

湖北部分地区红斑丹毒丝菌 分离株耐药性分析

李敬涛 吴超 王雅 黄开松 金梅林*

农业微生物学国家重点实验室 / 华中农业大学动物医学院, 武汉 430070

摘要 采用药敏纸片扩散法对 31 株湖北部分地区分离株进行 19 种临床常用抗生素耐药性试验分析, 结果表明: 临床分离株对卡那霉素、链霉素、阿米卡星、多粘菌素 B、万古霉素和磺胺异恶唑的耐药率为 100%, 庆大霉素、复方新诺明、氧氟沙星、壮观霉素、林可霉素和四环素的耐药率分别为 96.8%、83.9%、32.3%、25.8%、22.6% 和 9.67%, 对头孢拉定、阿莫西林和阿奇霉素高度敏感。

关键词 红斑丹毒丝菌; 耐药性; 药敏试验

红斑丹毒丝菌是一种革兰氏阳性小杆菌, 是猪丹毒的主要病原菌^[1]。近些年来, 中国南方部分地区暴发大规模的猪红斑丹毒丝菌感染疫情, 主要表现为急性败血症和疹块型, 以 3~6 月龄架子猪发病率最高, 可引起母猪的急性死亡, 给养猪业带来了巨大的经济损失, 同时给人类健康造成了潜在威胁。本实验室对湖北省 8 个不同地区猪场临床分离株进行了药物敏感性测定, 为临床用药提供理论依据, 避免滥用抗生素, 减缓红斑丹毒丝菌产生耐药性的速度。

1 材料与方法

1.1 试验菌株

红斑丹毒丝菌(31 株)。本实验室于 2012-2013 年 10 月从湖北省 8 个不同地区(武汉市 15 株、荆州市 7 株、沙洋 3 株、松滋、钟祥、随州各 2 株)的猪场发生猪丹毒的病死猪中分离、纯化和鉴定。

1.2 培养基和药敏纸片

TSA(胰蛋白胨大豆琼脂)和 TSB(胰蛋白胨大豆肉汤培养基)购自美国 BD 公司; 新生牛血清购自杭州四季青生物公司; 强力霉素、卡那霉素、氧氟沙星、链霉素、阿莫西林、庆大霉素、阿米卡星、多粘菌素 B、万古霉素、复方新诺明、壮观霉素、环丙沙星、

恩诺沙星、林可霉素、四环素、青霉素、磺胺异恶唑、头孢拉定、阿其霉素、克林霉素, 购自杭州天和微生物试剂有限公司。

1.3 药敏试验

取冻干保存的待测菌株, 于 TSA 平板划线, 37 °C 复苏。挑取培养的红斑丹毒丝菌单菌落于添加 10% 血清的 TSB 培养基中培养 24 h。按 1:500 转接添加 10% 血清的 TSB 培养基中培养至对数中期。用无菌棉拭子蘸取菌液均匀涂于 TSA 培养基表面。平板于室温下干燥后将抗生素纸片紧贴于琼脂表面。37 °C 恒温培养 18 h, 观察结果。参考美国临床实验室标准委员会(NCCLS)药敏纸片扩散法, 以抗生素的抑菌环和敏感标准作为判定依据。

1.4 耐药率和耐药谱的分析

耐药率的测定。对某种抗生素的耐药菌株数占分离株的猪链球菌总数的百分比。

耐药谱的测定。统计同一菌株对不同抗生素的耐药率。

2 结果

2.1 药敏试验结果

选择 19 种较常见的抗生素药敏纸片对 31 株分离株进行药敏试验。结果显示, 这 3 株猪红斑丹

毒丝菌均对氨苄青霉素、青霉素、阿莫西林、复方新诺明、头孢噻肟、头孢曲松耐药;对氟哌酸、替考拉宁、恩诺沙星敏感,其中对恩诺沙星的抑菌圈最大,最为敏感,对其他 5 种抗生素敏感性不一。见表 1、表 2。

2.2 红斑丹毒丝菌的耐药性

31 株红斑丹毒丝菌分离株对 19 种抗生素有不同的耐药性,所有菌株均对卡那霉素、链霉素、阿米卡星、多粘菌素 B、万古霉素和磺胺异恶唑耐药,庆大霉素和复方新诺明的耐药率分别为 96.8% 和 83.9%,氧氟沙星、壮观霉素、林可霉素和四环素的耐药率分别为 32.3%、25.8%、22.6% 和 9.67%。其他药物未发现耐药性。见图 1。

2.3 红斑丹毒丝菌分离株耐药谱分析

31 株红斑丹毒丝菌对 19 种抗生素耐药谱分析结果见表 3,所有分离株均对多种抗生素有不同程度的耐药性,有 30 株对 8 种及以上的抗生素耐药,占分离株的 96.8%,只有一株菌耐 7 种抗生素,可见临床分离株的多重耐药比较严重。

3 讨 论

从 31 株红斑丹毒丝菌对 19 种抗生素耐药性分析结果显示,所有菌株对不同抗生素具有多重耐药性,可见湖北省的一些猪场耐药性很普遍,而且耐药谱广,究其原因可能是:红斑丹毒丝菌在健康猪的扁桃体和淋巴组织中的分离率高达 30%~50%^[2],

表 1 31 株红斑丹毒丝菌的药敏试验结果

菌株	磺胺异恶唑	卡那霉素	氧氟沙星	链霉素	阿莫西林	庆大霉素	阿米卡星	多粘菌素 B	万古霉素	复方新诺明
SE03	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE04	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE05	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE06	R	R	M	R	S	R	R	R	R	M
SE07	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE10	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE12	R	R	R	R	S	R	R	R	R	M
SE13	R	R	R	R	S	R	R	R	R	M
SE14	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
SE15	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE16	R	R	R	R	S	R	R	R	R	M
SE17	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
SE18	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
SE19	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
SE21	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE22	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE25	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE26	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
SE27	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE28	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE29	R	R	M	R	S	R	R	R	R	M
SE30	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE31	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE33	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE34	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE36	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
SE37	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE38	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE39	R	R	R	R	S	M	R	R	R	R
SE40	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R
SE41	R	R	M	R	S	R	R	R	R	R

注:S,敏感;M,中介;R,耐药,下同。

表 2 31 株红斑丹毒丝菌的药敏试验结果

菌株	壮观霉素	环丙沙星	恩诺沙星	林可霉素	四环素	头孢曲松	青霉素	阿其霉素	克林霉素
SE03	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE04	M	M	M	S	S	S	S	S	S
SE05	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE06	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE07	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE10	S	M	S	S	S	S	S	S	S
SE12	R	M	M	R	R	S	S	S	M
SE13	S	M	M	M	S	S	S	S	S
SE14	M	M	M	S	S	S	S	S	S
SE15	M	M	M	M	S	S	S	S	S
SE16	S	M	M	M	S	S	S	S	S
SE17	M	M	M	M	S	S	S	S	S
SE18	M	M	M	M	S	S	S	S	S
SE19	R	M	M	R	R	S	S	S	S
SE21	S	M	S	S	S	S	S	S	S
SE22	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE25	R	M	M	R	R	S	S	S	S
SE26	R	M	M	R	M	S	S	S	S
SE27	M	M	S	S	S	S	S	S	S
SE28	S	M	S	S	S	S	S	S	S
SE29	R	M	S	R	R	S	S	S	S
SE30	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE31	R	M	S	S	S	S	S	S	S
SE33	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE34	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE36	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE37	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE38	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SE39	R	M	M	R	M	S	S	S	S
SE40	S	M	M	S	S	S	S	S	S
SE41	R	M	M	R	M	S	S	S	M

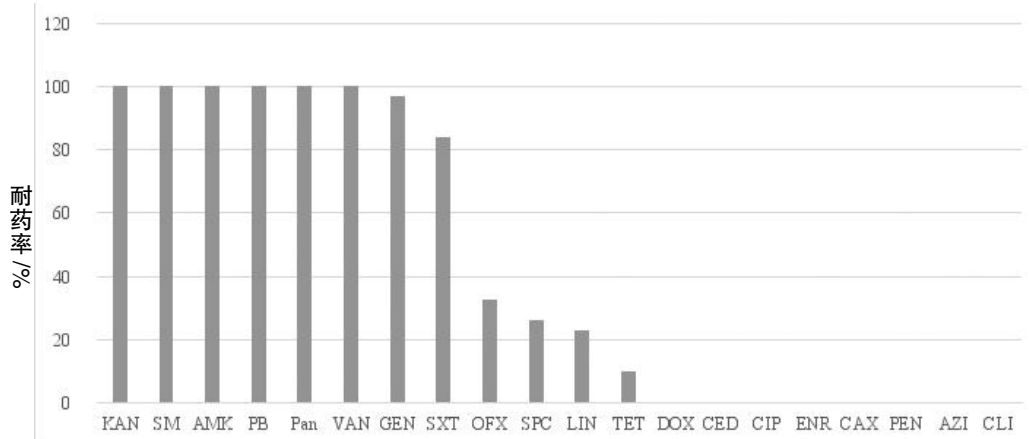


图 1 红斑丹毒丝菌对 20 种抗生素的耐药率

注:KAN:卡那霉素;OFX:氧氟沙星;SM:链霉素;AMX:阿莫西林;GEN:庆大霉素;Pan:磺胺异恶唑;AMK:阿米卡星;PB:多粘菌素 B;VAN:万古霉素;SXT:复方新诺明;SPC:壮观霉素;CIP:环丙沙星;ENR:恩诺沙星;LIN:林可霉素;TET:四环素;PEN:青霉素;CED:头孢拉定;AZI:阿其霉素;CLI:克林霉素;CAX:头孢曲松,下同。

表 3 不同红斑丹毒丝菌分离株对 20 种抗生素耐药谱测定结果

耐药数目	耐药谱	菌株数目	菌株分离率 /%
7	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+Pan	1	3.2
8	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+OFX+Pan	2	6.5
8	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+Pan+SXT	16	51.6
9	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+Pan+SXT+OFX	4	12.9
9	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+Pan+SXT+SPC	1	3.2
10	KAN+SM+AMK+PB+VAN+OFX+Pan+SPC+LIN+TET	1	3.2
10	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+Pan+SXT+SPC+LIN	2	6.5
11	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+Pan+SXT+SPC+LIN+TET	1	3.2
11	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+Pan+OFX+SPC+LIN+TET	1	3.2
11	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+Pan+SXT+OFX+SPC+LIN	1	3.2
12	KAN+SM+AMK+PB+VAN+GEN+Pan+SXT+OFX+SPC+LIN+TET	1	3.2

养殖户在养殖和疾病防控时大量使用抗生素加速了多重耐药的产生;红斑丹毒丝菌可能和其他种类的细菌发生基因组交流。因此,在临床选择治疗猪丹毒时应高度重视,合理用药。

本研究选取常见的 19 种抗生素对临床分离株进行药敏试验,结果表明 31 株分离菌对青霉素、头孢他啶、阿奇霉素敏感性最强,对喹诺酮类药物如恩诺沙星和环丙沙星的敏感性降低,对卡那霉素、链霉素、磺胺异恶唑、阿莫西林、万古霉素完全耐药,未发现耐青霉素菌株。在这次中国猪丹毒疫情暴发之前,红斑丹毒丝菌对青霉素高度敏感,一直是发生猪丹毒疫情的首选药^[3-6],何世成等报道湖南红斑丹毒丝菌临床分离株 HR-6、ZY-8、XY-9 对氨基青霉素、青霉素、阿莫西林、头孢噻肟和头孢曲松均产生耐药性^[7],但是这次安徽和广州的分离株还是对青霉素高度敏感^[8-9]。中国的这次猪丹毒疫情暴发,湖南省产生了耐青霉素菌株,因此其他省份在治疗猪丹毒时,选择青霉素时应谨慎。此外,这次猪丹毒疫情暴发的临床分离株对磺胺类药物产生了耐药性,对喹诺酮类药物的敏感性在降低,红斑丹毒丝菌的耐药性越趋严重。

张乐宜等^[8]报道,此次广州猪丹毒疫情,在临床治疗过程中采用饲料添加阿莫西林、头孢类药物同时肌注两类药物的方法,短期内不能控制疫情的持续发生,须持续用药 10~14 d。在临床使用头孢类和青霉素类药物,应注意使用的剂量、次数、时间和

反服用药,否则会导致部分红斑丹毒丝菌不被抑杀,从而产生耐药性。

参 考 文 献

- [1] WANG Q, CHANG B J, RILEY T V. *Erysipelothrix rhusiopathiae*[J]. Vet Microbiol, 2010, 140(3/4): 405-417.
- [2] EAMENS, G J, FORBES W A, et al. Characterisation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates from pigs associated with vaccine breakdowns[J]. Vet Microbiol, 2006, 115(4): 329-338.
- [3] Venditti, M, et al. Antimicrobial susceptibilities of *Erysipelothrix rhusiopathiae* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1990, 34(10): 2038-2040.
- [4] 万培伟, 熊莉娟, 褚玉双, 等. 猪丹毒杆菌的分离鉴定及药敏试验 [J]. 动物医学进展, 2014, 35(6): 160-163.
- [5] 覃桂桂. 亚急性猪丹毒的诊断与治疗方法分析 [J]. 农民致富之友, 2014(16): 275.
- [6] 王千菊, 陈坚, 巫月生, 等. 一株猪丹毒杆菌的分离鉴定及其对活疫苗免疫猪的攻毒试验 [J]. 广东畜牧兽医科技, 2014, 39(2): 29-33.
- [7] 何世成, 谈志祥, 刘道新, 等. 3 株猪红斑丹毒丝菌湖南株的分离与鉴定 [J]. 中国畜牧兽医, 2011, 38(5): 155-157.
- [8] 张乐宜, 李艳, 蔡汝健, 等. 猪红斑丹毒丝菌 GZ 株的分离鉴定及序列分析 [J]. 西北农业学报, 2014, 23(7): 31-38.
- [9] 陆萍, 黄晓慧, 李春芬, 等. 安徽部分地区猪丹毒杆菌的分离鉴定及生物学特性研究 [J]. 微生物学通报, 2014, 41(9): 1822-1828.
- [10] 段小卫, 王娜. 亚急性猪丹毒的诊断与治疗 [J]. 畜牧与饲料科学, 2010, 31(1): 183-184.
- [11] 李黎, 李光沐, 俞宁, 等. 猪丹毒的诊断与防治措施 [J]. 畜牧与饲料科学, 2009, 30(7): 118-123.