

葛爱民,姜八一,崔晓娜,等. 威海地区水貂绿脓杆菌的血清型鉴定及药敏试验[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):202-203.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.066

威海地区水貂绿脓杆菌的血清型鉴定及药敏试验

葛爱民,姜八一,崔晓娜,刘新勃

(山东畜牧兽医职业学院,山东潍坊 261061)

摘要:从山东威海地区多个水貂养殖场和养殖户采集到疑似出血性肺炎的病死貂肺、肝、脾等组织病料 91 份,通过生化试验和血清型鉴定了 86 株绿脓杆菌,其中 83 株定型,覆盖了 G、B、C 3 种血清型,以 G 型为优势血清型。对 86 株绿脓杆菌进行药敏试验,结果表明,在 15 种受试药物中,对阿米卡星、强力霉素、氧氟沙星敏感度较高;对环丙沙星、硫酸妥布霉素、庆大霉素中度敏感;对恩诺沙星、红霉素、磺胺嘧啶钠、多黏菌素 B、氟苯尼考等敏感度差。

关键词:威海地区;水貂;绿脓杆菌;血清型鉴定;药敏试验

中图分类号: S858.92 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)06-0202-02

山东威海地区水貂养殖起步早,规模大,但疫病流行一直是影响养殖效益的重要因素之一。近几年,随着犬瘟热、病毒性肠炎等病毒性疾病得到有效控制后,绿脓杆菌引起的水貂出血性肺炎等细菌病造成的危害越来越大,该病从 1950 年开始在世界多个国家流行,潘镰生在国内首次报道了该病^[1],2000 年以后,我国辽宁、吉林、黑龙江、河北、山东等地水貂养殖场相继发生了水貂出血性肺炎^[2]。药物防治一直是控制水貂出血性肺炎的主要手段,但由于近几年抗菌药物的不合理使用,笔者在威海地区碰到最多的问题是很多养殖场反映常用抗菌药物对该病防治效果较差,细菌耐药性越来越普遍。本研究对威海地区水貂出血性肺炎的流行情况进行调查研究,旨在为威海地区水貂出血性肺炎的防治提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 病料 取自山东省威海各县区水貂养殖场疑似出血性肺炎的病死貂肺、心血、肝、脾等组织,共 91 份。

1.1.2 试剂 普通营养琼脂、兔鲜血琼脂,购自上海医药试剂公司,按常规方法自制平板;葡萄糖、蔗糖、乳糖、甘露醇等微量生化发酵管,购自杭州天和微生物试剂有限公司;绿脓杆菌血清分型用标准阳性血清(日本生研株式会社);多黏菌素 B、环丙沙星等药敏纸片,购自杭州天和微生物试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细菌分离 无菌操作取病料划线接种于普通营养琼脂平板、兔鲜血琼脂平板,37℃培养 18~24 h。挑取单个菌落,进行革兰染色、镜检。

1.2.2 生化试验 挑取 86 株待检菌株单菌落接种葡萄糖、

蔗糖、乳糖、甘露醇等微量生化发酵管进行生化项目测定,反应条件按说明书进行。

1.2.3 分离菌血清型鉴定 采用玻片凝集试验,按血清分型用试剂盒操作说明鉴定所有细菌分离株。

1.2.4 药敏试验 在普通营养琼脂平板表面均匀涂抹培养的待检绿脓杆菌,再将多黏菌素 B、环丙沙星等药敏纸片贴于培养基表面,37℃恒温箱培养 16~18 h 后,用游标卡尺测量各药敏纸片的抑菌圈直径,并记录结果(判定标准:抑菌圈直径 ≥ 23 mm 为高敏,抑菌圈直径在 18~22 mm 为敏感,抑菌圈直径在 15~17 mm 为中敏,抑菌圈直径在 13~14 mm 为低敏,抑菌圈直径 ≤ 12 mm 为耐药)。

2 结果与分析

2.1 细菌分离

86 株水貂绿脓杆菌分离株在普通营养琼脂平板上均生长良好,形成光滑、稍隆起或扁平、边缘呈波状的中等大小菌落。革兰染色后镜检可见数量不一的红色、单个、成双或呈短链状排列的中等大小无芽孢杆菌(图 1)。

2.2 生化试验

86 株待检菌检验结果基本一致,检验结果符合绿脓杆菌的生化特性(表 1)。

2.3 血清型鉴定

通过玻片凝集试验对分离到的 86 株绿脓杆菌进行鉴定,其中 83 株凝集反应明显,定型率为 97%。83 株中有 70 株为 G 型,9 株为 B 型,4 株为 C 型(表 2)。

2.4 药敏试验

表 3 结果显示,86 株水貂绿脓杆菌分离株对 15 种药物均出现不同程度的耐药性。其中对阿米卡星、强力霉素、氧氟沙星敏感度较高;对环丙沙星、硫酸妥布霉素、硫酸庆大霉素敏感度次之;对恩诺沙星、红霉素、磺胺嘧啶钠、多黏菌素 B、氟苯尼考、安普霉素、头孢噻吩钠、替米考星、链霉素敏感度差。

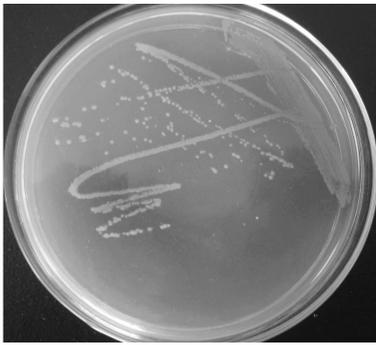
3 讨论

由于绿脓杆菌血清型较多,在灭活苗使用方面经常会由于不对型的问题造成免疫失败。应用日本生研株式会社的分

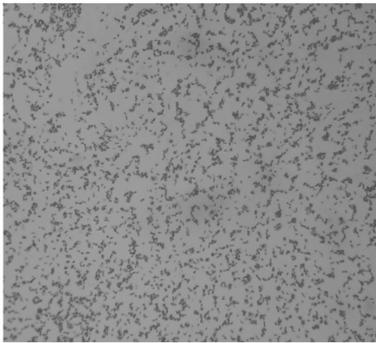
收稿日期:2014-11-27

基金项目:山东省现代农业产业技术体系毛皮动物创新团队潍坊综合试验站项目(编号:SDAIT-18-011-13)。

作者简介:葛爱民(1972—),男,河北滦县人,讲师,主要从事动物疫病防治与动物检疫研究。Tel:(0536)3086419;E-mail:sdmxgam@163.com。



A.水貂绿脓杆菌培养



B.水貂绿脓杆菌形态

图1 病死貂脏器绿脓杆菌分离培养与挑取菌落镜检

表1 86株待检菌生化试验结果

鉴定项目	结果
氧化酶	+
触酶	+
硝酸盐(还原)	+
明胶	+
葡萄糖	+
麦芽糖	-
蔗糖	-
乳糖	-
淀粉	-
甘露醇	-
M. R 试验	-
V - P 试验	-

注：“+”为阳性，“-”为阴性。

表2 威海地区不同地域水貂绿脓杆菌的血清型

地区	菌株数	血清型
文登	41	G(35)、B(4)、C(2)
乳山	20	G(14)、B(2)、C(2)、未定型(2)
荣成	25	G(21)、B(3)、C(0)、未定型(1)

型试剂盒进行分型,查明威海地区水貂绿脓杆菌目前流行的为G、B、C型,这与我国目前多个地方报道的主要流行血清型基本一致。2011年白雪等对45株水貂绿脓杆菌进行分型发现G型有42株(占93.4%)、B型有2株(占4.4%)和I型1株(占2.2%)^[2]。2011—2013年马俊等对425株绿脓杆菌进行了分型,其中G型376株,占88.5%;B型34株,占8%;C型12株,占2.8%;E型3株,占0.7%^[3]。以上说明在不同地区、不同时间检测发现G、B、C型为我国主要流行血清型,这为多价灭活疫苗的生产提供了参考依据。

表3 86株水貂绿脓杆菌的药敏试验结果

药物	菌株数(株)				
	++++	+++	++	+	-
阿米卡星	52	18	9	6	1
强力霉素	45	26	6	6	3
氧氟沙星	40	32	5	2	7
环丙沙星	36	29	8	6	7
硫酸妥布霉素	25	25	15	11	10
硫酸庆大霉素	11	22	18	25	10
恩诺沙星	15	15	12	33	11
红霉素	2	7	15	38	26
磺胺嘧啶钠	0	8	12	29	37
多黏菌素B	6	7	14	33	26
氟苯尼考	0	4	5	9	68
安普霉素	0	0	3	2	81
头孢噻肟钠	0	0	2	0	84
替米考星	0	0	0	0	86
链霉素	0	0	0	0	86

注：“++++”为高敏，“+++”为敏感，“++”为中敏，“+”为低敏，“-”为耐药。

绿脓杆菌的耐药性一直是影响水貂出血性肺炎治疗效果的重要因素,每年因耐药问题造成的经济损失非常大。由于该菌为条件致病菌,与各种抗菌药物接触的机会多,再加上养殖户滥用抗菌药物,耐药性产生相对容易,且易产生多重耐药。因此,水貂绿脓杆菌耐药性问题一直是很多学者研究的重点。2011年郭玉广等试验发现硫酸阿米卡星、硫酸庆大霉素高敏(抑菌环 ≥ 23 mm),丙氟哌酸、氟哌酸、奥复兴中敏(抑菌环为15~22 mm),氟苯尼考、左氧氟沙星、头孢氨噻肟、菌必治耐药(抑菌环 ≤ 12 mm)^[4]。2013年张满其等试验发现强力霉素、丁胺卡那霉素高敏,磺胺嘧啶、新霉素、诺氟沙星中敏,环丙沙星、红霉素耐药^[5]。本研究结果显示,15种药物中,高敏药物有阿米卡星、强力霉素和氧氟沙星,耐药药物有恩诺沙星、红霉素、磺胺嘧啶钠、多黏菌素B、氟苯尼考、安普霉素等,说明威海地区水貂绿脓杆菌耐药性比较严重,为临床防治水貂出血性肺炎造成了选药困难。

本次研究选用的86株水貂绿脓杆菌是从威海所辖的文登、乳山、荣成3个县的多个乡镇水貂出血性肺炎病貂中分离到的,基本反映威海地区水貂绿脓杆菌的血清型及药物敏感情况,此研究结果对威海地区水貂出血性肺炎的防治具有一定的参考价值,笔者根据试验结果在文登地区选择敏感药物对水貂出血性肺炎病例进行早期治疗取得了非常好的效果。

参考文献:

- [1] 潘镰生. 水貂假单胞菌脂多糖菌苗研制初报[J]. 经济动物学报, 1984(1): 1-3.
- [2] 白雪, 柴秀丽, 闫喜军, 等. 水貂绿脓杆菌分离株的生物学特性和血清型分析[J]. 畜牧与兽医, 2011, 43(7): 31-35.
- [3] 马俊, 张超, 曲新泽, 等. 水貂绿脓杆菌的分离与鉴定[J]. 中国动物传染病学报, 2014, 22(1): 44-49.
- [4] 郭玉广, 党启峰, 李昌友, 等. 一例由绿脓杆菌引起的水貂出血性肺炎的诊治[J]. 中国动物检疫, 2011, 28(12): 63-64.
- [5] 张满其, 李大旁. 水貂出血性肺炎的诊治[J]. 兽医导刊, 2013(6): 63.