

冷冻干燥法制备药物敏感性试验试纸

黄元桐 崔 杰 赵韶星

姚克恭 刘小玉

(山西省中医药研究院 太原 030012)

(山西省临床检验中心 太原 030012)

药物敏感性试验是临床细菌学上经常使用的一个检测项目。药敏试纸市场上已有商品供应,但在某些特殊需要的情况下,细菌室必须自己制备一些药敏试纸。普通干燥法制出的药敏试纸常常因片间差距太大而不能使用。最近我们应用冷冻干燥技术^[1]制备药敏纸片,发现可以明显减小片间差距,达到了卫生部《全国临床检验操作规程》的要求^[2],方法简便,具有良好的实用性。

1 材料和方法

1.1 冷冻干燥药敏试纸的制备

取 16 开白纸一张,在微机上打上各种抗菌药物的简称或符号,如青(青霉素)、链(链霉素)、庆(庆大霉素)、卡(卡那霉素)等字样,也可以打上 A、B、C、D 等作代号,每一种字符连打 10 ~ 15 行,字与字之间紧密相连,行与行之间紧密靠近,每一张 16 开白纸上可以打上三种不同药物的字符。以此为样板用电泳滤纸复印 10 张。将 10 张印有同样字符的滤纸夹住,用口径 6mm 圆形钢冲打出圆形小纸片。这样打出的圆形纸片上必可带上一个或半个字符,可供识别。将纸片放入一个布包中轻轻摔打将纸片打散。将纸片装入试管中灭菌后备用。

参照《规程》要求^[2]配制出各种抗菌素所需浓度的药液,将无菌滤纸片放入玻璃皿中,按每个纸片加入药液 0.01ml 计算加入药液,搅匀后浸泡 0.5h,用毛吸管吸去剩余药液。用无菌小镊子将吸收有药液的小纸片移放于垫有 2 层尼龙窗纱的玻璃皿中,做两份。随即将一份放有药敏纸片的平皿,敞开放入冷冻干燥机的冷冻槽中(已预冷至 -25°C)冷冻 3h。开动真空泵在 -25°C 情况下抽气冻干 4h。将温度指针上调至 -4°C 继续抽气冻干 4h。关掉冷冻机继续抽气冻干 4 ~ 8h。这时间槽内温度徐徐上升至室温以利除去剩余水分。冻干过程完毕。随即取出冻干纸片放入无菌小瓶中,加皮塞存放 4°C 或室温暗处待用。另一份吸收有药液的纸片放入 37°C 温箱中 48h 干燥,作为对照。

1.2 对比试验

对比试验使用牛肉膏营养琼脂培养基,每个直径 75mm 的平皿定量放入培养基 10ml,试验菌大肠埃希氏菌(ATCC 25922)和金色葡萄球菌(ATCC 25923)。做抑菌圈对比试验时,先将 18 ~ 24h 肉汤培养的试验菌用无菌生理盐水稀释一倍,取一接种环菌液接种于一个琼脂平板上,涂布均匀,按每一平皿上等距离放 4 个药敏纸片的方法放上药敏纸片,每一种药敏试纸用两个平板培养基,即试 8 个纸片。放入 37°C 培养箱中培养 16 ~ 18h 后,测量纸片的抑菌圈,比较实验结果。

2 结果和讨论

经验证明, 37°C 普通干燥可以制出药敏纸片,但片间抑菌圈的差距比较大,很难达到部定《规程》的要求^[2]。我们设想,这种较大的差别可能是由于药敏纸片在自然干燥过程中毛细管作用所引起的。因此,我们试图使用冷冻干燥技术制备药敏纸片来解决这个问题,并与普通干燥做了对比试验。

试验结果表明, 用冷冻干燥法制出的青霉素、链霉素等 12 批不同抗生素的药敏纸片, 药物含量均匀, 片际抑菌圈的差距全部 $< 2\text{mm}$, 达到了部定《规程》的标准^[1]。而使用 37°C 普通干燥法制出的相应的 12 批不同抗生素的药敏纸片, 有 11 批不合格, 达不到部定《规程》标准, 片际差距在 $4 \sim 14\text{mm}$ 之间, 只有红霉素一种片际差距 $< 2\text{mm}$, 符合部定《规程》要求。

这一结果说明, 使用我们制定的冷冻干燥方法可以制备出药物含量均匀, 达到卫生部《全国临床检验操作规程》要求的药敏试纸, 克服了普通干燥药敏纸片中存在的不均匀现象。究其原因, 可能就是在冷冻干燥过程中可以消除药敏纸片在普通干燥过程中的毛细管渗透作用, 因而可以制备出均匀一致达到部定《规程》要求的合格的药敏试纸片。冷冻干燥法制备药敏试纸片, 方法简单易行, 适用于大、中、小各种批量的制备和生产, 具有良好的实用性。

参 考 文 献

- [1] Harris R J C. Biological Applications of Freezing and Drying. New York: New York Academic Press, 1954. 105 ~ 108.
- [2] Heckley R J. *Adv Appl Microbiol*, 1961, 3: 1.
- [3] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程. 南京: 东南大学出版社, 1991. 460 ~ 465.

USING LYOPHILIZATION TO THE PREPARATION OF DRUG PAPER DISKS FOR ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TEST

Huang Yuantong Cui Jie Zhao Shaoxing

(*Shanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012*)

Yao Kegong Liu Xiaoyu

(*Shanxi Center of Clinical Laboratory, Taiyuan 030012*)

Abstract It was found that the paper disks used in the antimicrobial susceptibility test could be prepared by natural drying at 37°C , but the drug distribution between these disks is not so even as determined by antimicrobial inhibitory test, thus it was difficult to fit the needs of the national standards. Alternatively, we applied the lyophilization technique to the disks preparation and 12 batches, of different antibiotic disks were made out and found that the difference between disks is reduced, and all are meet to the national requirement. It is supposed that the capillary action may play a role in the variation of drug distribution in the natural drying process, and the lyophilization process avoided the capillary action, hence the more even distributed antibiotic disks are produced. The preparation of lyophilized disks is a simple and practical method that could be used in the antimicrobial susceptibility tests in hospital.

Key words Lyophilization, Antibiotic susceptibility test