

## 研究报告

## 几种抗生素对节旋藻生长的抑制

唐欣昀 季咏梅\* 周春香\* 陆杨森

(安徽农学院微生物教研室, 合肥)

**摘要** 用试管稀释法研究了抗生素对节旋藻抑制的动力学特征, 结果表明, 大多数抗生素需 4—6 天时间才对节旋藻表现明显的抑制效果。试验了 10 种抗生素对 7 株节旋藻生长的抑制作用, 发现对节旋藻的最低抑制浓度分别为 (IU/ml): 红霉素 0.005—0.04; 氯霉素 0.04—0.08; 螺旋霉素 0.2—0.8; 青霉素 0.5—2; 利福平 4—5; 链霉素 4—8; 四环素 10—20; 土霉素 16—32; 庆大霉素 10—40; 卡那霉素 800 以上。

**关键词** 节旋藻; 抗生素; 最低抑制浓度

丝状蓝藻节旋藻 (*Arthrospira stizenberger*) 原属螺旋藻属 (*Spirulina turpin*), 属薄壁菌门、产氧光细菌纲、颤藻目<sup>[1]</sup>, 是目前得到广泛研究和开发应用的蛋白质资源。蓝藻的细胞学和某些生理生化特征与细菌相似, 但目前对节旋藻知之甚少<sup>[1]</sup>, 已有文献报道单细胞蓝藻对抗生素的敏感性<sup>[2]</sup>。一般试验抗生素对细菌的作用皆用滤纸片法或二倍稀释法, 24 小时内获得结果<sup>[3]</sup>。而蓝藻生长较慢, 上述方法不能直接应用于蓝藻。作者研究了抗生素对节旋藻作用的动力学特征, 最低抑制浓度 (MIC) 的确定方式, 得出 10 种抗生素对 7 株节旋藻的抑制范围, 现将结果报道如下。

## 材料与方 法

## (一) 藻株

供试藻株为极大节旋藻 (*Arthrospira maxima*) W<sub>1</sub> 株, 中科院水生生物所提供。钝顶节旋藻 (*Arthrospira platensis*) W<sub>2</sub> 株, 中科院水生生物所提供; J 株, 江苏农科院土肥所提供; N 株, 南京大学生物系提供; D 株、E 株、F 株均为江西农科院提供。

## (二) 抗生素

青霉素钠(江西东方制药厂), 链霉素(华北

制药厂), 卡那霉素(芜湖制药厂), 庆大霉素(大同市利群制药厂), 四环素(合肥制药厂), 土霉素(合肥制药厂), 红霉素(上海第四制药厂), 氯霉素(江苏高邮县制药厂), 利福平(江苏镇江第二制药厂), 螺旋霉素(法国进口)。以上均为市售医药用品。

## (三) 培养基

采用 Zarrouk 配方<sup>[4]</sup>。

## (四) 测定方法

取定量培养液, 加入适量的对数期藻种液, 用 581 型光电比色计(波长 420nm, 半径 1cm) 调光密度 OD 值至 0.1, 每试管加入调好的藻液 10ml, 抗生素加至不同浓度。试管置人工培养室内, 25℃, 每天日光灯源光强 2500lx 光照 12 小时; 每天早晚摇匀两次; 定时测定藻液的 OD<sub>420nm</sub> 值, 直至藻液变黄、沉淀或凝结。以公式  $\mu = (\ln N_t - \ln N_0) / t$  计算瞬时增长率 ( $\mu$ : 瞬时增长率;  $\ln N_t$ : 时间  $t$  时刻藻液 OD 值的自然对数;  $\ln N_0$ : 时间  $t_0$  时刻藻液 OD 值的自然对数),  $T_d = \ln 2 / \mu$  计算种群加倍时间<sup>[5]</sup>。以  $\mu = 0$  作为生长完全抑制指标, 确定抑制所需时间和最低抑制浓度 (MIC)。

\* 安徽农学院土化专业 90 级毕业生。

## 结果与讨论

### (一) 抗生素对节旋藻抑制的动力学特征

链霉素对藻株 F 生长的影响见图 1, 由图 1 数据计算得到的瞬时增长率见图 2。从图 1 可见随链霉素浓度加大, 藻液的生长渐受抑制。瞬时增长率  $\mu$  的变化更能反映藻液生长受抑制程度。正常藻液  $\mu$  值接种后一直上升, 在第三天达最大值, 此时  $\mu = 0.24 \text{ 天}^{-1}$ , 种群加倍时间  $T_d = \ln 2 / \mu = 0.693 / 0.24 = 2.9 \text{ 天}$ 。随链霉素浓度增大,  $\mu$  值逐渐降低。当浓度为 1、2 IU/ml 时, 生长只是部分受到抑制,  $\mu$  值在 3 天内仍在上升, 至第 3 天(正常藻液种群第 1 次加倍后)  $\mu$  值分别相当对照的 94% 和 81%。浓度为 4 IU/ml 时,  $\mu$  值在 3 天内没有上升, 第 3 天时为对照的 58%。浓度超过 8 IU/ml,  $\mu$  值从一开始就一直下降, 第 3 天时只有对照的 17%; 16 IU/ml 链霉素处理的  $\mu$  值在第 3 天只有对照的 11%。8 IU/ml 以上浓度的处理中  $\mu$  值 4 天后就降至 0 以下。可以明显看出, 链霉素对节旋藻的作用不仅与浓度有关, 而且与时间也有关。链霉素是抑制细胞内蛋白质合成起始复合体的形成, 并不阻止已经开始的肽链的延伸, 因此加入链霉素并不能立即完全抑制蛋白质的合成, 即不能立刻完全抑制生长<sup>[3]</sup>。本实验数据显示, 浓度 8 IU/ml 以上的链霉素也不能在 1 天内抑制藻液的生长, 而在 3 天后(约第一次种群加倍后)生长才基本停止, 至第 6 天(种群第 2 次加倍后)生长完全停止。此时, 从藻液的 OD 值即藻体的积累来看(图 1), 各处理间差异已十分明显。在延续的培养中, 4 IU/ml 以上浓度处理各组中,  $\mu$  值都已降至 0 以下, 藻液变质、发黄, 明显表现为死亡。因此在 3—6 天内, 以  $\mu$  值从开始被抑制 90% 以上至完全抑制为标准, 链霉素对节旋藻的 MIC 应在 4—8 IU/ml 之间。链霉素对其它 6 株藻的抑制作用也都表现了相同的动力学特征。因此从节旋藻的生长速率和链霉素的作用特点来考虑, 测定抑制作用所需时间, 应在正常藻液种群两次加倍所需时间 3—6 天内, 此时, 链霉素仍很稳定<sup>[8]</sup>, 经两

次循环作用, 各处理间差异显著, 可以用浊度法直接测得结果。若时间在 3 天内, 差异不显著, 6 天以上, 也无必要。具体时间应视抗生素在藻液中的稳定性及其他因素而定。

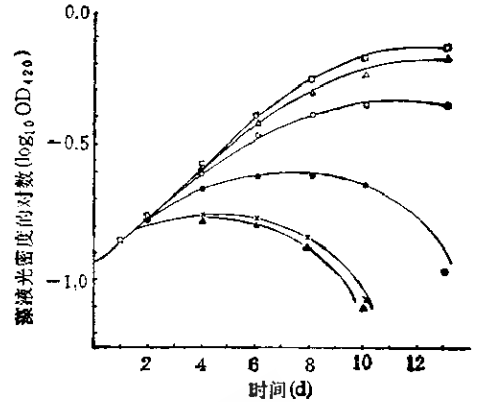


图 1 藻株 F 的生长曲线

各处理中链霉素浓度为: “□” 0 IU/ml; “△” 1 IU/ml; “○” 2 IU/ml; “●” 4 IU/ml; “×” 8 IU/ml; “▲” 16 IU/ml。

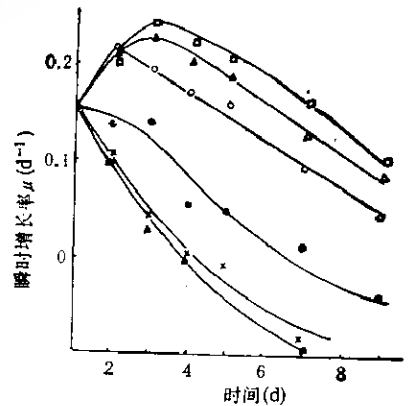


图 2 链霉素对藻株 F 的抑制动力学特征

各处理中链霉素浓度为: “□” 0 IU/ml; “△” 1 IU/ml; “○” 2 IU/ml; “●” 4 IU/ml; “×” 8 IU/ml; “▲” 16 IU/ml。

本实验选用 10 种抗生素, 除四环素、土霉素外, 一般在 pH8.5 的藻液都较稳定<sup>[7,8]</sup>。除青霉素外, 9 种抗生素都是抑制蛋白质或核酸的合成, 都表现了链霉素抑制模式的动力学特征。虽然四环素族稳定性稍差, 但也需 4—6 天才得出明显结果。青霉素因具溶细胞作用, 抑制速度比其他抗生素明显要快, 3 天就基本抑制生长。

表 1 抗生素对不同藻株的最低抑制浓度 (IU/ml)

药 物	时间 (d)	W <sub>1</sub>	W <sub>2</sub>	J	N	D	E	F
青霉素	3	0.5	0.5	2.0	1.0	0.5	0.5	0.5
链霉素	6	8	8	4—8	8	4—5	8	4—8
卡那霉素	11—13	800	800	800	800*	800	800	800
庆大霉素	6	40	40	20	40	40	40	10
四环素	4	20	20	20	10	10	10	10**
土霉素	6	16	32	32	16	32	32	16
红霉素	5	0.005	0.01	0.01	0.01	0.04	0.01	0.02
螺旋霉素	6	0.2	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4
氯霉素	5	0.08	0.05	0.04	0.08	0.08	0.08	0.04
利福平	4	4	4	4	4	5	5	5

\*、\* 7 天；\*\* 6 天。

(二) 不同抗生素对不同藻株的最低抑制浓度(MIC)(表 1,2)

表 2 抗生素对几种细菌的最低抑制浓度\* (IU/ml)

药 物	革兰氏阳性细菌		革兰氏阴性细菌	
	金黄色葡萄球菌	枯草杆菌	大肠杆菌	肺炎克氏杆菌
青霉素	0.02	5.0	50	50
链霉素	1—8	1—8	0.6—8	
卡那霉素	1.25	1.56	6.25	0.78
庆大霉素	0.06	0.006	0.6	
四环素	0.39	0.39	1.17	0.58
土霉素	0.39	<0.19	1.56	0.78
红霉素	0.25		50	2.5
螺旋霉素	1.4	3.0	31	33
氯霉素	1.0		0.33	0.33
利福平	0.002		1	5

\* 利福平资料来自文献[6],其余来自文献[7,8]。

从表 1 可见,同种抗生素对不同藻株的最低抑制浓度基本上相同。红霉素和氯霉素的抑制作用十分强烈;螺旋霉素和青霉素的作用程度稍次;利福平、链霉素、四环素、土霉素、庆大霉素的抑制效果顺序降低;卡那霉素的抑制作用极弱,1000IU/ml 的浓度培养 7 天以上,多数藻株仍正常生长,只是到了 11—13 天后,800 IU/ml 以上的浓度才发生明显的抑制作用。虽然链霉素、庆大霉素和卡那霉素同属氨基醇类,抑制作用差异却很大,这可能与抗生素对细胞膜的渗透率有关。

节旋藻虽然革兰氏染色反应为阴性,其对

抗生素的敏感性无论和文献值的革兰氏阳性细菌代表还是革兰氏阴性细菌代表相比较,都有很大差异。比较表 1 和表 2,可知:节旋藻对红霉素和螺旋霉素要比细菌敏感;对链霉素和利福平的敏感性与细菌相似;对青霉素比革兰氏阴性细菌抗性弱,比革兰氏阳性细菌抗性强;对四环素、土霉素、庆大霉素和卡那霉素的抗性比细菌都强,尤其是对卡那霉素的抗性要比细菌大得多。尽管节旋藻属原核生物,但其细胞学、生理生化特性和遗传背景与细菌仍存在较大差异,因而其对抗生素的反应与细菌相比也就存在较大的差异。

综上所述,试验数据反映了抗生素对节旋藻作用的特征以及对节旋藻的最低抑制浓度,这些结果对研究节旋藻的生理生化、遗传特征以及大规模开放培养中杂菌污染的控制具有一定的参考价值。

参 考 文 献

1. Krieg N R et al.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 3, Williams Company, Baltimore, 1987.

2. Echlin P et al.: *Biol. Rev.*, 40: 143—187, 1965.

3. 刘恭植主编: *微生物学和微生物检验*,第 100—106 页,人民卫生出版社,北京,1988。

4. Riccardi G et al.: *J. Bacteriol.*, 147: 1002—1007, 1981.

5. 夏淑芬等: *微生物生态学*,第 95 页,武汉大学出版社,武汉,1988。

6. 王猷等: *抗生素*,第 106, 392 页,科学出版社,北京,1988。

7. 《*抗菌素生物理化特性*》编写组编: *抗菌素生物理化特性* (第一分册),第 638,791 页,人民卫生出版社,北京,

1977。

8. 《抗菌素生物理化特性》编写组编：抗菌素生物理化特性

(第二分册)，第 38, 351, 366, 482, 607, 625, 671 页，人民卫生出版社，北京，1981。