河南农业科学,2014,43(8):130-132
Journal of Henan Agricultural Sciences

鸡白痢沙门氏菌的分离鉴定及耐药性分析

温海燕
(菏泽学院 药物科学与技术系,山东 菏泽 274015)

摘要:采集菏泽地区发病鸡场疑似鸡白痢病鸡的泄殖腔棉拭子,进行细菌分离,并对分离细菌进行生化鉴定、血清型鉴定和药敏试验。结果显示,分离得到32株鸡白痢沙门氏菌,其中16株O_9、10株O_1、6株O_{12},分别占50%、31.25%、18.75%;分离株对头孢噻肟、丁胺卡那霉素、多黏菌素B表现出高敏感性,敏感菌株的比率分别为93.8%、90.6%、84.4%,对四环素、磺胺嘧啶、诺氟沙星表现出高的耐受性,耐受菌株的比率分别为100%、78.1%、71.9%。可见,头孢噻肟、丁胺卡那霉素、多黏菌素B可作为菏泽地区养鸡场防治鸡白痢沙门氏菌病的首选药物,其他药物须减少或暂停使用。

关键词:鸡白痢沙门氏菌;分离;鉴定;药敏试验
中图分类号:S855.1　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1004-3268(2014)08-0130-03

Isolation, Identification and Resistance Analysis of *Salmonella pullorum*

WEN Hai-yan
(Pharmacology Science and Technology Department of Heze University, Heze 274015, China)

Abstract: Biochemical test, serological test and susceptibility test were used to identify the isolates from 39 suspected pullorum specimens of chicks which were collected from Heze farms. The results showed that 32 *Salmonella pullorum* strains were isolated and 10 strains were O_1, 16 strains were O_9 and 6 strains were O_{12}, so the rate of isolates was 50%, 31.25% and 18.75%, respectively. Thirty-two *Salmonella pullorum* isolates were high-sensitive to Cefotaxime, Amikacin and Polymyxin B, the rate of sensitive isolates was 93.8%, 90.6% and 84.4% respectively. They showed high endurability to Tetracycline, Sulfadiazine and Norfloxacin, and the rate of tolerance isolates was 100%, 78.1% and 71.9% respectively. It is suggested that Cefotaxime, Amikacin and Polymyxin B can be used in Heze, and the others should not be used at present.

Key words: *Salmonella pullorum*; isolation; identification; susceptibility test

鸡白痢沙门氏菌属于肠杆菌科沙门氏菌属的成员,由其引起的鸡白痢是雏鸡的急性败血性传染病,严重影响雏鸡的成活率和成年鸡的生产性能,对养鸡业危害严重[1-3]。目前,对于该病的防治,我国主要采用"检疫淘汰带菌鸡,建立健康种鸡群"的方法,对于雏鸡群主要采用抗菌药物进行预防和治疗[4-5]。由于抗菌药物的长期使用以及不合理使用,导致鸡白痢沙门氏菌的耐药性菌株越来越多,耐药谱越来越广,多表现为多重耐药和交叉耐药[6],并且不同地区不同养殖场鸡白痢沙门氏菌的耐药性不同,这给该病的防治带来很大的困难,而筛选敏感、有效的抗菌药物则是防治该病的关键所在。鉴于此,本试验从菏泽地区疑似鸡白痢的病料中进行鸡白痢沙门氏菌的分离、鉴

收稿日期:2014-02-26
作者简介:温海燕(1981-),女,山东郓城人,助教,硕士,主要从事动物传染病学研究。E-mail:haiyan952396@163.com

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

定，并对其进行耐药性分析，以期为该地区鸡白痢的防治提供参考。

1　材料和方法

1.1　试验材料

1.1.1　病料来源　从菏泽周边地区 13 个发病鸡场采集疑似鸡白痢病鸡的泄殖腔棉拭子 39 份。

1.1.2　培养基、试剂　麦康凯琼脂培养基、SS 琼脂培养基、胆盐硫乳琼脂培养基、三糖铁琼脂培养基购自北京奥博星生物技术有限责任公司；生化试剂和药敏纸片购自杭州天和微生物试剂有限公司；沙门氏菌属血清诊断试剂盒购自兰州生物制品研究所。

1.2　方法

1.2.1　细菌分离　将采集的病料分别接种于麦康凯琼脂培养基、胆盐硫乳琼脂培养基、SS 培养基，37 ℃培养 24 h，观察菌落形态，挑取可疑菌落进行纯培养。单个菌落进行涂片、革兰氏染色、镜检并测量大小[7]。

1.2.2　生化鉴定　挑取纯培养的单菌落分别接种于三糖铁琼脂斜面培养基及细菌生化微量发酵管，37 ℃培养 24 h，参照《常见细菌系统鉴定手册》[8]对分离细菌进行判定。

1.2.3　血清型鉴定　采用玻片凝集法，吸取 2 μL 沙门氏菌 A－F 群 O 抗原多价血清滴于玻片上，刮取纯培养的单菌落与血清混匀，同时以生理盐水为对照，观察结果，再用 O 抗原单因子血清进行检测。

1.2.4　药敏试验　参照《兽医微生物学实验指导》中圆纸片扩散法[9]，分别将分离株的菌落用灭菌生理盐水洗脱，均匀涂布在水解酪蛋白培养基(MH)上，然后将庆大霉素、卡那霉素等 15 种常用抗菌药物的药敏试纸分别贴到培养基表面，37 ℃培养 24 h，观察抑菌圈的大小并记录结果，根据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS，2005)的标准做出结果判定。

2　结果与分析

2.1　细菌分离结果

病料培养后，在麦康凯琼脂培养基、胆盐硫乳琼脂培养基、SS 培养基上均形成无色、半透明、光滑、边缘整齐的圆形小菌落，镜检可见染成红色的革兰氏阴性小杆菌，大小约 1 μm×4 μm。从 39 份样品中分离得到 36 株疑似沙门氏菌。

2.2　生化鉴定结果

36 株分离株在三糖铁琼脂(TSI)试验中均产酸、斜面变红、底层反应阳性并产硫化氢呈黑色，其中 32 株分离株发酵葡萄糖产酸产气，不利用乳糖、麦芽糖，鸟氨酸、赖氨酸反应阳性，卫矛醇、山梨醇、尿素酶、靛基质、枸橼酸盐试验均为阴性，其余 4 株分离株生化特性不同之处为鸟氨酸、赖氨酸反应阴性，卫矛醇、山梨醇、枸橼酸盐试验为阳性(表 1)。参照《常见细菌系统鉴定手册》[8]的判定指标，其中 32 株分离株符合鸡白痢沙门氏菌的生化特性，为鸡白痢沙门氏菌，4 株分离株符合鸡伤寒沙门氏菌的生化特性，为鸡伤寒沙门氏菌。

表 1　分离株生化鉴定结果

项目	菌株	
	鸡白痢沙门氏菌	鸡伤寒沙门氏菌
三糖铁(TSI)	K/A －；＋	K/A －；＋
葡萄糖	⊕	⊕
乳糖	－	－
麦芽糖	－	－
鸟氨酸	＋	－
赖氨酸	＋	－
卫矛醇	－	＋
山梨醇	－	＋
尿素酶	－	－
靛基质	－	－
枸橼酸盐	－	＋

注：TSI 反应情况：斜面/底层 产气；H_2S，A＝产酸(黄色)，K＝产碱(红色)；⊕表示产酸产气；＋为阳性，－为阴性。

2.3　血清型鉴定结果

32 株分离株均与 A－F 多价 O 抗原血清发生凝集，其中分别与 O_1、O_9、O_{12} 单因子血清发生凝集，16 株为 O_9，10 株为 O_1，6 株为 O_{12}，分别占 50%、31.25%、18.75%。

2.4　药敏试验结果

32 株鸡白痢沙门氏菌的药敏试验结果显示，头孢噻肟、丁胺卡那霉素、多黏菌素 B、氟苯尼考、卡那霉素、庆大霉素的抑菌作用强，敏感菌株的比例分别为93.8%、90.6%、84.4%、78.1%、71.9%、68.8%；四环素、磺胺嘧啶、诺氟沙星、氨苄西林、复方新诺明、链霉素、恩诺沙星、阿莫西林、环丙沙星抑菌效果差，耐药菌株的比例分别为 100%、78.1%、71.9%、65.6%、62.5%、53.1%、50.0%、46.9%、43.8%(表 2)。抗菌素耐药谱分析显示，分离的 32 株鸡白痢沙门氏菌表现为多重耐药性，有 8 株为 4 重耐药，

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

13株为5重耐药，其耐药比率分别比1耐的高出3.1、18.7个百分点(表3)。

表2 分离株药敏试验结果

抑菌药物	菌株数/株			R比例/%	S比例/%
	耐药(R)	中敏(M)	敏感(S)		
头孢噻肟	0	2	30	0	93.8
氨苄西林	21	6	5	65.6	15.6
阿莫西林	15	8	9	46.9	28.1
卡那霉素	3	6	23	9.4	71.9
丁胺卡那霉素	0	3	29	0	90.6
链霉素	17	6	9	53.1	28.1
庆大霉素	4	6	22	12.5	68.8
氟苯尼考	0	7	25	0	78.1
恩诺沙星	16	10	6	50.0	18.8
环丙沙星	14	10	8	43.8	25.0
诺氟沙星	23	9	0	71.9	0
多黏菌素B	0	5	27	0	84.4
复方新诺明	20	9	3	62.5	9.4
磺胺嘧啶	25	5	2	78.1	6.3
四环素	32	0	0	100	0

表3 分离株的多重耐药性

项目	1耐	2耐	3耐	4耐	5耐
菌株数/株	7	2	2	8	13
比例/%	21.9	6.3	6.3	25.0	40.6

3 讨论

鸡白痢沙门氏菌和鸡伤寒沙门氏菌的生化特性有许多相同之处，但在鸟氨酸、赖氨酸、卫矛醇、山梨醇、枸橼酸盐的反应结果上存在明显差异[10]，本试验借助这种差异将36株分离株中的鸡白痢沙门氏菌与鸡伤寒沙门氏菌进行鉴别，得到32株鸡白痢沙门氏菌、4株鸡伤寒沙门氏菌。32株鸡白痢沙门氏菌中16株为O_9，10株为O_1，6株为O_{12}，分别占50%、31.25%、18.75%，说明菏泽地区鸡白痢的发生是由多种血清型的鸡白痢沙门氏菌混合感染所引起的，在今后的检验检疫过程中，应多挑取疑似菌落并逐一进行病原体的分离鉴定，确定其血清型，为鸡白痢疫苗的研制奠定基础。

药敏试验结果表明，32株鸡白痢沙门氏菌对头孢噻肟、丁胺卡那霉素、多黏菌素B敏感性强，敏感率分别为93.8%、90.6%、84.4%，因此头孢噻肟、丁胺卡那霉素、多黏菌素B可以作为菏泽地区养鸡场防治鸡白痢的首选药物，其他药物应减少或暂停使用。该药敏试验结果与严晓玲等[11]的报道存在一定的差异，与刘文强[12]报道的差异很大，这可能与不同地区不同养鸡场的用药习惯、养殖环境等的不同有关。另外，抗菌素耐药谱显示，分离的32株鸡白痢沙门氏菌耐药性严重，多表现为多重耐药，其中4耐、5耐的比率分别为25.0%、40.6%，比1耐的分别高出3.1、18.7个百分点。由此可见，鸡白痢的防治必须在药敏试验的基础上进行，并且采用交叉用药、轮换用药的方式，降低细菌耐药性的产生概率。临床上雏鸡感染鸡白痢的同时经常混合感染或继发感染大肠杆菌或其他病原体，各种病原体的耐药性不同，单纯用针对鸡白痢沙门氏菌的敏感药物往往起不到良好的治疗效果[13]，所以在治疗的过程中，要注意是否有混合感染，弄清不同病原体的耐药性，有的放矢，方能取得良好的治疗效果。

参考文献：

[1] 陈溥言. 兽医传染病学[M]. 5版. 北京：中国农业出版社，2006.

[2] 张波，汪永信. 实时荧光定量PCR法测定禽蛋中沙门氏菌[J]. 现代农业科技，2012(10)：333-335.

[3] 洪艳，贺凡，王晓闻. LAMP检测沙门氏菌方法的建立[J]. 山西农业科学，2014，42(4)：340-342.

[4] 马涛，刘仲康. 一例蛋鸡鸡白痢沙门氏菌感染病的诊治[J]. 现代农业科技，2012(9)：361，366.

[5] 徐芳，降磊，牛晋国. 垂直传播引起的鸡沙门氏菌病的诊断与防治[J]. 山西农业科学，2013，41(3)：267-269.

[6] 张凌云. 鸡场沙门氏菌的分离鉴定及耐药性研究[D]. 长春：吉林农业大学，2011：7-8.

[7] 石玉祥，王绥华，张永英，等. 规模化鸡场空气致病性大肠杆菌分离鉴定及其耐药性观察[J]. 河南农业科学，2014，43(2)：126-128.

[8] 东秀珠，蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京：科学出版社，2001.

[9] 姚火春. 兽医微生物学实验指导[M]. 2版. 北京：中国农业出版社，2002：43-44.

[10] 郭云. 海兰鸡沙门氏菌的分离鉴定及耐药性监测分析[D]. 泰安：山东农业大学，2010：4-5.

[11] 严晓玲，邵红. 鸡白痢沙门氏菌临床分离株的耐药性分析[J]. 黑龙江八一农垦大学学报，2012，24(2)：23-26.

[12] 刘文强. 鸡沙门氏菌分离株的分离鉴定[J]. 中国兽医杂志，2007，43(8)：77-78.

[13] 董洪燕，缪小斌，李鑫，等. 鸡白痢沙门氏菌分离株的耐药性及磺胺类耐药机制研究[J]. 中国家禽，2010，32(9)：29-33.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net