

抗致病性大肠杆菌敏感药物的试验筛选

黄林凤

福建省龙岩市农业学校,福建龙岩 364000

摘要 随着养殖集约化程度越来越高,大肠杆菌病的发生越来越严重,临床上发病率呈现上升趋势。为了提高大肠杆菌病临床治愈率,本文介绍了大肠杆菌病的流行症状和通过实验室药敏试验、选择高敏感药物进行投喂治疗的效果;又从培养基的选择、药敏片的准备、细菌的培养、结果观察、结果判定等方面简述了大肠杆菌药敏试验的操作方法,并对药敏试验筛选出的高敏感药物的治疗效果进行了讨论。

关键词 大肠杆菌病;药敏试验;高敏感药物;治疗效果;培养基;药敏片

大肠杆菌病是兽医临床上常见的传染病,该病的发生没有明显的季节性和地域性,不同种类的养殖场一年四季均有发病。随着养殖集约化程度越来越高,该病的发生越来越严重,加之蛋鸡产蛋期抗生素的禁用和饲料无抗政策的出台,临床上大肠杆菌的发病率呈现上升趋势。临床上盲目使用抗生素和盲目加大使用剂量,导致大肠杆菌耐药性越来越强,临床治疗难度越来越大。临床依托药敏试验可以准确选择高敏感的药物对大肠杆菌病进行有效治疗,大大提高了临床治愈率。

1 流行症状

2020年10月至2020年12月,笔者在临床诊疗中共计剖检大肠杆菌病例12例,共同的典型症状均为零星死亡,病死鸡爪干瘪,脱水明显,肛门处羽毛脏乱。剖检症状包心包肝,腹膜炎,气囊炎。均为典型的败血型大肠杆菌。

2 治疗效果

对上述病例笔者均进行无菌采集病死鸡肝脏、心脏等病料。通过实验室药敏试验,选择敏感药物进行投喂治疗。通过3~5 d的药物治理,均已经全

部治愈。

3 大肠杆菌药敏试验的操作方法

3.1 培养基的选择

临床上大肠杆菌的药敏试验一般选择普通琼脂培养基和麦康凯培养基,大多数化学试剂商店均可以买到。买到成品培养基原料,首先要对培养皿进行清洗、消毒、干燥。然后按照说明书进行操作,称取适量的原料,按要求加热,融化后倒入培养皿中,冷却后备用。麦康凯培养基是大肠杆菌的鉴别培养基,大肠杆菌在该培养基上生长为红色菌落,其他菌在此培养基上无此现象。

3.2 药敏片的准备

准备或购买实验室专用的定性滤纸,滤纸的量不能太少,尽量准备一次够用半年,将准备好的定性滤纸用专用的打孔工具,打成圆形小纸片,直径为6 mm。打完孔后仔细挑选,筛选出形状不规则的纸片丢弃,保留形状规则的圆形纸片。将挑选好的圆形滤纸片装入事先准备好的清洁干燥的小玻璃空瓶中,瓶口用牛皮纸包扎封好。将装有纸片的玻璃瓶放入高压锅中,121.3 kPa 高压20 min 消毒,高压消毒后取出放入37℃温箱或烘箱中烘干,使其完

全干燥,备用。

选取需要试验筛选的商品药,品种越多越好,品种越多临床可选性越大。选好需要使用的药品后,按照说明书的治疗量配置药液,也可略高于说明使用量进行配置。药液中的药物要充分混匀,不能有沉淀。此稀释液即为用于做药敏试验的药液。

用无菌镊子将之前消毒烘干后的小圆纸片分别放入每个无菌的小玻璃瓶中,每个小玻璃瓶中加入一种药液,药液要将小圆纸片全部浸入其中。将小玻璃瓶用橡胶塞封好,转动玻璃瓶,使小纸片在瓶内充分翻转,完全浸透药液。翻动时注意动作幅度,使纸片不能被捣烂。在每个小玻璃瓶上用防水粘贴标明药物成分、商品名称及配置时间。取出浸透药液的小圆纸片,然后放入 37℃ 恒温箱内烘干 24 h,干燥后装瓶密封备用,如条件允许可以真空干燥,效果更佳。保存时防止受潮,应置干燥阴凉处存放,有效期最长 6 个月。

3.3 细菌的培养

无菌采集病死鸡肝脏,将组织剪放在酒精灯火焰上消毒后,剪取小部分病料,将切面轻轻涂于培养基上,均匀涂满后置于培养箱,37℃ 培养 24 h。

培养 24 h 后,培养基上长满不规则小菌落,在无菌操作台中,将接种环放在酒精灯火焰上进行消毒,挑取培养基上的菌落,挑取量不能太多也不能太少,手持接种环以划线的方式涂在普通琼脂培养基上。

在无菌操作台中,将镊子放在酒精灯火焰上进行消毒片刻,镊子冷却后夹取药敏片,轻轻贴在培养基上,放上后用镊子轻轻压实,使药敏片与培养基贴合紧密。药敏片的位置要适中,每个培养基中放 7 个左右,摆放呈梅花形。在培养皿背面标号,每个药敏片都要相应编号,对应标号记录药品名称。

将放完药敏片的培养基置于 37℃ 恒温培养箱中培养 24 h 后,取出观察,记录相应数据。

3.4 结果观察

24 h 后,取出培养基,将培养皿倒置后,观察药敏片周围的抑菌环大小,抑菌圈越大,说明药物对该大肠杆菌的抑菌效果越好,抑菌圈越小,说明药物抑菌效果越差。如果药敏片周围没有抑菌圈,则说明该菌对此药具有耐药性。

3.5 结果判定

药敏试验的结果判定,一般应按抑菌圈的大小来作为判定药物抑菌效果高低的标准。抑菌圈直径 20 mm 以上为极敏,15~20 mm 为高敏,10~14 mm 为中敏,10 mm 以下为低敏,没有抑菌环为耐药。

4 讨 论

近年来,药敏试验在临床上被广泛应用,很好地指导了临床用药,减少了细菌的耐药情况,为养殖业减少不必要的经济损失,为食品安全保驾护航。药敏试验给临床带来便利的同时,也存在一些问题:一是药敏试验需要一定的条件,如恒温培养箱、无菌操作台等,所以一些小型诊疗机构和小型养殖场无法开展。二是药敏试验属于体外抑菌试验,所以试验结果受药物的吸收率、给药途径等因素影响,临床治疗效果不能达到 100%。三是试验中药液的配制浓度不同,所以和临床实际效果存在误差。临床中还有可能出现药敏结果无高敏的情况,一般可以选择 2 种中敏或低敏感药物联合配伍使用,也会达到理想的治疗效果,联合用药一般应充分考虑是否有配伍禁忌。

【责任编辑:刘少雷】