

不同地区猪源和禽源大肠杆菌耐药性监测

林居纯^{1,2}, 卓家珍¹, 蒋红霞¹, 刘健华¹, 曾振灵¹

(1 华南农业大学 广东省兽药研制与安全评价重点实验室, 广东 广州 510642;

2 四川农业大学 动物医学院, 四川 雅安 625014)

摘要:2003—2005年自我国6省1市分离鉴定出133株猪源和455株禽源大肠杆菌临床株。采用微量肉汤稀释法测定了对20种抗菌药物的敏感性。结果表明,无论猪源还是禽源大肠杆菌对12种喹诺酮类药物耐药率非常高(耐药率范围34.96%~96.71%),对8种非喹诺酮类药物(除阿米卡星呈较低的耐药率外)也呈较高的耐药率(22.42%~94.07%);多重耐药现象十分严重,3耐及3耐以上菌株占总菌株94%以上;不同地区来源菌株的耐药模式总体一致,但存在耐药水平高低的差异。

关键词:大肠杆菌;微量肉汤稀释法;耐药率;多重耐药性

中图分类号:S852.61

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2009)01-0086-03

Surveillance of Antimicrobial Resistance Among *Escherichia coli* Isolates from Swine and Poultry in Different Regions

LIN Ju-chun^{1,2}, ZHUO Jia-zhen¹, JIANG Hong-xia¹, LIU Jian-hua¹, ZENG Zhen-ling¹

(1 Guangdong Provincial Key Laboratory of Veterinary Pharmaceuticals Development and Safety Evaluation,

South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2 College of Animal

Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: A total of 588 *Escherichia coli* isolates (133 from swine and 455 from poultry) were collected from six provinces and one city in China between 2003 and 2005. Antimicrobial susceptibility tests for 588 *E. coli* isolates were performed using broth microdilution method according to the recommendation of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). The results showed that resistance rates to 12 quinolones were very high, ranging from 34.96% to 96.71% among 588 *E. coli* isolates. Except amikacin, resistant incidence to eight non-quinolones was rather high, ranging from 22.42% to 94.07%. Multi-drug-resistance was very severe and more than 94% of the 588 isolates exhibited multiple resistance to 3 or more antimicrobial agents. Resistance patterns were similar among *E. coli* isolates from different regions. However the resistance levels were significantly differed from different regions.

Key words: *Escherichia coli*; The broth microdilution method; resistant rate; multidrug-resistance

自20世纪50年代以来,许多抗菌药物就被广泛用于动物生产。抗菌药物的使用在动物疾病防治和提高生产性能等方面,给畜牧生产者带来了巨大的经济效益,但在获取利益的同时,人类也正在为接踵而至的耐药性付出沉重代价。动物源细菌耐药性的迅速出现,不仅使得原有的抗菌药物失去作用,导

致动物疾病难以控制,而且这些耐药菌极有可能通过污染环境、食品或人与动物的接触传播给人,对人类的健康构成威胁^[1-2]。大肠杆菌作为畜禽细菌感染的主要病原菌和消化道常见的定植菌,承受着来自各种抗菌药物的选择压力,形成了对多种药物耐药的基因库,同时不断地同其他细菌进行耐药性的交

收稿日期:2008-01-11

作者简介:林居纯(1969—),女,博士; 通讯作者:曾振灵(1963—),男,教授, E-mail: zlzeng@scau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(30671584);教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20050564012)

换,对耐药基因扩展和演化起重要作用,故对其耐药性的监测,可作为抗菌药物选择压力的良好指示剂,为了解耐药性的流行规律,预测耐药性的发展趋势及抗菌药物使用风险性评估提供科学依据^[2]。经济发达国家对动物源大肠杆菌耐药性的流行及发展非常重视^[3-4]。在我国,尽管在动物生产上抗菌药物滥用的现象非常严重,但对动物源微生物耐药性监测却十分薄弱。虽然对大肠杆菌耐药性有一些研究报道,但这些研究局限于少量菌、局部地区耐药性调查^[5-6],对于大范围的耐药性监测却少有报道。本研究在我国养殖业发达地区,收集了来自不同食品动物源共 588 株大肠杆菌,对 20 种抗菌药物,尤其是喹诺酮类药物进行了耐药性监测,较全面地了解了大肠杆菌耐药性发展和流行现状,为我国动物源微生物耐药性监测体系的建立,兽医临床感染合理用药提供资料和依据。

1 材料与方法

1.1 菌株

2003 年 8 月—2005 年 4 月收集来自不同地区患病动物样本,经分离纯化和常规鉴定为大肠杆菌,共 588 株。其中猪源 133 株,鸡源 412 株,鹅源 17 株和鸭源 26 株。分离自广东 329 株、四川 127 株、北京 97 株、河南 25 株、广西 5 株、江西 3 株、贵州 2 株。质控菌株大肠杆菌 ATCC25922 和金黄色葡萄球菌 ATCC25923 由华南农业大学广东省兽药研制与安全评价重点实验室保存提供。

1.2 药物

萘啶酸、氟甲喹为 Sigma 公司产品;诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、沙拉沙星、新霉素等标准品由中国兽医药品监察所提供;洛美沙星和阿莫西林标准品由中国药品生物制品检定所提供;培氟沙星、左氟沙星、二氟沙星、达氟沙星、四环素、多西环素、卡那霉素、阿米卡星、甲磺霉素和氟苯尼考由广州华天动物科技公司惠赠。

1.3 药物敏感性试验及药敏试验结果判断

药物敏感性试验按 CLSI 推荐微量肉汤稀释法进行,药物敏感性结果判断根据 CLSI 标准进行^[7]。

2 结果

2.1 不同动物源大肠杆菌对 20 种抗菌药物的耐药情况

2.1.1 耐药率 133 株猪源大肠杆菌对 12 种喹诺酮类药(除左氟沙星外)耐药率均超过 50%,对左氟沙星耐药率虽然较低(34.96%),但其中介率较高

(13.01%),说明存在耐药率升高的趋势;对 8 种非喹诺酮类药物呈严重的耐药性,其中对阿莫西林、四环素、多西环素、卡那霉素及甲磺霉素的耐药性高,耐药率均达 60% 以上。455 株禽源大肠杆菌对 12 种喹诺酮类药物耐药率均达 58% 以上,对其余 8 种药物的耐药性与猪源菌株相似(表 1)。

表 1 588 株大肠杆菌对 20 种抗菌药物的敏感性

Tab. 1 Antimicrobial susceptibility of 588 *Escherichia coli* isolates to 20 antimicrobial agents %

抗菌药物	猪源株(n=133株)			禽源株(n=455株)		
	敏感(S)	中度敏感(I)	耐药(R)	敏感(S)	中度敏感(I)	耐药(R)
阿莫西林	17.89	0.81	81.30	7.69	1.76	90.55
氟甲喹	8.13	2.44	89.43	2.64	1.10	96.26
奈啶酸	10.57	-	89.43	3.29	-	96.71
诺氟沙星	32.52	6.50	60.98	10.11	3.08	86.81
环丙沙星	39.02	5.69	55.28	11.21	3.08	85.71
培氟沙星	16.26	10.57	73.17	5.05	1.98	92.97
恩诺沙星	21.14	11.38	67.48	9.45	2.86	87.69
氧氟沙星	40.65	6.50	52.85	12.31	6.59	81.10
左氟沙星	52.03	13.01	34.96	23.96	18.02	58.02
二氟沙星	27.64	7.32	65.04	8.57	2.42	89.01
达氟沙星	38.21	5.69	56.10	10.11	5.93	83.96
洛美沙星	32.52	7.32	60.16	10.77	0.88	88.35
沙拉沙星	36.59	4.88	58.54	9.23	2.42	88.35
四环素	10.57	0.00	89.43	5.71	0.22	94.07
多西环素	26.83	8.13	65.04	33.41	9.45	57.14
卡那霉素	35.77	3.25	60.98	46.37	3.96	49.67
阿米卡星	85.37	3.25	11.38	61.32	3.52	35.17
新霉素	47.15	4.07	48.78	36.26	4.62	59.12
甲磺霉素	12.20	1.63	86.18	8.57	8.35	83.08
氟苯尼考	56.10	1.63	42.28	74.07	3.52	22.42

1)表中“-”表示 CLSI 没有相应的判断标准

2.1.2 多重耐药性 无论是猪源还是禽源大肠杆菌多重耐药现象非常严重,猪源 3 耐及 3 耐以上菌株占 94.07%,禽源菌株占 95.12% (图 1、图 2)。猪源多重耐药大肠杆菌有 81 种耐药谱型,鸡源有 168 种耐药谱型,在同一耐药类型中,有着相似的耐药谱型。

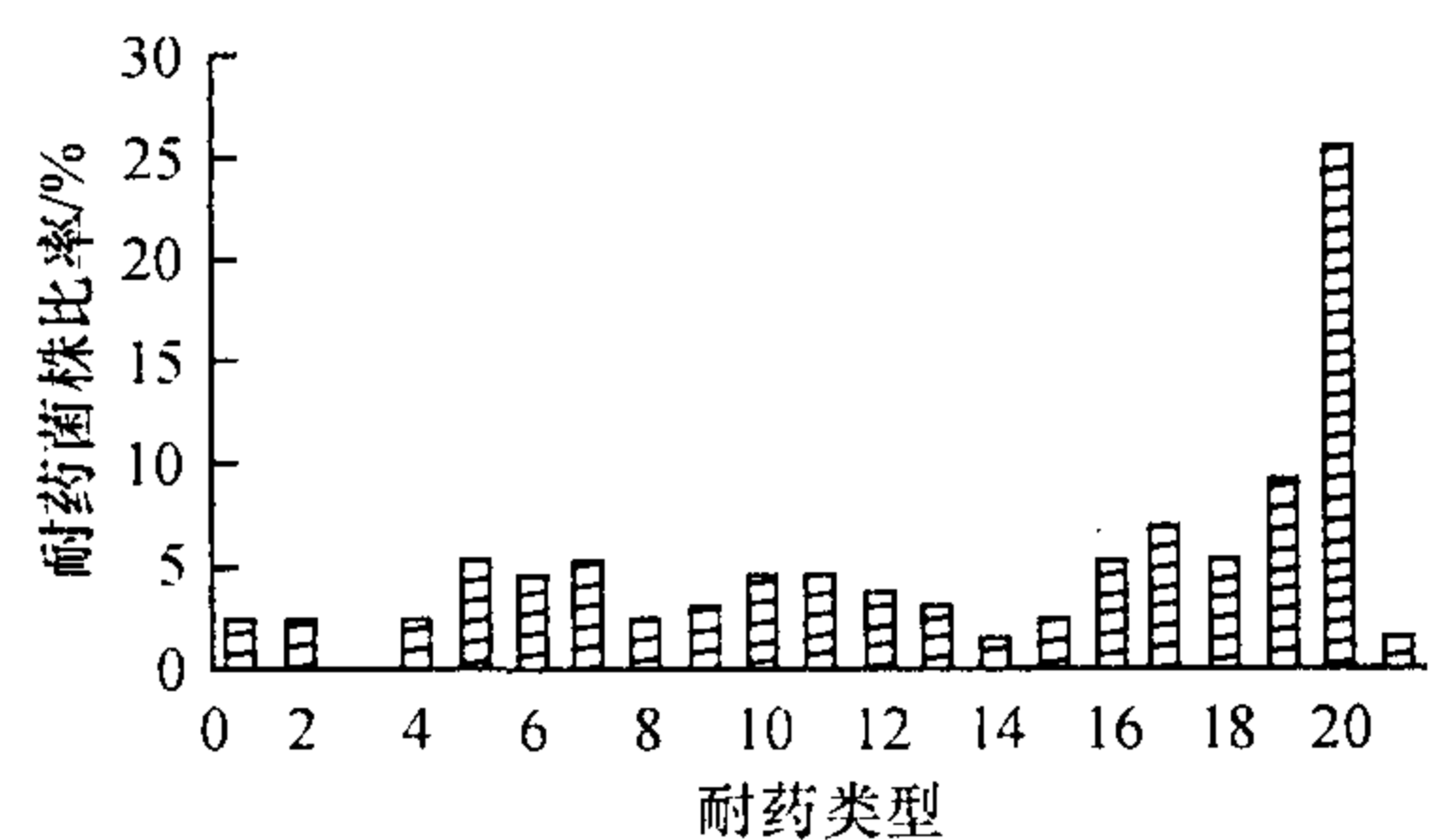


图 1 133 株猪源大肠杆菌对 20 种抗菌药物的多重耐药性分布
Fig. 1 Multi-drug resistance of 133 porcine *Escherichia coli* isolates to 20 antimicrobial agents

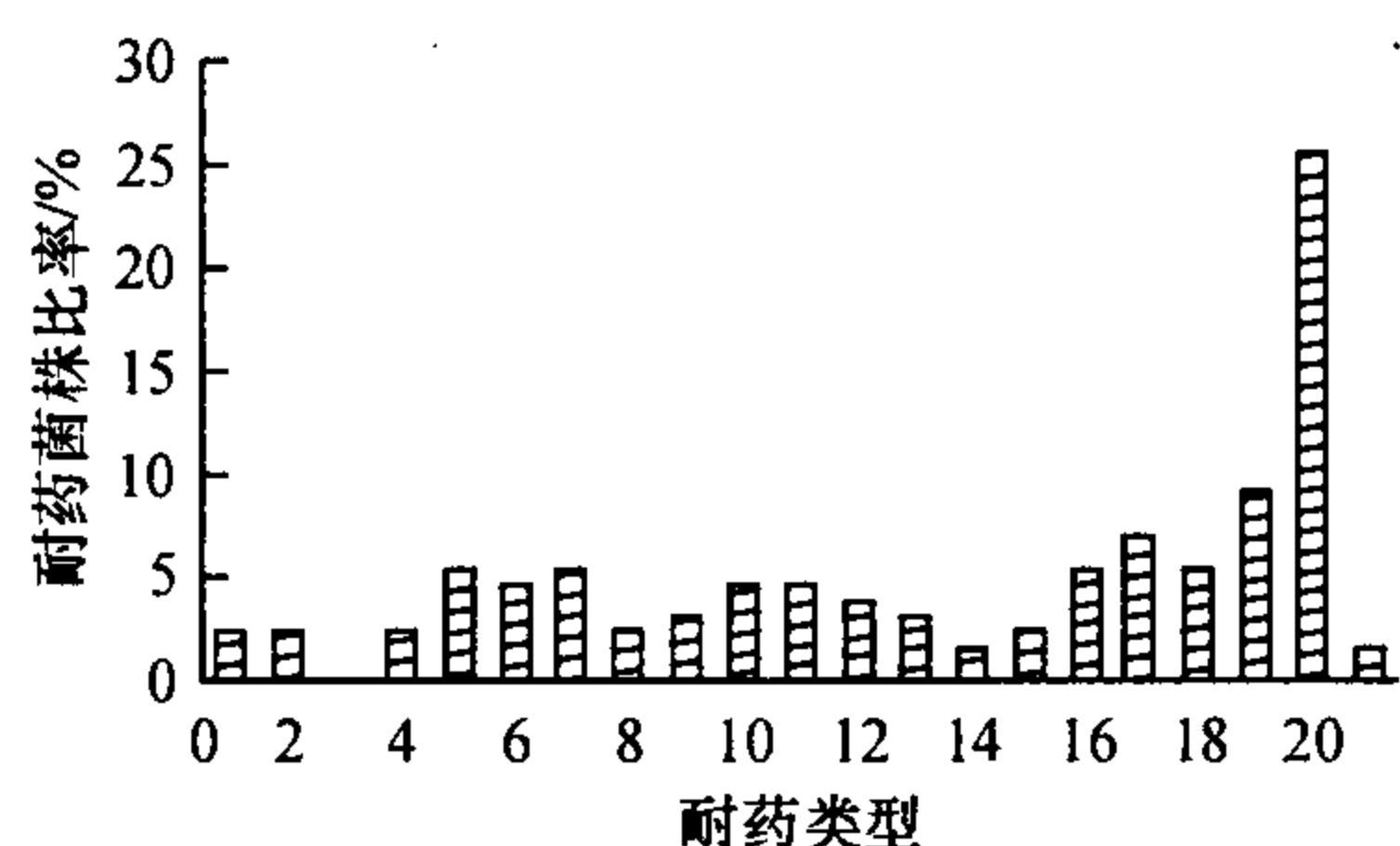


图2 455株禽源大肠杆菌对20种抗菌药物的多重耐药性分布

Fig.2 Multi-drug resistance of 455 avian *Escherichia coli* isolates to 20 antimicrobial agents

2.2 不同地区分离株耐药率比较

对不同地区分离株耐药率比较(表2)可见,无论是猪源还是禽源大肠杆菌其耐药模式都很相似,除对阿米卡星、氟苯尼考耐药性相对较低外,对其余药物都表现出非常高的耐药性。

表2 不同地区分离大肠杆菌对20种抗菌药物耐药率比较

Tab.2 Comparison of antimicrobial resistance among *Escherichia. coli* isolates from different regions %

抗菌药物	447株禽源大肠杆菌耐药率(R)			129株猪源大肠杆菌耐药率(R)		
	广东	四川	北京	河南	广东	四川
阿莫西林	97.89	84.44	76.29	95.65	82.75	78.38
氟甲唑	97.47	94.44	94.85	100.00	84.72	100
奈啶酸	98.31	94.44	95.88	95.65	85.81	100
诺氟沙星	87.76	80.00	89.69	95.65	63.16	54.05
环丙沙星	87.76	78.89	85.57	95.65	56.00	51.35
培氟沙星	91.98	94.44	93.81	100	71.00	75.68
恩诺沙星	89.45	81.11	89.69	91.30	62.77	78.38
氧氟沙星	81.43	77.78	83.51	82.61	54.66	45.95
左氟沙星	54.85	65.56	60.82	43.48	41.84	21.62
二氟沙星	87.76	88.88	90.72	100.00	63.59	67.57
达氟沙星	84.81	77.78	89.69	78.26	57.19	51.35
洛美沙星	88.19	83.33	91.75	100.00	60.88	56.76
沙拉沙星	86.92	85.56	89.69	100.00	60.72	51.35
四环素	92.83	93.33	97.94	91.30	90.15	86.49
多西环素	62.87	66.67	38.14	39.13	65.76	64.86
卡那霉素	37.13	60.00	68.04	65.22	67.50	45.95
阿米卡星	29.11	25.56	58.76	34.78	9.93	10.81
新霉素	52.32	57.78	74.23	73.91	55.30	32.43
甲砒霉素	87.34	88.89	72.16	65.22	85.46	86.49
氟苯尼考	21.10	44.44	6.18	26.09	52.43	18.92

3 讨论

本次耐药性监测表明,无论猪源还是禽源大肠杆菌对12种喹诺酮类药物均呈很高的耐药性。其中对诺氟沙星、环丙沙星和氧氟沙星耐药率显著高于

雷连成等^[5]报道的动物源大肠杆菌耐药率;也显著高于杨汉春等^[8]和孟庆玲等^[9]报道的鸡源大肠杆菌对氟喹诺酮类药物的耐药率,以及刘梦元等^[6]报道的猪源大肠杆菌耐药率。以上表明随着时间的推移和药物的广泛使用,大肠杆菌对氟喹诺酮类药物耐药呈上升趋势。在监测的喹诺酮类药物中,培氟沙星、洛美沙星、氧氟沙星和左氟沙星为人医用药,但也呈高耐药率,原因是喹诺酮类药物间存在交叉耐药性,另外,兽医违规使用人医药品也是造成该现象的一个重要原因。在监测中还发现,禽源菌株对喹诺酮类药物耐药率极显著高于猪源菌株,这与禽用药比猪用药剂量大和频繁有关。

猪源和禽源大肠杆菌对8种非喹诺酮类药物也呈较严重的耐药性。其中对四环素和卡那霉素耐药率与雷连成等^[5]结果一致,对阿莫西林、四环素和卡那霉素耐药率与王红宁等^[10]报道结果相似,但对新霉素的耐药率(48.78%),却显著高于王红宁等^[10]和雷连成等^[5]的报道。大肠杆菌对阿莫西林、四环素和卡那霉素等临床上长期使用的药物能在一个较长的时间内保持高耐药性,说明耐药性一旦产生很难消除。对于近几年兽医临床使用较多的新霉素,其耐药率能在短短的几年内升高这么快,可能与前几年的报道认为大肠杆菌对新霉素高敏感有关^[5,10],这些报道导致了动物生产和兽医临床上大量使用新霉素,结果导致了耐新霉素菌株的迅速出现。而大肠杆菌对阿米卡星能保持一个相对较低的耐药性,原因是该药价格高,兽医临床少用,此外该药对多数氨基糖苷酶稳定,不易诱导耐药性产生。

在猪源和禽源株中,多数表现为多重耐药,这与其他研究者报道结果一致^[8-10];同一耐药类型中,菌株有着相似的耐药谱型,这可能是细菌处于相同的药物选择压力下,从而导致相似耐药谱型的出现,或者在大肠杆菌中存在耐药性的相互传递。

从不同省市分离的大肠杆菌对药物耐药率比较显示,来自不同城市、不同动物源大肠杆菌对20种药物耐药分布大体一致,这可能与我国动物用药模式相似有关。不同分离菌株对同一种药物耐药率表现出一定的差异,可能与不同动物用药频率,用药剂量不同相关。

参考文献:

- [1] DAVIDSON H H, CHRISTOPHER J G. From the farm to the kitchen table :The negative impact of antimicrobial use in animals on humans [J]. Nutrition Reviews, 2002, 60 (8):261-264.

(下转第93页)

地利用系统进行仿真. 结果表明 STELLA 模拟具有很好的开放性和灵活性,能够有效地模拟土地利用变化的格局,在土地利用规划方面具有良好的应用前景,是极具推广价值的模拟工具之一.

在有关土地利用变化研究中,利用对土地利用变化的遥感观测数据和景观生态学的分析方法,综合考虑社会、经济、文化等多种驱动机制,构建土地利用驱动机制定量分析模型,通过分析土地利用的时空变化及其与导致这种变化的驱动力之间的因果反馈关系,才能充分揭示人地系统相互作用的内在机制并以此来预测未来发展趋势. 本文在利用 STELLA 软件进行模拟时,并未对社会、经济等因子对土地利用格局的驱动力贡献进行定量分析和模拟,也未考虑土地利用的空间演变特征,这也就给模型的分析能力造成了一定影响. 实际上 STELLA 模拟软件可以与 GIS 技术融合进行空间分析与模拟,描述复杂的土地利用系统及其反馈的动力学机制也是 STELLA 软件的突出功能之一,有待于进一步的挖掘和利用.

参考文献:

- [1] 王秀兰,包玉海. 土地利用动态变化研究方法探讨[J]. 地理科学进展, 1999, 18(1): 81-97.
- [2] 黄秋昊,蔡运龙. 国内几种土地利用变化模型述评[J]. 中国土地科学, 2005, 19(5): 25-30.
- [3] 赵庚星,王人潮,尚建业. 黄河三角洲垦利县土地利用的系统动力学仿真模拟研究[J]. 浙江农业大学学报, 1998, 24(2): 141-147.
- [4] PRUESS J A. Assessment of interactions between land use change and carbon and nutrient fluxes in Ecuador[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2001, 85(1-3): 269-279.
- [5] SCHOORL J M. Linking land use and landscape process modelling: A case study for the Álorá region (south Spain) [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2001, 85(1-3): 281-292.
- [6] VELDKAMPA, LAMBIN E F. Predicting land - use change [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2001, 85(1-3): 1-3.
- [7] BATTY M. Modeling urban dynamics through GIS based cellular automata [J]. Computer, Environment and Urban Systems, 1999, 23 (3) : 205-233.
- [8] WARD D P. A stochastically constrained cellular model of urban growth [J]. Computer, Environment and Urban Systems, 2000, 24: 539-558.
- [9] 杨国清,吴志峰,祝国瑞. 广州地区土地利用景观格局变化研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(5): 218-221
- [1] 王秀兰,包玉海. 土地利用动态变化研究方法探讨[J]. 地理科学进展, 1999, 18(1): 81-97.
- [2] GORGE G, KHACHATOURIANS B A. Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistance bacteria [J]. Canadian Medical Association, 1998, 159 (9) : 1129-1136.
- [3] MATHEW A G, UPCHURCH W G, CHATTIN S E. Incidence of antibiotic resistance in fecal *Escherichia coli* isolated from commercial swine farms [J]. American Society of Animal Science, 1998, 76 (2) : 429-424.
- [4] CHRISTINE M, JOHN M F, SADJIA B, et al. Antimicrobial resistance genes in enterotoxigenic *Escherichia coli* O149: K91 isolated obtained over a 23-year period from pigs [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, 47(10): 3214-3221.
- [5] 雷连成,江文正,韩文瑜,等. 致病性大肠杆菌的耐药性监测[J]. 中国兽医杂志, 2001, 37(1): 12-13.
- [6] 刘梦元,吴斌,刘建杰,等. 规模化猪场大肠杆菌的耐药性监测及血清流行病学调查[J]. 中国兽医学报, 2004, 24(1): 16-18.
- [7] JOHN P H, RENATE R, TAKASHI A, et al. M49 - P Methods for broth dilution susceptibility testing of bacterial isolated from aquatic animals; proposed guideline [S]. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- [8] 杨汉春,陈声, MENG Jiang-hong, 等. 鸡源大肠杆菌对氟喹诺酮类药物的多重耐药性[J]. 畜牧兽医学报, 2003, 34(4): 398-404.
- [9] 孟庆玲,乔军,夏成柱. 禽致病性大肠埃希氏菌与金黄色葡萄球菌的药物敏感性调查[J]. 中国家禽, 2004, 26(5): 13-14.
- [10] 王红宁,刘书亮,陶勇,等. 规模化猪场致病性大肠杆菌、沙门氏菌药敏区系调查[J]. 西南农业学报, 2000, 13(增刊): 84-90.

【责任编辑 周志红】

【责任编辑 柴 焰】

(上接第 88 页)