

文章编号: 1001-8689(2018)06-0729-05

## 96点琼脂稀释法与微量肉汤稀释法药敏试验结果的对比

胡明<sup>1,2</sup> 李璐璐<sup>1,2</sup> 赵敏<sup>1,2</sup> 骆延波<sup>1,2</sup> 张印<sup>1,2</sup> 齐静<sup>1,2</sup> 张庆<sup>1,2</sup> 刘玉庆<sup>1,2,\*</sup>

(1 山东省农业科学院畜牧兽医研究所, 济南 250101; 2 山东省畜禽疫病防治与繁育重点实验室, 济南 250101)

**摘要:** **目的** 为了验证96点琼脂稀释法进行药敏试验的可靠性和有效性, 与国际通用的微量肉汤稀释法进行对比。 **方法** 用微量肉汤稀释法和96点琼脂稀释法分别对质控菌株*E. coli* ATCC25922、临床分离*E. coli*进行4种不同药物(头孢噻吩、庆大霉素、氟苯尼考和多西环素)的药敏试验, 并经过多次重复和对比。 **结果** 这两种检测方法所测定的菌株的最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)完全相同者占30%~50%, 相差1个梯度占80%, 3个梯度以内的吻合率高达96%以上, 96点琼脂稀释法具有很好的重复性和稳定性。 **结论** 96点琼脂稀释法与微量肉汤稀释法两种方法测定的MIC没有显著差异, 可共用一个质控标准。96点琼脂稀释法的标准化和规范化, 有利于高通量药敏检测的进行, 推动建立完善的抗药性监测技术体系。

**关键词:** 药敏试验; 96点琼脂稀释法; 微量肉汤稀释法

中图分类号: Q939.99 文献标志码: A

## Comparison of the results of 96 dot agar dilution method and broth microdilution method

Hu Ming<sup>1,2</sup>, Li Lu-lu<sup>1,2</sup>, Zhao Min<sup>1,2</sup>, Luo Yan-bo<sup>1,2</sup>, Zhang Yin<sup>1,2</sup>, Qi Jing<sup>1,2</sup>, Zhang Qing<sup>1,2</sup> and Liu Yu-qing<sup>1,2</sup>

(1 Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250101;

2 Shandong Provincial Key Laboratory of Animal Disease Control and Breeding, Jinan 250101)

**Abstract Objective** To confirm the reliability and the effectiveness of 96 dot agar dilution method in antimicrobial susceptibility test, the results were contrasted to those of the international standard of broth microdilution method. **Methods** The control strain *E. coli* ATCC25922 and clinical isolates *E. coli* were used to be tested the minimal inhibitory concentration (MIC) by the broth dilution method and 96 agar dilution method respectively for four different antimicrobial drugs (ceftiofur, gentamicin, florfenicol and doxycycline). The result data were repeated and compared. **Results** The MICs determined by two methods were identical accounting for 30%~50%, with a difference of one gradients accounting for 80%, and within three gradients, the coincidence rate was as high as 96%. The 96 dot matrix agar dilution method had good repeatability and stability. **Conclusion** There was no significant difference between the two methods of the broth microdilution method and the 96 broth dilution method on MIC detected, and the same quality control standard could be shared. The standardization and normalization of the 96 dot agar dilution method was conducive to the development of high throughput antimicrobial sensitivity detection, and to promote the establishment of a perfect drug resistance monitoring system.

**Key words** Antimicrobial susceptibility test; 96 dot matrix agar dilution method; Broth microdilution method

收稿日期: 2017-08-29

**基金项目:** 国家自然科学基金(No.81271886和No.31672609)、山东省农业重大应用技术创新项目(No.SDAIT-11-09和No.CXGC2016A10); 山东省自然科学基金(No. ZR2014CP021)

**作者简介:** 胡明, 女, 生于1972年, 副研究员, 从事细菌抗药性机制和监测研究。

\*通讯作者, E-mail: liuyiqing@163.com

随着抗菌药物广泛用于控制细菌感染性疾病,细菌对抗菌药物的抗药性已成为全球公共卫生难题<sup>[1]</sup>。药敏试验是体外了解细菌抗药性水平的重要方法,是抗菌药理学的重要内容,也是临床用药的重要依据。欧盟药敏试验委员会(European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST)和美国临床标准化实验室(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)制定并不断完善和补充药敏感试验方法,形成了规范的国际通用标准<sup>[2-3]</sup>。

根据药敏试验标准,稀释法是定量的药敏试验,分为肉汤稀释法(常量和微量)和琼脂稀释法。微量肉汤稀释能够经济、有效、准确地定量测定出菌株的最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC),操作步骤已经标准化,适合不同数量的样本检测,被称为药敏试验的金标准。但是,对于测定大量菌株的药敏试验,微量肉汤法工作量很大,耗时较长。针对微量肉汤的局限性,本文研制了智能化的96点阵药敏检测仪,包括96孔菌种板、96点阵接种器、药物琼脂检测板、图像采集和统计软件,能够一次接种96株细菌,检测大批量样本MIC值,并自动采集试验结果图像,统计形成MIC频率分布<sup>[3]</sup>。同时,制定并颁布了山东省地方标准DB37/T 2806—2016《兽医病原菌琼脂稀释法药物敏感性试验规范》<sup>[4]</sup>。

96点阵琼脂稀释法的设计原理与微量肉汤稀释法完全相同,关键步骤如药物配制、稀释方案、接种物浓度与接种量、培养时间、判读原则等,都是参考与借鉴微量肉汤稀释法。但二者在细节上又有所区别,其一是介质不同,琼脂稀释法为固体介质,药物的溶解度和扩散等因素,可能对试验结果有一定影响;其二,终点的判读也有所不同,肉汤法是用肉眼或借助仪器判断培养物的浑浊程度,而琼脂法是判断是否形成菌落;第三,二者所用仪器、具体步骤、操作方法各有不同。综上所述,这些差异是否能影响到最终所测定的MIC,本文比较微量肉汤稀释法与96点阵琼脂稀释法的试验结果,验证两种方法的统一性和有效性,为高通量药敏检测方法的研究、使用和推广奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试菌株:药敏试验标准质控菌株*E. coli* ATCC25922,山东省兽医抗药性监测网(veterinary

antibiotic resistance monitoring system, Varms)菌种库的分离临床*E. coli* 46株。

抗菌药物:多西环素、头孢噻唑、庆大霉素、氟苯尼考,购自中国药品生物制品检定所。

培养基:MHB液体培养基、MHA固体培养基,购自北京陆桥技术有限责任公司。

96点阵药敏检测仪:山东省农业科学院畜牧兽医研究所研制。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 微量肉汤稀释法

在96孔板上进行操作,抗菌药物的准备、菌悬液的制备、药物稀释和接种物浓度等试验方法和操作步骤严格按照标准进行<sup>[2-3]</sup>。

#### 1.2.2 96点阵琼脂稀释法

96点阵琼脂稀释法中的质控菌株、药物配制、药物稀释方案、接种量、培养条件与微量肉汤稀释法完全相同。

#### 1.2.3 96点阵琼脂稀释法的步骤<sup>[4]</sup>

(1)96点阵培养板的制备:用50mL具帽玻璃瓶装MHA培养基18mL,灭菌,冷却到45~50℃,加入特定浓度抗生素溶液2mL,混匀后倾倒入检测板,轻轻晃动覆盖底部,水平放置,充分冷却凝固。

每种特定浓度的抗生素溶液在无菌培养皿中用无菌水进行倍比稀释,加入MHA培养基中,配置一系列倍比浓度的不同的药物平板备用。

(2)接种物制备:挑取1个典型单菌落,放进离心管的1mL生理盐水中,用振荡器振荡均匀,将制备好的菌液依次转移至96孔板的小孔里,每个菌株占用一个孔。96孔板的A1\A2依次放入两个重复的质控菌株,作为质量控制和阳性对照,A3孔放入无菌生理盐水作为阴性对照。

(3)96点阵接种:用灭菌的96点阵接种器插入96孔板各孔中,一次性将接种物转种至培养板琼脂表面。首先接种不含药物的琼脂培养板,然后从低浓度开始接种递增药物浓度的培养板。当一种药物的培养板接种完毕后,再接种不含药物的琼脂培养板,以确保接种过程中没有污染或药物残留,之后进行接种另外一种药物的培养板。

(4)培养:将琼脂培养板倒置于培养箱中进行培养,在(35±2)℃的空气环境中培养16~20h,保证未被抑制的菌株充分形成菌落。

#### 1.2.4 质控菌株*E. coli* ATCC25922的微量肉汤稀释

法和96点琼脂稀释法药敏试验的比较

用微量肉汤稀释法和96点琼脂稀释法，做质控菌株*E. coli* ATCC25922的药敏试验，药物包括多西环素、头孢噻呋、庆大霉素、氟苯尼考，每种药物重复8次，对比所测MIC。

1.2.5 46株临床*E. coli*菌株微量肉汤稀释法和96点琼脂稀释法药敏试验的比较

用微量肉汤稀释法和96点琼脂稀释法，做46株临床*E. coli*菌株的药敏试验，对比试验结果。

1.2.6 96点琼脂稀释法检测临床*E. coli*菌株药敏试验的平行对比试验

不同操作人员，用96点琼脂稀释法对临床分离*E. coli*菌株进行8次重复试验，与肉汤稀释法对比试验结果。

2 结果与讨论

2.1 质控菌株*E. coli* ATCC25922的药敏试验结果比较

*E. coli* ATCC25922是EUCAST和CLSI规定的微量肉汤稀释法药敏试验中肠杆菌的质控菌株，其质控范围在3个倍比浓度梯度以内。由于药敏试验影响因素众多，所以误差范围定义为3个倍比梯度，即上下差1个梯度<sup>[6]</sup>。因此，本文中对微量肉汤稀释法与96点琼脂稀释法也遵行此原则。

在32次重复对比试验中，微量肉汤稀释法均在质控范围内，96点琼脂稀释法仅有1次超出微量肉汤稀释法的质控范围，再次进行重复试验，可检测到在质控范围内。说明这两种方法可以共用一个质控标准(表1)。

琼脂法所测数据中与肉汤法完全吻合的占12.5%，高于肉汤法数值的占75%，低于肉汤法数值的占12.5%。头孢噻呋和庆大霉素的测定值较为接近，综合质控菌株的MIC分析，琼脂稀释法测定值均在质控范围，通过菌落判定结果更为灵敏准确。

2.2 46株临床菌株的药敏试验结果比较

两种方法检测的MIC左右3个梯度以内的吻合率几乎100%，仅有1组数据超过3个梯度，如表2。46株菌对各种抗生素的两种药敏试验MIC比值(琼脂法/肉汤法)对称地集中于中心值1，即完全相同的有17~24株，围绕中心值的上下一个梯度吻合率为86%，如图1。

2.3 96点琼脂稀释法药敏试验的平行对比试验

不同实验人员使用96点琼脂稀释法，对12株临床*E. coli*菌株进行6次重复试验，并与微量肉汤法所测MIC比较，结果如表3~6所示。

琼脂法多次重复测得*E. coli*菌株对不同药物的MIC，波动范围基本在左右3个梯度以内，极少数波动至4个梯度(仅4个数据，在表3~6中粗体标注)，说明琼脂稀释法具有很好的稳定性和重复性。96点琼脂稀释法的平行数据与微量肉汤稀释法所测的相应MIC比值，均对称地分布在3个倍比梯度浓度以内，相同数值占37%，相差一个梯度内占80%。

3 讨论

抗生素是治疗人和动物传染性疾病必需的重要产品，但是它的使用，尤其滥用，会导致抗药性病原菌流行，因此建立完善的抗药性监测技术体系势在必行。

山东省农业科学院畜牧兽医研究所公共卫生研究室从2008年开始陆续进行山东省动物源细菌抗药性监测，很快就意识到兽医抗药性水平高，监测量大，需要高效率地检测抗生素对病原菌的MIC，获得MIC频率分布来调控抗生素的使用。但医院的自动化仪器成本高，不适用于养殖场，为此，本研究根据琼脂稀释法原理，研制了新型96点阵药敏检测仪<sup>[5]</sup>，经验证，96点阵琼脂稀释法具有很好的重复性和稳定性，与微量肉汤稀释法吻合率高，可以使用统一的质控标准，进行高通量药敏检测。

山东省农业科学院与山东省畜牧兽医局联合山东省内12家大型养殖加工集团企业，建立山东省兽医抗药性监测网Varms(<http://www.varms.org>)，形成具有兽医特色的药敏试验监测体系。在此项工作的

表1 微量肉汤稀释法和96点琼脂稀释法检测*E. coli* ATCC25922的MIC(μg/mL)

Tab. 1 MICs of *E. coli* ATCC25922 detected by the broth microdilution method and the 96 dot agar dilution method (μg/mL)

| 重复 | 头孢噻呋<br>(0.25~1) <sup>a</sup> |      | 庆大霉素<br>(0.25~1) <sup>a</sup> |     | 氟苯尼考<br>(2~8) <sup>a</sup> |    | 多西环素<br>(0.5~2) <sup>a</sup> |     |
|----|-------------------------------|------|-------------------------------|-----|----------------------------|----|------------------------------|-----|
|    | 琼脂                            | 肉汤   | 琼脂                            | 肉汤  | 琼脂                         | 肉汤 | 琼脂                           | 肉汤  |
| 1  | 0.5                           | 0.5  | 1                             | 0.5 | 8                          | 4  | 2                            | 1   |
| 2  | 0.5                           | 0.5  | 0.5                           | 0.5 | 8                          | 4  | 2                            | 1   |
| 3  | 0.5                           | 0.25 | 0.5                           | 1   | 8                          | 2  | 2                            | 1   |
| 4  | 0.5                           | 0.25 | 0.5                           | 1   | 8                          | 2  | 2                            | 1   |
| 5  | 1                             | 0.5  | 0.5                           | 0.5 | 8                          | 4  | 1                            | 0.5 |
| 6  | 1                             | 0.5  | 0.5                           | 0.5 | 8                          | 4  | 2                            | 0.5 |
| 7  | 0.5                           | 1    | 1                             | 1   | 8                          | 4  | 1                            | 0.5 |
| 8  | 0.5                           | 1    | 2 <sup>b</sup>                | 1   | 8                          | 4  | 1                            | 0.5 |

a: EUCAST和CLSI标准中*E. coli* ATCC25922微量肉汤稀释法的质控范围; b: 96点琼脂稀释法所测MIC超出质控范围的数据

表2 微量肉汤稀释法和96点阵琼脂稀释法检测临床*E. coli*的  
MIC( $\mu\text{g/mL}$ )

Tab. 2 MICs of clinical strains *E. coli* detected by the broth  
microdilution microdilution method and the 96 dot agar dilution  
method( $\mu\text{g/mL}$ )

| 菌株 | 头孢噻呋 |      | 庆大霉素 |      | 氟苯尼考 |      | 多西环素 |      |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|
|    | 琼脂法  | 肉汤法  | 琼脂法  | 肉汤法  | 琼脂法  | 肉汤法  | 琼脂法  | 肉汤法  |
| 质控 | 0.5  | 0.5  | 1    | 0.5  | 8    | 4    | 2    | 1    |
| 1  | 256  | 64   | 16   | 32   | 256  | 512  | 64   | 128  |
| 2  | 256  | 256  | 8    | 8    | 256  | 512  | 16   | 32   |
| 3  | 256  | 256  | 8    | 32   | 256  | 256  | 16   | 64   |
| 4  | 256  | 256  | 16   | 32   | 256  | 512  | 32   | 128  |
| 5  | 256  | 256  | 64   | 32   | 256  | 256  | 16   | 16   |
| 6  | 0.25 | 0.25 | 32   | 32   | 256  | 128  | 256  | 256  |
| 7  | 1    | 0.5  | 1    | 2    | 8    | 8    | 32   | 32   |
| 8  | 1    | 0.25 | 1    | 2    | 16   | 8    | 16   | 8    |
| 9  | 1    | 2    | 64   | 64   | 256  | 512  | 32   | 32   |
| 10 | 1    | 2    | 1    | 1    | 16   | 8    | 32   | 32   |
| 11 | 1    | 2    | 1    | 2    | 16   | 32   | 16   | 16   |
| 12 | 1    | 1    | 1    | 2    | 256  | 256  | 16   | 16   |
| 13 | 128  | 512  | 64   | 64   | 512  | 512  | 32   | 32   |
| 14 | 0.25 | 0.25 | 4    | 4    | 512  | 512  | 64   | 32   |
| 15 | 0.25 | 0.25 | 0.5  | 0.25 | 256  | 512  | 64   | 32   |
| 16 | 0.25 | 0.25 | 8    | 4    | 256  | 1024 | 512  | 1024 |
| 17 | 0.25 | 0.25 | 1    | 1    | 256  | 256  | 8    | 4    |
| 18 | 1    | 0.5  | 2    | 2    | 256  | 512  | 32   | 32   |
| 19 | 1    | 1    | 1    | 4    | 16   | 8    | 16   | 4    |
| 20 | 4    | 0.25 | 1    | 2    | 16   | 16   | 16   | 16   |
| 21 | 2    | 1    | 1    | 4    | 8    | 4    | 4    | 1    |
| 22 | 2    | 1    | 16   | 64   | 256  | 256  | 32   | 8    |
| 23 | 512  | 1024 | 1024 | 1024 | 512  | 256  | 16   | 16   |
| 24 | 1024 | 1024 | 1024 | 1024 | 8    | 4    | 64   | 32   |
| 25 | 16   | 16   | 4    | 8    | 256  | 256  | 64   | 64   |
| 26 | 128  | 512  | 64   | 64   | 512  | 512  | 16   | 16   |
| 27 | 1    | 1    | 64   | 128  | 256  | 512  | 128  | 128  |
| 28 | 1    | 0.5  | 64   | 128  | 128  | 256  | 32   | 32   |
| 29 | 2    | 1    | 0.5  | 1    | 512  | 512  | 64   | 64   |
| 30 | 512  | 1024 | 1024 | 1024 | 512  | 512  | 64   | 64   |
| 31 | 128  | 512  | 32   | 8    | 512  | 512  | 32   | 64   |
| 32 | 128  | 64   | 0.5  | 1    | 8    | 8    | 16   | 8    |
| 33 | 0.5  | 0.5  | 64   | 64   | 256  | 512  | 64   | 16   |
| 34 | 0.5  | 0.25 | 16   | 32   | 256  | 256  | 16   | 8    |
| 35 | 2    | 1    | 16   | 16   | 512  | 512  | 32   | 16   |
| 36 | 0.5  | 0.5  | 32   | 64   | 256  | 512  | 64   | 16   |
| 37 | 0.5  | 1    | 1    | 1    | 512  | 512  | 128  | 32   |
| 38 | 0.5  | 0.5  | 1    | 2    | 512  | 512  | 32   | 8    |
| 39 | 64   | 256  | 1    | 2    | 512  | 512  | 64   | 16   |
| 40 | 0.5  | 0.5  | 32   | 32   | 16   | 8    | 32   | 16   |
| 41 | 0.5  | 0.5  | 2    | 4    | 256  | 512  | 16   | 8    |
| 42 | 0.5  | 0.25 | 32   | 8    | 512  | 1024 | 32   | 16   |
| 43 | 0.5  | 0.5  | 8    | 8    | 512  | 512  | 64   | 32   |
| 44 | 0.5  | 0.5  | 0.5  | 0.5  | 512  | 512  | 128  | 32   |
| 45 | 0.5  | 1    | 8    | 16   | 128  | 512  | 16   | 8    |
| 46 | 2    | 2    | 32   | 16   | 256  | 128  | 32   | 8    |

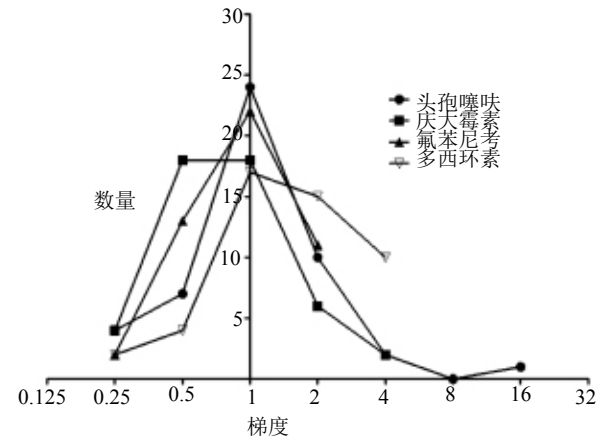


图1 琼脂稀释法与肉汤法比值

Fig. 1 The MIC ratio of broth method and agar method

表3 96点阵琼脂稀释法检测临床*E. coli*对头孢噻呋的MIC( $\mu\text{g/mL}$ )

Tab. 3 MICs of clinical strains *E. coli* for ceftiofur detected by  
the 96 dot agar dilution method ( $\mu\text{g/mL}$ )

| 菌株 | 头孢噻呋琼脂法(6次重复) |     |     |     |     |     | 肉汤法  |
|----|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|
|    | 1             | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |      |
| 1  | 256           | 256 | 512 | 64  | 128 | 128 | 64   |
| 2  | 256           | 256 | 256 | 128 | 256 | 128 | 258  |
| 3  | 256           | 256 | 256 | 256 | 256 | 256 | 256  |
| 4  | 256           | 256 | 256 | 256 | 256 | 256 | 256  |
| 5  | 256           | 128 | 128 | 128 | 128 | 128 | 256  |
| 6  | 0.25          | 2   | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 1   | 0.25 |
| 7  | 1             | 0.5 | 0.5 | 1   | 1   | 0.5 | 0.5  |
| 8  | 1             | 0.5 | 0.5 | 1   | 1   | 16  | 0.25 |
| 9  | 1             | 0.5 | 0.5 | 1   | 1   | 0.5 | 2    |
| 10 | 1             | 0.5 | 0.5 | 2   | 2   | 0.5 | 2    |
| 11 | 1             | 0.5 | 0.5 | 1   | 1   | 0.5 | 2    |
| 12 | 1             | 0.5 | 0.5 | 1   | 1   | 1   | 1    |

表4 96点阵琼脂稀释法检测临床*E. coli*对庆大霉素的  
MIC( $\mu\text{g/mL}$ )

Tab. 4 MICs of clinical strains *E. coli* for gentamicin detected  
by the 96 dot agar dilution method ( $\mu\text{g/mL}$ )

| 菌株 | 庆大霉素琼脂法(6次重复) |     |     |      |     |    | 肉汤法 |
|----|---------------|-----|-----|------|-----|----|-----|
|    | 1             | 2   | 3   | 4    | 5   | 6  |     |
| 1  | 16            | 32  | 64  | 8    | 8   | 32 | 32  |
| 2  | 8             | 8   | 32  | 4    | 4   | 8  | 8   |
| 3  | 8             | 16  | 32  | 4    | 64  | 32 | 32  |
| 4  | 16            | 16  | 16  | 4    | 4   | 8  | 32  |
| 5  | 64            | 32  | 32  | 32   | 16  | 32 | 32  |
| 6  | 32            | 32  | 32  | 16   | 16  | 32 | 32  |
| 7  | 1             | 1   | 0.5 | 0.5  | 0.5 | 2  | 2   |
| 8  | 1             | 1   | 0.5 | 0.5  | 0.5 | 1  | 2   |
| 9  | 64            | 32  | 32  | 16   | 16  | 32 | 64  |
| 10 | 1             | 0.5 | 0.5 | 0.5  | 0.5 | 1  | 1   |
| 11 | 1             | 0.5 | 0.5 | 0.5  | 0.5 | 1  | 2   |
| 12 | 1             | 1   | 0.5 | 0.25 | 0.5 | 1  | 2   |

表5 96点阵琼脂稀释法检测临床*E. coli*对氟苯尼考的MIC(μg/mL)

Tab. 5 MICs of clinical strains *E. coli* for florfenicol detected by the 96 dot agar dilution method (μg/mL)

| 菌株 | 氟苯尼考琼脂法(6次重复) |     |     |     |     |     | 肉汤法 |
|----|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|    | 1             | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |     |
| 1  | 256           | 256 | 256 | 256 | 256 | 256 | 512 |
| 2  | 256           | 512 | 512 | 512 | 256 | 256 | 512 |
| 3  | 256           | 256 | 512 | 512 | 512 | 256 | 256 |
| 4  | 256           | 512 | 512 | 512 | 512 | 512 | 512 |
| 5  | 256           | 512 | 256 | 256 | 256 | 256 | 256 |
| 6  | 256           | 256 | 256 | 256 | 256 | 256 | 128 |
| 7  | 8             | 16  | 8   | 8   | 32  | 16  | 8   |
| 8  | 16            | 16  | 16  | 8   | 16  | 16  | 8   |
| 9  | 256           | 256 | 256 | 256 | 256 | 256 | 512 |
| 10 | 16            | 16  | 16  | 8   | 16  | 16  | 8   |
| 11 | 16            | 16  | 8   | 8   | 8   | 16  | 32  |
| 12 | 256           | 512 | 512 | 256 | 256 | 256 | 256 |

表6 96点阵琼脂稀释法检测临床*E. coli*对多西环素的MIC(μg/mL)

Tab. 6 MICs of clinical strains *E. coli* for doxycycline detected by the 96 dot agar dilution method (μg/mL)

| 菌株 | 多西环素琼脂法(6次重复) |     |     |     |     |     | 肉汤法 |
|----|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|    | 1             | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |     |
| 1  | 64            | 128 | 128 | 64  | 64  | 64  | 128 |
| 2  | 16            | 64  | 64  | 16  | 16  | 16  | 32  |
| 3  | 16            | 64  | 64  | 32  | 16  | 64  | 64  |
| 4  | 32            | 128 | 64  | 64  | 32  | 64  | 128 |
| 5  | 16            | 64  | 64  | 32  | 16  | 16  | 16  |
| 6  | 256           | 256 | 256 | 256 | 256 | 256 | 256 |
| 7  | 32            | 64  | 64  | 32  | 32  | 32  | 32  |
| 8  | 16            | 64  | 32  | 16  | 16  | 16  | 8   |
| 9  | 32            | 64  | 64  | 32  | 32  | 32  | 32  |
| 10 | 32            | 64  | 64  | 32  | 32  | 32  | 32  |
| 11 | 16            | 64  | 32  | 16  | 16  | 16  | 16  |
| 12 | 16            | 64  | 64  | 16  | 16  | 16  | 16  |

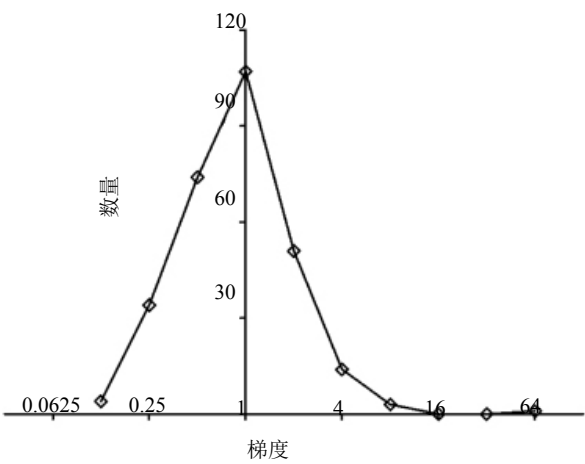


图2 琼脂稀释法与肉汤法比值

Fig. 2 The MIC ratio of broth method and agar method

运行中，新型96点阵药敏检测仪的使用将大大加速药敏试验的效率，并自动统计上传到Varms网站数据库，指导选择相对敏感的抗生素，以与MIC频率分布相匹配的浓度用于兽医临床群体治疗。

参考文献

[1] Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, *et al.* Antibiotic resistance-the need for global solutions[J]. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13(12): 1057-1098.

[2] 刘玉庆, 李璐璐, 骆延波, 等. EUCAST欧盟药敏试验标准[M]. 第一版. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[3] CLSI. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard-eleventh edition. CLSI document M02-A11[S]. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

[4] 山东省地方标准. 兽医病原菌琼脂稀释法药物敏感性试验规范 DB37/T 2806-2016[S]. 济南, 2016.

[5] 王庆艳, 朱小玲, 白华, 等. 大通量的抗生素药敏检测盒的设计及应用[J]. *中国畜牧兽医*, 2009, 36(7): 67-71.

[6] 张笋, 赵俊杰, 李运喜, 等. 微量肉汤稀释法药敏试验的误差分析[J]. *中国抗生素杂志*, 2016, 41(11): 858-864.