

一例獭兔多杀性巴氏杆菌与魏氏梭菌混合感染的诊治

孟薇薇, 纪新胜, 王晓丽, 王永明, 李士成
(山东华宏生物工程有限公司, 滨州 256600)

兔巴氏杆菌病(Pasteurellosis)又名出血性败血症,是由多杀性巴氏杆菌引起的一种多型性、散发性或地方流行性、细菌性传染病^[1]。由于病菌的毒力、感染途径以及病程长短不同,其临床症状和病理变化也不同。主要有全身败血症、传染性鼻炎、地方流行性肺炎、结膜炎、中耳炎、生殖器官感染和脓肿^[2]。家兔对多杀性巴氏杆菌十分敏感,发病率高达60%以上,若不及时采取有效措施,易引起大量发病和死亡。随着养兔生产高度集约化,本病发生呈上升趋势。另外由该病引发兔只死亡、生长缓慢、饲料报酬降低及药物防治费用增加等,给养兔业造成了严重经济损失,应引起广大养殖户及有关部门的足够重视。

魏氏梭菌病又称产气荚膜杆菌病。魏氏梭菌性肠炎主要由A型和E型菌及产生的 α 毒素所致。它广泛存在于土壤、饲料、蔬菜、污水、粪便中。本病的发生无明显季节性,除哺乳仔兔外,各种年龄、品种、性别的兔子均有易感性。传染途径主要是消化道或伤口,粪便污染的病原在传播方面起主要作用。本病的主要传染原是病兔和带菌兔及排泄物。

2014年3月,滨州市某养兔场饲养的约800只獭兔陆续发病,导致部分兔死亡,造成严重的直接经济损失。经过现场调查和实验室诊断,确诊为兔多杀性巴氏杆菌病和魏氏梭菌病混合感染。根据实验室相关试验结果采取综合防治措施后,对该兔场的病情进行了有效防控。现将具体诊治报道如下:

1 发病情况

本兔场按常规饲养管理,笼养,该兔场只免疫接种兔病毒性出血症灭活疫苗,未接种其它疫苗。兔群于3月初开始出现疫情,2月龄左右的獭兔陆续死亡,每天平均死亡2~3只,用磺胺类药物、地塞米松拌料、饮水、注射治疗半个月左右,病情未得到有效控制,且不

断加重,最多每天死亡20多只。

2 临床症状

病兔精神沉郁,食欲废绝,部分兔鼻腔有粘液,咳嗽,打喷嚏,尤其夜间频繁。拉稀腹泻,体温40℃以上。

3 剖检变化

病死兔肛门有污秽,剖开后有特殊腥臭味;气管多出现环状出血并伴有泡沫,肺脏苍白萎缩,部分兔肺脏有出血点;剖开胃可见胃黏膜脱落,胃壁有多个出血斑点;盲肠严重出血,并伴有肠鼓气;子宫内膜处有多处出血。

4 实验室诊断

4.1 涂片镜检

采取病死兔的心血和肝脏组织涂片或触片,经革兰染色、镜检,可见两极浓染的红色短杆菌以及带有芽孢的紫色大杆菌。

4.2 细菌分离培养

采取病死兔的心血、肝脏组织,分别接种于鲜血琼脂平板培养基、麦康凯琼脂培养基,37℃恒温箱培养,24h后观察;采取肝脏组织接种肉肝胃酶汤培养基,37℃CO₂培养箱培养,7h后观察。在鲜血琼脂平板培养基上可见约2~3mm大小的光滑、隆起、灰白色、半透明小菌落,该菌编号为001株;在麦康凯琼脂平板培养基上未见到任何菌落生长;在肉肝胃酶汤培养基中出现浑浊,并伴有絮状沉淀。分别取培养物涂片、革兰染色,镜检可见两端钝圆、两极浓染的短杆菌以及紫色的粗大杆菌(部分带有芽孢),该菌编号为002株。

4.3 生化试验

取微量生化发酵管及各种生化培养基,将经纯化培养的001株菌接入后封口,37℃培养24~72h,可见分离菌分解葡萄糖、甘露醇、蔗糖,不发酵乳糖、麦芽

糖, M.R 试验、V.P 试验阴性, 氧化酶、过氧化氢酶试验 阴性, 不液化明胶。具体结果见表 1。

表 1 001 株菌生化试验结果

葡萄糖	乳糖	麦芽糖	甘露醇	蔗糖	氧化酶	过氧化氢酶	明胶	V.P	M.R
+	-	-	+	-	-	-	-	-	-

注：“+”表示反应阳性；“-”表示反应阴性

取微量生化发酵管及各种生化培养基, 将经纯化培养的 002 株菌接入后封口, 37 °C 厌氧培养 24~72 h, 可见分离菌能分解麦芽糖、葡萄糖、果糖、水杨苷、乳

糖, 不能分解甘露醇, 硫化氢试验阳性, 吲哚试验阴性, 硝酸盐还原试验阳性, 对明胶有一定的液化能力, 能使牛乳产酸凝固。具体结果见表 2。

表 2 002 株菌生化试验结果

麦芽糖	葡萄糖	果糖	水杨苷	乳糖	甘露醇	硫化氢	硝酸盐	明胶	牛乳
+	+	+	+	+	-	+	+	+	+

注：“+”表示反应阳性；“-”表示反应阴性

依据临床症状、剖检病变及实验室诊断, 确诊该兔场所分离 001 株菌为兔多杀性巴氏杆菌, 002 株菌为魏氏梭菌。

5 动物试验

5.1 将分离到的兔多杀性巴氏杆菌株培养液稀释为 1 000CFU/mL、100 CFU/mL、10 CFU/mL 等 3 个不同剂量组, 每个剂量组用 1.5~2 kg 健康易感试验兔 2 只, 颈部皮下注射兔多杀性巴氏杆菌分离菌株菌液 1.0 mL/只, 观察 10 日, 记录临床发病、死亡情况, 具体试验结果见表 3。

表 3 兔多杀性巴氏杆菌攻毒试验结果

试验动物	攻毒剂量	攻毒途径	攻毒结果
试验兔	1000 CFU/ml	1.0 ml/只	颈部皮下 2/2 死亡
	100 CFU/ml	1.0 ml/只	颈部皮下 2/2 死亡
	10 CFU/ml	1.0 ml/只	颈部皮下 2/2 死亡

注: 分母表示试验组攻毒兔数量, 分子表示试验组死亡兔数量。

攻毒试验兔精神萎靡、食欲废绝、呼吸迫促, 体温在 40 °C 以上, 鼻腔有分泌物, 呼吸困难, 鼻腔流出黏液性鼻液, 有时见腹泻, 最终因衰竭死亡。

解剖病变主要表现为全身性出血、充血或坏死。鼻腔黏膜充血, 有黏液脓性分泌物, 气管黏膜充血出血, 伴有多量泡沫, 肺脏严重出血、充血, 高度水肿, 肝脏有许多针尖大小黄白色坏死点, 脾脏、淋巴肿大、出血。

肠黏膜充血、出血, 胸、腹腔有淡黄色积液, 并能从死亡试验兔体内重新分离到攻毒菌株。

5.2 将分离到的兔魏氏梭菌菌液经细菌滤器过滤后提取毒素, 分别以 0.5 mL/只、1.0 mL/只、2.0 mL/只静脉注射 1.5~2.0 kg 健康易感试验兔, 每个梯度注射 2 只, 观察 24 h, 记录试验兔临床发病及死亡情况, 具体试验结果见表 4。

表 4 兔魏氏梭菌攻毒试验结果

试验动物	攻毒剂量	攻毒途径	攻毒结果
试验兔	2.0 mL/只	静脉注射	2/2 死亡
	1.0 mL/只	静脉注射	1/2 死亡
	0.5 mL/只	静脉注射	0/2 死亡

注: 分母表示试验组攻毒兔数量, 分子表示试验组死亡兔数量。

攻毒后的试验兔精神沉郁, 食欲减退, 拉稀腹泻。病死兔剖开后有特殊腥臭味, 肝脏淤血, 胃黏膜严重脱落, 胃壁有出血点, 溃疡, 肠道胀气, 肠壁变薄, 膀胱积尿呈茶色。

通过动物试验结果表明该两种分离菌毒力较强, 并能从死亡动物体内重新分离到该菌。

6 药敏试验

对分离的兔多杀性巴氏杆菌菌株和魏氏梭菌菌株进行药敏试验, 具体结果见表 5 和表 6。

表 5 兔多杀性巴氏杆菌药敏试验结果

药敏纸片	抑菌圈(mm)	药敏纸片	抑菌圈(mm)
红霉素	20	头孢噻肟	18
阿米卡星	20	恩诺杀星	17
头孢哌酮舒巴坦	25	卡那霉素	10
头孢哌酮	25	利福平	9
诺氟沙星	25	青霉素 G	0
妥布霉素	24	氯霉素	0
头孢曲松	23	阿莫西林	0
氧氟沙星	23	氨苄西林	0
头孢他啶	22	头孢唑啉	0
哌拉西林	22	甲氧苄啶	0
氟罗沙星	19	头孢噻吩	0
新霉素	18	复方新诺明	0
庆大霉素	18	头孢呋辛	0
林可霉素	0	头孢氨苄	0

表 5 兔多杀性巴氏杆菌药敏试验结果

药敏纸片	抑菌圈(mm)	药敏纸片	抑菌圈(mm)
头孢哌酮舒巴坦	30	恩诺杀星	0
头孢他啶	27	卡那霉素	0
阿米卡星	20	利福平	0
哌拉西林	18	青霉素 G	0
新霉素	16	氯霉素	0
头孢噻肟	15	阿莫西林	0
头孢哌酮	14	氨苄西林	0
头孢曲松	13	头孢唑啉	0
庆大霉素	12	甲氧苄啶	0
妥布霉素	6	头孢呋辛	0
红霉素	0	头孢氨苄	0
诺氟沙星	0	林可霉素	0
氧氟沙星	0	复方新诺明	0
氟罗沙星	0	阿奇霉素	0

药敏试验结果显示该兔场两种菌株均对头孢哌酮舒巴坦、头孢他啶、阿米卡星、哌拉西林、头孢哌酮、庆大霉素等敏感,对青霉素 G、阿莫西林、氨苄西林、头孢唑啉、甲氧苄啶、复方新诺明、林可霉素、头孢氨苄、头孢呋辛等耐药。

7 防治措施

7.1 对兔舍及周围环境用 3% 烧碱溶液彻底消毒,金属笼具用火焰喷灯逐一消毒,水槽、料槽用 0.1% 新洁尔灭溶液浸泡刷洗。

7.2 将打喷嚏、流鼻涕、拉稀腹泻的兔子及时检出进行隔离饲养和治疗,对慢性病例应坚决淘汰。

7.3 发病兔治疗原则:抗菌消炎、补液健脾、涩肠消气。敏感药物有:头孢哌酮舒巴坦、头孢他啶、阿米卡星、哌拉西林、头孢哌酮、庆大霉素等药物。

大群用以上药物饮水或拌料预防性用药。等用药物控制疫情后,再进行全群免疫接种,首先免疫兔巴氏杆菌疫苗,隔 7 天后再接种兔魏氏梭菌苗。

病兔:采用口服与注射同时配合进行,效果较好。

经过上述方法综合处理后,该兔场兔子病情得到了控制。

7.4 为该养兔场制定科学合理的免疫程序,贯彻预防为主、治疗为辅的方针。

参考文献:

- [1] 蔡宝祥.家畜传染病学(第四版)[M].北京:中国农业出版社,2001:46-52.
- [2] 董常生.家畜解剖学(第四版)[M].北京:中国农业出版社,2012:3-5. ■