

圈养野生动物大肠杆菌耐药性的研究

陆晓健¹ 金福源² 彭会建² 陶艳华² 李成贵² 徐国东² 朱国良² 吴周美² 计昌华²

1.江苏省苏州市动物园,江苏苏州 215009;2.江苏省苏州市吴江区动物卫生监督所,江苏苏州 215200

摘要 对 69 株分离纯化的大肠杆菌进行接种试验,观察分析其对头孢唑林、四环素、氯霉素、头孢噻肟、氨苄西林、环丙沙星、复方新诺明、庆大霉素 8 种抗生素的耐药性,并分析不同野生动物对不同抗生素的耐药性以及多重耐药性的统计。试验结果表明,圈养野生动物大肠杆菌对四环素和头孢唑林的耐药性较高,其次是对复方新诺明和头孢唑林的耐药性,并且存在多重耐药性的情况。

关键词 圈养;野生动物;大肠杆菌;耐药性

大肠杆菌也叫大肠埃希氏菌,隶属埃希氏菌属,1885 年被首次分离。大肠杆菌是肠道内的正常菌群,起到维持肠道内微生态平衡、抵御某些肠道病原菌的作用,并且能够为人和动物提供某种不可替代的维生素。随着科技的发展,人类对大肠杆菌的研究也不断深入,并且认识到了大肠杆菌对人类和动物的影响之大。在治疗大肠杆菌的过程中,长时间使用抗生素使大肠杆菌的耐药菌株越来越多,多重耐药也愈发严重,大肠杆菌的耐药性普遍存在,并且能够与沙门氏菌之间产生水平传递,使没有使用过某种抗生素的区域出现耐药菌株。大肠杆菌是革兰氏阴性直杆菌,有鞭毛,兼性厌氧,37℃是其生长繁殖最活跃的温度,使用固体培养基培养可形成边缘整齐、光滑的菌落,能够发酵乳糖产生丙酮酸,酸被分解能够产生等量的 CO₂ 和 H₂O,部分菌株没有产气过程。自从青霉素在 1929 年被发现以来,在养殖业中使用抗生素的量和频率逐渐增加,致使出现了许多耐药菌株,增加了疾病的危害,也会使疾病的治疗难度增加。兽医临床上对抗菌药物的长期频繁使用,使大肠杆菌的耐药菌株增长了近 25%,这说明在此过程中大肠杆菌的耐药性在逐渐增强,并且出现了越来越多的多重耐药菌株。

1) 大肠杆菌对 β-内酰胺类抗生素耐药机制。大肠杆菌能够产生 β-内酰胺酶,而 β-内酰胺酶能够水解抗生素中 β-内酰胺环中的酰胺键,使 β-内酰胺类抗生素失去活性,进而出现耐药性。

β-内酰胺酶根据其对抗生素的水解速度、对抑制剂的敏感程度、以及产生该种酶的介导物质不同可分为 5 类,分别为头孢菌素酶;青霉素酶;介导物质是质粒,对青霉素与头孢菌素的活性基本一致的酶;介导物质是染色体,由肺炎克雷伯氏菌产生的酶;铜绿假单胞菌酶^[1]。超广谱 β-内酰胺酶是目前研究大肠杆菌致病机理中的主要研究对象,又叫氧亚氨 β-内酰胺酶,该种酶由细菌质粒介导,在革兰氏阴性杆菌中存在,能够在种内和菌种之间相互传递,并对第 4 代头孢产生耐药性^[2]。

2) 大肠杆菌对氨基糖苷类抗生素耐药机制。大肠杆菌对氨基糖苷类的耐药机制包括 2 个方面,分别为大肠杆菌产生的钝化酶对抗生素中的活性分子起到修饰的作用,进而产生耐药性,以及抗生素作用靶位改变或细胞膜渗透性改变^[3],目前研究中发现的钝化酶多达 30 种以上。

1 材料与方 法

1) 试剂与材料。抗生素标准品:头孢唑林、四环素、氯霉素、头孢噻肟、氨苄西林、环丙沙星、复方新诺明、庆大霉素;M-H 肉汤培养基;磷酸盐缓冲液等。

2) 样本。取某动物园中野生动物的大肠杆菌菌株,并经分离与 PCR 纯化后使用,共 69 株;对照组为标准大肠杆菌菌株。

3) 试验方法。配制抗生素储存液,培养稀释菌液,并将其装于无菌管中置于 -20℃ 的环境中保

存待用,在使用时用缓冲液稀释。取 96 孔聚苯乙烯板,并加入无菌肉汤,第 1 个孔中加入抗菌药液,最后 1 排孔中只添加肉汤,作为对照组,在试验组的各个孔中加入菌液。根据大肠杆菌稀释法药敏试验解释标准(MIC)来判定大肠杆菌的耐药程度,此过程中要注意判定空白对照组是否被污染。MIC 评价标准包括 3 个等级,分别为 S、I、R。氨苄西林 S≤8, I=16, R≥32; 头孢唑林 S≤1, I=2, R≥4; 头孢噻肟 S≤1, I=2, R≥4; 环丙沙星 S≤1, I=2, R≥4; 庆大霉素 S≤4, I=8, R≥16; 氯霉素 S≤8, I=16, R≥32; 四环素 S≤4, I=8, R≥16; 复方新诺明 S≤2/38, R≥4/76。

2 结果与分析

1) 圈养野生动物大肠杆菌对几种常见抗菌药物的耐药性。由表 1 可知,圈养野生动物的大肠杆菌,对头孢唑林、氯霉素、四环素、复方新诺明的耐药率分别为 41.42%、25.07%、61.13%、48.28%。其中草食野生动物的大肠杆菌对复方新诺明的耐药性

最高,为 57.64%,对庆大霉素、环丙沙星、氨苄西林的耐药性较低; 鸟类野生动物的大肠杆菌对四环素、头孢唑林的耐药性都很高,分别为 75.28%、59.25%; 杂食野生动物大肠杆菌对四环素的耐药性最高为 75.25%,对复方新诺明和头孢唑林的耐药性也比较高,分别为 55%、56%。

2) 圈养野生动物大肠杆菌对几种常见抗菌药物的耐药率。从表 2 可以看出,圈养野生动物对抗生素的耐药性较高,达到 86.34%,其中对氨苄西林、头孢唑林、头孢噻肟、环丙沙星、庆大霉素、氯霉素、四环素、复方新诺明的耐药率分别为 20.33%、4.32%、16.39%、21.83%、22.56%、28.34%、64.23%、52.30%。

3) 大肠杆菌耐药谱类型。对本次试验中的 69 株菌株进行多重耐药性的分析可知(表 3),大肠杆菌菌株的多重耐药性十分广泛,其中对 2 种抗生素都具有耐药性的有 8 株;对 3 种抗生素都具有耐药性的有 11 株;对 4 种以上的抗生素都具有耐药性的分别有 9 株、5 株、4 株、4 株、5 株。

表 1 圈养野生动物大肠杆菌对几种常见抗菌药物的耐药性 %

圈养野生动物	MIC 评价标准	氨苄西林	头孢唑林	头孢噻肟	环丙沙星	庆大霉素	氯霉素	四环素	复方新诺明
草食野生动物 (N=24)	S	90.25	43.00	95.50	90.25	81.50	77.25	26.00	42.25
	I	4.75	29.75	0	5.00	9.25	15.25	27.00	-
	R	5.00	27.25	4.50	4.75	9.25	7.50	47.00	57.75
肉食野生动物 (N=10)	S	71.70	72.60	89.90	90.00	81.20	63.10	54.40	43.50
	I	11.00	8.00	0	0	9.10	9.30	0	-
	R	17.30	19.40	10.10	10.00	9.70	27.60	45.60	56.50
鸟类野生动物 (N=20)	S	49.65	24.75	64.00	69.25	44.35	60.00	24.70	72.25
	I	10.05	16.00	4.00	0	25.25	0	0	-
	R	40.30	59.25	32.00	30.75	30.40	40.00	75.30	27.75
杂食野生动物 (N=15)	S	56.40	26.80	74.00	50.20	56.20	62.20	6.80	45.00
	I	6.20	18.20	0	6.00	6.50	6.20	18.00	-
	R	37.40	55.00	26.00	43.80	37.30	31.60	75.20	55.00
总计(N=69)	S	68.43	38.48	80.88	75.42	65.19	66.93	25.57	51.72
	I	7.51	20.10	1.16	3.04	13.27	8.00	13.30	-
	R	24.06	41.42	17.96	21.54	21.54	25.07	61.13	48.28

表 2 圈养野生动物大肠杆菌对几种常见抗菌药物的耐药率 %

抗生素	氨苄西林	头孢唑林	头孢噻肟	环丙沙星	庆大霉素	氯霉素	四环素	复方新诺明	总计
耐药率	20.33	40.32	16.39	21.83	22.56	28.34	64.23	52.30	86.34

表 3 大肠杆菌多重耐药性统计情况 株

耐抗生素种数	0	1	2	3	4	5	6	7	8
菌株数	16	7	8	11	9	5	4	4	5

不同品种肉牛杂交改良本地黄牛的效果试验

于 水

辽宁省抚顺市动物疫病预防控制中心, 辽宁抚顺 113006

摘要 在相同饲养环境下, 利用辽育白牛、西门达尔牛与本地黄牛杂交, 对辽杂牛、西杂牛和本地杂牛进行比较, 并对 3 种不同群体牛的发育情况和肉用性能进行比较分析, 来确定最优杂交组合。试验结果表明, 以西门达尔牛为父本、本地杂牛为母本的西杂牛在辽东地区的自然环境和现有条件下, 产肉性能相对最好, 西门达尔牛与本地杂牛改良效果明显优于辽育白牛与本地杂牛的改良效果, 可以最大程度发挥西门达尔牛的繁殖和育肥优势, 可作为较优杂交组合推广利用。

关键词 肉牛; 杂交; 黄牛; 改良效果

现代化的肉牛生产已经成为一种饲养管理精细化与技术水平密集型相结合的集约型生产系统, 尽管近年来养牛业作为畜牧养殖业的主体发展迅猛, 但是要实现突破性跨越式发展, 依然存在产业化水平不高、生产品种差等问题^[1]。为了探讨不同品种肉牛杂交

改良本地黄牛的效果, 本试验利用西门达尔牛、辽育白牛、与本地牛杂交, 在相同饲养管理条件下, 比较西杂牛、辽杂牛、本地杂牛 3 个不同群体的生长发育和肉用性能, 分析杂交效果, 以确定最优杂交组合, 为辽东地区的肉牛养殖和推广提供一定的依据^[2]。

收稿日期: 2018-03-13

于 水, 女, 1989 年生, 兽医师。

3 讨 论

追溯该动物园中治疗疾病所使用的药物历史可知, 该动物园中平时使用土霉素、恩诺沙星、环丙沙星、复方新诺明进行疾病的常规预防, 对于肉食动物, 只有在发生疾病时才使用药物, 平时不添加预防药物。此外, 虽然平时不使用四环素用于治疗或预防, 但野生动物大肠杆菌对四环素的耐药性仍较高, 推测与饮食有关, 或者是应用土霉素时出现了大肠杆菌的耐四环素菌株。本次试验通过对动物园中圈养野生动物的 69 株大肠杆菌菌株进行耐药性检测, 可见耐药率高达 86.34%, 不同种类野生动物耐抗生素的种类和耐药率不同, 草食野生动物对四环素和复方新诺明的耐药性较高, 分别为 46.82%、57.64%; 肉食野生动物对各种抗生素的耐药性都不高, 与其平时不使用药物预防的方式防治疾病有较大的关系; 鸟类野生动物对各种抗生素的

耐药性整体水平偏高, 其中对四环素的耐药率最高, 达 75.28%; 杂食野生动物对四环素的耐药性较高, 达 75.25%。动物园圈养野生动物大肠杆菌对复方新诺明、四环素、头孢唑林这几种抗生素的耐药性较高, 耐药率为 52.30%、64.23%、40.32%、38.84%。并且圈养野生动物大肠杆菌中耐多种抗生素的菌株广泛存在, 是大肠杆菌预防和治疗中需要克服的一个难题。

参 考 文 献

- [1] 陈燕杰, 孟春萍. 大肠杆菌耐药机制的研究进展[J]. 兽医导刊, 2010(10): 46-48.
- [2] 舒艳, 况九龙. 肺炎克雷伯菌产超广谱 β -内酰胺酶研究进展[J]. 山东医药, 2011, 51(21): 110-112.
- [3] 佟海山, 王德毅. 大肠杆菌多重耐药的分子机制研究进展[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2014(2): 41.