

双歧杆菌对抗菌素的敏感性

凌代文 周岩

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 对双歧杆菌属的50个菌株采用培养液稀释法进行了10种抗菌素敏感性试验。实验菌株分离自婴儿、成人和各种动物的肠道粪便, 厌氧消化器中的污水发酵液等不同来源, 以及收集到的国外已定名的菌种共代表至少13个种。经试验, 所有的菌株都抗多粘菌素(MIC=100~3200U/ml)、链霉素(MIC=80~1280U/ml)、新霉素(MIC=40~320U/ml)。大多数菌株抗40~640U/ml的卡那霉素, 较抗庆大霉素。所有的菌株都对红霉素(MIC=0.2~0.8U/ml)、万古霉素(MIC=0.2~6.4U/ml)和氯霉素(MIC=3.2~6.4U/ml)敏感, 而对四环素和氨基青霉素的敏感性有差异或较敏感。对各种抗菌素的敏感性在不同的种间也有差异, 其中两歧双歧杆菌和大双歧杆菌显示的变化范围较大。

关键词 双歧杆菌, 抗菌素, 敏感性

双歧杆菌是人、畜肠道中重要的菌群。这类菌对人、畜的保健, 提高机体的免疫力和治疗某些疾病, 抗肿瘤效应, 以及对于有些营养物质的吸收所起的促进作用已为人们认识^[1]。这类菌作为微生态制剂以保健品食用或医用已日益广泛, 并愈来愈受到人们的关注和重视。在临床上普遍使用的抗菌素必然会影响到机体肠道的这类菌群及其应用。然而有关这类菌对抗菌素敏感性的研究工作尚属少见。Miller^[2]和Matteuzzi等^[3]曾先后进行过这方面的研究。国内重庆医科大学临床微生物学教研室曾以5个菌株代表4种双歧杆菌用平板纸片法进行过有关试验^[4]。作者进行了这属菌对抗菌素敏感性的探索。本文报道这方面的结果。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验的菌株分离自婴儿、成人和不同的动物肠道粪便以及污水发酵液。动物来源的菌株是从北京农业大学和中科院生物物理研究所的实验动物及北京动物园饲养的观赏动物的粪便中分离到。污水发酵液的菌株是从实验的厌氧消化器内发酵的豆腐废水中分离到。个别菌株分离自乳品发酵剂。以上菌株均经纯化、形态

观察、生理生化特性的测定, 所获结果输入计算机经数值分类归群, 有代表性的菌株进行了DNA中G+Cmol%的测定和纯胞壁的组分分析。有的已鉴定到种, 有的待定。由日本理化研究所微生物系统保存室提供的婴儿双歧杆菌(*Bifidobacterium infantis*)、齿双歧杆菌(*B. dentium*)、长双歧杆菌(*B. longum*)、大双歧杆菌(*B. magnum*)、球形双歧杆菌(*B. globosum*)和细小双歧杆菌(*B. minimum*)的标准种以及由意大利Bologna大学微生物研究所提供的反刍双歧杆菌(*B. ruminantium*)、瘤胃双歧杆菌(*B. merycicum*)的标准种也同时参与实验^[4~6]。

1.2 抗菌素

实验用的多粘菌素、卡那霉素、链霉素、新霉素、万古霉素、四环素、氯霉素、红霉素、氨基青霉素和庆大霉素都是国家标准品。

1.3 培养基和培养条件

培养基是参照TPY^[4]及PYG^[6]的组分配制的, 以蛋白胨、酵母粉和葡萄糖为主的培养液, 简称为PTYG。实验菌株均能在其中生长

良好。

培养液的制备是采用 Hungate 氏厌氧操作技术^[7]。按要求稀释抗菌素的浓度,在无菌厌氧条件下加入装有培养液的厌氧试管内适温培养,确认其中无菌后再接种试验菌株,放置 37℃ 培养。同时接种不加抗菌素的培养液作为对照。

1.4 抗菌素 MIC 试验方法

试验抗菌素的最低抑菌浓度 MIC 可准确地反映试验菌株对抗菌素的敏感性。我们参照抗菌素临床应用手册^[8]及美国临床实验室标准委员会推荐使用的药敏方法。

2 结果和讨论

试验菌株对抗菌素敏感性的结果见表 1~10。

表 1 多粘菌素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
100	5	3	2			婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>) 长双歧杆菌(<i>B. longum</i>) 细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>) 反刍双歧杆菌(<i>B. ruminantium</i>)
200	18	4	8	6		两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>) 假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>) 猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>)
400	3	2	1			球形双歧杆菌(<i>B. globosum</i>)
800	18	2	12	2	2	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 齿双歧杆菌(<i>B. dentium</i>) 链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>)
1600	1	1				两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
3200	2	1			1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
> 3200	3			3		大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)

表 2 链霉菌素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
80	4	1	1	2		两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>) 细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>)
160	1			1		长双歧杆菌(<i>B. longum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 球形双歧杆菌(<i>B. globosum</i>) 瘤胃双歧杆菌(<i>B. merycicum</i>) 齿双歧杆菌(<i>B. dentium</i>) 嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>) 假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>) 猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>)
320	31	8	12	10	1	婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
640	2	1	1			婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
1280	10	1	9			反刍双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>) 两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
> 1200	2	1			1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)

表 3 卡那霉素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
<6.4	12	1	4	6	1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>) 细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>) 嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>)
6.4	1			1		链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>)
12.5	3	1		2		齿双歧杆菌(<i>B. dentium</i>)
20	2	1	1			两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 瘤胃双歧杆菌(<i>B. merycicum</i>)
40	8	3	5			婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>) 长双歧杆菌(<i>B. longum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 反刍双歧杆菌(<i>B. ruminantium</i>)
80	10	4	6			假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
160	6	3	3			假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
320	5		3		2	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
640	2		2			大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
1280	1		1			两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)

表 4 新霉素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
40	15	5	7	2	1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>) 反刍双歧杆菌(<i>B. ruminantium</i>) 瘤胃双歧杆菌(<i>B. merycicum</i>)
80	23	5	13	4	1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>) 长双歧杆菌(<i>B. longum</i>) 齿双歧杆菌(<i>B. dentium</i>) 嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>) 假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>) 猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>)
160	8	2	4	2		两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
320	4	1	2	1		两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 球形双歧杆菌(<i>B. globosum</i>)

表5 氯霉素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
3.2	41	8	25	6	2	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>) 长双歧杆菌(<i>B. longum</i>) 嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>) 假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>) 反刍双歧杆菌(<i>B. ruminantium</i>) 瘤胃双歧杆菌(<i>B. merycicum</i>) 猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
6.4	9	5	1	3		两歧双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>) 球形双歧杆菌(<i>B. globosum</i>) 链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>)

表6 四环素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
0.4	1	1				齿双歧杆菌(<i>B. dentium</i>)
0.8	6	3		2	1	婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>) 长双歧杆菌(<i>B. longum</i>) 细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>) 链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>)
1.6	7		5	2		大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 瘤胃双歧杆菌(<i>B. merycicum</i>)
3.2	23	5	16	2		大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>) 假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>)
6.4	6		2	4		大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>)
12.5	2		2			球形双歧杆菌(<i>B. globosum</i>) 反刍双歧杆菌(<i>B. ruminantium</i>)
25	2	2				两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
>25	3	2			1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)

表7 氯卜青霉素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
0.2	2	2				长双歧杆菌(<i>B. longum</i>) 齿双歧杆菌(<i>B. dentium</i>)
0.4	14		4	9	1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 反刍双歧杆菌(<i>B. ruminantium</i>) 嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>) 猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>) 链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>)
0.8	1					瘤胃双歧杆菌(<i>B. merycicum</i>) 两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
1.6	19	4	15			大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>)
6.4	1					两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
12.5	4		3		1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
>12.5	9	5	3	1		两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>) 细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>) 球形双歧杆菌(<i>B. globosum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)

表8 万古霉素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
0.2	4		2	2		链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>) 两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
0.4	29	6	15	7	1	齿双歧杆菌(<i>B. dentium</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 球形双歧杆菌(<i>B. globosum</i>) 瘤胃双歧杆菌(<i>B. merycicum</i>) 细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>) 嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>) 猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>) 反刍双歧杆菌(<i>B. ruminantium</i>)
0.8	15	6	8	1		两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>) 长双歧杆菌(<i>B. longum</i>) 大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>) 假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>)
1.6	1	1				两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
3.2	0					
6.4	1	1				婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>)

表9 庆大霉素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
6.4	12	3	4	4	1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
						链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>)
						猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>)
12.5	13	8	4	1		两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
						婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>)
						齿双歧杆菌(<i>B. dentium</i>)
						细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>)
						反刍双歧杆菌(<i>B. ruminantium</i>)
						嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>)
						假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>)
						长双歧杆菌(<i>B. longum</i>)
20	24	2	17	3	2	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
						长双歧杆菌(<i>B. longum</i>)
						球形双歧杆菌(<i>B. globosum</i>)
						大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
>20	1	1				两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)

表10 红霉素

MIC(U/ml)	菌株数	菌株来源				有代表性的种名
		人	动物	污水	其它	
0.2	12	4	4	3	1	婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>)
						齿双歧杆菌(<i>B. dentium</i>)
						瘤胃双歧杆菌(<i>B. merycicum</i>)
						猪双歧杆菌(<i>B. suis</i>)
						长双歧杆菌(<i>B. longum</i>)
						大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
0.4	19	4	12	2	1	两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
						婴儿双歧杆菌(<i>B. infantis</i>)
						细小双歧杆菌(<i>B. minimum</i>)
						嗜热双歧杆菌(<i>B. thermophilum</i>)
						大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)
0.8	19	5	9	5		反刍双歧杆菌(<i>B. ruminantium</i>)
						两歧双歧杆菌(<i>B. bifidum</i>)
						假长双歧杆菌(<i>B. pseudolongum</i>)
						链双歧杆菌(<i>B. catenulatum</i>)
						大双歧杆菌(<i>B. magnum</i>)

由以上结果可看出,所有的菌株都抗多粘菌素(MIC=100~3200U/ml)、链霉素(MIC=80~1280U/ml)、新霉素(MIC=40~320U/ml)。大多数菌株抗40~640U/ml的卡那霉素,较抗庆大霉素。所有菌株都对红霉素(MIC=0.2~0.8U/ml)、万古霉素(MIC=0.2~6.4U/ml)和氯霉素(MIC=3.2~6.4U/ml)敏感,对四环素和氨基青霉素的敏感性有差异或较敏感。从10种抗菌素对实验菌株的MIC范围来看,卡那霉素、四环素和多粘菌素的MIC范围宽,而氯霉素、红霉素和庆大霉素的MIC范围窄。就其代表性的种而言,对各种抗菌素的敏感性不同的种也有些差异,其中两歧双歧杆菌和大双歧杆菌对抗菌素的敏感性变化范围较大。从菌株来源看,它们与抗菌素的敏感性似无相关的联系。

上述结果与Matteuzzi等^[3]所得结果比较是大同而小异。例如:他们试验得出的MIC范围(U/ml):多粘菌素400~>1000,链霉素20~1500,卡那霉素80~>1500,四环素1.0~200,氯霉素1.0~5.0,万古霉素0.2~3.0。以上出现的差别在于试验菌株有所不同,以及抗菌素的试验浓度的选择上存在小差异所致,但从总的趋势和MIC大的范围而言是类同的。

我们认为本实验结果可作为临床上选择使用抗菌素的参考。鉴于双歧杆菌的不同种或同种不同菌株间对抗菌素的敏感性有差异,在双歧杆菌作为微生态制剂应用时应考虑它们对各种抗菌素的敏感性,并选择某些对抗菌素抗性强的菌株,其应用价值可能更高。

参 考 文 献

- [1] 康白主编. 微生物学, 大连: 大连出版社, 1988. 64~80, 95~103, 114~131, 160~176.
- [2] Miller L G, S M Finegold. J Bacteriol. 1967, 93(1): 125~130.
- [3] Matteuzzi D, F Crociani, P Brigidi. Anal Microbiol. 1983, 134 A: 339~349.
- [4] Scardovi V. Genus Bifidobacterium. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Williams & Wilkins. Baltimore. 1986, 2: 1418~1434.
- [5] Biavati B, P Mattarelli. Intern J Syst Bacteriol, 1991. 41(1): 163~168.
- [6] Holdeman L V, E P Cato, W E C Moore. Anaerobe Laboratory Manual 4th Ed. Blacksburg, Virginia. 1977, 72~78, 117~149.
- [7] Hungate R E. A Roll Tube Method for Cultivation of Strict Anaerobes. In: J R Norris et al. Methods in Microbiology. Academic Press. Inc. New York. 1969, 3B: 117~132.
- [8] 戴自英编. 抗菌素临床应用手册, 北京: 人民卫生出版社, 1986, 6~22.

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF *BIFIDOBACTERIUM*

Ling Daiwen Zhou Yan

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing, 100080)

Abstract The susceptibility pattern of 50 strains of *bifidobacterium*, representing 13 species to 10 antibacterial agents were determined by the broth method. The strains in this study were isolated from various habitats. The majority of the strains derived from human faeces, faeces of various animals and sewage of anaerobic digester. All strains were resistant to polymyxin B (MIC=100~3200 U/ml), streptomycin (MIC=80~1280 U/ml), neomycin (MIC=40~320 U/ml). Most strains were resistant to 40~640 U/ml of kanamycin, and less resistant to gentamicin. All strains were more susceptible to erythromycin (MIC=0.2~0.8 U/ml), vancomycin (MIC=0.2~6.4 U/ml) and chloramphenicol (MIC=3.2~6.4 U/ml). All strains were various susceptible to tetracycline and penicillin G. The variation in susceptibility was observed among the different species, especially in *Bifidobacterium bifidum* and *B. magnum*.

Key words *Bifidobacterium*, antibiotic susceptibility