

肉鸡大肠杆菌的分离鉴定

刘书梅¹, 段书月², 王国栋¹

(1. 安阳工学院畜牧兽医系, 安阳 455000; 2. 河南滑县畜牧局动物检疫站, 安阳 456400)

摘要:从豫、鲁、冀接壤地区部分肉鸡场送检的病料中分离出 49 株大肠杆菌, 确定 42 株菌分属 11 个血清型, 其中 O₂、O₇₈、O₁、O₇₄、O₁₁ 为主要血清型, 分别占分离株的 26.2%、19.0%、11.9%、9.5% 和 9.5%, 表明该地区血清型复杂。药敏试验结果表明, 所分离的 49 株大肠杆菌对丁胺卡那霉素、氟本尼考、头孢噻唑最敏感, 高敏菌株达 94% ~ 100%, 可作为防治肉鸡大肠杆菌病的首选药物。

关键词:肉鸡; 大肠杆菌; 分离鉴定; 血清型

中图分类号: S852.61⁺2

文献标识码: B

文章编号: 1671-7236(2007)09-0116-02

鸡大肠杆菌病是大肠埃希氏杆菌的某些血清型所引起的传染病的总称, 各个品种各个日龄的鸡均可发病, 但肉仔鸡最易感。在临床上主要表现为败血症、纤维素性气囊炎、肝周炎、心包炎和腹膜炎(霍龙飞等, 1995)。该病既是肉仔鸡原发性疾病, 又可成为新城疫、禽流感、慢性呼吸道疾病的继发病, 从而造成高的发病率和死亡率。

目前认为 O₁、O₂、O₃₅ 和 O₇₈ 是世界各地禽病最常见的血清型, 均占已发现的大肠杆菌血清型 15% 左右。但国内已报道的血清型有 50 种之多, 不同地区有一定的差异。近几年随着肉鸡养殖业迅速发展和集约化程度的提高, 肉仔鸡大肠杆菌病流行势头愈加迅速, 一旦发生, 诸多抗菌药难以控制, 给肉鸡养殖场造成严重经济损失。为了弄清豫、鲁、冀三省接壤地区鸡大肠杆菌病的血清型及其药敏性, 以便有效地对该病开展诊断、防治工作, 我们对从三省相邻处部分肉种鸡场和商品肉鸡场送检的病料中分离的 49 株致病性大肠杆菌, 进行了血清型鉴定和药敏试验, 现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料 由豫、鲁、冀三省相邻的安阳、濮阳、邯郸、聊城、鹤壁等地的商品肉鸡场、肉种鸡场送检的材料中采取。

1.1.2 培养基 麦康凯琼脂、伊红美蓝琼脂、三糖铁琼脂、糖类及尿素酶、柠檬酸盐发酵管均为市售商品。鲜血琼脂、普通琼脂、普通肉汤、蛋白胨水、葡萄糖蛋白胨水、硝酸钾蛋白胨水、普通琼脂斜面按文献

配制。

1.1.3 生化试剂 MR 试剂、VP 试剂、吲哚试剂、硝酸盐还原试剂、生理盐水等由本单位提供。

1.1.4 试验动物 试验用小白鼠由河南省安阳第三制药厂提供, 雏鸡购自山东省家禽所 SPF 鸡场。

1.1.5 其他材料 大肠杆菌抗 O 型抗原标准血清等购自中国兽药监察所。标准菌株购自中国兽药监察所。药敏试纸购自上海药物研究所。

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离培养 无菌采取具败血症、心包炎、肝周炎等病理变化的病死鸡心血、肝脏、脾脏, 分别接种于普通肉汤、普通琼脂、血液琼脂和麦康凯琼脂、伊红美蓝琼脂培养基上。37℃ 培养 24 h, 挑选麦康凯琼脂平板上砖红色菌落接种普通琼脂斜面进行纯培养, 培养后胶塞密封。置 4℃ 冰箱保存备用。同时另挑选单个菌落涂片革兰氏染色, 进行菌体形态和染色特征的观察。

1.2.2 生化试验 取麦康凯琼脂平板上砖红色菌落, 接种于肉汤, 37℃ 培养 24 h, 按哈尔滨兽医研究所(2003)的方法进行生化试验。

1.2.3 致病性试验 取体重 15 ~ 17 g 健康小白鼠和 10 日龄雏鸡, 随机分组, 每组 4 只。试验组小白鼠腹腔接种 24 h 肉汤培养物 0.2 ml/只。试验组雏鸡肌肉注射 24 h 肉汤培养物 0.4 ml/只。对照组分别用同样方法接种灭菌生理盐水。观察发病和死亡情况、剖检变化, 并进行细菌分离。

1.2.4 血清型鉴定 按夏业才(1991)的方法进行。

1.2.5 药敏试验 将分离纯菌株接种于普通肉汤中, 37℃ 培养 24 h, 将各株培养菌液用普通肉汤稀释至 10⁻², 吸取 0.1 ml 滴入营养琼脂平板涂布均匀, 再放入药敏纸片, 37℃ 培养 24 h, 观察测量抑菌

收稿日期: 2007-02-07

作者简介: 刘书梅(1977-), 女, 河南人, 助理实验师, 主要从事动物微生物和传染病的试验工作。

圈的大小并记录结果(周廷宣等,1995)。判定标准:抑菌圈直径小于10 mm为抗药,直径在10.1~15 mm为中度敏感,大于15.1 mm为高度敏感。

2 结果

2.1 细菌分离 在普通琼脂平板上长出表面光滑、湿润、半透明、灰白色、圆形微凸起、中等大的菌落。在血液琼脂平板上长出菌落较大,边缘整齐,并有隆起的灰白色菌落,多数不溶血。在麦康凯琼脂平板上,形成中等大小的砖红色菌落,在伊红美蓝琼脂平板上,形成带有金属光泽的紫黑色小菌落。在肉汤培养基37℃培养24 h后,呈均匀混浊,管底有淡白色粘稠沉淀,管壁液面有菌环。

2.2 染色镜检 病料及培养物涂片染色镜检可见两端钝圆,多数散在排列,革兰氏阴性短杆菌。

2.3 生化试验 49株均能在三糖铁培养基上产酸产气使培养基变黄,均不产生 H_2S 。发酵葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖、山梨醇,MR试验、吲哚试验为阳性。均能还原硝酸盐,不分解尿素,不能利用柠檬酸盐,VP试验阴性。根据生化特性,表明分离菌为大肠杆菌。

2.4 致病性试验 试验动物接种后连续观察8 d。小白鼠试验结果:28株能全部致死小白鼠,13株部分致死,8株不能致死小白鼠;剖检死亡鼠,心外膜出血,肝肿胀、发黑或出血。雏鸡试验结果:25株能全部致死雏鸡,19株部分致死,5株不能致死雏鸡;剖检死亡雏鸡,表现为纤维素性心包炎、心包积液,肝周炎、肝表面被一层薄膜状纤维素性渗出物覆盖,气囊炎。从死亡小白鼠和雏鸡的肝脏、腹水、脾脏中收回细菌经染色镜检并进行生化试验,结果与接种菌一致。

2.5 血清型鉴定 在分离的49株大肠杆菌中,除7株未定型外,共确定了11个血清型,分别是 O_1 、 O_2 、 O_5 、 O_{11} 、 O_{15} 、 O_{35} 、 O_{74} 、 O_{78} 、 O_{86} 、 O_{88} 、 O_{111} ;其中 O_{78} 、 O_1 、 O_{74} 、 O_{11} 为主要血清型,分别占鉴定菌株的26.2%、19.0%、11.9%、9.5%,占血清型总数的76.1%。

2.6 药敏试验 由表1可见,丁胺卡那霉素、氟本尼考、头孢噻唑对所分离出的49株大肠杆菌抑菌作用最强,高敏菌达94%~100%;新霉素、庆大霉素、氯霉素、多粘菌素、阿莫西林、萘诺沙星、环丙沙星抑菌作用次之,敏感菌株在45%~67%;青霉素、四环素、麦迪霉素、强力霉素、红霉素、林可霉素抑菌作用低,敏感菌株低于15%。

3 小结和讨论

本试验测定了豫、鲁、冀三省相邻地区肉鸡49

株大肠杆菌的血清型,除7株未定型外,42株分属11个血清型,除 O_2 、 O_1 、 O_{78} 外, O_{74} 、 O_{11} 也是豫、鲁、冀接壤地区大肠杆菌的优势血清型。这次鉴定的菌株来源不够全面,该地区大肠杆菌可能存在其他血清型,有待进一步研究。

表1 药敏试验结果

药物名称	高敏(株)	中敏(株)	抗药(株)	高敏株比例(%)
丁胺卡那霉素	46	3	0	94
氟本尼考	49	0	0	100
头孢噻唑	49	0	0	100
新霉素	33	11	5	67
庆大霉素	30	14	5	61
氯霉素	29	8	12	59
多粘菌素	29	13	7	59
阿莫西林	33	12	4	67
萘诺沙星	27	14	8	55
环丙沙星	22	16	11	45
青霉素	0	0	49	0
四环素	4	5	40	8
麦迪霉素	0	8	41	0
强力霉素	5	6	38	10
红霉素	2	4	43	4
林可霉素	7	10	32	14

目前预防大肠杆菌的疫苗,多采用多价苗,虽适用范围广,但由于血清型覆盖很有限,效果不确定易造成免疫失败。建议有条件的肉种鸡场,最好采用自家灭活苗,这样效果可靠,更适用于血清型复杂的地区。

近几年,在肉鸡生产中,为了控制大肠杆菌及某些细菌感染,在饲料添加剂及治疗中盲目使用一些抗菌药物,导致耐药菌株越来越多并日趋严重。药敏试验结果可以看出,曾对环丙沙星、庆大霉素、强力霉素等敏感的细菌菌株产生了不同程度的耐药性。所以,在使用药物治疗大肠杆菌病时应先做药敏试验,筛选出对相应大肠杆菌菌株敏感的药物。据有关报道,用病料直接做药敏试验,此法省时、准确,适用于生产实际。如没有药敏试验条件,临床上可首选丁胺卡那霉素、氟本尼考、头孢噻唑。

肉鸡大肠杆菌病一年四季均可发生,但以冬季及夏季为多发。密度过大、通风不畅、氨气含量高、湿度大、卫生条件差等均可促进该病的发生。因此,只有加强饲养管理,搞好环境卫生,加强消毒等综合性防控措施,才能控制该病的发生。

参 考 文 献

- 1 习有祥,李久芹,陈庆普.山东省鸡大肠杆菌的分离鉴定[J].中国预防兽医学报,2002(1):21~23.

鸡传染性喉气管炎的中西防治

李海前

(甘肃畜牧工程职业技术学院,武威 733006)

中图分类号:S858.31

文献标识码:B

文章编号:1671-7236(2007)09-0118-02

2005年12月14日,养鸡户张某带病鸡前来就诊。经主诉结合临床症状、剖检变化及实验室诊断,综合分析最后确诊为鸡传染性喉气管炎。兹将整个过程报告如下:

1 发病情况

畜主饲养2批蛋鸡,一批为3000只,一批为1500只,分别为180日龄和240日龄。从育雏、育成到产蛋期成活率都在95%以上,且发育良好,均匀整齐。免疫上严格按照免疫程序进行免疫接种,且疫苗均使用以前用过的国产疫苗,质量比较可靠,

但未接种过喉气管炎疫苗。从前天开始一批鸡群中有个别鸡只发病,出现呼吸困难、眼睑水肿、流泪、咳嗽等症状。同时表现精神不振,采食量下降,用手指撑开鸡只喙部,可见喉头有少量黏液,并有散在的出血点,产蛋率开始下降。在这种情况下,户主曾用过青、链霉素进行肌肉注射,呼康等药物试治,效果不甚明显,病情迅速扩散,病鸡数量急剧上升,就连另一批也开始发病。于是张某带病鸡速来我院化验室进行化验诊断。

2 临床症状

病鸡呼吸困难,抬头伸颈,甩头,并发出湿性啰音和喘鸣声,采食量下降,咳嗽或甩头时,喷出血性鼻液,附着在墙壁、水槽、食槽或鸡笼上,最后迅速波及全群。个别病鸡常因喉头黏液或纤维素性渗出物

收稿日期:2007-03-06

作者简介:李海前(1966-),男,甘肃人,讲师,主要从事中兽医教学工作。

- 王双山,欧阳素贞. 鸡大肠杆菌的分离鉴定及多价灭活苗的研制[J]. 中国预防兽医学报, 2006(3): 351~355.
- 刘宝全. 兽医生物制品学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- 朴范泽, 汪广荫. 鸡致病性大肠埃希氏菌的血清型鉴定[J]. 家畜传染病, 1986(4): 1~2.
- 张敬礼, 等. 中草药制剂对人工感染肉仔鸡大肠杆菌病防治效果的研究. 中国畜牧兽医, 2006(6): G13~G14.
- 李敬玺, 张敬礼. 鸡大肠杆菌病及其防制的进展[J]. 河南职业技术学院学报, 1999(3): 58~60.
- 周廷宣, 冉茂菊. 鸡致病性大肠杆菌药敏试验[J]. 中国畜禽传染病, 1995(2): 57~58.
- 夏业才. 禽大肠杆菌病研究—致病性大肠杆菌血清型[J]. 中国兽药杂志, 1991(25): 1~2.
- 崔保安, 卢中华. 河南省主要致病性鸡埃希氏大肠杆菌血清分型初探[J]. 中国畜禽传染病, 1992(6): 6~7.
- 霍龙飞, 毕丁仁. 湖北省鸡源性大肠杆菌某些生物学特性的研究[J]. 中国畜禽传染病, 1995(1): 23~26.

Isolation and Identification to E Coli in Broiler

LIU Shu-mei¹, DUAN Shu-yue², WANG Guo-dong¹

(1. Department of Husbandry and Veterinary Science of Anyang Engineering College, Anyang 455000, China;

2. Husbandry Bureau of Huaxian, Anyang 456400, China)

Abstract: 49 strains *E Coli* were separated from the disease materials of several table chicken feeding factories in the contiguous area of Henan, Shandong and Hebei provinces, and 42 strains were confirmed as belonging to 11 serum types. The chief serum types are O₂, O₇₈, O₁, O₇₄, and O₁₁, with the percentage of 26.2%, 19.0%, 11.9%, 9.5% and 9.5% resp, which indicated the complexity of serum types in this area. The testing of sensitivity to drugs, showed that the 49 separated strains of *E Coli* are most Sensitivity to amikain florfenicol and cefotaxime, with the high sensitive strains reaching 94%~100%. So they can be the chief choosed drugs to prevent and cure this epidemic disease.

Key words: broiler; *E Coli*; isolation and identification; serum types