

81株淋球菌对抗生素的敏感度测定

微生物学教研室 顾克洲 吴兰芳 朱圣禾 蔡挺
萧山市人民医院 王仁德 郑巧彤

内容提要 本文用琼脂稀释法测定了12种抗生素对杭州地区分离的81株淋球菌的最小抑菌浓度(MIC)。结果为:青霉素G 0.03~4mg/L,苯唑青霉素 1~32mg/L,头孢唑啉0.25~32mg/L,头孢氧哌唑0.25~16mg/L,头孢氨噻唑肟0.0075~2mg/L,奈啶酸0.125~2mg/L,氟哌酸0.0075~0.5mg/L,氟啶酸0.0075~1mg/L,氯霉素0.125~32mg/L,甲砷霉素0.015~2mg/L,红霉素0.125~16mg/L和壮观霉素1~64mg/L。表明流行菌株中以耐青霉素菌株为主(耐青霉素G 69%,耐苯唑青霉素77%),此外,亦有头孢唑啉(6%)、氯霉素(2%)、红霉素(7%)和壮观霉素(2%)的耐药菌株出现。本文结果对进一步研究淋球菌的耐药性有重要意义。

关键词 淋病奈瑟菌;微生物敏感试验

我国近年来由耐药菌株引起流行的淋病已占一定比例^[1],以致给临床治疗和疾病控制带来较大困难。为了解淋球菌流行株对抗菌药物的敏感性及其变迁动态,我们用琼脂稀释法测定杭州地区流行的81株淋球菌对12种抗菌药物的最小抑菌浓度(MIC),现将有关结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 菌株 用桂敏淋球菌分离培养基(广西壮族自治区皮肤病防治研究所)从杭州市1989年5月~1990年10月淋病患者中分离获得81株淋球菌。经形态、染色、氧化酶和糖发酵试验检查均符合标准后,移种3次、冰冻真空干燥,保藏于-30℃备用。

1.2 含药培养基制备 淋球菌药敏试验培养基由浙江省军区卫生防疫检验所提供,待培养基冷却至50℃左右,分别加入经稀释的不同抗生素,混匀后倾注于灭菌平皿中。氯

霉素(Chloramphenicol, CM, 中国药品生物制品检定所)、甲砷霉素(Thiamphenicol, TM, 杭州民生药厂)、红霉素(Erythromycin, ER, 中国药品生物制品检定所)用无水乙醇溶解;奈啶酸(Nalidixic Acid, NA 德国Serva)、氟哌酸(Floxacin, FA, 德国Serva)和氟啶酸(Enexacin, EA, 浙江海门制药厂)用1mol/L NaOH液溶解;头孢唑啉(Cefazolin, CZ, 福建三明制药厂)、头孢氧哌唑(Cefoperazon, CP, 意大利Lispharma)和头孢氨噻唑肟(Cefotaxime, CT, 东北制药总厂)用0.1mol/L pH 6.0磷酸盐缓冲液溶解;青霉素G(Penicillin G, PG, 中国药品生物制品检定所)和苯唑青霉素(Oxacillin, OX, 上海第三制药厂)用灭菌蒸馏水溶解;壮观霉素(Spectinomycin, SP, 美国Upjohn)用所附溶剂溶解。上述抗生素均在有效期内。制成母液后用灭菌蒸馏水稀释至所需浓度。以不加

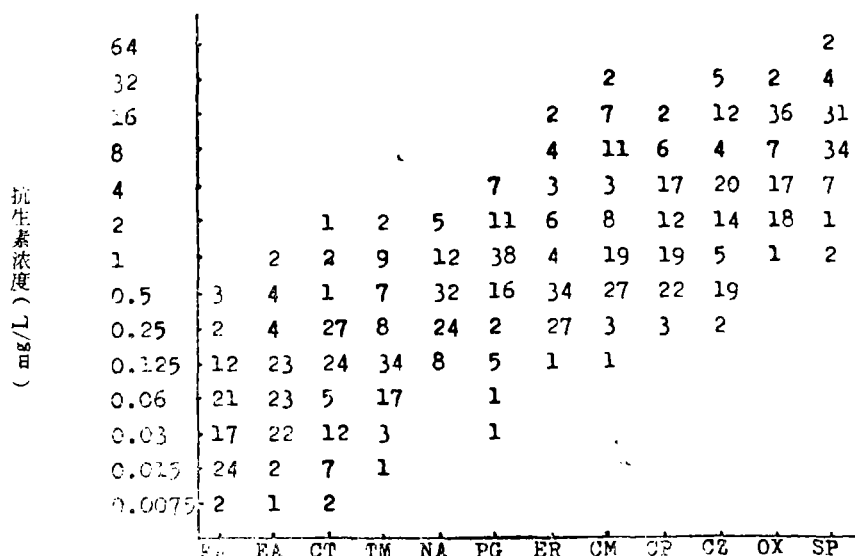
抗生素的培养基作淋球菌生长对照。

1.3 试验方法和结果判断 将冰冻干燥保藏的菌株复苏后第2代(即分离后第5代)移种于不含抗生素的血液琼脂上,置5% CO₂, 36℃培养20h,刮取菌苔在等渗盐水中调整至含1×10⁷菌落形成单位(CFU)/ml的悬液,取1μl(1×10⁴CFU菌量)接种于含药的琼脂平板上,置36℃ 5%CO₂中培养24h,观察结果。以每株淋球菌被抑制生长的最低含药浓度判为该抗生素对淋球菌的最小抑菌浓度。

含药培养基同时分别接种大肠杆菌(ATCC₂₅₉₂₂)、金黄色葡萄球菌(ATCC₂₅₉₂₃)和绿脓杆菌(ATCC₂₇₈₅₃)等参考株作为质控对照。

2 结果

2.1 12种抗生素对淋球菌的MIC 结果如附图和表1所示。从表1可见,不同抗生素对淋球菌的MIC变化范围较大,其中以氟哌酸、氟啶酸、头孢氨噻吩最为敏感,其次为甲矾霉素。



附图 抗生素对81株淋球菌的MIC

表1 抗生素对81株淋球菌的MIC

抗 生 素	MIC (mg/L)		
	范 围	50%	90%
PG	0.03 ~ 4	1	2
OX	1 ~ 32	8	16
CZ	0.25 ~ 32	4	16
CP	0.25 ~ 16	1	4
CT	0.0075 ~ 2	0.125	0.25
NA	0.125 ~ 2	0.5	1
FA	0.0075 ~ 0.5	0.03	0.125
EA	0.0075 ~ 1	0.06	0.25
CM	0.125 ~ 32	1	16
TM	0.015 ~ 2	0.125	1
ER	0.125 ~ 16	0.5	4
SP	1 ~ 64	8	16

2.2 根据美国“国家临床实验室标准委员会药物敏感试验标准”, 81株淋球菌对12种抗生素的敏感性如表2, 可见杭州地区淋球菌流行株对青霉素G和苯唑青霉素有较高耐药率, 分别为69%和77%。此外, 对红霉素(7%)、头孢唑啉(6%)、氯霉素(2%)和壮观霉素(2%)亦有一定的耐药菌株出现。

3 讨论

自1976年英国首次分离出产青霉素酶的淋球菌(PPNG)后^[2], 淋球菌耐药株的流行已成为性病防治中的一大难题。据Oriol^[3]等报道, 全世界已有56个国家和地区检出PPNG菌株。从本文青霉素G对81株

表2 81株淋球菌对抗生素的敏感性

抗 生 素	敏 感		中度敏感		耐 药	
	株数	%	株数	%	株数	%
PG	2	2	23	29	56	69
OX	19	23	0	0	62	77
CZ	64	79	12	15	5	6
CP	81	100	0	0	0	0
CT	81	100	0	0	0	0
NA	81	100	0	0	0	0
FA	81	100	0	0	0	0
EA	81	100	0	0	0	0
CM	72	89	7	9	2	2
TM	81	100	0	0	0	0
ER	62	77	13	16	6	7
SP	79	98	0	0	2	2

淋球菌的MIC结果可以看出,有69%的菌株 $\geq 1\text{mg/L}$,其中7株(9%)已达 4mg/L ,对苯唑青霉素耐药率亦如此,达77%,表明杭州地区淋球菌流行株以耐青霉素株为主,而国内部分城市耐青霉素菌株在26.1~82.4%,沿海开放城市高于内陆城市^[1],本研究结果与此相符。

为了防止耐青霉素菌株产生,目前最常采用的方法是改用头孢霉素或壮观霉素。本文测定了淋球菌对这些抗生素的敏感性,结果表明淋球菌的耐药性明显增加,壮观霉素MIC范围在1~64mg/L之间,有45.7%菌株的MIC $\geq 16\text{mg/L}$,其中2株(2.5%)高达64mg/L。国内叶顺章^[4]等报道,广西南宁地区1988年淋球菌流行菌株对壮观霉素的MIC $\geq 16\text{mg/L}$ 者已达65.8%。Hilton^[5]等认为琼脂中壮观霉素含量16mg/L是区分耐药和敏感的分界线。本文提示今后应严格控制壮观霉素的使用范围和剂量。经测定头孢唑啉的MIC有6.2%菌株 $\geq 32\text{mg/L}$ 、14.8%菌株为16mg/L,敏感率仅为79%,其结果与国内部分城市相似。WHO专家组指出,当流行菌株中对某抗生素的耐药株超过5%,则该抗生素不应再作为一线药物,因此应加强对头孢唑啉的耐药性测定和控制使用。头孢氨噻呋作为新一代头孢菌素,对淋球菌

较为敏感。Peeters^[6]等报道对PPNG的MIC为0.001~0.0032mg/L,90% MIC为0.016mg/L,对非PPNG为0.001~0.0064mg/L,90% MIC为0.032mg/L。叶顺章^[4]等报道PPNG的MIC为0.016~1.024mg/L。本文结果与此相似,MIC为0.0075~2mg/L,90% MIC为0.25mg/L,表明头孢氨噻呋可作为耐青霉素淋球菌的治疗药物。

甲砒霉素作为氟霉素系新型广谱抗生素,其特点为不具有氯霉素对骨髓不可逆的严重毒性,口服或注射后吸收迅速,2h后血液中浓度达到最高水平,大部分(62%)以活性化合物从尿液排出,尤适用于尿路感染的治疗。Duck^[7]等测定530株淋球菌对甲砒霉素的敏感性,结果全部敏感。本文81株淋球菌中对此尚无耐药菌株出现,其MIC明显优于壮观霉素、头孢唑啉、氯霉素和红霉素等,因而可考虑作为二、三线抗淋球菌药物使用。甲砒霉素治疗淋病常用剂量为2.5g/d口服3天。

氟哌酸和氟啶酸是第二代喹酮类抗生素,对淋球菌具有较强作用。Saux^[8]等报道氟哌酸对 β -内酰胺酶阳性淋球菌菌株的90% MIC为0.06mg/L, β -内酰胺酶阴性淋球菌菌株的90% MIC为0.03~0.06mg/L。本文资料表明81株淋球菌的MIC范围氟哌酸为0.0075~0.5mg/L,氟啶酸为0.0075~1mg/L,所有菌株对两药均敏感。氟哌酸和氟啶酸均为口服,经肠道吸收后广泛分布于全身各组织、体液和细胞内,主要通过肾小管分泌,经肾脏排泄,此外无严重毒副反应,较为安全,对耐青霉素菌株,特别是PPNG具有高效,故在治疗淋病中具有重要价值和广泛应用前景。

综上所述,目前淋球菌流行菌株中,耐青霉素菌株比例提高(耐青霉素G 69%,耐苯唑青霉素77%),亦有耐头孢唑啉、红霉素、氯霉素和壮观霉素菌株出现,在临床治疗淋病中,当务之急是广泛开展药物敏感性测定和选用敏感抗生素,同时应加强对淋球菌耐药性的研究和监控。(下转第177页)

之”，“实则泻之”的治则，确定以补益中药为主，佐以解毒中药组成的“艾滋I号方”治疗，目的在于保护患者免疫功能，阻止病情的发展。经过实验室观察，本方对细胞免疫有明显促进作用，且经急性和亚急性毒理试验证明，本方安全无毒，适于长程治疗。临床观察表明，3例患者经本方10个月以上治疗，一般情况明显好转，体力增强，保持正常的生长发育过程，并能坚持正常的学习与工作，显示本方的补益强壮作用。同时还发现，经过治疗后患者的 T_{101} 、 T_4 增加， T_8 减少，使 T_4/T_8 比值明显提高，并能调节血清免疫球蛋白的水平，初步说明本方对保护细胞免疫、调整体液免疫功能均有良好的作用。我们认为，在当前缺乏特效药物的情况下，本方可作为HIV感染的治疗药物，并可试用于AIDS的治疗。

(本研究的实验室检查承我校血液病研究所郎亚民、梁毅等同志协助,特此致谢)

参 考 文 献

1. 王绪鳌,等. 浙江中医杂志 1990; 25(6): 267
2. 曾毅,等. 病毒学报 1986; 2(2): 97
3. 徐英含,等. 临床与实验病理学杂志 1988, 4(3): 158
4. 陆应江. 医学教育 1989; 12: 40
5. Mann J. World Health Forum 1987; 8(3): 361
6. 彭文伟. 新医学 1989; 20(6): 321
7. 季林祥译. 中华血液学杂志 1986; 7(8): 467
8. 钟达锦,等著. 艾滋病的中医治疗. 第1版, 济南: 山东科学技术出版社, 1990: 10, 59
9. Sandström E. Drugs 1986; 31(6): 463
10. 孙国华. 中医药研究参考资料 1984; 8: 1
11. 李红捷译. 国外医学中医中药分册 1987; 9(4): 256

(1991年7月收稿, 同年10月修回)

(上接第166页)

参 考 文 献

1. 全国淋球菌耐药研究协作组. 中华皮肤科杂志 1990; 23(1): 3
2. Phillips I. Lancet 1976; II(1987): 656
3. Oriel ID, et al. Recent advance in sexually transmitted diseases. London and New York: Churchill Livingstone 1986; 925

4. 叶顺章,等. 临床皮肤科杂志 1989; 18(5): 232
 5. Hilton JM, et al. Genitourin Med 1985; 6(4): 241
 6. Peeter M, et al. Antimicrob Agents Chemother 1987; 31(8): 1288
 7. Duck PD, et al. Antimicrob Agents Chemother 1978; 14(5): 788
 8. LE Saux NM, et al. Antimicrob Agents Chemother 1987; 31(7): 1153
- (1991年9月20日收稿, 1992年1月3日修回)