

现代医用抗生素学

——理论、实验 方法和临床应用

屈 毅 杜继昭 等编译
王浴生 刘约翰 主 审

四川科学技术出版社

责任编辑：康利华

封面设计：李 勤

版面设计：翁宜民

现代医用抗生素学

——理论、实验方法和临床应用

屈毅 杜继昭等编译 王浴生 刘约翰 主审

出版：四川科学技术出版社

印刷：中江县印刷厂

发行：四川省新华书店

开本：787 × 1092 毫米 1/32

印张：15.75 插页：1

字数：343千

印数：1—3,000

版次：1987年1月 第一版

印次：1987年1月第一次印刷

书号：14298·87

定价：3.65元

前 言

抗生素是现代医疗实践中应用得最广泛的药物，它几乎占了临床使用药物的30%。随着我国医药事业的发展，国内从事抗生素研究和实际应用方面的人员也越来越多，但有关抗生素研究的专著、译著却较少，尤其是介绍抗生素研究理论、实验方法和临床应用的综合性著作更少。为此，我们以美国《Antibiotics in Laboratory Medicine》为蓝本，编译成了《现代医用抗生素学——理论、实验方法和临床应用》这本书。

《Antibiotics in Laboratory Medicine》一书，系1980年国外首版，由美国、法国多年从事抗生素研究的30位有关专家、教授积丰富经验撰写而成。全书23章，内容新颖、丰富，涉及到生物学和医学领域内的许多新理论、先进方法、先进技术和合理应用等内容。

编译成的《现代医用抗生素学》一书，内容主要取自原著的精华部分。本书共分11章，每章各具特色，从抗生素体外敏感实验到体内抗生素血浓监测，从抗生素作用原理到细菌对抗生素产生耐药性，从细菌技术到病毒技术，从细胞水平到基因水平等，都有较详细的理论实验方法的描述。由于篇幅有限，编译成的书稿中，删去了原著中的参考文献和一些图表，以及实用意义不大的章节。书中涉及到有关新技术的章节，如自动化仪器的分析技术等，还请了有关专家审阅，在此深表感谢。

由于原著涉及面广，我们的水平有限，编译中可能错误不少，请读者批评指正。

编译组 1984年12月

目 录

第一章 抗生素体外敏感性实验

第一节 抗生素在琼脂培养基中的实验方法和理论

评述..... (1)

一、琼脂的性质..... (2)

(一) 凝胶剂的替代物..... (2)

(二) 抗菌药物与琼脂间的相互作用..... (3)

(三) 微生物在琼脂培养基中的生长..... (4)

二、琼脂稀释敏感试验..... (5)

(一) 琼脂培养基的选择..... (6)

(二) 抗菌平板的制备..... (6)

(三) 标准化的接种..... (7)

(四) 试验平板的接种..... (8)

(五) 试验平板的培养..... (8)

(六) 琼脂和肉汤稀释法的对比..... (8)

三、琼脂扩散过程..... (9)

(一) 抗菌药物的扩散..... (9)

(二) 抑菌圈形成的动力学..... (10)

(三) 影响扩散试验的因素..... (11)

第二节 纸片敏感性试验..... (18)

一、敏感试验干燥滤纸片的制备..... (19)

二、纸片效价的选择..... (19)

三、纸片法敏感试验技术..... (27)

(一) 纸片敏感试验的平板..... (28)

(二) 敏感试验纸片的使用..... (28)

(三) 抗生素纸片的选择..... (29)

(四) 敏感试验接种物的制备·····	(29)
(五) 平板的划线接种·····	(30)
(六) 浸布接种·····	(30)
(七) 覆盖法·····	(31)
(八) 纸片的放置·····	(31)
(九) 平板的培养·····	(32)
(十) 结果的阅读·····	(32)
(十一) 纸片法敏感试验结果的解释·····	(32)
(十二) 标准纸片法试验的限制·····	(33)
(十三) 临床标本的直接敏感性试验·····	(33)
(十四) 需要特殊营养的细菌·····	(34)
(十五) 纸片法快速敏感试验·····	(36)
四、质量控制技术·····	(37)
五、医院中纸片法敏感试验资料的应用·····	(38)
第三节 液体培养基中抗生素的敏感试验·····	(39)
一、试验方法的选择·····	(40)
(一) 实验室类型·····	(40)
(二) 试验菌种·····	(42)
二、抗微生物药·····	(42)
(一) 药物的选择·····	(42)
(二) 浓度稀释范围的选择·····	(43)
(三) 药物贮存液的制备和保存·····	(49)
三、培养基·····	(51)
(一) pH、缓冲液和孵育·····	(52)
(二) 阳离子浓度与渗透压·····	(55)
(三) 补充物、抑制剂和吸附剂·····	(58)
(四) 特殊培养基·····	(59)
四、接种菌量及其标准化·····	(59)
五、标准肉汤稀释试验程序·····	(63)

(一) 肉汤试管法和微量法与琼脂法的比较·····	(63)
(二) 标准肉汤稀释试验·····	(64)
(三) 标准微量稀释试验·····	(65)
(四) 杀菌活性的测定·····	(65)
(五) 质量控制和特殊问题·····	(67)
六、液体培养的快速测定法·····	(68)
(一) 细菌的直接显微镜观察和菌胞变化·····	(68)
(二) 标准试验的早期阅读·····	(69)
(三) 浊度测定的快速肉汤稀释和纸片洗脱法·····	(70)
(四) pH、氧化还原指示剂和阻抗监测·····	(71)
(五) 放射测定、生物发光法和微热测定法·····	(73)
第四节 厌氧菌抗菌药物的敏感性试验·····	(74)
一、理论概述·····	(74)
(一) 厌氧菌敏感性试验的临床意义·····	(74)
(二) 厌氧环境对药物抗菌活力的影响·····	(78)
二、敏感性试验的方法·····	(80)
(一) 琼脂稀释法·····	(81)
(二) 肉汤稀释法·····	(83)
(三) 肉汤微量稀释法·····	(84)
(四) 琼脂(纸片)扩散法(ADD)·····	(86)
(五) 肉汤纸片法·····	(88)
(六) 试验方法的选择·····	(89)
(七) 联合应用抗菌药物对厌氧菌的抗菌活力·····	(89)
三、厌氧菌感染的治疗原则·····	(90)
第五节 抗生素敏感性纸片和其他含抗生素材料的 制备及质量控制·····	(94)
一、引言·····	(94)
二、药物敏感性纸片·····	(94)
(一) 纸片的制备·····	(94)

(二) 质量控制.....	(97)
三、诊断性敏感试验药粉.....	(112)
(一) 制备和包装.....	(113)
(二) 应用.....	(113)
四、最低抑菌浓度测定板及其他装置.....	(113)
(一) 制造.....	(114)
(二) 质量控制.....	(114)

第二章 抗生素敏感性实验方法的自动化 和质量控制

第一节 测量细菌群体的光学和电学原理.....	(115)
一、比浊测量法.....	(116)
二、浊度测量法.....	(121)
三、显微镜.....	(122)
四、电阻计数.....	(124)
五、阻抗计数.....	(128)
六、微量热测定法.....	(130)
第二节 抗生素敏感试验的自动化.....	(132)
一、Autobac—1 系统.....	(133)
二、MS—2 系统.....	(134)
三、MIC肉汤稀释法的自动化.....	(136)
四、MS—2 操作程序.....	(137)
第三节 体外抗生素敏感试验的质量控制法.....	(145)
一、体外敏感性试验方法.....	(145)
二、影响敏感试验的可控因素.....	(147)
三、质量控制的统计学处理.....	(152)
四、参照培养菌.....	(152)
五、监视技术.....	(153)

第三章 体液中抗生素的监测和蛋白结合的测定

第一节 体液中抗生素浓度的测定方法及其意义……(159)

一、抗生素的微生物测定法……(159)

(一) 微生物测定法的影响因素……(159)

(二) 氨基甙类和万古霉素的枯草杆菌测定法……(167)

(三) 其他抗生素存在时氨基甙类的测定法……(169)

(四) 氨基甙类存在时其他抗生素的测定法……(170)

二、抗生素的比浊测定法……(176)

三、抗生素的化学测定法……(176)

(一) 化学及微生物的混合测定法……(177)

(二) 抗生素的直接化学分析测定法……(178)

四、抗生素浓度的荧光测定法……(180)

(一) 四环素的测定法……(182)

(二) 庆大霉素的荧光淬灭测定法……(182)

五、抗生素浓度的放射免疫测定法……(184)

(一) 氚标记抗生素的放射免疫测定法……(185)

(二) ^{125}I —标记抗生素的放射免疫测定法……(186)

(三) 庆大霉素的红细胞凝集抑制测定法……(191)

六、抗生素的放射性酶测定法……(193)

(一) 腺苷化放射性酶测定法……(194)

(二) 乙酰化放射性酶测定法……(196)

七、抗生素的色谱分析法……(198)

(一) 庆大霉素的高压液相色谱分析……(199)

(二) 氯霉素的气—液色谱分析……(200)

第二节 蛋白质结合及其测定方法……(203)

一、药物与蛋白质的相互作用……(203)

(一) 蛋白质结合的公式概述……(203)

(二) 结合速率与离解速率……(205)

二、结合的测定原理.....	(205)
(一) 平衡透析法.....	(206)
(二) 超滤法.....	(208)
(三) 超速离心法.....	(209)
(四) 微生物测定法.....	(210)
(五) 其他方法.....	(210)
三、影响结合测定的因素.....	(212)
(一) 药物浓度.....	(212)
(二) 蛋白质浓度.....	(212)
(三) 温度与pH.....	(213)
(四) 缓冲液.....	(213)
(五) 个体和种属差异.....	(214)
(六) 病理状态和药物的相互作用.....	(214)
四、蛋白质结合的生物学意义.....	(216)
(一) 药物分布.....	(216)
(二) 药物的清除.....	(219)
(三) 药物的生物学活性.....	(220)
五、定量测定蛋白质结合的操作程序.....	(221)
(一) 平衡透析法.....	(222)
(二) 超滤法.....	(226)
(三) 超滤离心法.....	(227)
(四) 微生物测定法.....	(228)

第四章 抗生素的耐药性

第一节 突变的抗生素耐药性..... (236)

一、理论探讨..... (236)

 (一) 突变的耐药机理..... (236)

 (二) 突变频率..... (236)

 (三) 不同的细菌—抗生素组合的耐药性的
 突变率不同..... (237)

(四) 抗突变株的选择压力.....	(238)
(五) 回复突变率.....	(238)
(六) 体内耐药性突变株的选择.....	(239)
二、在人类传染病中突变的耐药性	
可能是重要情况.....	(240)
(一) 对链霉素和其他抗结核药物的结核分枝杆菌的耐药性.....	(241)
(二) 奈瑟氏菌属和革兰氏阳性球菌对磺胺的耐药性.....	(242)
(三) 淋球菌中其他的自发抗生素耐药性.....	(242)
(四) 绿脓杆菌对氨基甙类抗生素的低水平耐药性.....	(243)
(五) 肠球菌的高水平链霉素耐药性.....	(244)
(六) 甲氧苄青霉素耐药性葡萄球菌.....	(244)
(七) 在正常菌丛中产生的耐药性.....	(244)
(八) 胸腺嘧啶与甲氧苄氨嘧啶耐药性的产生.....	(245)
(九) 对利福平、褐霉素、新生霉素和萘啶酸的突变耐药性.....	(245)
(十) 突变耐药性可能发生的其他情况.....	(246)
三、实验室方法.....	(247)
(一) 耐药性突变株的直接选择.....	(247)
(二) 耐药性突变株的间接选择.....	(250)
(三) 突变率的测定.....	(251)
第二节 含抗生素耐药基因质粒的特性.....	(252)
一、质粒介导耐药性的特性和R质粒	
宿主范围.....	(252)
二、质粒的一般特性.....	(253)
三、R质粒在体内的转移及其结局.....	(255)
四、R质粒的分类.....	(257)
五、耐药性基因是散在的可移动的遗传成分.....	(260)

六、R质粒的追踪技术	(262)
(一) 抗生素耐药的结合转移方法	(262)
(二) R质粒DNA的遗传学转化	(265)
(三) 细胞溶解与琼脂糖凝胶电泳	(266)
(四) 质粒纯化—氯化铯和溴乙腈梯度离心沉淀	(268)
(五) 质粒DNA的限制性核酸内切酶的消化	(270)
第三节 抗生素灭活酶和细菌耐药性	(271)
一、引言	(271)
二、 β -内酰胺酶的基本性质	(273)
三、 β -内酰胺酶的检测	(275)
四、测定方法	(275)
(一) 酸量滴定测定法	(276)
(二) 碘测量法	(277)
(三) 头孢菌素产生色素的方法	(278)
(四) 琼脂酸量测定法	(278)
(五) 琼脂碘测量法	(279)
(六) 纸条—碘—淀粉试验	(280)
(七) 纸条酸量测定法	(280)
(八) 双纸片法	(280)
(九) 琼脂平板纸片法	(281)
五、测定方法的比较	(282)
六、 β -内酰胺酶的类型	(283)
七、 β -内酰胺酶的细胞定位	(283)
八、 β -内酰胺酶的性质	(284)
(一) 基质外形	(285)
(二) 酶活力的抑制	(285)
(三) 等电聚焦点的分析	(285)
(四) 分子量测定和免疫学方法检测	(286)

九、 β -内酰胺酶在耐药性中的作用	(286)
十、 β -内酰胺酶抑制剂	(287)
十一、关于 β -内酰胺酶的结论	(288)
十二、其他重要的抗生素灭活酶	(289)
第四节 氨基糖甙类抗生素及其修饰酶	(290)
一、AGAC类抗生素的作用方式	(291)
二、AGAC类抗生素的耐药机制	(291)
三、修饰酶的应用	(292)
四、抗生素的应用与耐药性的发生	(294)
五、实用的方法	(294)
(一) 酶分析的细胞提取物制备	(295)
(二) 氨基甙类抗生素的酶分析	(297)
(三) 测定蛋白合成的无细胞提取物的制备	(300)
(四) AGAC活性的分析方法	(301)

第五章 抗结核药

一、结核杆菌的耐药性	(304)
二、结核杆菌的敏感性试验	(305)
三、抗结核药物的作用和耐药机制	(306)
(一) 对氨基水杨酸(PAS)	(307)
(二) 环丝氨酸(CS)	(308)
(三) 异烟肼(INH)	(308)
(四) 乙硫异烟胺(ETA)	(310)
(五) 乙胺丁醇(EMP)	(310)
(六) 利福平(RMP)	(310)
四、抗结核药物的联合应用	(311)
五、血清中抗结核药物的测定	(313)
(一) 异烟肼、乙硫异烟胺和乙胺丁醇的测定	(317)
(二) 利福平的测定	(319)

- (三) 链霉素、卡那霉素、卷曲霉素或
紫霉素的测定.....(321)
- (四) 对氨基水杨酸的测定.....(323)
- (五) 环丝氨酸的测定.....(325)
- (六) 吡嗪酰胺的测定.....(326)

第六章 抗真菌抗生素的作用机理、耐药性、敏 感性试验及在生物体液中活性的检测

- 一、抗真菌抗生素的作用机理.....(328)
 - (一) 多烯类抗生素.....(328)
 - (二) 咪唑类.....(329)
 - (三) 氟化嘧啶类.....(330)
 - (四) 灰黄霉素.....(331)
 - (五) 联用药物.....(331)
- 二、真菌的耐药性.....(332)
 - (一) 多烯类抗生素.....(332)
 - (二) 咪唑类.....(333)
 - (三) 灰黄霉素.....(333)
 - (四) 氟化嘧啶类.....(333)
- 三、敏感性试验.....(334)
 - (一) 一般介绍.....(334)
 - (二) 多烯类抗真菌药敏感性试验.....(335)
- 四、体液中抗真菌抗生素的测定.....(339)
 - (一) 测定方法.....(339)
 - (二) 多烯类抗生素.....(341)
 - (三) 咪唑类.....(343)
 - (四) 5-氟胞嘧啶.....(345)
 - (五) 灰黄霉素.....(345)

第七章 抗生素的联合使用和相互作用的机理

- 一、检测抗菌药联合作用的实验方法.....(346)

(一) 棋盘式滴定法.....	(346)
(二) 杀菌曲线(时间—杀菌曲线, 时间—杀菌图) ...	(354)
(三) 弥散法.....	(357)
二、抗菌药物的相互拮抗作用.....	(362)
(一) 抑菌剂与 β -内酰胺类抗生素的联合.....	(362)
(二) 50S亚基核糖体抑制剂的联合.....	(363)
(三) 氨基甙类抗生素与抑菌剂的联合.....	(364)
(四) 氨基甙类被 β -内酰胺类抗生素灭活.....	(364)
(五) β -内酰胺类的联合.....	(365)
三、抗菌药物的协同作用.....	(365)
(一) 同一生化途径的连续抑制.....	(365)
(二) 抗菌剂灭活酶的抑制.....	(370)
(三) 作用于细菌细胞壁药物的联合.....	(374)
(四) 作用于细胞壁药物的应用.....	(376)
第八章 抗生素次抑菌浓度对细菌的影响	
第一节 体外次抑菌浓度技术.....	(383)
一、MAC形态学与超微结构的观察.....	(383)
二、MAC抑制作用的测定.....	(387)
第二节 形态学与超微结构.....	(389)
一、金色葡萄球菌.....	(389)
二、溶解阴性的金色葡萄球菌RVS-3.....	(396)
三、在抗生素次MIC影响下成熟球菌横隔与外周壁的形态学.....	(398)
四、革兰氏阴性杆菌.....	(399)
五、分枝杆菌.....	(409)
六、抗生素次MIC的作用方式.....	(410)
七、MIC形态学估计.....	(411)
第三节 次-MIC抗生素对金色葡萄球菌、肺炎球菌	

溶血效应的影响.....	(412)
一、金色葡萄球菌.....	(412)
二、肺炎球菌.....	(413)
第四节 MAC抑制作用.....	(414)
第五节 次MIC的其他作用.....	(418)
一、次MIC抗生素在体外对细菌耐药性出现的 作用.....	(418)
二、次致死浓度抗生素对细胞吸附上皮细胞的 影响.....	(419)

第九章 抗病毒药物

第一节 抗病毒活性的细胞培养测定法.....	(421)
一、抑制病毒的复制.....	(422)
二、抑制病毒的细胞病变作用.....	(422)
三、染料摄取法.....	(423)
四、空斑抑制测定法.....	(424)
五、纸片琼脂扩散测定法.....	(424)
六、梯度一平板测定法.....	(425)
七、血细胞吸附抑制测定法.....	(426)
八、抑制病毒RNA或DNA合成.....	(426)
第二节 技术.....	(427)
一、单层细胞培养.....	(427)
二、抑制病毒CPE的抗病毒活性测定法.....	(428)
三、抑制病毒空斑形成的抗病毒活性测定法.....	(430)
第三节 抗病毒活性试验的动物模型.....	(431)
第四节 抗病毒测定法的应用.....	(432)
一、新抗病毒药的研究.....	(433)
二、已知抗病毒药的作用原理研究.....	(433)

- 三、抗病毒药物对动物的病毒疾病模型的效能研究..... (435)
- 四、确定是否给予抗病毒药物..... (436)
- 五、治疗期间药物浓度或病毒对抗病毒药物的敏感性监测..... (436)

第十章 尿中抗生素活性的测定和意义

- 一、决定尿中抗生素活性的因素..... (438)
 - (一) 抗生素肾脏排泄的机理..... (438)
 - (二) 尿 pH 对抗生素活性和排泄的作用..... (446)
 - (三) 尿中的内源性抗菌物质..... (448)
 - (四) 膀胱的抗菌活性..... (449)
- 二、泌尿道感染定位试验及其与对抗菌治疗的关系..... (449)
 - (一) 定位试验的理论基础..... (449)
 - (二) 膀胱冲洗程序..... (450)
 - (三) 尿中覆盖抗体细菌的检测..... (452)
 - (四) 感染的定位和对抗菌治疗的反应..... (454)
- 三、泌尿道感染的抗生素敏感度试验..... (455)
 - (一) 血清和尿中抗菌活性的水平..... (455)
 - (二) 敏感度试验的解释..... (457)

第十一章 体外试验及实验动物感染对新抗生素的实验室评价

- 一、引言..... (459)
- 二、体外筛选技术..... (460)
 - (一) 体外测定试验使用的细菌..... (460)
 - (二) 试验用培养基..... (462)
 - (三) 试验药品的制备..... (463)
 - (四) 新抗生素体外活力测定的基本技术..... (464)

三、体内筛选技术.....	(468)
(一) 一般原则和试验菌选择?	(469)
(二) 小鼠保护试验.....	(470)
(三) 毒性和耐受性的基本试验.....	(474)
(四) 特殊毒性研究.....	(478)
四、结论.....	(485)
五、附录.....	(486)