

# 某肉鸡集团鸡大肠杆菌的分离鉴定与药敏试验

于阿芳 战玉萍

( 山东农业大学 泰安 271018 莒县畜牧局 济南市农业局 )

摘要 本试验对山东省某集团商品鸡场的鸡大肠杆菌进行了分离鉴定、药敏试验和血清型测定。

关键词 大肠杆菌 分离鉴定 药敏试验

中图分类号: S858.3 文献标识码: A 文章编号: 1007-1733(2007)03-0009-02

禽大肠杆菌病是由埃希氏大肠杆菌的某些致病性菌株所引起的多种禽病的总称,近年来此病已成为危害养鸡业的主要疾病之一。目前对该病主要是利用抗菌药物进行预防和治疗,然而随着抗生素的不断应用,特别是常用抗生素的滥用使得病原菌对抗生素的耐药性越来越强而且不断产生新的耐药菌株造成某些抗生素临床应用效果很差。因此,对临床上分离到的菌株,必须进行药敏试验,选择高效敏感的药物进行治疗,并注意连续用药和合并用药,方能较好地防治本病。由于大肠杆菌血清型繁多及变种,各地区血清型存在较大的差异,给该病的防治带来困难,因此在生产实践过程中难以获得一种效果稳定的大肠杆菌疫苗,而采用当地分离的优势血清型菌株制备的灭活疫苗,可起到预防控制本病的良好作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 仪器 电子天平高压蒸汽灭菌锅、恒温箱等。

1.1.2 试剂 药敏试纸片,购自上海伊华医学科技有限公司;麦康凯培养基(批号 990504):购自北京奥特星生物技术责任有限公司;鲜血琼脂、伊红美蓝琼脂、普通琼脂、LB培养基、自制。

1.1.3 病料 病死、病残鸡的肝脏和心脏等。

1.1.4 试验动物 小白鼠。

### 1.2 方法

1.2.1 制备麦康凯培养基 按常规方法制备,放入4℃冰箱备用。

1.2.2 鸡场采样 76例病料分别采自5个鸡场,分别标记为1-1、1-2、1-3直到15-18。

### 1.2.3 分离鉴定

1.2.3.1 涂片镜检 无菌从肝脏或心脏取病料直

接涂片、染色、镜检。

1.2.3.2 无菌培养 将菌样分别无菌操作接种于普通肉汤, LB培养基, 鲜血琼脂、伊红美蓝琼脂、麦康凯琼脂、普通琼脂平板, 放于37℃恒温箱培养24h。

1.2.3.3 生化试验 将纯化菌株分别接种于各种生化培养基。

1.2.3.4 致病力试验 用0.5ml肉汤培养的菌液分别腹腔注射于约17g重的小白鼠, 观察发病情况。同时将各个菌样分离接种于麦康凯琼脂平板, 置37℃恒温箱内纯培养24h以备用。

1.2.4 药敏试验 无菌操作取大肠杆菌纯培养物, 以划线方式致密而均匀地涂布于普通琼脂平板表面。再用无菌尖头镊子镊取各种抗菌素药敏试纸片, 按一定密度分别贴到上述已涂布细菌的培养基表面。将贴好药敏试纸片的平板翻转底部向上, 置37℃恒温箱内培养18h, 取出观察结果。

1.2.5 菌种保存 在做药敏试验的同时将对应的菌株无菌接种于试管斜面培养基, 并分别作好标记和纪录, 放于37℃恒温箱培养24h后, 置4℃冰箱备用。

1.2.6 麦康凯半固体培养基的制备 洗刷76个试管, 晾干, 分组用报纸包好; 称取26g麦康凯培养基倒入锥形瓶中, 加1000ml去离子水, 用电炉微热, 玻璃棒搅拌, 使其安全溶解, 放入高压蒸汽灭菌锅进行高温灭菌, 121℃维持15min。灭菌后, 于无菌操作台无菌操作倒入试管, 冷却后放入4℃冰箱备用。

1.2.7 穿刺接种与培养 将保存好的菌样分别无菌穿刺接种于作好的试管麦康凯半固体培养基, 作好标记和纪录。置37℃恒温箱内培养18h, 都见到明显的穿刺线, 呈倒立的松树状, 整个培养基颜

色变为粉红。个别的试管下部一段未变色,放入4冰箱保存。

1.2.8 血清型的测定 将穿刺培养的菌样寄扬州大学测定血清型。

2 结果与分析

2.1 分离鉴定

2.1.1 镜检、生化试验、致病力试验结果 (见表1)

表1 生化试验结果

鉴定项目	结果
镜检	均见革兰氏阴性、两端钝圆的短小杆菌均能分解葡萄糖、乳糖、甘露醇,产酸产气,甲基红试验、硝酸盐还原试验、靛基质试验均为阳性,V.P试验均为阴性,均不能利用柠檬酸盐,均能在三糖铁培养基中生长,产酸产气
致病力试验	小鼠死亡后剖检:心瓣膜出血,脾肿大、有力出血点,肝肿大。用肝涂片后染色、镜检同前一致

2.1.2 培养结果 (见表2)

表2 培养结果

培养项目	结果
普通肉汤	均匀浑浊,管底少许沉淀物
LB培养基	均匀浑浊
鲜血琼脂	轻微溶血
伊红美蓝琼脂	紫黑色金属光泽的圆形菌落
麦康凯琼脂	光滑湿润粉红色圆形菌落
普通琼脂平板	突起、湿润乳白色圆形菌落

2.2 药敏试验

2.2.1 药敏试验结果 判定标准按抑菌圈直径大小作为敏感性高低的标准。抑菌圈直径越大表明细菌对该药的敏感性越高。抑菌圈直径20.1mm以上者为高度敏感;直径15.1~20.0mm者为中度敏感;直径在6.0~15.0mm者为低度敏感或耐药。

结果仅有头孢唑啉、头孢三嗪2种药物对76例菌株高敏度达100%,占总药物的8.3%;其次是头孢哌酮,高敏度为80.3%,占总药物的4.2%;再就是头孢噻肟、头孢呋新高敏度高于50%,占总药物的8.3%。但是却有复合磺胺、环丙氟哌、四环素、利福平、万古霉素、氨苄青霉素、青霉素、苯唑青霉素、红霉素10种药物对76例菌株低敏度或耐药率达100%,占总药物的41.7%;还有氟哌酸、氯霉素,低敏度或耐药率高于70%,占总药物

的8.3%;呋喃妥因、链霉素、万古霉素,低敏度或耐药率高于60%,占总药物的16.7%;头孢他啶的低敏度或耐药率为59.2%,占总药物的4.2%。

2.3 血清型的测定

经过O血清测定定型25株,19株自凝,其余因各种原因未能定型。定型菌株中测的血清型有O<sub>41</sub>、O<sub>78</sub>、O<sub>29</sub>、O<sub>76</sub>、O<sub>5</sub>、O<sub>14</sub>,还有O<sub>104</sub>和O<sub>41</sub>混合型、O<sub>78</sub>和O<sub>41</sub>混合型以及O<sub>63</sub>和O<sub>29</sub>混合型,O<sub>41</sub>占9株、O<sub>78</sub>占5株、O<sub>29</sub>占3株、O<sub>76</sub>占2株、O<sub>5</sub>占2株、O<sub>14</sub>占1株、O<sub>104</sub>和O<sub>41</sub>混合型占1株、O<sub>78</sub>和O<sub>41</sub>混合型点1株、O<sub>63</sub>和O<sub>29</sub>混合型占1株,可见O<sub>41</sub>、O<sub>78</sub>和O<sub>29</sub>有17株占定型菌株的68.0%,因此可以认定O<sub>41</sub>、O<sub>78</sub>和O<sub>29</sub>为该肉鸡集团的优势血清型。

鸡场1的优势血清型为O<sub>41</sub>,鸡场2的优势血清型为O<sub>29</sub>,鸡场3定型的血清型为O<sub>14</sub>以及O<sub>63</sub>和O<sub>29</sub>混合型,鸡场4的优势血清型为O<sub>78</sub>,鸡场5场定型的血清型为O<sub>41</sub>、O<sub>78</sub>和O<sub>5</sub>。可见,各个场的血清型及优势血清型都存有一定的差异。另外,1场、3场、4场分别分别有混合血清型O<sub>104</sub>和O<sub>41</sub>混合型、O<sub>63</sub>和O<sub>29</sub>混合型以及O<sub>78</sub>和O<sub>41</sub>混合型,占了定型菌株的12%,可见,有混合血清型的菌株占的比例也不少。

总之,各分场的血清型不尽相同并且存有较大差异,同一鸡场存有多个不同的血清型。另外,多菌株共同致病也越来越严重。这与他人以往的结论相吻合,这使得防治工作比较困难,有的鸡场需要用自己的优势血清型的菌株单独做自家苗来进行预防。

3 讨论

本试验结果表明,鸡大肠杆菌病随着国内养鸡业的规模化发展,已经普遍存在,而且该病的危害越来越大,尤其是近两年本病呈显著上升趋势,成为养鸡业中最重要的细菌性传染病。目前对该病主要是利用抗菌药物进行预防和治疗,但由于该菌易产生耐药菌株,而且血清型众多,加上药物滥用等各种人为因素造成耐药现象越来越严重,继续加大抗生素的剂量,重复上述过程,其结果是微生物的抗药性越来越强。人如果食用含这种抗生素残留的畜禽产品。体内的微生物也会逐渐对抗生素产生相应的抗性。因此,对病原菌进行药敏试验,监测耐药性发展变化情况,科学有效地指导临床用药,避免盲目用药,这对减少耐药菌株的产生,提高药物防治效果,将是有效的措施。

(收稿日期:2007—04—01)