

• 专题笔谈 •

细菌耐药突变选择窗与合理用药

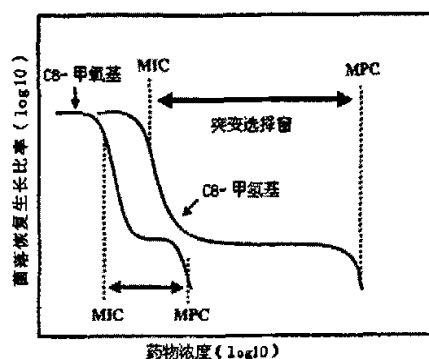
崔俊昌 陈良安

耐药突变选择窗(mutant selection window, MSW)理论是近年来提出的一个遏制抗菌药物耐药的新策略,它从一个全新的角度来看待耐药性的产生,为预防耐药研究提供了新思路。同时MSW理论也对传统的抗感染药物开发策略提出了重要的修正,并为如何更好地通过联合用药来抑制耐药性的产生提供了新的理论依据与指导,已受到国内外学者的高度关注与重视。

1 MSW 理论

Baquero^[1]在1990年首先提出抗菌药物存在一个最容易选择出耐药突变体的危险浓度区域。1999年Dong等^[2]和Zhao等^[3]在结核分支杆菌和金黄色葡萄球菌对氟喹诺酮类药物的耐药研究中确定了这个浓度范围,并命名为MSW。研究发现,随着琼脂平板中氟喹诺酮类药物浓度的增加,平板中恢复生长的菌落数出现两次明显下降:第一次下降发生在药物浓度接近最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)时,归因于大量野生敏感菌的生长被抑制或杀灭;随着药物浓度增加,恢复生长的菌落数逐渐减少并维持在相对稳定的水平(平台期),其原因为药物敏感菌株被杀死或抑制,而选择出第一步耐药突变体;随着药物浓度进一步增加,菌落数出现第二次明显下降,直到药物浓度增高至某一限度时琼脂平板上没有菌落生长,提示该浓度阻断了最不敏感的一步耐药突变体的生长,该浓度被定义为防耐药变异浓度(mutant prevention concentration, MPC)。体外MSW的下限则是能够对敏感菌产生选择压力的最低药物浓度,可以用MIC来估算;MSW的上限为MPC,它可以通过把含有少量

自发耐药突变菌的巨大敏感菌群(如 10^{10} 菌落)涂布到一系列含有不同药物浓度的琼脂平板上来直接实验测定^[2,3](图1)。



MIC与MPC用虚线表示,双箭头表示MSW

图1 含不同浓度药物的琼脂平板上菌落恢复生长曲线

与传统思维所认为的耐药主要是由于抗菌药物剂量不够,从而使治疗靶组织药物浓度低于MIC时而产生的观点截然不同,MSW理论认为,只有药物浓度在病原菌的MIC和MPC之间时,耐药突变体才会被选择性扩增,从而导致耐药。当药物浓度低于MIC时,由于没有选择压力而不会导致耐药突变体被选择。当药物浓度高于MPC时,由于细菌必须同时产生两种或两种以上耐药突变才能生长,而在一步同时发生两次耐药突变的频率很低(以基因自发突变为例,自发突变的频率往往在 $10^{-6} \sim 10^{-8}$,要使两个自发突变在一步内同时发生则至少需要 $10^{12} \sim 10^{16}$ 个细菌参与才能产生一个这样的耐药突变体),所以很难有耐药突变体被选择出来^[4]。

Firsov等^[5]通过体外PK/PD模型首先证明了MSW的存在,将金黄色葡萄球菌暴露于波动的氟喹诺酮类药物,分别使药物浓度小于MIC、位于MSW内和大于MPC,通过测定MIC来评价细菌耐药突变体富集的情况。结果表明,只有当药物浓度大部分时间处于MSW内时,耐药突变体被选择性富集

收稿日期:2007-06-15

作者单位:100853北京市,解放军总医院呼吸科

作者简介:崔俊昌,男,1970年2月生,河北曲阳人,医学博士,副主任医师。Tel:010-66939360

通讯作者:陈良安, Tel, 010-66939361, E-mail: chenla301@263.net

扩增, MIC 提高。Cui 等^[6]通过兔组织笼感染模型, 以左氧氟沙星-金黄色葡萄球菌为例在动物体内对 MSW 理论进行了全面的研究。结果表明, 当兔组织笼内组织液中左氧氟沙星浓度在 MSW 内波动时, 出现金黄色葡萄球菌耐药突变体的选择性富集并导致耐药; 而当组织液中左氧氟沙星浓度位于 MIC 以下时或保持在 MPC 以上时, 无耐药出现。对于金黄色葡萄球菌, 左氧氟沙星的体内 MSW 的上界为 $AUC/MPC=25$ h, 下界为 $AUC/MIC=20$ h, 这也是首次报道体内感染部位的 MSW 范围。而 Liu 等^[7]发现, 结核患者应用利福平联合化疗方案治疗后, 利福平在清除前鼻腔定植的金黄色葡萄球菌敏感菌的同时, 可导致获得性耐药, 首次通过临床研究为 MSW 理论提供了有力支持。

2 基于 MSW 的治疗策略与传统治疗策略的区别

目前用 MIC、AUC/MIC 和 C_{max}/MIC 等参数来判定抗菌药物活性和临床疗效^[8,9]。基于 MIC 的治疗策略着眼于控制感染, 期望通过抗菌药物杀死或抑制敏感细菌, 而通过宿主防御系统清除耐药变异菌。此治疗方案剂量低、毒副作用小、容易耐受, 而且也常常能控制感染。但每年大量的抗菌药物使用将不可避免地导致耐药突变菌株优势生长, 从而导致细菌不同水平的耐药。由于高于 MIC 的药物浓度并不能限制耐药突变体的生长, 因此 MIC 不是一个限制耐药发生的浓度阈值。

作为 MSW 的上限, MPC 提供了抗菌药物治疗中严格限制突变菌株选择性富集的抗菌药物浓度阈值, 当药物浓度超过 MPC 时, 细菌需要同时发生两次耐药突变才能生长^[2,3]。以 MPC 为标准, 可以将抗菌药物-病原体的结合分为两类。第一类为常规药物剂量单药治疗时, 抗菌药物浓度高于 MPC, 例如氟喹诺酮类药物莫西沙星对金黄色葡萄球菌和肺炎球菌^[10,11]。第二类为抗菌药物浓度不能超过 MPC, 例如治疗结核病的大部分药物以及利福平对金黄色葡萄球菌等^[12,13]。这两类抗菌药物-病原体的 MPC 的区别对于制定临床用药策略是非常重要的。对于第一类抗菌药物-病原体组合, 抗菌药物可以单药应用, 由于药物浓度在给药间隔高于 MPC, 细菌需要同时发生两次耐药突变才能生长, 因此抗菌治疗将

很难导致耐药突变体的富集。而对于第二类抗菌药物-病原体组合, 为了减少耐药突变体的选择, 则要求联合用药。应用 MPC 做为抗菌药物剂量指导和目前应用的剂量策略不同, 前者根据防耐药突变体选择的能力和可能的治愈率来选择抗菌药物, 而后者只考虑到患者的治愈率。因此, 根据 MSW 理论, 联合用药应该比目前应用的更加广泛。

3 MSW 理论的临床应用

MSW 理论为临床用药提供了一个总的剂量指导原则。由于在 MSW 内, 不同药物浓度对耐药突变体选择的情况是不一致的, 药物位于低浓度时比在高浓度时更容易选择出耐药突变体, 从而导致耐药发生。这一点已通过 β 内酰胺类药物对肺炎球菌和喹诺酮类药物对结核分支杆菌得到证实, 低药物剂量有助于耐药的发生^[4]。因此, 临床医生应选用推荐的最高药物剂量, 从而减少耐药的发生, 低剂量药物治疗不应提倡。

对于一种病原体, 通过 MPC、用药剂量和药物的药代动力学分析, MSW 理论可以帮助我们选择一类药物中的合适品种来减少耐药的发生。例如, 莫西沙星 400mg 每日一次给药, 血药物浓度可达到 4.5mg/L, 明显高于临床分离的肺炎球菌的 MPC (2 mg/L), 结合 12h 的半衰期, 药物浓度高于 MPC 的时间可达到 18h^[11,14]。对于左氧氟沙星, 药物浓度低于 MPC, 在整个用药间隔, 大部分时间药物浓度位于 MSW 内, 非常容易选择出耐药突变体。因此, 选择莫西沙星比应用左氧氟沙星更能减少耐药的发生。

对大多数药物来说, 要获得血浆或组织液药物浓度超过 MPC 是很困难的, 要么该浓度将引起患者严重的毒性反应。例如大多数一线抗结核药物, 均有很高的 MPC, 即使患者有很好的耐受性及依从性也很难使血药浓度达到 MPC^[12]。当两种不同作用机制的抗菌药物联合应用并同时处于各自的 MIC 之上时, 细菌需要同时发生两种耐药突变才能生长。因此不同作用机制的药物联合应用提供了一种关闭 MSW 的途径, 即使这些药物各自都有非常高的 MPC。

但治疗结核病的经验表明, 即使两药联用时也

可能选择出耐药突变菌株。耐药常常是由于对治疗方案的依从性不好,抗菌药物浓度反复下降到 MIC 之下,病原菌(突变菌和野生菌)得以生长,从而出现更多的自发耐药突变菌。当再次抗菌药物治疗时,耐药突变菌株被选择性扩增。当菌群对一种药物耐药后,对另一种药物来讲,MSW 开放,接着出现第二种药物耐药,导致治疗失败。因此从药代动力学角度看,联合治疗应当尽量避免以下情况^[3]:(1)两种药物的药代动力图不完全重叠而使 MSW 开放:两种药物的浓度在不同的时间内大于各自的 MIC。(2)药物浓度波动而使 MSW 开放:一种药物浓度暂时低于其 MIC,而另一种药物仍在其 MIC 之上。(3)药物的 MIC 提高或组织/血浆药物浓度波动而使 MSW 开放。(4)由于一种耐药突变而导致细菌多药耐药;如外排系统的突变可导致对多种不同类型的抗菌药物同时耐药。因此,当几种不同作用机制的药物有类似的药代动力学时,通过剂量和处方管理使几种药物在治疗过程中一直保持在各自的 MIC 之上才能达到理想的治疗效果。

另外,MSW 理论也对抗感染药物开发具有重要的指导作用。从耐药突变体选择角度看,MIC 最低的抗菌药物未必是最好的药物。新开发的最理想抗菌药物应该是 MPC 低、MSW 窄,能安全地使血清药物浓度超过 MPC,并能保持一定时间。

参考文献

- [1] Baquero F. Resistance to quinolones in gram-negative microorganisms; mechanisms and prevention. *Eur Urol*, 1990, 17(Suppl 1): 3-12.
- [2] Dong Y, Zhao X, Domagala J, et al. Effect of fluoroquinolone concentration on selection of resistant mutants of *Mycobacterium bovis* BCG and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43: 1756-1758.
- [3] Zhao X, Drlica K. Restricting the selection of antibiotic-resistant mutants; a general strategy derived from fluoroquinolones studies. *Clin Infect Dis*, 2001, 33(Suppl): S147-S156.
- [4] Drlica K. The mutant selection window and antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*, 2003, 52: 11-17.
- [5] Firsov AA, Vostrov SN, Lubenko IY, et al. *In vitro* pharmacodynamic evaluation of the mutant selection window hypothesis using four fluoroquinolones against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47: 1604-1613.
- [6] Cui J, Liu Y, Wang R, et al. The mutant selection window in rabbits infected with *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis*, 2006, 194: 1601-1608.
- [7] Liu Y, Cui J, Wang R, et al. Selection of rifampicin-resistant *Staphylococcus aureus* during tuberculosis therapy; concurrent bacterial eradication and acquisition of resistance. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 56: 1172-1175.
- [8] Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters, rational for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis*, 1998, 26: 1-12.
- [9] Gould IM, MacKenzie FM. Antibiotic exposure as a risk factor for emergence of resistance; the influence of concentration. *Symp Ser Soc Appl Microbiol*, 2002, 92: 78s-84s.
- [10] 崔俊昌,刘又宁,王睿,等.氟喹诺酮类药物对临床分离金黄色葡萄球菌的防耐药变异浓度. *中华医院感染学杂志*, 2005, 15: 611-614.
- [11] Blondeau JM, Zhao X, Hansen J, et al. Mutant prevention concentration of fluoroquinolones for clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45: 433-438.
- [12] Dong Y, Zhao X, Kreiswirth BN, et al. Mutant prevention concentration as a measure of antibiotic potency; studies with clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000, 44: 2581-2584.
- [13] Zhao X, Drlica K. Restricting the selection of antibiotic-resistant mutant bacteria; measurement and potential use of the mutant selection window. *J Infect Dis*, 2002, 185: 561-565.
- [14] Hansen GT, Metzler K, Drlica K, et al. Mutant prevention concentration of gemifloxacin for clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47: 440-441.