

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2014.11.012

肉犊牛沙门氏菌肺炎的诊治^①

李韦伟, 江红, 胡世君

西南大学(荣昌校区)动物医学系, 重庆 402460

摘要: 为找出重庆丰都县和四川自贡市肉牛场肉犊牛肺炎的病原, 从肉犊牛的鼻分泌物和肺组织共分离到 29 株细菌, 经形态特性及生化试验, 结合临床症状及病理变化, 鉴定为沙门氏菌。用临床上常用的 21 种抗菌素纸片对分离菌进行药敏试验, 结果显示所分离的沙门氏菌对头孢曲松等大部分头孢类药物、氨曲南和亚胺培南敏感性极高。临床上采用头孢曲松及壮观霉素进行治疗, 效果良好。

关键词: 犊牛; 沙门氏菌; 肺炎; 诊治

中图分类号: Q939.1

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2014)11-0083-05

沙门氏菌(*Salmonella*)是肠杆菌科中的一个重要成员, 属于革兰氏阴性杆菌, 不产生芽孢, 亦无荚膜^[1], 它是许多疾病的主要病原, 具有高致病性和致死性, 严重威胁公共卫生安全^[2], 在自然界中普遍存在^[3-4]。

牛沙门氏菌病, 又称牛副伤寒, 主要是由鼠伤寒沙门氏菌、都柏林沙门氏菌或纽波特沙门氏菌所致^[5]。成年牛常以高热(40~41℃)、精神萎靡、食欲废绝、而后下痢、粪便恶臭、含有纤维素絮片为其特征。犊牛除以上症状外, 还常见有出现关节炎、支气管炎和肺炎的临床症状。由于临床上抗菌药物的广泛使用, 包括疾病治疗、诊断和促进动物生长等, 都可能导致细菌耐药性的产生^[6-7]。

对重庆丰都县、四川自贡市肉牛场犊牛肺炎, 采集鼻腔分泌物拭子和肺组织进行细菌分离鉴定, 并进行药敏试验, 确认有效的抗菌药物, 旨在为解决该病对肉牛养殖业带来的影响提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料来源

由重庆丰都县和四川自贡市肉牛场具有肺炎的犊牛, 采集鼻腔分泌物拭子和肺组织。

1.1.2 培养基的制备

麦康凯琼脂(北京奥博星生物技术有限责任公司, 批号: 20110628)和 SS 琼脂培养基(杭州天和微生物试剂有限公司, 批号: 20100816-01)均按说明书要求配制。

1.1.3 试验动物

健康小白鼠 12 只, 体质量在 20~25 g/只。

① 收稿日期: 2013-07-03

基金项目: 国家科技支撑计划项目资助(2011BAD36B01)。

作者简介: 李韦伟(1989-), 男, 福建邵武人, 硕士研究生, 主要从事动物传染病学研究。

通信作者: 胡世君, 副教授。

1.1.4 药敏纸片

药敏纸片购自重庆市疾控中心。

1.1.5 其他

各种生化试验试剂管均购自杭州天和微生物试剂有限公司,批号:20100622。营养肉汤、MR 试剂、VP 试剂及吡啶试剂参照参考文献[8]配制。

1.2 方法

1.2.1 临床症状

丰都肉牛场与自贡肉牛场的患病犍牛均出现体温升高至 40~41 ℃,有的体温甚至高达 42 ℃。呼吸困难,呼吸频率加快,间歇性咳喘,流脓性鼻液,肺部听诊可听到类似拉风箱的声音;听取心音,心率加快,并出现第三心音,即“奔马调”。精神萎靡,消瘦,喜卧,不愿走动,采食量下降。部分犍牛拉灰白色或灰绿色稀粪,有时混有饲料颗粒或黏液和血丝。腕关节和踝关节出现关节炎并有脓性渗出物,部分犍牛还出现皮毛脱落等现象。

1.2.2 病理变化

对丰都县某肉牛场病死犍牛进行剖检,可见血液暗红色,胸腔积液,肺呈暗红色,实质性病变,并有纤维素性渗出物,与胸腔粘连,脾脏充血,肿大。

1.2.3 细菌的分离培养和染色镜检

将采集的鼻腔分泌物拭子和肺组织分别无菌接种于营养肉汤培养基,37 ℃增菌培养 24 h。然后将培养物分别在麦康凯琼脂平板和 SS 琼脂平板上划线接种,37 ℃培养 24 h。观察细菌的培养特性及菌落形态,革兰氏染色观察细菌形态。

1.2.4 细菌的生化试验

按照参考文献[9]进行细菌生化试验。

1.2.5 致病性试验

取分离菌接种营养肉汤,37 ℃培养 24 h。将 12 只小白鼠随机分为 3 组,每组 4 只。第 1 组于腹腔注射由丰都肉牛场采集的鼻拭子分离培养的细菌纯培养物 0.3 mL/只;第 2 组于腹腔注射由自贡养殖户送检的鼻分泌物分离培养的细菌纯培养物 0.3 mL/只;第 3 组于腹腔注射灭菌肉汤 0.3 mL/只。注射后观察小鼠的发病及死亡情况,并剖检,用接种环分别挑取心血、肝组织接种营养肉汤,37 ℃增菌培养 24 h。然后将培养物分别在麦康凯琼脂平板和 SS 琼脂平板上划线接种,37 ℃培养 24 h。观察细菌的培养特性及菌落形态,革兰氏染色观察细菌形态,并比较与之前细菌培养与分离的结果是否一致。

1.2.6 细菌的药敏试验

用无菌棉签沾取细菌纯培养物,均匀地涂布于整个普通琼脂平板上,将药敏纸片依次均匀地贴在平板上。每个平板放置 5 片,各药敏纸片中心相距约 24 mm,药敏纸片距平板边缘约 15 mm,各纸片间距相等,每种药物做 3 组平行试验。将平板倒置于 37 ℃培养箱中培养 24 h,然后观察药物的抑菌情况,并测定各种药物抑菌圈的大小。

2 试验结果

2.1 培养特性及镜检结果

细菌在普通肉汤中均生长良好,均匀混浊,管底有沉淀,轻摇呈云雾状;在麦康凯琼脂培养基和 SS 培养基上均生长良好,菌落表面光滑,边缘整齐、湿润、大小均匀;麦康凯培养基上可见淡黄色菌落,SS 培养基上可见无色、半透明、中心有黑点的菌落;该细菌经革兰氏染色后镜检可见单个、成对或成丛分布的两端钝圆的红色小杆菌。

2.2 生化试验结果

该细菌能发酵葡萄糖、麦芽糖、甘露醇, 产酸产气; 发酵蔗糖不产酸产气; 不发酵乳糖; MR 试验、枸橼酸盐试验和硫化氢试验均为阳性, 吡啶试验和 VP 试验为阴性. 试验结果见表 1.

表 1 分离菌株生化试验结果

项目	葡萄糖	乳糖	麦芽糖	甘露醇	蔗糖	吡啶试验	MR 试验	VP 试验	枸橼酸盐试验	硫化氢试验
结果	⊕	-	⊕	⊕	-	-	+	-	+	+

注: 糖发酵试验中, “⊕”表示产酸产气, “-”表示不产酸不产气; 其余试验中, “+”表示阳性, “-”表示阴性.

2.3 致病性试验结果

第 1 组和第 2 组的小白鼠均在 18 h 内死亡, 剖检均发现小白鼠肺部充血肿胀, 心包膜增厚, 有轻微的纤维素性渗出, 肝脏有出血点; 分离培养出的细菌与接种细菌的培养特性、菌落形态和革兰氏染色镜检的细菌形态均相似, 可判断为同一种细菌. 第 3 组小白鼠无异常表现.

2.4 药敏试验结果

由重庆丰都某肉牛场采集的鼻腔分泌物拭子和肺组织分离菌株对头孢他啶、头孢噻肟、头孢曲松、头孢哌酮、呋喃妥因、氨曲南和亚胺培南 6 种药物极度敏感; 对头孢吡肟和万古霉素高度敏感; 对头孢噻吩和妥布霉素敏感性较低; 对克拉霉素、阿奇霉素、四环素、左氟沙星和新生霉素 5 种药物表现出耐药性.

由四川自贡养殖户采集的鼻腔分泌物拭子和肺组织分离菌株对头孢吡肟、头孢他啶、头孢噻肟、头孢曲松、头孢哌酮、氨曲南、亚胺培南和妥布霉素 8 种药物极度敏感; 对阿奇霉素、左氟沙星、链霉素、万古霉素和羧苄青霉素 5 种药物中度敏感; 对头孢噻吩、克拉霉素、四环素、呋喃妥因、环丙沙星、庆大霉素和新生霉素等 7 种药物表现出耐药性. 具体试验结果见表 2.

表 2 药敏试验结果

mm

药品名称	重庆丰都某肉牛场					四川自贡某肉牛场				
	1 组	2 组	3 组	平均值	备注	1 组	2 组	3 组	平均值	备注
头孢吡肟	15	17	16	16.00	高敏	28	27	29	28.00	极敏
头孢他啶	20	20	21	20.33	极敏	30	30	31	30.33	极敏
头孢噻肟	23	24	24	23.67	极敏	26	26	28	26.67	极敏
头孢曲松	28	27	28	27.67	极敏	26	26	27	26.33	极敏
头孢噻吩	7	8	8	7.67	低敏	0	0	0	0	不敏
克拉菌素	0	0	0	0	不敏	0	0	0	0	不敏
阿奇霉素	0	0	0	0	不敏	13	14	13	13.33	中敏
四环素	0	0	0	0	不敏	0	0	0	0	不敏
左氟沙星	0	0	0	0	不敏	13	12	11	12.00	中敏
头孢哌酮	21	23	24	22.67	极敏	31	29	29	19.67	极敏
呋喃妥因	21	22	17	20.00	极敏	0	0	0	0	不敏
环丙沙星	12	10	11	11.00	中敏	0	0	0	0	不敏
链霉素	12	12	11	11.67	中敏	11	12	11	11.33	中敏
万古霉素	17	16	16	16.33	高敏	13	13	12	12.67	中敏
庆大霉素	12	10	12	11.33	中敏	0	0	0	0	不敏
羧苄青霉素	12	14	14	13.33	中敏	14	16	15	15.00	中敏
新生霉素	0	0	0	0	不敏	0	0	0	0	不敏
氨曲南	19	18	26	21.00	极敏	27	27	30	28.00	极敏
亚胺培南	29	28	29	28.67	极敏	34	32	33	33.00	极敏
妥布霉素	7	10	9	8.67	低敏	23	24	22	23.00	极敏
氨基西林	13	14	14	13.67	中敏	0	0	0	0	不敏

注: 敏感度根据《抗微生物药物敏感性试验规范》^[9]进行判断.

2.5 治疗效果

根据药敏试验结果,临床上选用头孢曲松 5 g, 500 mL 10% 葡萄糖盐水,连续静脉注射 3 d; 3 d 后用壮观霉素 5 g 连续肌肉注射 3 d,治疗效果良好,患病犊牛肺炎及关节炎症状减轻或消除,并逐渐恢复正常.

3 结论与分析

1) 综合临床症状、培养特性、镜检结果及生化试验,确认由重庆丰都县和四川自贡市肉牛场犊牛肺炎,采集的鼻腔分泌物拭子和肺组织分离培养的菌株为同一种菌,均为沙门氏菌.通过接种健康小白鼠,小白鼠全部死亡,说明两组分离出的菌株均有很强的致病性.

2) 临床上,由沙门氏菌引起犊牛的肺炎还鲜见报道.根据重庆丰都某肉牛场和四川自贡散养户的牛只发病情况来看,该病对肉牛养殖造成了极大的危害,应引起重视.本试验通过用临床上常用的 21 种药物对所分离的细菌进行药敏试验,结果显示所分离的菌株对大部分头孢类药物敏感(头孢噻吩除外),此外重庆丰都某肉牛场和自贡散养户在前期治疗时都使用了头孢噻唑钠,效果均不理想;对氨基曲南和亚胺培南均有很高的敏感性.对克拉霉素、四环素和新生霉素均表现耐药性.Chen 等^[10]对沙门氏菌耐药基因的研究结果显示,由美国分离得到的 133 株沙门氏菌中对四环素存在耐药性的有 68%,链霉素的有 61%;仅 6%对头孢曲松存在耐药性.这与本试验的结果相近.因不同地区的沙门氏菌对药物的敏感性各不相同,故本试验两组菌株对不同药物的敏感性存在一定的差异.由于临床上沙门氏菌极易产生耐药性,故不建议采用抗生素低剂量长期预防用药,最好使用药敏试验筛选的敏感药物作治疗性用药,治愈后停止用药,以防耐药性的产生.

3) 沙门氏菌普遍存在于各养殖户与养殖场中,因此平时的饲养管理尤为重要.制定合理的免疫程序,定期消毒,清洁卫生,粪便清理,做好通风,饲喂优质饲料及清洁水,减少各种不良应激,由外地引进牛时注意隔离^[11].

参考文献:

- [1] AARESTURUP F M, HASMAN H, OLSEN I, et al. International Spread of Bla(cmy-2)-Mediated Cephalosporin Resistance in a Multiresistant Salmonella Enterica Serovar Heidelberg Isolate Stemming from the Importation of a Boar by Denmark from Canada [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 48(5): 1916-1917.
- [2] FOLEY S L, LYNNE A M, NAYAK R. Salmonella Challenges: Prevalence in Swine and Poultry and Potential Pathogenicity of Such Isolates [J]. J Anim Sci, 2008, 86(14 Suppl): E149-E162.
- [3] CHEUNG P Y, CHAN C W, WONG W, et al. Evaluation of Two Real-Time Polymerase Chain Reaction Pathogen Detection Kits for Salmonella spp. in Food [J]. Letters in Applied Microbiology, 2004, 39(6): 509-515.
- [4] 王芝英,胡世君.鸚鵡沙门氏菌病的诊断 [J].西南农业大学学报:自然科学版,2004,26(4):230-232.
- [5] 陈溥言.兽医传染病学 [M].北京:中国农业出版社,2006.
- [6] GOMEZ-LUS R. Evolution of Bacterial Resistance to Antibiotics During the Last Three Decades [J]. Int Microbiol, 1998, 1(4): 279-284.
- [7] TOLLEFSON L, ALTEKRUSE S F, POTTER M E. Therapeutic Antibiotics in Animal Feeds and Antibiotic Resistance [J]. Rev Sci Tech, 1997, 16: 709-715.
- [8] 姚火春.兽医微生物学实验指导 [M].北京:中国农业出版社,2001.
- [9] 倪语星,王金良,徐英春.抗微生物药物敏感性实验规范 [M].上海:上海科学技术出版社,2009.

- [10] CHEN S, ZHAO S, WHITE D G, et al. Characterization of Multiple-Antimicrobial-Resistant *Salmonella* Serovars Isolated from Retail Meats [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(1): 1-7.
- [11] 石利香, 徐恢仲, 熊延奎. 不同杂交组合肉牛部分肉质指标的测定 [J]. *西南师范大学学报: 自然科学版*, 2007, 32(6): 60-62.

Diagnosis and Treatment of *Salmonella* Pneumonia in Calves

LI Wei-wei, JIANG Hong, HU Shi-jun

Department of Veterinary Medicine (Rongchang Campus), Southwest University, Chongqing 402460, China

Abstract: Twenty-nine strains of bacteria were isolated from the nasal secretions and lung tissues collected by the cattle farms of Fengdu of Chongqing and Zigong of Sichuan. They were identified as *Salmonella* through morphological observation and biochemical tests and based on clinical signs and pathological changes. Antibiotic sensitivity tests were made of the strains with 21 kinds of antibiotic disks which are commonly used in the clinics. The isolated *Salmonella* strains were shown to be highly sensitive to the cephalosporin drugs such as ceftriaxone, aztreonam and imipenem. Satisfactory effects were obtained when cephalosporin and spectinomycin were used clinically to treat sick calves.

Key words: calf; *Salmonella*; pneumonia; diagnosis and treatment

责任编辑 夏娟

