

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.051

◇ 医院药学 ◇

多黏菌素 E 联用其他抗菌药物治疗鲍曼不动杆菌感染的药效学模型研究

付文婷¹, 胡学谦², 缪红³

作者单位:¹上海交通大学医学院附属瑞金医院药理学部, 上海 200025; ²上海市长宁区精神卫生中心药理学部, 上海 200050; ³上海市黄浦区中西医结合医院药剂科, 上海 200010

通信作者: 缪红, 女, 副主任药师, 研究方向为医院药学, E-mail: hzyjkmh@126.com

摘要: **目的** 建立药效学模型描述多黏菌素 E (colistin E) 与其他抗菌药联用对泛耐药鲍曼不动杆菌(XDR-AB)的体外杀菌作用。**方法** 在前期工作中, 我们筛选了对 XDR-AB 具有协同杀菌作用的抗菌药联合治疗方案, 并选用基因型不同的菌株进行静态杀菌实验, 考察药物联用对 XDR-AB 的杀菌效果。在此基础上建立数学模型, 描述多黏菌素 E 与美罗培南、米诺环素或利福平联用对 XDR-AB 的静态杀菌曲线。细菌生长曲线用非线性模型表述, 细菌消亡曲线用一级动力学方程表述。药物对细菌生长和消亡过程的调节符合 E_{\max} 模型, 引入指数模型描述抗菌药对消亡过程促进作用的衰减。**结果** 多黏菌素细菌生长速率 k_{in} 为 5.07 h^{-1} , 消亡速率 k_{out} 为 4.34 h^{-1} 。多黏菌素 E 对细菌生长过程的抑制作用较弱, 对细菌消亡过程的促进作用较强, 且该促进作用随时间推移呈指数衰减。**结论** 所建立的药效学模型较好的描述了多黏菌素 E 对 XDR-AB 杀菌作用的特点, 为抗菌药体外联用的药动学/药效学数据建模提供了范例。

关键词: 鲍曼不动杆菌; 多黏菌素 E; 药物疗法, 联合; 药效学模型; 静态杀菌曲线; 体外

Pharmacodynamic modeling for in vitro evaluation of colistin E-based combination treatments for Acinetobacter baumannii infection

FU Wenting¹, HU Xueqian², MIAO Hong³

Author Affiliations: ¹Department of Pharmacy, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; ²Department of Pharmacy, Shanghai Changning District Mental Health Center, Shanghai 200050, China; ³Pharmacy Department of Shanghai Huangpu District Integrated Traditional Chinese & Western Medicine Hospital, Shanghai 200010, China

Abstract: Objective To establish a pharmacodynamic model to describe the in vitro antibacterial effect of colistin E-based combination on extensive drug resistant Acinetobacter baumannii (XDR-AB). **Methods** In the preliminary work, we screened a combination of antibacterial drugs that have a synergistic bactericidal effect on XDR-AB, and selected strains of different genotypes for static bactericidal experiments to investigate the bactericidal effect of the drug combination on XDR-AB. On this basis, a mathematical modeling was established to describe the time-kill curves that indicate the antibacterial effects of colistin E-based combination treatments, including colistin E/meropenem, colistin E/minocycline, colistin E/rifampicin, on XDR-AB strains. Bacterial growth curves were presented by nonlinear model and bacterial death curves were plotted using the first-order kinetic equation. The regulation of antimicrobials on the bacterial growth and death process was in accordance with the E_{\max} model; exponential decay model was introduced to describe the decay of the antibacterial's promoting effect on bacterial death. **Results** The bacterial growth rate k_{in} was 5.07 h^{-1} and the death rate k_{out} was 4.34 h^{-1} . The inhibitory effect of colistin E on bacterial growth was weak, while its promoting effect on bacterial death was relatively strong, and this promoting effect was exponentially decaying over time. **Conclusion** The pharmacodynamic model satisfactorily describes the characteristics of the antibacterial effect of colistin E on XDR-AB, and provides an example for the pharmacokinetic/pharmacodynamic data modeling of in vitro drug combination of antimicrobial agents.

Key words: Acinetobacter baumannii; Colistin E; Drug therapy, combination; Pharmacodynamic modeling; Time-kill curve; In vitro activity

鲍曼不动杆菌是一类革兰氏阴性、氧化酶阴性、专性需氧的条件致病菌^[1-4], 该菌有多种耐药基因, 如超广谱 β -内酰胺酶(Extended Spectrum Beta-

Lactamases, ESBLs)、金属酶、头孢菌素酶或染色体介导的 β -内酰胺酶(AMPc 酶)、氨基糖苷修饰酶等, 在一定环境下可以对抗生素产生多重耐药, 甚至泛

耐药^[5-6]。鲍曼不动杆菌是院内获得性感染的主要病原菌之一,常在重症病人、免疫力低下或长期使用激素、广谱抗菌药物等病人中引起呼吸道、尿路、血液、中枢神经系统等部位的感染,而泛耐药鲍曼不动杆菌(extensively drug -resistant acinetobacter baumannii, XDR-AB)更是重症监护病房(ICU)中引起医院感染爆发和流行的主要条件致病菌^[7-9]。研究发现XDR-AB对老一代抗菌药多黏菌素E保持很高的敏感率^[1,10],因而多黏菌素E重新引起了临床关注,但其肾毒性限制了他的应用^[11-13]。在新的有效抗菌药物研发迟滞的情况下,寻求多黏菌素E与其他抗菌药物联合的给药方案,显得尤为迫切。

在前期工作中,我们筛选了对XDR-AB具有协同杀菌作用的抗菌药联合治疗方案^[14-15]。在此静态杀菌实验结果基础上,本研究于2016年10月至2017年11月从数学模型角度描述多黏菌素E与其他抗菌药物联用对XDR-AB的杀菌活性和杀菌作用的特点。

1 研究方法

1.1 静态杀菌曲线实验 本部分以多黏菌素E为研究对象,联用药物包括美罗培南、米诺环素和利福平等。四种鲍曼不动杆菌泛耐药菌株分别编号为:09-95,09-1769,09-2092和10-548。根据最小抑菌浓度(MIC)测定结果(表1)以及棋盘法实验结果,选择低于MIC的浓度进行组合进行静态杀菌曲线实验。

表1 各抗菌药对泛耐药鲍曼不动杆菌的最小抑菌浓度(MIC)/(mg/L)

菌株名称	多黏菌素E	美罗培南	米诺环素	利福平
09-95	0.25	32	4	4
09-1769	0.50	64	8	4
09-2092	0.50	16	4	4
10-548	0.50	64	4	16

各菌株均做8个实验组,包括空白组、单用组(四组)和多黏菌素E联用组(三组),各组的含药液浓度见表2。分别于给药前和给药后2,4,6,8,10,12和24 h采样,涂布平板并进行菌落计数。培养24 h时菌落计数较初始时刻降低3 log₁₀单位时,认为具有杀菌作用。培养12 h时,联用组菌落计数相对于强效组分单用组下降≥2 log₁₀或3 log₁₀时,分别判为具有相加或协同杀菌作用。

1.2 药效学模型分析 建立图1所示的药效学模型描述多黏菌素E及联用药物对XDR-AB的杀菌作用。细菌生长过程具有非线性特征,采用幂函数进行描述,γ和k_{in}分别为幂指数和系数。细菌消亡过程符合一级动力学,k_{out}为速率常数。X表示菌落计数。

表2 四种鲍曼不动杆菌泛耐药菌株类型、分组情况及静态杀菌曲线实验药物浓度

菌株名称	空白组	单用组	联用组
09-95	—	COL_0.125	—
		MEM_4	COL_0.125+MEM_4
		MINO_1	COL_0.125+MINO_1
		REP_0.06	COL_0.125+REP_0.06
09-1769	—	COL_0.25	—
		MEM_8	COL_0.25+MEM_9
		MINO_1	COL_0.25+MINO_1
		REP_0.06	COL_0.25+REP_0.06
09-2092	—	COL_0.125	—
		MEM_4	COL_0.125+MEM_4
		MINO_1	COL_0.125+MINO_1
		REP_0.06	COL_0.125+REP_0.06
10-548	—	COL_0.25	—
		MEM_4	COL_0.25+MEM_4
		MINO_0.5	COL_0.25+MINO_1
		REP_0.06	COL_0.25+REP_0.06

注:COL多黏菌素E, MEM美罗培南, MINO米诺环素, RFP利福平,下划线“_”后面的数字表示药物浓度(mg/L)

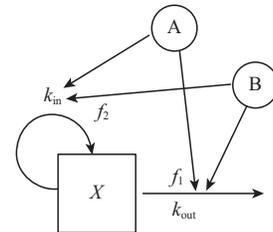


图1 多黏菌素E与其他抗菌药物联用对鲍曼不动杆菌的药效学模型结构图

药物对细菌生长和消亡过程均有调节作用,分别用f₂和f₁表示。采用E_{max}模型描述药物对细菌生长/消亡过程的调节作用,其中,药效学参数E_{max}表示调节作用最大值,EC₅₀为达到50%E_{max}时所需的药物浓度,C_A和C_B表示药物浓度。药物的联用采用相加式模型表述。此外,还引入指数模型描述抗菌药对消亡过程促进作用的衰减(λ表示衰减速率),以模拟抗菌药在使用过程中引起的异质性耐药。

多黏菌素E与其他抗菌药物联用对鲍曼不动杆菌的药效学模型微分方程组(1)如下,X为菌落计数,A和B表示抗菌药,f为传递函数。

$$\left. \begin{aligned}
 \frac{dx}{dt} &= k_{in} (1 + f_2) X^\gamma - k_{out} (1 + f_1) X \\
 f_1 &= \frac{E_{maxA1} \frac{C_A}{EC_{50A1}} e^{-\lambda_{A1}t} + E_{maxB1} \frac{C_B}{EC_{50B1}} e^{-\lambda_{B1}t}}{1 + \frac{C_A}{EC_{50A1}} + \frac{C_B}{EC_{50B1}}} \\
 f_2 &= \frac{E_{maxA2} \frac{C_A}{EC_{50A2}} + E_{maxB2} \frac{C_B}{EC_{50B2}}}{1 + \frac{C_A}{EC_{50A2}} + \frac{C_B}{EC_{50B2}}}
 \end{aligned} \right\} (1)$$

模型的构建分两个阶段进行:①利用对照组数据估算 k_{in} 、 k_{out} 和 γ 等参数;②综合利用各药物处理组数据估算 E_{max} 、 EC_{50} 和 λ 等参数。采用非线性回归拟合实验数据,用MATLAB软件(7.0版,美国Mathworks公司)中的最大似然法实现相应计算。微分方程的解算通过调用ODE函数实现。模型的选择根据赤池信息判据(AIC)进行。药效学拟合的目标函数为平均残差分数,拟合效果通过图形进行直观判断。

1.3 多黏菌素E杀菌效果分析 在图1所示的药效学模型基础上,探讨药物浓度变化对细菌净生长能力(net growth)的影响。净生长能力为细菌生长量与消除量之差,其中生长量和消除量依次为公式(2)右边的第1项和第2项。以菌株09-1769为例,将多黏菌素E药效学参数代入公式(2),分析浓度为0、0.05和3.50 mg/L时净生长能力随时间的变化。

$$net\ growth = k_{in} \Delta t (1 + f_2) X_i^? - k_{out} \Delta t (1 + f_{1,i}) X_i \quad (2)$$

对图1所示的药效学模型进行模拟,预测联合用药对鲍曼不动杆菌的杀菌效果。以菌株09-95为研究对象,分析多黏菌素E(0~0.5 mg/L)与美罗培南(0~16 mg/L)联用时对细菌菌落计数的影响。

2 结果

2.1 多黏菌素E与其他抗菌药物联用对XDR-AB的杀菌效果 多黏菌素E单用杀菌效果不佳,给药后6 h均出现细菌重生长。美罗培南、米诺环素和利福平单用时几乎没有杀菌作用。多黏菌素E与这三个抗菌药联用时有明显的协同杀菌作用,给药后12 h时大部分处理组的菌落计数降至2以下,至给药24 h时也仅有微弱的重生长。所建立的药效学模型较好地描述了多黏菌素E药物联用对鲍曼不动杆菌的杀菌作用,模型预测值与实测值基本吻合。见图2。

反映XDR-AB生长的药效学参数如表3所示。

菌株09-2092的 k_{in} 和 k_{out} 均低于其他菌株,该菌的生长速率总体慢于其他细菌。菌株09-1769和10-548的幂指数 γ 高于其他菌株,这两个菌株生长速率高于其他两株,与图2所示结果相符。

表3 反映鲍曼不动杆菌生长的药效学参数

菌株	$k_{in}/(h^{-1})$	$k_{out}/(h^{-1})$	r值
09-95	5.67	4.45	0.894
09-1769	5.37	4.82	0.960
09-2092	3.91	3.28	0.920
10-548	5.34	4.79	0.959

2.2 多黏菌素E与其他抗菌药物对XDR-AB生长和消亡过程的调节作用 多黏菌素E及联用药物美罗培南、米诺环素和利福平的药效学参数如表4所示。多黏菌素E对细菌生长过程的 EC_{50} 值总体高于其他药物,该药对细菌生长过程的调节能力较弱;多黏菌素E对细菌消亡过程的 EC_{50} 总体明显低于其他药物且 E_{max} 均为正值,同时 λ 值显著高于其他药物,该药对细菌消亡过程具有促进作用且力度较强,同时该促进作用随时间推移呈指数衰减。

多黏菌素E浓度对XDR-AB净生长能力的影响如图3所示。当多黏菌素E浓度为0.05 mg/L时,细菌净生长能力在给药后3 h内为负值;尔后细菌净生长能力转变为正值。当多黏菌素E浓度增加至3.5 mg/L时,细菌净生长能力始终为负值且随时间推移逐渐趋于零。

多黏菌素E与美罗培南联用对菌株09-95的杀菌效果预测如图4所示。当多黏菌素E浓度高于0.14 mg/L时,菌落计数等高线基本与横坐标平行。

3 讨论

XDR-AB在临床的感染率及对多种抗菌药物的耐药率逐年上升^[16-17],多黏菌素E可能是目前对XDR-AB最为有效的抗菌药物之一^[18-21]。多黏菌素E由于其较严重的肾脏毒性和神经毒性几乎被临床

表4 各抗菌药物对泛耐药鲍曼不动杆菌生长和消亡调节作用的药效参数

菌株	E_{max}				$EC_{50}/(mg/L)$				$\lambda/(h^{-1})$			
	MEM	MINO	RFP	COL	MEM	MINO	RFP	COL	MEM	MINO	RFP	COL
生长过程												
09-95	-2.050	-3.620	-2.380	1.640	7.180	7.920	0.301	15.800	—	—	—	—
09-1769	-0.271	-0.484	-1.440	-1.090	14.900	8.800	1.370	16.700	—	—	—	—
09-2092	-0.765	-3.790	-3.640	0.287	14.100	5.950	1.260	17.100	—	—	—	—
10-548	-1.790	-1.470	-2.080	-0.058	3.990	0.010	0.010	14.000	—	—	—	—
消亡过程												
09-95	-1.330	-8.100	-8.810	0.919	3.180	19.300	1.250	0.187	0.001	0.000	0.003	0.785
09-1769	-0.460	-1.130	-6.270	0.178	30.000	21.300	6.590	0.010	0.002	0.002	0.000	0.267
09-2092	-1.470	-11.100	-8.770	0.120	30.100	19.200	2.970	0.010	0.002	0.001	0.003	0.749
10-548	-1.940	-3.900	-7.880	3.990	4.430	1.630	0.199	2.880	0.001	0.001	0.002	0.342

注:MEM为美罗培南,MINO为米诺环素,RFP为利福平,COL为多黏菌素E。“—”表示细菌生长速率远远大于衰减,可忽略不计

停用^[22-23],可使用多黏菌素E与一种或多种抗菌药物联合治疗降低其不良反应^[24]。

本研究药效学模型研究显示美罗培南、米诺环素和利福平单用时对XDR-AB几乎没有杀菌作用,而多黏菌素E与这三个抗菌药联用时有明显的协同杀菌作用,可杀灭XDR-AB且无重生长。此研究提示临床上可采用多黏菌素E与利福平、美罗培南或米诺环素联用的给药方案,药物联用有望降低多黏菌素E的给药剂量,从而降低其毒性反应。

此外,图3所示的菌株净生长能力-时间曲线显示当多黏菌素E浓度增加至3.5 mg/L时,细菌净生长能力始终为负值且随时间推移逐渐趋于零,说明细菌被杀灭且没有出现重生长。可以设计抑制细菌重生长的给药方案(即菌株净生长能力始终为负值),达到治愈感染的目的。根据图4所示当多黏菌素E浓度高于0.14 mg/L时,此时增加美罗培南浓度能迅速增强杀菌效果(特别是美罗培南浓度低于4 mg/L时)。根据图4多黏菌素E与美罗培南发挥协同杀菌作用的浓度范围,有助于进一步设计动态杀菌实验,为临床给药方案制定提供更多参考信息。

我们前期的体外联合药敏试验并未研究多黏菌素E与含舒巴坦的复合制剂(或舒巴坦)等其他抗菌药物对XDR-AB的体内外联合抗菌作用。因此多黏菌素E联合其他抗菌药物治疗XDR-AB的体内试验,需要临床药代动力学或药效学的进一步研究证实。

(本文图2~4见插图12-6)

参考文献

- [1] 李友堂,马志益,梁荣章,等.泛耐药鲍曼不动杆菌感染的临床分布及耐药性分析[J].海峡药学,2018,30(6):141-143.
- [2] 郭雪,施雅文,贾双荣,等.2013—2017年鲍曼不动杆菌医院感染分布特征及耐药性变迁[J].检验医学与临床,2019,16(2):145-148.
- [3] 汤雪梅,黄海波,殷琳,等.我院重症医学科鲍曼不动杆菌耐药性及分子流行病学研究[J].中国药房,2018,29(18):2520-2524.
- [4] 于梦,王玉洁,魏青政.2016年-2018年血培养细菌分布及耐药性分析[J].中国卫生检验杂志,2019,29(22):2738-2740,2743.
- [5] LEE CR, LEE JH, PARK M, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017, 7:55.
- [6] 罗安成,李素幸,张海业,等.鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗生素的耐药机制探究[J].医学检验与临床,2017,28(2):17-19.
- [7] RUMBO C, GATO E, LOPEZ M, et al. Contribution of efflux pumps, porins, and beta-lactamases to multidrug resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(11):5247-5257.
- [8] 周华,周建英,俞云松.中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识解读[J].中国循证医学杂志,2016,16(1):26-29.
- [9] 吕月蒙.耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的分子特征、耐药机制及药物发现[D].北京:北京协和医学院,中国医学科学院,清华大学医学部,北京协和医学院中国医学科学院,2015.
- [10] 李安,陈丰哲,王正,等.西他沙星、头孢哌酮/舒巴坦和多黏菌素E单药及联合用药对泛耐药鲍曼不动杆菌的抗菌活性[J].山东大学学报(医学版),2017,55(4):82-85.
- [11] 杨天立,蔡芸.多黏菌素E肾毒性机制研究进展[J].中国抗生素杂志,2019,44(2):174-178.
- [12] 中国研究型医院学会危重医学专业委员会,中国研究型医院学会感染性疾病循证与转化专业委员会.多黏菌素临床应用中国专家共识[J].中华危重病急救医学,2019,31(10):1194-1198.
- [13] 马思静,杨帆.多黏菌素的不良反应:旧识与新知[J].中国感染与化疗杂志,2019,19(1):101-106.
- [14] 梁旺,张菁,刘晓芳,等.泛耐药鲍曼不动杆菌体外联合用药筛选[C]//中华医学会.中华医学会第三届感染与抗微生物治疗论坛,第九届全国感染性疾病及抗微生物化疗学术会议,第一届上海国际临床微生物及抗微生物化疗学术会议论文集.上海:中华医学会,2011:370-376.
- [15] LIANG W, LIU XF, HUANG J, et al. Activities of colistin- and minocycline-based combinations against extensive drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from intensive care unit patients [J]. *BMC Infect Dis*, 2011, 11:109.
- [16] 王明贵.广泛耐药革兰阴性菌感染的实验诊断、抗菌治疗及医院感染控制:中国专家共识[J].中国感染与化疗杂志,2017,17(1):82-93.
- [17] 孔海芳,胡志东.泛耐药鲍曼不动杆菌的研究进展[J].国际流行病学传染病学杂志,2015,42(6):415-417.
- [18] UNGTHAMMAKHUN C, VASIKASIN V, CHANGPRADUB D. Clinical outcomes Of Colistin in combination with Either 6-G Sulbactam Or Carbapenems for the treatment of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia with high MIC to sulbactam, a prospective cohort study [J]. *Infect Drug Resist*, 2019, 12:2899-2904.
- [19] CHEN F, DENG X, WANG Z, et al. Treatment of severe ventriculitis caused by extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* by intraventricular lavage and administration of colistin [J]. *Infect Drug Resist*, 2019, 12:241-247.
- [20] KHAWCHAROENPORN T, PRUETPONGPUN N, TIAMSAK P, et al. Colistin-based treatment for extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2014, 43(4):378-382.
- [21] KARAIKOS I, GALANI L, BAZIACA F, et al. Intraventricular and intrathecal colistin as the last therapeutic resort for the treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventriculitis and meningitis: a literature review [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2013, 41(6):499-508.
- [22] MIANO TA, LAUTENBACH E, WILSON FP, et al. Attributable risk and time course of Colistin-associated acute kidney injury [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2018, 13(4):542-550.
- [23] DALFINO L, PUNTILLO F, ONDOK MJ, et al. Colistin-associated acute kidney injury in severely ill patients: a step toward a better renal care? A prospective cohort study [J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 61(12):1771-1777.
- [24] JUN YH, JEUN SJ, KANG SH, et al. Colistin therapy for multidrug-resistant Gram-negative infection: clinical outcome and risk factors [J]. *Infection*, 2013, 41(6):1195-1198.

(收稿日期:2019-11-13,修回日期:2019-12-10)