

•药研动态•

痢菌净与6种抗菌药对鸡大肠埃希菌的体外联合药敏试验研究

杨志坤¹, 崔笑博¹, 解相霞², 郭树源², 宋道桢³, 常维山²

(1 山东省兽药质量检验所, 济南 250022;

2 山东农业大学动物医学院, 泰安 271018;

3 山东省滨州畜牧兽医研究院, 滨州 256600)

摘要: 研究痢菌净分别和6种抗菌药联用在体外对鸡大肠埃希菌的抑制效果, 为临床联合用药提供试验依据。采用棋盘微量测定法, 痢菌净分别与头孢噻肟钠、阿奇霉素、粘杆菌素、新霉素、氟苯尼考组合, 观察对大肠埃希菌的抑菌效果。结果表明痢菌净与头孢噻肟钠的联合使用对大肠埃希菌标准株、临床分离株呈协同作用为主(76.9%); 痢菌净和新霉素联用呈协同或相加作用(协同占46.15%, 相加占53.85%); 痢菌净和氟苯尼考联用为相加作用(84.6%); 痢菌净和粘杆菌素联用主要呈相加作用(相加作用76.9%, 协同作用23.1%); 痢菌净和左旋氧氟沙星、痢菌净和阿奇霉素联用呈无关作用。

关键词: 痢菌净; 鸡大肠埃希菌; 联合抗菌效果

中图分类号: R978.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-8751(2014)05-0213-03

DOI:10.13461/j.cnki.wna.004772

The Drug Susceptibility Test in vitro of Six Antimicrobial Drugs Combine Mequindox to *Escherichia coli* from Chicken

Yang Zhi-kun¹, Cui Xiao-bo¹, Xie Xiang-xia², Guo Shu-yuan², Song Dao-zhen³, Chang Wei-shan²

(1 Shandong Veterinary Drug Quality Inspection Institute, Jinan 250022;

2 Shandong Agricultural University, Taian 271018;

3 The animal husbandry and Veterinary Research Institute of Shandong Binzhou, Binzhou 256600)

Abstract: We studied six antimicrobial drugs to combine mequindox and observed the inhibitory effect for chicken *Escherichia coli* in vitro. It may provide a experiment basis for to treatment in clinical with drug combination. The chessboard trace determination method was adopted, mequindox respectively with cefotaxime sodium, azithromycin, colistin, neomycin, fluorine benzene nicol combination, antibacterial effect to *E. coli* bacteria was observed. Results shew that using mequindox in combination with cefotaxime sodium present synergy dominated (76.9%) for *E. coli* strains, clinical isolates; mequindox and neomycin combine each other to present synergistic or additive effect (synergistic accounting for 46.15%, additive accounted for 53.85%); mequindox and fluorine benzene nicol joint use to present additive effect (84.6%); mequindox and colistin jointly used to present additive effect primarily(additive accounted for 76.9% synergy accounted for 23.1%); mequindox and levofloxacin, mequindox joint and azithromycin combine to present unrelated effect.

Key words: mequindox; chicken *E. coli*; joint antibacterial effect

痢菌净又名乙酰甲喹, 为喹啉的1,4-二氧化物的衍生物。是国内合成的卡巴氧类似物。广谱抗菌药, 其抗菌机理为抑制菌体的脱氧核糖核酸(DNA)合成。对多数细菌具有较强的抑制作用, 对革兰阴性菌作用更强, 对密螺旋体也有效。主要

作用是抑制肠道菌的脱氧核糖核酸(DNA)的合成而达到防止感染的效果, 对革兰阴性菌作用更强, 不易产生抗药性且价格低廉, 在畜牧业上广泛用于治疗鸡或猪的细菌性疾病^[1]。但禽类加大剂量或长期使用则会引起急性和蓄积中毒^[2]。因此近年来, 该药更

收稿日期: 2014-07-13

基金项目: 山东省农业产业技术创新体系家禽创新团队环境与生产岗位基金SDAIT-13-011-11。

作者简介: 杨志坤, 博士, 副教授, 研究方向: 抗肿瘤化学新药仿制药的研发。

多用于与其他抗菌药联合使用。

本实验探讨了痢菌净与头孢噻肟钠、阿奇霉素、粘杆菌素、新霉素、氟苯尼考、左旋氧氟沙星和强力霉素7种抗菌药物体外联合用药的抗菌效果，为痢菌净的临床应用提供了试验依据。

1 试验条件

1.1 抗菌药物

痢菌净(含量98.5%)，头孢噻肟钠(59%)，阿奇霉素(0.25g/瓶 浙江亚太制药 粉剂)，粘杆菌素(85%)，左旋氧氟沙星(99%)。新霉素、氟苯尼考、强力霉素均为原料级原粉。

1.2 菌株

标准质控菌ATCC25922(南京便诊生物科技有限公司)；鸡大肠埃希菌临床株12株，由本研究室分离鉴定。

1.3 培养基

Muller-Hinton(MH)肉汤和Muller-Hinton(MH)琼脂培养基，美国Difco公司产品。

2 方法

2.1 抗菌药物储备液配制

无菌称取痢菌净与头孢噻肟钠、阿奇霉素、粘杆菌素、新霉素、左旋氧氟沙星和强力霉素，用无菌蒸馏水溶解并稀释成2048μg/mL的溶液，于-20保存^[3]。氟苯尼考利用乙醇和聚乙二醇溶液溶解。

2.2 细菌悬液的制备

从过夜培养的琼脂培养基平板上挑取1个菌落，接种于M-H肉汤中增菌6h。以平板计数法^[4]进行细菌计数后，用M-H肉汤稀释至 1.5×10^5 CFU/mL。

2.3 最小抑菌浓度的测定

参照微量肉汤稀释法^[5]测定各抗生素单用的最小抑菌浓度(MIC)。将痢菌净、头孢噻肟钠、阿奇

霉素、粘杆菌素、新霉素、氟苯尼考、左旋氧氟沙星和强力霉素8种抗菌药物以灭菌MH肉汤倍比稀释成12个浓度，分别为2048、1024、512、256、128、……、1μg/mL，分别取100μL依次加入96孔细胞培养板，再将100μL菌液加入孔中，37℃过夜培养，观察结果。以无菌生长的最低浓度为最小抑菌浓度MIC。质控菌(ATCC25922)的MIC测定方法同上。

2.4 痢菌净与6种抗生素的联合药敏试验

将痢菌净和另一抗生素以灭菌MH肉汤倍比稀释，按棋盘法设计两两组合根据最小抑菌浓度的测定，最高浓度为单药MIC的4倍。各取不同浓度的抗菌药物50μL加入96孔板至第11列或第7行(第12列和第8行为空白对照)。再加入菌液培养同2.3。观察MIC，计算FIC指数。

2.5 联合药敏试验FIC指数计算与判读标准^[6]

FIC指数=(MIC甲药联用/MIC甲药单用)+(MIC乙药联用/MIC乙药单用)

FIC指数≤0.5，协同作用；0.5 < FIC指数≤1，相加作用；1 < FIC指数≤2，无关作用；FIC指数 > 2，拮抗作用。

3 结果

3.1 抗菌药物的最小抑菌浓度

痢菌净等所试验七种抗菌药物对不同来源大肠埃希氏菌的最小抑菌浓度见表1。

由表1可见，痢菌净对不同来源大肠埃希菌体外均有一定抑菌活性，其MIC值为32~1024μg/mL。与标准质控菌ATCC25922对照可知，临床分离的鸡致病性大肠埃希菌上述药物有较高的抗药性。

3.2 体外联合药敏试验结果

3.2.1 痢菌净标准株大肠埃希氏菌的体外联合用药

痢菌净与6种抗菌药物对标准株大肠埃希菌

表1 抗菌药物对不同大肠埃希菌菌株的最小抑菌浓度(MIC)

菌株	痢菌净	头孢噻肟钠	阿奇霉素	左旋氧氟沙星	氟苯尼考	新霉素	粘杆菌素
ATCC25922	32	8	4	0.25	8	8	16
<i>E.coli</i> -1	128	16	128	4	64	16	512
<i>E.coli</i> -2	64	16	64	2	64	8	128
<i>E.coli</i> -3	128	64	128	4	64	16	512
<i>E.coli</i> -4	16	64	256	2	32	16	512
<i>E.coli</i> -5	32	64	256	2	32	16	512
<i>E.coli</i> -6	64	128	128	8	64	32	512
<i>E.coli</i> -7	512	16	128	32	512	512	1024
<i>E.coli</i> -8	512	32	512	16	512	128	1024
<i>E.coli</i> -9	1024	16	1024	32	1024	512	1024
<i>E.coli</i> -10	512	64	512	32	512	128	512
<i>E.coli</i> -11	64	32	64	32	64	64	64
<i>E.coli</i> -12	32	64	128	16	128	128	64

ATCC25922的体外联合试验结果见表2。

由表2可以看出,痢菌净与头孢噻肟钠、新霉素和杆杆菌素呈协同作用;痢菌净和氟苯尼考为相加作用;痢菌净和左旋氧氟沙星、阿奇霉素联用呈无关作用。

3.2.2 痢菌净与6种抗生素对地方株的体外联合试验

痢菌净与6种抗生素对12个大肠埃希菌地方株体外联合试验结果见表3。

表2 痢菌净与6种抗生素对参考株大肠埃希菌的体外联合试验结果($\mu\text{g/mL}$)

抗生素	六种抗生素		痢菌净		FIC	结果
	单MIC	联MIC	单MIC	联MIC		
头孢噻肟钠	8	2	32	8	0.5	协同作用
阿奇霉素	4	4	32	16	1.5	无关作用
左氧氟沙星	0.25	0.0625	32	32	1.25	无关作用
氟苯尼考	8	4	32	16	1	相加作用
新霉素	8	0.5	32	4	0.1875	协同作用
粘杆菌素	16	4	32	4	0.375	协同作用

表3 痢菌净与6种抗生素对大肠埃希菌地方株体外联合试验结果(%)

联合	头孢噻肟钠	阿奇霉素	粘杆菌素	新霉素	氟苯尼考	左氧氟沙星
协同	83.3	0	16.7	41.7	0	0
相加	0	8.3	83.3	58.3	75	0
无关	16.7	91.7	0	0	25	100
拮抗	0	0	0	0	0	0

由表3可以看出,痢菌净与头孢噻肟钠的联合使用对大部分地方株鸡大肠埃希菌呈协同作用(76.9%);痢菌净和新霉素呈部分协同作用(46.15%)和相加作用(53.85%);痢菌净和粘杆菌素大部分呈相加作用(76.9%)、少部分呈协同作用(23.1%);痢菌净和氟苯尼考相加作用为主(84.6%);痢菌净和左旋氧氟沙星、阿奇霉素联用呈无关作用。

4 讨论

本实验采取棋盘法对12株地方株鸡致病性大肠埃希菌和标准质控大肠埃希菌进行了体外联合药敏试验。结果发现,痢菌净与头孢噻肟钠、新霉素和杆杆菌素对标准株呈协同作用;对地方株呈可呈现协同作用。但是针对某些地方株并没有出现协同作用,估计与地方株携带有耐药基因,很快将两种药物的一种或两种降解所致。

本研究表明,痢菌净与头孢噻肟钠体外联合用药对大部分临床分离株大肠埃希菌呈协同作用,组成复方制剂可提高治疗效果,建议用于临床治疗。

痢菌净与粘杆菌素,新霉素,氟苯尼考呈相加作用,用于制备复方制剂,可降低药物成本。

参 考 文 献

- [1] 张萍,焦淑清,乔越,等. 5% 痢菌净注射液制备工艺研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2013(23):
- [2] 廖晓萍,岳磊,曾振灵. 禽性大肠埃希菌耐药现状与防治对策[J]. 中国家禽, 2008, 1(30): 1
- [3] 沈阳学院药剂教研组. 常见药物制剂[M]. 辽宁: 辽宁人民出版社, 1979: 201
- [4] 徐淑云,卞如濂,陈修. 药理试验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 1340
- [5] 倪语星,洪秀华. 细菌耐药性监测与抗感染治疗[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 47
- [6] Eliopoulos MG, Moellering RC. Antimicrobial combinations. antibiotics in laboratory medicine [M], 4th ed, 1996: 330
- [7] 陈文玖,叶红丽. 甲氧苄氨嘧啶对氟哌酸的增效试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 1995, (11): 31
- [8] 宫相义,张国军,刘同民,等. 环丙沙星与TMP联合增效作用试验结果[J]. 吉林畜牧兽医, 2003, 7: 30
- [9] Zilberberg MD, Shorr AF. Fungal infections in the ICU[J]. Infect Dis Clin N Am, 2009, 23(3): 625
- [10] Franquet T, Müller NL, Oikonomou A, et al. Aspergillus infection of the airways: Computed tomography and pathologic findings[J]. J Comput Assist Tomogr, 2004, 28:10
- [11] 朱小敏,周新. 侵袭性肺曲霉病的诊断与治疗[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2005, 4: 316
- [12] Ruping MJ, Vehreschild JJ, Cornely O A. Patients at high risk of invasive fungal infections: when and how to treat[J]. Drugs, 2008, 68(14): 1941
- [13] Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, et al. Treatment of aspergillosis: Clinical practice guidelines of the infectious diseases society of America[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46:327
- [14] Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ, et al. Viconazole compared with liposomal amphotericin B for Empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever[J]. N Engl J Med, 2002, 346(4): 225
- [15] Cappelletty D, Eiselstein-McKittrick K. The echinocandins[J]. Pharmacotherapy, 2007, 27(3): 369
- [16] Marr KA, Boeckh M, Carter RA, et al. Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis[J]. Clin Infect Dis, 2004, 39: 797