

药敏试验

纸片扩散法

实验目的和要求

- ❖ 掌握纸片扩散法的原理、操作方法及结果判读
- ❖ 了解药物敏感试验的方法和实际意义

原理

- ❖ 含有定量抗菌药物的纸片贴在已接种测试菌的琼脂平板上，纸片中所含的药物吸取琼脂中的水分溶解后便不断地向纸片周围区域扩散，形成递减的浓度梯度。在纸片周围抑菌浓度范围内的细菌的生长被抑制，形成透明的抑菌圈。抑菌圈的大小反映测试菌对测定药物的敏感程度，并与该药对测试菌的最低抑菌浓度(MIC)呈负相关，即抑菌圈愈大，MIC愈小。

试验程序

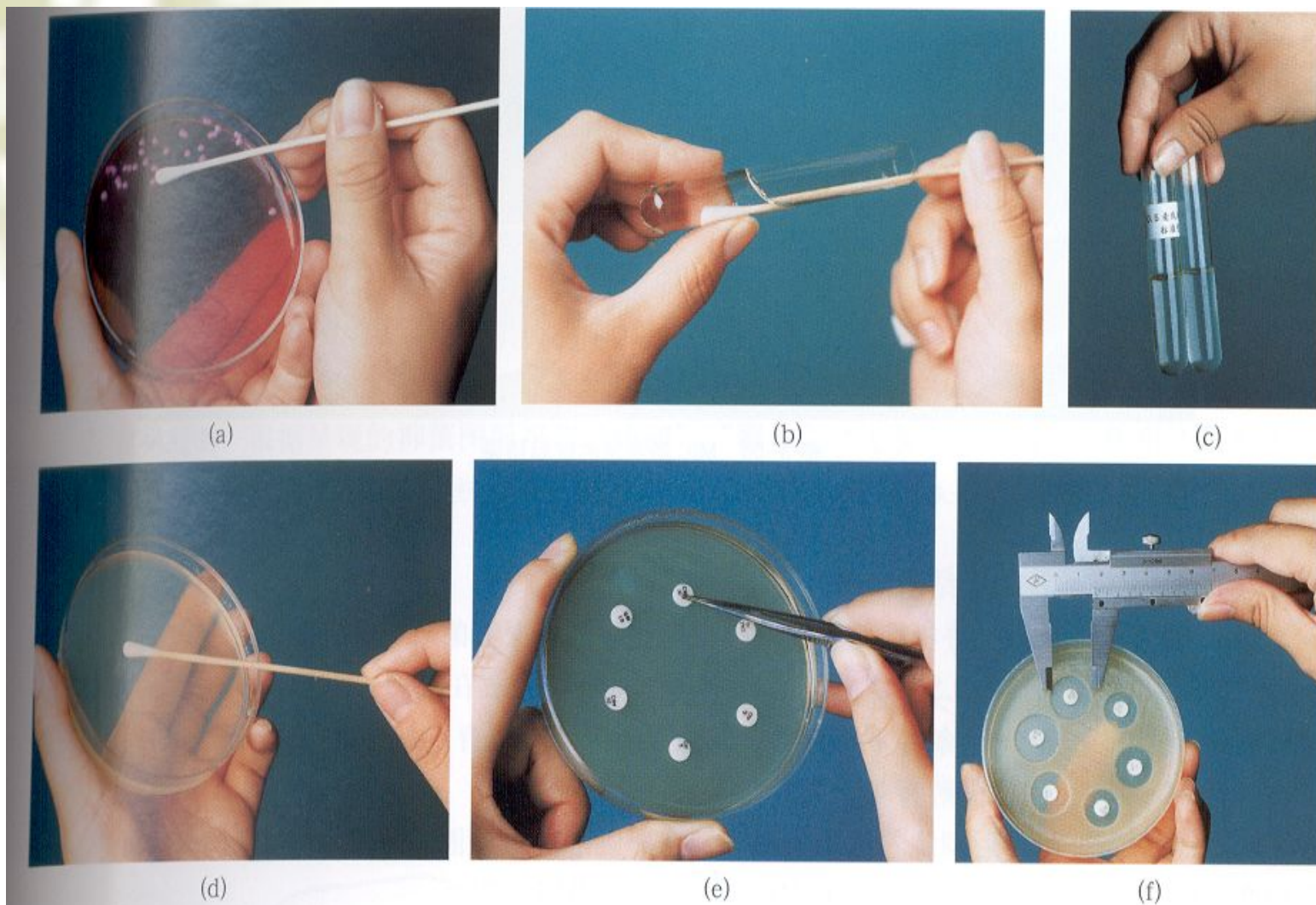


图 3-54 Kirby-Bauer 法试验程序

(a) 挑取菌落 (b) 转种肉汤 (c) 比浊 (d) 涂布平板上 (e) 放置药敏纸片 (f) 量取抑菌圈大小

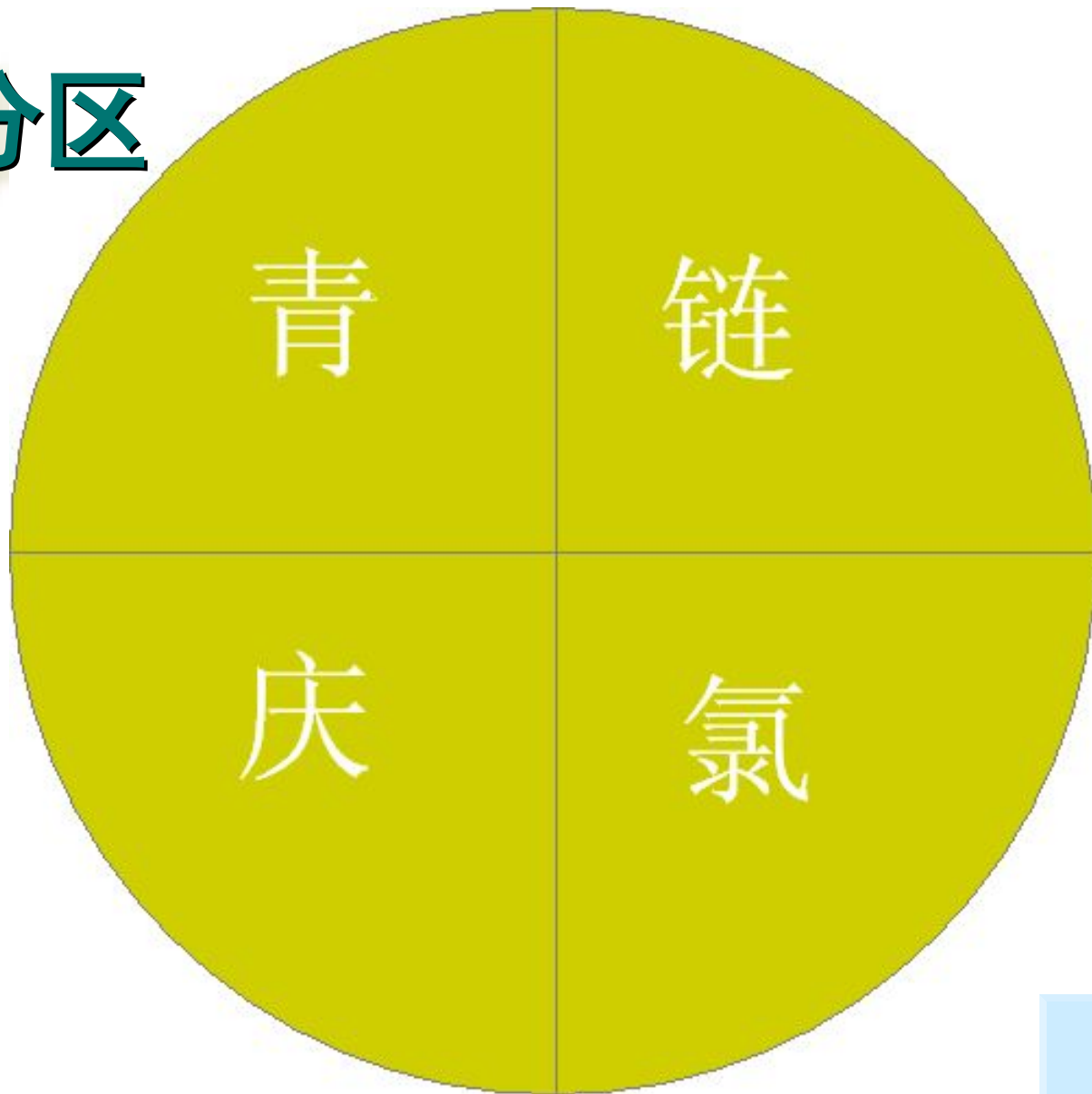
材料

- ❖ 普通平皿培养基,大肠杆菌菌液,葡萄球菌菌液。
- ❖ 抗生素药敏纸片（直径5mm,青霉素,链霉素、氯霉素、庆大霉素、四环素）
- ❖ 无菌镊子、无菌棉签、量尺

方法

- ❖ 取琼脂平皿培养基两个，分别在其底部中央位置标注“大肠杆菌”和“葡萄球菌”字样，同步进行如下操作。

1. 标记分区



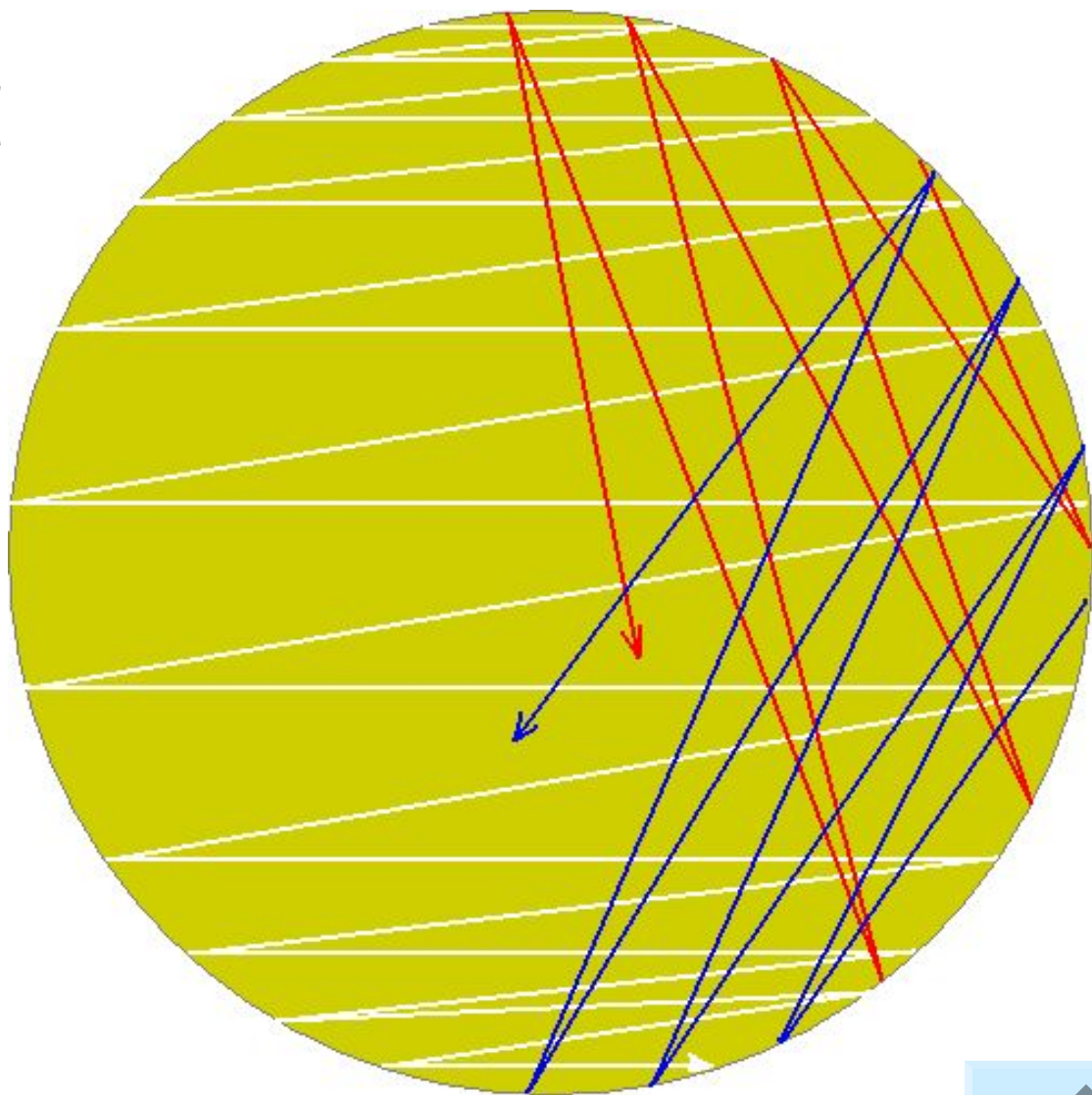
底部观



2.密涂接种

分三次接种，
每次取一环。第
一次密涂接种后
旋转60度二次密
涂接种，然后同
方向旋转60度后
再次密涂接种。

顶部观



3.贴片



顶部观



4.培养

- ❖ 置37℃温箱，
倒置培养18h



5.结果观察

- ❖ 抑菌圈直径 $\geq 15\text{mm}$ 高度敏感
- ❖ 抑菌圈直径 $10-15\text{mm}$ 中度敏感
- ❖ 抑菌圈直径 $\leq 10\text{mm}$ 低度敏感
- ❖ 无抑菌圈 不敏感或耐药



注意事项

1. 接种时均匀密涂
2. 贴片时，用无菌镊子轻轻触压药物纸片使之与培养基充分接触
3. 贴片后不能再更改纸片位置
4. 镊取药物纸片时一旦掉到培养基表面，则继续保持其位置，切勿镊起重新放置，以防不同抗生素交叉影响
5. 整个贴片过程应在**15min**内完成