

# 菌液濃度在細菌對抗生素 敏感試驗中的影響

王逸民

(蘇北醫學院附屬醫院檢驗科, 江蘇南通)

抗生素自 1940 年青黴素應世以來, 目前能適用於臨床者, 已有十餘種。隨着它的被廣泛應用, 甚或濫用, 抗藥性菌株亦漸見增多。雖然對大多數抗生素不產生或不易產生, 然主要用作治療的青黴素與鏈黴素之能產生抗藥菌株, 已為盡人皆知的事實。其中尤以鏈黴素為然。筆者曾於一葡萄球菌敗血症病人血液中分離出 1 株金黃色葡萄球菌, 在試管試驗中, 每毫升含青黴素 120 單位, 猶未能阻抑其生長。由於抗藥菌株確實存在之事實, 在臨床治療上加以忽視是不妥當的。誠然, 單獨依憑在試管中進行細菌對抗生素敏感度測定試驗, 與鑑定病人體液中抗生素濃度, 作為治療指南, 而不顧及病人機體之內外統一性, 與中樞神經系統的主導作用, 是不够全面與恰當的。但截至目前為止, 試管試驗之價值, 還有其一定的臨床重要意義。

## 選擇方法

細菌對抗生素敏感試驗與體液內抗生素濃度測定, 方法繁多。據筆者過去在上海醫學院附屬醫院長時間試驗結果, 認為採用試管 2 倍逐級稀釋法, 最為簡便實用。其結果與臨床大都吻合。此法優點為操作簡便, 容易掌握, 不需特別器材。在一般條件較差實驗室中, 均能施行。

## 試驗菌液濃度

據了解, 目前國內出版有關此項試驗方法頗不統一, 影響結果頗大。主要為菌液濃度, 各有所說。有人主張菌液濃度與試驗結果無甚關係; 有人主張用 6 小時肉湯培養液(指容易生長細菌) 2 白金耳, 置於 2 毫升肉湯內稀釋, 再取用 0.1 毫升; 有人主張用 1 白金耳代替 2 白金耳; 甚至有的含糊其辭說: 稀釋至適當濃度。由於菌液濃度不統一, 使操作者不知適從, 隨手做來, 必致影響結果。現用 3 種常用抗生素與相應細菌, 在不同菌液濃度下, 採用試管 2 倍逐級稀釋法, 所得結果, 列表如下:

表 1 青黴素敏感度 單位/毫升

每毫升含菌 菌 名	500	2,000	10,000	50,000	100,000	200,000
金黃色葡萄球菌	0.0039	0.0078	0.0078	0.0156	0.0312	0.0625
溶血性鏈球菌	0.0039	0.0078	0.0078	0.0156	0.0312	0.0312
肺炎雙球菌	0.0019	0.0039	0.0039	0.0078	0.0078	0.0156

表 2 鏈黴素敏感度 微克/毫升

每毫升含菌 菌 名	500	2,000	10,000	50,000	100,000	200,000
大腸桿菌	2.0	4.0	4.0	8.0	8.0	16.0
溶血性鏈球菌	0.25	0.5	0.5	1.0	1.0	1.0
傷寒桿菌	1.0	2.0	2.0	4.0	4.0	8.0
副痢疾桿菌	1.0	2.0	2.0	4.0	4.0	4.0

表 3 氯黴素敏感度 微克/毫升

每毫升含菌 菌 名	500	2,000	10,000	50,000	100,000	200,000
大腸桿菌	3.125	3.125	6.25	12.5	12.5	12.5
傷寒桿菌	3.125	3.125	3.125	6.25	12.5	12.5
副傷寒桿菌甲	1.56	1.56	3.125	6.25	12.5	12.5
副傷寒桿菌乙	0.78	0.78	1.56	3.125	6.25	6.25
志賀氏痢菌	3.125	3.125	6.25	12.5	12.5	12.5

附註：本試驗所用菌種均為臨床分離而得的地方菌株。

由上表看來，菌液濃度顯然會影響結果，且有相差較巨的。菌液濃度，以每毫升含菌 2,000—10,000 個最為理想。

菌種培養時間：

在一般情況下，菌種培養時間為 6 小時或 24 小時，對結果無影響，作者試驗結果如下表：

表 4

抗 生 素 濃 度 培 養 時 間		青 黴 素 單 位 / 毫 升											
		0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0312	0.0156	0.0078	0.0039	0.0002	0.0001	0.00005	對 照
葡 萄 球 菌	6 小 時	—	—	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++
	24 小 時	—	—	—	—	—	—	—	++	++++	++++	++++	++++

表 5

抗 生 素 濃 度		鏈 徽 素 微克/毫升											
培養時間		64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	對照
副痢桿菌	6 小時	—	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	24 小時	—	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	++++
大腸桿菌	6 小時	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	24 小時	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

表 6

抗 生 素 濃 度		氯 黴 素 微克/毫升											
培 養 時 間		100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195	0.097	對 照
傷 寒 桿 菌	6 小 時	—	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	24 小 時	—	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++	++++
副 傷 寒 乙	6 小 時	—	—	—	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++
	24 小 時	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++++	++++	++++

在試管試驗法中，結果讀度界限很明顯，可以看出生長或不生長。在上表試驗中，祇有葡萄球菌與副傷寒桿菌乙的 24 小時培養，在敏感度之後一管顯示生長不太茂盛，但並不影響結果。上述試驗的菌液稀釋，均為每毫升含菌 5,000，鏈球菌與肺炎球菌因 6 小時生長情形不佳，一般均以培養 18—24 小時後，再稀釋作試驗用。

菌種生長濃度

用 0.5% 葡萄糖肉湯或 0.5% 葡萄糖肝浸湯來培養細菌，在一般移種方法下，細菌濃度大約如表 7。

當然生長濃度，隨培養基與菌株不同而變更。細菌計數除球菌以採用傾碟法菌落計數比較適宜外，一般可採用血球計數方法，在顯微鏡下直接計數，用凱立遜氏液作稀釋液，稀釋倍數與計算法同紅血球。

凱立遜氏液：

- 鹽 酸
- 昇 汞(1:500 水溶液)
- 酸復紅(1% 水溶液)
- 2 毫升
- 100 毫升
- 適量至櫻紅色

試驗方法：

(一) 敏感試驗

表 7

菌 名	每毫升細菌百萬數	培 養 時 間	
		6 小 時	24 小 時
金 黃 色 葡 萄 球 菌		350— 400	450— 500
溶 血 性 鏈 球 菌			250— 300
肺 炎 變 球 菌			250— 300
傷 寒 桿 菌		500— 550	750— 800
副 傷 寒 桿 菌 甲		550— 600	900—1,000
副 傷 寒 桿 菌 乙		900— 950	1,300—1,400
志 賀 氏 痢 菌		550— 600	1,000—1,100
副 痢 疾 桿 菌		550— 600	1,000—1,100
大 腸 桿 菌		1,000—1,050	1,500—1,600

1. 取無菌華氏試管 11 支放成一排;
2. 每管加肉湯 0.5 毫升;
3. 取適宜濃度之抗生素肉湯稀釋液 0.5 毫升, 加入於第 1 管, 逐管稀釋至第10管為止, 棄去多餘的 0.5 毫升, 第11管不加抗生素作對照用。
4. 每管加稀釋菌液 0.5 毫升(用肉湯稀釋 6 小時或24小時培養), 由對照管加起, 每毫升以含菌約 5,000 個為最宜。
5. 搖勻, 放置 在37℃下 18—24 小時, 觀察結果。
6. 最低濃度管適足阻抑細菌生長者, 即為該菌的敏感度。

(二) 體液內抗生素濃度測定

方法與敏感試驗同, 惟用無菌手法, 採取病人體液(如為小便, 可用柴資氏濾器過濾, 雖濾板能吸附一部分抗生素, 但影響結果不大)代替抗生素稀釋液。任何已知敏感度之敏感菌株, 均可用作試驗。結果以能阻抑細菌生長的最高稀釋倍管之稀釋倍數, 乘以該菌之敏感度, 即為病人每毫升含抗生素的濃度。

結 論

1. 本文推薦一簡單實用的抗生素敏感試驗。
2. 試驗菌液以每毫升含菌 2,000—10,000 為最適宜。
3. 菌液濃度不恰當, 會影響結果。
4. 菌種培養時間 6 小時與 24 小時, 結果相同。

## THE INFLUENCE OF BACTERIAL CONCENTRATION ON THE ACTIVITY OF ANTIBIOTICS

WANG, Y.M.

*Super Medical College*

In the determination of in vitro sensitivity test of some of the common antibiotics, such as penicillin, streptomycin and chloromycetin, it was found that the concentration of the bacterial suspension bore an important relationship to the results obtained. In general, the higher the concentration, the less sensitive is the result. It was found that concentration of 2,000 to 10,000 organisms per ml gave the best results. The importance of concentration was most evident, when body fluids were incorporated in the test medium.