

# 沙门氏菌耐药性的建立及消失

王艳艳,常维山

(山东农业大学动物科技学院,山东 泰安 271018)

中图分类号: S852.61\*2

文献标志码: A

文章编号: 1673-1085(2008)4-0037-04

沙门氏菌病是一种重要的人畜共患病,自1885年 Salmon 和 Smith 分离到猪霍乱沙门氏菌以来,对沙门氏菌病的研究历史已有100余年。沙门氏菌是一类条件性细胞内寄生的革兰氏阴性肠杆菌,血清型众多,有2000多种,能致多种动物的沙门氏菌病,该菌是自然界分布极为广泛的病原菌,几乎可以从所有脊椎动物的体内分离得到。

近来由于疾病治疗及抗菌素类动物饲料添加剂的不断应用,各个国家的沙门氏菌耐药性的迅速传播,动物沙门氏菌已经成为十分重要的全球性公共卫生问题。

抗生素的应用对控制和预防沙门氏菌病发挥了巨大的作用,然而随着抗生素药物的滥用和不当使用,沙门氏菌病的耐药性日趋严重,加强对该菌耐药性的监测力度和耐药机制的研究迫在眉睫。

## 1 沙门氏菌耐药性研究现状

由于抗生素的反复应用以及普遍存在的不合理应用问题,造成了细菌耐药性的发生和发展。根据郭登陆等对濮阳市收集的不同来源的118株沙门氏菌分离鉴定结果,分属4个群10个血清型,全部菌株对青霉素、链霉素、红霉素高度耐药,而对头孢三嗪、头孢噻吩、丁胺卡那霉素敏感率达100%。根据石优章等对宁波市沙门氏菌的药敏实验结果表明,沙门氏菌的各菌型对常用抗生素尤其对四环素、复方新诺明、庆大霉素均敏感,但还发现少量菌株对氨基青霉素、卡那霉素和氯霉素等药物均表现耐药。根据徐勤等对扬州市的沙门氏菌的耐药性检测,得出沙门氏菌对抗菌药物的耐药性基本相似,即对苯唑青霉素、红霉素、洁霉素、麦迪霉素、四环

素耐药,对新霉素、复方新诺明、妥布霉素、丁胺卡那霉素、氨基青霉素敏感。1999~2000年,从太平洋西北沿岸城市的家禽产品、家禽及环境中的4745个样本中分离到569个沙门氏菌,绝大部分对红霉素、林可霉素和青霉素有抵抗力(靳治,2003)。王铭杰(1999)报道,动物源沙门氏菌对诺氟沙星耐药率为28%,环丙沙星为17%,恩诺沙星为12%。许多细菌的耐药性不断增加,有些已经十分严重,造成药物效价下降甚至药效消失。耐药性使得大多原本对感染治疗十分有效的抗菌素失去药效。解决耐药性问题的途径有许多,但研制新型抗菌药物及耐药性逆转剂无疑是两条行之有效的途径。由于新型抗菌药的研制需要较长的周期及大量的资金投入,因此耐药性逆转剂的研究已经成为当前研究的热点之一。近年来,人们纷纷寻找中药、植物提取物等毒副作用较低的自然物质,或质粒不相容性分子作为耐药性逆转剂,配合抗生素,用于耐药菌所致疾病的治疗。

据国内外众多报道,细菌的耐药性与其遗传基因上质粒转移有很大关系。由质粒介导的耐药菌,在世界范围内急剧增加,而且还朝着介导多重耐药的方向发展。随着时间的推移,沙门氏杆菌的耐药率大幅度上升,多重耐药菌株剧增,耐药谱也不断增宽。由于沙门氏杆菌的血清型分布地区差异比较大,临床中各个场用药的差异等因素,使得各地区、各养殖场沙门氏杆菌的耐药谱差异很大。

## 2 耐药原因

耐药性的出现可能与菌株长期处于环境中多种抗生素的选择性压力及耐药基因通过染色体或耐药质粒在菌群间的广泛传播或扩散有关,这给临

收稿日期: 2008-3-16

床用药带来很大的困难。细菌耐药性产生的原因不仅是由于抗菌药物广泛应用后导致的“选择性压力”筛选所致,而且带有多重耐药基因的质粒在细菌中的广泛传播也是产生细菌耐药性的重要原因之一。另外,还有很多因素是必须考虑的。

2.1 沙门氏菌的适应性 耐药性不仅仅是反复用药的结果,也是沙门氏菌在不利环境中增强生存能力的自身防卫系统的重要组成部分,这也是沙门氏菌容易产生耐药性的本身原因。

### 2.2 药物诱发作用

2.2.1 有病乱投药 在某些养殖场,畜、禽发病后一旦怀疑由沙门氏菌引起,不管何种药物,只要是抗生素使用,但很少能收到有效的治疗效果。目前,在一些基层养殖场更是陷入了哪种药价高选用哪种药的思想误区,不仅延误了治疗时机,而且为沙门氏菌产生抗药性创造了条件。

2.2.2 长时期用药 由于畜、禽业集约化、规模化养殖不断发展,给疫病的防治工作提出了更高的要求。某些养殖场(尤其肉鸡场)为防止疫病的发生,便采用饲料或饮水中长期添加药物的预防办法;另有一些养殖场在发生沙门氏菌病使用药物控制住后,没有适时停药等。试验证明,长期用药是诱发沙门氏菌产生抗药性的主要原因。

2.2.3 小剂量用药 目前由于兽药市场一些不合格药品的泛滥,许多假药、劣质药充斥市场,其药物的有效成分含量远远不足,给养殖场在治疗沙门氏菌感染时造成了很大的被动。本来已经选用了细菌敏感药物,但由于用药剂量小,不仅未达到杀灭致病菌的目的,反而逐步诱发沙门氏菌产生耐药性。

2.2.4 联合用药 试验表明,联合用药是加快沙门氏菌产生耐药性的又一原因。联合用药有时的确能起到尽快控制该病的目的,但用药剂量不足或用药时间长,不仅增加了用药开支,而且扩大了细菌耐药范围,使其对更多的药物产生耐药性。

## 3 作用机理

3.1 质粒介导的耐药性 质粒是最早被发现的细菌染色体外遗传 DNA,带有各种各样的决定簇(determinants),使得宿主菌能在不利环境中更易生存,其中对抗生素耐药性编码的 R 质粒最常见,可对 1 种或多种抗生素耐药性编码。沙门氏菌产生耐药性主要是通过质粒携带的耐药基因扩散,耐药质粒通过结合、转化、转导等使携带的 R 质粒在细菌间传

递、扩散。

3.2 膜通透性引起的耐药性 细胞膜通透性下降虽不是沙门氏菌的主要耐药机制,但是它与主动外排系统所产生的协同作用能导致沙门氏菌对四环素类等抗菌药产生高度的耐药性。

3.3 外排泵引起的耐药性 外排作用的改变是沙门氏菌产生耐药性的一个重要机制。沙门氏菌的细胞膜上存在一类有泵功能的蛋白,在能量的支持下,能将药物可选择性或非选择性地排出细胞外,降低药物在胞内的积累,从而使沙门氏菌产生低水平的耐药性。目前,一般认为 AcrAB 是最主要的外排泵,可提供阳离子染料、四环素、氯霉素、新霉素、红霉素、夫西地酸、十二烷基硫酸钠、萘啶酸、氨苄西林、利复平、吐温 X100 等的耐药性。

3.4 靶位结构改变引起的耐药性 细菌通过靶位结构的改变,使抗菌药物失效或活性减弱,这是导致细菌耐药的一个重要因素。沙门氏菌能够改变抗菌药作用的靶位,使药物不能被识别,从而产生耐药性。

3.5 钝化酶和灭活酶引起的耐药性 钝化酶是指能够将一些基团添加到抗菌素的某个位点上,从而改变抗菌素的空间结构,失去与靶位结合能力的一种酶。细菌对氨基糖甙类药物能由于获得编码钝化酶的基因,从而产生耐药性。

## 4 耐药增加的危害

4.1 耐药谱越来越广 根据山东省畜牧兽医总站对山东省一些小型养殖场药物敏感试验,对所分离的 10 株沙门氏菌进行药敏试验,结果显示,所有菌株对大环内酯类抗生素如红霉素、青霉素、林可霉素、泰洛星、复方磺胺甲噁唑、磺胺甲噁唑、夫西地酸、甲硝唑等药物完全耐受。

4.2 多重耐药菌株增加 扬州大学农业部畜禽传染病学重点开放实验室对我国部分地区 1962~1999 年间 346 株鸡白痢沙门氏菌进行了药物敏感性测定。结果表明,在近 40 年时间里,鸡白痢沙门氏菌对氨苄青霉素、壮观霉素、复方磺胺、磺胺异噁唑、甲氧苄胺嘧啶、羧苄青霉素、四环素、链霉素、青霉素的耐药率显著增强( $P < 0.01$ )。菌株的多重耐药率明显增加。60 年代以二耐菌株为主(37.0%),70 年代以四耐、五耐菌株居多(60.5%),80 年代五耐、六耐、七耐菌株占大多数(80.2%),90 年代仅七耐以上菌株就达 83.7%,并且出现九耐、十耐菌株。耐药

性的产生是因为滥用抗生素所致,不仅使得成本增加,还给临床用药带来一系列难题。

## 5 主要特点

耐药性的产生是抗菌药物在兽医临床应用中的一个重要问题。临床上最为常见的耐药性是平行的从另一个耐药菌转移而来的,即通过质粒介导的耐药性。耐药质粒在微生物间可以通过以下方式转移:转化,即通过耐药菌溶解后 DNA 的释出,耐药基因被敏感菌获取,耐药基因与敏感菌中的同种基因重新组合,使敏感菌成为耐药菌;转导,即通过噬菌体将耐药基因转移给敏感菌;接合,即通过耐药菌与敏感菌菌体的直接接触,由耐药菌将耐药因子转移给敏感菌。值得注意的是,这种耐药性的接合现象已被证实;易位或转座,即耐药基因可自一个质粒转座到另一个质粒,从质粒到染色体或从染色体到噬菌体等。此种方式可以在不同种属的细菌中进行,甚至能从革兰氏阳性菌转座到革兰氏阴性菌,扩大了耐药性传播的宿主范围,还可使耐药因子增多,是造成多重耐药性的根本原因。

## 6 耐药性消除研究进展

解决耐药质粒问题的途径很多,但研制新型抗菌药及耐药逆转剂无疑是两条行之有效的途径。由于新型抗菌药的研制需要较长的周期及大量的资金投入,并且研制出的药物细菌在 1~2 年内就可以产生新的耐药性。因此耐药性的逆转剂已经成为当前的研究热点领域之一,但可为临床使用的逆转剂很少。耐药逆转剂主要包括耐药质粒消除剂、外排泵抑制剂、染色体突变剂等。耐药质粒的存在是细菌耐药的一种最主要方式。因此耐药性逆转是耐药质粒消除的一种重要的方法。目前国内外主要的质粒消除(龚甜等 2005)方法有:

### 6.1 化学试剂

6.1.1 十二烷基硫酸钠 细菌染色体 DNA 与质粒 DNA 的一个共同特点是他们均能附着于细胞膜上进行复制。SDS 是一种离子型表面活性剂,在适宜的浓度下它能溶解膜蛋白,破坏细胞膜,SDS 可以改变质粒细胞膜上的结合位点,使其不能精确复制,并最终导致质粒不能精确分配到子细胞中,从而达到消除质粒的目的。SDS 的另一个作用机理是:当它进入细胞质后,使某些质粒复制及分配有关的蛋白部分或完全失活,造成质粒的消失,其消除效果与浓度和温度密切相关。浓度太高,会抑制细菌

生长;浓度太低,质粒消除不理想;同样,适宜的温度也可以取得理想的质粒消除效果。

6.1.2 嵌合燃料 包括吡啶黄、吡啶橙、溴化乙锭等质粒消除剂。其作用机制是选择性地抑制质粒的复制。吡啶橙是 DNA 双链中影响质粒复制的色素,据报道其质粒消除率为 50%。Nakamura 等还发现吡啶橙加入磷酸盐时质粒消除效果得到了显著提高,可能是磷酸盐影响细胞膜的结构,使膜的通透性增加所致。溴化乙锭是一种诱变剂,一般不使用,但其消除效果比 SDS 高,也优于吡啶类物质。

6.1.3 其它化学试剂 结晶紫、苯甲酸酯、麻醉剂等都有重要的质粒消除作用,他们可以通过影响细菌细胞膜的通透性或影响 DNA 复制所必需酶的合成和代谢而发生作用。

6.2 化学药物 抗生素在高浓度时起抗菌作用,但在亚抑菌浓度时却有质粒消除作用。目前研究较多的是氟喹诺酮类药物的质粒消除作用。氟喹诺酮类药物能抑制 DNA 旋转酶 A 亚单位的活性,影响 DNA 的复制,从而达到快速抗菌和消除质粒的作用。同时发现这种亚抑菌消除浓度不会诱导耐药突变,甚至还可以增强受试菌对其他药物的敏感性。Fu(1988)等人研究发现,喹诺酮类对 R 质粒消除也有一定的作用,并且还发现药物对不同质粒的消除率不同。有研究发现,抗生素和某些化学药物联合使用时候,其抗菌作用和质粒消除作用可以得到提高。

6.3 中草药 因为中草药毒副作用小、作用靶点多,在抗逆转的同时还有治疗和免疫调节的作用,所以近年来国内对中草药消除剂的研究很多。可以用作质粒消除的中草药有黄连、黄芩、金银花等。

## 7 防治策略

首先,要严格控制与耐药菌出现有关的抗生素的滥用,避免完全预防性用抗菌药物,避免过量使用抗菌药物,避免无针对性用药,了解当地耐药性的流行趋势和耐药谱,合理地选择用药剂量。

其次,不限制低潜在耐药性抗生素的使用,不使用无效的抗生素,积极研制开发新型抗菌药物,开发不使用抗生素或抗菌药物来治疗感染的治疗策略(如使用中药消除耐药质粒,用疫苗从根本上消灭细菌感染性疾病)。

再次,抗生素的使用周期不宜过长,可以循环应用不同的抗生素, Raymond D P 等报道,抗菌药物的循环应用可明显降低与感染相关的病死率及院

# 巨型艾美尔球虫的研究进展

胡士林 (山东畜牧兽医职业学院, 潍坊 261061)

中图分类号: S852.72\*3

文献标识码: A

文章编号: 1673-1085(2008)4-0040-05

巨型艾美耳球虫 (*E.maxima*) 是致病力中等的的一个种, 但该种分布较广, 对养鸡业的危害很大。自泰泽 1929 年发现 *E.maxima* 以后, 国内外广大学者对其进行了大量研究, 使人们对 *E.maxima* 的认识逐渐深入。现对 *E.maxima* 的病原学、免疫学和防治方面的研究进展作一综述。

## 1 病原学

1.1 分类 巨型艾美尔球虫 (*E.maxima*) 属于顶复器门、孢子虫纲、球虫亚纲、真球虫目、艾美耳球虫亚目、艾美耳球虫科、艾美耳球虫属。

1.2 形态 *E.maxima* 卵囊呈卵圆形, 壁略粗糙黄色; 大小为  $21.5 \sim 42.5 \mu\text{m} \times 16.5 \sim 29.8 \mu\text{m}$ ; 具有一个卵膜孔, 无卵囊残体, 有一个极粒。据陶建平、辛玲等<sup>[1]</sup>研究发现, 不同地理株 *E.maxima* 的卵囊结构很一致, 但在各虫株之间, 卵囊和孢子囊的大小、形状指数及壁厚存在着不同程度的差异, 其差异程度与两虫株分离地的相隔距离有关, 总的趋势是两虫株分离地相距越远, 差异越大; 反之, 则较小。

1.3 致病性 *E.maxima* 具有中等程度的致病性,

收稿日期: 2008-3-22

内感染的发生率。

最后 经验性治疗及时转变为目标性治疗。当患畜情况好转或病原菌明确后, 停止治疗或改用窄谱抗菌药的目标性治疗。最后, 严格执行消毒隔离措施, 防止交叉感染。对付细菌耐药性问题, 除了沿用传统思路找新的抗菌药物外, 更应该从现有相关科学研究领域发展的新角度去思考解决耐药性问题的策略。

综上所述, 沙门氏菌极易产生耐药性, 沙门氏菌已经对氨基青霉素、壮观霉素、复方磺胺、磺胺异噁唑、甲氧苄胺嘧啶、羧苄青霉素、四环素、链霉素、青霉素、苯唑青霉素、红霉素、洁霉素、麦迪霉素、四环

感染  $6.7 \times 10^3$  个 *E.maxima* 卵囊即可引起增重显著降低 (Conway 等, 1993), 感染  $2 \times 10^5$  个卵囊一般足以引起增重不良、发病、腹泻和有时死亡, 常出现严重的消瘦、苍白、羽毛蓬松和食欲缺乏。据黄兵等研究, 感染  $5 \times 10^4$  个卵囊增重率降低 50% 以上<sup>[2]</sup>。一般情况下感染发生于 3~6 周龄。在患 *E.maxima* 肉仔鸡小肠的中间 1/3 可见到肠炎以及肠壁增厚并伴有轻微出血, 小肠内容物为稀薄的橙黄色粘液。*E.maxima* 的致病力在不同株之间有明显差异, 从轻度到中度不等。陶建平、辛玲等建立的 11 个 *E.maxima* 地理株之间, 以  $10 \times 10^4$  的孢子化卵囊感染 21 日龄雏鸡时, 发病死亡率从 0~20% 不等, 但各株均引起鸡的肠道病变和增重明显下降。

1.4 繁殖性能 鸡感染球虫后, 排卵囊期长短与不同虫种和鸡的免疫力有关, 而与接种量及鸡的年龄无关。但卵囊产量不仅与免疫力、剂量、鸡的年龄有关, 而且与虫种和鸡的品种有关。Brackett (1952) 认为, *E.maxima* 每个卵囊生产卵囊的能力不如 *E.brunetti* 和 *E.tenella*<sup>[3]</sup>。据辛玲、李文超等研究, *E.maximaa* 不同地理株繁殖力存在差异, 但显露期相

素、新霉素、复方新诺明、妥布霉素、丁胺卡那霉素、林可霉素、泰洛星、复方磺胺甲噁唑、磺胺甲噁唑、夫西地酸、甲硝唑等产生耐药性, 给预防和治疗带来巨大挑战, 因此, 要制定一系列措施, 防止由于滥用抗生素导致耐药沙门氏菌的快速和广泛出现。同时, 要对沙门氏菌进行监测, 防止其发展与扩散, 要根据其产生耐药性的作用机制, 不断研究开发新的抗菌药物, 有效地控制日趋严重的耐药沙门氏菌感染问题。

另外, 还可以针对饲料公司配方中用药的情况和养殖场用药的实际, 定期对鸡场进行抗生素敏感性监测, 交替使用药物, 对防治禽源致病性沙门氏菌病具有重要的治疗意义。