

流脑病人脑脊液中脑膜炎奈氏菌对抗菌药物敏感试验

江苏淮阴地区传染病防治院 施士雄 潘勤甫

为了加强流脑的防治工作，了解本地区流脑菌群的变迁与流行的关系，以及为临床治疗药物的选择提供依据，兹将我院1975~79年流脑病人脑脊液分离的菌株进行菌群鉴定和药物敏感试验的结果报告如下：

材料与方法

1975年，细菌分离所用的培养基系心浸液卵黄羊血琼脂斜面，内盛有心浸液增菌液。培养方法以无菌手续将脑脊液沿着培养基斜面倒入增菌液内混匀，按常规方法培养。生化反应系采用糖琼脂斜面，或半固体糖发酵管^[1]，药敏试验所用的培养基即不含蛋白胨的1%葡萄糖羊血琼脂平板。1976年改用葡萄糖、羊血肉羔汤或肝浸汤增菌液。培养方法将脑脊液倒入增菌液中并和管底的羊血充分混匀，直接置37°C孵箱内培养，不需放入CO₂缸内，24~72小时后转种羊血平板。1977年用的培养基与1975年近似，不同的是用肉羔汤代替心浸液。1975~76年流脑分群的诊断血清系上海生物制品研究所和省卫生防疫站供给，1977年系北京生物制品研究所供给。抗菌素的药敏纸片系上海市第六人民医院检验组提供。磺胺嘧啶、复方新诺明等磺胺药敏纸片系我院自制。磺胺嘧啶药纸片与上海第六人民医院供应的纸片进行比较，其结果近似。每一纸片的含药量为100微克/片，药品系本省涟水制药厂生产的针剂。复方新诺明含药量TMP 5微克+SMZ25微克/片，甲氧苄氨嘧啶+磺胺嘧啶含药量TMP 10微克+SD100微克/片，复方新诺明+磺胺嘧啶含药量TMP 10微克+SMZ25微克+SD100微克/片。复方新诺明系上海第十三制药厂生

产的针剂，甲氧苄氨嘧啶系苏州长征制药厂生产的针剂。抗菌素和磺胺嘧啶抑菌效果的判定系按上海第六人民医院检验组所制定的标准，一般直径在15毫米以上者为高度敏感，10~15毫米为中度敏感，6~10毫米为低度敏感，无抑菌圈者为耐药^[2]。复方新诺明国内目前无统一标准，暂按国外医学参考资料流行病学传染病学分册所介绍的标准作为判定指标：>15毫米者为敏感，<15毫米者为不敏感。

试验结果

一、细菌分离培养的鉴定结果：见表1、2。

表1 1975~77年流脑病人脑脊液培养脑膜炎奈氏菌阳性率的比较

年份	培养基种类	标本份数	阳性份数	阳性率(%)
1975	盛有增菌液的卵黄羊血琼脂斜面(心浸液配制)	34	27	79.40
1976	1%葡萄糖羊血肉羔汤或肝浸汤增菌液	593	245	41.31
1977	盛有增菌液的卵黄羊血琼脂斜面(肉羔汤配制)	133	71	53.39

表2 1975~77年流脑病人分离的菌株分群结果

年份	菌株数	A群%	B群%	AB交叉凝集%	未定群%
1975	27	25 92.59	1 3.70	—	1 3.70
1976	245	241 98.37	3 1.22	1 0.41	—
1977	71	67 94.36	1 1.41	2 2.82	1 1.41
合计	343	335 97.06	5 1.46	3 0.88	1 0.58

二、药敏试验的结果

1、1976~77年被检流脑菌株药敏试验，结

果见表3。

由表3可见：极度敏感所占比重较大的有

表3 1976~77年被检流脑菌株药物敏感试验结果

	氯霉素		青霉素		四环素		链霉素		磺胺嘧啶		呋喃妥因		庆大霉素		土霉素	
	76	77	76	77	76	77	76	77	76	77	76	77	76	77	76	77
极度敏感菌株数	165	57	125	57	165	55	12	8	65	36	—	29	45	—	25	—
%	100	98.28	89.29	98.28	99.39	94.83	92.31	72.72	63.73	62.07	—	96.66	33.33	—	100	—
中度敏感菌株数	—	1	15	1	1	1	1	3	23	16	—	1	83	—	—	—
%	—	1.72	10.71	1.72	0.61	1.72	7.69	27.27	22.55	27.59	—	3.33	61.48	—	—	—
低度敏感菌株数	—	—	—	—	—	—	—	—	12	—	—	—	7	—	—	—
%	—	—	—	—	—	—	—	—	11.26	—	—	—	5.19	—	—	—
耐药菌株数	—	—	—	—	—	2	—	—	2	6	—	—	—	—	—	—
%	—	—	—	—	—	3.44	—	—	1.96	10.34	—	—	—	—	—	—
菌株总数	165	58	140	58	165	58	13	11	102	58	—	30	135	—	25	—

氯霉素、青霉素、四环素，均占89.29~100%，极度敏感菌株中抑菌圈以氯霉素为最大，一般可达30~40毫米，青霉素20~35毫米，四环素20~30毫米。上述药物除四环素有3.44%耐药外，其他无耐药菌株。链霉素和呋喃妥因极度敏感亦占92.31%、96.66%，但试验菌株较少。磺胺嘧啶极敏占62.07%、63.73%，中敏22.55~27.59%，耐药菌株占1.96%、10.34%，极敏的抑菌圈15~30毫米。

2.磺胺增效剂和复方新诺明对磺胺嘧啶耐药、中敏和敏感菌株抑菌试验的比较见表4。

表4 TMP对SD耐药程度不同菌株的增效作用和复方新诺明的比较

菌株种类 (对SD)	试验 菌株数	抑菌圈(毫米)			
		SD	SD+TMP	新I*	新II*
耐 药	7	0	12~22	12~20	18~25
中 敏	4	12	18~26	12~18	20~25
敏 感	5	20~30	23~30	20~26	23~30

*新I为复方新诺明 新II为复方新诺明加SD

由表4可见原对SD耐药性很强的7株流脑菌株，其抑菌圈为0，在SD加入TMP后，其增效作用特别显著，全部由耐药转为敏感。原对SD中敏的菌株也全部转为极敏。复方新诺明，复方新诺明加SD对耐药和中敏的菌株其

抑菌程度也均有明显提高。但原对SD极敏的菌株用以上数药抑菌圈仍与原来相仿，未见增高。三种药敏纸片比较结果以复方新诺明加SD的抑菌效果较好。

讨 论

一、本地区流行菌群的问题：综合1975~77三年来从流脑病人脑脊液分离出的343个菌群的结果来看，绝大多数为A群，占97.08%，仅占1.46%，AB交叉凝集者占0.87%，未定群者占0.59%。根据国内各地的报道所流行的菌群也主要是A群，而健康带菌者中普遍存在着B群^[6]。沭阳地区的情况也是如此。B群带菌者广泛存在，但发病人数却极少，三年来我院收治的病例中B群仅占1.46%，因国内过去对菌群调查缺乏系统的历史资料，以往有否发生过B群的较大流行难以定论。

二、药敏试验的探讨：脑膜炎双球菌药敏试验对预防和治疗流脑工作具有一定的参考意义。从两年来药敏试验的结果来看，以氯霉素最为敏感，其次为青霉素和四环素，对磺胺嘧啶大多数敏感。自磺胺药问世以来，一直为预防和治疗流脑的首选药物，因此磺胺药物的敏感性更为人们所注意。1940年在外国即有

耐磺胺菌株的发现, 1964年后逐渐增多, 近年来耐药菌株高达72~96%。1960年国内也开始有耐磺胺菌株出现, 各地耐药患者也陆续发现。近年来耐药菌株各地报告不一, 而且有逐年增高的趋势。如福建在1966~69年未发现耐药菌株, 可是至1974年耐磺胺嘧啶0.5毫克/毫升的菌株增高到22.6%, 耐0.05~0.5毫克/毫升的有72.6%, 山东烟台地区1973年耐药菌株为10.67%, 而1974年骤增到71.26%, 贵阳地区1973~74年高达98%^[4]。1976年我院所进行的药敏试验耐药菌株仅1.96%, 低敏占11.76%, 1977年耐药菌株也只占10.34%。磺胺药对细菌的作用强弱是由于磺胺药同细菌所产生的对氨基苯甲酸(简称PABA)的竞争拮抗的结果。流脑在本地区十年来未发生较大的流行, 在预防和治疗上未大规模用药。因此流脑菌不需产生大量的PABA或产生新的叶酸合成酶去对抗磺胺药物, 耐药菌株的子代有可能转化为敏感的菌株。

近年来抗菌增效剂甲氧苄氨嘧啶(TMP)和复方新诺明国内都已广泛应用。为了配合临床治疗的需要, 故采用上述两种药物选择耐药程度不同的流脑菌株进行药敏试验。

从以上试验的结果看来, 对磺胺嘧啶(SD)耐药的菌株加入抗菌增效剂TMP后, 其抑菌效果增高特别显著, 由零增高到平均18毫米; 中敏的菌株其抑菌效果也平均增高一倍以上; 对极敏的菌株加入增效剂后则丝毫未再见增效作用。从上述的7株耐药严重的菌株看来, SD加入TMP后均全部转为敏感。推想在临床上遇到耐药的菌株, 加用TMP也可能起到良好的治疗作用。复方新诺明无论对SD耐药、中敏和极敏的菌株都有效。但复方新诺明加SD后效果更好, 对以上所有菌株均为极敏。上述试验结果均与我院临床治疗的效果相吻合。四环素对流脑虽也敏感, 但进入正常脑脊液浓度较低, 当脑膜炎时则进入的浓度只达血清浓度的25~50%。呋喃妥因系尿路感染用药, 对流脑极敏者也高达96.66%, 抑菌圈绝大多数达25

~30毫米, 但此药口服吸收后进入血流50%与血浆蛋白结合, 40~50%在组织内被破坏, 失去其抗菌活性。推想口服不会达到治疗或消除带菌的效果。喷喉、滴鼻处理带菌者虽可短期获得阴转, 但是否能达到持久的效果尚待实践证明。

三、培养方法和鉴定问题的探讨: 1975年分离培养的阳性率较高, 近乎80%, 可能培养基系采用心浸液卵黄羊血并含有0.5%葡萄糖, 营养丰富, 细菌生长较快, 同时固体培养基斜面又加入适当的增菌液。使通过药物治疗的细菌有复苏的机会, 阳性率又相应地提高。此外该年流脑发病的地区均在我院邻近, 入院前较少治疗, 也是检出率提高的原因之一。

一般脑膜炎双球菌常规的培养方法, 均需要在CO₂条件下细菌才易生长。1976年所用羊血肉羔汤或羊血肝浸液在普通环境下仍生长良好, 是否由于加入10%脱纤维血液, 在红细胞存在的条件下, 血浆内所能容纳的CO₂已足够供应脑膜炎双球菌生长的需要。1976~77年细菌培养的阳性率均不高, 分别为41.31%和53.39%, 可能培养基改用肉羔汤制备, 营养条件较差, 另一方面, 在入院前近半数的病人已经用过药物治疗, 影响了检出率。1976年是近年来流行最盛的一年, 在流行初期分离培养的阳性率较高, 同时也发现在流行初期和流行高峰分离的菌株凝集性较强, 在流行末期分离的菌株, 凝集性即减弱, 有的在初代呈不凝集, 一般传至2~3代, 有的甚至传到第9代才恢复其凝集性。可能通过流行后, 该菌在免疫人群中传播而凝集力减弱。一般在流行末期出现的病人, 其症状都比较轻, 凝集性的改变与细菌的毒力是否有关, 值得考虑。

1975年有少数菌株生化反应不典型, 有的具有发酵乳糖的能力, 并发酵葡萄糖、麦芽糖, 不发酵蔗糖, 接种吕氏斜面可产生黄色色素, 在脑脊液直接涂片找到肾形双球菌, 培养结果也是属于革兰氏阴性双球菌, 很可能是属于乳糖发酵的奈瑟氏双球菌(*Neisseria Lac-*

tamica)。因缺乏ONPG(硝基苯半乳糖吡喃甙)试剂未能作最后鉴定。此外,另有些菌株在10%乳糖产碱,生化反应疑似模仿菌属(Mimeae)的多形模仿菌(Mima polymorpha)转种麦康克琼脂平板,在形态上与脑膜炎双球菌难以区别。在脑脊液涂片中也可以看到在吞噬细胞内的。看来脑脊液直接涂片或培养找到革兰氏阴性双球菌并不一定全是脑膜炎双球菌。因上述两种细菌均可引起脑膜炎,而且都可在鼻咽拭子培养中找到,在捷克的健康人群中流脑带菌率为4.7%,而乳糖发酵的奈瑟氏双球菌也达1.6%之多,特别0~1岁儿童高达5.9%。美国也有类似报道。因此对临床检验和流行病学调查今后都应引起注意^[5~9]。

小 结

1.综合三年来流脑病人脑脊液分离出的343个菌株分群的结果,绝大多数为A群,占97.08%,B群占1.46%,AB交叉凝集者占0.87%,未定群者占0.59%。

2.根据两年来药敏试验结果,氯霉素最敏感,其次为青霉素和四环素。1976年对磺胺嘧啶耐药仅1.96%,低敏11.76%;1977年耐药的为10.34%。

3.SD加入TMP对SD耐药菌株增效特别显

著,全部转为敏感菌株,对中敏的菌株也能增效一倍;对极敏的菌株无明显的作用。复方新诺明对三种耐药程度不同的菌株效果均较好。复方新诺明加SD后其抑菌作用更强。

4.本文对细菌分离培养的阳性率作了分析讨论。有些在脑脊液直接涂片和培养找见革兰氏阴性双球菌与脑膜炎双球菌形态相似,但生化和血清反应不符,需要和乳糖发酵的奈瑟氏菌和模仿菌进行鉴别诊断。

参 考 文 献

- 1.江苏省卫生防疫站:流行性脑脊髓膜炎防治参考资料,第36页,1976。
- 2.上海市第六人民医院检验组:快速诊断资料汇编,第一版105~116,人卫,北京,1973。
- 3.仇秉德等译:国外医学参考资料流行病学传染病学分册,(1):26,1977。
- 4.全国流脑菌种及菌苗质量经验交流会:流脑资料汇编,第一册,1~114,1974。
- 5.Kuzemenkap et al: Exptl Medical Microbiology, 32(6):310, 1979。
- 6.Graber CD: Rapid Diagnostic Methods in Medical Microbiology, 1st ed, p 21, William & Wilkins Co, Baltimore, 1970。
- 7.Bodily HL et al: Diagnostic Procedures for Bacteria, 5th ed, p 550-556, Amer Publ Hlth Assoc, 1970。
- 8.Kostyukova NN et al: Microbiology Abstracts section B Bacteriology, 10(8):249, 1975。
- 9.刘桂芝等:微生物学报, 12(1):4, 1966。

本刊1982年第3、4、5、期更正

期	页	栏	行	误	正
3	145	左	表7题	胃癌和其他癌	胃癌和其他病
4	236	右	倒18	388名	88名
"	238	短篇	作者	陈林平	陈树平
"	253	右	倒14	45分钟	45秒钟
"	封底	上	6	Ex-soldier's	Letionnaires'
"	"	右	倒4、7	印度鼠蚤	印鼠客蚤
5	封面		13	何尚等英	何尚英等
"	268	右	倒13	3441所	344所