

# 头孢哌酮钠/舒巴坦钠对铜绿假单胞菌的最低抑菌浓度和防突变浓度研究<sup>Δ</sup>

刘欣怡<sup>1\*</sup>, 陈磊垚<sup>1#</sup>, 林陵<sup>2</sup>(1.南京市中西医结合医院药剂科, 南京 210014; 2.东南大学医学院, 南京 210009)

中图分类号 R978.1<sup>+</sup>;R378.99 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)41-3871-02  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.41.11

**摘要** 目的:研究头孢哌酮钠/舒巴坦钠对铜绿假单胞菌的最低抑菌浓度(MIC)和防突变浓度(MPC),为控制细菌耐药提供参考。方法:采用肉汤法富集铜绿假单胞菌标准菌株及14株临床分离菌株,采用琼脂平板稀释法考察头孢哌酮钠/舒巴坦钠对铜绿假单胞菌的MIC、MPC值,计算MIC<sub>90</sub>、MPC<sub>90</sub>、选择指数(SI)。结果:头孢哌酮钠/舒巴坦钠对15株铜绿假单胞菌的MIC、MPC均为4~32 μg/ml, MIC<sub>90</sub>、MPC<sub>90</sub>均为32 μg/ml, SI为1。结论:头孢哌酮钠/舒巴坦钠在临床治疗浓度下不容易引起铜绿假单胞菌耐药突变菌株的富集。

**关键词** 头孢哌酮钠/舒巴坦钠;铜绿假单胞菌;最低抑菌浓度;防突变浓度

## MIC and MPC of Cefoperazone Sodium/Sulbactam Sodium against *Pseudomonas aeruginosa*

LIU Xin-yi<sup>1</sup>, CHEN Lei-yao<sup>1</sup>, LIN Ling<sup>2</sup>(1.Dept. of Pharmacy, Nanjing Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing 210014, China; 2.Medical School of Southeast University, Nanjing 210009, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the minimal inhibitory concentration (MIC) and mutant prevention concentration (MPC) of cefoperazone sodium/sulbactam sodium against *Pseudomonas aeruginosa*, and to provide reference for the enrichment of drug-resistant mutant strain. METHODS: *P. aeruginosa* strains and 14 strains of clinical isolates were cultured by broth method. The MIC and MPC of cefoperazone sodium/sulbactam sodium for *P. aeruginosa* were determined by agar dilution method. MIC<sub>90</sub>, MPC<sub>90</sub> and the selection index (SI) were calculated. RESULTS: MIC and MPC of cefoperazone sodium/sulbactam sodium against 15 strains of *P. aeruginosa* were 4-32 μg/ml. MIC<sub>90</sub> and MPC<sub>90</sub> were 32 μg/ml. The SI was 1. CONCLUSIONS: Cefoperazone sodium/sulbactam sodium restrict the culture of drug-resistant mutant strain of *P. aeruginosa*.

**KEY WORDS** Cefoperazone sodium/sulbactam sodium; *Pseudomonas aeruginosa*; Minimal inhibitory concentration; Mutant prevention concentration

铜绿假单胞菌是一种条件致病菌,是医院获得性感染的重要原因,当机体免疫力低下时可引起严重感染。近年来由于头孢菌素的广泛应用,铜绿假单胞菌对β-内酰胺类抗生素的耐药性呈逐年上升趋势<sup>[1-3]</sup>。如何减缓铜绿假单胞菌对β-内酰胺类药物的耐药现状已经刻不容缓。头孢哌酮钠/舒巴坦钠(2:1)复合制剂是临床广泛使用的抗铜绿假单胞菌药物。本研究检测了头孢哌酮钠/舒巴坦钠对铜绿假单胞菌的防突变浓度(MPC),初步考察了β-内酰胺类抗生素与β-内酰胺酶抑制剂复合制剂头孢哌酮钠/舒巴坦钠抑制铜绿假单胞菌耐药突变株富集的能力,为控制抗生素使用所导致的铜绿假单胞菌耐药提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 药品

注射用头孢哌酮钠/舒巴坦钠(大连辉瑞制药有限公司,批号:1239235,规格:每支1.5 g,含量:头孢哌酮1 000 mg、舒巴坦500 mg)。

Δ 基金项目:南京市2011年度科技发展计划资助项目(No. 2011YX010)

\*药师,硕士。研究方向:临床合理用药。电话:025-84431932-8001。E-mail: liuxinyi218@126.com

#通信作者:主任中药师。研究方向:医院药事管理、中药新制剂、临床药学。电话:025-84431932-8006。E-mail: 281252195@qq.com

## 1.2 菌株

铜绿假单胞菌标准菌株ATCC 27853为南京市中西医结合医院检验科菌库收藏菌;14株铜绿假单胞菌的临床分离菌株(编号:1、2、3、4、5、6、7、8、41、96、102、147、149、1033)均来自2011—2012年南京市中西医结合医院临床收集标本。

## 1.3 培养基

M-H肉汤和M-H琼脂(北京三药科技开发公司,批号:110219、110420)。

## 2 方法

### 2.1 最低抑菌浓度(MIC)测定与判断标准

采用肉汤法富集铜绿假单胞菌标准菌株和14株临床分离菌株,琼脂平板稀释法测定头孢哌酮钠/舒巴坦钠对15株铜绿假单胞菌的MIC,铜绿假单胞菌的接种菌量约为每点10<sup>5</sup> CFU/ml。参照2011年国际权威临床检验标准制定机构(CLSI)需氧菌琼脂稀释法药敏方法<sup>[4]</sup>进行测定, MIC结果判断标准参照头孢哌酮单药<sup>[5]</sup>。

### 2.2 MPC的测定<sup>[6]</sup>

采用琼脂平板稀释法测定头孢哌酮钠/舒巴坦钠对铜绿假单胞菌标准菌株及14株临床分离菌株的MPC。挑取受试菌株单个菌落接种于200 ml M-H肉汤中,200次/min震荡过夜培养,4 000 r/min(离心半径8 cm,下同)离心20 min,弃上清液,细菌再悬浮于原体积M-H肉汤中,200次/min震荡培养6 h,使

菌液浓度达 $6 \times 10^9 \sim 9 \times 10^9$  CFU/ml, 4 000 r/min 离心 20 min, 弃上清液使终体积为 10 ml, 调整菌液浓度至 $3 \times 10^{10}$  CFU/ml; 分别取上述菌液 100  $\mu$ l 均匀涂抹在含 0.5、1、2、4、8、16、32、64 倍 MIC 头孢哌酮钠/舒巴坦钠的 M-H 琼脂板上, 并通过菌落计数确保每个浓度平板的接种量 $>10^{10}$  CFU; 于 37  $^{\circ}$ C 孵育, 以 72 h 时没有菌落生长的最低药物浓度为 MPC。

### 2.3 数据处理

根据 MIC 及 MPC 结果, 计算选择指数 ( $SI = MPC_{90}/MIC_{90}$ )。

## 3 结果

头孢哌酮钠/舒巴坦钠对铜绿假单胞菌的 MIC、MPC 测定结果见表 1。

表 1 头孢哌酮钠/舒巴坦钠对铜绿假单胞菌的 MIC、MPC 测定结果 ( $n=15$ )

Tab 1 MIC and MPC of cefoperazone sodium/sulbactam sodium against *P. aeruginosa* ( $n=15$ )

| 菌株编号       | MIC, $\mu$ g/ml | MPC, $\mu$ g/ml | 菌株编号 | MIC, $\mu$ g/ml | MPC, $\mu$ g/ml |
|------------|-----------------|-----------------|------|-----------------|-----------------|
| ATCC 27853 | 4               | 4               | 8    | 4               | 4               |
| 1          | 32              | 32              | 41   | 8               | 8               |
| 2          | 4               | 4               | 96   | 8               | 8               |
| 3          | 16              | 16              | 102  | 16              | 16              |
| 4          | 16              | 16              | 147  | 16              | 16              |
| 5          | 8               | 8               | 149  | 8               | 8               |
| 6          | 32              | 32              | 1033 | 8               | 8               |
| 7          | 8               | 8               |      |                 |                 |

由表 1 结果显示, 头孢哌酮钠/舒巴坦钠对 14 株铜绿假单胞菌临床分离株的 MIC 范围为 4~32  $\mu$ g/ml, 表明  $MIC_{90}$  为 32  $\mu$ g/ml; 标准菌株的 MIC 值在质控范围内。而铜绿假单胞菌标准菌株和 14 株临床分离株的 MPC 值均为该菌株所对应的 MIC 值, 因此其  $MPC_{90}$  亦为 32  $\mu$ g/ml, 即 SI 为 1。

## 4 讨论

细菌产生耐药必须满足两个条件: 一是产生耐药突变菌株, 二是在菌群中得到选择性优势增殖。传统的评价细菌耐药性的试验是测定抗菌药物的 MIC, 但基于 MIC 的治疗策略仅阻止了大部分敏感细菌的生长, 却使突变菌株得到选择性富集扩增, 加大了细菌感染治疗的难度, 因此 MPC 理论被提出<sup>[7]</sup>。MPC 是指防止第一步突变菌株被选择性富集扩增所需的最低抗菌药物浓度, 原理是提高药物浓度, 抑制第一步耐药突变菌株生长, 使细菌必须同时发生两次或更多次耐药突变才能生长, 从而解决细菌耐药问题。MIC 与 MPC 之间的范围称为突变选择窗 (Mutant selection windows, MSW)<sup>[8]</sup>, 通过选择更理想的药物 (低 MPC、窄 MSW), 从而减少耐药突变菌株富集扩增的几率, 减少耐药。

铜绿假单胞菌能够通过不同的机制产生耐药性, 导致抗生素治疗的失败。 $\beta$ -内酰胺酶 (如超广谱  $\beta$ -内酰胺酶) 的产生是铜绿假单胞菌对  $\beta$ -内酰胺类抗生素耐药的主要机制。头孢哌酮为第 3 代头孢菌素, 对铜绿假单胞菌有较好的抑菌活性, 但其对多数  $\beta$ -内酰胺酶的稳定性相对较差。舒巴坦为一种不可逆的  $\beta$ -内酰胺酶抑制剂的半成品, 具有广谱抑酶性, 对多数革兰阴性菌产生的  $\beta$ -内酰胺酶有很强的不可逆的抑制作用。因此头孢哌酮钠/舒巴坦钠在临床上广泛用于治疗铜绿假单胞菌感染。

本研究结果与 Hovde LB 等<sup>[9]</sup>研究结果相类似。笔者认为, MSW 理论是考察抗菌药物是否具有防止耐药突变株的选择性富集能力的一个指标。它不要求 MPC 与 MIC、最低杀菌浓度 (MBC) 紧密相关, 亦不关注引起其耐药的机制, 因此 MSW 理论适用于各类抗生素。

根据头孢哌酮钠/舒巴坦钠药品说明书中的药动学参数, 静脉注射 2 g 头孢哌酮钠/舒巴坦钠 (1 g 头孢哌酮钠和 1 g 舒巴坦钠) 5 min 后, 头孢哌酮和舒巴坦的平均血药峰浓度分别为 236.8  $\mu$ g/ml 和 130.2  $\mu$ g/ml, 血药浓度远远高于其对铜绿假单胞菌的 MPC。由此推测, 头孢哌酮钠/舒巴坦钠在临床治疗浓度下不容易引起铜绿假单胞菌耐药突变菌株的富集。聂大平等<sup>[10]</sup>研究表明, 对于左氧氟沙星等药物需要通过联用其他药物等方式缩小 MSW 范围才能达到抑制耐药菌富集的效果, 这在临床应用将会增加患者发生不良反应的概率, 加重其经济负担。研究表明, 头孢哌酮钠/舒巴坦钠在临床抑制铜绿假单胞菌耐药性的能力可能优于左氧氟沙星, 但临床上还是会产生对头孢哌酮钠/舒巴坦钠耐药的铜绿假单胞菌。原因可能是通过自发染色体点突变以外的其他外源性途径引起的细菌耐药。本试验因医院收集的细菌标本数量有限, 结果可能具有一定的局限性, 需通过进一步扩大样本量的试验进行验证。

## 参考文献

- [1] 汪复, 朱德妹, 胡付品, 等. 2008 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(5): 321.
- [2] 朱德妹, 汪复, 胡付品, 等. 2010 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2011, 11(5): 321.
- [3] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2011 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5): 321.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement*[S]. 2011-01.
- [5] 胡继红, 张楠, 高振祥, 等. 头孢哌酮-舒巴坦药敏纸片中舒巴坦量对药敏结果的影响[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(3): 231.
- [6] 赵红铮. 多重耐药铜绿假单胞菌的抗生素后效应及防突变浓度研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2011: 15.
- [7] Zhao XL, Drlica K. Restricting the selection of antibiotic-resistant mutants: a general strategy derived from fluoroquinolone studies[J]. *Clin Infect Dis*, 2001, 33(Suppl 3): S147.
- [8] Drlica K. The mutant selection window and antimicrobial resistance[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2003, 52(1): 11.
- [9] Hovde LB, Rotschafer SE, Ibrahim KH, et al. Mutation prevention concentration of ceftriaxone, meropenem, imipenem, and ertapenem against three strains of *Streptococcus pneumoniae*[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2003, 45(4): 265.
- [10] 聂大平, 董枫, 石宏宴. 左氧氟沙星、环丙沙星单用和联合其他抗菌药物对铜绿假单胞菌防突变浓度的研究[J]. 中国感染控制杂志, 2007, 6(6): 397.

(收稿日期: 2013-04-24 修回日期: 2013-05-27)