

对痢疾杆菌抗菌药物敏感试验方法的探讨

娄绍琦 肖德政 王四季 芦大利

测定细菌对抗菌药物的敏感性的方法大致可以分为药物连续稀释法和药物弥散法。前者为定量的方法,常用的有试管法及平皿法,后者近似一定性方法,以纸片法最常用。这些方法的操作简繁不同,所得结果亦有一定的差异。测定痢疾杆

菌的药物敏感性以那种方法较可靠而实用,特别是关于国内近来常用的呋喃西林等的敏感试验方法,文献记载较少。因此,我们比较了用平皿法、

本文 1962 年 12 月 12 日收到

試管法及紙片法測定痢疾杆菌對藥物敏感度的結果。

材料及方法

試驗用菌株系 1962 年分離的痢疾杆菌共計 100 株,其中:痢疾志賀氏菌 1 型 1 株,痢疾志賀氏菌 2 型 8 株,福氏志賀氏菌各型 76 株,鮑氏志賀氏菌各型 4 株,宋內氏志賀氏菌 11 株。

(一) 瓊脂稀釋法: 合霉素、呋喃西林及黃連素用 pH7.0 普通瓊脂,磺胺噻唑用 pH7.4 无脛牛肉浸液瓊脂。

將培养基加熱溶化,待冷卻至 50°—60°C 時加入適當的藥物溶液,使其達到所需的濃度,混合傾注平皿。

瓊脂凝固後用白金耳取試驗菌株的肉湯培養物划綫接種,每個平皿接種 6—8 个菌株。于 37°C 培育 12—16 小时,觀察完全阻止細菌生長的最小

濃度。

(二) 液体稀釋法: 用 pH7.0 普通肉湯或 pH7.4 无脛肉湯(磺胺噻唑用)。分別加入不同濃度的各種藥物分裝于无菌小試管中接種: 每管加試驗菌株的 6 小时肉湯培養物一滴(約 0.05 毫升), 37°C 培育 12 小时讀取結果。

(三) 紙片法: 取直徑 6 毫米的圓濾紙片,干熱滅菌後,每百片加入藥物稀釋液 1 毫升,放 37°C 烘干各用。

取試驗菌株的肉湯培養物 1 白金耳,均勻涂布于瓊脂培养基上。再以含藥紙片放到培养基表面。每個平皿放紙片 8—12 張。37°C 培育 20 小时,量取抑菌圈直徑。

結果及討論

一、瓊脂稀釋法与液体稀釋法的比較

以瓊脂稀釋法与液体稀釋法同時做痢疾杆菌

表 1 平皿法与試管法測定痢疾桿菌藥物敏感性結果的比較 (數字为菌株数,亦即%)

方 法	試驗菌株数	合霉素(r/毫升)					呋喃西林(r/毫升)					磺胺噻唑(r/毫升)					黃連素(r/毫升)				
		抗藥		敏 感			抗藥		敏 感			抗藥		敏 感			抗藥		敏 感		
		720	20	10	5	2.5	750	50	20	10	5	71000	1000	500	200	100	71000	1000	500	200	100
平皿法	100	21	5	8	27	39	0	2	10	54	34	81	0	1	0	18	92	8	0	0	0
試管法	100	21	10	13	33	23	0	33	63	4	0	100	0	0	0	0	97	3	0	0	0

表 2 紙片法与瓊脂稀釋法的比較

藥物	方 法	試驗菌株数	抗藥	中度敏感	高度敏感
合 霉 素	瓊脂稀釋法	100	26	35	39
	紙片法(2000微克)	100	21	0	79
	紙片法(1000微克)		21	3	76
	紙片法(500微克)		26	10	64
	紙片法(100微克)		39	38	23
呋喃西林	瓊脂稀釋法	100	2	10	88
	紙片法(2000微克)	100	0	2	98
	紙片法(1000微克)		0	20	80
	紙片法(500微克)		8	58	34
	紙片法(100微克)		97	3	0
磺胺噻唑	瓊脂稀釋法	100	81	1	18
	紙片法(100毫克)	100	75	5	20
	紙片法(50毫克)		81	0	19
	紙片法(10毫克)		82	0	18
	紙片法(5毫克)		91	0	9
黃連素	瓊脂稀釋法	100	92	8	0
	紙片法(50毫克)	100	100	0	0
	紙片法(20毫克)		100	0	0
	紙片法(10毫克)		100	0	0
	紙片法(5毫克)		100	0	0

對合霉素、呋喃西林、磺胺噻唑及黃連素的敏感試驗,結果如表 1。

由表 1 可見,兩種方法測得的結果有明显差別。液体稀釋法測得的最低抑菌濃度在四種藥物都較瓊脂稀釋法偏高,其中以呋喃西林、黃胺噻唑的結果差別較大。

兩法結果有差別的原因,可能是由于一般菌株中都可有些耐藥度較高的个体。在液体培养基

注:由于瓊脂稀釋法与紙片法判定方式不同,二者比較須確定判定标准。我們參考 Out, Köhler 等^[1-4]文獻採用了下列标准:

1. 瓊脂稀釋法:

	抗藥 (微克/毫升)	中度敏感 (微克/毫升)	高度敏感 (微克/毫升)
合霉素	>20	5—10	<5
呋喃西林	>50	20	<20
磺胺噻唑	>1000	500—1000	<500
黃連素	>1000	500—1000	<500

2. 紙片法(6 毫米直徑紙片):

	抗藥	抑菌直徑	<9 毫米
中度敏感	抑菌直徑	10—14 毫米	
高度敏感	抑菌直徑	>15 毫米	

中只要有少数細菌发育,就能够使整个試管变混浊。琼脂稀释法无此缺点,个别的抗药菌体在平皿上只能发育成少数菌落,而且多为肉眼不可見的,既使有稀少的菌落也可判为“敏感”。此外,用琼脂稀释法,一組平皿可測定 6—8 个菌株,操作較液体稀释法簡單。

二、藥物紙片法与琼脂稀释法的比較:

将各种藥物以不同浓度定量地浸泡紙片,与琼脂稀释法比較其平行关系,結果見表 2。

表 2 表明,藥物紙片的抑菌作用与紙片上的藥物含量有密切关系,藥物浓度高抑菌作用强,菌株“敏感”的多,“抗药”的少,藥物浓度低时則相反。据表 2 可找出紙片法与琼脂稀释法符合率較高的紙片法藥物浓度配方,这个浓度是:

呋喃西林 1000 微克/100 张濾紙片

合霉素 500 微克/100 张濾紙片

磺胺噻唑 50 毫克/100 张濾紙片

黃連素 不宜用紙片法測定。

藥物敏感試驗紙片法,受試驗方法自身性質的限制,只能得到近似的結果。如果能掌握試驗中的主要影响因素,并且每次試驗均以标准敏感度的菌株作对照,随时检查藥物紙片的效力,看来还有实用价值,但不能估价过高。抑菌作用不强的藥物如黃連素等紙片法不适用。

参 考 文 献

- [1] Ott, H. T. 和 Köhler, W.: 抗菌治疗中抗药性和藥物浓度的測定。
- [2] 金錦仁等:微生物学报, 7 (1,2): 109, 1959。
- [3] 李复汉等:微生物学报, 7 (1,2): 123, 1959。
- [4] 秦晓光等:中华內科杂志, (6): 377, 1962。