376-379

维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2000)04-0376-04

17种抗生素对β-内酰胺酶的稳定性比较

谢友红[1]，钱元恕[2]、刘　宏[3]、段明纲[2]、兰雁飞[2]、向晓琴[2]

（1. 深圳市东湖医院内科　深圳　518020；2. 重庆医科大学临床学院传染科　重庆　400016；
3. 深圳市儿童医院检验科　深圳　518026）

R978.11
R927.11

摘　要：目的　研究17种抗生素对16种标准β-内酰胺酶的稳定性。**方法**　采用紫外分光光度法。**结果**　第三代头孢菌素和氨曲南(除头孢哌酮外)均对β-内酰胺酶稳定，其中头孢三嗪的酶稳定性最好，相对水解率均不超过30%。**结论**　第二代头孢菌素头孢呋新的相对水解率为6%～65%。第一代头孢菌素对酶的稳定性不如第二代头孢菌素，其中头孢硫脒对酶的稳定性尤差，OXA-2、SHV-4、D31对它的相对水解率分别高达523%、912%和359%。青霉素类的酶稳定性较差，大多数相对水解率在100%以上。

关键词： β-内酰胺抗生素；β-内酰胺酶；稳定性

中国图书分类法分类号： R978.1；R913　　**文献标识码：** A　　**收稿日期：** 2000-01-05

Study of stability of 17 β-lactams to 16 β-lactamases

XIE You-hong, et al

(Department of Medicine, Donghu Hospital, Shenzhen, 518020)

Abstract: **Objective** To study the stability of 17 β-lactams to 16 standard β-lactamases. **Methods** Spectrophotometrical technology was used. **Results** The third generation cephalosporins and aztreonam were stable to β-lactamases except cefoperazone,which had poor stability.Ceftriaxone was the most resistant agent in the eight tested third generation cephalosporins, the relative hydrolysis rates (RHRS) of the former was less than 30%. **Conclusion** RHRS of cefuroxime the second generation cephalosporin, were 6%-65%. The stability of the first generation cephalosporins to β-lactamases was poorer than those of the second generation cephalasporins. Among the first generation cephalosporins,cefathiamidine was the most susceptible to β-lactamases, and the RHRS by OXA-2, SHV-4, and D31 were 523%, 912% and 359% respectively. The penicillins were susceptible to β-lactamases and RHRS were more than 100%.

Key Words: β-lactams; β-lactamase; Stability

青霉素应用于临床已经过半个多世纪，在此期间新的病原菌不断出现，同时细菌对常用抗菌药物产生耐药性。细菌产生β-内酰胺酶是细菌对β-内酰胺类抗生素耐药的重要机制之一[1,2]。因而，评价β-内酰胺类抗生素，除了解其体内外抗菌活性及药理毒理特点外，还必须了解它们对各型β-内酰胺酶的稳定性，这是一个重要指标[3]。本实验研究了17种β-内酰胺抗生素对16种标准β-内酰胺酶的稳定性，结果报告如下。

1　材料和方法

1.1　药品

氨曲南(Aztreonum, Az，中美上海施贵宝制药有限公司)；头孢他美(Cefetamet, CAT，日本杏林制药株式会社)；头孢地嗪(Cefodizime, CDZM，德国Hoechst)；头孢米诺(Cefminox, CMNX，日本明治制药株式会社)；头孢哌酮(Cefoperazone, CPZ，德国，Karlsruhe)；舒普深(Sulperazon, SPZ，舒巴坦/头孢哌酮=1:1，中美合资辉瑞制药有限公司)；头孢三嗪(Ceftriaxone, CTR，广州白云山制药总厂)；头孢他定(Ceftazidime, CTD，英国Glaxo公司)；头孢噻肟(Cefotaxime, CTX，北京第二制药厂)；头孢呋新(Cefuroxime, CXM，英国Glaxo公司)；国产头孢呋新(四川抗菌素工业研究所惠赠)；头孢噻啶(Cephaloridin,CER，上海制药二厂)；头孢唑啉(Cefazolin, CEZ，日本藤泽药品工业株式会社)；头孢拉定(Cephradine, CED，中美上海施贵宝制药有限公司)；头孢硫脒(Cefathiamidine, CET，广州白云山制药总厂)；哌拉西林(Piperacillin, PIPC，太原第二制药厂)；氨苄青霉素(Ampicillin, AMPC，哈尔滨制药厂)。β-内酰胺酶特异性鉴定试剂Nitrocefin由英国Glaxo公司赠送。

1.2　细菌

作者介绍：谢友红（1966-　），女，主治医师，硕士

维普资讯 http://www.cqvip.com

16株标准产酶菌株由英国伦敦大学微生物系和英国Glaxo公司赠送，其中14株为产质粒介导β-内酰胺酶，（TEM-1，TEM-2，TEM-3，TEM-5，OXA-1，OXA-2，OXA-3，PSE-1,PSE-2,PSE-3,SHV-1，SHV-2，SHV-4，SHV-5），2株为产染色体介导β-内酰胺酶，（D31,K-1）。除PSE-2，3和K-1产酶菌分别为绿脓杆菌、肺炎克雷伯杆菌外，其余产酶菌均为大肠杆菌。

1.3 β-内酰胺酶活性测定

1.3.1 β-内酰胺酶的制备及蛋白含量的测定

参照文献[4,5]提取β-内酰胺酶，测定蛋白质含量并以Nitrocefin定性测定酶活性后，分装于-70℃冰箱保存备用。

1.3.2 酶活性及酶稳定性测定

参照文献[5]方法进行酶活性和酶稳定性测定，测定波长分别定为：AZ225、CAT231、CDZM260、CMNX272、CPZ266、SPZ266、CTR240、CTD255、CTX257、CXM275、CER260、CEZ272、CED262、CET206、PIPC210、AMPC208nm。

2 结 果

青霉素类和头孢菌素类药物的酶稳定性结果见表1、表2。

可见，青霉素对β-内酰胺酶的稳定性较差，相对水解率大多数在100%以上，其中对OXA-1、2，PSE-1，SHV-4和D31酶稳定性极差。第一代头孢菌素中头孢硫脒的酶稳定性不如头孢唑啉和头孢拉定，其中OXA-2，SHV-4，D31对它的相对水解率分别高达523%，912%和359%。第二代头孢菌素头孢呋新对TEM型、PSE-3、SHV-1,2,5的酶稳定性较好，相对水解率不超过26%，各型酶对国产头孢呋新的相对水解率并不高于进口头孢呋新，可见第二代头孢菌素的酶稳定性优于第一代头孢菌素和青霉素类。

表2结果表明，第三代头孢菌素的酶稳定性较第一、二代头孢菌素增强。其中头孢三嗪的酶稳定性最好，相对水解率均不超过30%。头孢哌酮对β-内酰胺酶不稳定，其酶稳定性不如头孢呋新，但舒普深(青霉烷砜与头孢哌酮的联合制剂)对酶稳定性较头孢哌酮增强。头孢噻肟，头孢他定，头孢他美对β-内酰胺酶大多高度稳定，后两者对TEM型、PSE型、D31、K-1酶非常稳定，相对水解率不超过15%。头孢地嗪和头孢米诺对酶也比较稳定，但OXA-2、PSE-1对头孢米诺的相对水解率大于100%。对染色体介导的β-内酰胺酶D31、K-1、头孢

表1 β-内酰胺酶对青霉素类，第一、二代头孢菌素的相对水解率

β-内酰胺酶					相对水解率				
名称	活性单位	AMPC	PIPC	CET	CED	CEZ	CER	CXM(进口)	CXM(国产)
TEM-1*	12	201	27	196	36	29	100	26	15
TEM-2*	399	112	83	94	55	66	100	12	9
TEM-3	25	164	163	158	3	100	100	10	6
TEM-4	160	119	118	87	0	46	100	9	9
OXA-1	19	350	276	264	12	90	100	31	19
OXA-2	27	848	522	523	129	322	100	65	31
OXA-3	86	108	96	92	81	59	100	34	24
PSE-1	34	207	218	198	31	43	100	45	27
PSE-2	40	143	127	132	15	68	100	34	29
PSE-3	86	79	110	91	12	20	100	8	7
SHV-1*	103	146	125	129	42	137	100	12	10
SHV-2	51	27	15	48	37	71	100	14	14
SHV-4	38	690	466	912	28	106	100	37	38
SHV-5	23	185	146	145	50	82	100	18	18
D31	43	507	344	359	54	14	100	27	24
K-1	47	ND	134	125	21	69	100	32	31

* 非广谱[6] ND: not determined

维普资讯 http://www.cqvip.com

表2　β-内酰胺酶对第三代头孢菌素、氨曲南的相对水解率

β-内酰胺酶					相对水解率					
名称	CER	CTX	CTD	CTR	CPZ	SPZ	CMNX	CDZM	CAT	AZ
TEM-1*	CER	CTX	CTD	CTR	39	23	98	22	7	13
TEM-2*	100	10	8	2	65	19	18	17	2	2
TEM-3	100	7	7	1	53	3	18	2	7	9
TEM-4	100	8	8	1	29	5	16	2	1	6
OXA-1	100	6	15	5	60	24	46	2	11	17
OXA-2	100	2	34	10	131	117	192	6	27	66
OXA-3	100	54	26	6	58	56	18	34	12	26
PSE-1	100	34	3	2	26	11	161	72	7	2
PSE-2	100	25	14	12	83	65	60	24	5	29
PSE-3	100	25	5	0	82	20	29	2	2	12
SHV-1*	100	4	5	0	98	76	16	24	5	0
SHV-2	100	0	ND	2	59	53	19	9	0	12
SHV-4	100	27	7	28	35	45	11	5	73	10
SHV-5	100	17	95	23	15	12	12	0	5	41
D31	100	2	38	8	40	52	59	11	11	28
K-1	100	25	1	2	30	26	2	16	6	9

* 非广谱[6]　ND: not determined

他定和头孢三嗪稳定性最高。非典型β-内酰胺抗生素氨曲南对各种β-内酰胺酶除OXA-2、SHV-5外，均高度稳定，相对水解率小于30%。

3　讨　论

β-内酰胺酶广泛分布于革兰阳性和阴性菌中，它可以作用于所有β-内酰胺类抗生素的β-内酰胺环，使其水解或生物失活，造成细菌耐药。因而寻找对β-内酰胺酶稳定或对β-内酰胺酶有抑制作用的抗生素是当今β-内酰胺抗生素研究的方向[7,8]。

本实验结果表明，青霉素类对β-内酰胺酶不稳定，相对水解率大多在110%～848%之间。第二代头孢菌素中头孢呋新对各型酶的稳定性优于青霉素类和第一代头孢菌素。第三代头孢菌素中头孢哌酮对酶不稳定，舒巴坦系一竞争性、不可逆的β-内酰胺酶抑制剂，是Ic型酶，II型TEM酶和IV型酶的有效抑制剂，且对新近发现的一些广谱β-内酶胺酶如SHV-2，CTX-1，CAZ-1，CAZ-2，TEM-2，TEM-4和TEM-7亦有高效中和作用[9]。因而当头孢哌酮与酶抑制剂舒巴坦(sulbactam)联合应用时酶稳定性增强。

头孢三嗪，头孢噻肟，头孢他定是抗菌活性强、抗菌谱广，对β-内酰胺酶稳定的第三代头孢菌素，它们这种高度酶稳定性与侧链上的甲氧亚胺基团有关，但令人担忧的是新近发现的广谱，超广谱β-内酰胺酶TEM-3,4,5,7及CAZ-2对头孢噻肟和头孢他定有极强的水解力，其中CAZ-2 对头孢噻肟的相对水解率为640%，TEM-5(CAZ-1)对头孢他定的相对水解率为49%。

第三代头孢菌素头孢地嗪和头孢他美含有氨基噻唑基团，因而其抗菌活性明显增强，同时α-位碳原子上的甲氧亚胺基团使其耐酶能力增强[10-12]。我们在实验中证实，除PSE-1对头孢地嗪的相对水解率为72%外，其余大多低于24%，而头孢他美对除SHV-4，OXA-2以外的14种标准β-内酰胺酶均高度稳定，相对水解率小于13%，与头孢三嗪同为第三代头孢菌素中最稳定的，耐酶能力超过头孢地嗪和头孢米诺，可在临床上发挥有效的治疗作用。非典型β-内酰胺酶抗生素氨曲南对各种β-内酰胺酶均高度稳定。

SHV-2、SHV-4和SHV-5为近年发现的质粒介

维普资讯 http://www.cqvip.com

导广谱β-内酰胺酶，国内仅我们实验室有，故本文研究的17种β-内酰胺类抗生素对SHV-2、SHV-4、SHV-5的酶稳定性结果为国内首次报道。关于头孢他美的酶稳定性研究，国内以前亦未见报道。由于常用的酶稳定性试验只是在单一底物条件下测定酶对抗生素的相对水解率，而相对水解率将随底物浓度的改变而改变，故这只能用为定性和初定量的指标。要系统地完整地了解抗生素对β-内酰胺酶的稳定性尚有待进一步从分子药理学水平上着手，定量研究β-内酰胺酶的酶动力学特征并从分子水平鉴别抗生素的抗菌作用与耐酶能力的优缺点，从而为择优选拔换代新产品提供实验依据和理论基础[3]。

参 考 文 献

[1] 戴自英. 实用抗菌药物学[M]. 上海：上海科学技术出版社，1992:17-25.

[2] *Minami S. Yotsuji. A Inoue M. et al. Induction of* β-lactamase by various β-lactam antibiotics in Enterobacter cloacae[J].Antimicrob Agent Chemother. 1980; 18:382-385.

[3] 闫淑雅，李家泰. β-内酰胺酶在细菌耐药中的作用及开展β-内酰胺酶动力学研究的意义[J]. 中国抗生素杂志，1989;14(1):68-75.

[4] Gootz TD, et al. Characterization of β-lactamase induction in Enterobacter clacae[J]. Antimicrob Agent Chemother, 1983;23(1):91-97.

[5] 钱元恕，王其南. 15种β-内酰胺抗生素对β-内酰胺酶的稳定性及体外抗菌活性比较[J]. 中华传染病杂志，1992;10(3):135-139.

[6] Philippon A, Labia R, Jacoby G. Extended-spectrum β-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1989;33(8):1131-1136.

[7] 黎世能，王浴生，雷 军. 氨曲南和亚胺培南对β-内酰胺酶稳定性和抑酶效应的研究[J]. 中国药理学通报，1994;10(2):133-135.

[8] 张普柱，张明良. β-内酰胺酶抑制剂的进展[J]. 国外医药抗生素分册，1993;14(2):115-118.

[9] Gurchinoff JC, Sulperazon Review of the published literature[C].1994;10:24-78.

[10] Neu HC, Chin NX, Labthavikul P. In vitro activity and β-lactamase stability of two oral cephalosporins, ceftetrame (Ro 19-5247) and cefetamet (Ro 15-80474)[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1986;30(3):423-428.

[11] Nukaga M, Tsukamoto K, Yamaguchi H, et al. Interaction of oxyimino β-lactams with a class C β-lactamase and a mutant with a spectrum extended to β-lactams[J]. Antimicrob Agents Chemother. 1994;38(6):1374-1377.

[12] Scully BE, Julesk, Nen HC. In vitro activity and β-lactamase stability of cefodizime, an aminothiazolyl iminomethoxy cephalosporin[J]. Antimicrob Agents Chemother. 1983;23(6):907-913.

（上接第372页）

能与肿瘤形成的早期有关，而E6原癌蛋白可能与肿瘤形成的晚期关系密切。无独有偶，对重庆20例宫颈癌、20例宫颈炎病变组织进行HPV16 E6、E7 PCR检测的结果表明，两组病变组织HPV16 E7的检出率无统计学差异，而宫颈癌组织中，HPV16 E6的检出率明显高于宫颈炎组织，两者存在统计学差异。据推测，在人类，HPV16 E7原癌蛋白可能与宫颈癌发生的早期有关，而E6原癌蛋白可能与宫颈癌的形成关系密切。HPV16 E6的检测可否作为协助临床判断宫颈癌及其预后的指标，相关的研究正在进行中。

参 考 文 献

[1] Zur Hausen H. human papillomaviruses in the pathogenesis of anogenital cancer[J]. Virology, 1991;184:9-13.

[2] Sasagawa T. Inoue M. Inoue H et al. induction of uterine cervical neoplasias in mice by human papillomavirus type 16 E6/E7 genes[J]. Cancer Res 1992;52:4420-4426.

[3] Seedorf K, Krammer G. Durst M et al. human papillomavirus type 16 DNA sequence[J]. Virology. 1985;145:181-185.

[4] Douglas R. Lowy. Kirnbauer R et al. genital human papillomavirus infection[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994;91:2436-2440.

[5] Song S, Pitot HC, Lambert PF,et al. the human papillomavirus type 16 E6 gene alone is sufficient to induce carcinomas in transgenic animals[J]. J Virol 1999;73(7):5887-5893.