

鸡粪源性沙门氏菌的耐药特性

张博¹ 高原^{2,3} 姚伟^{2,3}

1.辽宁省抚顺市动物疫病预防控制中心,辽宁抚顺 113006;2.辽宁省动物医学研究院,沈阳 110164;

3.辽宁省动物疫病预防控制中心,沈阳 110164

摘要 采自健康鸡群的非重复粪便样品 90 份,分离沙门氏菌 34 株,分别对 13 种抗生素进行药敏试验和 4 种耐药基因的检测。结果表明,鸡粪源性沙门氏菌对多种抗生素存在耐药性,对氨苄西林耐药性最高,并携带 β -内酰胺类耐药基因,为有效防控鸡沙门氏菌病提供依据。

关键词 鸡;粪源;沙门氏菌;耐药特性

沙门氏菌病是以鸡为主要宿主的一种人畜共患病,致病性沙门氏菌给家禽养殖业带来严重影响。近年来,由于抗生素的不合理使用,使得沙门氏菌的耐药性逐渐增强,导致对鸡沙门氏菌病的治疗出现用药困难等问题。残留的抗生素通过排泄物对周围环境产生严重污染,进而对人的健康生活造成不良影响。因此,本文对鸡粪样中分离的沙门氏菌

进行耐药分析,为鸡沙门氏菌病的合理防治提供理论参考。

1 材料与方法

1)样品采集。从辽东地区选择 3 个育成鸡场,选择健康鸡群采集非重复肛拭子样品 90 份,样品采集后置于运送培养基中,于 24 h 内进行样品处

收稿日期:2018-01-22

张博,女,1987 年生,中级兽医师。

⑦每孔加终止液 50 μ L。450 nm 测定每孔的光吸收值。结果判定:阴性对照孔 PI 小于 0.40,阳性对照孔 PI 大于 0.60,则试验成立。

⑧血清样品 PI 值不低于 0.45 判为小反刍兽疫抗体阳性,小于 0.40 判为阴性,0.40 < PI < 0.45 为可疑。

2 结果与分析

1)免疫效果分析。2017 年 11 月,全市共对 120 份血清样品进行了检测。结果显示,合格样品 117 份,总合格率达到 97.5%,可以看出小反刍兽疫抗体总体水平大于 70%,抗体水平达到了农业部要求,小反刍兽疫疫苗的免疫效果较好,免疫后能很好地保护羊群。

2)小反刍兽疫风险评估。根据检测结果,日照市小反刍兽疫抗体水平高达 97.5%。群体免疫效果达到了国家要求,发生小反刍兽疫的风险较低。

3 讨论

1)试验方法和试剂的选择。为保证试验的敏感性、特异性和时效性,试验方法和试剂的选择尤其重要^[1]。本试验采用了小反刍兽疫竞争 ELISA 方法,采用的试剂来自国家口蹄疫参考实验室,实验的数据可靠性能得到很好的保证。

2)抽样方法的选择。本试验抽样方法是先抽取场点,在场点内再抽取个体的抽样方式开展监测采样。但是由于资金和人力的限制,养殖场抽样数量较少,不能最大限度地反映全市小反刍兽疫免疫抗体的水平。

参 考 文 献

[1] 刘丽.羊小反刍兽疫综合防控技术推广[J].现代农业科学,2017(18):229.
[2] 刘玉才.山东省五莲县规模猪场猪瘟免疫效果监测[J].养殖与饲料,2017(6):62.

理,并立即检测。

2)菌株分离。将肛拭子样品用生理盐水稀释并接种在营养肉汤培养基中培养,再通过麦康凯培养基分离出沙门氏菌。

3)药敏试验。按照 CLSI 标准进行操作^[1],对分离株采用微量稀释法测定其对哌拉西林、氨苄西林、头孢噻肟、头孢他啶、美罗培南、厄他培南、庆大霉素、阿米卡星、妥布霉素、四环素、环丙沙星、多黏菌素和替吉环素等 13 种抗生素的药物敏感性。

4)耐药基因检测。根据 GenBank 已发表耐药基因序列,对分离株进行 4 种 β -内酰胺类耐药基因 (blaSHV-1、blaCTX-M、blaTEM 和 blaNDM-1) 检测。根据 Knapp 等^[2]研究得到扩增目的基因引物序列及目的片段长度,引物由上海生工合成。PCR 体系取模板 cDNA 2.0 μ L,10 pmol/ μ L 上下游引物各 1 μ L,混合 Tag 酶 9.5 μ L,加入灭菌双蒸水至 25 μ L。PCR 反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 min,35 个循环,72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。取 PCR 反应产物 5 μ L,于 3.0% 琼脂糖凝胶中电泳,以检测扩增效果。

2 结果与分析

1)药敏试验结果。通过对 90 份肛拭子样品的分离培养,分离出沙门氏菌 34 株。34 株沙门氏菌对 13 种抗生素均存在不同程度的耐药性,其中有 30 株对 3 种以上的抗生素耐药,包括 15 株对所有抗生素都耐药,10 株对 10 种抗生素耐药,4 株对 7 种抗生素耐药,1 株对 5 种抗生素耐药。13 种抗生素中,34 株沙门氏菌对氨苄西林的耐药性最高,高达 100%,对美罗培南、厄他培南的耐药性最低,为 0%。

2)耐药基因检测结果。通过对 4 种 β -内酰

胺类耐药基因的检测,34 株沙门氏菌中,12 株检测出携带 β -内酰胺类耐药基因。其中 7 株检出 blaCTX-M 阳性,2 株检出 blaCTX-M 和 blaSHV-1 阳性,1 株检出 blaTEM 和 blaSHV-1 阳性,2 株检出 blaCTX-M、blaSHV-1 和 blaTEM 阳性,blaNDM-1 没有阳性检出。

3 讨论

沙门氏菌是多种动物的病原菌,不仅对家禽养殖业造成了严重影响,还对人类公共卫生安全造成很大威胁。因此通过实验检测进而了解沙门氏菌的耐药特性,对辽东地区家禽养殖的防控具有重要意义。本研究通过对 90 份肛拭子采样,分离出的 34 株沙门氏菌对 13 种抗生素均有耐药性,其中 30 株产生多重耐药性,所有菌株对氨苄西林均耐药,对美罗培南、厄他培南耐药性最低。因此,美罗培南、厄他培南可以作为沙门氏菌病临床治疗首选药物。本研究对 4 种 β -内酰胺类耐药基因进行了检测,12 株沙门氏菌均检出耐药基因阳性,blaCTX-M 检出率较高, β -内酰胺类耐药基因的传播是造成沙门氏菌对氨苄西林等氨苄青霉素类抗生素耐药的主要原因。

参 考 文 献

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute.M100-S18 performance standards for antimicrobial susceptibility testing [M]. Wayne,PA: Clinical and Laboratory Standards Institute,2008.
- [2] KNAPP C W,ZHANG W,STURM B S M,et al.Differential fate of erythromycin and beta-lactam resistance genes from swine lagoon waste under different aquatic conditions[J].Environmental Pollution,2010,158(5):1506-1512.