

576.851.232.095.18:615.779.93 karbenicilin, ampicilin —085.779.932

SROVNÁNÍ ÚČINKU KARBENICILINU, AMPICILINU, PENICILÍNU G A CEFALOTINU NA ČERSTVĚ IZOLOVANÉ KMENY N. GONORRHOEAE

M. HEJZLAR, F. VÝMOLA

Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha

Ústav epidemiologie a mikrobiologie, Praha

V posledních dvou desetiletích je v mnoha zemích světa pozorován výrazný vzestup výskytu gonokokových infekcí. V období 1950—1960 hlásilo např. 47,7 % ze 111 zemí celého světa vzestup počtu onemocnění kapavkou. V dalších letech pak v některých oblastech vzestup pokračoval a v některých populačních skupinách se dá mluvit o určité formě epidemií (zpráva W.H.O. 1965¹). V souvislosti s tím samozřejmě je věnována intenzivní pozornost citlivosti kmenů *Neisseria gonorrhoeae* (dále N.g.) na antibiotika, především penicilín G. V našich laboratořích se systematicky věnujeme studiu citlivosti N.g. na antibiotika od r. 1962. Pracujeme standardní metodou a po výtce se zaměřujeme na kvantitativní citlivost. Výsledky dosavadních studií byly prezentovány v řadě publikací spolu s rozbohem světové literatury (2—8).

V této studii jsme se zaměřili na srovnání kvantitativního účinku karbenicilinu, ampicilinu, penicilínu G a cefalotinu na čerstvě izolované kmeny N.g., které byly zachyceny vesměs v letech 1968—1969 v pražském kraji od mužů s onemocněním v akutním stadiu. Cílem studie bylo zjistit, zda citlivost vůči jmenovaným antibiotikům (zvláště penicilínové řady) je více méně stejná, nebo zda existují významné rozdíly.

Materiál a metody

Testované kmeny N.g.: Ke stanovení citlivosti jsme zásadně používali čerstvě izolovaných kmenů (tj. test byl proveden v první, nejpozději ve třetí pasáži po izolaci). V roce 1968 bylo zkoušeno 200 kmenů N.g. na penicilín G a 91 kmenů na cefalotin, v roce 1969 74 kmenů N.g., z toho všechny na penicilín G, 73 na ampicilin, 59 na karbenicilin. Všechny kmeny tvořily typické kolonie na standardní kultivační půdě, byly oxidáza- pozitivní a kataláza- pozitivní, tvořily kyselinu z glukózy a byly rezistentní vůči nízkým koncentracím linkomycinu, polymyxinu B a spektinomycinu.

Antibiotika:

Penicilín G — Penicilín G draselná sůl Biotika
Ampicilin — Penbritin sodná sůl Beecham
Karbenicilin — Pyopen sodná sůl Beecham
Cefalotin — Keflin sodná sůl Lilly

Všechna antibiotika byla ředěna do „stock“ koncentrací redestilovanou vodou a do pracovních koncentrací 10 000 j. či mcg/ml fyziologickým roztokem. Aktivita antibiotik byla kontrolována pomocí příslušných referenčních kmenů Národní referenční laboratoře pro rezistenci.

Přimísení antibiotik do testovací půdy bylo prováděno tak, aby potřebná koncentrace obsažená v 1 ml ředidla připadla vždy na 100 ml testovací půdy. Po rozlití testovací půdy do Petriho misek 20×100 mm (Anumbra) po 20 ml bylo dosaženo výsledné pracovní koncentrace antibiotika.

Vlastní test citlivosti: Použili jsme „standardní“ půdu GC Medium Base Difco s přidavkem 5 % králičího séra, 5 % Bacto Hemoglobinu Difco a 2 % Bacto Supplementu B Difco, konečné pH půdy bylo 7,3. Šlo tedy o plotnovou diluční metodu zjišťování citlivosti. K inokulaci půdy jsme připravili suspenzi mikrobů o denzité 2,5—5,5×10⁵/ml živých jedinců a z této suspenze jsme očkovali platinovou kličkou o průměru 4 mm na testovací plotny jednotlivé kmeny ve formě čar. Plotny byly pak inkubovány za zvýšené tenze CO₂ 40 hodin při teplotě 36,5 °C. Výsledky jsme hodnotili podle přítomnosti nebo nepřítomnosti makroskopicky viditelných kolonií v místě očkovacích čar.

Výsledky

Z 200 kmenů N.g. testovaných v roce 1968 bylo 70,5 % vysoce citlivých (koncentrace 0,030 j/ml) na penicilín G, 18 % málo citlivých (koncentrace 0,25 j/ml), 3 kmeny vyžadovaly k inhibici 1,0 j/ml a 7 kmenů dokonce 2,0 j/ml. Poslední koncentrace inhibovala všechny testované kmeny. Cefalotin inhiboval v koncentraci do 0,25 mcg/ml včetně téměř 75 % z 91 testovaných kmenů, naproti tomu 6,5 % kmenů bylo rezistentních i vůči koncentraci 2,0 mcg/ml. Podrobný přehled o situaci podává tabulka 1.

Tabulka 1

Kvantitativní citlivost kmenu *Neisseria gonorrhoeae* na penicilín G a cefalotin v standardním testu in vitro

Antibiotikum	Účinná inhibiční koncentrace v j/ml resp. mcg/ml							
	0,30	0,060	0,125	0,25	0,5	0,75	1	2
Penicilín G	141	5	10	8	13	13	3	7
%	70,5	73	78	82	88,5	95	96,5	100
Cefalotin	60	5	2	1	2	5	6	4
%	66	71,5	73,7	74,8	77	82,5	89,1	93,5

Poznámka: Testovány čerstvě izolované kmeny zachycené vesměs v roce 1968 v pražském kraji. Na penicilín G testováno 200 kmenů, na cefalotin 91 kmenů. U každého antibiotika uveden v první vodorovné řádce absolutní počet kmenů, v druhé vodorovné řádce kumulativní procentuální počet kmenů citlivých k dané koncentraci.

Kmeny izolované v prvním trimestru 1969 vykazovaly o něco vyšší citlivost na penicilín G než kmeny izolované v r. 1968. Všechny byly totiž inhibovány koncentrací 0,75 j/ml benzylpenicilínu, necelých 11 % bylo rezistentních vůči koncentraci 0,25 j/ml. Ampicilin inhiboval

Tabulka 2

Kvantitativní citlivost kmenů *Neisseria gonorrhoeae* na penicilín G, ampicilin a karbenicilin v testu in vitro

Antibiotikum a počet kmenů	Účinná inhibiční koncentrace v j/ml resp. mcg/ml						
	0,030	0,060	0,125	0,25	0,50	0,75	1
Penicilín G 74	55	0	6	5	6	2	0
%	74,3	74,3	82,4	89,2	97,3	100	
Ampicilin 73	52	5	13	2	1	0	0
%	71,2	78,1	95,9	98,6	100		
Karbenicilin 59	39	1	3	8	6	2	0
%	66,1	67,8	72,9	86,4	96,6	100	

Poznámka: Testovány čerstvě izolované kmeny zachycené vesměs v prvním trimestru 1969 v pražském kraji z akut. případů mužské kapavky. MIC penicilínu udány v j/ml, MIC ampicilinu a karbenicilinu v mcg/ml. U každého antibiotika uveden v první řádce absolutní počet kmenů citlivých k dané koncentraci, ve druhé řádce kumulativní procentuální počet.

v koncentraci do 0,125 mcg/ml téměř 96 % kmenů, 2 kmeny měly MIC (minimální inhibiční koncentraci) 0,25 mcg/ml a 1 kmen 0,50 mcg/ml. Karbenicilin inhiboval v koncentraci do 0,125 mcg/ml asi 73 % kmenů, v koncentraci 0,75 mcg/ml pak všech 59 sledovaných kmenů.

Mimo sledované sestavy kmenů bylo zvlášť vybráno 15 kmenů N.g. méně citlivých na benzylpenicilín a ty byly současně testovány na penicilín G, ampicilin a karbenicilin. Bylo použito všude váhové ředění (tj. v mcg/ml), aby výsledky byly navzájem srovnatelné. Tabulka 3 ukazuje, že v některých případech, konkrétně u kmenů č. 2 až 6, existuje signifikantní rozdíl v citlivosti na penicilín G a ampicilin, přičemž tento rozdíl hovoří ve prospěch ampicilinu. Za signifikantní považujeme takový rozdíl, kdy se MIC liší navzájem více než 4násobkem aktuální inhibiční koncentrace. U kmenů č. 1 a č. 7 je rozdíl na hranici signifikance. Při porovnání ampicilinu a penicilínu G lze říci, že všech 15 kmenů je na ampicilin buď přibližně stejně citlivých jako na penicilín G nebo signifikantně citlivějších. U sledovaných 15 kmenů účinkuje karbenicilin přibližně stejně jako penicilín G, pouze kmen 5 je na karbenicilin signifikantně citlivější.

Poznámka: Všechny kmeny izolovány v prvním trimestru 1969 z případů akutní mužské kapavky. Testováno standardní metodou. Hodnoty MIC vyjádřeny u penicilínu G, ampicilinu i karbenicilinu v mcg/ml.

Tabulka 3

Vzájemný poměr MIC penicilínu G, ampicilinu a karbenicilinu u méně citlivých kmenů *Neisseria gonorrhoeae*

Kmen	MIC jednotlivých antibiotik			Signifikance rozdílu mezi penicilínem G a ampicilinem
	Penicilín G	Ampicilin	Karbenicilin	
1. KA	0,375	0,093	0,375	Ano
2. HY	0,500	0,062	0,250	Ano
3. TE	0,750	0,093	—	Ano
4. RU	0,125	0,017	0,062	Ano
5. KS	0,500	0,031	0,046	Ano
6. KO	0,375	0,062	0,250	Ano
7. VR	0,750	0,187	0,375	Ano
8. FO	0,750	0,250	0,750	0
9. PI	0,187	0,093	0,375	0
10. KU	0,250	0,187	0,500	0
11. ČI	0,125	0,125	—	0
12. KAF	0,125	0,093	0,375	0
13. WI	0,250	0,125	0,375	0
14. ZA	0,250	0,250	0,375	0
15.	0,187	0,250	0,093	0

Diskuse

Výsledky studia poskytují určité vodítko pro terapii. Chtěli jsme se totiž přesvědčit, zda je možno (z hlediska citlivosti in vitro!) použít pro terapii kapavky kterýkoli ze sledovaných penicilínů, zda tedy účinkují při kvantitativním porovnání více méně stejně. Ukázalo se, že všechny tři penicilíny účinkovaly na sestavu 74 kmenů v koncentracích do 0,75 j/ml resp. mcg/ml. Všechny tedy mají předpoklad dobrého účinku in vivo. Při vzájemném porovnání na penicilín G méně citlivých kmenů se však ukázalo, že ampicilin účinkuje asi v polovině případů v signifikantně nižších koncentracích. Opačnou situaci jsme zatím nezjistili. Pokud tedy bereme v úvahu perorální terapii, zdá se být zatím spolehlivější užití ampicilinu z těchto důvodů:

1. Ampicilin působí na gonokoky buď stejně silně jako penicilín G, nebo v některých případech (u kmenů s nižší citlivostí na penicilín G) v signifikantně nižších koncentracích.
2. Pro perorální terapii nemůžeme použít penicilín G, nýbrž penicilín V, jehož kvantitativní účinek je ještě o něco nižší než účinek penicilínu G.
3. Snižování aktuální koncentrace v krevním séru vazbou na albuminy je více vyjádřeno u penicilínu G nebo penicilínu V než u ampicilinu.
4. Konečně vstřebatelnost ampicilinu ze střevního traktu je lepší u ampicilinu než u penicilínu V.

Naproti tomu musíme brát jako nevýhodu pro ampicilin jeho širší spektrum a ovlivnění střevní mikroflóry. Předloženou úvahu bereme za-

tím jako hypotézu, protože průkaz lepšího účinku ampicilinu je zatím podán na příliš malém počtu kmenů, aby bylo možno provádět odpovědné zobecnění.

Podle našich nálezů je karbenicilin o něco méně účinný než penicilín G a ampicilin, ale stále ještě dostatečně účinný pro terapeutické použití. Zde je třeba ovšem brát v úvahu, že karbenicilin je nový a velmi drahý preparát, který je vhodný především pro léčbu těžkých onemocnění vyvolaných proteovými nebo pseudomonadovými kmeny a jeho použití u kapavky není zatím žádoucí.

Cefalotin je v západní Evropě a ve Spojených státech často s úspěchem používán v terapii kapavky. Sami jsme se přesvědčili u 91 kmenů, že citlivost na cefalotin je většinou velmi dobrá, ale existuje menší procento kmenů (v daném případě 6,5 %; lze předpokládat, že většinou nebude v současné době vyšší než 10 %), které jsou málo citlivé a mohou být příčinou terapeutického selhání. Cefalotin může terapeuticky přicházet v úvahu při přecitlivělosti na penicilínové preparáty (ale pozor: v některých případech existuje zkřížená citlivost na penicilíny a cefalosporiny!), nebo v takové situaci, kdy ve vyšetřovaném materiálu je současně přítomno větší množství pyogenních stafylokoků produkujících penicilinázu, která by podávané penicilíny mohla eventuálně zčásti rozkládat.

Souhrn

Autoři sledovali kvantitativní účinek penicilínu G, ampicilinu, karbenicilinu a cefalotinu na 274 čerstvě izolovaných kmenů *Neisseria gonorrhoeae* standardní plotnovou diluční metodou. Zjistili, že ampicilin a penicilín G účinkují přibližně stejně, ale u kmenů s nižší citlivostí na penicilín G byl ampicilin, asi v polovině případů signifikantně účinnější. Karbenicilin účinkoval o něco slaběji, ale 73 % kmenů bylo inhibováno koncentrací 0,125 mcg/ml, všechny kmeny pak koncentrací 0,75 mcg/ml. Cefalotin účinkoval na 77 % kmenů v koncentraci 0,5 mcg/ml, 6,5 % kmenů bylo rezistentních na koncentraci 2,0 mcg/ml.

Literatura

1. Reyn, A. et al.: Bull. World Health Org. 32, 1965, 4:477.
2. Hejzlar, M., Výmola, F.: Journ. Hyg. Epid. Microb. Immunol. (Prague), IX, 1965, 3:300.
3. Hejzlar, M., Výmola, F.: Čs. dermatol., XL, 1965, 1:25.
4. Hejzlar, M., Výmola, F., Hájková, L., Kalandra, J., Rodovský, J., Lochovský, J.: Čs. dermatol., XLI, 1966, 5: 317.
5. Hejzlar, M., Výmola, F., Sedmidubský, V., Hájková, L., Weberschinke, J.: Čs. dermatol., XLIII, 1968, 3:179.
6. Hejzlar, M., Výmola, F., Synek, V., Weberschinke, J., Sedmidubský, V., Kalandra, J., Hájková, L., Rážová, H., Paroubek, M., Mucha, I., Kupková, N., Šafránková, M., Hrádková, H.: Journ. Hyg. Epid. Microb., Immunol. (Prague), 12, 1968, 4:296.
7. Výmola, F., Hejzlar, M.: Journ. Hyg. Epid. Microb. Immunol. (Prague), 12, 1968, 4:426.
8. Hejzlar, M., Výmola, F., Weberschinke, J.: Studium účinku antibiotik na kmeny *Neisseria gonorrhoeae* in vitro. Závěrečná zpráva k výzkumnému úkolu IV-14-8, 25 stran textu, únor. 1969.