

磺胺间甲氧嘧啶与恩诺沙星联合用药对黄羽肉鸡常见病原菌的药敏试验

吴波¹ 段龙川² 罗厚强²

1.浙江省温州市动物疫病预防控制中心,浙江温州 325000;

2.温州科技职业学院动物科学系,浙江温州 325006

摘要 采用磺胺间甲氧嘧啶(SMM)与恩诺沙星(EFs)联合用药对黄羽肉鸡常见病原菌大肠杆菌、沙门氏菌和禽多杀性巴氏杆菌进行了体外药物敏感性试验。结果表明,SMM对3种病原菌的MIC值分别为256、1 024、256 μg/mL;EFs对3种病原菌的MIC值分别为32、16、2 μg/mL。SMM与EFs联合药敏试验结果表明对大肠杆菌和禽多杀性巴氏杆菌呈现协同作用,对沙门氏菌呈现相加作用。

关键词 磺胺间甲氧嘧啶;恩诺沙星;黄羽肉鸡;药敏试验

当前,黄羽肉鸡养殖过程中大多数病毒性疫病通过强制性疫苗注射等方法得到了有效控制^[1],然而细菌性疫病仍然呈现多发态势,如大肠杆菌病、鸡白痢、鸡霍乱等。这几种病在养殖过程中出现频率较高,养殖户往往凭经验用药,治疗程序不一,疗效差别很大。用药时病情出现好转,暂停则死亡,停药1~2 d后,病情又出现反复,死亡增加,难以治愈;长期反应用药,使病原菌产生很强的耐药性^[2],加大治疗成本的同时又无法有效控制疫情,给养殖户造成很大的经济损失。

本试验选取磺胺间甲氧嘧啶钠与乳酸恩诺沙

星2种药物,通过这2种药物对温州地区黄羽肉鸡常见病原菌(大肠杆菌、沙门氏菌、禽多杀性巴氏杆菌)的体外联合药敏试验,研究两者合用的抑菌效果,为筛选出经济有效的黄羽肉鸡常见病联合用药方案提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1)供试药品。磺胺间甲氧嘧啶钠,商品名制菌磺,含量45%,生产批号:20140121,购自广东大华农动物保健品有限公司。乳酸恩诺沙星,由浙江国

收稿日期:2014-11-11

基金项目:温州市科技计划项目(2013N0010)

吴波,男,1981年生,硕士生,兽医师。

传相关比较复杂,给选育带来了一定的难度。特别是在当前的选育中,瘦肉率、背膘厚、眼肌面积和肌内脂肪含量作为主选性状,在制定育种方案时,应视今后的选育方向和市场导向,均衡考虑、合理制定综合选择指数中各性状的经济加权值,以获得更好的选育效果。

参 考 文 献

[1] 种猪生产性能测定规程.NY/T822-2004.

- [2] BOLDMAN K G, KRIESE L A, VAN VLECK L D, et al. A manual for use of MTDFREML. A set of programs to obtain estimates of variances and covariances (draft) [M]. Agriculture Research Services, U. S. Dept. of Agriculture, 1995.
- [3] 占应祥, 钱成刚. 长白猪肥育、胴体及肉质性状的遗传参数估测[J]. 浙江畜牧兽医, 2002(1): 1-3.
- [4] 孙华, 宋忠旭, 李良华, 等. 中国大白猪 SII₁ 系主要生长和胴体性状的遗传参数估测[J]. 湖北农业科学, 2009(12): 184-187.
- [5] 孙华, 宋忠旭, 彭先文, 等. 杜洛克新品系生长和胴体性状遗传参数的初步估测[J]. 养殖与饲料, 2005(12): 18-20.

邦药业有限公司提供,批号 121108-1,含量 99.5%。

2)受试菌株。大肠杆菌(ATCC25922)、沙门氏菌(ATCC14028)、禽多杀性巴氏杆菌(ATC12948),购自杭州天和微生物试剂有限公司。

3)培养基。肉汤培养基:MuellerHinton(简称MH)培养基,血清MH肉汤培养基;固体培养基:血清琼脂培养基、鲜血琼脂培养基、普通琼脂培养基。上述各种培养基均按常规方法制备,并置于4℃冰箱保存备用。

1.2 方法

1)培养基的制备。按MH肉汤粉使用说明书配置;用于培养沙门氏杆菌和禽多杀性巴氏杆菌时,可在培养基中加入5%血清。MH琼脂经高压灭菌后,每个平板分装15mL制成琼脂平板,置于4℃冰箱保存备用。

2)药液的配制。试验前精密称取磺胺间甲氧嘧啶钠和乳酸恩诺沙星,无菌操作配制成2mg/mL的药液,置4℃冰箱保存备用。

3)菌液的配制。挑取特征性菌落先接种血平板,置37℃过夜培养,次日挑选单个菌落1~2个接种于5mL培养基(加5%血清)中,37℃培养16~18h。本试验要求的各菌液浓度为10⁵cfu/mL,依据计数的结果用MH肉汤将各原菌液做相应的稀释。

4)单用药物最小抑菌浓度(MIC)测定。采用试管二倍稀释法分别测定每种药物对每种受试菌株的MIC值,每种测定做3次重复,确定每种药物对每种受试菌株的MIC值。

5)联合药敏试验。采用微量稀释棋盘法,以各种药物对应各种受试菌株的MIC值的2、1、1/2、1/4倍等浓度在96孔细胞培养板上分别进行联合药敏试验。置37℃恒温培养箱培养18h左右,观察结果。

6)结果判定

以分级抑菌浓度(FIC)指数作为联合药敏试验的判断依据,计算公式如下:

$$\text{FIC 指数} = \frac{\text{甲药联用时 MIC}}{\text{甲药单用时 MIC}} + \frac{\text{乙药联用时 MIC}}{\text{乙药单用时 MIC}}$$

FIC 指数 ≤ 0.5 为协同作用;0.5 < FIC 指数 ≤ 1 为相加作用;1 < FIC 指数 ≤ 2 为无关作用;FIC 指数 > 2 为拮抗作用。

2 结果与分析

2.1 单用药物最小抑菌浓度(MIC)测定值

磺胺间甲氧嘧啶钠对大肠杆菌、沙门氏菌和禽多杀性巴氏杆菌的MIC值测定结果分别为256、1024、256 μg/mL;乳酸恩诺沙星单独用药对大肠杆菌、沙门氏菌和禽多杀性巴氏杆菌的MIC值测定结果分别为32、16、2 μg/mL。

2.2 联合药敏试验结果

磺胺间甲氧嘧啶钠与乳酸恩诺沙星对大肠杆菌、沙门氏菌和禽多杀性巴氏杆菌的联合药敏试验结果见表1~4。

表1 磺胺间甲氧嘧啶钠与乳酸恩诺沙星对大肠杆菌的联合药敏试验

药物浓度	乳酸恩诺沙星 / (μg/mL)					磺胺间甲氧嘧啶钠单用对照
	64	32	16	8	4	
磺胺间甲氧嘧啶钠 / (μg/mL)	512	-	-	-	-	-
	256	-	-	-	-	-
	128	-	-	-	-	+
	64	-	-	-	-	+
	32	-	-	-	+	+
乳酸恩诺沙星单用对照	-	-	+	+	+	+*

注:“-”表示无细菌生长,“+”表示有细菌生长,“+*”为无药细菌对照。下同。

表2 磺胺间甲氧嘧啶钠与乳酸恩诺沙星对沙门氏菌的联合药敏试验

药物浓度	乳酸恩诺沙星 / (μg/mL)					磺胺间甲氧嘧啶钠单用对照
	32	16	8	4	2	
磺胺间甲氧嘧啶钠 / (μg/mL)	2048	-	-	-	-	-
	1024	-	-	-	-	-
	512	-	-	-	-	+
	256	-	-	+	+	+
	128	-	-	+	+	+
乳酸恩诺沙星单用对照	-	-	+	+	+	+*

由表1可知,SMM单药的MIC为256 μg/mL,EFs的MIC值为32 μg/mL;联合用药时,SMM与EFs的MIC值分别为64、8 μg/mL,明显低于单药的MIC值。将表2的MIC值代入FIC指数公式,求得联合用药的FIC指数=(64/256)+(8/32)=0.5。

由表2可知,SMM单药的MIC值为1024 μg/mL,EFs单药的MIC值为16 μg/mL;联合用药

表 3 磺胺间甲氧嘧啶钠与乳酸恩诺沙星对禽多杀性巴氏杆菌的联合药敏试验

药物浓度	乳酸恩诺沙星 / ($\mu\text{g/mL}$)					磺胺间甲氧嘧啶钠单用对照
	4	2	1	0.5	0.25	
磺胺间甲氧嘧啶钠 / ($\mu\text{g/mL}$)	1 024	-	-	-	-	-
	256	-	-	-	-	-
	128	-	-	-	-	+
	64	-	-	-	-	+
	32	-	-	-	+	+
乳酸恩诺沙星单用对照	-	-	+	+	+	+*

表 4 联合用药效果

受试菌株	大肠杆菌	沙门氏菌	禽多杀性巴氏杆菌
FIC 指数	0.5	0.625	0.5
联合用药效果	协同作用	相加作用	协同作用

时, SMM 与 EFs 的 MIC 值分别为 512、2 $\mu\text{g/mL}$, 低于单药的 MIC 值。将表 3 的 MIC 值代入 FIC 指数化公式, 求得联合用药的 FIC 指数 $= (512/1\ 024) + (2/16) = 0.625$ 。

由表 3 可知, SMM 单药的 MIC 值为 256 $\mu\text{g/mL}$, EFs 单药的 MIC 值为 2 $\mu\text{g/mL}$; 联合用药时, SMM 与 EFs 的 MIC 值分别为 64、0.5 $\mu\text{g/mL}$, 明显低于单药的 MIC 值。将表 4 的 MIC 值代入 FIC 指数化公式, 求得联合用药的 FIC 指数 $= (64/256) + (0.5/2) = 0.5$ 。

3 小 结

试验结果显示, 磺胺间甲氧嘧啶钠对 3 种病原菌的敏感程度依次为大肠杆菌 = 禽多杀性巴氏杆菌 > 沙门氏菌; 乳酸恩诺沙星对 3 种病原菌的敏感程度依次为禽多杀性巴氏杆菌 > 沙门氏菌 > 大肠杆菌, 尤其对禽多杀性巴氏杆菌高度敏感。联合药敏试验对多杀性巴氏杆菌和大肠杆菌的 FIC 指数均小于 0.5, 表明 SMM 和 EFs 联合用药效果为协同作用; 联合药敏试验对沙门氏菌的 FIC 指数为 0.625, 表明 SMM 和 EFs 联合用药效果为相加作用。

乳酸恩诺沙星是氟喹诺酮类高效杀菌药, 为动物专用的广谱杀菌药, 对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌及链球菌等均有杀菌效用^[1]。该药物分子能与细菌 DNA 回旋酶亚基 A 结合, 抑制该酶的切割与连接功能, 阻止细菌 DNA 的复制, 从而呈现抗菌作用, 且具有广谱抗菌活性及强渗透性^[4]。磺胺间甲氧嘧啶钠则是缓效抑菌药, 其抗菌机制是干扰细菌的叶酸代谢, 阻碍叶酸合成, 影响细菌繁殖, 起抑菌作用, 但病原菌易通过叶酸代谢途径改变从而产生耐药性^[5], 2 种药物联用时可以从不同途径抑制并且杀死细菌^[6], 起到协同作用。对大肠杆菌和禽多杀性巴氏杆菌的感染采用 SMM 与 EFs 联用进行治疗时, 可减少 2 种药物单用的剂量, 并保证其对常见病原菌引起黄羽肉鸡疫病的治疗效果, 同时又有可能会降低治疗成本并且使病原菌不易产生耐药性。对于革兰氏阳性病原菌(如金黄色葡萄球菌)感染, 此 2 种药物联用反而呈现拮抗作用^[7], 因此在实际应用中, 应根据临床和实验室诊断结果对症下药。

参 考 文 献

- [1] MARTINEZ M, MCDERMOTT P, WALKER R. Pharmacology of the fluoroquinolones: a perspective for the use in domestic animals[J]. Vet J, 2006, 172(1): 10-28.
- [2] 曾振灵, 冯淇辉. 兽用氟喹诺酮类药物研究与临床应用进展[J]. 中国兽医科技, 1995, 25(3): 39-41.
- [3] 张秀英, 从霞, 邹水. 氟喹诺酮类药物对鸡常见病原菌的体外抑菌活性试验[J]. 畜牧与兽医, 2000, 32(6): 19-20.
- [4] 叶启薇, 陈杖榴, 蒋佩莲, 等. 环丙沙星与其他抗菌药联用对常见病原菌的药敏试验[J]. 中兽医医药杂志, 1997, (3): 3-5.
- [5] 杨汉春, 陈声, 吴清明, 等. 鸡源大肠杆菌对氟喹诺酮类药物的多重耐药性[J]. 畜牧兽医学报, 2003, 34(4): 398-404.
- [6] 郭永刚, 李荣誉, 周延州, 等. 恩诺沙星与磺胺间甲氧嘧啶联合药敏试验[J]. 中国兽医杂志, 2009, 43(6): 9-11.
- [7] 马立农, 陈杖榴, 曾振灵, 等. 恩诺沙星与磺胺类药物联用对畜禽常见病原菌的药敏试验 [J]. 湖北农学院学报, 2000, 20(1): 44-46.