

· 短篇论著 ·

胆道结石患者胆汁中头孢曲松钠的浓度分布和抗菌活性研究及评价

郑惊雷 王在国 梁力建 李绍强 赖佳明 华贇鹏

【摘要】 目的 研究头孢曲松钠在胆道结石患者胆汁中的浓度分布和对胆道致病菌的抗菌活性并评估杀菌效力,为胆道感染合理用药提供参考和依据。**方法** 12例因胆道结石行胆囊切除、胆总管切开引流患者于手术前30 min 静脉滴注头孢曲松钠2.0 g,术中收集胆囊和胆总管胆汁;采用高效液相色谱法行胆汁药物浓度测定;同时对近两年临床分离的157株胆道病原菌的抗菌活性进行测定,并计算其杀菌指数(C/MIC₉₀)。**结果** 头孢曲松钠在胆总管和胆囊中的浓度分别为(264.43 ± 166.46) μg/ml 和(85.39 ± 48.16) μg/ml;其对胆道的最主要致病菌大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和肠球菌的MIC₉₀分别为64 μg/ml, 32 μg/ml 和64 μg/ml,对铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和凝固酶阴性葡萄球菌耐药。头孢曲松在胆汁中的杀菌指数分别为大肠埃希菌1.33~4.08,肺炎克雷伯菌2.67~8.17,粪肠球菌1.33~4.08,杀菌指数最大的是变形杆菌和链球菌,均为42.70~130.72 μg/ml。**结论** 头孢曲松钠在胆道结石患者胆汁中浓度较高、抗菌活性较强,杀菌效力较大。

【关键词】 头孢曲松; 胆汁; 浓度; 抗菌活性

胆道感染尤其急性重症胆道感染应选用在胆汁中具有高浓度且对致病菌敏感的高效抗生素^[1,2]。头孢曲松钠由于具有广谱、强效、耐β-内酰胺酶、毒副作用小且半衰期长等特点,曾在临床大量广泛使用,导致耐药性显著增加^[3,4]。本文在动物实验的基础上^[5],对头孢曲松钠在胆道手术患者胆汁中的浓度分布进行研究,并对我院近两年胆道细菌的抗菌活性及其耐药状况进行监测,总结如下。

一、对象和材料

1. 受试对象:因胆道结石择期行胆囊切除、胆总管切开取石患者12例,年龄(43.7 ± 25.2)岁,性别、体重不限。术前均检测血清AST、TBIL、BUN、Cr及血、尿常规。上述指标均基本正常。试验前签署知情同意书。收集2005年6月至2006年12月我科临床分离的胆道感染最常见致病菌共157株。其中包括大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、阴沟肠杆菌、变形杆菌、鲍曼不动杆菌等革兰阴性(G⁻)菌96株;粪肠球菌、表皮葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、屎肠球菌、金黄色葡萄球菌、链球菌等革兰阳性(G⁺)球菌61株。

2. 药物与试剂:注射用头孢曲松钠(Ceftriaxone Sodium,商品名:头孢曲松,上海罗氏制药有限公司生产)。头孢曲松钠化学对照品(纯度:84.1%)和各抗生素标准品均为中国药品生物制品检定所提供,分别用于抗生素胆汁药物浓度和对胆道感染病原菌的最低抑菌浓度(MIC)的测定。甲醇为色谱纯;0.1%三乙胺、磷酸为分析纯;实验用水为双蒸水。

3. 胆汁药物浓度测定:每例入选患者开腹前30 min 单剂静脉滴注头孢曲松钠2.0 g,滴注时间均为60 min,术中收集胆总管和胆囊胆汁样本各2 ml,置-20℃冰箱保存待测。采用高效液相色谱法(HPLC)测定胆汁样本中抗生素浓度。仪器:WA-

TERS 高效液相色谱仪,486 紫外检测器,510 泵,三锐工作站;XW-80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂);TGL-16C 台式高速离心机(上海安亭科学仪器厂);微量采样器(上海求精生化试剂厂);0.45 μm 微孔滤膜(天津腾达过滤器件厂)。色谱条件:色谱柱为 Kromasil 100A C18 柱(5 μm, 250 × 4.6 mm, 迪马公司);流动相为 0.1% 三乙胺:甲醇(83:17)(pH = 7.5)、流速为 0.8 ml/min;紫外检测波长为 240 nm;进样量 10 μl。胆汁预处理^[5]:精密取各胆汁标本 200 μl,精密加入流动相或乙腈至 2 ml,旋涡振荡,15 000 r/min 离心 10 min,取上清液经微孔滤膜过滤后进样测定药物浓度。

4. 抗生素药敏学指标的测定:采用琼脂双倍稀释法测定抗菌药物对临床分离的最常见 12 种 157 株胆道病原菌的 MIC。将受试菌悬液以多点接种器(Denly-A400)接种至一系列含抗菌药物的 MH(Mueller-Hinton)琼脂平皿上,接种菌量为 10⁴ 菌落形成数(CFU)/点。链球菌接种于含 5% 脱纤维羊血 MH 培养基,均置 35℃ 温室孵育 18~24 h 观察结果。每次药敏测定时分别设大肠埃希菌 ATCC25922,金葡菌 ATCC29213,铜绿假单胞菌 ATCC27853,肠球菌 ATCC29212 等标准菌株为质控菌。药敏结果按 2003 年美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)标准判读。

5. 抗生素的杀菌指数:根据头孢曲松钠在胆汁中的浓度和该药对临床胆道分离的致病菌的药敏(MIC₉₀)测定结果,计算其平均浓度(C)和该药对不同细菌 MIC₉₀的比值(杀菌指数, C/MIC₉₀)。

6. 统计学分析:头孢曲松钠在胆汁中的浓度测定所得数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

二、结果

1. 头孢曲松钠在胆道手术患者胆汁中的浓度分布(表1):结果显示头孢曲松钠在胆总管和胆囊胆汁中具有较高的药物浓度,胆总管胆汁浓度[(261.43 ± 166.46) μg/ml]大于胆囊胆汁浓度[(85.39 ± 48.16) μg/ml],且浓度存在较大的个体差异。胆总管胆汁和胆囊胆汁浓度相对成正比。

表1 胆道手术患者静脉滴注头孢曲松钠后的胆汁药物浓度($\mu\text{g/ml}$)

编号	胆总管胆汁	胆囊胆汁
1	97.10	61.94
2	395.62	85.17
3	49.83	37.56
4	428.63	102.55
5	254.71	93.28
6	213.60	92.77
7	358.06	54.70
8	29.43	15.08
9	384.68	110.79
10	151.27	56.02
11	564.08	204.85
12	210.20	109.91

2. 头孢曲松等 β -内酰胺类抗生素对胆道感染常见致病菌的体外抗菌活性:(1)对革兰阴性杆菌的抗菌活性见表2。哌拉西林和头孢哌酮对胆道革兰阴性杆菌普遍耐药, MIC_{90} 大部分均不少于 $128\ \mu\text{g/ml}$ 。在增加 β -内酰胺酶抑制剂他唑巴坦和舒巴坦后,哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦的抗菌活性显著增强, MIC_{90} 均大部分降到 $16\ \mu\text{g/ml}$ 以下,对铜绿假单胞菌的 MIC_{90} 也不超过 $64\ \mu\text{g/ml}$ 。头孢曲松的抗菌活性介于上述单一抗生素和添加 β -内酰胺酶抑制剂后的相应抗生素之间。对大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌的 MIC_{90} 分别为 $64\ \mu\text{g/ml}$ 和 $32\ \mu\text{g/ml}$,但对铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌的耐药最严重,均大于 $128\ \mu\text{g/ml}$ 。

(2)对胆道革兰阳性球菌的抗菌活性见表3。同样在增加 β -内酰胺酶抑制剂后,复合制剂哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦的抗菌活性均显著增强。而头孢曲松对胆道革兰阳性球菌的抗菌活性同样居于哌拉西林、头孢哌酮和添加 β -内酰胺酶抑制剂的复合制剂之间。

3. 头孢曲松钠对胆道感染常见致病菌的杀菌指数(C/MIC_{90} ,表4,5):头孢曲松对大多数胆道感染常见致病细菌均可达到有效杀菌浓度,但杀菌效力悬殊。其对胆道感染最主要致病细菌大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和粪肠球菌的杀菌效力分别为 $1.33\sim 4.08$ 倍、 $2.67\sim 8.17$ 倍、 $1.33\sim 4.08$ 倍;对变形杆菌和链球菌的杀菌效力最强,杀菌指数为 $42.70\sim 130.72$ 倍。

三、讨论

抗菌药物清除感染部位的病原菌,是通过在该部位达到和维持一定的抗菌药物浓度来实现的,药物浓度要达到或超过MIC。胆道感染应选用在胆汁中浓度高且对致病菌敏感的高效抗生素^[1-2]。由于抗生素在肝胆组织中的穿透力具有较大的差异,且目前的相关数据不多,以血药浓度为主要依据不足以有效指导胆道感染临床用药。在目前抗生素严重滥用的情况下,药物敏感性不断下降,必须不断监测抗生素的抗菌活性变化^[3,6]。

本研究通过对胆道结石患者在手术中的胆囊和胆总管胆汁进行收集,结果显示头孢曲松钠在胆汁中有较高的药物浓度,但存在较大的个体差异(胆总管:29.43~564.08 $\mu\text{g/ml}$,胆囊:15.08~110.79 $\mu\text{g/ml}$)。所有病例的胆总管胆汁浓度均大于胆囊胆汁浓度,两者的浓度相对成正比,前者的平均浓度约是后者的3倍($261.43\ \mu\text{g/ml}$ vs. $85.39\ \mu\text{g/ml}$),这可能是手术前患者禁食后胆囊充盈,肝脏分泌的胆汁较难进入已充盈的胆囊的缘故。

β -内酰胺类抗生素是临床上治疗胆道感染最常用的一大类抗生素,主要包括青霉素类、头孢类、碳青霉烯类等种类的抗菌药物,由于具有广谱、抗菌力强、毒副作用小等特点,较长时间以来一直是治疗感染性疾病的一线用药。头孢曲松是第三代头孢类抗生素,除了具有以上特点外,最大的优点是半衰期长。在临床应用后,在抗感染性疾病尤其是肝胆系统感染的治疗方面取得了良好的疗效。但由于应用过多过滥,耐药性迅速增加^[3,6]。

最近三年,我们采用了临床上尽量集中使用,交替、间隔轮换抗生素的策略^[6];即结合临床菌群变异和药敏情况,在一段时间内集中使用几种抗生素;监测药敏有所下降的情况下,再换用敏感性较高的几种抗生素;同样待耐药性增加时又改用几种新的抗生素或再使用敏感性已提高和恢复的上一轮用过的抗生素的方法和措施。由于头孢曲松曾在本院耐药较严重,本科近两年尽量避免和减少使用。本文总结了这段期间胆道细菌药敏的情况显示,头孢曲松对胆道感染细菌的敏感性较之前有明显提高^[6],初步提示临床上预防和治理细菌感染性疾病采用交替轮换、集中使用抗生素的方法和策略具有可行性。而应用较多的一些抗生素如哌拉西林、头孢哌酮则出现了严重的耐药性,即使添加了 β -内酰胺酶抑制剂的复合制剂敏感性亦有所下降。而美罗培南对胆道细菌仍高度敏感,但我科应用于临床上急性胆道感染的疗效不显著;我们曾行动物实验^[5]提示该药在胆汁中半衰期很短、消除速度很快,可能与 β -内酰胺类抗生素抗菌作用的时间依赖性有关^[7]。同时,从实验结果可以看出添加 β -内酰胺酶抑制剂虽可以在较大程度上提高抗生素的敏感性,但是要缓解抗生素危机、减慢抗生素普遍耐药问题,关键在于科学合理应用抗生素。

表2 β -内酰胺类抗生素对临床胆汁分离的革兰阴性杆菌的 MIC_{90} 值($\mu\text{g/ml}$)

药物	大肠埃希菌 (34株)	肺炎克雷伯杆菌 (20株)	铜绿假单胞菌 (16株)	阴沟肠杆菌 (10株)	变形杆菌属 (8株)	鲍曼不动杆菌 (8株)
头孢曲松	64	32	>128	64	2	>128
头孢哌酮	128	128	>128	128	64	>128
头孢哌酮/舒巴坦	8	16	32	16	2	32
哌拉西林	>128	64	128	>128	128	>128
哌拉西林/他唑巴坦	8	8	64	64	1	64
美罗培南	0.25	0.125	8	1	0.125	2

表3 β-内酰胺类抗生素对临床胆汁分离的革兰阳性球菌的 MIC₉₀值(μg/ml)

药物	粪肠球菌 (19株)	表皮葡萄球菌 (14株)	凝固酶阴性 葡萄球菌(11株)	屎肠球菌 (8株)	金黄色葡萄球菌 (5株)	链球菌 (4株)
头孢曲松	64	128	>128	128	16	2
头孢哌酮	128	>128	128	>128	4	8
头孢哌酮/舒巴坦	32	32	64	32	4	8
哌拉西林	>128	>128	>128	>128	16	64
哌拉西林/他唑巴坦	32	64	64	32	8	16
美罗培南	4	8	16	4	0.5	0.5

表4 头孢曲松对临床胆汁分离的革兰阴性杆菌的杀菌指数(C/MIC₉₀)

部位	大肠埃希菌(34株)	肺炎克雷伯杆菌(20株)	铜绿假单胞菌(16株)	阴沟肠杆菌(10株)	变形杆菌属(8株)	鲍曼不动杆菌(8株)
胆总管	4.08	8.17	<2.04	4.08	130.72	<2.04
胆囊	1.33	2.67	<0.67	1.33	42.70	<0.67

表5 头孢曲松对临床胆汁分离的革兰阳性球菌的杀菌指数(C/MIC₉₀)

部位	粪肠球菌(19株)	表皮葡萄球菌(14株)	凝固酶阴性葡萄球菌(11株)	屎肠球菌(8株)	金黄色葡萄球菌(5株)	链球菌(4株)
胆总管	4.08	2.04	<2.04	2.04	16.34	130.72
胆囊	1.33	0.67	<0.67	0.67	5.34	42.70

综上所述,头孢曲松钠在肝外胆管结石患者胆汁中具有较高的胆药浓度,且对胆道致病菌有较强的抗菌活性,杀菌效力较大,可作为临床上预防和治疗肝胆系统感染较好的抗生素。

参 考 文 献

[1] Tanaka A, Takada T, Kawarada Y, et al. Antimicrobial therapy for acute cholangitis: Tokyo Guidelines. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2007, 14:59-67.
 [2] 聂云贵,丁佑铭,汪斌,等.腹腔镜经胆囊管胆总管探查术在老年患者中的应用[J/CD].中华临床医师杂志:电子版,2011,5:3063-3065.
 [3] 汪复,朱德妹,胡付品,等.2009年中国CHINET细菌耐药性监测.中国感染与化疗杂志,2010,10:325-334.

[4] Shinagawa N, Hasegawa M, Hirata K, et al. Bacteria isolated from surgical infections and their susceptibilities to antimicrobial agents--special references to bacteria isolated between April 2008 and March 2009. Jpn J Antibiot, 2010, 63:105-170.
 [5] 郑惊雷,王在国,梁力建,等.β-内酰胺类抗生素在胆汁中的浓度和药动学的实验研究.中华肝胆外科杂志,2009,15:682-685.
 [6] 郑惊雷,梁力建,赖佳明.胆道感染病原菌及其对抗生素敏感性变化的研究.中国实用外科杂志,2005,25:86-88.
 [7] Quintiliani R Sr, Quintiliani R Jr. Pharmacokinetics/Pharmacodynamics for critical care clinicians. Crit Care Clin, 2008, 24:335-348.

(收稿日期:2011-09-05)
(本文编辑:马超)

郑惊雷,王在国,梁力建,等.胆道结石患者胆汁中头孢曲松钠的浓度分布和抗菌活性研究及评价[J/CD].中华临床医师杂志:电子版,2012,6(17):5270-5272.