

李迎晓, 安 辉, 焦凤超, 等. 鸭大肠杆菌与沙门氏菌混合感染的分离鉴定及药敏试验[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 224–225.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.082

鸭大肠杆菌与沙门氏菌混合感染的分离鉴定及药敏试验

李迎晓¹, 安 辉², 焦凤超¹, 陈宏智¹

(1. 信阳农林学院动物科学系, 河南信阳 464000; 2. 河南省信阳市畜牧工作站, 河南信阳 464000)

摘要:利用细菌分离、生化鉴定及药敏试验方法, 从河南省信阳市鸭场病死鸭脑、脾脏中分离出鸭大肠杆菌和鼠伤寒沙门氏菌各 1 株。药敏试验结果显示, 分离菌对头孢曲松、黏杆菌素、左旋氧氟沙星、恩诺沙星、新霉素高度敏感; 对磺胺甲基异恶唑、洁霉素、强力霉素耐药。

关键词:鸭; 大肠杆菌; 沙门氏菌; 分离鉴定; 药敏试验; 人工感染试验

中图分类号: S858.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0224-02

鸭大肠杆菌病是由某些致病性大肠杆菌引起的较为常见的细菌性疾病。各种年龄的鸭均可感染鸭大肠杆菌病, 雏鸭最易感, 2~6 周龄多发, 发病率和死亡率较高, 在商品肉鸭中死亡率可高达 50% 左右, 成年鸭和种鸭则出现零星死亡现象^[1]。鸭沙门氏菌病别称鸭副伤寒, 是由鼠伤寒等几种沙门氏菌所引起的疾病总称, 属一种急性和慢性传染病, 主要引起雏鸭发病, 常呈地方性流行, 并可引起大批死亡^[2]。2014 年 3 月, 养殖户送检的表现为神经症状、腹泻、脾脏坏死的 10 日龄病死雏鸭, 经细菌分离培养、生化试验和致病性试验确定为鸭大肠杆菌与鼠伤寒沙门氏菌混合感染, 本研究将对混合感染的菌株进行鉴定, 并对其进行药敏性试验。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大肠杆菌标准菌株 ATCC25922、肠杆菌科生化鉴定管、药敏片、营养琼脂、营养肉汤、伊红美蓝琼脂、三糖铁琼脂和麦康凯琼脂培养基购自浙江省杭州市天和微生物试剂有限公司; 鲜血平板为在营养琼脂基础上加入 5% 无菌羊血配制而成; 试验所用的 7 日龄健康非免疫樱桃谷肉雏鸭购自河南华英集团公司。

1.2 试验方法

1.2.1 尸体剖检 对病死鸭进行尸体剖检, 记录眼观病理变化, 无菌采集脑、脾脏、肝脏、心脏病料, -20℃ 保存备用。

1.2.2 细菌分离培养 在无菌条件下取病死雏鸭脑、脾脏病料并接种于鲜血平板和麦康凯平板上, 再分别置于普通培养箱和烛缸中, 37℃ 培养 24 h, 革兰氏染色和瑞氏染色后镜检;

然后挑取单菌落接种于伊红美蓝琼脂平板、三糖铁琼脂斜面上, 37℃ 培养 20 h, 革兰氏染色后镜检。

1.2.3 生化试验 按肠杆菌科细菌生化鉴定管使用说明进行。

1.2.4 药敏试验 采用纸片扩散法(K-B法)进行^[3], 以大肠杆菌标准菌株 ATCC25922 为质控菌, 取适量被检细菌的培养物, 均匀涂布于营养琼脂表面, 待菌液吸收后, 贴上药敏纸片, 37℃ 培养 18 h, 观察结果, 并用游标卡尺测量抑菌圈直径, 根据抑菌圈直径判定细菌对药物的敏感性。

1.2.5 人工感染试验 挑取分离菌株纯培养物并接种于普通肉汤, 37℃ 振荡培养 18 h, 染色镜检后 4℃ 保存备用。取未免疫过疫苗的 7 日龄健康樱桃谷鸭作为试验对象(每组 10 羽, 共 30 羽)。试验组接种 0.5 mL/羽分离菌纯培养物, 含菌数约为 1.0 亿 CFU, 第 3 组为对照组, 接种等量的生理盐水。接种后观察 10 d, 记录发病和死亡情况。

2 结果与分析

2.1 病理剖检结果

病死雏鸭外观消瘦, 被毛粗乱, 主要表现为脾脏肿大、坏死, 肝脏肿大、瘀血, 部分病死雏鸭有轻微的肝周炎, 脑膜充血。卵黄吸收不良, 十二指肠、直肠黏膜充血。

2.2 细菌分离鉴定

从病死鸭脑和脾脏中分离出 2 株细菌, 其中 1 株在麦康凯琼脂上形成红色、圆形、隆起、光滑湿润、边缘整齐的中大小菌落; 三糖铁琼脂斜面培养基底层变黄, 斜面变黄, 同时产酸、产气; 在伊红美蓝琼脂上形成黑色、具有金属光泽的菌落; 生化鉴定分离菌可引起葡萄糖产酸、产气; 靛基质、甲基红、动力、产气、赖氨酸、鸟氨酸、棉子糖、山梨醇、木胶糖阳性, 硫化氢、枸橼酸盐、苯丙氨酸、葡萄糖酸盐、尿素、侧金花醇阴性, 对照《肠杆菌科细菌生化鉴定编码册》判定为大肠杆菌。另 1

收稿日期: 2014-06-04

基金项目: 河南省科技攻关项目(编号: 122102110022)。

作者简介: 李迎晓(1981—), 女, 河南洛阳人, 硕士, 讲师, 从事病原微生物与免疫学研究。E-mail: liyingxiao81@163.com。

[8] 于恩庶. 弓形虫病学[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1992: 3-6.

[9] 肖 达. 氯苯胍对体外弓形虫的作用[J]. 中国人兽共患病杂志, 1991, 7(5): 64.

[10] Moreno S N, Li Z H. Anti-infectives targeting the isoprenoid pathway of *Toxoplasma gondii*[J]. Expert Opin Ther Targets, 2008, 12

(3): 253-263.

[11] 宋贤明, 万红娇, 杨翠萍. 中药抗弓形虫感染的研究思路与方法[J]. 江西中医学院学报, 2006, 18(1): 76-78.

[12] 游运辉, 欧阳颖, 向选东. 用蒿甲醚治疗实验小鼠急性弓形虫感染的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2000, 10(6): 35-36.

株在麦康凯琼脂上形成无色、圆形、隆起、光滑湿润、边缘整齐
的中等大小菌落;三糖铁琼脂斜面培养基层变黑,斜面变
红,同时产酸、产气;在伊红美蓝琼脂上形成无色菌落;生化鉴
定分离菌可引起葡萄糖产酸、产气;赖氨酸、鸟氨酸、硫化氢、
枸橼酸盐、山梨醇、木胶糖、动力和产气阳性,靛基质、苯丙氨
酸、葡萄糖酸盐、尿素、侧金花醇、甲基红、棉子糖阴性,对照
《肠杆菌科细菌生化鉴定编码册》判定为鼠伤寒沙门氏菌。

2.3 药敏试验

采用 K-B 法进行,具体结果见表 1。

表 1 药敏试验结果

药物名称	抑菌圈直径(mm)	
	鸭沙门氏菌	鸭大肠杆菌
磺胺甲基异恶唑	6	5
洁霉素	6	0
黏杆菌素	25	17
左旋氧氟沙星	27	23
丁胺卡那	24	18
氟苯尼考	12	10
头孢曲松	20	21
庆大霉素	18	14
恩诺沙星	22	24
新霉素	18	19
强力霉素	9	0

注:抑菌圈直径 10 mm 以下为耐药(不敏感);10~15 mm 为中
度敏感;15 mm 以上为高度敏感。

2.4 人工感染试验结果

大肠杆菌试验组接种 24 h 后,开始出现精神沉郁、行动
迟缓症状,72~120 h 全部发病、部分病鸭死亡。剖检死鸭有
或轻或重的纤维素性心包炎、气囊炎、肝周炎;沙门氏菌试验
组接种 24 h 后,开始出现精神沉郁、腹泻症状,72 h 后全部发
病,部分出现死亡,剖检死鸭可见肝脾肿大、坏死及脑膜充血。
对死亡鸭进行细菌分离、染色镜检,结果与前期指标符合。

(上接第 221 页)

参考文献:

[1]Lowe J B,Marth J D. A genetic approach to mammalian glycan func-
tion[J]. Annual Review of Biochemistry,2003,72(1):643-691.
[2]Bertozi C R,Kiessling L L. Chemical glycobiology[J]. Science,
2001,291(5512):2357-2364.
[3]谢明勇,聂少平. 天然产物活性多糖结构与功能研究进展[J].
中国食品学报,2010,10(2):1-11.
[4]Thekisoe M M,Mbati P A,Bisschop S P. Different approaches to the
vaccination of free ranging village chickens against Newcastle disease
in Qwa-Qwa, South Africa[J]. Veterinary Microbiology,2004,101
(1):23-30.
[5]郭振环,胡元亮,马霞,等. 硫酸化香菇多糖对新城疫疫苗免疫
效果的影响[J]. 南京农业大学学报,2010,33(1):76-80.
[6]王学斌,陈功义,魏战勇,等. 黄芪多糖粉剂和注射剂对雏鸡免疫
功能和生长的影响比较[J]. 中国家禽,2007,29(3):21-23.
[7]梁英,姜宁,何雯娟,等. 黄芩多糖对肉仔鸡生长性能和免疫

3 结论与讨论

药敏试验结果显示,分离菌对头孢曲松、黏杆菌素、左旋
氧氟沙星、恩诺沙星和新霉素高度敏感;对氟苯尼考中敏;对
磺胺甲基异恶唑、洁霉素和强力霉素耐药。这和当地养殖户
喜欢使用氟苯尼考+强力霉素或复方磺胺的用药方案有关。
而分离菌虽然对左旋氧氟沙星和恩诺沙星高度敏感,但由于
鸭群在使用氟喹诺酮类药物以后,若剂量掌握不好,容易发生
光敏作用而导致鸭群发生“喙畸形或变形”,因此养殖户使用
这些药物比较谨慎。可见,定期开展常见病原菌的耐药性监
测对于指导养殖户科学用药具有重要意义。

鸭大肠杆菌病和鸭沙门氏菌病是雏鸭常发病,具有较高的
发病率和死亡率。信阳市是河南省主要的水禽集散地,近年
来随着养殖规模的不断扩大和养殖品种的复杂化,以及种
源病原净化不彻底等因素,当地的养殖环境特别是水体环境
逐渐恶化,再加上饲养管理不规范、抗菌药物的不合理使用,
导致鸭大肠杆菌病、鸭沙门氏菌病和鸭疫里氏杆菌病等疾
病的发生呈现常态化、复杂化。而一些新发传染病如鸭脾坏
死症在实验室接诊的病例中出现的比例不断扩大,更增加了
疾病诊断和防控的难度^[4]。综合以上因素,雏鸭大肠杆菌病、
沙门氏菌病等传染病的防治有赖于洁净的种源、规范的饲养
环境和饲养管理措施、血清型对应的免疫接种程序以及规范
的药物使用制度。

参考文献:

[1]蒋新华,张文波,熊莉娟,等. 一株鸭致病性大肠杆菌的分离鉴定
及耐药分析[J]. 中国家禽,2012,34(5):20-22.
[2]陈伯伦. 鸭病[M]. 北京:中国农业出版社,2008.
[3]桂炳东,孙敬,徐建民. 细菌药物敏感性试验测定手册[M]. 南
昌:江西科学技术出版社,2001.
[4]丁孟建,陈绩,赵青剑,等. 雏鸭沙门氏菌病原分离鉴定及耐
药性检测[J]. 中国家禽,2013,35(11):45-46.
功能的影响[J]. 动物营养学报,2010,22(4):1031-1036.
[8]赫刚. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能与免疫功能的影响[J]. 中国
饲料,2005(24):19-21.
[9]薛峰,吴圣龙,唐应华,等. 不同免疫程序的鸡群新城疫和禽流
感抗体水平与免疫保护之间的相关性试验[J]. 中国兽医杂志,
2005,41(9):23-25.
[10]邱妍,崔保安,胡元亮,等. 4 种多糖对免疫雏鸡抗体效价和 T
淋巴细胞的影响[J]. 南京农业大学学报,2008,31(1):77-81.
[11]Wang Deyun,Hu Yuanliang,Sun Junling,et al. Comparative study
on adjuvanticity of compound Chinese herbal medicinal ingredients
[J]. Vaccine,2005,23(28):3704-3708.
[12]Kim H M,Han S B,Oh G T,et al. Stimulation of humoral and cell
mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linte-*
us[J]. International Journal of Immunopharmacology,1996,18(5):
295-303.
[13]王德云,胡元亮,张宝康,等. 几种中药成分与 IL-2 免疫协同
作用的比较[J]. 南京农业大学学报,2005,28(3):140-142.