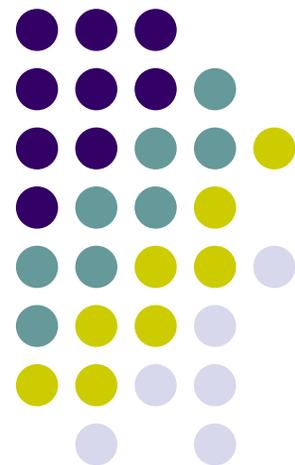
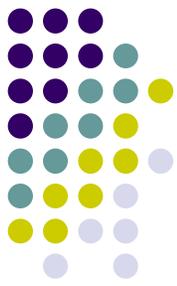


兽医药理学实验

主讲教师：李英伦 胡延秀





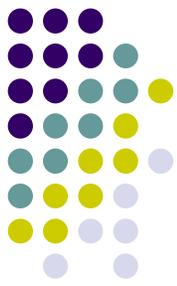
实验一、杯碟法对抗菌药物的 抗菌作用观察



实验内容

- 实验目的
- 实验原理
- 实验器材
- 方法和步骤
- 实验报告
- 注意事项
- 思考题





实验目的

- 了解抗菌药物体外抑菌作用
- 了解实验方法和实验结果判断



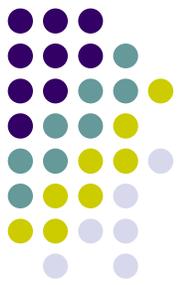


实验原理

抗菌药物在琼脂平板上通过扩散作用可抑制细菌的生长,即在药物周围形成透明的抑菌圈。药物对细菌抗菌活性愈强者,其抑菌圈愈大,即细菌对该药物的敏感度高。



实验原理



药物对细菌抗菌活性愈弱，细菌对该药物抑菌圈愈小，即细菌对该药的敏感度愈低；药物对细菌无作用者，则在细菌平板上无抑菌圈出现。这样，通过测量药物对细菌琼脂平板的抑菌圈直径大小，即可比较出各药的体外抗菌作用。





实验材料

- **菌株** 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌
- **器材** 灭菌棉签、无菌小镊子、测量尺、无菌平板、无菌试管、无菌吸管、微量移液管、恒温箱、牛津杯、超净工作台
- **药品** 氟哌酸、庆大霉素、磺氨嘧啶、多粘菌素E、青霉素
- **培养基** MH培养基、MH琼脂平板

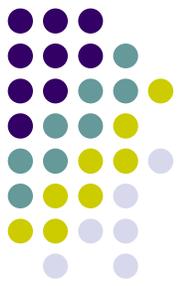


方法和步骤

1、制备含菌固体培养基

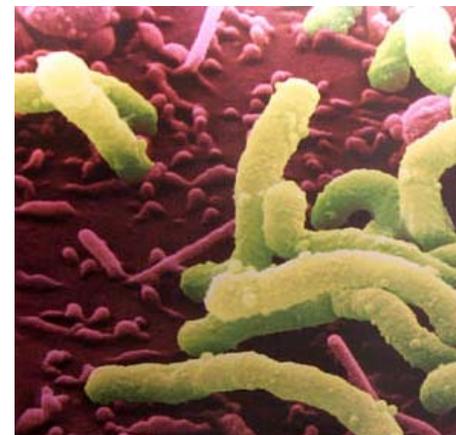
取预选好的MH培养基平板3个，用无菌小棉签蘸取大肠杆菌菌液，在MH培养基平板的全部干燥表面划线接种，重复3次，制得3个大肠杆菌琼脂平板。用同样的方法，再制得金黄色葡萄球菌琼脂平板3个。

方法和步骤



2、加药液于牛津杯

接种后15分钟内，尽快将牛津杯放置于平板菌层上，定量药液加入杯内，药液与杯面水平为准，然后盖上灭菌白陶土盖后，将平板全部放入培养箱中，37℃培养24小时。



方法和步骤



3、结果观察

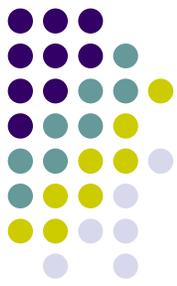
将培养24小时后的细菌培养皿取出，观察有无抑菌圈，测量平板中牛津杯周围抑菌圈的直径，做好记录并计算出各药的抑菌圈直径的平均值。比较各药抑菌圈直径的平均值，即可比较出各药对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的体外抗菌作用。



实验记录



药物	抑菌圈平均直径 (mm)	
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
氟哌酸		
庆大霉素		
多粘菌素E		
青霉素		



注意事项

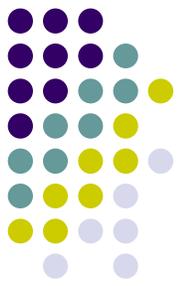
- 在接种细菌和放置牛津杯时应注意无菌操作，测量抑菌圈时要仔细准确并及时做好记录
- 琼脂平板的厚度可影响抑菌圈的大小，一般为2-3mm
- 药物敏感试验结果判断：抑菌圈直径小于10mm为耐药，等于10mm为轻度敏感，在11-15mm之间为中度敏感，大于16mm为高度敏感。



实验报告

- 实验目的
- 实验原理
- 实验材料
- 实验步骤
- 实验记录
- 讨论

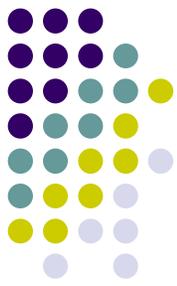




思考题

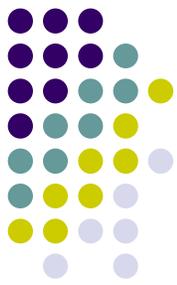
- 喹诺酮类药物抗菌作用特点？临床上用途？
- 喹诺酮类抗菌药与抗生素药相比有何优缺点？
- 讨论青霉素、庆大霉素、多粘菌素E的抗菌作用机制、主要用途及主要的不良反应。





培养基的制备

- 牛肉粉 300克、水解酪蛋白 17.5克、可溶性淀粉1.5克，蒸馏水加至1000ml，调节pH至 7.4 ± 0.2 。若加入琼脂17克，则为MH琼脂平板培养基。

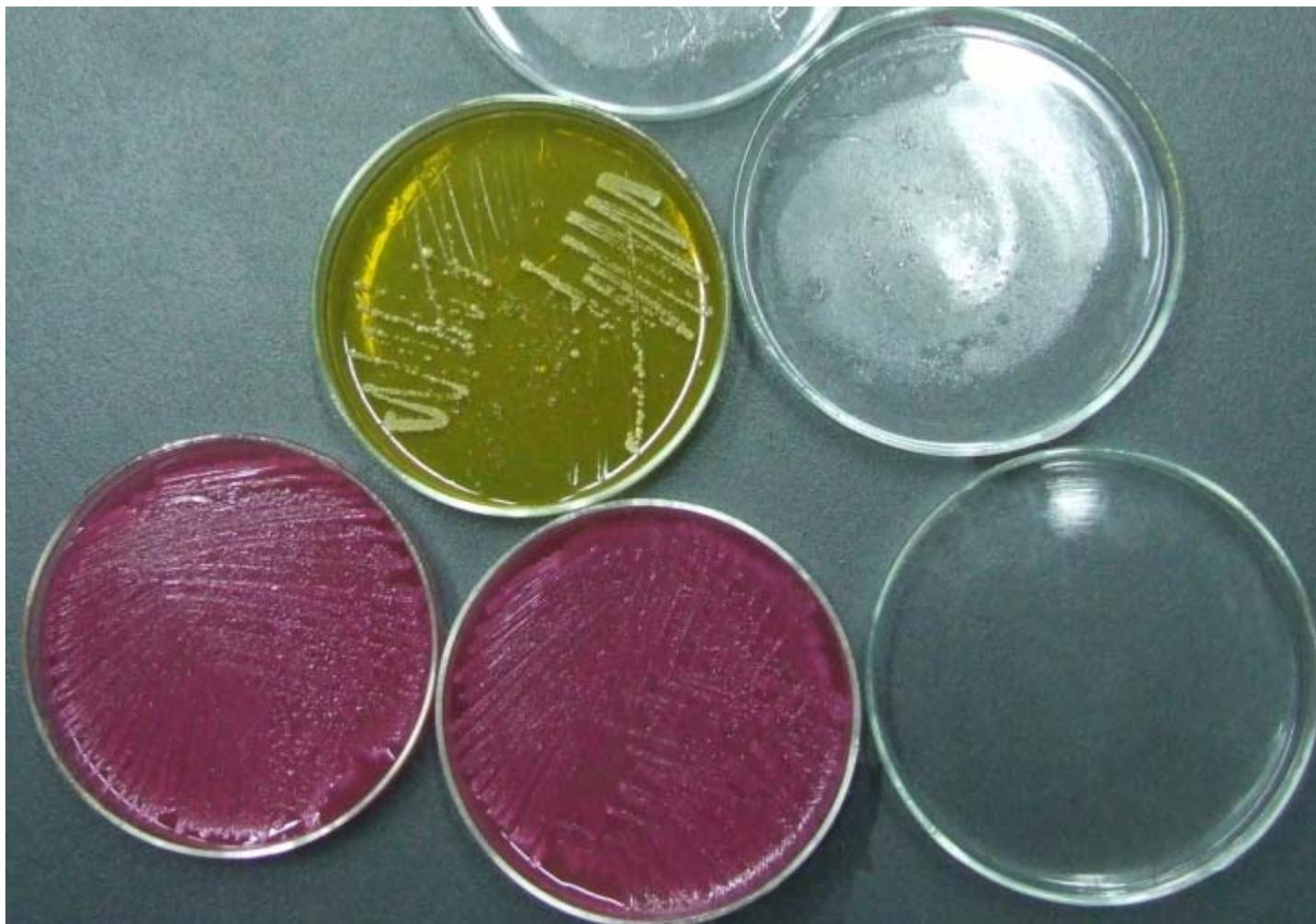


培养基的制备

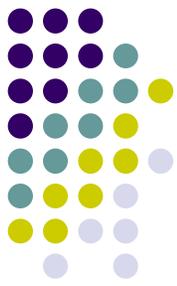
- 按上述配比称取各试剂于烧杯内，加入蒸馏水加热溶解，调整pH值，使其高压灭菌后的pH值为7.4，加蒸馏水至所需体积，放于三角烧杯内，用棉塞塞好，以15-20磅压力灭菌20分钟后趁热倒入已经灭菌过的培养皿中，平放冷却，即为MH培养基琼脂平板。



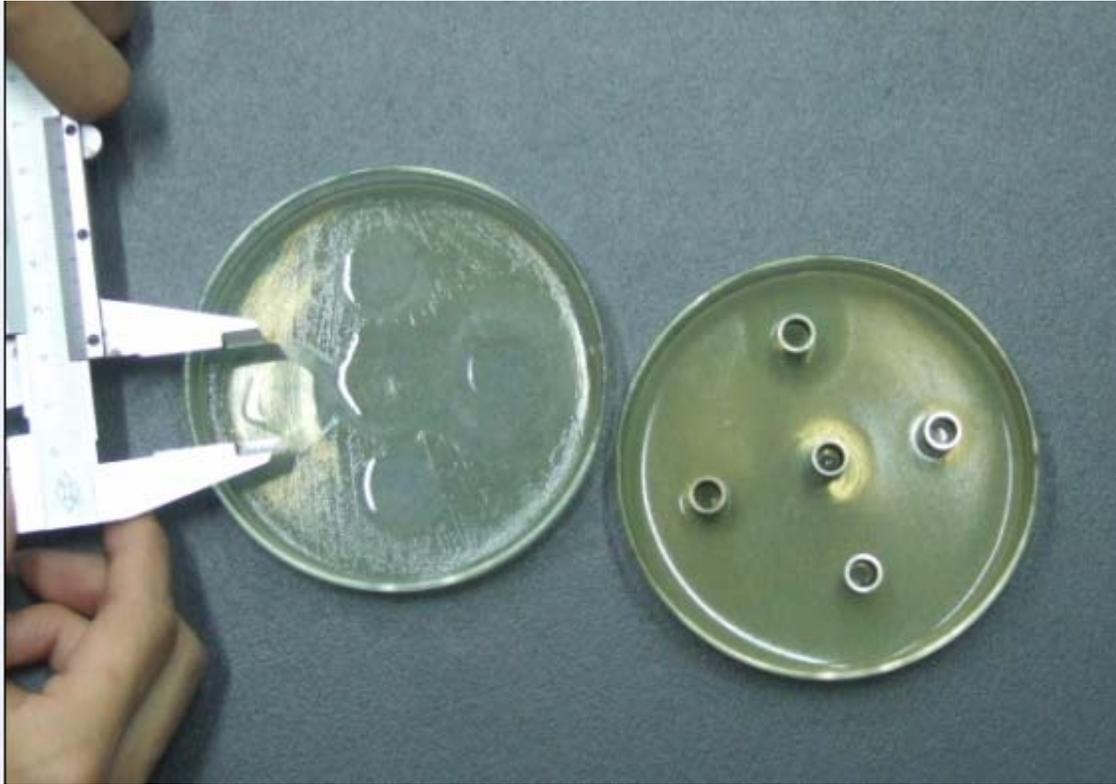
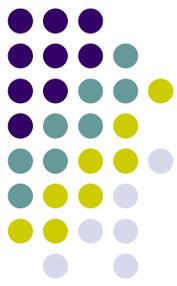
接种细菌



培养18h细菌菌落图

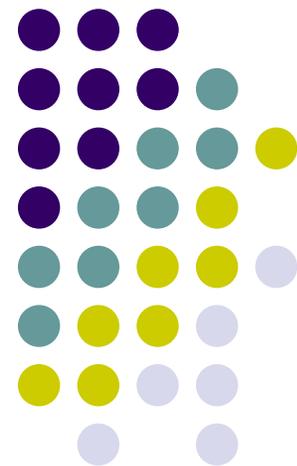


杯碟法实验结果



测定抑菌圈

实验二、不同给药途径对药物作用影响





实验内容

- 实验目的
- 实验原理
- 实验器材
- 方法与步骤
- 实验结果
- 实验报告
- 注意事项
- 思考题

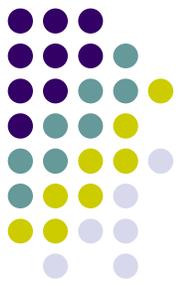




实验目的

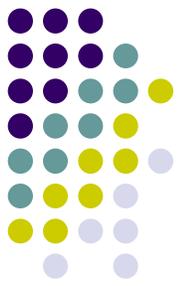
通过实验，观察不同给药途径引起机体的不同反应。





实验原理

兽医临床常用的给药途径有内服、肌注、静注、腹腔注射、皮肤给药和吸入给药等。一般情况下，同一种药物采取不同途径给药，主要影响该药物的吸收速度和利用程度，进一步影响药效出现时间和维持时间。但是，少数药物（如硫酸镁）采取不同途径给药，可以引起药效性质的改变。



实验器材

- 动物：小白鼠5只
- 器材：鼠笼，1mL注射器，5号针头，小白鼠灌胃器，玻璃钟罩，电子秤，镊子
- 药品：10%硫酸镁注射液，0.3%戊巴比妥钠溶液。

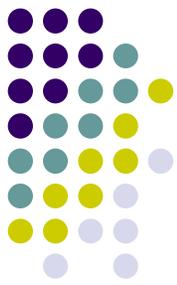




方法与步骤

- 取体重相近的小白鼠2只，称其体重。一只鼠肌肉内注射**10%硫酸镁注射液**（**0.15mL/10g**），另一只鼠以相同剂量灌胃，观察两只鼠的反应有何不同。





方法与步骤

- 取体重相近的小白鼠3只，称其体重，分别放入玻璃钟罩内，观察它们的正常活动及翻正反射情况。
- 用0.3%戊巴比妥钠溶液0.2mL/10g的剂量以不同途径给药：甲鼠灌胃，乙鼠肌注，丙鼠腹腔注射。
- 观察小白鼠用药后的反应及活动情况，以翻正反射消失时作为麻醉开始指标。记录麻醉开始时间、麻醉维持时间和麻醉深度有何不同。





实验结果

(一) 硫酸镁实验

小鼠	体重	给药剂量	药途径	反应表现
1号				
2号				



实验结果

(二) 戊巴比妥钠实验

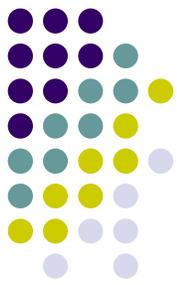
小鼠	给药途径	麻醉开始时间	麻醉维持时间	麻醉深度
1号				
2号				
3号				



实验报告

- 实验目的
- 实验原理
- 实验材料
- 实验步骤
- 实验记录
- 讨论





注意事项

- 观察小白鼠用药后的反应及活动情况，以翻正反射消失时作为麻醉开始指标
- “麻醉开始时间”为从给药至翻正反射消失的时间
- “麻醉维持时间”为从翻正反射消失至翻正反射恢复的时间
- “麻醉深度”是用镊子夹其后肢观察其反应情况



注意事项

- 硫酸镁注射液肌注可产生镇静、抗惊厥等作用
- 口服小剂量可健胃，大剂量可致泻。本实验口服剂量较小，不会产生泻下作用
- 灌胃方法要正确。一旦刺破食管或胃壁，药物进入胸腹腔，其作用与肌注相同，使对照实验失败



思考题

根据实验结果，分析同一种药物采取不同的给药途径对其作用的影响。

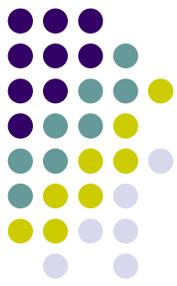




用药前正常小鼠



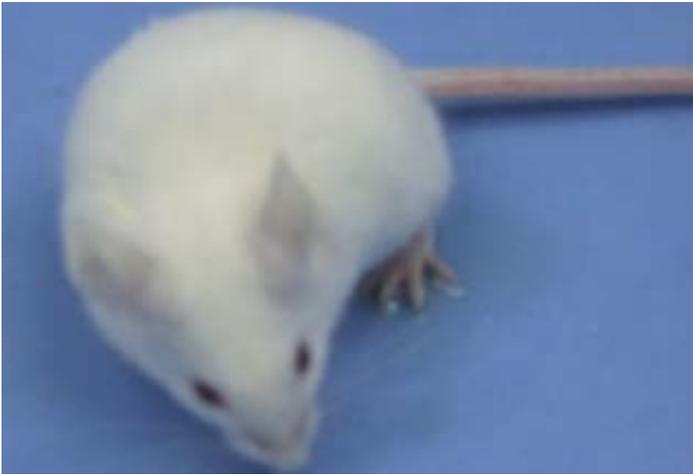
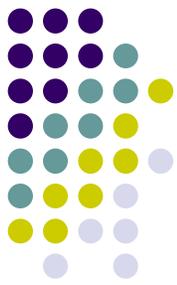
饲养状态下小鼠



小鼠口服给药



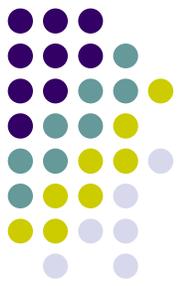
小鼠腹腔注射给药



肌注硫酸镁溶液后小鼠



口服硫酸镁溶液后小鼠



口服戊巴比妥钠溶液后小鼠

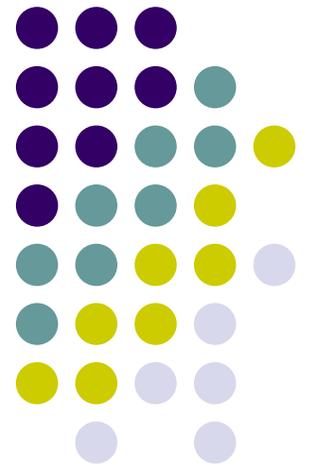


腹腔注射戊巴比妥钠溶液后小鼠



肌注戊巴比妥钠溶液后小鼠

实验三、药物对离体肠运动的影响

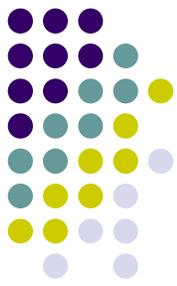




实验内容

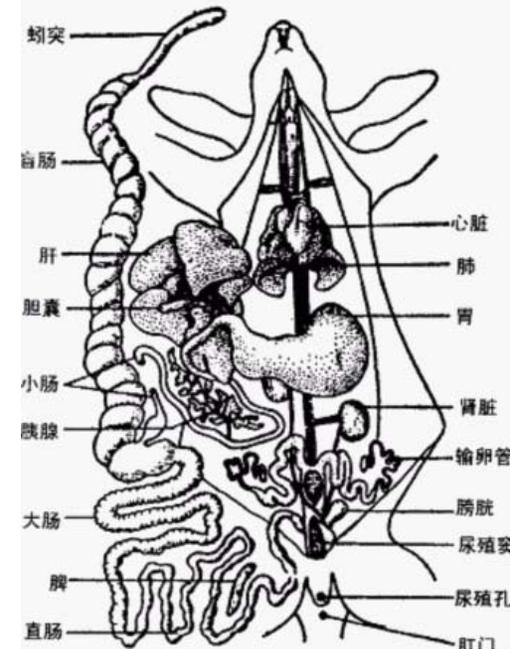
- 实验目的
- 实验原理
- 实验器材
- 方法与步骤
- 实验记录
- 实验报告
- 注意事项
- 思考题

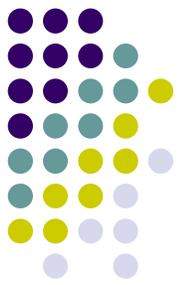




实验目的

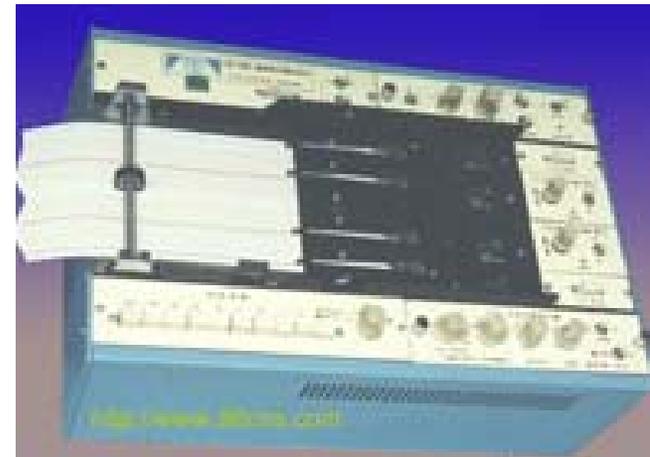
- 学习离体肠平滑肌运动的描记方法
- 观察拟胆碱药和抗胆碱药物对离体兔肠肌运动的影响

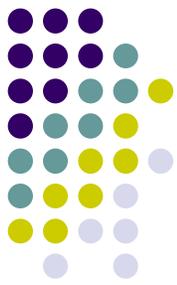




实验原理

生理药理记录仪（四导仪）可记录骨骼肌、胃肠平滑肌等组织的运动状态。本实验制备兔离体肠肌，与张力换能器相连，在二道仪上显示用药后的离体肠肌运动状态（张力、幅度和节律），从而观察药物对离体肠肌运动的影响。

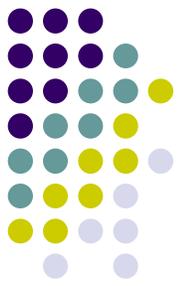




实验器材

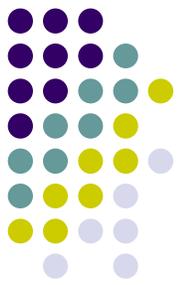
- 实验动物：家兔
- 器材：剪刀、烧杯、麦氏浴皿、注射器、球胆、螺旋夹子、温度计、橡皮管、酒精灯、三角架、L形通气管、四导生理记录仪、生物信号放大系统、恒温水浴锅
- 药品：台氏液(Tyrode), 0.01%氯化乙酰胆碱溶液、0.01%硝酸毛果芸香碱溶液、0.05%硫酸阿托品溶液

方法与步骤



1、离体兔肠段标本的制备

取空腹家兔1只，左手执髻上部，右手握木棒，猛击枕骨部致死。迅速开腹，自幽门下**6cm**左右处剪取空肠，小心去掉肠系膜，用台氏液将肠内容物冲洗干净，剪成长约**2cm**的小段数段，置于保温**38℃**的台氏液内，供全班用(可用恒温水浴锅保温)。

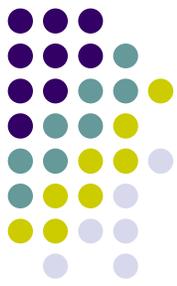


方法与步骤

2、离体兔肠段与四道仪连接

取兔肠段标本一段，一端系于麦氏浴皿L型通气管小弯钩上，将通气管连同肠段放入盛有 $38 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 台氏液麦氏浴皿内，L型管另一端用橡皮管与充满空气的球胆连接，微微开启球胆橡皮管上的螺旋夹，使球胆内的空气以2个气泡 / S的速度从通气管尖端的小孔逸出，供给肠肌氧气。肠段的另一端系于描记杠杆或张力传感器上，用生理仪或生物信号放大系统记录。

方法与步骤



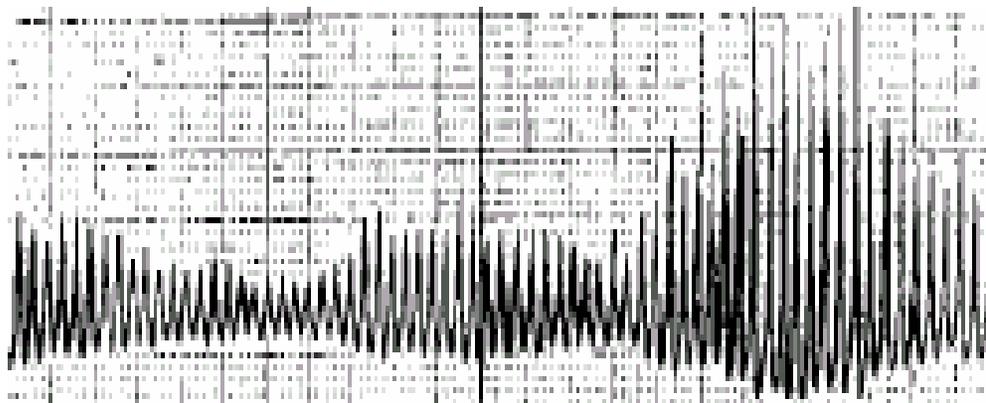
3、滴加药物

- 连接后，使肠段平稳**5min**，打开记录仪记录肠肌的正常蠕动曲线，然后加药。
- 在麦氏浴槽中加入**0.01%**氯化乙酰胆碱**1-2滴**，观察肠肌张力、幅度及节律的变化；当作用出现后，立刻加入**0.05%**硫酸阿托品溶液**1-2滴**，观察结果；当硫酸阿托品作用显著时，再加入同量的氯化乙酰胆碱溶液，观察结果。



方法与步骤

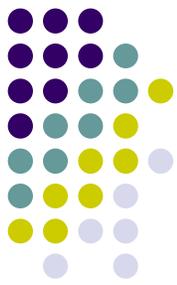
- 换用新鲜台氏液，加**0.01%**硝酸毛果芸香碱溶液**2~3**滴，当作用出现后，立即加入**0.05%**硫酸阿托品**1~2**滴，观察结果。



实验记录



编号	药物	张力	收缩幅度	收缩节律
0	无			
1	氯化乙酰胆碱			
2	硫酸阿托品			
3	毛果芸香碱			



注意事项

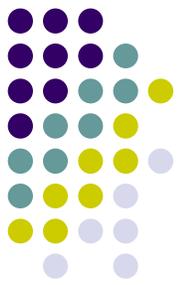
- 控制浴槽水温以保持肠段的收缩功能和药物反应
- 加药前先准备好每次更换用的38℃台氏液
- 供氧的气泡过大过急都会影响悬线振动，导致标本较大幅度的摆动而影响结果



实验报告

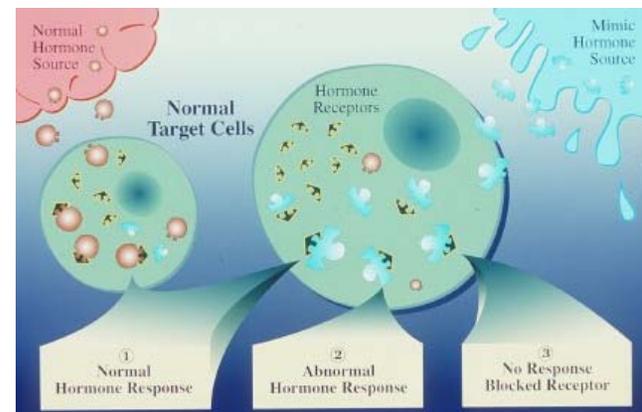
- 实验目的
- 实验原理
- 实验材料
- 实验步骤
- 实验记录
- 讨论





思考题

- 使离体平滑肌保持其收缩功能需要哪些基本条件？
- 试从受体学说分析乙酰胆碱、毛果芸香碱及阿托品对小肠平滑肌收缩活动的影响及作用机理。





台氏液配制方法

- **配方：**氯化钠**8.0**克、氯化钾**0.2**克、氯化钙**0.2**克、碳酸氢钠**1.0**克、磷酸氢钠**0.05**克、氯化镁**0.1**克、葡萄糖**1.0**克、加蒸馏水至**1000ml**。
- **注意：**氯化钙溶液须在其他基础溶液混合并加蒸馏水稀释之后，方可一面搅拌一面逐滴加入，否则将生成钙盐沉淀，葡萄糖应在临用时加入，加入葡萄糖的溶液不能久置。



四道生理仪



麦氏浴皿与四道生理仪



学生正在剖解家兔



学生们正在进行离体肠肌活动观察