

单纯疱疹病毒的耐药性研究

河南省眼科研究所药物室

(郑州)

自1961年发现碘苷(IDU)的抗单纯疱疹病毒(以下简称单疱病毒)作用以来,抗单疱病毒的新药陆续发现。但这些药物随着临床的广泛应用,病毒与细菌一样亦存在对药物耐药性的问题。耐IDU单疱病毒株不仅在实验室中能迅速培育出来,而且在单疱角膜炎临床中亦不断出现^[1,2]。亚磷酰乙酸(Phosphonoacetic acid简称PAA)是一种结构简单的抗单疱病毒的新药,经动物实验和临床应用证明对单疱角膜炎有效^[3,4]。环胞苷(CC)是最近证明在实验室和临床上对单疱病毒有效的新药^[5,6]。本文研究了单疱病毒对环胞苷的耐药性,以及对IDU、PAA和CC三种药物的交叉耐药性的问题。

材料和方法

一、药物

IDU、CC系上海第十三制药厂生产,PAA由上海药物研究所化学室供给。IDU配成0.1%溶液(pH7.0),除菌过滤。CC系用无菌粉剂配成1%溶液(pH7.0),PAA配成1%溶液用1N NaOH调pH至7.0,100℃30分钟煮沸消毒。三种溶液置冰箱备用,实验时用Hanks液稀释至所需浓度。

二、病毒

单纯疱疹病毒1型由中国医学科学院流行病学防治研究所供给,在本实验室传代,置-40℃冰箱备用。

三、组织培养

采用原代乳兔肾单层细胞。

结果

一、耐药株的培育

将碘苷(IDU)、环胞苷(CC)、亚磷酰乙酸(PAA)分别按100微克/毫升、10微克/毫升、100微克/毫升浓度与单疱病毒液($10^{5.67}TCD_{50}$)同时接入细胞管,置37℃培养。待病毒所致的特异性细胞病变完全后,收取病毒。再在上述药物的存在下传第二代。连续传10代,然后分别滴定病毒毒力。结果表明,单疱病毒对上述三种药物均能形成耐药株,连续传10代后的病毒滴度分别为:耐IDU株 $10^{5.67}TCD_{50}$,耐CC株 $10^{6.33}TCD_{50}$,耐PAA株 $10^{6.33}TCD_{50}$,单疱病毒敏感株 $10^{5.67}TCD_{50}$ 。由此说明以上耐药株均能形成高滴度的病毒毒力,并与单疱病毒敏感株无明显差别。

二、耐药株交叉药物敏感试验

将每一种已形成耐药性的病毒株(10^3TCD_{50})分别与一定浓度的IDU、CC和PAA同时接入细胞管,37℃培养3天,取出冻融3次后,分别滴定每组病毒毒力,与不加药对照组比较,观察三种药物对每一种耐药病毒株的敏感性,结果见表1。

实验证明已形成耐IDU的毒株再用100微克/毫升IDU处理,无抑制作用,如加大剂量至500微克/毫升则有非常明显的抑毒作用。耐PAA株无论用100微克/毫升或500微克/毫升PAA处理,均无抑毒作用。耐CC株用10微克/毫升CC处理有一定抑毒作用,用50微克/毫升CC处理则有非常显著抑毒作用。说明单

表 1 耐药株交叉药物敏感试验结果

病毒株型	药 物		病毒滴度 TCD ₅₀ 对数值		抑制指数对数
	名 称	浓度 (微克/毫升)	实 验 组	对 照 组	
耐 IDU 毒株	IDU	100	6.50±0.44	6.50±0.31	0
		500	2.75±0.44	6.50±0.31	3.75(P<0.01)
	CC	10	0	6.50±0.31	完全抑制
	PAA	100	0	6.50±0.31	完全抑制
耐 CC 毒株	CC	10	4.75±0.38	6.15±0.38	1.40(P<0.05)
		50	1.15±0.38	6.15±0.38	5.00(P<0.01)
	IDU	100	0	6.15±0.38	完全抑制
	PAA	100	0	6.15±0.38	完全抑制
耐 PAA 毒株	PAA	100	5.15±0.38	5.50±0.44	0.35(P>0.05)
		500	4.50±0.44	5.50±0.44	1.00(P>0.05)
	CC	10	0	5.50±0.44	完全抑制
	IDU	100	0	5.50±0.44	完全抑制

疱病毒对 PAA 最易产生耐药性,对 IDU 次之,对 CC 产生耐药能力最低。对一种药物形成的耐药株对其他二种药物仍敏感,说明三者之间无交叉耐药性。

讨 论

据报道大约有16—32%的病例表明单疱病毒对IDU的耐药性^[7]。从临床分离得到的耐IDU毒株,毒力强、致病力高。Buthala 报告单疱病毒对阿糖胞苷(CA)亦可能产生耐药株^[1]。环胞苷(CC)是CA的衍生物,实验证明10微克/毫升浓度的环胞苷,即可有抑制单疱病毒的作用,临床上对治疗浅层和深层单疱角膜炎有效,且局部毒性小,优于CA^[5,6]。临床应用上也有用CC久治不愈而改用IDU或PAA即迅速痊愈的病例。本实验证明单疱病毒在10微克/毫升CC存在下连传10代,其对药物的适应能力大大增强。病毒毒力与单疱病毒敏感株相似。但

加大浓度至50微克/毫升即具非常显著的抑毒作用。本实验证明单疱病毒对PAA最易产生耐药性,即使提高药物浓度亦不能抑制病毒生长,而对IDU次之,对CC最弱。单疱病毒对某药产生耐药后对另一药仍敏感,说明不产生交叉耐药性。

参 考 文 献

- [1] Buthala, D. A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 115: 69, 1964.
- [2] Dohlman, C. H.: *Arch. Ophthalm.*, 71: 249, 1964.
- [3] Shipkowitz, N. L. et al.: *Applied Microbiol.*, 27: 264, 1973.
- [4] Overby, L. R. et al.: *Antimicrob Agents Chemother.*, 6: 360, 1974.
- [5] 河南省眼科研究所: *中华医学杂志*, 57(8): 496, 1977.
- [6] 河南省眼科研究所药物室: *微生物学报*, 17(4): 348, 1977.
- [7] Becker, B. et al.: *Current Concepts in ophthalm.*, 2: 24, 1969, The C. V. Mosby Co. Saint Louis.