



防疫与检疫科学

硫酸头孢喹肟混悬液的体外抑菌模拟试验研究

张金宝¹, 刘艳玲¹, 林生香²

(1. 永宁县畜牧水产技术推广服务中心, 宁夏永宁 750100;

2. 永宁县动物疾病预防控制中心, 宁夏永宁 750100)

摘要: 为了评价硫酸头孢喹肟混悬液的体外释药速度和抑菌效果。本试验采用模拟体外机体生理平衡体系, 经高效液相色谱检测分析该制剂的体内释放情况, 将药物与各种细菌混合培养分析药物的杀菌、抑菌时间及效果等。结果表明: 体外释药速度按照由快到慢排序: $kw5 > kw1 > kw3 > kw2 > kw7 > kw8 > kw6 > kw4$ 。 $kw1$ 杀菌速度中速, 但是维持时间较长, 能够在 72 h 仍然保持细菌不产生耐药反常。纳米技术研制的硫酸头孢喹肟混悬液具有较好的抑菌效果, 可维持较长时间, 建议在临床推广使用。

关键词: 硫酸头孢喹肟混悬液; 体外抑菌; 效果评价

[中图分类号] S859.79

[文献标志码] A

[文章编号] 1004-6704(2025)-01-0066-06

In Vitro Antibacterial Simulation Study of Cefquinome Suspension

ZHANG Jinbao¹, LIU Yanling¹, LIN Shengxiang²

(1. Yongning County Animal Husbandry and Aquatic Technology Extension Service Center, Yongning, Ningxia 750100, China;

2. Yongning County Animal Disease Prevention and Control Center, Yongning, Ningxia 750100, China)

Abstract: To evaluate the in vitro release rate and antibacterial efficacy of cefquinome sulfate suspension. This study used a simulated in vitro physiological equilibrium system and high-performance liquid chromatography (HPLC) to detect and analyze the in vivo release of the formulation. The method of mixing the drug with various bacteria and culturing them was used to analyze the bactericidal and bacteriostatic times and effects of the drug. The results showed that the in vitro release rate was ranked in the order of fastest to slowest: $kw5 > kw1 > kw3 > kw2 > kw7 > kw8 > kw6 > kw4$. It was found that $kw1$ had a moderate bactericidal speed, but its duration was longer, and it could still prevent bacterial resistance from developing for 72 h. The results showed that cefquinome sulfate suspension has good antibacterial efficacy and can maintain its effect for a long time. Therefore, it is suggested for clinical application.

Key words: cefquinome sulfate suspension; in vitro antibacterial; evaluation

头孢喹肟又名头孢喹诺、头孢喹咪等, 属于 β -内酰胺类抗生素, 是第四代动物专用头孢类药物, 可治

疗牛、猪等动物严重感染疾病, 如呼吸道感染、乳房炎、败血症、皮肤和软组织感染等^[1-4]。临床研究发现, 分离的敏感菌最低抑菌浓度值低, 药动学参数优良、机体吸收快, 对染色体或质粒介导的 β -内酰胺酶稳定、降解率低, 在靶动物的肺及乳腺维持高浓度, 因此在国内外临床应用前景广阔^[5]。通过对头孢菌素修饰其化学结构, 具备两性离子的独特特性, 即可快速穿过细胞壁孔蛋白质渗透到生物膜, 且与青

[收稿日期] 2024-10-10

[第一作者] 张金宝(1990-), 男, 兽医师, 主要从事畜牧技术推广及动物疫病防控工作。E-mail: hxzhjb@163.com

[共同第一作者] 刘艳玲(1978-), 女, 畜牧师, 主要从事畜牧技术推广及疫病防控工作。E-mail: 569913934@163.com

霉素结合蛋白结合抑制细胞壁黏肽酶合成,导致细胞壁缺损、菌体膨胀裂解而达到杀菌作用^[6]。独特的抗菌机理使其具有抗菌谱广、抗菌活性强、达峰时间短、低残留低无毒副作用^[7]等优点。对金黄色葡萄球菌、链球菌、铜绿假单胞菌和肠杆菌科家族有较高的活性,对耐甲氧西林葡萄球菌和肠球菌也有较好的活性。口服头孢喹肟类药物吸收较差,肌肉和皮下方式注射吸收迅速。传统的硫酸头孢喹肟注射液由于粒径大、分散不均等影响注射吸收速度^[8-11]。本试验使用的硫酸头孢喹肟混悬液,采用不同的制备工艺,使其具有分散均匀、粒度小、长时间不沉淀、不分层等优点,分别进行体外抑菌模拟试验,验证体外释药速度和杀菌效果,为临床指导使用该类药物提供更合理的依据。

1 材料和方法

1.1 药品与试剂

购买市售不同厂家 8 种硫酸头孢喹肟混悬液(规格为 100 mL : 2.5 g, 分别编号为 kw1、kw2、kw3、kw4、kw5、kw6、kw7、kw8); pH 7.0 磷酸盐缓冲液: 磷酸二氢钾 13.6 g 溶于 1 000 mL 的水, 用 10 mol/L 的氢氧化钠溶液调 pH 为 7 即可; 菌悬液: 将金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、牛乳头分离的混合性菌种接种于营养肉汤中, 经 37 °C, 过夜培养, 使细菌的浓度达到 10⁹~10¹⁰ 之间, 保存于 4 °C, 备用。

1.2 试验方法

1.2.1 体外释药试验方法 (1) 体系制备: 将缓冲液与硫酸头孢喹肟混悬液按照 9 : 1 的比例配制(缓冲液 45 mL, 药剂样品 5 mL), 振摇混合后静置, 出现分层, 静置 1 h 后取上清液, 保存备用。(2) 液相测定: 对照品的制备先精密称取硫酸头孢喹肟原料 29.683 5 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加流动相, 超声 5

min 使溶解后定容至刻度, 之后精密量取 5 mL 转移入 25 mL 容量瓶中, 加流动相定容至刻度, 得到 0.1 mg/mL 的对照品溶液。(3) 样品的制备: 样品规格为 100 mL : 2.5 g, 故配制体系中药物的 $C_{max} = 2.5 \text{ mg/mL}$, 精确量取样品 1 mL 置 25 mL 容量瓶中, 加缓冲液定容至刻度, 静置备用。(4) 药物含量的测定: 采用 HPLC 法, 选择在 270 nm 波长条件下, 测定制备样品中硫酸头孢喹肟的体外释放药物含量浓度。

1.2.2 体外杀菌试验方法 (1) 体系制备: 将菌悬液与 8 种硫酸头孢喹肟混悬液按照 3 : 1 的比例配制(菌悬液 30 mL, 药剂样品 10 mL), 振摇混合后静置 30 min。(2) 抑菌试验: 分别于 0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、48 和 72 h 从体系中取出 1 mL 的菌液到平皿中之后倾注 15 mL 左右培养基, 摇匀, 置 37 °C 培养箱培养 16~18 h, 观察细菌生长情况, 并记录。

2 结果与分析

2.1 体外释药的含量数据结果

结果如图 1 所示, 8 种试验药物经过同一体系制备法进行制备样品和药物含量测定方法, 结果由图 1 中体外释药的含量数据折线趋势可知, 释药速度按照由快到慢排序: kw5 > kw1 > kw3 > kw2 > kw7 > kw8 > kw6 > kw4。在 4 h 时 kw5 以最快速度释放药物浓度达到最高, kw1 次之, 但相比释放药物速度减缓, 持续到 46 h 后释放药物速度减缓, 使维持药效最长。kw2、kw4、kw6、kw7 和 kw8 5 种试验药物的释放药物浓度在 0.05 mg/mL 以下, 且释放药物速度一直较缓慢。

2.2 杀菌试验结果

2.2.1 同一时间不同样品的杀菌效果 由图 2 中 8 种硫酸头孢喹肟混悬液在同一时间点抑菌结果可

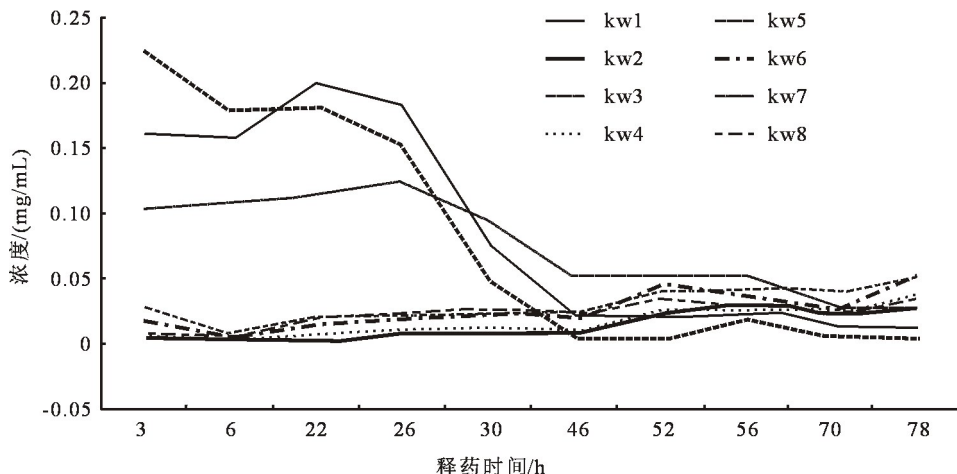


图 1 体外释药的含量数据折线图

Fig. 1 Line chart of in vitro drug release data

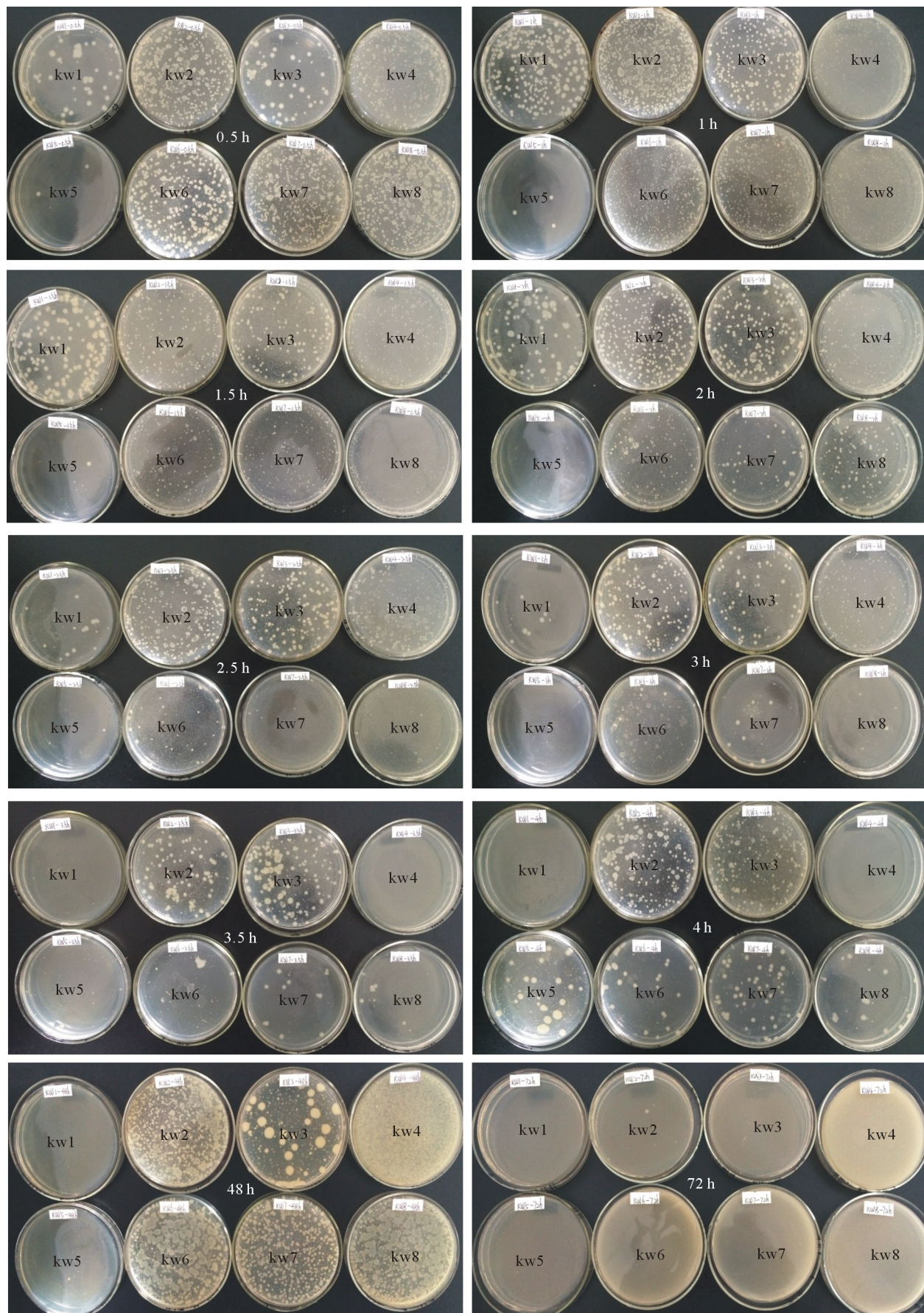


图 2 8 种硫酸头孢喹肟混悬液在同一时间点杀菌效果对比图

Fig. 2 Comparison of bactericidal effect of 8 kinds of cefquinoxime sulfate suspensions at the same time point

知,各个时间点 kw5 抑菌效果最佳,平皿菌落数最少;0.5 和 1 h 除 kw5 其他药物平皿中出现密集的菌落,数量不可计,而在随着时间从 1.5~48 h 时菌落数逐渐减少,在 72 h 时基本杀完菌落。

2.2.2 同一样品在不同时间杀菌效果 由图 3 中同一硫酸头孢喹肟混悬液的不同时间杀菌结果可知,各种药物在不同时间点抑菌效果均有所差异, kw1 在 0.5~4 h 内释放药物速度逐渐加快,在 4 h

释放药物浓度最大,抑菌效果最佳,彻底杀死混合菌。 kw2、kw3 在 4h 内释放药物浓度均不高,抑菌效果不佳,平皿中出现密集菌落。 kw5 在 0.5~3.5 h 内抑菌效果相对明显,但是在 4 h 后抑菌效果出现反弹,平皿中出现大片的菌落。而 kw4、kw6、kw7、kw8 在 3.5 h 时抑菌效果较好,其他时间点抑菌效果不理想。

2.2.3 杀菌培养计数结果 由表 1 中杀菌结果可

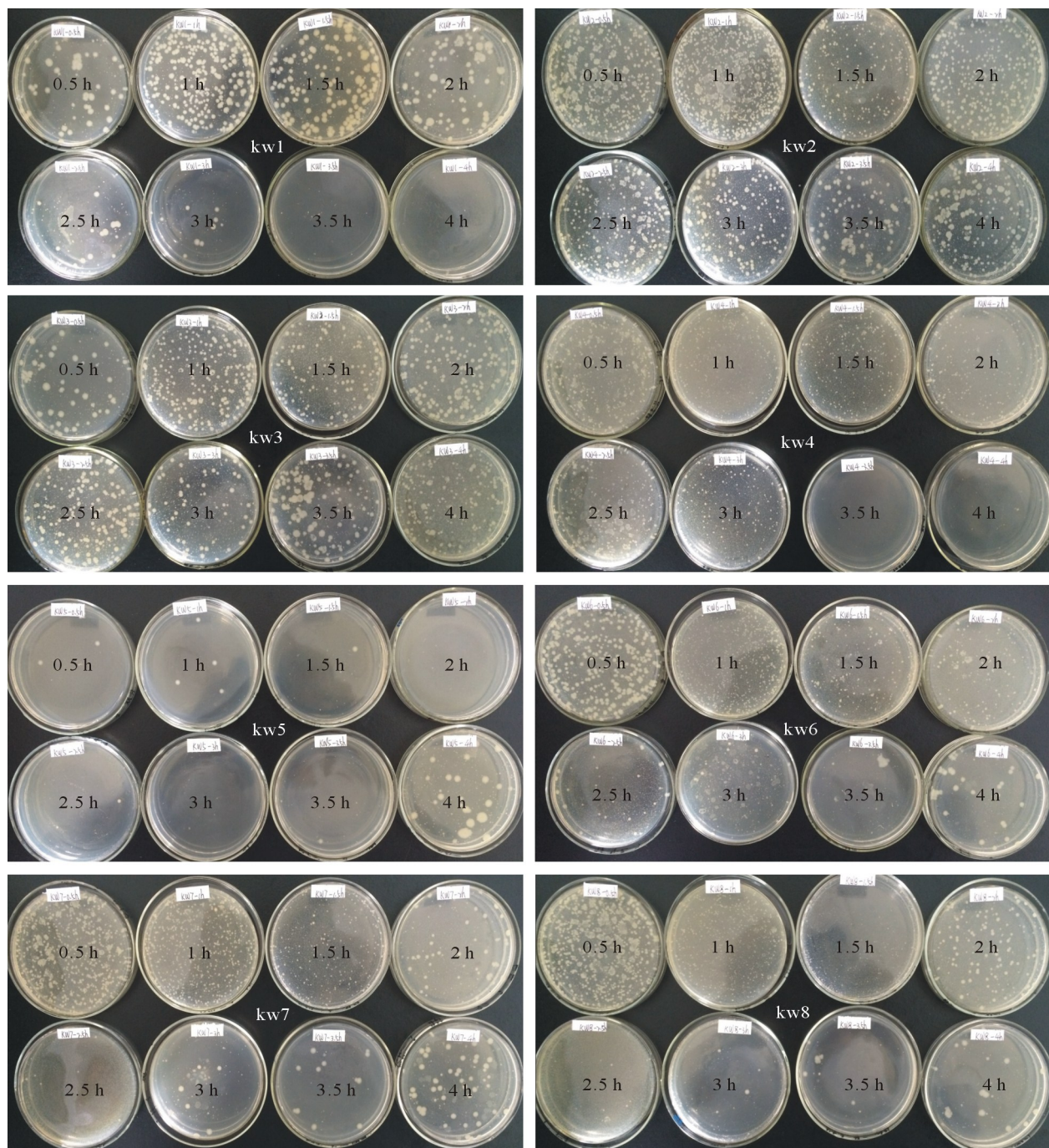


图 3 同一硫酸头孢喹肟混悬液的不同时间杀菌效果对比图

Fig. 3 Comparison of bactericidal effect of the same cefquinoxime sulfate suspension at different times

表 1 不同样品不同杀菌时间的细菌浓度培养观察结果

Table 1 Observation results of bacterial concentration culture in different samples for different sterilization time

试验 样品	不同杀菌时间的细菌菌落数										
	0.5 h	1 h	1.5 h	2 h	2.5 h	3 h	3.5 h	4 h	48 h	72 h	
kw1	288	1 008	868	744	319	216	92	42	—	—	
kw2	++	++	++	+	存在可辨的密集小点	1 576	1 472	2 080	密布大小不等的菌落	十几个稀疏的菌落生长	
kw3	545	+	存在可辨的密集小点	存在可辨的密集小点	存在可辨的密集小点	1 244	50	407	大菌落较少,中等大小菌落较多	细密的小菌落生长	
kw4	++++	++	++	++	++	存在可辨的密集小点	存在可辨的密集小点	+	满铺菌苔	密布生长成菌苔	
kw5	12	28	29	1	1	6	0	0	稀疏的约百个菌落生长	出现几十个细小的菌落生长	
kw6	+++	++	存在可辨的密集小点	存在可辨的密集小点	存在可辨的密集小点	散在分布满碟的各种菌落	172	220	密布菌落,大小不一	密布生长	
kw7	+++	++	存在可辨的密集小点	存在可辨的密集小点	存在可辨的密集小点	414	137	604	密布菌落,大小不一	密布生长	
kw8	+++	++	+	存在可辨的密集小点	存在可辨的密集小点	600	310	253	生长密布	密布生长	

注: +代表了细菌生长数量的密度; +越多越密。

知,各种药物在不同时间点抑菌效果均有所差异, kw1 在 4 h 内释放药物浓度大, 抑菌效果最佳, 4 h 彻底杀死混合菌, 48 h 后长出稀疏的菌落, 抑菌效果减弱。除过 kw1 外其余药物在 1 h 内抑菌效果均不佳, 在 3.5 h 左右抑菌效果有所提高。

3 讨论

由试验结果说明, kw5 释药速度最快, 杀菌较彻底, 4 h 时能够保持快速杀菌, 细菌未出现反长现象, 但维持时间较短。kw1、kw8 属于中等速度缓慢地释药, kw1 速度稍微较慢, 但是在 46 h 时药效下降, 菌量逐渐增多, 但是药效维持时间较长。kw8 在 4 h 时细菌数量仍在降低。kw2、kw3 前期释药杀菌速度中等, 但是维持时间较短, 均于检测 4 h 时抑菌活力下降, 细菌出现反长情况。kw6、kw7 于 3.5 h 之内的释药杀菌速度稍慢于 kw2、kw3, 于 3.5 h 后的抑菌作用未能持续维持, 4 h 的细菌数量又有所增加。kw4 释药杀菌速度平稳, 于 3.5 h 内持续中速杀菌且杀菌最多, 但是 4 h 后未能有效维持, 细菌数量开始增加。根据释药结果发现, kw1 杀菌速度适中且维持时间较长, 能够在 72 h 仍然保持细菌不会产生耐药反长。孙侃^[12]研究表明, 通过体外抑菌法研究硫酸头孢喹肟对鸭疫里默氏杆菌有很好的抑菌效果。郑朝朝等^[13]研究显示, 硫酸头孢

喹肟混悬剂对以金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、链球菌、多杀性巴氏杆菌等革兰氏阴性菌均有显著的体外抑菌效果。

国内外研究表明, 硫酸头孢喹肟对如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、放线杆菌、链球菌、肠杆菌等多种病原体都具有较好的抗菌活性, 但对红球菌和假单胞菌的活性受到限制。上述试验结果可知, 试验样品均对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、牛乳头分离的混合性菌等菌悬液具有不同的抑菌作用, 而且释药速度也不同。Zonca 等^[14]研究表明, 在奶牛乳房感染部位维持足够的抗生素药物浓度是乳腺炎治疗的关键, 通过将感染部位的药物浓度维持在最低抑菌浓度以上, 可以优化乳房内 β -内酰胺类药物的疗效。kw5 释药速度最快, 杀菌较彻底, 于 4 h 时能够保持快速杀菌, 细菌未出现反长现象, 但维持时间较短。kw1 速度稍微较慢, 药效维持时间较长, 适合持久杀菌, 相比其他几个试验样品效果更佳。

4 结论

本研究应用 HPLC 法进行不同硫酸头孢喹肟药物制剂对混合菌评价体外释药速度和抑菌效果, 综合结果可知, 以 kw1 试验药品采用先进的纳米技术制备工艺, 使其具有分散均匀、粒度小、长时间不沉淀、不分层等优点, 使硫酸头孢喹肟本身释药速度

慢,药学持久,治疗效果较佳,适宜推荐临床治疗使用。

参考文献:

- [1] 宋永强. 关于硫酸头孢喹肟在猪、牛体内的药理学研究综述[J]. 中兽医学杂志, 2023(7): 1-3.
- [2] 罗万和, 鞠牧洁, 冷楠楠, 等. 硫酸头孢喹肟纳米凝胶的制备及对大肠杆菌的抗菌活性[J]. 中国兽医学报, 2023, 43(6): 1 290-1 296.
- LUO W H, JU M J, LENG N N, et al. Preparation of cefquinome sulfate nanogels and antibacterial activity against *Escherichia coli*[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2023, 43(6): 1 290-1 296.
- [3] 路美玉, 赵世炜, 王成达, 等. 硫酸头孢喹肟研究进展[J]. 中国动物保健, 2023, 25(10): 115-116.
- [4] LU G F, YANG H F, LI Y J, et al. Pharmacokinetics of cefquinome sulfate suspension in pigs[J]. J Yangzhou University, 2007, 4(28): 18-20.
- [5] SWINKELS J M, COX P, SCHUKKEN Y H, et al. Efficacy of extended cefquinome treatment of clinical *Staphylococcus aureus* mastitis[J]. Journal of Dairy Science, 2013, 96(8): 4 983-4 992.
- [6] UNEY K, ALTAN F, ELMAS M. Development and validation of a high-performance liquid chromatography method for determination of cefquinome concentrations in sheep plasma and its application to pharmacokinetic studies[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011, 55(2): 854-859.
- [7] SONG I B, KIM T W, LEE H G, et al. Influence of the injection site on the pharmacokinetics of cefquinome following intramuscular injection in piglets[J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2013, 75(1): 89-92.
- [8] SWINKELS J M, LAM T J G M, GREEN M J, et al. Effect of extended cefquinome treatment on clinical persistence or recurrence of environmental clinical mastitis[J]. The Veterinary Journal, 2013, 197(3): 682-687.
- [9] THOMAS E, THOMAS V, WILHELM C. Antibacterial activity of cefquinome against equine bacterial pathogens[J]. Veterinary Microbiology, 2006, 115(1-3): 140-147.
- [10] 刘雪松, 陈亮, 冯万宇, 等. 硫酸头孢喹肟在安格斯牛体内药物代谢动力学研究[J]. 中国兽药杂志, 2021, 55(11): 39-46.
- LIU X S, CHEN L, FENG W Y, et al. Pharmacokinetics of cefquinome sulfate in Angus cattle[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2021, 55(11): 39-46.
- [11] 朱昊, 韦起壮, 陈云, 等. 硫酸头孢喹肟联合甲氧苄啶作用下金黄色葡萄球菌体外药效及适应性耐药研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2021(17): 1-5.
- ZHU H, WEI Q ZH, CHEN Y, et al. Study on the efficacy and adaptive resistance of *Staphylococcus aureus* under the action of cefquinome sulfate combined with trimethoprim *in vitro* [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2021(17): 1-5.
- [12] 孙侃. 硫酸头孢喹肟对鸭疫里默氏杆菌的体外抑菌活性测定[J]. 中国家禽, 2014, 36(9): 48-49.
- [13] 郑朝朝, 李辉, 王建平, 等. 硫酸头孢喹肟混悬剂的质量检验及体外抑菌实验[J]. 中国兽药杂志, 2009, 43(9): 11-15.
- ZHENG ZH ZH, LI H, WANG J P, et al. Quality control and antibacterial activities of cefquinome sulfate suspension *in vitro* [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2009, 43(9): 11-15.
- [14] ZONCA A, GALLO M, LOCATELLI C, et al. Cefquinome sulfate behavior after intramammary administration in healthy and infected cows[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(7): 3 455-3 461.