

替硝唑洗液的抗厌氧菌活性及对人阴道滴虫的杀灭作用

周国林 姚全胜 许 晖(南京 210009 江苏省药物研究所)

摘要 目的:观察替硝唑洗液的抗厌氧菌活性及对人阴道滴虫的杀灭作用。方法:采用肉汤试管稀释法测定抗厌氧菌的 MIC 及 MBC;采用家兔阴道感染人阴道滴虫的模型,观察其抗阴道毛滴虫的作用。结果:替硝唑洗液对 200 株厌氧菌(除乳杆菌、直杆菌外)均有较好的抗菌活性,其 MIC₅₀均在 2 mg/L 以下, MIC₉₀略高(16 mg/L), MBC 约为 MIC 的 4~16 倍。替硝唑洗液阴道内直接给药和阴道内冲洗, 5 mg/kg 以上对阴道毛滴虫具有明显的杀灭作用, 20 mg/kg 达痊愈。结论:替硝唑洗液具有明显的抗厌氧菌活性,且对人阴道毛滴虫具有很好的杀灭作用,其杀灭滴虫的作用强度优于碧洁洗液。

关键词 替硝唑;厌氧菌;抗菌活性

Antibacterial activity of tinidazole lotion and its effect on trichomonas vaginalis in vitro and in vivo

Zhou Guolin(Zhou GL), Yao Quansheng(Yao QS), Xu Hui(Xu H) (Jiangsu Institute of Materia Medica, Nanjing 210009)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the inhibitory activity against anaerobic bacteria in vitro and the effect of tinidazole lotion on trichomonas vaginalis in vivo. **METHODS:** The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of tinidazole lotion were measured using tube culture test in vitro. In vivo effect of tinidazole lotion on trichomonas vaginalis were studied with the model of trichomonas vaginalis in rabbits. **RESULTS:** Tinidazole lotion was active against 200 clinical isolates of anaerobic bacteria in vitro. The MIC₅₀ of tinidazole lotion was less than 2 mg/L, the MIC₉₀ was 16 mg/L, and MBC value was 4~16 folds of the MIC. Administration of tinidazole lotion (20 mg/kg) to vaginalis directly was shown to be 100% effective for the treatment of trichomonas vaginalis in rabbits. **CONCLUSION:** Tinidazole lotion is active in vitro against most of the anaerobic bacteria and the effect of tinidazole lotion on trichomonas vaginalis in vivo is superior than Bijie lotion.

KEY WORDS tinidazole lotion, anaerobic bacteria, antibacterial activity

替硝唑是一种较强的抗厌氧菌和抗原虫感染药,临床上口服治疗厌氧菌感染及原虫感染的疾病。替硝唑洗液为我所研制的一种用于腔道冲洗和外生殖器炎症等疾病的外用药物。本实验主要观察其体外抗厌氧菌活性及对滴虫的杀灭作用,并与市售药品碧洁洗液相比较。

1 实验材料

1.1 药物

替硝唑洗液(江苏省药物研究所,含量为 1%,批号:960409);甲硝唑(江苏省药物研究所制剂室,含量为 1%);甲硝唑注射液(南京小营制药厂,批号:950115-

2)。以上药物均在无菌条件下,以无菌生理盐水稀释成一定浓度,待用。碧洁洗液(复方洗必泰洗液,含洗必泰 1.2%,甲硝唑 0.2%,深圳南粤药业有限公司,批号:951104)。

1.2 动物

新西兰白兔,雌性,体重(2.2±0.3)kg(江苏省药物研究所动物室,合格证号:苏动质 95038)。

1.3 实验虫种

由药科大学微生物教研室从临床滴虫性阴道炎患者的阴道分泌物中分离提供。

1.4 实验菌株

菌株均由临床标本分离,并严格按文献^[1,2]进行种属鉴定。

菌液准备:以接种环在纯培养 GAM 平皿上挑取一定量具有相同形态的待检菌菌落种入 GAM 肉汤中,35℃厌氧培养至轻度混浊,以无菌生理盐水(预除氧)调节其浊度,使之相当于 0.5 号 MC Farland 比浊管,再以肉汤 1:200 稀释后备用。

2 实验方法

2.1 体外抗厌氧菌实验

MIC 和 MBC 测定均采用肉汤试管稀释法。

以 GAM 肉汤在试管中分别将替硝唑和甲硝唑药液倍比稀释成不同浓度,溶媒 1:8 稀释,均加入等体积 1:200 稀释之菌液,35℃厌氧培养 72h 后读取 MIC 值。自未见生长的各管中各取 0.1 ml 接种于 GAM 平皿上厌氧培养,以菌落数小于 5 的药浓度为 MBC 值。每一菌在测定 MIC 时,均设无菌肉汤对照,并划一平皿,以观察无药时实验菌的生长情况及是否被污染。

2.2 体内抗滴虫实验^[3]

2.2.1 兔滴虫感染 接种滴虫前,用 pH 6.5 的 PBS 液冲洗家兔阴道,每日 1 次,连续 3d。将分离后的滴虫稀释至 10⁵/ml 浓度,内含小牛血清 10%,以 0.1 ml/只接种到兔阴道后穹窿部,每日 1 次,连续 3d。于接种第 4 天作阴道涂片检查,阳性兔备用。

2.2.2 分组与实验方法 按阴道内直接给药和阴道内冲洗 2 种方法分组,阴道内直接给药按 2ml/kg 药液挤入阴道,药液几乎不流出阴道。阴道内冲洗按 10 ml/kg 药液注入阴道,部分药液流出阴道。将感染滴虫后的阳性兔随机分为阴道内直接给药和阴道内冲洗二部分,阴道内直接给药分为替硝唑洗液组、甲硝唑组和空白对照组(溶媒)。阴道内冲洗分为替硝唑洗液组、碧洁洗液组和空白对照组(溶媒),每组 6 只。每天阴道给药或冲洗 1 次,连续 7d。于给药后 3.7d 和停药后 3d 分别作阴道涂片检查,判定疗效。

表 2 替硝唑洗液对 100 株实验菌的 MIC 与 MBC 结果

实验菌	株数	MIC/ mg·L ⁻¹			MBC/ mg·L ⁻¹		
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀	范围
消化链球菌	22	0.5	1.0	0.25~1.0	4.0	8.0	2.0~8.0
囊荣氏球菌	16	1.0	1.0	0.12~1.0	4.0	8.0	2.0~8.0
消化球菌	11	0.5	0.5	0.12~0.5	4.0	8.0	2.0~8.0
真杆菌	16	1.0	1.0	0.25~1.0	8.0	16.0	2.0~16.0
拟杆菌	18	0.5	0.5	0.12~0.5	4.0	8.0	1.0~8.0
梭杆菌	17	0.5	0.5	0.12~0.5	4.0	8.0	2.0~8.0

表 2 结果表明,替硝唑的 MBC 约为 MIC 的 4~16 倍。

3.2 体内抗阴道毛滴虫的作用

2.2.3 阴道涂片检查评分标准:以镜下(6.3×40 倍)视野中的虫数为评分依据。0:无虫体(痊愈);1:1~20 个虫体;2:21~40 个虫体;3:41~80 个虫体;4:81 个虫体以上。按各组的积分,经统计学处理,判定疗效。

3 实验结果

3.1 体外抗厌氧菌的作用

3.1.1 200 株实验菌的 MIC 值见表 1。

表 1 替硝唑洗液对 200 株实验菌的 MIC 结果

实验菌	株数	药物	MIC/ mg·L ⁻¹		
			MIC ₅₀	MIC ₉₀	范围
消化链球菌	40	T	0.5	2.0	0.25~4.0
		M	1.0	4.0	0.5~4.0
囊荣氏球菌	20	T	1.0	2.0	0.12~2.0
		M	2.0	4.0	0.25~4.0
消化球菌	20	T	0.5	2.0	0.12~2.0
		M	1.0	4.0	0.5~4.0
真杆菌	40	T	2.0	16.0	0.25~32.0
		M	4.0	32.0	0.5~64.0
拟杆菌	30	T	0.5	1.0	0.12~2.0
		M	1.0	4.0	0.25~4.0
梭杆菌	30	T	0.5	1.0	0.12~2.0
		M	1.0	4.0	0.25~4.0
乳杆菌	20	T	128	>128	32~>128
		M	128	>128	64~>128

注:T-替硝唑洗液;M-甲硝唑注射液

表 1 结果表明,替硝唑洗液对所选实验菌(乳杆菌、真杆菌除外)均有较好的抗菌活性,其 MIC₅₀ 皆在 2mg/L 以下。对于真杆菌,替硝唑的抗菌活性变化较大,MIC 变动于 0.25~32mg/L 之间,MIC₅₀ 较低(2mg/L,MIC₉₀ 略高(16mg/L)。替硝唑对乳杆菌的抗菌活性较差。

3.1.2 100 株实验菌的 MIC 和 MBC 值见表 2。

实验期间,家兔毛色光滑,进食正常,各组动物体重增加 0.2~0.5kg,给药前后无异常变化。实验结果见表 3,4。

表 3 替硝唑洗液阴道内直接给药对阴道滴虫的灭杀作用/ $\bar{x} \pm s, n = 6$

组 别	剂量/ mg·kg ⁻¹	积 分		
		给药后 3d	给药后 7d	停药后 3d
替硝唑洗液	20	1.00±0.63	0.33±0.52 ^{*1}	0 ^{*1}
	10	1.33±0.52	1.17±0.75 ^{*2}	0.67±0.82 ^{*1}
	5	1.50±0.55	1.50±0.55 ^{*2}	1.67±0.82 ^{*2}
甲硝唑	20	1.33±0.52	0.83±0.75 ^{*2}	0.67±0.82 ^{*2}
对照组	-	1.83±0.75	2.50±0.84	3.17±0.75

注:与对照组比较,^{*1} $P < 0.01$,^{*2} $P < 0.05$;替硝唑洗液与甲硝唑比较, $P > 0.05$

表 4 替硝唑洗液阴道内冲洗对阴道滴虫的杀灭作用/ $\bar{x} \pm s, n = 6$

组 别	剂量/ mg·kg ⁻¹	积 分		
		给药后 3d	给药后 7d	停药后 3d
替硝唑洗液	10.0	1.17±0.75	0.50±0.55 ^{*1}	0.33±0.52 ^{*1,*2}
	5.0	1.33±0.52	0.83±0.75 ^{*1}	0.67±0.82 ^{*1,*2}
	2.5	1.50±0.55	1.17±0.75 ^{*3}	1.50±0.55 ^{*3}
碧洁洗液	A2+B12	1.50±0.50	1.50±0.55 ^{*3}	1.33±0.52 ^{*3}
对照组		1.75±0.50	2.50±1.05	3.00±0.89

注:A2为甲硝唑 2mg/kg;B12为洗必泰 12mg/kg;与对照组比较,^{*1} $P < 0.01$,^{*3} $P < 0.05$;替硝唑洗液与碧洁组比较,^{*2} $P < 0.05$

表 3 结果表明,各用药组阴道给药 3d 后即出现明显疗效。采用阴道直接给药,替硝唑洗液(20mg/kg)组,阴道给药后 7d 和停药后 3d,阴道涂片结果达痊愈,积分与对照组相比,经统计学处理,差异非常显著($P < 0.01$)。替硝唑洗液(10mg/kg)组和替硝唑洗液(5mg/kg)组也具有较好的治疗效果,经统计学处理,差异显著($P < 0.05$)。甲硝唑与替硝唑洗液结果相似,替硝唑稍优于甲硝唑。

表 4 结果表明,将原液稀释冲洗,替硝唑洗液(10 和 5mg/kg)组具有较好的杀滴虫效果($P < 0.01$),替硝唑洗液(2.5mg/kg)组的杀滴虫效果与碧洁洗液相似。替硝唑洗液 5mg/kg 以上浓度的杀滴虫效果优于碧洁洗液。

4 讨 论

本实验采用肉汤试管稀释法测定了 200 株厌氧菌的 MIC 和 100 株厌氧菌的 MIC 和 MBC。结果表明,替硝唑洗液对所选实验菌(乳杆菌、真杆菌除外)均有较好的抗菌活性,研究所选实验菌均来自临床标本,为临床常见的致病菌,有一定代表性。替硝唑对乳杆菌的抗菌活性较差,这正好符合临床要求,因为乳杆菌是阴道中的主要正常菌,在阴道中非但不致病,并有抑制其他致病菌生长的作用。替硝唑的 MIC 较甲硝唑低 1~2 个滴度,说明替硝唑对厌氧菌的抗菌活性高于甲硝唑。

采用人阴道毛滴虫感染家兔的实验方法,观察了替硝唑洗液的治疗效果。实验结果表明,替硝唑洗液对阴道毛滴虫具有明显的治疗效果。碧洁洗液也具有一定杀滴虫效果,但替硝唑洗液的杀滴虫效果优于碧洁洗液,这可能与碧洁洗液中甲硝唑含量较低有关。

替硝唑是继甲硝唑后研制的硝基咪唑类抗厌氧菌及抗原虫药物,为甲硝唑的同系物,其药理作用与甲硝唑类似,但替硝唑具有疗效更高,疗程更短,耐受性更好,体内分布更广,副作用少而轻等特点。替硝唑洗液为水溶液制剂,并加入适量增稠剂使溶液具有一定的粘稠性,容易粘附和分散在阴道粘膜表面,直接与病灶的病原体接触,从而发挥杀灭作用,适用于妇女滴虫性及厌氧菌感染引起的阴道炎。

替硝唑洗液的抗厌氧菌效果优于甲硝唑,其抗阴道滴虫的效果优于碧洁洗液,对临床应用具有很好的推广价值。

参考文献

1 李仲兴,郑家齐,李家宏,等.诊断细菌学.香港:黄河文化出版社,1992:472.
2 Balows A. Manual of clinical microbiology sth ed, american society formicrobiology. Washington D.C.,1991:488.
3 徐叔云,卞如濂,陈修主编.药理实验方法学.第 2 版.北京:人民出版社,1994:1326.