

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20211182

· 论 著 ·

## 磷霉素与其他抗菌药物对多重耐药铜绿假单胞菌的联合药敏试验研究

刘云宁<sup>1</sup>, 李小凤<sup>2</sup>, 汤建华<sup>1</sup>, 张鹤鸣<sup>1</sup>, 刘金禄<sup>2</sup>, 刘晓明<sup>1</sup>

(河北北方学院附属第一医院 1. 药学部; 2. 微生物科, 河北 张家口 075000)

**[摘要]** **目的** 研究磷霉素(FOS)联合其他抗菌药物对多重耐药铜绿假单胞菌(MDR-PA)的体外药敏试验结果,为临床联合用药提供依据。**方法** 选取 2018 年 1 月—2019 年 12 月入住某院重症医学科的医院获得性肺炎患者,经微生物室筛选出 MDR-PA 50 株,采用琼脂稀释结合纸片扩散法进行药敏试验,制作含 FOS 琼脂平板,药物浓度分别为 50、100、150、200 和 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ;在含药平板上粘贴哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、美罗培南、阿米卡星、环丙沙星药敏纸片,常规培养。**结果** FOS 与哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶无协同作用(均  $P>0.05$ ),与美罗培南、阿米卡星、环丙沙星均有协同作用(均  $P<0.05$ )。FOS+美罗培南组合、FOS+环丙沙星组合比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ );FOS+美罗培南组合、FOS+阿米卡星组合比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );FOS+环丙沙星组合、FOS+阿米卡星组合比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 针对 MDR-PA, FOS 与美罗培南、阿米卡星、环丙沙星均有协同作用, FOS+美罗培南和 FOS+环丙沙星组合协同作用优于 FOS+阿米卡星组合。

**[关键词]** 磷霉素; 铜绿假单胞菌; 耐药; 抗药性; 联合药敏试验

**[中图分类号]** R446.5

## Combination antimicrobial susceptibility testing of fosfomycin and other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

LIU Yun-ning<sup>1</sup>, LI Xiao-feng<sup>2</sup>, TANG Jian-hua<sup>1</sup>, ZHANG He-ming<sup>1</sup>, LIU Jin-lu<sup>2</sup>, LIU Xiao-ming<sup>1</sup> (1. Department of Pharmacy; 2. Department of Microbiology, The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the in vitro antimicrobial susceptibility testing results of fosfomycin (FOS) combined with other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDR-PA), and provide guidance for clinical combination antimicrobial use. **Methods** Patients with healthcare-associated pneumonia (HAP) and admitted to the department of critical care medicine of a hospital from January 2018 to December 2019 were selected, 50 strains of MDR-PA were screened out by microbiological laboratory, antimicrobial susceptibility testing was performed with agar dilution combined with disk diffusion method, fosfomycin (FOS)-containing agar plates were prepared, with antimicrobial concentrations of 50, 100, 150, 200 and 250  $\mu\text{mg}/\text{L}$  respectively; disks containing piperacillin/tazobactam, ceftazidime, meropenem, amikacin, and ciprofloxacin were pasted on the antimicrobial-containing plate for routine culture. **Results** FOS had no synergistic effect with piperacillin/tazobactam and ceftazidime (both  $P>0.05$ ), but had synergistic effect with meropenem, amikacin and ciprofloxacin (all  $P<0.05$ ). Comparison of FOS+meropenem combination and FOS+ciprofloxacin combination, difference was not significant (both  $P>0.05$ ); comparison of FOS+meropenem combination and FOS+amikacin combination, difference was significant ( $P<0.05$ ); comparison of FOS+ciprofloxacin combination and FOS+amikacin combination, difference was significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** For MDR-PA, FOS has synergistic effect with meropenem, amikacin and ciprofloxacin, the synergistic effect of FOS+meropenem combination and FOS+ciprofloxacin combination is better than that of FOS+amikacin combination.

[收稿日期] 2021-02-24

[作者简介] 刘云宁(1982-),男(汉族),河北省石家庄市人,主管药师,主要从事抗感染药物的临床研究。

[通信作者] 刘云宁 E-mail: liuyunning1120@163.com

**[Key words]** fosfomycin; *Pseudomonas aeruginosa*; antimicrobial resistance; combination antimicrobial susceptibility testing

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)是医院感染常见的条件致病菌,当人体接受侵袭性操作、免疫力下降、具有慢性结构性肺病、长期应用广谱抗菌药物等情况时,常会导致感染<sup>[1]</sup>。2014—2019 年全国细菌耐药监测网监测数据<sup>[2]</sup>显示,PA 对亚胺培南的耐药率为 18.2%~21.0%。PA 的耐药机制复杂,包括主动外排泵作用,产生抗生素水解酶和修饰酶,改变菌体细胞膜通透性以及染色体突变或捕获外源性基因盒获得耐药性等<sup>[3]</sup>,在常用抗菌药物中极易产生交叉耐药,并呈现多重耐药(multidrug resistance, MDR)或泛耐药(extensive drug resistance, XDR)的特征,增加临床治疗难度<sup>[4]</sup>。磷霉素(fosfomycin, FOS)是磷酸烯醇丙酮酸的类似物,对耐药的革兰阳性(G<sup>+</sup>)菌和革兰阴性(G<sup>-</sup>)菌均具有良好的抗菌活性,作用机制独特且与其他抗菌药物无交叉耐药<sup>[5]</sup>。研究以 FOS 为主,联合其他抗菌药物对 PA 的体外药敏试验,以期为临床治疗多重耐药铜绿假单胞菌(MDR-PA)感染提供合理的给药方案。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 2018 年 1 月—2019 年 12 月某三甲医院 50 例不同住院患者标本无重复分离的 50 株(痰 40 株,分泌物 7 株,血 3 株)受试 PA。菌株的分离、培养严格按照《全国临床检验操作规程》第 4 版进行。全部菌株均采用 BD Phoenix 100 全自动微生物鉴定/药敏分析仪鉴定,对于常见抗菌药物(包括头孢菌素类、碳青霉烯类、 $\beta$ -内酰胺酶抑制剂复合制剂、氟喹诺酮类和氨基糖苷类)中 3 类或 3 类以上的药物耐药,符合 MDR-PA 标准<sup>[1]</sup>。

**1.2 药品与仪器** FOS 购自中国药品生物制品检定所,葡萄糖-6-磷酸盐购自上海浦津生物科技有限公司,哌拉西林/他唑巴坦(TZP)、头孢他啶(CAZ)、美罗培南(MEM)、阿米卡星(AMK)、环丙沙星(CIP)药敏纸片均购自 OXOID 公司,BD-Phoenix 100 全自动细菌鉴定仪。

**1.3 试验方法** 采用琼脂平板稀释法结合纸片扩散法,测定联合药物对 PA 的敏感性。严格按照《全国临床检验操作规程》(第四版)制备琼脂培养液(培养液含 25 mg/L 葡萄糖-6-磷酸盐),在琼脂培养液

中加入 FOS,制成含不同浓度 FOS 的琼脂培养皿(50、100、150、200、250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。将同一株 PA 菌株接种到含不同浓度 FOS 的琼脂培养皿中,并将联用抗菌药物的药敏纸片粘贴于培养皿上,置 37 $^{\circ}\text{C}$  培养箱培养 24 h,由同一检验师用游标卡尺测量抑菌环。

**1.4 统计分析** 应用 WHONET 5.6 软件、SPSS 22.0 软件进行耐药资料分析。相同药物与不同浓度 FOS 的组合,对 PA 的敏感性变化采用多个独立样本非参数检验中的多组秩和检验(Kruskal-Wallis H),以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 试验菌株对抗菌药物的敏感性** 试验筛选的 50 株 MDR-PA 均通过 BD Phoenix 100 全自动微生物鉴定/药敏分析仪进行复核,对 TZP 2 株中介,CAZ 2 株中介,MEM 8 株中介,AMK 6 株中介,CIP 3 株中介;对哌拉西林、氨曲南、头孢吡肟、左氧氟沙星均表现为耐药;多粘菌素对试验菌株的  $\text{MIC} \leq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ ;此外 2 株试验菌株对庆大霉素表现为中介。

**2.2 联合药敏试验结果** FOS 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  组, TZP + FOS 组敏感 2 株,中介 5 株,耐药 43 株,敏感率 4.0%;CAZ + FOS 组敏感 6 株,中介 6 株,耐药 38 株,敏感率 12.0%;MEM + FOS 组敏感 30 株,中介 8 株,耐药 12 株,敏感率 60.0%;FOS + AMK 组敏感 7 株,中介 16 株,耐药 27 株,敏感率 14.0%;FOS + CIP 组敏感 29 株,中介 11 株,耐药 10 株,敏感率 58.0%。

分析 FOS 不同浓度含药平板分别联合 5 种抗菌药物的药敏结果,结果显示:FOS + TZP、FOS + CAZ 在不同 FOS 浓度(50~250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )组间均无协同作用( $P > 0.05$ );FOS + MEM、FOS + AMK、FOS + CIP 在不同磷霉素浓度(50~250 mg/L)组间均表现出协同作用( $P < 0.05$ )。FOS + MEM、FOS + CIP、FOS + AMK 组合两两比较,FOS + MEM 组合与 FOS + CIP 组合在所有剂量组中比较,差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ );在低剂量组(50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),FOS + AMK 与 FOS + MEM、FOS + CIP 比较,差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ );在高剂量组(150、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),FOS + AMK 与 FOS + MEM 比较,差异存在统计学意义( $\chi^2 =$

9.032 5,  $P = 0.003$ ;  $\chi^2 = 9.4578, P = 0.002$ ); 在高剂量组 (150、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), FOS + AMK 与 FOS + CIP 比较, 差异存在统计学意义 ( $\chi^2 = 11.6768, P =$

$0.001$ ;  $\chi^2 = 12.3981, P < 0.001$ )。FOS + MEM 组合、FOS + CIP 组合比 FOS + AMK 组合更敏感。见表 1。

表 1 50 株 MDR-PA 体外联合药敏试验结果

Table 1 In vitro combination antimicrobial susceptibility testing results of 50 MDR-PA strains

FOS ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	TZP			CAZ			MEM			AMK			CIP		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
50	0	2	48	0	2	48	0	11	39	0	6	44	0	4	46
100	1	2	47	0	5	45	2	12	36	1	10	39	3	8	39
150	1	3	46	4	6	40	5	29	16	4 <sup>#</sup>	15	31	8	28	14
200	2	5	43	6	6	38	30	8	12	7 <sup>#</sup>	16	27	29	11	10
250	10	2	38	10	5	35	37	4	9	19	7	24	34	6	10
$\chi^2$	5.230			5.383			55.640			20.599			64.406		
$P$	0.156			0.146			<0.001			<0.001			<0.001		

注: 统计时未包含 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  组; # 为与 MEM 组、CIP 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

FOS 是小分子亲水性抗菌药物, 血浆蛋白结合率极低 (2.16%), 静脉给药后几乎完全通过肾小球滤过消除 (95%~99%)。静脉滴注 FOS 0.5、1.0、2.0、4.0 g 后血药峰浓度分别为 28、46、90、195  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。蒙特卡洛模拟显示, 对于重症感染患者延长输注法 (6g/q6h) 可提高  $C_{\text{max}}$  并缩短  $T_{\text{max}}$ , 且与其他抗菌药物有很好的协同作用<sup>[6]</sup>。FOS 持续输注 (负荷剂量 8 g, 之后 1 g/h) 给药方案, 其稳态浓度为 (183.8 ± 35.9)  $\mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>[7]</sup>。Walsh 等<sup>[8]</sup> 体外研究显示, FOS 可中等程度杀灭低接种量 (最大杀灭 3 log 10 CFU/mL) 的 PA, 但 24 h 后 PA 会再次生长, 此时敏感菌株完全由耐药株取代, 该研究结果与 Rodríguez-Gascón 等<sup>[9]</sup> 的研究均提示, FOS 不宜单药治疗 PA 感染。

PA 的耐药机制复杂多变, 其中生物被膜的形成可以使 PA 逃避机体免疫和抗菌药物的杀伤作用。Wang 等<sup>[10]</sup> 研究显示, FOS + CIP 联合用药对 PA 生物膜清除的协同作用为 57.1%。Yamada 等<sup>[11]</sup> 通过电子显微镜观察到, 与单独用药相比, FOS 联合 CIP 更易导致细胞膜溶解。Gómez-Garcés 等<sup>[12]</sup> 体外抗菌试验显示, FOS 联合 CIP 对 40% 的 CRPA 具有协同作用, 未见拮抗作用。

一项关于 FOS + AMK 联合吸入系统 (AFIS) 的研究发现, 联合用药 (AMK:FOS 为 5:2) 联合剂

对 PA 的最低抑菌浓度 (MIC) 值较 AMK 和 FOS 单药的 MIC 值降低一半<sup>[13]</sup>。Sime 等<sup>[14]</sup> 研究呼吸机相关肺炎患者临床分离菌株发现, FOS 单药对 PA 无任何抗菌活性, AMK 24 h 内可产生较好的抗菌活性, 但随后可快速产生耐药性, 但二者联合用药可产生快速杀菌作用, 同时有效抑制耐药菌株的产生。CRPA 体外抗菌活性试验显示, FOS 与 AMK 的协同杀菌率为 12%<sup>[12]</sup>, 无拮抗作用。

FOS 联合碳青霉烯类抗生素可降低 PA 生物膜的形成, 并降低其自发突变率。FOS 联合 MEM 对 PA 的协同杀菌率为 53.3% (8/15)<sup>[15]</sup>, 对 CRPA 的协同杀菌率 40.0% (28/70)<sup>[16]</sup>, 且均未发现拮抗作用。Albiero 等<sup>[17]</sup> 对产生金属  $\beta$ -内酰胺酶 (MBL) 的 PA 进行体外抗菌试验, 研究发现 FOS 联合 MEM 使得 PA 的 MIC<sub>50</sub> 和 MIC<sub>90</sub> 降低至 1/8。Drusano 等<sup>[18]</sup> 研究显示, 不同给药剂量的 FOS 联合 MEM 方案, 均能够降低选择耐药性的出现 (MEM 突变体被联合杀伤, 以及 FOS 突变体被联合杀伤), 研究结果表明, 联合给药方案对于杀灭细菌细胞和抑制耐药菌株的出现均具有明显的协同作用。

本研究结果显示, FOS + MEM、FOS + AMK、FOS + CIP 组合在 FOS 各剂量组合比较中均有差异 ( $P < 0.05$ ), 敏感性增加, 但在两两比较中 FOS + MEM 组合和 FOS + CIP 组合与 FOS + AMK 组合在 FOS 高剂量组 (150、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 中均表现出统计学差异 ( $P < 0.05$ ), 提示 FOS + MEM 组合和 FOS + CIP 组合对 MDR-PA 表现出较高的抗菌活

性。结合 FOS 的药代动力学数据提示, FOS 联合治疗 MDR-PA 感染时应给予较高的剂量。

FOS 与 TZP、CAZ 联合用药方案的文献报道相对较少, Tessier 等<sup>[19]</sup> 研究显示, FOS 与 CAZ 联合用药仅有 20% 的相加作用, 80% 无关。本研究结果显示, FOS + TZP 组合与 FOS + CAZ 组合在 FOS 各剂量组合比较中, 差异均无意义(均  $P > 0.05$ ), 敏感性无明显增加, 与文献<sup>[19]</sup> 报道一致, 因此不推荐临床联合给药。

MDR-PA 的治疗药物选择非常有限。本研究为 FOS 联合其他药物治疗 MDR-PA 提供了理论依据, 但本研究数据较为有限, 且研究结果仅显示药物体外敏感情况, 联合用药的临床疗效有待进一步的临床研究证实, 同时本研究中 FOS 发挥抗菌活性时给药剂量相对较高, 临床应用过程中需要警惕 FOS 引起的静脉炎、高钠血症等不良反应。

#### [参 考 文 献]

- [1] 中华医学会呼吸病学分会感染学组. 铜绿假单胞菌下呼吸道感染诊治专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(1): 9-15.
- [2] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014—2019 年细菌耐药性监测报告[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(1): 15-31.
- [3] Ruiz-Garbajosa P, Cantón R. Epidemiology of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Implications for empiric and definitive therapy[J]. Rev Esp Quimioter, 2017, 30(Suppl 1): 8-12.
- [4] Kollef MH, Chastre J, Fagon JY, et al. Global prospective epidemiologic and surveillance study of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Crit Care Med, 2014, 42(10): 2178-2187.
- [5] Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, et al. Fosfomicin[J]. Clin Microbiol Rev, 2016, 29(2): 321-347.
- [6] 周静超, 张睢扬, 周丁华, 等. 蒙特卡洛模拟优化磷霉素给药方案[J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(9): 810-812.
- [7] Al Jalali V, Matzneller P, Wulkersdorfer B, et al. Clinical pharmacokinetics of fosfomicin after continuous infusion compared with intermittent infusion: a randomized crossover study in healthy volunteers[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2020, 65(1): e01375-20.
- [8] Walsh CC, McIntosh MP, Peleg AY, et al. In vitro pharmacodynamics of fosfomicin against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Antimicrob Chemother, 2015, 70(11): 3042-3050.
- [9] Rodríguez-Gascón A, Canut-Blasco A. Deciphering pharmacokinetics and pharmacodynamics of fosfomicin[J]. Rev Esp Quimioter, 2019, 32(Suppl 1): 19-24.
- [10] Wang L, Di Luca M, Tkhilaishvili T, et al. Synergistic activi-

ty of fosfomicin, ciprofloxacin, and gentamicin against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 2522.

- [11] Yamada S, Hyo Y, Ohmori S, et al. Role of ciprofloxacin in its synergistic effect with fosfomicin on drug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Chemotherapy, 2007, 53(3): 202-209.
- [12] Gómez-Garcés JL, Gil-Romero Y, Sanz-Rodríguez N, et al. In vitro activity of fosfomicin, alone or in combination, against clinical isolates of carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2016, 34(4): 228-231.
- [13] Montgomery AB, Rhomberg PR, Abuan T, et al. Potentiation effects of amikacin and fosfomicin against selected amikacin-nonsusceptible Gram-negative respiratory tract pathogens [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(7): 3714-3719.
- [14] Sime FB, Johnson A, Whalley S, et al. Pharmacodynamics of aerosolized fosfomicin and amikacin against resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* in a hollow-fiber infection model: experimental basis for combination therapy[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61(1): e01763-16.
- [15] Samonis G, Maraki S, Karageorgopoulos DE, et al. Synergy of fosfomicin with carbapenems, colistin, netilmicin, and tigecycline against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(5): 695-701.
- [16] Kunakonvichaya B, Thirapanmethee K, Khuntayaporn P, et al. Synergistic effects of fosfomicin and carbapenems against carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates [J]. Int J Antimicrob Agents, 2015, 45(5): 556-557.
- [17] Albiero J, Mazucheli J, Barros JPDR, et al. Pharmacodynamic attainment of the synergism of meropenem and fosfomicin combination against *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo- $\beta$ -lactamase[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 63(6): e00126-19.
- [18] Drusano GL, Neely MN, Yamada WM, et al. The combination of fosfomicin plus meropenem is synergistic for *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 in a hollow-fiber infection model[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(12): e01682-18.
- [19] Tessier F, Quentin C. In vitro activity of fosfomicin combined with ceftazidime, imipenem, amikacin, and ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1997, 16(2): 159-162.

(本文编辑:左双燕)

**本文引用格式:**刘云宁, 李小凤, 汤建华, 等. 磷霉素与其他抗菌药物对多重耐药铜绿假单胞菌的联合药敏试验研究[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(12): 1149-1152. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20211182.

**Cite this article as:** LIU Yun-ning, LI Xiao-feng, TANG Jian-hua, et al. Combination antimicrobial susceptibility testing of fosfomicin and other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Chin J Infect Control, 2021, 20(12): 1149-1152. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20211182.