

# THỬ NGHIỆM PHỐI HỢP COLISTIN VÀ AMIKACIN TRÊN CÁC CHỦNG *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* KHÁNG CARBAPENEM

Ngô Văn Quỳnh<sup>✉</sup>, Phạm Hồng Nhung

Trường Đại học Y Hà Nội

Thử nghiệm đánh giá hiệu quả phối hợp colistin và amikacin *in vitro* bằng phương pháp checkerboard trên 57 chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem cho thấy có 11/57 (19%) chủng quan sát thấy tương tác hiệp đồng. Tỷ lệ hiệp đồng của các chủng có MIC amikacin bằng 1, 2, 4, 8, 16, 32 lần lượt là 2/7, 4/14, 1/5, 2/6, 1/17, 1/8. Tỷ lệ hiệp đồng của các chủng có MIC colistin bằng 0, 125, 0, 25, 0, 5, 1, 4, 8, 16, 32 lần lượt là 0/2, 0/11, 5/24, 3/5, 0/1, 1/4, 1/7, 1/3. Phối hợp colistin và amikacin cho thấy khả năng hiệp đồng tốt. Các phối hợp hiệp đồng đều giảm MIC amikacin và colistin về ngưỡng có thể đạt được mục tiêu PK/PD. Tương tác hiệp đồng có xu hướng tăng khi MIC colistin tăng.

**Từ khóa:** Phối hợp colistin và amikacin, *K. pneumoniae* kháng carbapenem, checkerboard.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, nhiễm trùng liên quan đến chăm sóc sức khỏe gây nên bởi các vi khuẩn Gram âm nổi lên như là một vấn đề thách thức lớn do tình trạng kháng kháng sinh tăng cao, điều trị kháng sinh phức tạp.<sup>1</sup> Một trong các tác nhân chiếm tỷ lệ cao là *Klebsiella pneumoniae* đặc biệt là tại các đơn vị điều trị tích cực. Những năm qua, tỷ lệ phân lập *K. pneumoniae* ngày càng tăng, trong đó tỷ lệ *K. pneumoniae* kháng carbapenem đang ở mức báo động.<sup>2</sup>

Các kháng sinh còn có thể lựa chọn điều trị *K. pneumoniae* kháng carbapenem hiện rất hạn chế, chỉ còn một số kháng sinh như amikacin, colistin, fosfomicin, tigecycline vẫn còn nhạy cảm, trong đó colistin được khuyến cáo là kháng sinh lựa chọn hàng đầu; tuy nhiên tỉ lệ đề kháng với các kháng sinh này được báo cáo ngày càng tăng.<sup>3,4</sup> Hạn chế trong các lựa chọn điều trị càng làm tăng thêm nhu cầu về kháng sinh mới. Tuy vậy, nghiên cứu kháng sinh mới mất nhiều thời gian, chi phí cao và

cần thêm nhiều nghiên cứu để có thể áp dụng trên lâm sàng. Giải pháp khả thi là tối ưu hóa sử dụng các kháng sinh sẵn có. Một số liệu pháp đã và đang được nghiên cứu có hiệu quả như carbapenem truyền liều cao kéo dài, sử dụng tigecycline liều cao, phối hợp hai kháng sinh colistin, amikacin, ceftazidime - avibactam, tigecycline và carbapenem.<sup>5</sup> Trong đó, được khuyến cáo và nghiên cứu nhiều là liệu pháp kháng sinh kết hợp chứa colistin như colistin với carbapenem, fosfomicin hay amikacin; không chỉ tăng hiệu quả chống lại các *K. pneumoniae* kháng carbapenem, hạn chế tình trạng xuất hiện các chủng kháng colistin mà còn giảm liều điều trị colistin, giảm độc tính.<sup>6,7</sup> Tuy vậy, các nghiên cứu gần đây báo cáo rằng *K. pneumoniae* kháng carbapenem ngày càng trở nên đề kháng với colistin; các chủng kháng colistin cũng thường kháng với các kháng sinh khác bao gồm fluoroquinolones, fosfomicin, tetracyclines và piperacillin, nhưng vẫn còn nhạy cảm với amikacin với MIC dao động từ 4 đến 16 µg/ml.<sup>8</sup> Các kết quả cho thấy, amikacin là một lựa chọn thuốc tốt trong việc điều trị các nhiễm trùng do *K. pneumoniae* kháng carbapenem nói riêng và *Enterobacteriaceae* kháng thuốc nói chung và cần được nghiên cứu thêm. Một số

Tác giả liên hệ: Ngô Văn Quỳnh

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: ngoquynhmu@gmail.com

Ngày nhận: 20/11/2022

Ngày được chấp nhận: 15/12/2022

ngiên cứu phối hợp giữa amikacin và colistin đã được báo cáo là có hiệu quả tốt đối với các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem bằng phương pháp checkerboard hoặc phương pháp đánh giá khả năng diệt khuẩn theo thời gian, tuy vậy số lượng chủng nghiên cứu còn ít, chưa bao quát hết trên các chủng có mức độ nhạy kháng colistin và amikacin khác nhau.<sup>6,8</sup> Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục đích đánh giá hiệu quả phối hợp colistin và amikacin invitro trên các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem bằng phương pháp checkerboard.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Đối tượng

- Các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem được thu thập bằng cách lấy mẫu toàn bộ từ các chủng *K. pneumoniae* được xác định đề kháng carbapenem theo kháng sinh đồ thường quy tại Bệnh viện Bạch Mai.

- *K. pneumoniae* kháng carbapenem là đề kháng bất kì một kháng sinh nào thuộc nhóm carbapenem (nghĩa là MIC  $\geq$  4 $\mu$ g/ml với doripenem, meropenem, hay imipenem hoặc  $\geq$  2 $\mu$ g/ml với ertapenem).

### 2. Phương pháp

#### Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 1/2021 đến tháng 10/2021.

#### Phương tiện nghiên cứu

Cho thử nghiệm phối hợp: Lấy toàn bộ các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC amikacin trong khoảng từ 8 - 64  $\mu$ g/ml hoặc MIC colistin trong khoảng từ 0,5 - 32  $\mu$ g/ml. Phối hợp colistin và amikacin được thực hiện bằng phương pháp checkerboard. Với mỗi chủng được thử nghiệm, từ giá trị MIC colistin và amikacin đã xác định, thiết kế dải nồng độ pha loãng bậc hai của mỗi loại kháng sinh đi từ nồng độ thấp nhất là 1/16 MIC tới nồng độ cao nhất là 4 MIC. Mỗi giếng chứa 50 $\mu$ l dung dịch

của mỗi loại kháng sinh với nồng độ gấp đôi nồng độ mong muốn và được thêm 10 $\mu$ l huyền dịch có nồng độ vi khuẩn xấp xỉ  $5 \times 10^6$  CFU/ml.<sup>9</sup> Thực hiện bằng checkerboard cùng với giếng chứng vi khuẩn, chứng canh thang, MIC đơn cho mỗi kháng sinh, QC và cấy đếm kiểm tra số lượng vi khuẩn.

Các mức độ tương tác của kháng sinh trong phối hợp được đánh giá dựa trên giá trị FIC. Công thức:  $\Sigma FIC = FIC$  của kháng sinh A + FIC của kháng sinh B. Trong đó:

- FIC của kháng sinh A = MIC của A trong phối hợp/MIC của A đơn lẻ.

- FIC của kháng sinh B = MIC của B trong phối hợp/MIC của B đơn lẻ.

Hiệp đồng tác dụng khi  $\Sigma FIC \leq 0,5$ , cộng tác dụng khi  $0,5 < \Sigma FIC \leq 4$ , đối kháng tác dụng khi  $\Sigma FIC > 4$ .

Thử nghiệm sử dụng bột kháng sinh amikacin (Chuẩn Dược điển Việt Nam), lọ 200mg chứa 87,41% amikacin sulfate ( $C_{22}H_{43}N_3O_{13} \cdot 2H_2SO_4$ ); Bột kháng sinh colistin (Merck, Đức), lọ chứa 25mg colistin sunfate tương đương 607 900 UI colistin.

Thực hiện QC với chủng *E. coli* ATCC 25922 với mỗi lần pha kháng sinh, mỗi thử nghiệm được thực hiện lặp 2 lần.

#### Xử lý số liệu

Số liệu được quản lí, lưu trữ bằng phần mềm Microsoft Excel 2019.

Sử dụng test kiểm định Chi-Square Test và Fisher's Exact Test trên phần mềm SPSS 20.0.

## III. KẾT QUẢ

Chúng tôi chọn ra được 57 chủng theo tiêu chuẩn để thực hiện nghiên cứu phối hợp amikacin và colistin bằng phương pháp checkerboard. MIC<sub>50</sub> và MIC<sub>90</sub> của 57 chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem với amikacin lần lượt là 8  $\mu$ g/ml và 32  $\mu$ g/ml. Trong khi đó MIC<sub>50</sub> và MIC<sub>90</sub> với colistin lần lượt là 0,5  $\mu$ g/ml và 16  $\mu$ g/ml.

**Bảng 1. Hiệu quả phối hợp amikacin và colistin trên các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem bằng phương pháp checkerboard**

Tác dụng	Phối hợp amikacin và colistin	Tỷ lệ
Hiệp đồng	11	19%
Cộng tác dụng	46	81%
Đối kháng	0	0%
Tổng số	57	100%

Trên 57 chủng thử nghiệm phối hợp có 11/57 (19%) chủng quan sát thấy tương tác hiệp đồng, có 46/57 (81%) chủng quan sát thấy tương tác cộng tác dụng và không quan sát thấy tương tác đối kháng trên các chủng thử nghiệm phối hợp.

**Bảng 2. Phân nhóm các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem và các chủng xuất hiện hiệp đồng theo MIC amikacin và colistin**

		Colistin ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		< 0,5	0,5 - 2	> 2
Amikacin ( $\mu\text{g/ml}$ )	< 8		6/17	1/9
	8 - 32	0/13	2/12	2/6

(Chú thích a/b: số chủng xuất hiện hiệp đồng/ tổng số chủng)

Các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem phân bố đều ở các nhóm, tuy vậy không có chủng nào có MIC amikacin > 32  $\mu\text{g/ml}$  và MIC colistin trong khoảng 0,5 - 32  $\mu\text{g/ml}$ .

**Bảng 3. Phân bố 57 chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem nghiên cứu và 11 chủng có hiệp đồng theo MIC colistin và MIC amikacin.**

Amikacin	Colistin									Tổng
	0,125	0,25	0,5	1	4	8	16	32		
1			2/5	0/1	0/1					2/7
2			1/7	3/3			0/4			4/14
4			0/1			0/2	0/1	1/1		1/5
8		0/1	1/2			1/2	0/1			2/6
16	0/1	0/8	0/4	0/1			1/1	0/2		1/17
32	0/1	0/2	1/5							1/8
<b>Tổng</b>	0/2	0/11	5/24	3/5	0/1	1/4	1/7	1/3		8/50

(Chú thích a/b: số chủng xuất hiện hiệp đồng/ tổng số chủng)

Theo MIC amikacin, số chủng xuất hiện hiệp đồng trên tổng số chủng tại MIC bằng 1, 2, 4, 8, 16, 32 lần lượt là 2/7, 4/14, 1/5, 2/6, 1/17, 1/8 tương ứng với tỉ lệ 28,6%, 28,6%, 20%, 33,3%, 5,9%, 12,5%.

Theo MIC colistin, số chủng xuất hiện hiệp đồng trên tổng số chủng tại MIC bằng 0,125, 0,25, 0,5, 1, 4, 8, 16, 32 lần lượt là 0/2, 0/11,

5/24, 3/5, 0/1, 1/4, 1/7, 1/3 tương ứng với tỉ lệ 0%, 0%, 20,8%, 60%, 0%, 25%, 14,3%, 33,3%.

**Bảng 4. 11 chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem xuất hiện tương tác hiệp đồng**

Chủng	MIC colistin (µg/ml)		FIC colistin	MIC amikacin (µg/ml)		FIC amikacin	FIC colistin + amikacin
	Đơn	Phối hợp		Đơn	Phối hợp		
	1	0,5		0,0625	0,125		
2	0,5	0,125	0,25	16	1	0,0625	0,3125
3	0,5	0,125	0,25	1	0,25	0,25	0,5
4	0,5	0,125	0,25	8	2	0,25	0,5
5	1	0,25	0,25	1	0,0625	0,0625	0,3125
6	1	0,25	0,25	2	0,25	0,125	0,375
7	1	0,125	0,125	2	0,5	0,25	0,375
8	1	0,25	0,25	2	0,25	0,125	0,375
9	8	2	0,25	8	2	0,25	0,5
10	16	0,125	0,0078	16	4	0,25	0,2578
11	32	8	0,25	4	1	0,25	0,5

Trong 11 chủng xuất hiện phối hợp hiệp đồng, MIC của colistin giảm trung bình 4,87 lần, trong khi MIC của amikacin giảm trung bình 5,5 lần. Có 1 chủng tương tác hiệp đồng xuất hiện tại MIC colistin rất thấp 1/128 MIC colistin ( $FIC_{min} = 0,2578$ ).

#### IV. BÀN LUẬN

Colistin là kháng sinh diệt khuẩn phụ thuộc vào nồng độ, trong đó AUC/MIC (Area under the curve/Minimum inhibitory concentration - Diện tích dưới đường cong/nồng độ ức chế tối thiểu) là chỉ số dự báo khả năng diệt khuẩn tốt nhất. Theo kết quả từ một số nghiên cứu được động học/dược lực học, để đảm bảo hiệu quả diệt khuẩn, nồng độ của thuốc trong máu ở trạng thái ổn định (Steady state concentration - Css) cần đạt  $> 4 \times MIC$ .<sup>10-12</sup>

Tuy vậy, độc tính của colistin tăng lên khi  $C_{ss} > 2,5 \mu\text{g/ml}$ . Năm 2017, Garonzik đã đưa ra khuyến cáo về một chế độ liều mới, với đích nồng độ trung bình trong huyết tương của colistin ở trạng thái cân bằng là  $2 \mu\text{g/ml}$ .<sup>13</sup> Do vậy,  $C_{ss}$  đích cần đạt được khuyến cáo là  $2 \mu\text{g/ml}$ , có thể được điều chỉnh dựa trên mức độ nhiễm khuẩn, vị trí nhiễm khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu của chủng vi khuẩn gây bệnh phân lập được. Với những chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC colistin  $< 0,5 \mu\text{g/ml}$  có thể đạt được nồng độ đích colistin mà không làm tăng nguy cơ độc tính. Trong quần thể chủng nghiên cứu, các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC colistin  $\leq 2 \mu\text{g/ml}$  được coi là nhạy cảm với colistin chiếm một tỷ lệ lớn 76,2%.<sup>12</sup> Tuy vậy, số chủng có MIC colistin  $< 0,5 \mu\text{g/ml}$  chỉ chiếm tỷ lệ 53,1%. Các

chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC colistin  $\geq 0,5$   $\mu\text{g/ml}$  cần có chế độ liều cao hơn và cần được theo dõi nồng độ colistin trong máu thường xuyên để có thể hiệu chỉnh liều cho phù hợp, tránh gây độc tính.

Amikacin là kháng sinh diệt khuẩn phụ thuộc nồng độ và có tác dụng diệt khuẩn hậu kháng sinh. Thông số dược động học/dược lực học (PK/PD) phù hợp nhất để mô tả tác dụng diệt khuẩn của amikacin là  $C_{\text{max}}/\text{MIC}$  (nồng độ đỉnh/nồng độ ức chế tối thiểu), với đích PK/PD của thông số này cần đạt là 8 - 10. Tuy nhiên, những nghiên cứu về dược động học của amikacin gần đây cho thấy, khó có thể đạt được đích PK/PD này với chế độ liều thông thường (15 - 20 mg/kg), kể cả khi *K. pneumoniae* có MIC ở ngưỡng nhạy cảm theo CLSI (16  $\mu\text{g/ml}$ ).<sup>14,15</sup> Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy chỉ có 53,7% tổng số chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC của amikacin  $\leq 4$   $\mu\text{g/ml}$  là có khả năng đạt được đích PK/PD với chế độ liều thông thường hiện nay (15 - 20 mg/kg/ngày). Ở những chủng nhạy cảm với amikacin có MIC nằm trong khoảng 8 - 16  $\mu\text{g/ml}$  (tương ứng với tỷ lệ 20,4%) hay có MIC amikacin trung gian 32  $\mu\text{g/ml}$  (6,1%), những nghiên cứu này cũng khuyến cáo nên sử dụng mức liều cao  $\geq 25$  mg/kg/ngày để đạt được đích PK/PD và kết hợp với theo dõi nồng độ thuốc trong máu do amikacin có cửa sổ điều trị hẹp và nhiều độc tính.<sup>14,16</sup> Tuy vậy, theo một nghiên cứu khác của Elsa Logre và cộng sự cho thấy với liều lượng amikacin là 25 mg/kg/ngày cũng chỉ có 38,8% bệnh nhân đạt được mục tiêu  $C_{\text{max}}/\text{MIC} \geq 8$  với những chủng có MIC là 8  $\mu\text{g/ml}$ .<sup>17</sup>

Cũng dựa trên kết quả trong các nghiên cứu trước đây về phối hợp amikacin, chúng tôi nhận thấy phối hợp hiệp đồng có thể giảm MIC amikacin từ 8 - 16 lần.<sup>6</sup> Vậy nên, chúng tôi quyết định chọn những chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC amikacin từ 8 - 32

$\mu\text{g/ml}$  vì những chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC  $> 32$   $\mu\text{g/ml}$  đều có MIC  $> 256$   $\mu\text{g/ml}$ .

Đối với colistin chúng tôi chọn những chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC colistin từ 0,5 - 32  $\mu\text{g/ml}$  vì kết quả đưa ra cũng tương tự khi nhiều nghiên cứu phối hợp cho thấy có thể giảm MIC colistin trung bình từ 8 đến 16 lần.<sup>6,8</sup> Với những chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC colistin  $> 32$   $\mu\text{g/ml}$  dù phối hợp có xuất hiện tương tác hiệp đồng thì mức độ giảm MIC colistin vẫn là không đủ để có thể điều trị trên lâm sàng (MIC colistin  $\leq 2$   $\mu\text{g/ml}$ ). Tuy vậy, đối với những chủng có MIC  $\leq 2$   $\mu\text{g/ml}$  được xem là nhạy cảm với colistin thì liều điều trị cũng khác nhau tùy thuộc vào từng giá trị MIC.<sup>12</sup> Vậy nên, trong nghiên cứu chúng tôi quyết định chọn các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC colistin từ 0,5 - 2  $\mu\text{g/ml}$  và có MIC colistin  $> 2$   $\mu\text{g/ml}$  để chia thành các nhóm nghiên cứu. Kết quả phân nhóm được chỉ ra ở bảng 2.

Trong 57 phối hợp amikacin và colistin có 11 phối hợp xuất hiện tương tác hiệp đồng (19%), 46 phối hợp xuất hiện tương tác cộng tác dụng (81%) và không có phối hợp nào xuất hiện tương tác đối kháng. Kết quả của chúng tôi đưa ra khác biệt với nghiên cứu của Lan Yu và cộng sự<sup>6</sup> thực hiện phối hợp amikacin và colistin trên 40 chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem đưa ra kết quả là 65% phối hợp amikacin và colistin xuất hiện tương tác hiệp đồng, trong khi nghiên cứu của chúng tôi chỉ là 19%. Sự khác biệt có thể là do các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem trong nghiên cứu của Lan Yu và cộng sự có MIC amikacin thấp, MIC<sub>50</sub> và MIC<sub>90</sub> của amikacin lần lượt chỉ là 4  $\mu\text{g/ml}$  và 8  $\mu\text{g/ml}$ , trong khi nghiên cứu của chúng tôi là 8  $\mu\text{g/ml}$  và 32  $\mu\text{g/ml}$ ; MIC của colistin cao hơn khi MIC<sub>50</sub> và MIC<sub>90</sub> lần lượt là 8  $\mu\text{g/ml}$  và 16  $\mu\text{g/ml}$  trong khi nghiên cứu của chúng tôi chỉ là 0,5  $\mu\text{g/ml}$



ml và 16 µg/ml. Điều này cho thấy có thể tỷ lệ xuất hiện hiệp đồng tác dụng tăng lên ở những chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC amikacin thấp và MIC colistin cao.

Có thể thấy trong 11 phối hợp xuất hiện tương tác hiệp đồng, có 6 phối hợp làm giảm 4 lần MIC amikacin, 3 phối hợp làm giảm 8 lần MIC amikacin và 2 phối hợp giảm MIC amikacin đến 16 lần. Mức độ giảm MIC trung bình là 5,5 lần. Điều này làm giảm MIC của amikacin xuống dưới 8µg/ml, tăng khả năng đạt được mục tiêu điều trị  $C_{max}/MIC$  từ 8 - 10. Kết quả của chúng tôi cũng có đôi chút khác biệt với nghiên cứu của Lan Yu và cộng sự đưa ra kết quả là chỉ giảm MIC amikacin tối đa xuống 8 lần.<sup>6</sup>

Từ kết quả phân loại theo MIC amikacin, số chủng xuất hiện hiệp đồng trên tổng số chủng tại MIC bằng 1, 2, 4, 8, 16, 32 lần lượt là 2/7, 4/14, 1/5, 2/6, 1/17, 1/8 tương ứng với tỷ lệ 28,6%, 28,6%, 20%, 33,3%, 5,9%, 12,5% gợi ý rằng khả năng hiệp đồng là không có sự khác biệt giữa các mức MIC amikacin. Kết quả phân nhóm dựa trên MIC amikacin < 8 µg/ml và nhóm MIC từ 8 - 32 µg/ml lần lượt là 7/26 và 4/31 cũng đưa ra kết quả tương tự.

Trong các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC amikacin < 8 µg/ml, tỷ lệ các chủng xuất hiện tương tác hiệp đồng trên các chủng có MIC colistin từ 0,5 - 2 µg/ml và > 2 µg/ml lần lượt là 6/17 và 1/9; hay trong các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC amikacin từ 8 - 32 µg/ml, tỷ lệ các chủng xuất hiện tương tác hiệp đồng trên các chủng có MIC colistin từ 0,5 - 2 µg/ml và > 2 µg/ml lần lượt là 2/12 và 2/6. Tuy số lượng chủng thử nghiệm không nhiều, kết quả cũng gợi ý có thể không có sự khác biệt giữa tỷ lệ xuất hiện phối hợp hiệp đồng giữa 2 nhóm có MIC colistin từ 0,5 - 2 µg/ml và > 2µg/ml trong các nhóm MIC amikacin.

Đối với colistin, trong 11 phối hợp xuất hiện tương tác hiệp đồng, có 8 phối hợp làm giảm

4 lần MIC colistin, 2 phối hợp làm giảm 8 lần MIC colistin và 1 phối hợp có MIC colistin giảm đến 128 lần, với mức độ giảm MIC trung bình là 4,87 lần thấp hơn trong nghiên cứu của Lan Yu và cộng sự<sup>6</sup> MIC colistin giảm trung bình 5,33 lần. Phân tích kết quả phân loại theo MIC colistin, số chủng xuất hiện hiệp đồng trên tổng số chủng tại MIC colistin bằng 0,125, 0,25, 0,5, 1, 4, 8, 16, 32 lần lượt là 0/2, 0/11, 5/24, 3/5, 0/1, 1/4, 1/7, 1/3 tương ứng với tỷ lệ 0%, 0%, 20,8%, 60%, 0%, 25%, 14,3%, 33,3% gợi ý rằng khả năng hiệp đồng là không có sự khác biệt giữa các mức MIC colistin. Tỷ lệ các chủng xuất hiện tương tác hiệp đồng trên các chủng có MIC colistin từ 0,5 - 2 µg/ml và có MIC > 2 µg/ml lần lượt là 8/29 và 3/15 cũng gợi ý kết quả là không có sự khác biệt.

Trong các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC colistin từ 0,5 - 2 µg/ml, tỷ lệ các chủng xuất hiện tương tác hiệp đồng trên các chủng có MIC amikacin < 8 µg/ml và từ 8 - 32 µg/ml lần lượt là 6/17 và 2/12; hay trong các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC colistin > 2 µg/ml, tỷ lệ các chủng xuất hiện tương tác hiệp đồng trên các chủng có MIC amikacin < 8 µg/ml và từ 8 - 32 µg/ml lần lượt là 1/9 và 2/6. Kết quả cũng gợi ý không có sự khác biệt giữa tỷ lệ xuất hiện phối hợp hiệp đồng giữa 2 nhóm có MIC amikacin < 8 µg/ml và từ 8 - 32 µg/ml.

Tuy số lượng chủng có MIC colistin cao còn thấp, chúng tôi nhận thấy có thể có một xu hướng khả năng hiệp đồng tăng lên khi MIC colistin tăng. Trong nghiên cứu của Lan Yu và cộng sự, MIC<sub>50</sub> và MIC<sub>90</sub> của các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem lần lượt là 8µg/ml và 16 µg/ml, đã đưa đến 65% phối hợp xuất hiện tương tác hiệp đồng và giảm MIC colistin trung bình 5,33 lần.<sup>6</sup> Một nghiên cứu khác của Julalak C. Ontong và cộng sự trên 11 chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC colistin rất cao (MIC<sub>50</sub> và MIC<sub>90</sub> lần lượt

là 256 µg/ml và > 1024 µg/ml) thì có đến 8/11 chủng (72,73%) xuất hiện tương tác hiệp đồng, tuy vậy MIC colistin giảm tối đa chỉ là 32 lần xuống còn 8 µg/ml, mức MIC vẫn là quá cao.<sup>8</sup>

Trong nghiên cứu của chúng tôi, với MIC colistin từ 0,5 - 2 µg/ml thì nhóm MIC amikacin thấp < 8 µg/ml có tỷ lệ xuất hiện tương tác hiệp đồng cao hơn. Tuy vậy, ở mức MIC colistin > 2 µg/ml là những chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem đã đề kháng với colistin thì kết quả lại chỉ ra nhóm có MIC amikacin cao hơn từ 8 - 32 µg/ml có tỷ lệ xuất hiện tương tác hiệp đồng cao hơn. Tuy số lượng phối hợp và tỷ lệ phối hợp xuất hiện tương tác hiệp đồng không cao (2/6 tương đương 33,3%) nhưng trong 2 chủng phối hợp xuất hiện tương tác hiệp đồng cả 2 chủng đều giảm MIC colistin xuống được ngưỡng điều trị (1 chủng MIC đơn colistin là 8 µg/ml giảm 4 lần xuống còn 2 µg/ml và 1 chủng MIC đơn colistin là 16 µg/ml giảm 128 lần xuống còn 0,125 µg/ml). Điều ấy khẳng định lại nhận định của chúng tôi là khi MIC colistin tăng lên thì khả năng xuất hiện tương tác hiệp đồng giữa amikacin và colistin cũng tăng lên. Tuy vậy, với mức MIC colistin quá cao trên 32 µg/ml dù tỷ lệ xuất hiện tương tác hiệp đồng có tăng cao ở nhiều nghiên cứu thì khả năng giảm MIC colistin vẫn là không đủ để có thể điều trị.

## V. KẾT LUẬN

Trên 57 chủng thử nghiệm phối hợp có 11/57 (19%) chủng quan sát thấy tương tác hiệp đồng, có 46/57 (81%) chủng quan sát thấy tương tác cộng tác dụng và không quan sát thấy tương tác đối kháng.

Trong 11 chủng phối hợp xuất hiện tương tác hiệp đồng, mức độ giảm MIC amikacin trung bình là 5,5 lần, với colistin là 4,87 lần. Các phối hợp hiệp đồng đều giảm MIC amikacin và colistin về ngưỡng có thể đạt được mục tiêu PK/PD. Phân tích kết quả theo phân loại MIC

colistin gợi ý xu hướng khả năng hiệp đồng tăng lên khi MIC colistin tăng.

Phối hợp amikacin và colistin tốt nhất ở những chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem có MIC amikacin < 8 µg/ml và MIC colistin từ 0,5 - 2 µg/ml. Ở mức MIC colistin > 2 - 32 µg/ml là những chủng đã đề kháng colistin thì các chủng có MIC amikacin từ 8 - 32 µg/ml cũng xuất hiện tỷ lệ tương tác hiệp đồng cao, hiệp đồng đều giảm MIC colistin và amikacin về ngưỡng thấp hơn, tăng hiệu quả điều trị. Tuy vậy, cần theo dõi chặt chẽ nồng độ thuốc trong máu để có thể hiệu chỉnh liều phù hợp.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Peleg AY, Hooper DC. Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. *N Engl J Med.* 2010; 362(19): 1804-1813. doi: 10.1056/NEJMra0904124.
2. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care-Associated Infections. *N Engl J Med.* 2014; 370(13): 1198-1208. doi: 10.1056/NEJMoa1306801.
3. Karaiskos I, Lagou S, Pontikis K, Rapti V, Poulakou G. The “Old” and the “New” Antibiotics for MDR Gram-Negative Pathogens: For Whom, When, and How. *Front Public Health.* 2019; 7. doi: 10.3389/fpubh.2019.00151.
4. Candan ED, Aksöz N. *Klebsiella pneumoniae*: characteristics of carbapenem resistance and virulence factors. *Acta Biochim Pol.* 2015; 62(4): 867-874. doi: 10.18388/abp.2015\_1148.
5. Sheu CC, Chang YT, Lin SY, Chen YH, Hsueh PR. Infections Caused by Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: An Update on Therapeutic Options. *Front Microbiol.* 2019; 10. doi: 10.3389/fmicb.2019.00080.
6. Yu L, Zhang J, Fu Y, et al. Synergetic

Effects of Combined Treatment of Colistin With Meropenem or Amikacin on Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in vitro. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019; 9. doi: 10.3389/fcimb.2019.00422.

7. Sato T, Wada T, Nishijima S, et al. Emergence of the Novel Aminoglycoside Acetyltransferase Variant aac(6')-Ib-D179Y and Acquisition of Colistin Heteroresistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Due to a Disrupting Mutation in the DNA Repair Enzyme MutS. *mBio.* 2020; 11(6). doi: 10.1128/mBio.01954-20.

8. Ontong JC, Ozioma NF, Voravuthikunchai SP, Chusri S. Synergistic antibacterial effects of colistin in combination with aminoglycoside, carbapenems, cephalosporins, fluoroquinolones, tetracyclines, fosfomycin, and piperacillin on multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *PLOS ONE.* 2021; 16(1) :e0244673. doi: 10.1371/journal.pone.0244673.

9. Amy L. Leber. *Clinical Microbiology Procedures Handbook, Fourth Edition.* American Society of Microbiology; 2016. doi: 10.1128/9781555818814.

10. Tsala M, Vourli S, Georgiou PC, et al. Exploring colistin pharmacodynamics against *Klebsiella pneumoniae*: a need to revise current susceptibility breakpoints. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73(4): 953-961. doi: 10.1093/jac/dkx522.

11. Cheah SE, Wang J, Nguyen VTT, Turnidge JD, Li J, Nation RL. New pharmacokinetic/pharmacodynamic studies of systemically administered colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in mouse thigh and lung infection models: smaller response in lung infection. *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70(12): 3291-3297. doi: 10.1093/jac/dkv267.

12. Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP, et al. International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy.* 2019; 39(1): 10-39. doi: 10.1002/phar.2209.

13. Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, et al. Dosing Guidance for Intravenous Colistin in Critically Ill Patients. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2017; 64(5): 565-571. doi: 10.1093/cid/ciw839.

14. Kuti JL, Wang Q, Chen H, Li H, Wang H, Nicolau DP. Defining the potency of amikacin against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* derived from Chinese hospitals using CLSI and inhalation-based breakpoints. *Infect Drug Resist.* 2018; 11: 783-790. doi: 10.2147/IDR.S161636.

15. Taccone FS, Laterre PF, Spapen H, et al. Revisiting the loading dose of amikacin for patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care.* 2010; 14(2): R53. doi: 10.1186/cc8945.

16. Sadeghi K, Hamishehkar H, Najmeddin F, et al. High-dose amikacin for achieving serum target levels in critically ill elderly patients. *Infect Drug Resist.* 2018; 11: 223-228. doi: 10.2147/IDR.S150839.

17. Logre E, Enser M, Tanaka S, et al. Amikacin pharmacokinetic/pharmacodynamic in intensive care unit: a prospective database. *Ann Intensive Care.* 2020; 10:75. doi: 10.1186/s13613-020-00685-5.



## Summary

### THE EFFICACY OF COLISTIN COMBINED WITH AMIKACIN ON CARBAPENEM RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ISOLATES

In this study, we evaluate the efficacy of the combination of colistin and amikacin in vitro using the checkerboard technique on 57 carbapenem resistant *K. pneumoniae* isolates. Combination of colistin with amikacin were synergic in 11/57 (19%) of the strains. At MIC of amikacin being 1, 2, 4, 8, 16, 32, the synergy activities were observed in 2/7, 4/14, 1/5, 2/6, 1/17 and 1/8, respectively. At MIC of colistin being 0.125, 0.25, 0.5, 1, 4, 8, 16, 32, the synergy activities were observed in 0/2, 0/11, 5/24, 3/5, 0/1, 1/4, 1/7 and 1/3, respectively. The combination of colistin with amikacin showed good synergism. The synergistic combinations reduced the MICs of amikacin and colistin to the threshold for achieving pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) goals. The synergistic interaction tends to increase as the colistin MIC increases respectively.

**Keywords:** Combination of colistin with amikacin, carbapenem resistant *K. pneumoniae*, checkerboard.