

李淑红,吴梦婷,彭敬,等. 湘西北某规模化猪场母猪子宫内膜炎金黄色葡萄球菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 江苏农业科学,2020,48(18):175-177.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.18.035

# 湘西北某规模化猪场母猪子宫内膜炎金黄色葡萄球菌的分离鉴定及耐药性分析

李淑红<sup>1</sup>, 吴梦婷<sup>1</sup>, 彭敬<sup>2</sup>, 王京仁<sup>1</sup>

(1. 湖南文理学院生命与环境科学学院, 湖南常德 415000; 2. 湖南省常德市惠生肉业有限公司, 湖南常德 415000)

**摘要:**为查明湘西北某规模化猪场母猪子宫内膜炎的主要病原菌,对 8 头患病母猪子宫化脓性分泌物中病原菌采用培养、鉴别、纯化、革兰氏染色和生化试验等方法进行分离与鉴定;并对分离菌采用药物纸片琼脂扩散法进行药敏试验。结果表明,分离出 8 株金黄色葡萄球菌。28 种抗菌药中金黄色葡萄球菌对头孢唑啉、多黏菌素 B、丁胺卡那等 3 种药物表现为中介,中介率为 10.71%,金黄色葡萄球菌对其他 25 种药物均产生耐药性,耐药率为 89.29%。说明金黄色葡萄球菌是引起该场母猪子宫内膜炎化脓感染的主要致病菌之一,临床上金黄色葡萄球菌对多种抗菌药产生了耐药性,应引起高度重视。

**关键词:**母猪子宫内膜炎;金黄色葡萄球菌;分离鉴定;耐药性;药敏试验

**中图分类号:** S855.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)18-0175-02

母猪子宫内膜炎是母猪繁殖障碍最主要的细菌感染性疾病之一,主要由致病微生物入侵母猪子宫黏膜表层或深层,引起子宫黏膜发生黏液性或化脓性炎症<sup>[1]</sup>,如不及时治疗和控制会给养猪场造成较大的经济损失。湘西北某规模化猪场发生多头母猪子宫内膜炎病情,为查明引起该猪场母猪子宫内膜炎化脓感染的主要病原菌,对患有子宫内膜炎的母猪子宫化脓性分泌物进行细菌的分离鉴定和药敏试验,分析病因,以期为该猪场母猪子宫内膜炎提供防治方案。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 病料来源 湘西北某规模化猪场患有子宫内膜炎化脓症状明显的 8 头母猪。

1.1.2 试剂 营养肉汤(NB)、营养琼脂(NA)、甘露醇氯化钠琼脂、血液营养琼脂、麦康凯培养基(MAC)、伊红-美兰培养基(EMB)、SS 琼脂培养

基、亚硫酸铋琼脂(BS)、葡萄球菌属细菌生化鉴定管、结晶紫、番红、碘液、香柏油、95%乙醇等,均由杭州天和微生物试剂有限公司生产。

1.1.3 药敏纸片 环丙沙星、米诺环素、氧氟沙星、氨苄西林、庆大霉素、四环素、红霉素、丁胺卡那、头孢他定、头孢哌酮、万古霉素、头孢曲松、头孢呋辛、头孢唑啉、复方新诺明、诺氟沙星、麦迪霉素、新霉素、羧苄西林、青霉素、头孢拉定、苯唑西林、克林霉素、多西环素、哌拉西林、头孢氨苄、卡那霉素、多黏菌素 B 等 28 种常见药敏试纸,均购自杭州天和微生物试剂有限公司。

1.1.4 主要仪器 电子天平(BS223S),购自北京赛多利斯仪器系统有限公司;净化工作台(JH-1),购自北京科伟永兴仪器有限公司;立式压力蒸汽灭菌器(BXM-30R),购自上海博迅医疗生物仪器股份有限公司;生化培养箱(LRH-150),购自上海一恒科学仪器有限公司等。

### 1.2 试验方法

1.2.1 病料的采集 选取患病症状明显的 8 头母猪,对外阴消毒后采用无菌棉拭子插入病猪阴道,旋转取其脓汁,迅速放入装有灭菌营养肉汤的 8 支试管内,封盖贴标签,带回实验室放入 37℃ 恒温箱中培养 18~24 h。

1.2.2 细菌的分离培养 取少量用营养肉汤培养

收稿日期:2019-11-22

基金项目:常德市农业生物大分子研究中心资助项目;湖南省科技厅科技特派员项目(编号:2015NK2116)。

作者简介:李淑红(1964—),女,山东禹城人,硕士,教授,主要从事动物病症防治与保健方面的教学与研究。E-mail:752635080@qq.com。

基培养 24 h 的菌液,分别接种于营养琼脂、甘露醇氯化钠琼脂、血液营养琼脂、麦康凯培养基、伊红 - 美兰培养基、SS 琼脂培养基、亚硫酸铋琼脂等培养基中,置于 37 ℃ 恒温箱中培养 18 ~ 24 h,观察细菌生长结果及形态特征。

1.2.3 革兰氏染色 挑取培养基上黄色单菌落涂片,革兰氏染色后,在显微镜下观察菌体大小、染色特征等。

1.2.4 生化试验 将疑似金黄色葡萄球菌接种至葡萄菌属细菌生化鉴定管中,37 ℃ 恒温箱培养 18 ~ 24 h,观察并记录结果。

1.2.5 药敏试验 选 28 种药物敏感试纸,采用纸片琼脂扩散法进行药物敏感性试验<sup>[2]</sup>,记录结果。抗菌药纸片种类、含药量及判定标准均参照文献,药物敏感性判定标准分为 3 级,分别为敏感(S)、中介(I)和耐药(R)<sup>[3]</sup>。

2 结果与分析

根据细菌在各培养基上的形态特征、生化反应及革兰氏染色结果<sup>[4-5]</sup>,初步判断该猪场 8 头母猪病样分离的细菌为大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、绿脓杆菌等 4 种。其中,大肠杆菌和金黄色葡萄球菌检出率为 100.0%,沙门氏菌的检出率为 40.0%,绿脓杆菌检出率为 12.5%。

2.1 金黄色葡萄球菌分离鉴定结果

疑似金黄色葡萄球菌在营养琼脂、甘露醇氯化钠琼脂和血液营养琼脂平板上均长出表面湿润、圆形突起、光滑的黄色菌落,在血液营养琼脂平板上有溶血现象。菌株生化反应结果显示,细菌对蔗糖、甘露醇、甘露糖、乳糖、果糖、麦芽糖、蔗糖、硝酸盐等的反应均为阳性,对尿素、木糖等的反应均为阴性。显微镜下观察呈紫色,成单、成双、多数呈葡萄串状排列,为革兰氏阳性球菌,结合文献[4-5]符合金黄色葡萄球菌的特征。

2.2 药敏试验结果

由表 1 可知,金黄色葡萄球菌对头孢唑啉、多黏菌素 B、丁胺卡那等 3 种药物的敏感性为中介,中介率为 10.71%,在临床中可加大使用剂量;青霉素等其他 25 种药物对金黄色葡萄球菌产生耐药性,耐药率为 89.29%。

3 讨论

金黄色葡萄球菌是自然界中常见的革兰氏阳

表 1 金黄色葡萄球菌药敏试验结果

药物名称	抑菌圈直径 (mm)	敏感性	药物名称	抑菌圈直径 (mm)	敏感性
环丙沙星	7	R	麦迪霉素	—	R
米诺环素	13	R	新霉素	7	R
氧氟沙星	6	R	羧苄西林	7	R
头孢哌酮	7	R	青霉素	7	R
氨苄西林	6	R	头孢拉定	7	R
庆大霉素	—	R	丁胺卡那	18	I
万古霉素	—	R	苯唑西林	6	R
头孢曲松	8	R	克林霉素	7	R
头孢呋辛	7	R	多黏菌素 B	15	I
四环素	—	R	多西环素	6	R
头孢唑啉	15	I	头孢他定	12	R
复方新诺明	6	R	哌拉西林	6	R
红霉素	—	R	头孢氨苄	7	R
诺氟沙星	—	R	卡那霉素	6	R

注:“—”表示无抑菌环出现。

性菌,主要引起局部组织化脓性感染、败血症、心内膜炎等全身感染,也是引起母猪子宫内膜炎的主要致病菌<sup>[6]</sup>。

本次试验在化脓症状明显的 8 头母猪中均分离检测到金黄色葡萄球菌,检出率为 100.0%,说明金黄色葡萄球菌是引起该规模化猪场母猪子宫内膜炎化脓感染的主要致病菌之一。近年来,由于抗菌药物在猪场广泛应用,导致金黄色葡萄球菌耐药性逐年增加,菌株耐药性恶化,致使金黄色葡萄球菌导致的病害预防和治疗难度加大<sup>[7]</sup>。试验选用的 28 种药物敏感性试验结果表明,分离出的 8 株金黄色葡萄球菌对 25 种抗菌药产生耐药性,只对头孢唑啉、多黏菌素 B、丁胺卡那等 3 种药物为中度敏感,这与孙龙等报道药敏试验结果<sup>[6,8]</sup>存在差异。据调查该猪场长期使用青霉素类、头孢类及喹诺酮类等抗菌药用于防治母猪子宫内膜炎,随时间推移,疗效不佳,通过试验可知该猪场病猪分离的金黄色葡萄球菌对多种抗菌药物产生耐药性,且耐药率高达 89.29%,应在兽医临床引起高度重视。在依靠抗菌药物治疗患子宫内膜炎的病猪时一定不能盲目用药,应分离病原菌做药物敏感性试验,筛选敏感药物,做到选药准确,药物剂量和疗程达到标准。另外,在母猪生产中使用药物进行产后保健时应避免长期使用某一种抗菌药物,遵循交叉用药、轮换用药和配伍用药的原则,尽量减少细菌耐药性的产生<sup>[6]</sup>,也可选用有抗菌消炎作用的中草药用于母猪

刘云迎,刁小龙,陈坚,等. 鸽新城疫灭活疫苗效力评价中实验鸽的筛选[J]. 江苏农业科学,2020,48(18):177-180.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.18.036

# 鸽新城疫灭活疫苗效力评价中实验鸽的筛选

刘云迎,刁小龙,陈坚,屠颀,何海蓉

(中崇信诺生物科技泰州有限公司,江苏泰州 225300)

**摘要:**为解决鸽新城疫灭活疫苗免疫效力评价中的标准鸽缺失问题,筛选满足要求的试验鸽。2019年3月对鸽场饲养管理和鸽群发病史情况进行调研,筛选合格鸽场;采血进行鸽新城疫抗体检测,排除高母源抗体鸽群;进一步检测鸽圆环、鸽腺病毒和鸽痘,排除感染上述易感病原鸽群;最后对选定的鸽隔离饲养一定时间,排除潜在的病原感染;采用筛选鸽进行鸽新城疫灭活疫苗免疫攻毒试验,验证是否满足试验的需求。通过调研,确定3家鸽场,从1月龄左右鸽群中随机选择50羽健康鸽进行检测,ND母源抗体为0~1:32不等,均无鸽腺病毒感染,但有个别鸽存在圆环抗体或携带鸽痘病毒。从其中2家鸽场购回HI抗体 $\leq 1:4$ ,且无其他病原感染风险的鸽各25羽进行鸽新城疫灭活疫苗免疫攻毒试验,血清学检测结果显示,免疫组鸽免后28 d ND HI抗体在1:16~1:64之间,均值在1:32以上;攻毒保护结果为,免疫组17/20~19/20保护,对照组均5/5发病,3~4羽死亡。通过鸽场调研初筛、新城疫HI抗体检测、鸽常见病原检测、隔离观察等步骤筛选的实验鸽可满足鸽新城疫灭活疫苗效力评价试验的要求,且结果稳定可靠。通过该研究筛选的实验鸽,满足试验需求、提高研究结果的可靠性和重复性,并在保证鸽用疫苗质量方面具有重要意义。

**关键词:** 鸽新城疫灭活苗;效力评估;实验鸽;筛选研究

**中图分类号:** S858.91 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)18-0177-04

实验动物是生物制品研发、生产和检验的重要原材料之一,实验动物的品质直接影响动物试验结果。我国是实验动物生产和使用大国,但我国自主培育的实验动物种质资源很少,标准化与社会化程度低。目前,国际上公认的陆禽类实验动物,只有无特定病原体(specific pathogen free, SPF)鸡,其他

禽类如鸭、鸽、鹅等既无标准也无级别,因标准试验动物的缺失,严重限制了相关预防及治疗性产品的开发。

近几年,随着我国养鸽业的迅速发展,对鸽疾病的研究越来越多。鸽I型副黏病毒病(Pigeon Paramyxovirus I, PPMV-I)俗称鸽瘟,又称鸽新城疫,是由鸽I型副黏病毒引起的一种急性、热性、高度接触性传染病。各种品种、日龄鸽均可感染。该病流行期长,具有发病快、发病率和死亡率高的特点。病死率为30%~80%,严重时死亡率可达95%以上。近年来鸽新城疫流行病学调查显示,我国鸽群中流行的鸽新城疫病毒均以基因VIb亚型

收稿日期:2019-11-08

基金项目:江苏省泰州市科技支撑计划(农业)项目(编号:SNY20190069)。

作者简介:刘云迎(1988—),女,山东滨州人,硕士,兽医师,主要从事新兽药研发与应用研究。E-mail:liuyunying@xnswkj.cn。

通信作者:何海蓉,博士,高级兽医师,主要从事禽病诊断、疫苗研发与评价研究。E-mail:hehairong@xnswkj.cn。

的生产保健提高抗病性,这样才能更有效地预防和治疗规模化猪场母猪子宫内膜炎,提高猪场的经济效益。

## 参考文献:

- [1] 于桂阳,郑春芳,覃开权. 一例母猪子宫内膜炎病原菌的分离与药敏试验[J]. 今日畜牧兽医,2019,35(2):9-10.
- [2] 李淑红,王京仁,成钢,等. 常德市某规模化奶牛场奶牛绿脓杆菌的分离鉴定及药物敏感性分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2019(5):98-100.

- [3] 美国临床和实验室标准化委员会. 抗微生物药物敏感性试验执行标准:第14版信息增刊M100-S14[S]. 2004.
- [4] 陆承平. 动物微生物学[M]. 5版. 北京:中国农业出版社,2012.
- [5] 周庭银. 临床微生物学诊断与图解[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社,2007.
- [6] 孙龙,曹玉美,伍少钦,等. 母猪子宫内膜炎致病菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 养猪,2016(1):121-123.
- [7] 李一鹏,宫晓红,周娜. 金黄色葡萄球菌的临床分布特点及耐药性分析[J]. 中国现代药物应用,2019,13(3):237-238.
- [8] 郑立栋,孙红祥,李君策,等. 母猪子宫内膜炎病原检测与药敏试验[J]. 养猪,2001(2):40-41.