

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research地喹氯铵对口腔感染常见病原菌
体外抗菌活性研究Study on the *in vitro* antibacterial activity of dequalinium chloride against common pathogens in oral infections王 珊, 李 耘, 张 佳,
刘姚姚, 郑 波(北京大学 第一医院 临床药理研究所, 北京
100034)WANG Shan, LI Yun,
ZHANG Jia, LIU Yao - yao,
ZHENG Bo(Institute of Clinical Pharmacology,
Peking University First Hospital, Beijing
100034, China)

作者简介: 王珊(1981 -), 女, 主管技师, 主要从事抗菌药物临床前药效研究

通信作者: 郑波, 教授, 主任医师, 博士生导师
Tel: (010) 82802542
E - mail: doctorzhengbo@163.com

摘要:目的 评价地喹氯铵对中国近年来临床分离口腔感染常见病原菌的体外抗菌作用及抗生素后效应(PAE)。方法 用标准微量肉汤/琼脂(用于厌氧菌)二倍稀释法测定最低抑菌浓度(MIC);用肉汤二倍稀释法测定最低杀菌浓度(MBC);用菌落计数法测定杀菌曲线和PAE。结果 对来自中国19座城市的22家医院的274株细菌进行了地喹氯铵和常用抗菌药物的MIC测定。结果显示:革兰氏阳性菌中,地喹氯铵对金黄色葡萄球菌及化脓链球菌的MIC₅₀值分别为1和2 mg · L⁻¹,MIC₉₀值分别为2和4 mg · L⁻¹;对肺炎链球菌、粪肠球菌及草绿色链球菌群MIC₅₀值分别为8、4和8 mg · L⁻¹,MIC₉₀值分别为8、16和16 mg · L⁻¹。革兰氏阴性菌中,地喹氯铵对肺炎克雷伯菌MIC₅₀和MIC₉₀均为64 mg · L⁻¹;地喹氯铵对铜绿假单胞的MIC₅₀为>512 mg · L⁻¹。地喹氯铵对32株厌氧菌的MIC₅₀和MIC₉₀分别为16和128 mg · L⁻¹。地喹氯铵对消化链球菌属和卟啉单胞菌属的抗菌作用优于普雷沃菌属。MBC与杀菌曲线试验表明地喹氯铵对金黄色葡萄球菌、化脓链球菌及口腔链球菌具有很好杀菌作用,在1~4倍MIC浓度,4~24 h,可将细菌由起始1.0 × 10⁵~1.0 × 10⁶ CFU · mL⁻¹杀灭至0 CFU · mL⁻¹,对粪肠球菌具有较好杀菌作用,杀菌曲线显示该药倾向于浓度依赖性药物特征。地喹氯铵对以上4株菌的PAE在0.5~1 h之间。

结论 地喹氯铵对革兰氏阳性菌的抗菌作用优于革兰氏阴性菌及厌氧菌,尤其是对金黄色葡萄球菌及化脓链球菌具有很好抗菌活性,值得进一步临床研究。

关键词:地喹氯铵;口腔感染;体外;抗菌活性**DOI:**10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.24.006**中图分类号:**R978.1 **文献标志码:**A**文章编号:**1001-6821(2025)24-3482-09

Abstract: Objective To evaluate the *in vitro* antibacterial effects and post - antibiotic effect (PAE) of dequalinium chloride against common pathogens isolated from oral infections in China in recent years. **Methods** The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by the standard microbroth or agar (for anaerobes) two - fold dilution method; the minimum bactericidal concentration (MBC) was determined by the broth two - fold dilution method; time - kill curves and PAE were determined by the colony count method. **Results** MICs of dequalinium chloride and commonly used antimicrobial drugs were determined for 274 bacterial strains from 22 hospitals in 19 cities across China. Result showed that, for Gram - positive bacteria, the MIC₅₀ values of dequalinium chloride against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes* were 1 and 2 mg · L⁻¹, respectively, with MIC₉₀ values of 2 and

4 mg · L⁻¹, respectively. For *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, and the viridans group streptococci, the MIC₅₀ values were 8, 4 and 8 mg · L⁻¹, respectively, while the MIC₉₀ values were 8, and 16 mg · L⁻¹, respectively. Among Gram - negative bacteria, the MIC₅₀ and MIC₉₀ values of dequalinium chloride against *Klebsiella pneumoniae* were both 64 mg · L⁻¹; and >512 mg · L⁻¹ for MIC₅₀ against *Pseudomonas aeruginosa*. For 32 strains of anaerobic bacteria, the MIC₅₀ and MIC₉₀ of dequalinium chloride were 16 and 128 mg · L⁻¹, respectively. Dequalinium chloride showed superior antibacterial activity against genera of *Peptostreptococcus* and *Porphyromonas* compared to *Prevotella*. MBC and time - kill curves showed that dequalinium chloride has a good bactericidal effect on *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, and oral streptococci, killing bacteria from an initial count of 1.0 × 10⁵ - 1.0 × 10⁶ CFU · mL⁻¹ to 0 at 1 - 4 times MIC concentration within 4 - 24 h. It also showed good bactericidal effect on *Enterococcus faecalis*. The time - kill curves indicating a concentration - dependent characteristic of the drug. The PAE of dequalinium chloride against the above four bacterial strains was between 0.5 - 1 h. **Conclusion** Dequalinium chloride exhibits superior antibacterial activity against Gram - positive bacteria than Gram - negative bacteria and anaerobes, especially against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*, warranting further clinical research.

Key words: dequalinium chloride; oral infection; *in vitro*; antibacterial activity

地喹氯铵于 20 世纪 50 年代被开发用于治疗口腔感染的局部抗菌剂^[1]。至今仍以治疗喉咙痛的含片 (Dequadin[®]、Decatylen[®]、Degirol[®]) 形式使用, 这种局部应用安全有效, 其快速抗菌作用导致起效快, 并很好地适用于治疗口腔感染^[2]。但是国内外对地喹氯铵体外抗菌活性的报道比较少, 本研究将对其体外抗菌活性进行评价, 包括最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC)、最低杀菌浓度 (minimum bactericidal concentration, MBC)、杀菌曲线以及抗生素后效应 (post - antibiotic effect, PAE), 为进一步明确地喹氯铵对目前中国常见口腔感染病原菌的抗菌活性及开发新型口腔制剂提供参考。

材料与方法

1 材料

菌株 2016 年至 2023 年从全国 19 座城市 22 家医院收集 274 株临床分离细菌, 其中, 金黄色葡萄球菌 46 株, 含甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 (Methicillin - susceptible *Staphylococcus aureus*, MSSA) 23 株和甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌 (Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 23 株; 粪肠球菌 23 株; 化脓链球菌 23 株; 肺炎链球菌 24 株; 草绿链球菌 57 株 (含口腔链球菌 22 株, 咽峡炎链球菌 24 株和唾液链球菌 11 株); 肺炎克雷伯菌 46 株, 含超广谱 β - 内酰胺酶 (extended - spectrum β - lactamases, ESBLs) 阳性菌 23 株和 ESBLs 阴性菌 23 株; 铜绿假单胞菌 23 株; 厌氧菌 32 株 (含消化链球菌属 12 株, 卟啉单胞菌属 10 株和普雷沃菌属 10 株), 均保藏于北京大学临床药

理研究所微生物菌种库。药敏试验标准质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC 29213, 粪肠球菌 ATCC 29212, 肺炎链球菌 ATCC 49619, 大肠埃希菌 ATCC 25922, 铜绿假单胞菌 ATCC 27853 和脆弱拟杆菌 ATCC 25285。

药品与试剂 地喹氯铵, 规格: 每支 1 g, 批号: AT230310, 纯度: 97.1%, 由北京华润双鹤药业股份有限公司提供; 头孢西丁, 规格: 每支 100 mg, 批号: 89131, 纯度: 99.8%, 购自美国 MedChemExpress 公司; 氨苄西林, 规格: 每支 5 g, 批号: R1/69/339, 纯度: 87.5%, 购自意大利 INALCO 公司; 莫西沙星, 规格: 每支 3 g, 批号: 091202, 纯度: 95.7%, 购自杭州洋洋康生物技术有限公司; 左氧氟沙星, 规格: 每支 100 mg, 批号: 130455 - 201607, 纯度: 97.3%、头孢呋辛, 规格: 每支 100 mg, 批号: 130473 - 201706, 纯度: 91.9%、头孢噻肟, 规格: 每支 100 mg, 批号: 130483 - 202106, 纯度: 90.0%、克拉维酸, 规格: 每支 50 mg, 批号: 130429 - 201307, 纯度: 95.0%、青霉素, 规格: 每支 100 mg, 批号: 130437 - 201707, 纯度: 94.1%、克林霉素, 规格: 每支 200 mg, 批号: 0422 - 9903, 纯度: 87.2%、阿奇霉素, 规格: 每支 100 mg, 批号: 130593 - 202004, 纯度: 94.3%、头孢克洛, 规格: 每支 100 mg, 批号: 130481 - 202007, 纯度: 94.1%、甲硝唑, 规格: 每支 50 mg, 批号: 100191 - 200305, 纯度: 100%, 均购自中国食品药品检定研究院; 威尔金斯 - 查尔格伦厌氧菌肉汤 (Wilkins - Chalgren anaerobe broth, WCAB) 及琼脂, 均购自英国 OXOID 公司; 阳离子调整型穆勒 - 欣顿肉汤 (cation - adjusted Mueller - Hinton broth, CAMHB), 购自美国 Becton Dickinson 公司。

仪器 BS - MFL - 01 麦氏比浊仪, 珠海贝索生物

技术有限公司产品;ATM™型加样仪、IMH400s型恒温培养箱及AnaeroGen™ 3.5L厌氧袋,均为美国赛默飞世尔科技公司产品;CLM-240B-8-CN型二氧化碳培养箱,上海益世科企业发展有限公司产品。

2 实验方法

2.1 培养基与孵育条件^[3]

需氧菌及苛养菌在CAMHB培养基或CAMHB+5%无菌裂解马血清(链球菌属)培养基中培养,(35±2)℃孵育16~24 h。厌氧试验菌株在WCAB及WCAB+琼脂+5%无菌脱纤维羊血中培养,用密封厌氧罐和厌氧袋在厌氧条件下(35±2)℃孵育48 h。

2.2 MIC测定^[4]

全部需氧、苛养菌用标准微量肉汤二倍稀释法,菌液终浓度约为 5.0×10^5 CFU·mL⁻¹,厌氧菌用琼脂二倍稀释法,被试菌悬液用多点接种仪接种,每点接种量为 1.0×10^5 CFU^[4]。地喹氯铵测定浓度范围为512~0.06 mg·L⁻¹,其他抗菌药物测定浓度范围为256~0.008 mg·L⁻¹,测定各抗菌药物对各种致病菌的最低抑菌浓度。能抑制50%菌株的MIC值为MIC₅₀,能抑制90%菌株的MIC值为MIC₉₀,菌株占比最多的MIC值为MIC众数。根据美国临床和实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)2024^[3]颁布的抗菌药物折点计算细菌敏感、耐药率。

2.3 MBC测定^[5]

用标准微量肉汤二部稀释法进行MIC测定,读取MIC结果后,肉眼未见细菌生长的4个最低浓度,每孔取10 μL涂布于不含抗菌药物平皿中,经(35±2)℃孵育16~20 h,细菌生长少于5个菌落的最低抗菌药物浓度为MBC。

2.4 杀菌曲线绘制^[5-6]

在营养肉汤中加入一定浓度待测抗菌药物及细菌应用液,使培养液中细菌的终浓度约在 $5.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6$ CFU·mL⁻¹。取即刻、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、12.0及24.0 h的培养物,适当稀释后进行菌落计数,绘制杀菌曲线。根据MIC结果,选取金黄色葡萄球菌、粪肠球菌、化脓链球菌、口腔链球菌各1株,测定地喹氯铵、左氧氟沙星药物浓度分别为0.5倍MIC、1倍MIC、2倍MIC及4倍MIC时的杀菌曲线。同时做不含抗菌药物的生长对照试验。

2.5 PAE测定^[7]

在PAE的研究中,通过一项结合预试验和正

式试验的单阶段方法进行。首先,将过夜培养的菌液适当稀释与待测药物混合,确保菌液的最终浓度约为 1.0×10^7 CFU·mL⁻¹,药物浓度设为10倍MIC,并设立仅含菌液的对照组。在(35±2)℃条件下进行培养。预试验阶段,混合物立即进行1 000倍稀释以评估此稀释步骤是否能有效去除药物影响,通过在特定时间点(混合前、稀释后立即以及稀释后1至6 h)进行菌落计数并绘制生长曲线来观察含药组与对照组之间的生长差异,从而验证方法的有效性。在正式试验中,继续采用相同的菌液与药物浓度,但在(35±2)℃下培养1 h后再进行1 000倍稀释,然后继续培养并在同样的时间点进行菌落计数。通过比较药物处理组与对照组在稀释后增长10倍所需时间的差异,计算出药物的PAE值,进行2次实验并取平均值以确保结果的准确性。

结 果

1 地喹氯铵及对照药对各类标准菌株的MIC结果

在本研究中,对全部有质控范围的菌株-药物组合,MIC值均在质控范围内。对所测标准金黄色葡萄球菌、粪肠球菌及肺炎链球菌,地喹氯铵均表现出较好抗菌作用,MIC值分别为2、4及8 mg·L⁻¹。对所测标准大肠埃希菌、铜绿假单胞菌及脆弱拟杆菌,地喹氯铵的抗菌作用较弱,MIC值分别为32、>512及512 mg·L⁻¹。

2 地喹氯铵及对照药对274株临床分离致病菌的MIC结果

2.1 地喹氯铵及对照药对革兰氏阳性菌的MIC结果

地喹氯铵对MSSA及MRSA的MIC₅₀值分别为1和2 mg·L⁻¹,MIC₉₀值分别为2和4 mg·L⁻¹,均具有很好的抗菌活性。地喹氯铵对粪肠球菌有较好的抗菌活性,MIC₅₀和MIC₉₀分别为4和16 mg·L⁻¹。地喹氯铵对化脓链球菌有很好的抗菌活性,MIC₅₀和MIC₉₀分别为2和4 mg·L⁻¹,除阿奇霉素外其他所测药物也均表现出很好抗菌活性;对肺炎链球菌,MIC₅₀和MIC₉₀均为8 mg·L⁻¹,与头孢呋辛相当。对草绿色链球菌群整体而言,MIC₅₀和MIC₉₀值分别为8和16 mg·L⁻¹,MIC值在1~32 mg·L⁻¹,抗菌作用由强到弱分别为咽峡炎链球菌、唾液链球菌和口腔链球菌,除阿奇霉素外其他所测药物均表现出很好抗菌活性,见表1。

表 1 地喹氯铵及对照药对革兰氏阳性菌的抗菌作用及细菌敏感(S)和耐药(R)率(%)

Table 1 Antibacterial activity of dequalinium chloride and control drugs against gram – positive bacteria and bacterial susceptible (S) and resistant (R) rates (%)

Micro – organsims (Number of strains)	Antimicrobial drugs	MIC ₅₀ (mg · L ⁻¹)	MIC ₉₀ (mg · L ⁻¹)	MIC _{mode} (mg · L ⁻¹)	MIC _{range} (mg · L ⁻¹)	S	R
<i>Staphylococcus aureus</i> (46)	Dequalinium chloride	1	2	1	0.25 – 16	–	–
	Levofloxacin	0.25	16	0.25	0.12 – >256	76.1	23.9
	Cefotaxime	2	256	1	0.06 – >256	52.2	47.8
MSSA (23)	Dequalinium chloride	1	2	1	0.25 – 2	–	–
	Levofloxacin	0.25	1	0.25	0.12 – 8	91.3	8.7
	Cefotaxime	1	1	1	0.06 – 2	100	0
MRSA (23)	Dequalinium chloride	2	4	1, 2	0.25 – 16	–	–
	Levofloxacin	0.5	128	0.25	0.12 – >256	60.9	39.1
	Cefotaxime	16	256	16	4 – >256	4.3	95.7
<i>Enterococcus faecalis</i> (23)	Dequalinium chloride	4	16	4	1 – 16	–	–
	Levofloxacin	2	32	1	0.5 – 64	52.2	43.5
	Ampicillin	1	2	1	0.25 – 4	100	0
<i>Streptococcus pyogenes</i> (23)	Dequalinium chloride	2	4	2	0.25 – 8	–	–
	Levofloxacin	1	1	1	0.12 – 4	95.7	0.0
	Cefuroxime	0.016	0.016	0.016	0.008 – 0.12	–	–
	Penicillin	0.016	0.03	0.016	0.008 – 0.06	100.0	–
	Azithromycin	256	>256	256	0.12 – >256	13.0	87.0
	Cefaclor	0.06	0.12	0.06	0.03 – 0.25	–	–
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (24)	Dequalinium chloride	8	8	8	4 – 8	–	–
	Levofloxacin	2	2	2	1 – 16	95.8	4.2
	Cefuroxime	4	16	8	0.03 – 32	41.7	58.3
	Penicillin	1	2	1, 2	0.016 – 2	25.0	29.2
	Azithromycin	256	>256	256	8 – >256	0.0	100.0
	Cefaclor	32	128	64	0.25 – 128	25.0	66.7
Viridans group streptococci (57)	Dequalinium chloride	8	16	8	1 – 32	–	–
	Levofloxacin	2	32	2	0.5 – 64	84.2	14.0
	Cefuroxime	0.25	2	0.25	0.03 – 128	–	–
	Penicillin	0.03	1	0.03	0.016 – 64	73.7	7.0
	Azithromycin	16	256	256	0.03 – >256	21.1	68.4
	Cefaclor	4	16	1, 4	1 – >256	–	–
Oral streptococci (22)	Dequalinium chloride	8	32	8	2 – 32	–	–
	Levofloxacin	2	32	2	0.5 – 32	77.3	18.2
	Cefuroxime	0.25	4	0.25	0.06 – 128	–	–
	Penicillin	0.06	1	0.03	0.016 – 8	72.7	9.1
	Azithromycin	64	256	256	0.06 – 256	18.2	68.2
	Cefaclor	1	32	1	0.12 – >256	–	–
Pharyngitis – associated streptococci (24)	Dequalinium chloride	4	16	4, 8	1 – 16	–	–
	Levofloxacin	1	32	1	0.5 – 64	83.3	16.7
	Cefuroxime	0.25	0.25	0.25	0.03 – 2	–	–
	Penicillin	0.03	0.06	0.03	0.016 – 0.5	95.8	0.0
	Azithromycin	8	256	0.25, 8, 256	0.03 – >256	29.2	62.5
	Cefaclor	0.5	0.5	0.5	0.12 – 32	–	–
Salivary streptococci (11)	Dequalinium chloride	8	16	4, 8	4 – 16	–	–
	Levofloxacin	2	2	2	1 – 2	100.0	0.0
	Cefuroxime	0.25	2	0.25	0.12 – 64	–	–
	Penicillin	0.25	4	0.25	0.06 – 64	27.3	18.2
	Azithromycin	64	256	8, 128, 256	0.03 – >256	9.1	81.8
	Cefaclor	4	16	1, 4	1 – >256	–	–

MIC; Minimum inhibitory concentration; MSSA; Methicillin – sensitive *Staphylococcus aureus*; MRSA; Methicillin – resistant *Staphylococcus aureus*; –; No breakpoint.

2.2 地喹氯铵及对照药对革兰氏阴性菌的 MIC 结果

地喹氯铵对 ESBLs 阳性、ESBLs 阴性及碳青霉烯类不敏感肺炎克雷伯菌抗菌活性基本一致。MIC₅₀、MIC₉₀ 值及 MIC 众数均为 64 mg · L⁻¹。对铜绿假单胞,地喹氯铵的抗菌作用很弱, MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 值均 >512 mg · L⁻¹,见表 2。

2.3 地喹氯铵及对照药对厌氧菌的 MIC 结果

地喹氯铵及甲硝唑对 32 株厌氧菌的 MIC₅₀ 值分

别为 16 和 4 mg · L⁻¹, MIC₉₀ 值分别 128 和 >256 mg · L⁻¹。按菌属分,地喹氯铵对消化链球菌属和卟啉单胞菌属的 MIC₅₀、MIC₉₀ 及 MIC 众数结果一致,分别为 16、64 及 16 mg · L⁻¹,除克林霉素对卟啉单胞菌属无抗菌作用外,其他所测药物的敏感率在 50% ~ 80% 之间;对普雷沃菌属,地喹氯铵的抗菌作用较弱, MIC₅₀ 和 MIC₉₀ 分别为 64 和 512 mg · L⁻¹,见表 3。

表 2 地喹氯铵及对照药对革兰氏阴性菌的抗菌作用及细菌敏感(S)和耐药(R)率(%)

Table 2 Antibacterial activity of dequalinium chloride and control drugs against gram - negative bacteria and bacterial susceptible (S) and resistant (R) rates (%)

Micro - organisms (Number of strains)	Antimicrobial drugs	MIC ₅₀ (mg · L ⁻¹)	MIC ₉₀ (mg · L ⁻¹)	MIC _{mode} (mg · L ⁻¹)	MIC _{range} (mg · L ⁻¹)	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (46)	Dequalinium chloride	64	64	64	32 - 128	-	-
	Levofloxacin	2	128	16	0.06 - 256	26.1	73.9
	Cefotaxime	>256	>256	>256	0.03 - >256	17.4	54.3
ESBL - positive <i>Klebsiella pneumoniae</i> (23)	Dequalinium chloride	64	64	64	32 - 128	-	-
	Levofloxacin	8	128	16	0.06 - 256	26.1	56.5
	Cefotaxime	>256	>256	>256	8 - >256	0	100
ESBL - negative carbapenems sensitive <i>Klebsiella pneumoniae</i> (13)	Dequalinium chloride	64	64	64	64	-	-
	Levofloxacin	0.25	2	0.12	0.06 - 2	69.2	15.4
	Cefotaxime	0.12	0.5	0.12	0.03 - 4	92.3	7.7
Carbapenems insensitive <i>Klebsiella pneumoniae</i> (10)	Dequalinium chloride	64	64	64	32 - 64	-	-
	Levofloxacin	32	128	32, 64	16 - 256	0	100
	Cefotaxime	>256	>256	>256	>256	0	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (23)	Dequalinium chloride	>512	>512	>512	64 - >512	-	-
	Levofloxacin	1	32	1	0.5 - 128	65.2	30.4

表 3 地喹氯铵及对照药对厌氧菌的抗菌作用及细菌敏感(S)和耐药(R)率(%)

Table 3 Antibacterial activity of dequalinium chloride and control drugs against anaerobic bacteria and bacterial susceptible (S) and resistant (R) rates (%)

Micro - organisms (Number of strains)	Antimicrobial drugs	MIC ₅₀ (mg · L ⁻¹)	MIC ₉₀ (mg · L ⁻¹)	MIC _{mode} (mg · L ⁻¹)	MIC _{range} (mg · L ⁻¹)	S	R
Anaerobic bacteria (32)	Dequalinium chloride	16	128	16	2 - 512	-	-
	Clindamycin	32	>256	>256	0.016 - >256	43.8	56.2
	Moxifloxacin	0.5	8	0.5	0.06 - 16	71.9	21.9
	Metronidazole	4	>256	1, 4, >256	0.06 - >256	68.8	28.1
<i>Peptostreptococcus</i> (12)	Dequalinium chloride	16	64	16	16 - >64	-	-
	Clindamycin	1	256	256	0.03 - >256	58.3	41.7
	Moxifloxacin	1	8	0.5, 2	0.25 - 16	75	25
	Metronidazole	1	128	1	0.5 - >256	66.7	25
<i>Porphyromonas</i> (10)	Dequalinium chloride	16	64	16	4 - 64	-	-
	Clindamycin	256	>256	>256	0.016 - >256	30	70
	Moxifloxacin	0.5	8	0.5	0.06 - 16	80	0
	Metronidazole	4	>256	4, >256	0.06 - >256	50	50
<i>Prevotella</i> (10)	Dequalinium chloride	64	512	64, 512	2 - 512	-	-
	Clindamycin	32	>256	>256	0.016 - >256	40	60
	Moxifloxacin	0.5	8	8	0.06 - 16	60	40
	Metronidazole	4	>256	8	0.06 - >256	90	10

3 地喹氯铵及对照药对 114 株临床分离致病菌的 MBC 结果

地喹氯铵对金黄色葡萄球菌、化脓链球菌及口腔链球菌的 MBC_{50} 、 MBC_{90} 值是 MIC_{50} 、 MIC_{90} 值的 1~2 倍,对粪肠球菌的 MBC_{50} 、 MBC_{90} 值是 MIC_{50} 、 MIC_{90} 值的 2~4 倍。地喹氯铵对金黄色葡萄球菌、化脓链球菌及口腔链球菌, $MBC/MIC \leq 4$ 占比为 100%, 具有很好杀菌作用;对粪肠球菌, $MBC/MIC \leq 4$ 占比为 73.9%, 具有较好杀菌作用。

4 地喹氯铵及左氧氟沙星对 4 株临床分离致病菌的杀菌曲线结果

不同浓度地喹氯铵及左氧氟沙星对化脓链球菌 21C303 的杀菌曲线, 见图 1。地喹氯铵在 4 倍、2 倍及 1 倍 MIC 浓度分别经 4、8 及 24 h, 可以将细菌由起始 1.0×10^6 CFU · mL⁻¹ 杀灭至 0, 在 0.5 倍 MIC 经 24 h, 可将细菌由起始浓度减少 3 个 log 值以上, 具有较好杀菌作用, 杀菌速率在 0.5~4 倍 MIC 间随药物浓度升高有所增强。左氧氟沙星杀菌速率在 0.5~4 倍 MIC 间随药物浓度升高有所增强但不明显, 杀菌速率略小于地喹氯铵, 0.5~1 倍 MIC 浓度 24 h 不能将细菌数量杀灭至 0。

测试药物对口腔链球菌 21Y060 的杀菌曲线, 见图 2。地喹氯铵在 4 倍、2 倍及 1 倍 MIC 浓度分别经 6、8 及 12 h, 可以将细菌由起始 7.0×10^5 CFU · mL⁻¹ 杀灭至 0, 具有较好杀菌作用, 而在 0.5 倍 MIC 浓度时不能有效杀菌, 杀菌速率在 0.5~4 倍 MIC 间随药物浓度升高有所增强。左氧氟沙星杀菌趋势相似, 但各个 MIC 浓度杀菌速率均小于地喹氯铵, 0.5~1 倍 MIC 浓度 24 h 不能将细菌数量杀灭至 0。

测试药物对粪肠球菌 ATCC 29212 的杀菌曲线, 见图 3。地喹氯铵在 4 倍 MIC 浓度经 4 h, 2 倍 MIC 经 6 h, 1 倍 MIC 经 12 h 可以将细菌由起始 7.6×10^5 CFU · mL⁻¹ 减少 3 个 log 值或以上, 具有较好杀菌作用, 而在 0.5 倍 MIC 浓度时不能有效杀菌, 且 24 h 细菌数量可恢复至 1.6×10^5 CFU · mL⁻¹, 杀菌速率在 0.5~4 倍 MIC 间随药物浓度升高有所增强。左氧氟沙星杀菌速率随药物浓度增加没有明显改变, 且杀菌速率小于地喹氯铵。

测试药物对金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 的杀菌曲线, 见图 4。地喹氯铵在 4 倍、2 倍及 1 倍 MIC 浓度分别经 6、12 及 24 h, 可以将细菌由起始 2.0×10^6 CFU · mL⁻¹ 杀灭至 0, 具有较好杀菌作用。在 0.5 倍 MIC 浓度经 12 h 可以将细菌由起始 2.0×10^6 CFU · mL⁻¹ 减少 3 个 log 值, 但是在 24 h 细菌数量又有回升趋势, 不能有效杀菌。地喹氯铵杀菌速率在 0.5~4 倍 MIC 间随药物浓度升高有所增强。左氧氟沙星各个 MIC 浓度杀菌速率均小于地喹氯铵, 除 4 倍 MIC 浓度外, 其他浓度 24 h 不能将细菌数量杀灭至 0, 尤其在 0.5 倍 MIC 浓度, 24 h 细菌数量可恢复至 4.0×10^6 CFU · mL⁻¹。

5 PAE 结果

PAE 预实验显示, 1 000 倍稀释可有效去除培养液中药物, 稀释后细菌生长曲线与对照组基本重合, 故可以用稀释法去除药物。地喹氯铵对化脓性链球菌 21C303、口腔链球菌 21Y060、粪肠球菌 ATCC 29212、金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 2 次测试平均 PAE 分别为 0.52 (0.60, 0.43)、0.77 (0.64, 0.89)、0.84 (0.73, 0.95) 和 0.65 (0.52, 0.79) h。

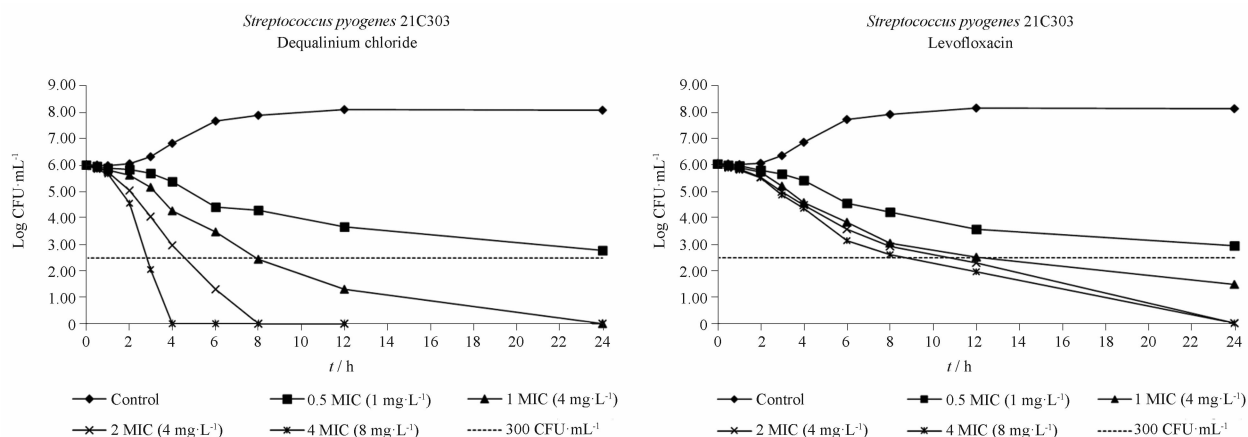


图 1 地喹氯铵及左氧氟沙星对化脓链球菌 21C303 的杀菌曲线

Figure 1 Bactericidal curves of dequalinium chloride and levofloxacin against *Streptococcus pyogenes* strain 21C303

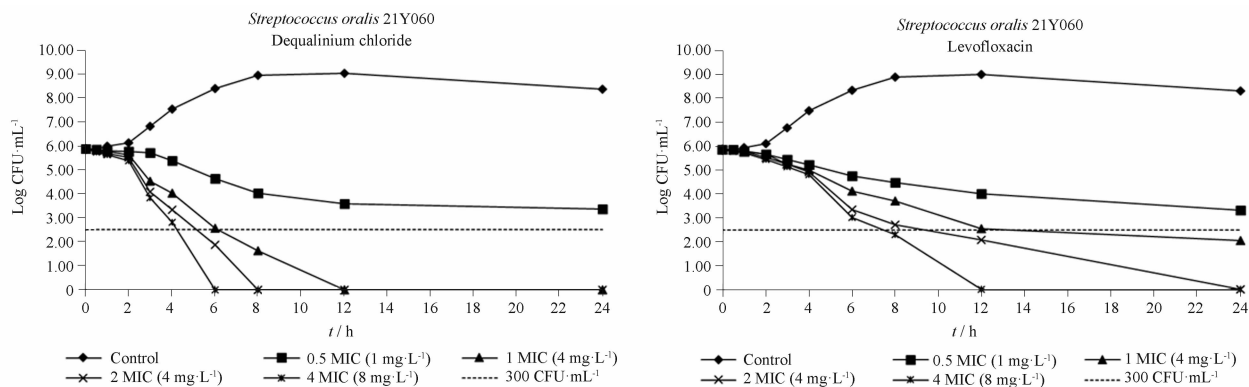


图2 地喹氯铵及左氧氟沙星对口腔链球菌21Y060的杀菌曲线

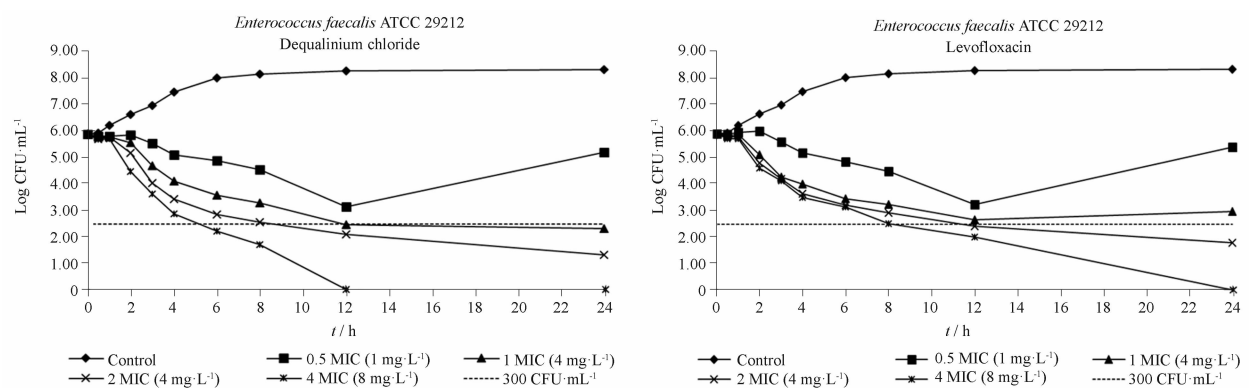
Figure 2 Bactericidal curves of dequalinium chloride and levofloxacin against *Streptococcus oralis* strain 21Y060

图3 地喹氯铵及左氧氟沙星对粪肠球菌ATCC29212的杀菌曲线

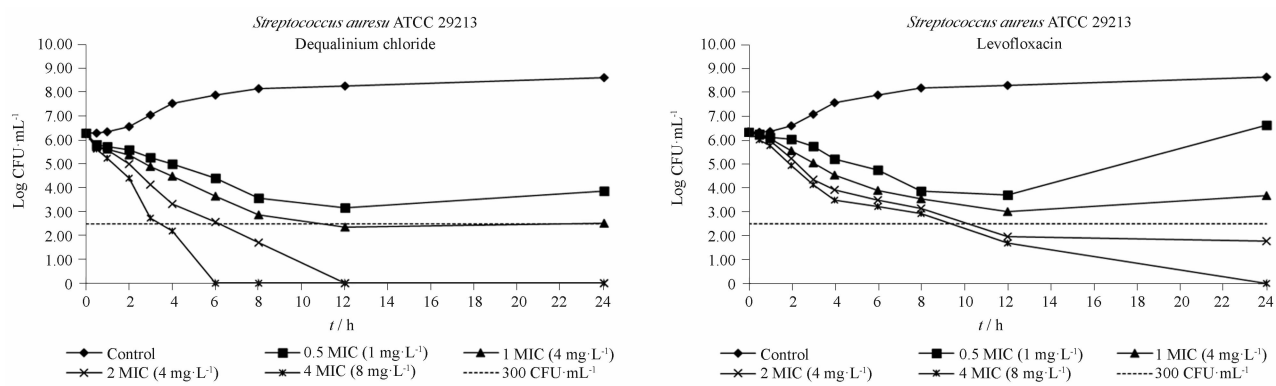
Figure 3 Bactericidal curves of dequalinium chloride and levofloxacin against *Enterococcus faecalis* strain ATCC 29212

图4 地喹氯铵及左氧氟沙星对金黄色葡萄球菌ATCC 29213的杀菌曲线

Figure 4 Bactericidal curves of dequalinium chloride and levofloxacin against *Staphylococcus aureus* strain ATCC 29213

讨论

口腔感染在临床较为多见,其不仅造成口腔部位的感染性表现,而且可以波及临近组织等,有时造成菌血症,尤其对心脏瓣膜置换术、心脏起搏器植入术、人工关节置换术后的患者造成植入物相关

感染,临床危害更为严重^[8-9]。临床中对于感染的治疗常以全身用抗菌药物为主,我国近年来关于病原菌耐药监测的相关研究显示,粪肠球菌对利奈唑胺不敏感率上升明显,MRSA检出率近年达30%以上^[10-11],因此在使用药的选择方面更应引起重视,减少全身用抗菌药物,降低抗菌药物的暴露和选择压力。

如今,地喹氯铵仍被广泛使用,用于治疗皮肤、口腔和咽部的局部感染,特别是以压缩含片、液体溶液(口腔涂料)和颗粒的形式用于治疗口腔感染和炎症,如喉咙痛(扁桃体炎和咽炎)、牙龈炎和口腔溃疡,它还被用于预防拔牙后的感染^[2]。地喹氯铵的作用机制主要是基于其对细菌细胞通透性和细菌蛋白质的影响。地喹氯铵吸附到细菌细胞表面,并通过细胞壁扩散,进入细菌细胞后,导致参与呼吸链和糖酵解的蛋白质变性,并导致蛋白质合成中断。由于渗透不平衡,依靠浓度的不同,地喹氯铵可能会裂解细菌细胞^[12]。

本次研究中 MIC 结果显示,地喹氯铵对革兰氏阳性菌(MIC 范围为 $0.25 \sim 32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 抗菌作用优于革兰氏阴性菌(MIC 范围为 $32 \sim >512 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),与国外文献报道一致^[12-13]。这可能是由于革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌细胞壁结构和疏水性的差异造成的,后者的细胞壁可能降低了药剂的表面活性^[12]。革兰氏阴性菌中,对铜绿假单胞菌,地喹氯铵无明显抗菌作用,这与文献报道一致^[13]。目前未见地喹氯铵对肺炎克雷伯菌抗菌活性相关报道,但本研究结果(MIC_{90} 和 MIC 范围分别为 $64 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $32 \sim 128 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)与文献报道中大肠埃希菌的结果(MIC_{90} 和 MIC 范围分别为 $128 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $32 \sim 256 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)基本一致^[12]。革兰氏阳性菌中,地喹氯铵的抗菌作用由强到弱分别为金黄色葡萄球菌、化脓链球菌、肺炎链球菌、粪肠球菌及草绿色链球菌群,这也与国内外文献基本一致^[12-13]。厌氧菌中,地喹氯铵对 32 株厌氧菌的 MIC_{50} 、 MIC_{90} 和 MIC 范围与国外文献报道的基本一致^[12]。其中,地喹氯铵对消化链球菌属和卟啉单胞菌属的抗菌活性略优于普雷沃菌属,推测可能与菌种的结构有关,此外,地喹氯铵对卟啉单胞菌属和普雷沃菌属 MIC 范围均较宽,提示包含耐药菌株,如能扩大测试菌株数量,可更好了解目前临床分离菌的耐药状况。

MBC 与杀菌曲线试验表明,地喹氯铵对金黄色葡萄球菌、化脓链球菌及口腔链球菌具有很好杀菌作用,对粪肠球菌具有较好杀菌作用。与此同时,该药物的杀菌速率会随着自身浓度的提升而加快,呈现出浓度依赖性的杀菌特征。不过在判定一种抗菌药物是否属于浓度依赖性类别时,往往还需开展更高浓度条件下的验证试验。研究表明,当药物浓度进一步增加时,其杀菌的速度与强度均会随之提升,且药物的抗生素后效应也呈现出延长趋势,而这一延长效应同样与药物浓度存在关联^[14]。

因此还需进一步验证。杀菌曲线测定采用菌落计数法,当菌液浓度低于 $300 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,由于涂布体积为 $100 \mu\text{L}$,生长菌落数低于 30 个,易受偶然因素影响,误差增大,所以低于此浓度时测定值仅供参考。

地喹氯铵对金黄色葡萄球菌、化脓链球菌、口腔链球菌及粪肠球菌的 PAE 在 $0.5 \sim 1 \text{ h}$ 之间。杀菌曲线显示该药倾向于浓度依赖性药物特征,但 PAE 时间不长,因此适宜的给药方案应兼顾二者,保证较高药物浓度的同时,给药间隔不宜过长。本研究结果也在体外研究这一方面证实地喹氯铵含片说明书中描述为“口含,一次 1~2 片,每 2~3 h 1 次,必要时可重复用药”的合理性。鉴于上述研究结果只是少数菌种的体外数据,更倾向于哪一个参数,还需要结合体内药代动力学模型数据的分析,综合考虑给药间隔和药物剂量,优化临床给药方案,从而减少药物不良反应,避免治疗失败或诱导耐药产生^[15-16]。

总之,地喹氯铵对革兰氏阳性菌具有很好抗菌活性,尤其是金黄色葡萄球菌及化脓链球菌等口腔感染常见致病菌,口腔感染时地喹氯铵的局部应用可有效杀灭敏感致病菌,特别是在其他治疗药物耐药的情况下,此外,减少口腔感染时全身用抗菌药物的使用,减少抗菌药物的选择压力,有利于延缓抗菌药物耐药性的增加。

参考文献:

- [1] BABBS M, COLLIER H O, AUSTIN W C, *et al.* Salts of decamethylene - bis - 4 - aminoquinaldinium "dequadin", a new antimicrobial agent [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1956, 8 (2): 110-119.
- [2] CHRISTIAN B. Medicinal applications and molecular targets of dequalinium chloride [J/OL]. *Biochem Pharmacol*. 2021, 186: 114467. 2021 - 02 - 10 [2025 - 06 - 16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33577890/>.
- [3] CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed. CLSI supplement M100 [EB/OL]. 2025 - 01 - 27 [2025 - 06 - 16]. <https://clsi.org/shop/standards/m100/>.
- [4] CLSI. Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 11th ed. CLSI standard M07. [EB/OL]. 2018 - 01 - 01 [2025 - 06 - 16]. <https://clsi.org/shop/standards/m07/>.
- [5] CLSI. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; approved guideline. CLSI document M26 - A. [EB/OL]. 1999 - 09 - 01 [2025 - 06 - 16]. <https://clsi.org/shop/standards/m26/>.
- [6] EMILIE R, PATRICE N, LUCILE P, *et al.* *In vitro* and *in vivo* characterization of NOSO - 502, a novel inhibitor of bacterial

- translation [J/OL]. *Antimicrob Agent Chemother.* 2018, 62(9): e01016—01018. 2018 - 08 - 27 [2025 - 06 - 16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29987155/>.
- [7] MACKENZIE F M, GOULD I M. The post - antibiotic effect [J]. *J Antimicrob Chemother.* 1993, 32(4): 519—537.
- [8] PAOLO C, ALMUDENA C S, FERNANDO M I, *et al.* Meningitis and subdural empyema as complication of pterygomandibular space abscess upon tooth extraction [J/OL]. *J Clin Exp Dent*, 2016, 8(4): e469—e472. 2016 - 10 - 01 [2025 - 06 - 16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27703619/>.
- [9] VITKOV L, SINGH J, SCHAUER C, *et al.* Breaking the gingival barrier in periodontitis [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5): 4544.
- [10] 李耘, 吕媛, 郑波, 等. 中国细菌耐药监测研究 (CARST) 2021 - 2022 年革兰氏阳性菌监测报告 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(23): 3509—3524.
- [11] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2021 年 CHINET 三级医院细菌耐药监测 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2022; 22(5): 521—530.
- [12] VERA D C, HARALD N, SUSANNE G, *et al.* Antimicrobial activity of dequalinium chloride against leading germs of vaginal infections [J]. *Arzneimittelforschung*, 2002, 52(9): 699—705.
- [13] SIMONA D B, MARIA C, CHARLOTTE K H, *et al.* Bolaamphiphile analogues of 12 - bis - THA Cl₂ are potent antimicrobial therapeutics with distinct mechanisms of action against bacterial, mycobacterial, and fungal pathogens [J/OL]. *mSphere*. 2023, 8(1): e0050822. 2022 - 12 - 13 [2025 - 06 - 16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36511707/>.
- [14] PECHÈRE J C, CRAIG W A, MEUNIER F. Once daily dosing of aminoglycoside: One step forward [J]. *J Antimicrob Chemother*, 1991, 27(Suppl C): 149—152.
- [15] CRAIG W A. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: Rationale for antibacterial dosing of mice and men [J]. *Clin Infect Dis*, 1998, 26(1): 1—10.
- [16] LONGFEI Z, HONGBING X, YONGQIANG W, *et al.* Pharmacodynamic parameters of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) integration models [J]. *Front Vet Sci*, 2022, 24(9): 860472. (收稿日期 2025 - 10 - 09)

· 科学文摘 ·

Benmelstobart 联合安罗替尼辅助治疗肝细胞癌 切除术后高危复发患者的 II 期研究

引自: DUAN X, WU D, ZHOU C, *et al.* Adjuvant benmelstobart plus anlotinib in patients with high - risk recurrence after resection of hepatocellular carcinoma: A phase II study (ALTER - H006). *Nat Commun*, 2025, 16(1): 11464.

这项 II 期研究 (ALTER - H006; NCT05111366) 评估了 benmelstobart 联合安罗替尼辅助治疗肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 切除术后高危复发 (包括 ≥ 4 个肿瘤、门静脉癌栓 [Vp1/2] 或肝静脉癌栓 [Vv1/2]) 患者的疗效。主要终点为 1 年无复发生存 (recurrence - free survival, RFS) 率。次要终点包括总生存期 (overall survival, OS)、1 年 OS 率、RFS 及安全性。中位随访时间为 12.6 个月。在入组的 37 例患者中, 1 年 RFS 率为 59.7%, 中位 RFS 为 15.6 个月。其中门静脉癌栓和肝静脉癌栓亚组的中位 RFS 分别为 18.2 个月和未达到 (not reached, NR)。最长无复发时长为 25.9 个月。中位 OS 为 NR (1 年 OS 率 91.7%)。45.9% 的患者发生 ≥ 3 级治疗相关不良事件, 最常见为高血压。未发生治疗相关死亡。本研究表明, benmelstobart 联合安罗替尼辅助治疗是 HCC 切除术后高危复发患者可行的治疗选择, 值得通过大规模随机临床试验进一步验证。