

河南省部分地区鸡志贺氏菌病 病原分离鉴定及药敏试验

杨永珍*, 许兰菊*, 张丹鹤, 邓久虎, 苗银萍, 蒋大伟

(河南农业大学 牧医工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 为了对河南省部分地区鸡志贺氏菌病的病原进行分离鉴定和药物敏感性调查, 对河南省6个地区的鸡腹泻病病料进行了细菌学检查, 经细菌分离培养、形态染色镜检、生化试验和动物试验, 共分离鉴定出12株鸡源志贺氏菌。血清学试验结果显示, 分离菌株存在种和型的差异, 其中8株为福氏志贺氏菌, 3株为鲍氏多价志贺氏菌, 1株为痢疾Ⅱ型志贺氏菌。动物试验结果表明, 分离的12株鸡志贺氏菌均具有致病性, 且毒力不同, 其中, 从三门峡分离的菌株有很强的毒力, 发病率和死亡率均为100%。药敏试验结果显示, 大多数鸡志贺氏菌对氨苄/舒巴坦和阿米卡星较为敏感, 对其他药物具有严重的耐药性, 且不同地区分离的鸡志贺氏菌对药物的敏感性不同。

关键词: 鸡志贺氏菌; 分离鉴定; 药敏试验; 河南省

中图分类号: S858.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)03-0134-06

Isolation and Identification of *Shigellae* from Chicken in Some Regions of Henan Province and Their Susceptibility Tests to Drugs

YANG Yong-zhen, XU Lan-ju*, ZHANG Dan-he, DENG Jiu-hu, MIAO Yin-ping, JIANG Da-wei

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: In order to identify and test drugs sensitivity to the *Shigellae* from chicken in some region of Henan province, the bacteria for the diseased diarrhea from six regions in Henan province were examined in this study. Isolating, observations of bacteria appearance, cultivating characteristics and biochemical characteristics in addition to animal testing finally showed that twelve bacteria belong to *Shigellae*. Serological typing test were performed and showed that these strains have differences in species and types. The results revealed that eight strains were identified for *S. flexneri*, three strains were identified for *S. boydii*, and the other one strain was identified for II type *S. dysenteriae* infection. Animal experiments suggested that the twelve *Shigellae* are pathogenic but the virulence are different. The strain from Sanmenxia is virulent and the morbidity and mortality are both 100%. The sensitivity tests to drugs show that most *Shigellae* isolated from chicken are sensitive to ampicillin/sulbactam and amikacin, but showed serious resistant to other drugs. The susceptibilities are different among the *Shigellae* isolates from different regions. The

收稿日期: 2010-11-19

基金项目: 河南省重点科技攻关项目(0423011600)

作者简介: 杨永珍(1984-), 女, 陕西大荔人, 在读硕士研究生, 研究方向: 畜禽疫病细菌分子生物学及免疫学。

E-mail: yongzhen616@126.com

*通讯作者: 许兰菊(1957-), 女, 河南兰考人, 教授, 主要从事动物病原微生物及免疫学教学和研究工作。

E-mail: xulanju11@126.com

study provides a scientific basis for *Shigella* bacteria on chicken diagnosis and treatment of disease.

Key words: *Shigellae*; Isolation and identification; Susceptibility tests to drugs; Henan province

鸡志贺氏菌病是由志贺氏菌引起的一种新发传染病^[1],病鸡的主要临床表现为腹泻、痢疾,主要剖检病变为肠道出血和炎症。志贺氏菌属(*Shigella*)是人类细菌性痢疾最为常见的病原菌,分为痢疾志贺氏菌、福氏志贺氏菌、鲍氏志贺氏菌、宋内氏志贺氏菌4个血清群(种)^[2]。其中痢疾志贺氏菌感染患者病情较重,宋内氏志贺氏菌多引起轻型感染,福氏志贺氏菌易转变为慢性感染。近年来发现志贺氏菌不仅感染人,也能引起动物发病。目前,国内外已有关于志贺氏菌感染犊牛、仔猪、幼犬、家兔、鸡、鸭、小鼠、豚鼠等多种动物^[1,3-9]的报道,引起动物大批发病和死亡,给养殖业生产造成了很大经济损失。为了对河南省部分地区疑似鸡志贺氏菌病进行诊断和病原学检查,对临床上的腹泻病鸡采集病料,并进行细菌分离鉴定,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 病料来源

2009年对来自河南省三门峡、商丘、周口、焦作、新郑、荥阳等地具有腹泻症状的病鸡,无菌条件下采集鸡的肝脏、小肠及其肠内容物等病料,以备检验。

1.2 培养基和主要试剂

培养基:营养肉汤(批号 090610)、SS 琼脂培养基(批号 090104)、营养琼脂培养基(批号 20100108)、麦康凯琼脂培养基(批号 20100609)购自杭州天和微生物试剂有限公司,按照说明配制;刚果红琼脂培养基(胰蛋白胨 2.5%,大豆蛋白胨 0.5%,氯化钠 0.5%,刚果红指示剂 0.025%,琼脂粉 2.5%,按照上述比例加入蒸馏水,加热溶解后,调节 pH 为 7.2~7.5,经 121~126℃灭菌 30 min,冷却到 55℃左右倾注平板备用);胰蛋白胨(批号 20071008)、大豆蛋白胨(批号 20080720)均购自奥博星生物技术有限公司。

主要试剂:葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露糖、蔗糖、尿素、枸橼酸盐、三糖铁、刚果红为杭州天和微生物试剂有限公司生产。革兰氏染液按常规方法配制。

1.3 试验雏鸡及其分组

1日龄海兰商品代蛋公雏2批,每批70只,购自郑州牧专孵化场。按正常饲养标准隔离饲养至3日龄,外观正常。每批随机分为14组,每组5只。

其中试验组分为12个攻毒组,2个对照组(空白对照和无菌生理盐水对照)。第1批雏鸡为细菌低剂量攻毒组,第2批雏鸡为细菌高剂量攻毒组。

1.4 志贺氏菌诊断血清与参考抗原和血清

志贺氏菌属诊断血清(4种多价)(批号 20100501)、志贺氏菌属诊断血清鲍氏多价(批号 20100101)、志贺氏菌属诊断血清痢疾 I 型(批号 20090901)、志贺氏菌属诊断血清宋内 I 相(批号 20090901)、志贺氏菌属诊断血清福氏多价(批号 20100101)。以上诊断血清均由宁波天润生物药业有限公司生产。

参考抗原和血清:鸡白痢鸡伤寒多价凝集抗原(批号 200902)、鸡白痢阳性血清(批号 200903)、鸡白痢阴性血清(批号 200902)均购自中国兽药监察所。

1.5 药敏纸片

药敏纸片共14种,分别为:阿莫西林(AMX, 10μg/片,批号 090401)、氨苄/舒巴坦(AM/SU, 每10μg,批号 090511)、头孢曲松(CRO, 30μg/片,批号 0910141)、头孢唑啉(CZ, 30μg/片,批号 091028)、庆大霉素(GM, 10μg/片,批号 0910301)、阿米卡星(AN, 30μg/片,批号 0910301)、米诺环素(MNO, 30μg/片,批号 0904011)、氯霉素(C, 30μg/片,批号 090720)、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶(STX, 每片23.75/1.25μg,批号 090226)、痢特灵(FR, 300μg/片,批号 090531)、环丙沙星(CIP, 5μg/片,批号 0906101)、诺氟沙星(NOR, 10μg/片,批号 0906081)、氧氟沙星(OFL, 5μg/片,批号 0909161)以上药敏纸片由北京天坛药物生物技术开发公司生产,均购自河南省生物研究所。

1.6 细菌分离培养及抹片染色镜检

将采集的不同病料无菌操作分别接种于1%葡萄糖肉汤培养基中进行增菌培养,之后将肉汤培养物分别划线于SS琼脂培养基、麦康凯琼脂培养基、营养琼脂培养基、刚果红琼脂培养基和血液琼脂培养基进行细菌分离培养,以观察菌落。

对分离菌的可疑菌落进行细菌抹片和革兰氏染色、镜检,观察细菌形态与染色特性。

1.7 生化试验

将可疑菌落分别接种于1%糖肉汤进行纯化培养,之后用其培养物分别接种于葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露糖、蔗糖、尿素等微量生化管中,再于37℃

下培养 7 d, 每 24 h 观察记录结果。甘露糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖、葡萄糖发酵试验以及 MR 试验、吲哚试验、V-P 试验、枸橼酸盐利用试验所用试剂均按文献[7]中的方法配制。

1.8 动物致病性试验

1.8.1 菌液准备 按参考文献[10-12]中的方法制备菌液。

培养细菌: 经纯度检查后的培养液用无菌棉球涂抹于普通营养平皿上, 置 37℃培养 18 h。

收集细菌: 吸取灭菌的 0.85%生理盐水 5 mL, 注入长满志贺氏菌的普通营养琼脂平板上, 洗下菌苔。将菌液注入无菌瓶中, 按照文献[13]中的方法进行活菌计数, 同时用紫外可见分光光度仪测定细菌 OD 值。首先在 460 nm 波长处检测原液的 OD 值, 再将原液依次稀释 10 倍, 测出不同稀释度的 OD 值, 根据活菌计数结果, 绘制吸光度-菌液浓度的回归曲线。

调整细菌数量: 检测菌液 OD 值, 从标准曲线中查得每毫升的细菌数量, 并用灭菌生理盐水作稀释液, 调整细菌数量约为 $(2\sim6)\times10^9$ 个/mL 和 $(2\sim6)\times10^{10}$ 个/mL。

1.8.2 动物攻毒试验 雏鸡 3 日龄时进行攻毒。第 1 批雏鸡用低剂量细菌攻毒, 12 个攻毒组分别用 12 个不同的分离菌株对雏鸡进行腹腔注射, 0.5 mL/只(含菌约 10 亿~30 亿个); 生理盐水对照组, 腹腔注射灭菌生理盐水 0.5 mL/只; 空白对照组不做任何处理。试验组和对照组分别隔离饲养, 注射后每 2 h 观察记录 1 次各组鸡只的表现, 并对发病死亡的鸡只及时进行剖检, 在第 7 天对存活鸡进行剖检。剖检后观察记录病变结果, 同时采集病料进行病原菌回收试验。最后根据各组鸡的死亡数和剖检病变程度确定分离菌株的致病性。

第 2 批雏鸡用高剂量细菌攻毒, 0.5 mL/只(含菌约 100 亿~300 亿个), 分组及攻毒方法同上。

1.9 血清型鉴定

1.9.1 抗原的制备 将分离和生化鉴定为志贺氏菌的不同菌株纯培养物, 分别接种于营养肉汤中,

37℃培养 24 h; 经 121~126℃处理 2 h 破坏细菌的 K 抗原; 后离心洗涤 4 次, 每次 4000 r/min 离心 20 min, 弃上清, 均以 4 mL 0.5%石碳酸生理盐水洗涤菌体抗原; 然后加入 2 mL 0.5%石碳酸生理盐水吹打混匀, 最后以 6%的比例加入碱性美兰进行染色, 即为志贺氏菌抗原。4℃保存备用。

1.9.2 平板凝集试验 采用玻板方阵凝集法, 按照文献[14]中的方法分别用志贺氏菌多价血清和单因子血清及不同抗原进行凝集反应, 并设抗原与阳性血清对照, 37℃下 2~3 min 内判定结果。若出现明显凝集者为阳性反应, 均匀混浊者为阴性反应。

1.10 药敏试验

药敏试验为纸片扩散法, 试验方法按照文献[15]进行, 结果判定标准按产品说明书。

2 结果与分析

2.1 细菌培养特性及形态染色结果

所分离的细菌置 37℃下培养 20 h, 可见 12 株细菌在营养肉汤中均匀混浊生长, 不形成菌膜和沉淀。在麦康凯、SS 琼脂培养基上形成无色透明的直径 1~2 mm 的小菌落。在血平板上形成灰白色, 半透明、表面光滑湿润、边缘整齐的菌落。在刚果红琼脂培养基上形成红色透明或粉色透明的菌落。分离的 12 个菌株及细菌编号分别为: 周口株(ZK)、商丘株(SQ)、焦作株 1(JZ1)、焦作株 2(JZ2)、新郑株 1(XZ1)、新郑株 2(XZ2)、新郑株 3(XZ3)、新郑株 4(XZ4)、新郑株 5(XZ5)、荥阳株 1(XY1)、荥阳株 2(XY2)、三门峡株(SMX)。

对 12 株可疑分离菌落进行细菌抹片和革兰氏染色, 结果均为革兰氏阴性短杆菌。

2.2 生化试验结果

大多数分离菌株发酵葡萄糖、麦芽糖、甘露糖、蔗糖, 枸橼酸盐试验、尿素试验和明胶试验均为阴性, 不产生 H₂S, MR 阳性, V-P 阴性(表 1)。根据上述细菌分离培养、形态染色和生化特性, 判定 12 株分离菌均为鸡源志贺氏菌。

表 1 12 个分离菌株的生化试验特性

菌株	葡萄糖	乳糖	麦芽糖	甘露糖	蔗糖	TSI	枸橼酸盐	尿素	明胶	MR	V-P	吲哚
ZK		+	+		+	$\frac{K(A)}{+}; +$	+	+	+	+	弱+	+
SQ	+	-	+	+	-	$\frac{K/A}{+}; -$	-		-	+	-	+
JZ1	+	-	+	+	+	$\frac{K/A}{+}; -$	-		-	+	+	-
JZ2			+		-	$\frac{K/A}{+}; -$	-		-	+	-	+

续表 1 12 个分离菌株的生化试验特性

菌株	葡萄糖	乳糖	麦芽糖	甘露糖	蔗糖	TSI	枸橼酸盐	尿素	明胶	M R	V-P	吲哚
XZ1				+		A/ A +; -	-	-	-	+	+	+
XZ2	+		+			A/ A +; -	-	-	-	-	+	+
XZ3	+			+		A/ A +; -	-	-	-	+	+	+
XZ4	+			+		A/ A +; -	-	-	-	+	+	-
XZ5			+			A/ A -; -	-	-	-	+	-	-
XY1	+	+	+	+	+	A/ A -; -	-	-	+	+	+	+
XY2	+	+	+	+	-	K/ K -; -	-	-	-	+	+	-
SMX	+	-	+	+		K/ A -; -	-	-	-	+	-	+

注： 代表产酸产气，+代表阳性，-代表阴性；TSI(三糖铁培养基)上反应情况： $\frac{\text{斜面/底层}}{\text{产气; 产 H}_2\text{S}}$ ，A= 产酸(黄色)，K= 产碱(红色)

2.3 致病性试验结果

各个剂量组的雏鸡都于攻毒后 6h 开始发病，8h 死亡。发病鸡轻者精神沉郁、喜卧、拉稀腹泻，重者出现血痢。对死亡鸡只进行剖检，可见肝脏肿大出血，脾脏出血，肾肿大，肠道炎症明显，小肠内有黄

色或黄绿色内容物，肠壁变薄，有出血点。灭菌生理盐水对照组和空白对照组雏鸡，肉眼观察未见病变出现。12 株志贺氏菌对雏鸡的发病率和死亡率结果详见表 2。

表 2 12 株鸡志贺氏菌对雏鸡发病率和死亡率的影响

菌株	低剂量组			高剂量组		
	细菌数/× 10 ⁹ 个	发病率/ %	死亡率/ %	细菌数/× 10 ¹⁰ 个	发病率/ %	死亡率/ %
ZK	11. 8	0 (0/ 5)	0(0/ 5)	105	40(2/ 5)	0(0/ 5)
SQ	20. 2	60(3/ 5)	0(0/ 5)	299	80(4/ 5)	80(4/ 5)
JZ1	13. 7	40(2/ 5)	0(0/ 5)	268	100(4/ 5)	60(3/ 5)
JZ2	17. 5	20(1/ 5)	0(0/ 5)	298	80(4/ 5)	40(2/ 5)
XZ1	30. 0	40(2/ 5)	0(0/ 5)	171	80(5/ 5)	80(4/ 5)
XZ2	26. 9	40(2/ 5)	0(0/ 5)	169	100(5/ 5)	80(4/ 5)
XZ3	29. 6	40(2/ 5)	0(0/ 5)	170	100(4/ 5)	20(1/ 5)
XZ4	28. 2	60(3/ 5)	40(2/ 5)	128	100(5/ 5)	60(3/ 5)
XZ5	16. 2	80(4/ 5)	0(0/ 5)	113	80(4/ 5)	40(2/ 5)
XY1	28. 2	40(2/ 5)	20(1/ 5)	235	60(3/ 5)	0(0/ 5)
XY2	14. 5	20(1/ 5)	0(0/ 5)	245	60(3/ 5)	0(0/ 5)
SM X	30. 0	100(5/ 5)	100(5/ 5)	200	100(5/ 5)	100(5/ 5)

2.4 血清学试验结果

对 12 株鸡志贺氏菌进行血清学鉴定，鉴定出 1

株痢疾志贺氏菌Ⅱ型，3 株鲍氏志贺氏菌，8 株福氏志贺氏菌。结果详见表 3。

表 3 12 株鸡志贺氏菌的血清学反应

菌株	志贺氏菌 4 种多价	志贺氏菌痢疾Ⅰ型	志贺氏菌痢疾Ⅱ型	志贺氏菌鲍氏多价	志贺氏菌福氏多价	志贺氏菌宋内Ⅰ相	Ag 对照	阳性对照
ZK	-	-	#	++	+	-	-	#
SQ	-	-	-	-	#	-	-	#
JZ1	+++	-	-	#	++	-	-	#
JZ2	#	-	-	-	#	-	-	#
XZ1	+++	-	-	-	#	-	-	#
XZ2	+++	-	-	-	#	-	-	#
XZ3	+++	-	-	-	#	-	-	#
XZ4	+++	-	-	-	#	-	-	#
XZ5	+++	-	-	-	#	-	-	#
XY1	#	-	-	#	++	-	-	#
XY2	#	-	-	-	#	-	-	#
SM X	#	++	-	#	-	-	-	#

注:在短时间内出现典型凝集现象者(#和+++)判为阳性反应，否则判为阴性。凝集反应“ #”表示 100% 抗原凝集，“+++”表示 75% 抗原凝集，“++”表示 50% 抗原凝集，“+”表示 25% 抗原凝集

2.5 药敏试验结果

由表 4 可以看出, 分离的鸡志贺氏菌耐药现象严重。大多数菌株都对阿莫西林、头孢唑啉、头孢曲

松、罗红霉素、庆大霉素、氯霉素、复方新诺明、痢特灵、环丙沙星、诺氟沙星、氧氟沙星耐药; 对氨苄/舒巴坦和阿米卡星较为敏感。

表 4 12 株鸡志贺氏菌药敏试验结果

菌株	阿莫西林	氨苄/舒巴坦	头孢唑啉	头孢曲松	罗红霉素	庆大霉素	阿米卡星	米诺霉素	氯霉素	复方新诺明	痢特灵	环丙沙星	诺氟沙星	氧氟沙星
ZK	R	S	R	R	R	S	S	I	R	R	R	R	R	R
SQ	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
JZ1	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
JZ2	R	I	I	S	R	S	R	R	R	R	R	R	I	I
XZ1	R	I	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
XZ2	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S	I	I	I
XZ3	R	I	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
XZ4	R	S	R	R	I	R	S	S	R	R	R	R	R	R
XZ5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
XY1	S	S	I	R	R	R	R	I	R	I	R	R	R	R
XY2	R	I	R	R	R	S	I	R	R	R	R	R	R	R
SM X	R	S	S	S	R	R	R	S	R	R	S	I	R	I

注: R 代表耐药, I 代表中介, S 代表敏感

3 结论与讨论

本试验中, 从河南省部分地区采集的腹泻鸡病料经细菌分离鉴定均为鸡志贺氏菌, 且大多数分离菌株致病力较强。血清学试验结果表明, 各地区分离的志贺氏菌血清型不尽相同; 药敏试验结果表明, 大多数分离菌株有严重的耐药性。

志贺氏菌的毒力表型与细胞粘附刚果红培养基染料的能力有关, 在刚果红上形成红色菌落(为 Crb^+ 表型)。已经失去毒力质粒的菌株或者其他不能表达毒力基因菌株在培养基上形成白色菌落(Crb^-)^[16]。魏殿军等^[17]报道, 不同菌群志贺氏菌对刚果红的着色能力不同。本研究中, 不同种志贺氏菌在刚果红上形成红色菌落(4/12)或者粉色菌落(8/12)。形成的粉色菌落是否毒力大质粒已经丢失, 有待于进一步进行分子生物学研究。由于志贺氏菌毒力大质粒在传代过程中极易丢失^[16], 因此, 若欲长时间保持志贺氏菌的毒力, 在传代培养过程中需不断筛选志贺氏菌在刚果红培养基上的红色菌落进行保存。生化试验结果显示, 不同种志贺氏菌的生化特性略有不同, 同种志贺氏菌不同菌株的生化试验结果也有差异, 可能是因为志贺氏菌的某些生化特性在种间有不同的反应^[18], 也可能是因为传代次数引起志贺氏菌生化特性的变化^[19]。

动物试验结果表明, 大多数分离菌株致病力较强, 其中三门峡地区分离的菌株在低剂量细菌攻毒时发病率和死亡率达 100%, 其余鸡志贺氏菌分离株对攻毒鸡均表现出不同的致病性, 用高剂量菌攻毒

时死亡率均低于 100%, 说明从三门峡地区分离的此株鸡志贺氏菌毒力最强。由此进一步表明, 鸡志贺氏菌可引起鸡的腹泻, 发生鸡志贺氏病。因此, 在临床诊断鸡腹泻病时要区别于鸡白痢等传染病。

志贺氏菌可分为痢疾志贺氏菌、福氏志贺氏菌、鲍氏志贺氏菌和宋内氏志贺氏菌 4 个血清群(种)。其中已有鸡感染鲍氏志贺氏菌和痢疾志贺氏菌的报道^[8,9], 本研究中新发现了鸡感染福氏志贺氏菌, 而且分离的福氏志贺氏菌所占比例较大 66.7%, 说明多种志贺氏菌均可引起鸡发生腹泻。本研究没有鉴定出宋内氏志贺氏菌, 这可能与采集病料地区的局限性和未使用宋内氏 II 相因子血清有关, 是否有鸡宋内氏志贺氏菌的感染, 有待今后进一步研究。

药敏试验结果表明, 大多数鸡源志贺氏菌分离菌株对氨苄/舒巴坦和阿米卡星较为敏感, 对其他 12 种参试药物产生了严重的耐药性。因此, 建议临床治疗要合理用药, 选择敏感药物进行治疗, 避免盲目性, 尽量减少不必要的经济损失。本研究为鸡志贺氏菌病的诊断和防治提供了科学依据, 对指导养殖业生产具有重要意义和价值。

参考文献:

[1] 许兰菊, 王川庆, 胡攻政, 等. 鸡志贺氏菌在我国的发现及其病原特性研究[J]. 中国预防兽医学报, 2004, 26 (4): 281-286.

[2] Alaboudi A R, Hammed D A, Basher H A. Potential pathogenic bacteria from dead in shell chicken embryos [J]. Journal of Veterinary Sciences, 1992, 5 (2): 109-114.

[3]

Priamukhina N S, Kileso V A, Tikhomirov E D. Animal carriers of *Shigella* and their possible pidemiological importance [J]. Mikrobiol Epidemiol Immunobiog 1984, 36(11): 204.

[4]

宋海霞, 李伟, 蒋大伟, 等. 鸡志贺氏菌多价凝集抗原及其标准血清的应用[J]. 河南农业科学, 2009(11): 138-140.

[5]

张玉红, 张光辉, 许兰菊, 等. 河南省鸡志贺氏菌病和鸡白痢的血清流行病学调查[J]. 河南农业科学, 2007(12): 107-110.

[6]

潘国民, 许兰菊, 蒋媛媛, 等. 鸡鲍氏志贺氏菌脂多糖的提取方法研究[J]. 河南农业科学, 2010(6): 140-142.

[7]

Vadim J Levenson, Corey P, *et al.* Protection against local *Shigella sonnei* infection in mice by pareparenteral immunization with a nucleoprotein subcellular vaccine [J]. Infection and Immunity, 1995, 63(7): 2762-2765.

[8]

汪文龙, 罗兆飞, 刘军义, 等. 应用聚合酶链反应快速检测试验猴沙门氏菌和志贺氏菌[J]. 现代农业科技, 2007(13): 169-170 172.

[9]

许兰菊, 臧为民, 康相涛, 等. 鸡志贺菌病的病原鉴定 [J]. 畜牧兽医学报, 2004, 35(4): 420-423.

[10]

汪敏. 肠炎沙门氏菌实验性感染雏鸡的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2009.

[11]

陈士运, 沈旭, 苗立中. 应用紫外分光光度法进行禽多杀性巴氏杆菌(C48-1)细菌计数的研究[J]. 山东畜牧兽医, 2009, 30(5): 12.

[12]

陶海静. 鸡大肠杆菌计数方法研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(27): 8504-8506.

[13]

黄青云. 畜牧微生物学[M]. 4 版. 北京: 中国农业出版社: 349-357.

[14]

蒋大伟, 李凯, 许兰菊, 等. 鸡志贺氏菌凝集抗原及其标准血清的研制 [J]. 中国兽医学报, 2009, 29(6): 729-732.

[15]

倪语星, 洪秀华. 细菌耐药性监测与抗感染治疗[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002.

[16]

Sameera S. Surprising dependence on post segregational killing of host cells for maintenance of the large virulence plasmid of *Shigella flexneri* [J]. Journal of bacteriology, 2005, 187(8): 2768-2773.

[17]

魏殿军, 王培福, 胡文艺, 等. 刚果红培养基检测志贺氏菌毒力机制的探讨[J]. 天津医学院学报, 1992, 16(4): 36.

[18]

陆承平. 兽医微生物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.

[19]

高凤山, 胡桂学. 幼犬志贺氏菌感染的微生物学诊断 [J]. 安徽农学通报, 2007, 13(3): 118.

(上接第 133 页)微生态环境,但添加量过高也可能对肠道微生态造成不利影响。

另外,有学者认为,血粉在家畜日粮中的添加量为猪 10% 以下,鸡 3% ~ 5%,若用量过大,可能对畜禽生长有抑制作用^[8-10]。从本研究结果来看,3.0% 的膨化血粉添加量对雏鹅的应用效果最好,能显著提高胃蛋白酶与胰蛋白酶活性及改善盲肠微生态环境。

参考文献:

[1]

DeRouchey JM, Tokach M D, Nelssen J L, *et al.* Effects of blood meal pH and irradiation on nursery pig performance [J]. J Anim Sci, 2003, 81(4): 1013-1022.

[2]

李建武, 萧能赓, 余瑞元, 等. 生物化学实验原理和方法 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1994.

[3]

陈天寿. 微生物培养基的制造与应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.

[4]

阮桂海. SAS 统计分析实用大全[M]. 北京: 清华大学出版社, 2003.

[5]

袁建敏, 吴于明. 蛋公鸡与肉仔鸡蛋白消化酶活性及饲料氨基酸消化率的比较研究[J]. 中国农业大学学报, 2001, 6(1): 104-109.

[6]

Apajalahti J, Kettunen A, Graham H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities with special reference to the chicken[J]. World Poult Sci, 2004, 60(1): 223-232.

[7]

Vitali B, Ndagijimana M, Cruciani F, *et al.* Impact of a synbiotic food on the gut microbial ecology and metabolic profiles [J]. BMC Microbiology, 2010, 10(4): 1-13.

[8]

刘艳. 低质蛋白—血粉的有效利用[J]. 饲料工业, 2000, 21(5): 19-20.

[9]

彭张. 细菌发酵血粉可代替鱼粉[J]. 中国饲料, 1992(6): 29-30.

[10]

刘运枫. 膨化血粉的加工工艺及饲喂效果研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2001.