

# 抗菌药物的药敏试验方法

陈玉萍

(抚顺市动物疫病预防控制中心, 抚顺 113006)

抗菌药物种类繁多,在兽医防治实践中被广泛的使用,但经常存在用药不当、剂量不准确等滥用问题。怎样合理使用抗菌药物,是兽医工作者不断探索的一个重要问题。防治工作中,兽医工作者往往根据理论知识和实践经验使用药物,多数都会取得较好效果,但有时也出乎意料,诸如微生物对抗菌药物产生耐药、产品实际含量不足等因素,特别是新的一种抗菌药物上市时,往往短期内并不能真正掌握抗菌药物的药理作用。合理准确掌握抗菌药物的作用,通常离不开药敏试验。常见的药敏试验有以下三种方法。

## 1 药敏纸片法

药敏纸片法是最常用的一种试验方法,能直接体现出抗菌药物的抗菌效用,其优点是:直观明显、对比鲜明,有一定的实验依据。缺点是:仅表现体外抗菌效果,由于抗菌药物在体内受体液环境、代谢分布、组织扩散浓度、半衰期等因素的影响,个别药物并不能真实反应出实际的抗菌疗效。以下是抗菌药物的药敏纸片法介绍:

### 1.1 药敏纸片的制作方法

将要试验的抗菌药物按其有效浓度稀释成 1mL 备用,脂溶性的抗菌药物使用乙醇或丙酮溶解。用打孔器将滤纸打成 6mm 直径的圆片 100 张高压灭菌,加入到抗菌药物有效浓度 1mL 稀释液中充分混合,阴凉处干燥备用。多种联合的抗菌药物制剂以其成分中某种含量最高的抗菌药物为标准稀释成有效浓度。抗菌中草药药敏纸片的制作:取中草药粉剂 1g 加适量的水充分浸泡煮沸,滤液浓缩成 1mL,也加入 100 张纸片干燥备用。

### 1.2 抑菌培养

(1)取自然发病动物的病料心血、脾、肝脏、淋巴结或病变明显的组织无菌操作接种鉴别培养基 37℃ 分离培养 24h,选典型菌落备用。

(2)将病料中分离出的病原菌密集划线法或涂布法接种至专用琼脂平板培养基上,均匀的粘贴各药敏纸片,并记录每种抗菌药物药敏纸片的位置。

(3)37℃ 培养 12~18h,取出观察结果。

### 1.3 判定结果及分析

(1)量取各药敏纸片抑菌直径大小,并仔细观察抑菌圈的清晰度,通常直径小于 10mm 的判为细菌该抗菌药物为低度敏感,10~15mm 之间为中度敏感,15~25mm 为高度敏感,25mm 以上为极度敏感。

(2)抑菌圈边缘分界清晰、内部洁净透明,说明该抗菌药物作用迅速,多半为杀菌剂,边缘不十分清晰、内部朦胧说明该抗菌药物可能是慢效抑菌剂或有耐药的产生、或分解较快维持抗菌时间短。

(3)抑菌圈中分层次形成同心年轮样,说明可能是联合使用抗菌药物或该抗菌药物失效过快或细菌产生了耐药性。

(4)相邻的药敏纸片之间也存在着叠加、协同的拮抗作用:相临纸片之间抑菌圈不存在相互干扰,圆心不变、重叠处圆的轨迹也不改变,说明两种搞菌药之间没有关系,只存在叠加的作用。如果相纸片之间交接或相邻处圆的轨迹向外扩展则说明这两种药物之间有协同作用。如果纸片之间交接或相邻处圆的轨迹向内回缩、圆心靠近则说明这两种药物之间有拮抗作用。

(5)抗菌中草药的判定不同于抗菌西药,通常纸片抑菌直径达 10mm 以上即为高度敏感。

## 2 试管培养法

这种方法常用于测定某些抗菌药物对某种细菌的最低抑菌浓度,同时也间接的比较出该抗菌药物的抗菌效果,以及微生物对抗菌药物耐药性产生快慢和恢复情况。该试验操作方法如下:

### 2.1 试验用品准备

配制各有效浓度的抗菌药物溶液作为试验用的原液。

灭菌试管及童氏小管若干只、指示剂、刻度吸管、微量移液器、恒温培养箱、肉汤培养基、接种环等。

毒病原菌种

### 2.2 试验步骤

分别取试管若干只各加入肉汤培养基 5mL,用微量移液器加入抗菌药物原液,使各管中抗菌药物浓度依次为有效浓度的 1/10、1/100、1/1000、1/10000、……,滴加溴甲酚紫或麝香草酚兰指示剂,倒置放入童氏小管并使管内充入液体培养基,贴上标签。

无菌操作将病原菌种移接入各试管中,37℃ 培养 24h 后观察结果。

继代培养:将细菌生长不良的试管培养物在移接至同梯度继代培养,直到生长良好

再移接至下一个 10 倍梯度继代培养……,直至在某浓度无法适应不再生长为止,详细记录继代数 and 梯度浓度。

敏感性恢复试验:将末代继代培养物移接无抗菌药物的肉汤中继代培养,每代都作纸片法的药敏试验,直到恢复或接近原来的抑菌直径为止,记录恢复敏感的代数。

### 2.3 试验结果与分析

(1)病原细菌在试管中生长繁殖时会产酸产气使指示剂色泽改变和在童氏小管中存有气泡,生长良好时产生大量的

# 浅谈兽药残留与公共卫生

王春华, 李冬梅

(辽宁医学院 动物医学学院, 锦州 121001)

**摘要:** 兽药残留已逐渐成为人们普通关注的一个社会热点问题。近年来兽药残留引起食物中毒和影响畜禽产品出口的报道越来越多。药物残留不仅可以直接对人体产生急、慢性毒性作用,引起细菌耐药性的增加,还可以通过环境和食物链的作用间接的对人体健康造成危害。而且兽药残留还影响我国养殖业的发展和肉蛋产品等走向国际市场。因此必须采取有效措施,减少和控制兽药残留的发生。

**关键词:** 兽药; 残留; 卫生

现代养殖业日渐趋向规模化、集约化,导致人们使用抗生素、维生素、激素、微量元素等成为保障畜牧业发展必不可少的一环。然而不幸的是,由于科学知识的缺乏和经济利益的驱使,在养殖业中滥用药物的现象普遍存在。而滥用兽药的直接后果是导致兽药在动物性食品中的残留,摄入人体后,影响人类的健康。动物性食品中的兽药残留对人的潜在危害愈来愈引起人们的重视。具体体现在以下几方面:

**1 急性中毒** 若一次摄入的残留量过大,会出现急性中毒反应。如广东省高明市人民医院在一周内接诊了7例因喝猪肺汤而中毒的患者。2006年1月8日和10日,浙江省、江西省两地分别发生大量市民食物中毒事件,中毒原因是市民所吃猪肉中含有盐酸克伦特罗。虽然急性中毒的事件发生相对来说是很少的,但也应引起高度重视。药物残留的危害绝大多数还是通过长期接触或逐渐蓄积而造成的。

**2 过敏反应和变态反应** 一些抗菌药物如青霉素、磺胺类药物及某些氨基糖甙类抗生素等能使部分人群发生过敏反应。产生原因是当这些抗菌药物残留于肉食品中进入人体后,就使部分敏感人群致敏,产生抗体。当这些被致敏的个体再接触这些抗生素或用这些抗生素治疗时,这些抗生素就会与体内抗体结合生成抗原抗体复合物,发生过敏反应。过敏反应症状多种多样,轻者表现为荨麻疹、流汗、发热、关节肿

作者简介:王春华,(1975~),女,预防兽医学硕士,从事动物药理学工作。

痛、呼吸困难、颜面部肿胀及蜂窝织炎等。严重时可出现过敏性休克,甚至危及生命。英国曾有一位对青霉素高度敏感的病人,食用含10U/mL青霉素的牛奶后,发生了变态反应。

**3 三致作用** 即致癌、致畸、致突变作用。药物及环境中的化学药品可引起基因突变或染色体畸变而造成对人类的潜在危害。如抗蠕虫药是通过抑制细胞活性,杀灭蠕虫及虫卵,然而其抑制细胞活性的作用又可使它具有潜在的致突变性和致畸性。当人们长期食用含有此类药物的动物性食品时,这些残留就会对人体产生有害作用,或在人体中蓄积,最终产生致癌、致畸、致突变作用。

**4 细菌耐药性增加** 近年来,由于抗菌药物的广泛使用,导致细菌产生的耐药性不断增强,而且多数细菌已由单向耐药转变成多重耐药。如现在有很多的厂家在饲料中添加抗菌药物,实际上等于持续低剂量用药。如动物机体长期与药物接触,可造成耐药菌不断增多,耐药性也不断增强。另外一点是抗菌药物残留于动物性食品中,那么就会间接的使人长期与药物接触,导致人体内耐药菌的增加。以致在临床发病时患者康复时间延长甚至是不愈。

总之,随着人们对动物性食品需求量的不断增加,动物性食品中的兽药残留也越来越成为全社会共同关注的公共卫生问题。它不但影响着人们的身体健康,而且也不利于养殖业的发展。所以目前急需建立一套关于药物残留的监控体系,才能真正有效地避免药物残留的发生。

气泡和深红色泽,生长不良时产生极少气体和培养基色泽微红。

(2)根据试验结果可知某一抗菌药物的最低抑菌浓度,折合机体内最小浓度,给临床用药剂量提供参考依据。

(3)由于某一抗菌药物对某种病原菌最低抑菌浓度不同,因此同等剂量抗菌药物的抗菌效果自然不同,抑菌浓度越低其临床治疗效果往往越好。

(4)根据试验结果,推断出某种病原菌对某一抗菌药物是否容易产生耐药性,产生的快慢,恢复敏感时间的长短等情况,为临床治疗连续重复使用药物提供参考依据。

## 3 动物试验法

这种方法是将兔、豚鼠、鸡等动物随机分组,分别接种病原菌使其发病,然后用1/8倍治疗剂量、1/4倍治疗剂量、1/2倍治疗剂量、1倍治疗剂量、2倍治疗剂量、4倍治疗剂量、8倍治疗剂量,分别对各组进行治疗,每组内动物均采用同一倍数剂量,给药2次/d,观察治疗效果并记录。

结果分析:运用统计学原理分析有关数据,推断出抗菌药物临床治疗的最小剂量、极限量、疗效是否显著、临床治愈率等有关数据,从而掌握第一手临床资料。