_{max} 见表 4。

表 1 环丙沙星联合 4 种 β 内酰胺类抗生素对 33 株铜绿假单胞菌的体外联合效应

抗生素类别	协同作用		相加作用		无关		拮抗作用	
	菌数(株)	比率(%)	菌数(株)	比率(%)	菌数(株)	比率(%)	菌数(株)	比率(%)
环丙沙星 + 头孢他啶	12	36.4	21	63.6	0	0.0	0	0.0
环丙沙星 + 头孢吡肟	10	30.3	23	69.7	0	0.0	0	0.0
环丙沙星 + 亚胺培南/西司他丁	9	27.3	24	72.7	0	0.0	0	0.0
环丙沙星 + 美罗培南	11	33.3	20	60.6	2	6.1	0	0.0

表 2 几种抗生素联合或单独应用对铜绿假单胞菌 MIC 的影响(mg/L)

抗生素类别	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC _G
	(联合用药/单独用药)	(联合用药/单独用药)	(联合用药/单独用药)
环丙沙星 + 头孢他啶	0.25/1 + 1/4	2/4 + 8/32	0.33/1.04 + 1.11/4.35
环丙沙星 + 头孢吡肟	0.25/1 + 2/8	2/4 + 4/32	0.31/1.04 + 1.55/5.25
环丙沙星 + 亚胺培南/西司他丁	0.25/1 + 2/4	2/4 + 4/16	0.36/1.04 + 1.34/4.63
环丙沙星 + 美罗培南	0.125/1 + 1/4	2/4 + 4/16	0.30/1.04 + 1.55/4.93
阿米卡星 + 头孢他啶	2/8 + 0.5/4	16/64 + 8/32	2.74/9.07 + 0.88/4.35

注: MIC 为最低抑菌浓度; MIC₅₀、MIC₉₀ 分别为抑制 50%、90% 的菌株生长所需的最低抗生素浓度; MIC_G 为 MIC 几何均数

表 3 4 种 β 内酰胺类抗生素剂量、血药浓度峰值、给药时间间隔、MIC 及维持最佳疗效所需的 T > MIC

抗生素类别	剂量 (g)	消除相半衰期 (h)	血药浓度峰值 (mg/L)	给药时间间隔 (h)	联合用药 (+ 环丙沙星)/单独用药		T > MIC ≥ 40% (h)
					MIC ₅₀ (mg/L)	MIC ₉₀ (mg/L)	
头孢他啶	2	1.9	170	8	1/4	8/32	3.2
头孢吡肟	2	2.6	163	12	2/8	4/32	4.8
亚胺培南/西司他丁	1	1.0	41 ~ 83	6 ~ 8	2/4	4/16	2.4 ~ 3.2
美罗培南	1	1.0	39 ~ 58	8 ~ 12	1/4	4/16	3.2 ~ 4.8

注: MIC 为最低抑菌浓度; T > MIC 为血药浓度超过 MIC 的时间; MIC₅₀、MIC₉₀ 分别为抑制 50%、90% 的菌株生长所需的最低抗生素浓度

表 4 氨基糖苷类、氟喹诺酮类抗生素的剂量、C_{max}、MIC 及获取最佳治疗效果所需的 C_{max}

抗生素类别	用药方式及剂量	C _{max} (mg/L)	联合用药 (+ 头孢他啶)/单独用药		获取最佳治疗效果所需的 C _{max} (mg/L)	
			MIC ₅₀ (mg/L)	MIC ₉₀ (mg/L)	MIC ₅₀	MIC ₉₀
阿米卡星	成人 7.5 mg/kg 静脉滴注	25	2/8	16/64	≥ 16/64	≥ 128/512
环丙沙星	0.2 g 和 0.4 g 静脉滴注	2.1, 4.6	0.25/1	2/4	≥ 2.5/10	≥ 20/40

注: C_{max} 为血药浓度峰值; MIC 为最低抑菌浓度; MIC₅₀、MIC₉₀ 分别为抑制 50%、90% 的菌株生长所需的最低抗生素浓度; 获取最佳治疗效果的 C_{max}/MIC, 氨基糖苷类为 C_{max}/MIC ≥ 8, 氟喹诺酮类为 C_{max}/MIC ≥ 10; 表格中的剂量、C_{max} 指标参见文献 [5-6]

3 讨论

铜绿假单胞菌是引起烧伤感染的主要菌种之一, 阿米卡星对大多数氨基糖苷钝化酶稳定, 细菌不易产生耐药性, 可作为治疗铜绿假单胞菌感染的首选药物, 但频繁使用可造成敏感性降低。头孢他啶是抗铜绿假单胞菌的代表药物, 但近年来耐药性有上升趋势。铜绿假单胞菌菌株对亚胺培南/西司他丁的耐药性也呈逐年上升趋势。对严重铜绿假单胞菌感染, 具有协同作用的抗生素联合应用能够降低毒性、提高疗效^[7]。有报道证实, β 内酰胺类和氨基糖苷类抗生素联用可产生相对较高的协同比率^[8]。头孢他啶与环丙沙星联合应用可以对 40% 的铜绿假单胞菌分离株产生协同作用, 头孢他啶与阿米卡星联合对 53% 该菌株产生协同作用^[9], 环丙沙星与第三代头孢菌素联用有最高的抗菌活性^[10]。本研究表明, 头孢他啶与阿米卡星产生的协同比率最高, 达 57.6%。

临床应用抗生素治疗的目的是清除病原菌, 以获得最佳疗效并使不良反应降至最低, 此外要减少耐药菌的产生。PK/PD 研究对评价药物的有效性, 推测最佳治疗剂量和用药间隔, 使不良反应最小化以及减少细菌耐药性均有指导作用, 在设计抗生素治疗方案中具有重要价值^[11]。对于时间依赖的杀菌剂, T > MIC 为 40% ~ 50% 的给药间隔时, 治疗率可达 90% ~ 100%^[2]; 这类抗菌药物的血药浓度为 MIC 的 4 ~ 5 倍时杀菌作用即处于饱和状态, 盲目加大剂量毫无意义^[12]。合理、科学地使用时间依赖性抗生素的关键在于优化细菌暴露于药物中的时间, 临床上常需每日多次给药方可达此目的^[11]。

氨基糖苷类、氟喹诺酮类属浓度依赖性抗菌药物。氨基糖苷类 C_{max}/MIC 比值达 8 ~ 10 倍时, 临

床有效率可达 90%^[3]。氟喹诺酮类为速效杀菌剂, 且呈明显的浓度依赖性, 多数都有较长的抗生素后效应 (PAE), 据此判定喹诺酮类的抗菌效果依赖于给药剂量而非频繁给药。氟喹诺酮类 C_{max}/MIC ≥ 10 ~ 12, 可以获得最佳治疗效果^[4]。本研究表明, 对 50% 的菌株, 阿米卡星、环丙沙星在正常用法、用量的情况下, 联合用药均能获取最佳治疗效果所需的药物浓度。由于浓度依赖性抗生素对致病菌的杀菌作用取决于峰浓度, 因此可通过提高 C_{max} 来提高临床疗效, 加之其具有 PAE, 故可将 1 日分次给药的剂量改为 1 次给药, 以提高峰浓度, 但不能超过毒性剂量, 对于治疗窗比较窄的氨基糖苷类药物尤应注意。另有报道称, 1996 年后铜绿假单胞菌对包括第三代头孢菌素和亚胺培南/西司他丁钠盐等主要抗生素产生严重的耐药性; 而阿米卡星与 β 内酰胺类药物联合应用具有协同作用^[13]。环丙沙星由于耐药性的增加, 已失去单独用药的经验治疗或目标治疗价值, 后因联合用药再次受到重视。因此对于烧伤患者, 应用抗生素除根据体外药物敏感试验结果外, 还应结合 PK/PD 并辅以临床经验, 在疗效、安全性和耐药性三者间进行权衡以寻找最佳剂量。在切痂植皮时机不断前推的当今, “早期、短程” 应用抗生素治疗严重烧伤是可行的^[14]。

参考文献

- [1] Sahm DF, Washington II JA. Antibacterial susceptibility tests: dilution methods, manual of clinical microbiology. 6th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1995: 1117.
- [2] 童明庆. 抗菌药的 PK/PD 理论与抗菌药的药效研究. 药品评价, 2004, 1(1): 55-59.
- [3] 刘学红, 郭瑞臣, 黄明慧. 抗菌药物的药动学和药效学参数对临床用药的意义. 中国医院药学杂志, 2005, 25(2): 154-155.
- [4] 王海生, 孙德清. 氟喹诺酮类最佳给药方案的选择. 中国医院药学杂志, 2004, 24(2): 95-96.

[5] 汪复,张婴元.实用抗感染治疗学.北京:人民卫生出版社,2004:179-313.

[6] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学.北京:人民卫生出版社,2003:77.

[7] Song W, Woo HJ, Kim JS, et al. In vitro activity of β -lactams in combination with other antimicrobial agents against resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents*, 2003, 21(1):8-12.

[8] Bosso JA, Saxon BA, Matsen JM. In vitro activities of combinations of aztreonam, ciprofloxacin, and ceftazidime against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas cepacia* from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 1990, 34(3):487-488.

[9] Diez-Enciso M. In vitro activity of aztreonam, cefotaxime, ceftazidime and imipenem combined with ciprofloxacin against Gram-negative bacilli and compared with amikacin combinations against *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1991, 10(2):90-92.

[10] Mayer I, Nagy E. Investigation of the synergic effects of aminoglycoside-fluoroquinolone and third generation cephalosporin combinations against clinical isolates of *Pseudomonas* spp. *J Antimicrob Chemother*, 1999, 43(5):651-657.

[11] 胡晋红,范颂华.抗菌药物的药理学及药理学相关研究的临床意义.上海护理,2005,5(4):68-69.

[12] 王宏.抗菌药物药理学参数与给药间隔时间相关性分析.中国药业,2006,15(14):1-2.

[13] 窦懿,张勤,廖镇江.11年间烧伤病房铜绿假单胞菌耐药率调查.中华烧伤杂志,2004,20(1):6-9.

[14] 肖光夏.对烧伤感染的认识过程.中华烧伤杂志,2006,22(2):158-160.

(收稿日期:2007-04-12)
(本文编辑:莫愚)

· 经验交流 ·

成批高温黄磷烟雾吸入性损伤患者的救治

潘文东 宋远林 陈永新 杨红兰 董丽 黄芳

1 临床资料

2006年7月,笔者单位收治了一批因1400℃高温黄磷泄漏造成磷烧伤伴不同程度吸入性损伤患者7例,其中男5例、女2例,年龄19~38岁,烧伤总面积1%~30%TBSA,均为深Ⅱ度,4例有眼结膜烧伤。入院时患者均有不同程度的气道痉挛、哮喘,依据吸入性损伤分度标准判定^[1],2例患者重度、3例中度、2例轻度;患者均出现肝酶谱异常,心肌酶谱异常6例,血气分析异常4例,血清无机磷异常2例,肾功能无异常,胸部X线片无异常。

2 治疗方法及结果

入院后静脉注射地塞米松20mg、氨茶碱0.25g,采用12.5g/L碳酸氢钠溶液冲洗眼结膜囊,并湿敷创面。对2例重度吸入性损伤患者,静脉注射地塞米松10mg、1次/d,静脉滴注氨茶碱0.25g、1次/d,持续5d。2例重度吸入性损伤患者入院时缺氧明显,血氧饱和度小于0.90,面罩给氧(体积分数40%~60%)不能改善,立即给予气管切开、呼吸末正压机械通气,通气4d后改吸体积分数40%的氧,10d后拔除气管导管。对3例中度吸入性损伤患者监测血氧饱和度,在做好气管切开准备的情况下给予面罩给氧(体积分数40%~60%,给氧时以血氧饱和度小于0.90为切开标准)。2例轻度吸入性损伤患者予低流量吸氧。用等渗盐水100mL+庆大霉素8万U行气道湿化;等渗盐水100mL+庆大霉素8万U+地塞米松10mg行气道灌洗,根据气道排出分泌物的性状决定灌洗次数;用等渗盐水30mL+庆大霉素8万U+地塞米松10mg+糜蛋白酶4000U+氨茶碱0.25g雾化吸入,3次/d。雾化吸入过程中鼓励患者咳嗽、排痰。休克期补液量按2mL·kg⁻¹·1%TBSA⁻¹加基础量进行,电解

质与胶体比例为1:1;根据病房细菌流行病学情况使用敏感抗生素预防感染;积极防治应激性溃疡的发生;在血容量稳定的情况下持续静脉给予小剂量多巴胺(5μg·kg⁻¹·min⁻¹)改善内脏器官血供,同时给予保肝、心肌营养药物。入院48h后创面采用常规暴露疗法处理。所有创面均愈合。2例重度吸入性损伤患者机械通气4d,10d后拔除气管导管,心肌酶谱及肝酶谱在伤后15d完全恢复。3例中度吸入性损伤患者面罩给氧1周后恢复正常;2例轻度吸入性损伤患者间断低流量吸氧1周恢复正常。2例重度吸入性损伤患者出院后1月内存在咳嗽、咳痰,从事伤前相同中等劳动量时自感气促不适。

3 讨论

本组患者气道黏膜既有热力损伤,又有化学烧伤,从临床表现结合辅助检查看,损伤的严重程度似乎较临床表现轻,可能与高热空气刺激,声门保护性关闭,上呼吸道损伤程度重、下呼吸道损伤程度相对较轻有关。患者心肌酶谱及肝酶谱的升高与缺氧、磷吸收中毒有一定关系。

对吸入性损伤的处理重在维持气道通畅,气管切开的时机非常重要,诊断明确后应进行预防性气管切开^[2]。本组2例重度吸入性损伤患者及时行气管切开和机械通气,缺氧症状迅速得以改善,此为治疗成功的前提;3例中度吸入性损伤患者采用监测血氧饱和度,在行气管切开准备的情况下给予面罩给氧,避免了不必要的气管切开及相关并发症。

参考文献

[1] 黎鳌.黎鳌烧伤学.上海:上海科学技术出版社,2001:154.

[2] 路卫,夏照帆,陈旭林.吸入性损伤后预防性气管切开与紧急气管切开的临床研究.中华烧伤杂志,2003,19(4):233-235.

(收稿日期:2007-10-11)
(本文编辑:莫愚)

作者单位:661600 云南开远,解放军第五十九医院烧伤整形科