

氨苄西林的体外抗菌后效应及抗菌后亚抑菌浓度效应研究^{*}

王丽平, 江善祥, 史晓丽, 郭永刚, 陈绍峰

(南京农业大学 动物医学院, 江苏 南京 210095)

[摘 要] 采用菌落计数法测定了氨苄西林对4株细菌的体外抗菌后效应(PAE), 以及对2株细菌的体外抗菌后亚抑菌浓度效应(PASME)。结果显示, 氨苄西林在0.5, 1, 2, 4×MIC浓度时, 对金黄色葡萄球菌C₂₆₁₁₂的PAE值分别为1.14±0.05, 1.62±0.11, 1.87±0.70和2.45±0.31 h, 对金黄色葡萄球菌临床分离株的PAE值分别为1.05±0.84, 1.38±0.25, 1.56±0.35和2.29±0.04 h; 对大肠杆菌ATCC25922和临床分离株的PAE很小甚至没有; 在1/8, 1/4, 1/2×MIC时对金黄色葡萄球菌C₂₆₁₁₂及临床分离株的PASME值分别为3.61±1.38, 4.75±2.18, 6.8±1.51 h和3.01±2.5, 4.2±1.21, 5.9±1.23 h; 氨苄西林对金黄色葡萄球菌的PAE(0.5~4×MIC)及PASME(1/8~1/2 MIC)与浓度在一定范围内呈剂量依赖性, 并且在亚抑菌浓度下也具有PAE, 当药物浓度达4×MIC时, PAE明显延长($P < 0.05$), 且所测得的PASME较PAE长。所有结果提示: 在临床设计给药方案时, 对金黄色葡萄球菌敏感株引起的临床感染, 除了考虑药代动力学和MIC指标外, 还应考虑PAE和PASME因素, 可适当延长给药间隔时间; 而对PAE无意义的大肠杆菌敏感株引起的临床感染, 宜持续给药或缩短给药间隔, 也可达到较好的治疗效果。

[关键词] 菌落计数法; 抗菌后效应; 抗菌后亚抑菌浓度效应; 氨苄西林; 给药方案

[中图分类号] S855; S853.23

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)08-0075-06

抗菌后效应(postantibiotic effect, PAE)和抗菌后亚抑菌浓度效应(postantibiotic sub-MIC effect, PASME)是近年来提出的关于抗菌药物药理学的新理论。PAE是指细菌与抗生素经短暂接触再去除药物后, 细菌生长仍受到抑制的现象, PASME是指处于PAE期的细菌再与亚抑菌浓度(sub-MIC)药物接触后, 细菌的生长受持续抑制的现象。这些理论与药物敏感性不同, PAE及PASME研究侧重的并不是药物细菌相互作用的结果, 而在于揭示它们之间相互作用的过程, 是抗菌药物对致病微生物所特有的效应^[1]。PAE和PASME理论在国内外倍受关注, 在人医实践中, 该理论为研究抗菌药物药理学和设计给药新模式提供了重要参数, 已开始用于指导临床感染性疾病的治疗^[2~4]。

自1940年首次发明青霉素G以来, 青霉素类抗生素进展迅速, 它以高效、低毒等优点在兽医及人医临床抗感染治疗中占有举足轻重的地位, 氨苄西

林便是其中之一。在兽医临床感染中, 金黄色葡萄球菌和大肠杆菌是引起动物感染的重要病原, 其所产生的耐药性也有不断上升的趋势^[5], 因此, 如何合理应用抗菌药, 有效控制二者引起的疾病并避免耐药性的产生相当重要。目前, PAE和PASME的研究资料在兽医领域中很少, 本研究测定了以氨苄西林为代表的青霉素类抗生素对临床中常见致病菌——金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的标准株及临床分离株的PAE, 及其对金黄色葡萄球菌的PASME, 旨在为兽医临床上更加合理应用青霉素类抗生素提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

氨苄西林, 齐鲁制药厂生产, 批号02070844; M-H肉汤和M-H琼脂(自制), 水解酪蛋白17.5 g, 可溶性淀粉1.5 g, 牛肉浸汤加至1.0 L, 用MgCl₂和

* [收稿日期] 2003-07-07

[基金项目] 南京农业大学青年科技创新基金(自然科学)(KJ03010)

[作者简介] 王丽平(1971-), 女, 内蒙古乌海人, 讲师, 在读博士, 主要从事兽医药理学与毒理学的研究。E-mail: wlp71@163.com

CaCl_2 调整至 Ca^{2+} 50~100 mg/L, Mg^{2+} 20~35 mg/L。

1.2 菌 株

金黄色葡萄球菌 C₂₆₁₁₂、大肠杆菌 ATCC25922 由铁道医学院微生物教研组提供, 金黄色葡萄球菌临床分离株、大肠杆菌临床分离株由南京农业大学微生物教研组提供。

1.3 抗菌活性测定

采用标准肉汤二倍微量稀释法^[6]分别测定药物对金黄色葡萄球菌及其临床分离株、大肠杆菌及其临床分离株 4 株细菌的最小抑菌浓度 (MIC), 试验重复 3 次。

1.4 抗菌后效应的测定

参考文献[7]推荐的方法, 并作适当修改。

1.4.1 菌悬液的制备 将待测菌株接种到 M-H 琼脂上孵育过夜后, 取 4~6 个单菌落接种于 2 mL M-H 肉汤中, 37℃ 培养过夜后, 于分光光度计上测定 OD₅₈₀ 约为 0.3 时的稀释菌液 (此时活菌计数为 $10^7 \sim 10^8 \text{ mL}^{-1}$), 即为待测菌液。

1.4.2 抗菌药物溶液制备 以灭菌磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 配成 50, 100, 200, 400 × MIC 的药物溶液, 过滤除菌后分装, 此为贮存液, 于 -20℃ 贮存备用, 临用前稀释为所需浓度。

1.4.3 测定方法 取 6 支试管各加入上述菌悬液 0.9 mL, 向其中 4 支试管中加入上述不同浓度药液 0.1 mL, 使药物终浓度分别为 1/2, 1, 2, 4 × MIC, 第 5, 6 管分别为对照 1 (不含药菌液对照) 和对照 2 (非残余药物影响对照), 其中对照 1 加入 0.1 mL 无菌磷酸盐缓冲液。所有试管于 37℃ 培养 1 h, 用新鲜 M-H 肉汤做 1 000 倍稀释除药, 此为重建后 0 时刻, 同时对照 2 中加入的抗菌药物浓度为加药管中最高浓度管稀释后的含药浓度, 作为稀释法除药后非残余药物对细菌生长影响的对照。所有试管处理后立即置于 37℃ 恒温箱中继续孵育, 分别在孵育 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 h 取各管中部分菌液, 采用菌落计数法记录细菌恢复生长的过程。PAE 为与抗菌药作用过细菌和未与抗菌药作用过细菌各自活菌数增加 1 lg10 (细菌量增加 10 倍) 所需时间差, 即 $\text{PAE (h)} = T - C$, T 和 C 分别为试验管和对照管细菌各自增加 1 lg10 所需的时间, 可通过细菌生长动力学曲线求出。

1.4.4 氨苄西林对金黄色葡萄球菌体外 PAE 的测定^[8] 取对数生长期金黄色葡萄球菌菌悬液 0.9 mL, 加入 0.1 mL 40 × MIC 氨苄西林药液, 37℃

水浴 1 h 诱导细菌 PAE 产生, 同时设细菌对照管, 药物的去除采用 1 000 倍稀释, 然后使细菌处于终浓度为 1/8, 1/4, 1/2 × MIC 及 0 × MIC 的氨苄西林药液中, 立即于 37℃ 水浴培养, 此为重建后 0 时刻, 然后于培养的 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 h 取菌液进行计数, 建立细菌生长动力学曲线, 按下列公式计算 PAE, $\text{PAE} = T_1 - C_1$, 其中, T_1 为经诱导 PAE 后培养物再接触于各亚抑菌浓度药物后, 细菌增加 1 lg10 所需的时间, C_1 为未经 PAE 诱导的细菌增加 1 lg10 所需的时间。

1.5 统 计

单因素方差分析用于不同药物浓度对 PAE 影响差异的显著性检验。

2 结果与分析

2.1 氨苄西林的体外抗菌活性

试验结果表明, 氨苄西林对金黄色葡萄球菌标准株和临床分离株的体外最小抑菌浓度分别为 0.5 和 4 μg/mL; 对大肠杆菌标准株和临床分离株的体外最小抑菌浓度分别为 2 和 8 μg/mL。该药对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均表现出较强的抗菌活性, 对金黄色葡萄球菌的抗菌活性更强。

2.2 氨苄西林对 4 株细菌的体外抗菌后效应

表 1 显示, 氨苄西林对金黄色葡萄球菌标准株与临床分离株的体外 PAE 在 1~2.5 h, 该药在不同浓度时所测得的 PAE 值有所不同, 且在亚抑菌浓度下 (0.5 × MIC) 对金黄色葡萄球菌也有一定的 PAE。PAE 值与浓度有一定的依赖性, 随浓度的增加而延长。4 × MIC 时的 PAE 与 0.5, 1 × MIC 时的 PAE 比较, 均差异显著 ($P < 0.05$); 2 × MIC 时的 PAE 与 0.5 × MIC 时的 PAE 比较差异显著 ($P < 0.05$); 但其对标准株与临床分离株差异不显著 ($P > 0.05$)。若以 $\text{PAE} < 0.3 \text{ h}$ 为无意义或零处理, 则表 1 结果提示, 氨苄西林对大肠杆菌基本上不存在 PAE。

此外, 在 PAE 测定过程中所设的细菌对照管与残留药物对照管细菌生长一致 (图 1), 表明 1 000 倍稀释基本上可以去除药物, 试验各管中细菌生长所受到的抑制为 PAE 原因造成的, 而不是残留药物的

作用。

表 1 氨苄西林对 4 株细菌的体外 PAE (n= 4)
Table 1 PAEs of ampicillin on 4 strains of bacteria(n= 4) h

菌株 Bacterial strains	PAE			
	0.5×MIC	1×MIC	2×MIC	4×MIC
金黄色葡萄球菌 C ₂₆₁₁₂ <i>S. aureus</i> C ₂₆₁₁₂	1.14±3.05	1.62±2.11	1.87±1.70	2.45±1.31 *
金黄色葡萄球菌临床分离株 <i>S. aureus</i> from clinic	1.05±1.84	1.38±1.25	1.56±1.35	2.29±2.04 *
大肠杆菌 ATCC25922 <i>E. coli</i> ATCC25922	0.04±1.41	0.19±0.93	0.25±1.72	0.37±1.09
大肠杆菌临床分离株 <i>E. coli</i> from clinic	0.09±1.07	0.11±2.51	0.18±0.97	0.29±3.05

注: 数据上角标 者表示与 0.5×MIC 比较, P< 0.05; 标 * 者表示与 1×MIC 比较, P< 0.05。
Note: data with means comparison with 0.5×MIC, P< 0.05 and * means comparison with 1×MIC, P< 0.05

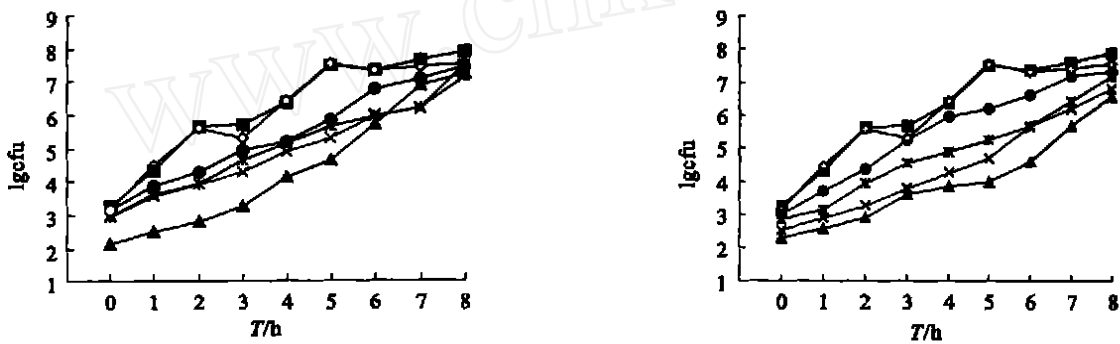


图 1 氨苄西林 PAE 期金黄色葡萄球菌 C₂₆₁₁₂及其临床分离株生长动力学曲线

. 菌液对照; ■. 药残对照; ▲. 4×MIC; ×. 2×MIC; *. 1×MIC; •. 0.5×MIC;
a 金黄色葡萄球菌 C₂₆₁₁₂; b. 金黄色葡萄球菌临床分离株

Fig 1 Growth curve of *S. aureus* C₂₆₁₁₂ and isolates from veterinary clinic during PAE

. Bacterial control; ■. Drug control; ▲. 4×MIC; ×. 2×MIC; *. 1×MIC; •. 0.5×MIC;
a *S. aureus* C₂₆₁₁₂; b. *S. aureus* from clinic

2.3 氨苄西林对 2 株金黄色葡萄球菌的体外 PA S M E

由表 2 及图 2 可以看出, 亚抑菌浓度 (1/8~1/2×MIC) 的氨苄西林对经 4×MIC 诱导 PAE 的

金黄色葡萄球菌均产生 PA S M E, 且 PA S M E 与药物的接触浓度呈正相关, 各亚浓度之间 PA S M E 差异显著 (P< 0.05), 该药对 2 株金黄色葡萄球菌的 PA S M E 差异不显著 (P> 0.05)。

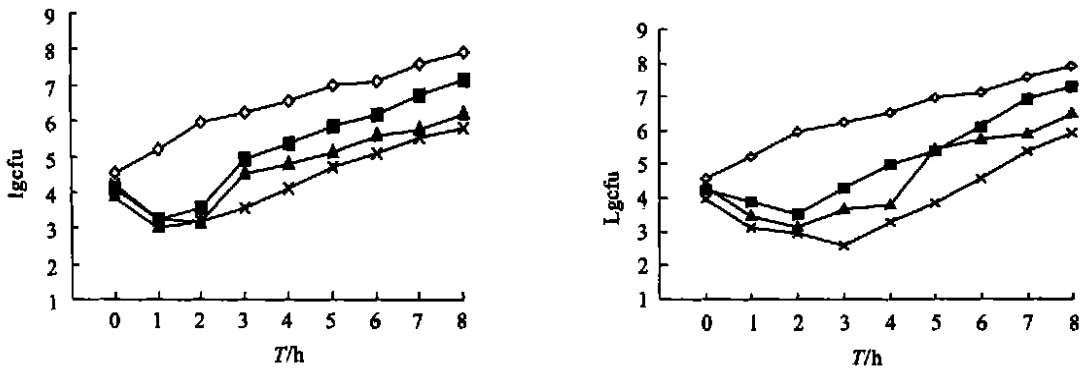


图 2 氨苄西林 PA S M E 期金黄色葡萄球菌 C₂₆₁₁₂和临床分离株生长动力学曲线

. 菌液对照; ■. 1/8×MIC; ▲. 1/4×MIC; ×. 1/2×MIC;
a 金黄色葡萄球菌 C₂₆₁₁₂; b. 金黄色葡萄球菌临床分离株

Fig 2 Growth curve of *S. aureus* C₂₆₁₁₂ and isolates from veterinary clinic during PA S M E at different concentration

. Bacterial control; ■. 1/8×MIC; ▲. 1/4×MIC; ×. 1/2×MIC;

a *S. aureus* C₂₆₁₁₂; b. *S. aureus* from clinic

表 2 氨苄西林对 2 株金黄色葡萄球菌的体外 PA S M E ($n=3$)Table 2 PA S M E s of ampicillin on 2 *S. aureus* ($n=3$)

h

菌株 Bacterial strains	PA S M E		
	1/8 $\times$ M IC	1/4 $\times$ M IC	1/2 $\times$ M IC
金黄色葡萄球菌 C ₂₆₁₁₂ <i>S. aureus</i> C ₂₆₁₁₂	3.61 $\pm$ 1.38	4.75 $\pm$ 2.18*	6.8 $\pm$ 1.51**
金黄色葡萄球菌临床分离株 <i>S. aureus</i> from clinic	3.01 $\pm$ 2.5	4.2 $\pm$ 1.21*	5.9 $\pm$ 1.23**

注: 数据后上角标 表示与 1/4 $\times$ M IC 比较, $P < 0.05$; 标* 表示与 1/8 $\times$ M IC 比较, $P < 0.05$; 标** 表示与 1/8 $\times$ M IC 比较, $P < 0.01$ 。

Note: Data with means comparison with 1/4 $\times$ M IC, $P < 0.05$, * means comparison with 1/8 $\times$ M IC, $P < 0.05$; ** means comparison with 1/8 $\times$ M IC, $P < 0.01$.

3 讨 论

早在 20 世纪 40 年代初, 人们已发现了抗生素后效应现象, 但直到 70 年代 McDonald 等^[9]研究以后人们才开始重视 PA E 的研究。由于人们对 PA E 的认识, 改变了传统抗生素应用的理念。过去抗生素的药效学指标常用的是最小抑菌浓度(M IC)和最小杀菌浓度(MBC), 即传统的给药方案的设计要求血浆和组织药物浓度要维持在 M IC 以上^[10]。PA E 及 PA S M E 的提出在较大程度上完善了药效学评价指标, 即当血浆、组织药物浓度低于 M IC 时, 由于 PA E 和 PA S M E 的存在可持续抑制细菌的生长, 故可充分利用 PA E 及 PA S M E 的特点来指导临床合理用药, 在不影响疗效的同时, 不仅可以减少药物用量, 还可以减低药物的不良反应和费用, 对给药方案中存在的疗效、毒性、费用和方便性等问题提供了很好的解决办法。

3.1 关于 PA E

本研究采用菌落计数法测定了氨苄西林对 4 株细菌的 PA E, 结果显示, 该药仅对金黄色葡萄球菌有较强的 PA E, 而对大肠杆菌的 PA E 较弱甚至没有, 说明不同菌种对抗菌药有不同的 PA E, 其对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌 PA E 所呈现的差异, 可能与 β 内酰胺类抗生素 PA E 产生机制的特点有关。目前, 关于 β 内酰胺类抗生素 PA E 产生机制尚未明确, 可能原因是药物与细菌的青霉素结合蛋白(PBP_s)共价结合, 造成细菌非致死性损伤, 细菌恢复再生长的时间延长, 从而产生 PA E。革兰氏阴性杆菌有迅速重新合成 PBP_s 功能, 所以 PA E 较短甚至没有, 而革兰氏阳性球菌合成 PBP_s 较慢, 故 PA E 较长。另外, 革兰氏阴性杆菌在与 β 内酰胺类抗生素短暂接触后, 细菌变形, 形成丝状体, 每个丝状体内含几十个菌体, 一旦清除药物后, 丝状体迅速裂解为数十个菌体, 故 PA E 也可能出现负值^[11, 12]。

本研究结果还显示, 不同的药物浓度对 PA E 有

不同的影响。氨苄西林在 0.5, 1, 2, 4 $\times$ M IC 浓度时, 均对金黄色葡萄球菌产生一定的 PA E, 且 PA E 值随药物浓度的升高呈上升趋势, 表现出药物浓度与 PA E 在一定范围内(0.5~4 $\times$ M IC)呈剂量依赖性, 该结果与国外某些研究结果一致^[13, 14]。此外, 在亚抑菌浓度下(0.5 $\times$ M IC), 氨苄西林对金黄色葡萄球菌仍存在一定的 PA E, 意味着该药在低于 M IC 浓度时仍能发挥抗菌效应, 可解释体内 PA E 大于体外 PA E 的原因, 因为药物在体内的消除是逐渐进行的, 药物浓度在从峰浓度下降到低于 M IC 过程中始终与细菌接触, 故在体内产生叠加的 PA E, 而体外药物的消除较彻底, 残余药物浓度大大低于 M IC, 且不存在亚抑菌浓度作用。但是, 本研究结果, 即氨苄西林对金黄色葡萄球菌的 PA E 值较已有的同类抗生素的 PA E 值高^[15], 这是否与所采用的方法不同有一定的关系, 尚有待进一步证实。

3.2 关于 PA S M E

本研究结果显示, 亚抑菌浓度(1/8~1/2 $\times$ M IC)的氨苄西林对经 4 $\times$ M IC 诱导 PA E 的金黄色葡萄球菌均产生 PA S M E, 并且所得的 PA S M E 显著大于各 PA E, PA S M E 的存在表明, 在抗菌后效应期细菌对药物的敏感性提高, 即使再接触亚抑菌浓度的药物, 仍能显著抑制细菌的生长。有关内酰胺类抗生素的 PA S M E 机制认为: 当细菌暴露于超抑菌浓度的药物时, 药物与菌体的 PBP_s 共价结合, 在药物消除后, 大部分的 PBP_s 仍处于钝化状态, 此时只需少量药物即可与新合成的 PBP_s 结合, 使细菌的生长被持续抑制^[13]。在临床实践中, 血清与组织中的药物浓度均为缓慢下降, 故在 2 次给药间隔期间细菌即有机会接触超抑菌或亚抑菌浓度的药物, 而亚抑菌浓度的药物足以改变细菌代谢、细菌胞壁结构及细菌的形态, 以至影响细菌对上皮细胞的吸附力, 从而降低其致病力, 且使细菌更易于被巨噬细胞吞噬, 故在较长的给药间歇期间, PA S M E 和宿主强大的免疫功能对抑制细菌生长起着重要作用^[16]。

虽然体外 PAE, PA S ME 研究结果与体内 PAE, PA S ME 有一定的相关性^[16], 但因药物在体内分布、代谢、排泄是一个动态的过程, 与细菌接触的浓度和时间亦不相同, 此外, 在体内还存在着抗生素促白细胞效应 (PAL E)^[17, 18], 故体内 PAE, PA S ME 影响因素较多, 因此本研究认为, 体外所测的 PAE, PA S ME 只可为研究体内 PAE, PA S ME 奠定基础, 为设计给药方案提供参考, 更为合理、经济的给药模

式的设计要综合考虑药代动力学、PAE 和机体免疫功能等诸多因素。目前, 在兽医临床实践中人们已经认识到了 PAE 和 PA S ME 的重要性, 但如何充分利用 PAE 及 PA S ME 来指导给药方案设计, 使抗菌药在临床上得到合理应用仍需进一步研究。倘若这一理论能在兽医临床中得到充分利用, 将对大规模养殖的畜禽给药方案的改革产生巨大的影响。

[参考文献]

- [1] Spivey J M. The postantibiotic effect[J]. Clin Pham, 1992, 11: 865- 871.
- [2] 雷 军 氟喹诺酮类药物每日一次疗法[J]. 国外医药——抗菌素分册, 1996, 17(1): 56
- [3] 郭 涛, 杨 毅, 熊方武 氨基糖苷类抗生素的抗菌后效应及新给药方案[J]. 药学实践杂志, 1996, 14(4): 206- 209
- [4] Zhanel G G, Craig W A. Pharmacokinetic contributions to postantibiotic effects focus on Aminoglycosides[J]. Clin Phar, 1994, 27(5): 377- 392
- [5] Commican M G, Jones R N. Emerging resistance to antimicrobial agents in Enterococi, Staphylococci and nopenumococci Streptococci[J]. Drugs, 1996, 51(suppl 1): 6- 13
- [6] 徐叔云, 卞如瀛, 陈 修 药理实验方法学[M]. 第3版 北京: 人民卫生出版社, 2002 1658- 1659
- [7] 陈秀枢, 李有武, 孙长贵 体外抗菌素后效应的方法学及其临床金黄色葡萄球菌的研究[J]. 临床检验杂志, 1991, 9(2): 24- 25
- [8] 王志强, 陈杖榴 兽用氟喹诺酮类的抗菌后效应研究[J]. 中国兽药杂志, 2001, 35(5): 13- 17
- [9] McDonald P J, Graig W A. Persistent effect of antibiotics on staphylococcus aureus after exposure for limited periods of time[J]. J Infect Dis, 1977, 135: 217- 225
- [10] 戴自英 临床抗菌药理学[M]. 第2版 北京: 人民卫生出版社, 1985 91
- [11] Hanberger H, Nilsson L E, Maller R, et al Pharmacodynamics of beta-lactam antibiotics on Gram-negative bacteria: initial killing, morphology and postantibiotic effect[J]. Scand J Infect Dis, 1991, 74(suppl): 118
- [12] Zhanel G G, Hoban D J, Harding G. The postantibiotic effect: a review of *in vitro* and *in vivo* data[J]. DCP Ann Pham, 1991, 25: 153- 159
- [13] Mackenzie F N, Gould IM. Review of the postantibiotic effect[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1993, 32: 519- 537
- [14] George G Z, Daryl J H, Godfreg K M. The postantibiotic effect: a review of *in vitro* and *in vivo* data[J]. Ann Pharmacother, 1991, 25: 153
- [15] Hanberger H. Pharmacodynamic effects of antibiotics: studies on bacterial morphology, initial killing, post antibiotic effect and effective regrowth time[J]. Scand J Infect Dis, 1992, 81: 1- 13
- [16] Raponi G, Keller N, Overbeck B P, et al Enhanced phagocytosis of encapsulated *E. coli* strains after exposure to sub-MICs of antibiotics is correlated to changes of the bacterial cell surface[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1990, 34: 332- 336
- [17] Novelli A, Mazzei T, Fallani S, et al *In vitro* postantibiotic effect and postantibiotic leukocyte enhancement of tobramycin[J]. J Chemother, 1995, 7: 355- 361
- [18] McDonald P J, Wetherall B L, Prual H E. Postantibiotic Leucocyte enhancement uncreased susceptibility of bacteria pretreated with antibiotics in activity of leukocytes[J]. Rev Infect Dis, 1991, 16(3): 38- 44

Postantibiotic effect and postantibiotic sub-MIC effect of ampicillin

WANG L i-ping, JIANG Shan-xiang, SHI Xiao-li, GUO Yong-gang, CHEN Shao-feng

(College of Veterinary Medicine, Nanjing Agriculture University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

Abstract: This study was designed to investigate the postantibiotic effect (PAE) of ampicillin on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* *in vitro* and postantibiotic sub-MIC effect on *staphylococcus aureus*. The dilution method was used for the drug removal and Mueller-Hinton agar colony counting method

was used to monitor the growth of bacteria. The results showed that marked PAEs were found even in the subinhibitory concentration (sub-MIC) when ampicillin was used against *S. aureus* C₂₆₁₁₂ and *S. aureus* obtained from veterinary clinic, and PAEs were 1.14 ± 3.05 , 1.62 ± 2.11 , 1.87 ± 1.70 , 2.45 ± 1.31 h and 1.05 ± 1.84 , 1.38 ± 1.25 , 1.56 ± 1.35 , 2.29 ± 2.04 h, respectively. When *S. aureus* was exposed to ampicillin for 1 h, the PAEs could be got after successively exposing to $1/8$, $1/4$, $1/2 \times$ MIC ampicillin and the values were 3.61 ± 1.38 , 4.75 ± 2.18 , 6.8 ± 1.51 h (for *S. aureus* C₂₆₁₁₂) and 3.01 ± 2.5 , 4.2 ± 1.21 , 5.9 ± 1.23 h (for *S. aureus* from veterinary clinic). The duration of PAEs and PAEs was enhanced with increasing concentration, showing strongly a concentration-dependent dependence, especially at $4 \times$ MIC, the PAE was obviously prolonged ($P < 0.05$). Negative PAEs were defined, however, when the drug was used against *E. coli* at the same concentration. Taken together, our data indicate that the phenomenon of PAE and PAEs may help in the design of efficient control strategies for some infections in animals, for example, longer dosing interval should be recommended when the two drugs are against *S. aureus*, however, successive dosing or shorted dosing interval should be taken when they are used against sensitive *E. coli*.

Key words: colony counting method; postantibiotic effect; postantibiotic sub-MIC effect; ampicillin; dosing interval

(上接第 74 页)

Plantlet regeneration capacity of selected *Populus tomentosa* clones in vitro

ZHANG Cun-xu¹, ZHANG Rui-e², ZHAO Zhong¹

(1 College of Forestry, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Department of Biology, Fuyang Normal College, Fuyang, Anhui 236041, China)

Abstract: Five excellent clones of *Populus tomentosa* were used in this study. Sterile shoots were used as explants to induce bud differentiation and growth, as well as rooting in different medium. The potential of plantlet regeneration was compared with different clones. The results showed that all five clones of *P. tomentosa* could obtain regeneration plantlets by organogenesis in vitro. But a marked difference was observed in axillary shoots number and rooting rate, in which No. 4 clone axillary shoot number is 122.7% of the average and No. 1 only averages 78.4%. No. 2 rooting rate reaches 60% and No. 3 only 28.7%. It indicated that capacity of shoot proliferation and rooting was genetically controlled. The 0.5 mg/L 6-BA concentration may be the optimal value for induction and proliferation of shoot for most clones in vitro. Although average shoot number reached 8.8, rooting percentage was only 49.5%. $1/2 \text{ MS}$ basal medium was suitable to rooting for clones. The rooting capacity could be improved by supplementing low concentration auxin. At the same time there existed a visible media $\times$ clone interaction in plantlet regeneration capacity for *P. tomentosa*.

Key words: *Populus tomentosa*; clones; plantlet regeneration; tissue culture