

1 例鸡大肠杆菌病的诊治

樊三忠

江苏省扬州市广陵区畜牧兽医站, 江苏扬州 225001

摘要 鸡大肠杆菌病是由某些血清型大肠埃希氏菌引起的一种细菌性传染病, 严重危害养鸡业, 可导致鸡发生一系列疾病, 如败血症、脐炎、胚胎死亡、肉芽肿、卵黄性腹膜炎和眼炎等, 给养鸡户带来了巨大的经济损失。本文以 1 例鸡大肠杆菌病为例, 通过临床症状、病理剖检进行观察, 并结合实验室诊断方法对细菌进行分离鉴定。

关键词 鸡大肠杆菌; 诊断; 治疗

1894 年, Ligniers 首次报道鸡大肠杆菌病, 此后, 许多国家和地区都有报道本病发生^[1-2]。首先 David 和 Twisselman 报道了由肠杆状微生物引起的禽类感染, 后来 Wasserman 等和 Fahey 分别在鸡“气囊病”病例中发现并分离出了大肠杆菌^[3]。随着 20 世纪 80 年代的集约化养禽业的不断发展, 该病在养禽业中已被列为重要细菌病, 严重威胁着禽业的发展^[4]。建立正确地诊治禽大肠杆菌病方法, 是基层兽医工作者的重要研究课题。本文就临床 1 例鸡大肠杆菌病进行了细菌学诊断及治疗, 取得了很好的效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1) 菌株来源于江苏省扬州市广陵区畜牧兽医站, 解剖来自广陵区某养殖户的疑似大肠杆菌病死鸡, 无菌采集心、肝等病料。

2) 培养基。麦康凯琼脂, 普通营养琼脂, 三糖铁琼脂, 血培养基, LB 培养基。

3) 主要试剂。麦芽糖、葡萄糖、甘露醇、乳糖、蔗糖、枸橼酸盐、侧金盏花醇等细菌生化微量管(购自杭州天和微生物试剂有限公司)。草酸铵结晶紫染

液、95%的乙醇溶液、卢戈碘液、番红复染液、欧立希氏(Ehrlich's)试剂、V-P 试剂、M.R 试剂。

4) 药敏纸片。复方新诺明(23.75/1.25)、左氧氟沙星(5 μg)、链霉素(10 μg)、氯霉素(30 μg)、四环素(30 μg)、庆大霉素(30 μg)、环丙沙星(5 μg)、多粘菌素(300 IU)、强力霉素(30 μg)、磺胺甲基异噁唑(300 μg)(购自杭州天和微生物试剂有限公司)。

5) 大肠杆菌标准抗 O 因子血清、大肠杆菌 O 抗原单因子和多因子血清(购自中国兽药药品监察所)。

1.2 方法

1) 细菌分离培养。对无菌采集的心、肝脏样品, 进行大肠杆菌的分离培养, 对单个典型菌落进行纯培养并冻干保存。

2) 革兰氏染色镜检。用接种环蘸取少许生理盐水于洁净玻片上, 再挑取适量的分离细菌纯培养与玻片上的生理盐水混合, 均匀涂布, 自然干燥后用火焰固定, 在玻片上滴加草酸铵结晶紫染液, 作用 1~3 min 后, 水洗, 加卢戈碘液于玻片上媒染, 作用 1 min 后, 水洗, 再加 95%酒精溶液脱色, 作用 15~30 s 后水洗, 最后加番红复染液复染 1 min 后, 水

收稿日期: 2015-10-27

樊三忠, 1970 年生, 男, 兽医师。

参 考 文 献

[1] 王永秀. 鸭大肠杆菌病与传染性浆膜炎混合感染的诊治[J]. 福建畜牧兽医, 2007(2): 40.

[2] 周珍辉, 李玉冰, 曹金元, 等. 鸭传染性浆膜炎的诊断与防治[J]. 中国畜牧兽医, 2007(5): 91-93.

[3] 郑腾, 陈枝华, 李昂. 鸭传染性浆膜炎的诊断和防治现状及进展[J]. 中国家禽, 2002(21): 40-42.

洗,自然晾干后镜检,观察细菌染色与形态。

3)大肠杆菌生化试验。取分离的细菌分别接种三糖铁琼脂斜面,37℃培养 24~48 h 后观察斜面与底部的颜色变化以及产气情况,并对分离株进行麦芽糖、葡萄糖、蔗糖、乳糖、甘露醇、侧金盏花醇、吡啶、M.R、V-P、枸橼酸盐 10 项生化指标的测定。

4)大肠杆菌 O 血清型的鉴定。

①凝集原的制备。挑取普通琼脂平板上的纯培养物,接种至营养肉汤,37℃,震荡培养 24 h,然后挑取一环营养肉汤的培养物,划线接种至麦康凯琼脂平板,37℃培养箱,静置培养 24 h,挑取麦康凯琼脂平板上 2~3 个典型菌落再接种到普通琼脂斜面,37℃静置培养 24 h,然后,用 2 mL 0.5%石炭酸生理盐水将普通琼脂斜面上的菌苔洗脱下来,通过 121℃高压灭菌器高压 2 h 的方式来除去 K 抗原和 H 抗原的 O 不凝集性,随后制成浓稠的 O 凝集原,灭菌前菌液浓度大约为 10¹⁰ 菌落形成单位(cfu/mL)。

②玻板凝集试验。在一洁净的玻璃片上滴 1 滴制备好的凝集原,再用接种环挑取 1 环多价因子血清,充分混匀,涂成大小为 1.5 cm 的圆圈,轻轻摇动玻片,30 s 后若出现明显凝集的现象可判定为阳性反应。同时以生理盐水代替多价因子血清混合菌悬液作对照,观察是否出现自凝现象。重复以上操作,然后使每一 O 凝集原与多因子血清内的每一单价因子血清再作进一步的凝集试验,从而确定每株大肠杆菌的具体血清型。

5)药敏试验。采用纸片扩散法(Kirby-Bauer),即将含有不同浓度的抗菌药物的纸片置于平板培养基上,平板已接种了被检菌,抗菌药物向周围扩散,因此在药敏纸片的周围会出现抑菌圈,被检菌对该种抗菌药物的敏感性与抑菌圈的大小成正相关,根据抑菌圈的大小,判断该菌对各种药物的敏感程度。判断标准为抑菌圈直径大于 20 mm 为高度敏感,20~15 mm 为中度敏感,15~10 mm 为低度敏感,小于 10 mm 为耐药。

在麦康凯琼脂平板上用灭菌接种环挑取一典型大肠杆菌单菌落,在 LB 培养基表面作致密划线。用无菌小镊子将上述 12 种已灭菌的药敏试纸贴于

琼脂平板表面,轻压与平板表面紧贴,且不能再移动,然后将平板倒置于 37℃培养箱,静置培养后取出观察结果。各纸片中心相距应该大于 24 mm,纸片距离平板内缘应大于 15 mm。

2 结果

2.1 病理剖检

病死鸡剖检后可见纤维素性心包炎,心包膜明显增厚,并有黄色或白色纤维素性附着物(图 1),肝脏发生肿大,且其表面附着纤维素样物(图 2)。



图 1 严重的心包炎

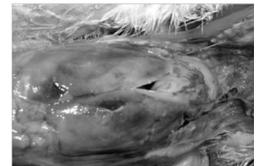


图 2 严重的肝周炎

2.2 细菌分离

经过 37℃/24 h 培养后,在麦康凯琼脂培养基上形成粉红色、光滑湿润、圆形隆起、边缘整齐、中等大小的菌落(图 3);使三糖铁琼脂斜面培养基斜面和底部均由原来的红色变为黄色,并且底部有气泡产生。培养物涂片后经革兰氏染色并镜检,可观察到两端钝圆、间或细长、呈两极着色的革兰氏阴性短杆菌,多呈单个或成对出现。另外,分离菌均无芽孢(图 4)。

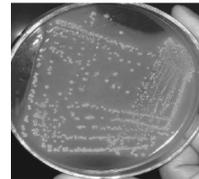


图 3 细菌在麦康凯培养基上形态

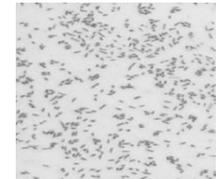


图 4 显微镜下观察的 G- 杆菌

2.3 生化试验结果

生化试验结果见表 1,其生化试验结果符合大肠埃希氏菌的生化特性,可基本判定此次分离到的菌株为大肠杆菌。

2.4 分离株 O 血清型分析

通过玻板凝集试验,测定该大肠杆菌分离株的血清型为 O2。

2.5 药敏试验

本试验选用 10 种抗生素进行耐药性检测,结

表 1 生化试验结果¹⁾

葡萄糖	乳糖	麦芽糖	甘露醇	蔗糖	吡啶	M.R	VP	枸橼酸盐	硫化氢
*	*	*	*	+	+	+	-	-	-

1)糖发酵试验中:“*”,产酸产气,“+”,产酸不产气,其余试验中“+”表示阳性结果,“-”表示阴性结果。

表 2 大肠杆菌药敏试验结果

	复方新诺明	左氧氟沙星	链霉素	氯霉素	四环素	庆大霉素	环丙沙星	多粘菌素	磺胺甲基 异噁唑	强力霉素
抗菌药物抑菌圈直径/mm	8	20	3	11	4	11	6	14	1	0
耐药情况	耐药	敏感	耐药	耐药	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	耐药

果见表 2。

在供试的 10 种抗生素中，受试菌株对左氧氟沙星、庆大霉素和多粘菌素都敏感，左氧氟沙星最敏感，而对其他几种抗生素则有耐药性。

2.6 治疗结果

治疗本病用 0.1% 氟哌酸饮水，连饮 3~5 d；硫酸庆大霉素肌肉注射，按 5 000 U/kg 连续注射 3~5 d；3 d 后，死亡率减少，5 d 后治愈，治愈率达 95%。

3 讨 论

鸡大肠杆菌病是一种常见病和多发病，由致病性大肠埃希氏菌感染而引起的。大肠杆菌病属于条件性疾病，而大肠杆菌普遍存在，因此，当鸡群饲养密度大，疾病干扰，气候突变，应激因素存在时，便会造成本病暴发流行。另外，由于集约化养鸡业不断发展，使得该病的发病率和死亡率随之增加，严重导致家禽生产性能的下降，给养禽业造成重大损失。

本试验中的 10 种抗生素均为革兰氏阴性菌敏感的代表药物。结果显示临床上大肠杆菌的耐药现象已十分显著，这给家禽养殖业大肠杆菌病的防治

带来了严重的阻碍。作为基层兽医工作者，对目前临床上大肠杆菌进行耐药情况普查，以便正确指导临床用药很有必要。如果能够在临床的实际用药中采取交叉、轮换、联合等用药方式，同时制定合理的治疗程序，将会大大减少大肠杆菌产生耐药性的机会，从而达到相对较好的防制效果。

鸡大肠杆菌病重在预防，应减少饲料和饮水的污染，尤其饮水器，适当增加葡萄糖等。更应注意洗刷和消毒，用具及环境要经常彻底消毒。搞好种蛋及孵化器的清洁卫生和消毒工作，加强饲养管理^[5]。

参 考 文 献

- [1] 崔治中. 兽医全攻略鸡病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 194-195.
- [2] 刘振湘, 姚卫东. 畜禽传染病[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008: 219-223.
- [3] 徐建议. 禽病防治[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 86-93.
- [4] 臧素敏. 养鸡与鸡病防治[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2012: 120-124.
- [5] 黄炎坤, 赵云焕. 养鸡实用新技术大全[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2011: 167-172.

疫苗注射部位不准确效果差

疫苗能否产生足够的免疫力与注射方法有很大关系，有些疫苗要求肌肉注射，有些疫苗需要皮下注射，有些要求后背穴注射，因为这样做才能发挥疫苗的最佳效果。但在生产上并没有完全做到，特别是在猪没有保定好的情况下打飞针，很难掌握准确的部位，可能注入肌肉，也可能注入脂肪，也可能注入皮下，这样疫苗的效果要大打折扣。比如需要肌肉注射的疫苗，在肌肉内很容易吸收，但如注入脂肪，疫苗长时间不能吸收，在体温 38℃ 的高温下，疫苗很快会失效，也就起不到免疫的效果了。

所以，在给仔猪和后备猪注射疫苗时必须将猪保定好。育肥猪也像后备猪一样固定是不现实的，因为数量太大，会花费太大的工作量；而如果打飞针则往往会使部分猪的注射失败或效果不理想，所以寻找一种可操作的方法非常必要。

在生产中，可以在 1 个小圈里，几个饲养人员用 1 个铁栏杆将猪挤到 1 个角落或边上，因猪挤在一起时不易活动，特别是猪头都要抬起来，很容易固定部位打针。大一些的保育猪也可以这样操作。

来源: 金河动保网