

# 肉鸡养殖场沙门菌与大肠杆菌耐药性的周期监测与研究

韩伟<sup>1</sup>, 顾鸣<sup>1</sup>, 肖云民<sup>1</sup>, 郑永捷<sup>2</sup>

(1. 上海出入境检验检疫局, 上海 200135; 2. 上海大学, 上海 200000)

**摘要** 对定点肉鸡饲养场的沙门菌和大肠杆菌进行监测试验, 连续跟踪 3 个养殖周期, 对不同养殖阶段的肉鸡及环境中细菌的耐药性进行测定。结果表明, 该养殖场分离到的大肠杆菌对青霉素类的耐药率尤其突出, 氨苄西林为 88.7%, 美洛西林为 83.0%。而耐药率低于 10% 的均为第 3 代头孢菌素类(头孢唑啉、头孢他啶和头孢曲松)。结果提示该养殖场的大肠杆菌中产超广谱-内酰胺酶(ESBLs)的菌株不多, 142 株大肠杆菌筛查的结果, 仅有 4 株产 ESBLs。分离到的沙门菌的耐药率总体低于大肠杆菌, 尤其对青霉素类和四环素的耐药率明显低于大肠杆菌。但耐药率在 10% 以下的同样仅有头孢菌素类。

**关键词** 肉鸡 大肠杆菌 沙门菌 耐药性

中图分类号: S855.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-9157(2007)01-0004-04

畜禽养殖业中抗生素的长期不规范使用造成大肠杆菌和沙门菌耐药性上升, 过去并不严重或较少发生的大肠杆菌病、沙门菌病等细菌性疾病成了家禽的主要传染病, 并且通过肉禽及其制品成为人类健康的严重隐患。

笔者对上海近郊的一个定点肉鸡饲养场进行了常见细菌(沙门菌和大肠杆菌)的耐药性监测试验, 连续跟踪 3 个养殖周期, 了解该养殖场内不同养殖阶段、不同防病抗病手段下细菌耐药性的变化趋势, 希望以此为基础, 加强对动物源性细菌耐药性的检测与监测, 遏制耐药性的传播与蔓延, 从而进一步保证食品安全, 确保人们的健康, 促进养殖业的发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

缓冲蛋白胨水 BP(CDRC); RV 肉汤(OXIOD); 月桂基硫酸盐胰酪胨肉汤 LST(CDRC); COLI ID 琼脂(bioMerieux); 木糖赖氨酸去氧胆酸盐琼脂 XLD(OXIOD); 靛基质试剂及培养基(CDRC); 三糖铁琼脂 TSI(CDRC); 尿素琼脂(CDRC); 沙门菌属 A-F 群多价 O 血清(上海市卫生防疫站); Mueller-Hinton 琼脂(OXIOD, 批号 346719); 抗生素药物纸片(天坛药物生物技术有限公司)。质控菌株为大肠杆菌 ATCC25922。

### 1.2 采样计划

选取上海郊县某肉鸡养殖场地面平养的肉鸡 20 000 羽(4<sup>#</sup>鸡棚), 从进雏至离场共饲养 48 d, 再次进雏前对鸡棚清洁消毒并空置 1 个月。以肉鸡生长周期为 1 个取样周期, 根据不同养殖阶段抗生素类饲料添加剂及抗生素类治疗药物的投放情况, 检测投放前后鸡舍及鸡泄殖腔样本中细菌的耐药性。该养殖场抗生素饲料添加剂的使用状况见表 1。

表 1 抗生素饲料添加剂的使用状况

饲养周期	饲料	抗生素 饲料添加剂	兽医临床 处方用药
育雏期 0~21 日龄	#510	硫酸黏杆菌素 10mg/kg 预混料	红霉素、硫酸新 霉素、氨苄青霉 素钠、青霉素 G、氟哌酸、盐 酸土霉素、盐酸 四环素
育成期 22~32 日龄	#511	硫酸黏杆菌素 10 mg/kg 预混料	
育成后期 33~48 日龄	#513	不添加药物	

计划采样时间: (1) 进雏(第 0 天)当日或其后 1~2 d; (2) 进雏后第 21~23 日; (3) 进雏后第 33~35 日; (4) 育成(第 48 天)离场当日。2005 年 1~3 月、4~6 月及 7~9 月间共跟踪了 3 个养殖周期, 分别为第 1 批, 第 2 批和第 3 批。

### 1.3 采样方式

样品采自泄殖腔与鸡舍环境(饮水槽、食槽、垫

料、饲料、尘土等)。

泄殖腔采样: 在鸡棚各处随机抓取肉鸡 10 羽, 用无菌棉签擦拭泄殖腔, 然后将棉签头放入 10 mL 灭菌脱脂牛奶管中。

环境采样: 将 10 mL 灭菌脱脂牛奶倾倒在 10 cm×10 cm 的多层无菌纱布上, 然后擦拭鸡舍中饮水槽、食槽、垫料等处, 或无菌收集饲料或尘土样本, 共 10 份, 装袋密封。样品尽快送实验室作细菌分离。

1.4 细菌的分离与鉴定

沙门菌与大肠杆菌分离鉴定按《美国 FDA 细菌分析手册》(2005, 2002) 进行。

3 个养殖周期的样品, 共分离到大肠杆菌 142 株, 检出率为 59.2%, 其中 75 株 (52.8%) 来源于肉鸡泄殖腔, 67 株 (47.2%) 来源于鸡舍环境; 沙门菌 36 株, 检出率为 15%, 其中 24 株 (66.7%) 来源于肉鸡泄殖腔, 12 株 (33.3%) 来源于鸡舍环境。

1.5 分离菌株的抗生素敏感性试验

参照抗生素敏感性试验纸片扩散法操作标准 (M2-A9)<sup>[1]</sup>进行。根据养殖场的抗生素使用情况以及 CLSI 标准<sup>[2]</sup>中抗生素的推荐分组, 选取了 16 种抗生素药物纸片, 包括 - 内酰胺类、氨基糖甙类、喹诺酮类、四环素类、磺胺类、氯霉素类及硝基呋喃类等。其中头孢他啶和头孢曲松纸片的结果同时做产

超广谱 - 内酰胺酶 (ESBLs) 检测的筛选试验, 另用头孢他啶、头孢他啶/克拉维酸、头孢噻肟和头孢噻肟/克拉维酸纸片做确证试验。

2 结果与讨论

2.1 大肠杆菌和沙门菌的药敏试验

由表 2 可见, 该养殖场分离到的大肠杆菌对多种抗生素具有耐药性, 对青霉素类的耐药率尤其突出, 其中氨苄西林为 88.7%; 美洛西林为 83.0%。其他耐药率超过 50% 的抗生素有: 四环素 80.2%, 复方磺胺 74.6%, 恩诺沙星 72.5%, 环丙沙星 66.2%, 诺氟沙星 60.6%, 庆大霉素 60.5%, 呋喃妥因 54.9% 和妥布霉素 50.0%。敏感率在 90% 以上的有第 3 代头孢菌素类 (头孢唑啉, 头孢他啶和头孢曲松), 这提示该养殖场的大肠杆菌中产超广谱 - 内酰胺酶 (ESBLs) 的菌株不多, 仅有 4 株产 ESBLs (2.8%)。

分离到的沙门菌的耐药率总体低于大肠杆菌。耐药率超过 50% 的抗生素有: 呋喃妥因 75.0%, 复方磺胺 66.7%, 美洛西林 61.1%, 恩诺沙星 58.3%, 环丙沙星和诺氟沙星 50%。但敏感率在 90% 以上的同样仅有头孢菌素类。

细菌耐药率比较高的药物主要分布在青霉素类和喹诺酮类, 而这些药物均是临床上常用的抗生素, 其中氨苄西林和诺氟沙星是该饲养场临床处方用药, 细菌对此类抗生素的高暴露频率可能是产生

表 2 沙门菌和大肠杆菌抗生素敏感试验结果

抗生素	大肠杆菌 (142 株)						沙门菌 (36 株)					
	敏感 (S)		中介 (I)		耐药 (R)		敏感 (S)		中介 (I)		耐药 (R)	
	菌株数	比例/%	菌株数/株	比例/%	菌株数/株	比例/%	菌株数/株	比例/%	菌株数/株	比例/%	菌株数/株	比例/%
氨苄西林	12	8.4	4	2.8	126	88.7	17	47.2	2	5.6	17	47.2
美洛西林	20	14.1	4	2.8	118	83.0	11	30.6	3	8.3	22	61.1
头孢唑啉	133	93.7	1	0.7	8	5.6	35	97.2	0	0	1	2.8
头孢他啶	135	95.0	2	1.4	5	3.5	35	97.2	0	0	1	2.8
头孢曲松	137	96.4	2	1.4	3	2.1	35	97.2	1	2.8	0	0
庆大霉素	52	36.6	4	2.8	86	60.5	18	50.0	1	2.8	17	47.2
阿米卡星	107	75.3	3	2.1	32	22.5	19	52.8	2	5.6	15	41.7
妥布霉素	62	43.7	9	6.3	71	50.0	18	50.0	1	2.8	17	47.2
奈替米星	83	58.4	13	9.1	46	32.3	20	55.6	0	0	16	44.4
环丙沙星	44	30.9	4	2.8	94	66.2	15	41.7	3	8.3	18	50.0
诺氟沙星	47	33.0	9	6.3	86	60.6	14	38.9	4	11.1	18	50.0
恩诺沙星	28	19.7	11	7.7	103	72.5	14	38.9	1	2.8	21	58.3
四环素	19	13.4	9	6.3	114	80.2	22	61.1	4	11.1	10	27.8
复方磺胺	32	22.5	4	2.8	106	74.6	12	33.3	0	0	24	66.7
氯霉素	75	52.8	7	4.9	60	42.2	20	55.6	2	5.6	12	38.9
呋喃妥因	44	30.9	20	14.1	78	54.9	7	19.4	2	5.6	27	75.0

高耐药率的主要原因<sup>[2-3]</sup>。

## 2.2 不同养殖周期大肠杆菌和沙门菌耐药率结果

表 3 结果表明, 不同养殖周期大肠杆菌和沙门菌的耐药率发生了不同程度的波动。第 3 批的耐药率明显高于前 2 批。尤其值得注意的是, 大肠杆菌和沙门菌对氨基糖甙类抗生素(庆大霉素、阿米卡

表 3 3 个养殖周期样品的耐药率变化结果 %

抗 生 素	大肠杆菌的耐药率(R)			沙门氏菌的耐药率(R)		
	第 1 批	第 2 批	第 3 批	第 1 批	第 2 批	第 3 批
氨苄西林	83.8	86.6	92.0	60	27.3	53.3
美洛西林	70.2	66.6	96	60	45.5	73.3
头孢唑啉	2.7	0	9.3	0	0	6.7
头孢他啶	0	0	6.7	0	0	6.7
头孢曲松	0	0	4	0	0	0
庆大霉素	47.2	10	88	20	9.1	93.3
阿米卡星	35.1	0	25.3	10	9.1	86.7
妥布霉素	32.4	10	74.7	50	9.1	73.3
奈替米星	32.4	0	45.3	20	9.1	86.7
环丙沙星	40.5	50	85.3	50	9.1	80
诺氟沙星	32.4	43.3	81.3	30	9.1	93.3
恩诺沙星	43.2	70.0	88	70	9.1	86.7
四环素	75.6	80	82.7	30	27.3	26.6
复方磺胺	78.3	50	82.7	60	72.7	66.7
氯霉素	21.6	40	53.3	20	18.2	53.3
呋喃妥因	45.9	46.7	62.7	70	72.7	80

星、妥布霉素、奈替米星) 的耐药率, 第 2 批样品较第 1 批样品有所回落, 而在第 3 批样品发生了较大的反弹; 沙门菌对喹诺酮类抗生素(环丙沙星、诺氟沙星和恩诺沙星) 的耐药率也有类似现象。大肠杆菌对喹诺酮类抗生素的耐药率则随采样周期上升, 从第 1 批采样的 32.4%~43.2%提高到第 3 批采样的 81.3%~88%。耐药性的这种波动与养殖场在第 2 批和第 3 批饲养周期期间使用的治疗用抗生素有关, 细菌很快在选择性压力下耐受此类药物。敏感性试验结果也提示, 氨基糖甙类和喹诺酮类在短期内应慎用于该养殖场的大肠杆菌和沙门菌感染, 用药前应做敏感性试验以避免无效使用及孳生细菌的耐药性。

## 2.3 多重耐药变化趋势

同一养殖周期内, 大肠杆菌和沙门菌的检出率及其多重耐药类型基本符合随着日期的推移而逐渐增多的趋势, 提示在养殖周期内随着卫生状况的变差, 环境中细菌总量、耐药性传递的几率增多, 多重耐药现象增加。

由表 4 可见, 第 3 批分离到的细菌多重耐药现象较前 2 批严重, 多重耐药类型分布于 1 耐至 13 耐。在对总共 16 种药物的统计中, 单株细菌的多重耐药谱大多集中在 10 重耐药以内(96.6%), 最多的为 7 重耐药(23.3%), 8 重耐药次之(20.0%), 其中有

表 4 3 批样品的多重耐药统计

采样时间	多重耐药类型的分布														耐药菌株
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	合计
第 1 批	6	7	4	3	7	6	5	4	2	2	1	0	0	0	41
第 1 次	1	1													1
第 2 次	1				4	1	2								7
第 3 次	1	3	2	2				1		1					9
第 4 次	3	3	2	1	3	5	3	3	2	1	1				24
第 2 批	12	4	6	4	6	5	2	2	0	0	0	0	0	0	29
第 1 次	1	2	1												3
第 2 次	3	1	2	1			1								5
第 3 次	6				1	4									5
第 4 次	2	1	3	3	5	1	1	2							16
第 3 批	0	3	4	2	7	6	9	21	18	11	6	1	1	1	90
第 1 次					4	1	1	16	9	3	1				35
第 2 次					1	1	1		4	7	5	1			20
第 3 次		1	3	2	1	1	2	1					1	1	13
第 4 次		2	1		1	3	5	4	5	1					22
耐药分布总计	18	14	14	9	20	17	16	27	20	13	7	1	1	1	160

# 海南地区猪饲料中 添加乳酸菌发酵饲料的效果研究

金 桩<sup>1</sup>, 樊哲炎<sup>2</sup>, 邹 奎<sup>2</sup>, 谢式云<sup>1</sup>

(1. 海南省海口市罗牛山股份有限公司博士后工作站, 海南 海口 570125;

2. 海南青牧原实业有限公司, 海南 海口 570228)

**摘 要** 试验选用 30 kg 左右[杜×大×长]三元杂交猪 120 头, 随机分成对照组和试验组。试验组日粮中添加干酪乳杆菌、乳糖乳杆菌、植物乳杆菌、肠链球菌和酵母等复合菌发酵的饲料 12%(干物质实测值为 53%)。试验结果表明, 在平均温度为 19.8℃和相对湿度为 74.5%条件下, 对照组和试验组猪只平均日增重分别为 775.78 g/d 和 825.28 g/d, 试验组平均每日多长 49.5 g。而试验组的料重比是 2.28, 对照组为 2.35, 低于对照组。试验期间对照组前后出现 18 头猪腹泻, 而且治疗时间长(7 d), 试验组只有 7 头出现腹泻且病程短(3 d), 说明乳酸菌发酵饲料对于 30~60 kg 阶段的生长猪具有促进生长和提高饲料报酬作用, 同时能提高猪的抗病能力。

**关键词** 猪 乳酸菌 发酵 饲料 效果

中图分类号: S816.6 文献标识码: B 文章编号: 1007-9157(2007)01-0007-03

乳酸菌是一类有益微生物, 能发酵碳水化合物生成乳酸。这些微生物的种类、数量和在动物体内定居部位都是相对稳定的, 它们互相协调, 共同形

成一个微生态系。乳酸菌耐酸, 适应肠道的生态环境并给动物提供营养物质, 提高机体免疫能力, 防止有害物质的产生。

一株大肠杆菌对 13 种抗生素耐药。而前 2 批分离到的细菌多重耐药谱中, 4 重耐药(18.5%)和 5 重耐药(15.7%)相对较多, 没有超过 10 重耐药的菌株出现。不同养殖周期间耐药率增加与多重耐药现象的增加呈正相关。

## 2.4 动物源性细菌耐药性监测的意义

动物源性耐药菌株的存在, 直接使抗生素疗效降低, 病程延长, 导致患病动物死亡率升高, 带来经济损失; 也可以直接或间接地进入食物链传播给人, 造成难以控制的感染, 更可能通过动物与动物之间、人与动物之间耐药基因的传递而构成潜在危害<sup>[3]</sup>。同时, 耐药性问题的加剧, 迫使养殖行业不得不加大抗生素使用剂量、频次和范围, 不仅造成耐药性的恶性循环, 更引入了药物残留的问题<sup>[4-5]</sup>。

对细菌耐药性检测与监测的重视已成为一种趋势。WHO 提出了“遏制抗微生物药物耐药性的全球战略”, 其中建立国家级检测系统, 监测和控制食用动物中抗菌药物耐药性是重要的干预内容。部分国家和地区已建立食源性细菌耐药性监测及研究项目, 如 WHO 的全球沙门菌监测网(GSS), 美国的

NARMS, FoodNet, 美加联合的 CIPARS 和丹麦的 DAN MAP 等, 其中针对肉禽及其相关产品中细菌的耐药性监测与检测是不可或缺的内容<sup>[6]</sup>。耐药性的检测不应是某个孤立实验室的工作项目, 而应该成为一个网络化的监测体系; 其数据不仅是单一的检测结果, 更是进行综合评估和预警的基础。在这方面, 我国的各级监管部门和技术部门还有大量的工作亟需改进和加强。

## 参 考 文 献

- [1] M2-A9. 抗生素敏感性试验纸片扩散法操作标准[S].
- [2] M-100. 抗生素敏感试验标准[S].
- [3] 赵红梅, 金升藻. 滥用抗生素对人畜的危害及对策研究[J]. 国外医药抗生素分册, 2003, 24(4): 164-167.
- [4] Carl M Schroeder, David White, Jianghong Meng. Retail meat and poultry as a reservoir of antimicrobial-resistant E.coli[J]. Food Microbiology, 2004, 21: 353-358.
- [5] 潘志明, 焦新安, 刘文波, 等. 鸡白痢沙门氏菌耐药性的监测研究[J]. 畜牧兽医学报, 2002, 33(4): 377-383.
- [6] 雷连成. 细菌耐药性(I)[J]. 中国兽药杂志, 2002, 36(11): 41-44, 49.

作者简介: 韩伟(1974—), 女, 工程师。主要从事食品微生物的检验工作。电话: 021-68549999-15152。

[收稿日期: 2006-10-23]