

梁亮,贾蒙纲,金伟,等. 野生瑶山亚种树鼩粪便潜在病原细菌的调查及耐药性分析[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(5): 14-20.

Liang L, Jia MG, Jin W, et al. Investigation and drug resistance analysis of potentially pathogenic bacteria in the feces of wild tree shrews (*T.b. yaoshanensis*) [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(5): 14-20.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.05.003

野生瑶山亚种树鼩粪便潜在病原细菌的调查及 耐药性分析

梁 亮^{1,2}, 贾蒙纲¹, 金 伟¹, 曹颖颖¹, 唐海波^{1,2*}, 冷 静^{1,2*}

(1.广西中医药大学, 南宁 530200; 2.广西高发传染病中西医结合转化医学重点实验室 南宁 530200)

【摘要】 树鼩是一种新型的实验动物模型,有广泛的应用前景。但目前对广西野生瑶山亚种树鼩肠道细菌的种群分布,携带致病菌的情况仍不十分清楚。因此我们首次开展了广西野生瑶山亚种树鼩粪便可培养细菌的分离与鉴定,结果从19只瑶山亚种树鼩粪便标本中分离得到35株细菌,经16S rRNA序列分析,共鉴定出7科13属20种细菌,广西野生瑶山亚种树鼩肠道中主要菌群包括大肠杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、奇异变形杆菌等。此外,为了了解瑶山亚种树鼩肠道细菌对药物的敏感与耐药情况,本研究对分离得到的部分肠道细菌进行药物敏感性实验,瑶山亚种树鼩肠道分离菌对头孢他啶、庆大霉素及左氧氟沙星较敏感,对头孢唑啉及复方新诺明存在较多耐药。这为掌握第一手广西野外捕获的野生瑶山亚种树鼩粪便菌群的多样性和潜在的致病性,为瑶山亚种树鼩的隔离检疫、实验室饲养及常见消化道疾病的防治提供科学依据。

【关键词】 瑶山亚种树鼩;肠道菌群;病原细菌

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 05-0014-07

Investigation and drug resistance analysis of potentially pathogenic bacteria in the feces of wild tree shrews (*T.b. yaoshanensis*)

LIANG Liang^{1,2}, JIA Menggan¹, JIN Wei¹, CAO Yingying¹, TANG Haibo^{1,2*}, LENG Jing^{1,2*}

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China. 2. Guangxi Key Laboratory of Translational Medicine for Treating High-Incidence Infectious Diseases with Integrative Medicine, Nanning 530200)

【Abstract】 Tree shrew is a new type of experimental animal model with broad application potential. However, the current distribution of intestinal bacteria and pathogens in the wild *Tupaia belangeri yaoshanensis* (*T.b. yaoshanensis*) in Guangxi are still unclear. Therefore, we performed for the first time the isolation and identification of the bacteria cultured in the subspecies of the wild *T.b. yaoshanensis* in Guangxi. Thirty-five strains of bacteria were isolated from 19 *T.b. yaoshanensis* subspecies and identified by 16S rRNA sequence analysis. There are 20 species of bacteria in 13 genera and 7

【基金项目】 广西高校中青年教师基础能力提升项目:(2018KY0297);广西高校千名中青年骨干教师培育计划(第三期)[桂教师范(2019) 81号];广西中医药大学博士科研启动基金(2017BS009);广西中医药大学校级课题“野生瑶山亚种树鼩携带病原生物情况调查研究”(QN14003);广西瑶山亚种树鼩资源实验动物化研究与开发基地(广西科技基础条件平台建设14-91-03);国家自然科学基金(31460243)。

【作者简介】 梁亮(1982—),女,广西南宁人,硕士,讲师,主要病原生物检测及抗感染免疫研究。E-mail: 27344123@qq.com

【通信作者】 唐海波,副研究员。E-mail: thb514@163.com

冷静,教授。E-mail: lj986771558@163.com * 共同通信作者

families, and the main flora in the intestinal tract of the wild *T. b. yaoshanensis* in Guangxi include *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, and *Proteus mirabilis*. Moreover, to study the drug susceptibility of intestinal bacteria isolated from the feces of *T. b. yaoshanensis* collected from Dayaoshan in Guangxi, a drug sensitivity test was conducted using some of the isolated intestinal bacteria. The intestinal bacteria of *T. b. yaoshanensis* were sensitive to ceftazidime, gentamicin, and levofloxacin, and resistant to cefazolin and sulfamethoxazole. This is the first to grasp the diversity and potential pathogenicity of the fecal flora of the wild *T. b. yaoshanensis* in Guangxi. These result provide the scientific basis for the isolation and quarantine of *T. b. yaoshanensis*, laboratory feeding, and the prevention and treatment of common digestive tract diseases.

【Keywords】 *Tupaia belangeri yaoshanensis*; intestinal flora; pathogenic bacteria

树鼩 (tree shrew, *Tupaia belangeri*) 是树鼩科树鼩属动物,为哺乳动物,主要生活在热带、亚热带地区,是一种具有良好潜力的实验动物模型。树鼩作为新型实验动物在特定药物研发中有着独特优势,从解剖学分析,树鼩的免疫系统、内分泌系统和神经系统的组织形态特征与灵长类有很高的相似度^[1]。树鼩全基因组与多个物种基因组比较分析证实了树鼩与灵长类亲缘关系最为接近。此外树鼩与人类在生理机能、生化代谢和基因组等方面的相似性远高于大鼠、小鼠、土拨鼠等常用啮齿类动物。树鼩的许多分子和细胞结构近似人类,同时树鼩个体小,易于操作,价格相对便宜等优点,性成熟时间比较短,饲养方法简单且繁殖较快^[2]。因此树鼩有望代替灵长类动物作为某些人类重大疾病研究的动物模型,具有广泛的应用前景^[3-7]。

树鼩是一种形似松鼠的小型哺乳动物,我国树鼩分布于中国南部和西南部,统属于中缅树鼩 (*Tupaia belangeri chioensis*),具有 6 个亚种。滇西亚种 (*T. b. chinensis*),也就是目前我国研究最广泛最多的一个种类,分布于云南西部、中部和南部以及四川西南部。其他的树鼩还包括高黎贡山亚种 (*T. b. gaoligongensis*)、海南亚种 (*T. b. modesta*)、越北亚种 (*T. b. toninia*)、滇南亚种 (*T. b. yunalis*) 和瑶山亚种 (广西西北部) (*T. b. yaoshanensis*)^[8]。

广西瑶山亚种树鼩是广西的一个特色的物种资源,具有重要开发潜力的实验动物,主要分布在广西金秀等地。瑶山亚种树鼩与中缅树鼩其他亚种的外形有较大的差异,其体型是我国 6 种中缅树鼩亚种中最大的,成年体重为 150~250 g,体长 14.0~19.5 cm。并且其生物学特性如乳酸脱氢酶 (LDH) 同功酶等与其他亚种存在较大的差异^[9],在其饲养和繁殖等方面,仍有许多问题未解决,树鼩对生长环境要求较高,消化道传染病多,致死率较高,且其繁殖的数量较低。关于广西瑶山亚种树鼩

的饲养、疾病等的相关文献报道较少,对野生瑶山亚种树鼩肠道细菌的种群分布情况,携带致病菌资料处于空白状态。因此我们开展了瑶山亚种树鼩粪便可培养细菌的分离与鉴定,了解野外捕获的野生瑶山亚种树鼩粪便菌群的多样性和潜在的致病性,为瑶山亚种树鼩的隔离检疫、实验室饲养及常见消化道疾病的防治提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

野生瑶山亚种树鼩来自广西金秀瑶族自治县动物疾病预防控制中心用捕鼠笼捕获的当地森林野生一周年左右健康瑶山亚种树鼩,公母随机,毛色光亮,体型匀称,体重在 131~248 g 之间,共 19 只成年瑶山亚种树鼩。运送至广西中医药大学人工驯化养殖实验中心 [SYXK (桂) 2019-0001], 经由广西伦理审查委员会审查通过 (GXIRB 2018-0006), 动物使用遵循 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

超净工作台 (型号: SW-CJ-2FD) 购自苏净集团苏州安泰空气技术有限公司; 生化培养箱 (型号: LRH-150F) 购自上海一恒科学仪器有限公司; TIANGEN 细菌总 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司; SS 培养基、伊红美蓝培养基、血琼脂培养基、营养肉汤培养、琼脂粉等购自北京陆桥技术股份有限公司; 常用药敏试纸: 庆大霉素 (10 μg)、左氧氟沙星 (5 μg)、复方新诺明 (30 μg) 头孢唑林 (30 μg)、头孢西丁 (30 μg)、头孢他啶 (30 μg)、红霉素 (15 μg)、青霉素 (10 U)、氨苄西林 (10 μg) 购自杭州滨和微生物试剂有限公司, 其他常规试剂均为分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 粪便标本采集及处理

所有粪便标本采集及处理相关设施均高压灭

菌处理后,分别用灭菌的镊子采集 19 只新捕获的野生瑶山亚种树鼩喂食后 4 h 的新鲜粪便,每一只树鼩的粪便单独编号,并分成两份,一份取豌豆粒大小至 10 mL 灭菌的离心管中,加医用生理盐水 5 mL,震荡混匀后再低速离心 1 min,取上清,置-80℃或进行下一步实验,一份直接置-80℃。

1.3.2 细菌的初步分离

将每份粪便上清分别在麦康凯 (MAC) 培养基和伊红美蓝 (EMB) 培养基上进行分区划线,置于生化培养箱 37℃ 倒置培养 24~48 h。根据培养后菌落形态、颜色及溶血等特性,初步排除鉴定或怀疑为大肠杆菌的菌落,挑取除大肠杆菌外的单个优势菌落,并进行重复划线纯化培养,直到菌落的形态特征一致。并挑取菌落进行革兰氏染色、镜检及纯化,最后接种至营养肉汤培养基中增菌培养,4℃ 冰箱保存备用或 20% 的甘油保存至-80℃。

1.3.3 细菌的革兰染色

对分离的细菌进行按照说明书进行革兰染色并在油镜下进行镜检,记录所以菌株革兰染色结果和细菌的形态特征。

1.3.4 细菌的分子生物学鉴定

用 TIANGEN 细菌总 DNA 提取试剂盒提取分离细菌的总 DNA。采用 16S rRNA 通用引物 27F/

1429R,以细菌总 DNA 为模板进行 PCR 扩增并送上海生物工程有限公司测序。测序结果在 NCBI 上 BLAST 比对,并鉴定细菌的种类。将分离致病菌 16S rRNA 基因序列与 GenBank 数据库中的相关核酸序列进行 Blast 比对分析,并应用 MEGA 7.0^[10] 软件中 Maximum likelihood 法构建系统进化树,进行遗传进化分析。

1.3.5 细菌的药敏实验方法(纸片扩散法)

将在试管里培养好的细菌通过移液枪吸取 100 μL 转移到营养琼脂培养基中,立刻用三角形无菌推棒涂布之后,将药敏试纸贴于培养基表面并轻轻按压使之贴紧呈三角形,室温放置 15 min 后入培养箱培养。分别贴上相应的药敏试纸。在 37℃ 下培养 24 h 后,观察结果并测量抑菌圈大小 (mm)。

2 结果

2.1 16S rRNA 序列分析结果

排除初步鉴定或怀疑为大肠杆菌的菌落,剩下的细菌经过 16 s rRNA 序列分析,从 19 只树鼩中分离鉴定得到 7 科 13 属 20 种共 35 株细菌(见图 1、表 1)。包括肠杆菌科、细球菌科、气单胞菌科、球杆菌科、芽孢杆菌科、假单胞菌科、微杆菌科共 7 科的相关细菌。检出率最高的为肠杆菌科细菌占

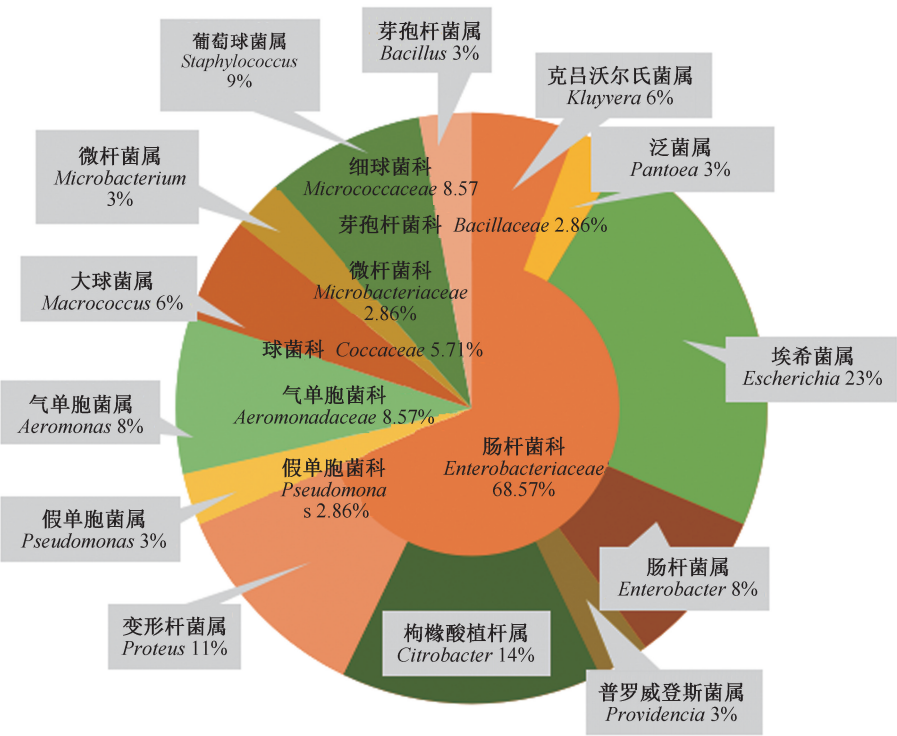


图 1 野生瑶山亚种树鼩粪便分离的细菌初步排除大肠杆菌后检出情况

Figure 1 Detection of bacteria isolated from the feces of wild *T.b. yaoshanensis* after *Escherichia coli* was preliminarily excluded

68.57%,其中大肠埃希氏菌 31.58% (6/19) 和弗氏柠檬酸杆菌 26.32% (5/19) 的检出率最高。其次为奇异变形杆菌、气单胞菌属、松鼠葡萄球菌等;其他检查的细菌包括假单胞菌属、雷氏普罗威登斯菌、气单胞菌属、溶血葡萄球菌等。先前的报道包括弗氏柠檬酸杆菌^[11-12]、奇异变形杆菌^[13]、气单胞菌属^[14]、松鼠葡萄球菌^[15]、假单胞菌属^[16]、雷氏普罗威登斯菌^[17]等都可能成为条件性致病菌,同时也可能造成人畜共患性感染。这些优势菌种的检出,这为广西野生瑶山亚种树鼩粪便菌群的多样性和潜在的致病性提供了第一手资料,为瑶山亚种树鼩的隔离检疫及实验室饲养、常见消化道疾病的防治提供科学依据。

2.2 瑶山亚种树鼩粪便分离的细菌初步排除大肠杆菌后细菌遗传进化树

排除初步鉴定或怀疑为大肠杆菌的菌落,剩下的细菌根据 16S rRNA 测序结果,运用 MEGA 7.0 软件 Maximum likelihood 的方法建立细菌的种系遗传进化树,确定 35 株细菌在分子生物学分类学的进化关系和亲缘关系(图 2)。所有的细菌大体分为 7 个分支,有细菌的分科大体一致,相关细菌或多或少

都有一定的亲缘关系,说明物种肠道菌群的分布或许跟该物种进化有一定的关系。

2.3 瑶山亚种树鼩粪便分离的细菌常见抗生素的药敏实验。

为了了解瑶山亚种树鼩肠道细菌对药物的敏感与耐药情况,本研究对分离得到的部分肠道细菌进行药物敏感性实验,常见药物对瑶山亚种树鼩肠道阴性菌敏感多,阳性菌耐药多。瑶山亚种树鼩肠道分离细菌对头孢唑啉药敏实验结果显示,耐药率为 59%,中介占 17%,敏感占 24%;头孢西丁,耐药率为 38%,中介占 3%,敏感占 59%;头孢他啶,耐药占 28%,中介占 3%,敏感占 69%。红霉素、氨苄西林及复方新诺明对瑶山亚种树鼩肠道部分分离细菌的敏感性显示,耐药率均大于敏感率;青霉素对瑶山亚种树鼩肠道部分分离细菌的敏感性显示,耐药率等于敏感率;庆大霉素及左氧氟沙星对瑶山亚种树鼩肠道部分分离细菌的敏感性显示,敏感率均大于耐药率(具体见表 2)。今后瑶山亚种树鼩发生消化道相关疾病时,建议可采用如庆大霉素、左氧氟沙星及头孢他啶类抗生素治疗。

表 1 瑶山亚种树鼩粪便分离的细菌初步排除大肠杆菌后 16S rRNA 序列分析结果
Table 1 The results of 16S rRNA sequence analysis of bacteria isolated from the feces of *T.b. yaoshanensis* after *Escherichia coli* was preliminarily excluded

序号 No.	16 S rRNA 序列分析结果 16 S rRNA sequence analysis results		检出率 Detection rate	出现频率 Frequency
1	抗坏血酸克吕沃尔菌	<i>Kluyvera ascorbata</i>	10.53%	(2/19)
2	非脱羧勒克菌/成团泛菌	<i>Non-decarboxylated bacteria/agglomerated bacteria</i>	5.26%	(1/19)
3	大肠杆菌	<i>Escherichia coli</i>	31.58%	(6/19)
4	豚鼠气单胞菌	<i>Guinea pig aeromonas</i>	5.26%	(1/19)
5	假单胞菌属	<i>Pseudomonas</i>	5.26%	(1/19)
6	阿氏肠杆菌	<i>Enterobacter aeruginosa</i>	5.26%	(1/19)
7	雷氏普罗威登斯菌	<i>Providencia rettgeri</i>	5.26%	(1/19)
8	弗氏柠檬酸杆菌	<i>Citrobacter freundii</i>	26.32%	(5/19)
9	奇异变形杆菌	<i>Proteus mirabilis</i>	10.53%	(2/19)
10	气单胞菌属	<i>Aeromonas</i>	10.53%	(2/19)
11	费草森埃希菌	<i>Escherichia fergusonii</i>	10.53%	(2/19)
12	路德维希肠杆菌	<i>Enterobacter ludwigii</i>	5.26%	(1/19)
13	微杆菌	<i>Micro bacteria</i>	5.26%	(1/19)
14	溶酪大球菌	<i>Macrococcus caseolyticus</i>	10.53%	(2/19)
15	坚强芽孢杆菌	<i>Bacillus firmus</i>	5.26%	(1/19)
16	普通变形杆菌	<i>Bacillus proteus vulgaris</i>	5.26%	(1/19)
17	羽状变形杆菌	<i>Pinnate deformation bacteria</i>	5.26%	(1/19)
18	普罗威登斯菌	<i>Providencia vermicola</i>	5.26%	(1/19)
19	松鼠葡萄球菌	<i>Staphylococcus sciuri</i>	10.53%	(2/19)
20	溶血葡萄球菌	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	5.26%	(1/19)

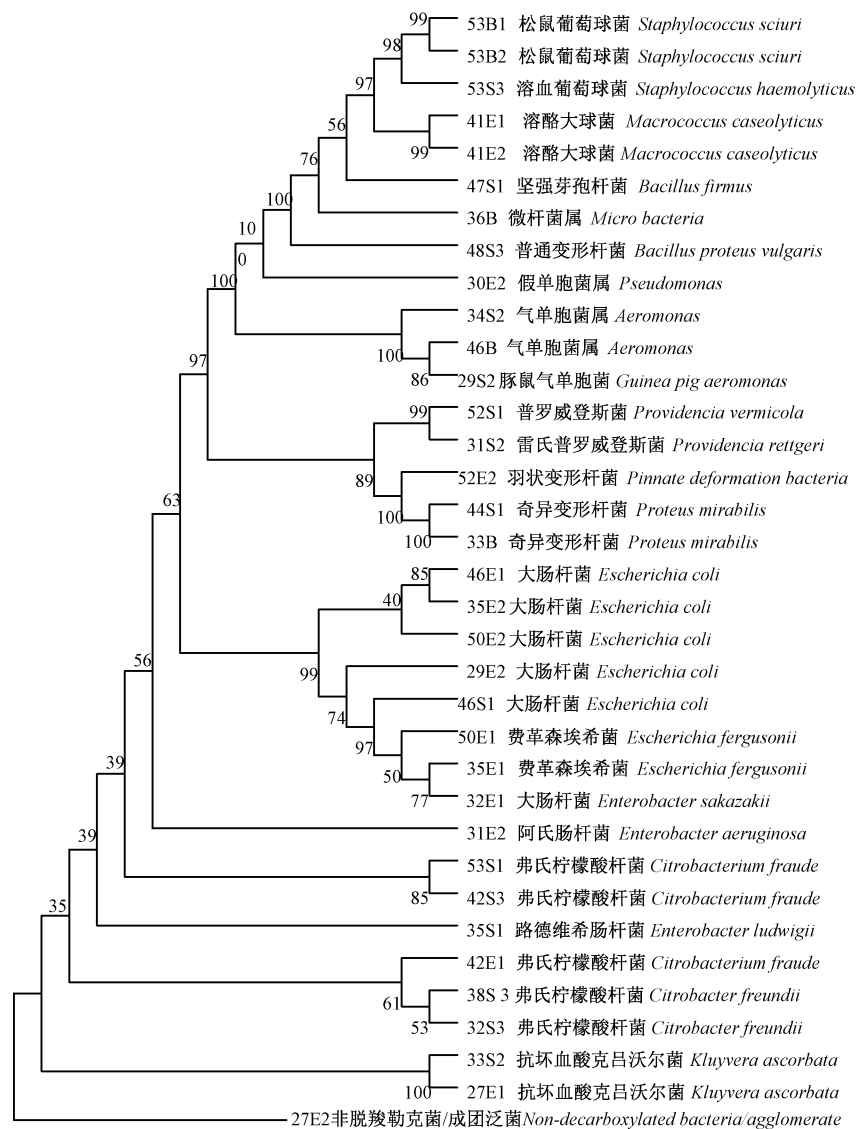


图 2 野生瑶山亚种树鼩粪便分离的细菌初步排除大肠杆菌后细菌遗传进化树

Figure 2 Detection of bacteria isolated from the feces of wild *T.b. yaoshanensis* after *Escherichia coli* was preliminarily excluded

3 讨论

野生瑶山亚种树鼩粪便分离的细菌初步排除大肠杆菌后,细菌经 16S rRNA 序列分析,共鉴定出 7 科 13 属 20 种共 35 株可培养细菌,其中肠杆菌科 7 属 24 株细菌分别为:克吕沃尔氏菌属、肠杆菌属、泛菌属、枸橼酸杆菌属、埃希氏菌属、变形杆菌属、普罗维登斯菌属。据报道^[18]变形杆菌是引起树鼩腹泻和死亡的常见菌。

高家红等^[19]关于树鼩正常肠道细菌的研究显示,大肠杆菌、葡萄球菌菌群及链球菌菌群的检出率较高,本实验结果存在差异。可能前者其结果主要是分离鉴定正常肠道细菌,与本文采用的分离与鉴定的野生的瑶山亚种树鼩粪便细菌有一定的差

异,此外也可能跟树鼩的种类、驯化程度、饲料及环境有关,所以掌握野生瑶山亚种树鼩肠道细菌种类及多样性的情况,为本驯养中心今后相关疾病的防治提供科学依据。

本实验动物来自于广西野生瑶山亚种树鼩,受环境和地理因素等影响导致树鼩体内肠道菌群有一定差异,同时树鼩检测数量还不是很多,今后应进一步增加检测的实验树鼩数量,在不同时间再次进行培养。下一步将深入开展瑶山亚种树鼩驯化过程中优势菌群的动态监测,特别是通过检测粪便中细菌的变化情况,了解瑶山亚种树鼩在驯化过程中不同部位菌群在种群分布、数量的变化。以期找出瑶山亚种树鼩的优势菌群及与疾病相关的生物物种标记。同时对引起瑶山亚种树鼩内源性

源性感染的微生物的研究,初步建立瑶山亚种树鼩实验动物微生物质量控制体系,为今后建立相应的

瑶山亚种树鼩病原微生物检测地方标准提供科学依据。

表 2 树鼩肠道细菌对常见抗生素药敏实验结果

Table 2 Sensitivity experiment results of intestinal bacteria of the tree shrew to common antibiotics

细菌编号 Bacteria No.	细菌名称 Name of bacteria	细菌特征 Charact eristics of bacterial	头孢 唑啉 Cefazolin	头孢 西丁 Cefoxitin	头孢他啶 Ceftazidine	红霉素 Erythromycin	青霉素 Penicillin	氨苄西林 Ampicillin	庆大 霉素 Gentamicin	左氧氟 沙星 Levofloxacin	复方新 诺明 Sulfamethoxazole
29S2	豚鼠气单胞菌 <i>Guinea pig aeromonas</i>	bG-	I	S	R				S	S	R
29S3	大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	bG-	I	S	S						
32S3	弗氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>	bG-	R	R	S				S	S	R
33S2	抗坏血酸克吕沃尔菌 <i>Kluyvera ascorbata</i>	bG-	S	S	S						
33S3	大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	bG-	I	S	S						
33B	奇异变形杆菌 <i>Proteus mirabilis</i>	bG-	S	S	S						
34S2	气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>	bG-	S	S	S						
36S3	奇异变形杆菌 <i>Proteus mirabilis</i>	bG-	I	S	S						
37E1	大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	bG-	S	S	S						
38S3	弗氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>	bG-	R	S	R				R	S	R
40E2	大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	bG-	S	S	S						
41S1	大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	bG-	R	R	S				S	S	R
42S3	弗氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>	bG-	R	R	S				S	S	R
47S1	坚强芽孢杆菌 <i>Bacillus firmus</i>	bG+	R	S	S				S	R	R
48S3	普通变形杆菌 <i>Bacillus proteus vulgaris</i>	bG-	R	S	S				S	S	S
52E2	羽状变形菌 <i>Pinnate deformation bacteria</i>	bG-	R	S	S				S	S	R
53E2	普通变形杆菌 <i>Bacillus proteus vulgaris</i>	bG-	R	S	S				S	S	R
53S2	大肠埃希氏菌 <i>Escherichia coli</i>	bG-	S	S	S						
53B1	松鼠葡萄球菌 <i>Staphylococcus sciuri</i>	aG+	S	S	I						
16E2	肠球菌 <i>Enterococcus</i>	aG+	R	R	R	I	S	S			
28B1	肠球菌 <i>Enterococcus</i>	aG+	R	R	R	R	S	R			
28B2	肠杆菌 <i>Enterobacteriaceae</i>	bG+	R	R	R	R	S	R			
44B1	肠球菌 <i>Enterococcus</i>	aG+	R	R	R	R	R	R			
44B2	肠球菌 <i>Enterococcus</i>	aG+	R	R	R	R	R	R			
48B	肠球菌 <i>Enterococcus</i>	aG+	R	R	R	R	R	R			

注:a-球菌,b-杆菌,G+-革兰氏阳性菌,G--革兰氏阴性菌,S-敏感,I-中介,R-耐药。
Note. a-coccus, b-bacilli, G+-Gram positive bacteria, G-- gram negative bacteria, S-sensitive, I-mediated, R-resistant.

通过头孢类药物对瑶山亚种树鼩肠道细菌敏感性分析,发现头孢唑啉耐药率最高、头孢西丁次之、头孢他啶对细菌的敏感程度最高。这与头孢类抗菌素的抗菌原理和使用频率相符合。头孢唑林是一代头孢类药物、头孢西丁是二代头孢类药物、头孢他啶为三代头孢类药物。一代头孢对大肠埃希菌、变形杆菌等肠杆菌普遍有抑制作用,而本研究发现有 1 株大肠杆菌、1 株弗氏柠檬酸杆菌、1 株变形杆菌对头孢西丁耐药。耐药的机制和原因未明,这将是将来我们重点关注的问题之一。头孢类药物对肠球菌没有作用这一结果与文献报道中的结论相符,因此在实际工作中更应该注意根据细菌类型选用适合的抗菌药物来治疗感染。

针对革兰阳性的球菌和杆菌,本研究进一步选用了红霉素、青霉素和氨苄西林进行药敏实验,结果表明肠球菌对这三种药物的耐药率高,红霉素、氨苄西林尤为明显,达到 83%,青霉素次之。说明肠球菌易产生耐药性。

针对革兰阴性菌,本研究进一步选用了庆大霉素、左氧氟沙星和复方新诺明三种药物进行药敏实验,结果表明瑶山亚种树鼩肠道阴性菌对庆大霉素和左氧氟沙星敏感,而对复方新诺明耐药率达 92%。而对庆大霉素、左氧氟沙星普遍敏感。大肠埃希菌、弗氏柠檬酸杆菌、肠球菌均是肠道的长居菌,而菌群的耐药性改变有可能是引起内源性感染的原因之一。通过本研究表明,瑶山亚种树鼩肠道细菌对头孢唑林、头孢西丁、红霉素、氨苄西林、复方新诺明均存在不同程度的耐药的菌株,而对左氧氟沙星、庆大霉素和青霉素的耐药菌较少。这提示我们在进行实验动物病原微生物监测的时候,不仅要关注野生瑶山亚种树鼩引起人畜共患病的病原体的感染情况,也应该重视一些长居菌群在种类、耐药性变异情况的监测。

广西野生瑶山亚种树鼩粪便分离鉴定的菌落,经 16S rRNA 序列分析,共鉴定出 7 科 13 属 20 种细菌,包括豚鼠气单胞菌、假单胞菌、雷氏普罗威登斯菌、弗氏柠檬酸杆菌、奇异变形杆菌、费革森埃希菌、坚强芽孢杆菌、普通变形杆菌、羽状变形杆菌、普罗威登斯菌、松鼠葡萄球菌、溶血葡萄球菌等多种常见致病或条件性致病菌。在树鼩特别是瑶山亚种树鼩消化道,这些潜在的病原细菌绝大多数都是首次报道,本研究为野生瑶山亚种树鼩的驯养及相关疾病的防治提供科学依据。

参考文献:

- [1] Young PA. Treeshrews, the primitive primate mammals for medical experimental animals [J]. Intl. J. of Molecular Zoology, 2011, 1(2): 4-6.
- [2] 马波. 树鼩作为新型实验动物优势独特 [N]. 科技日报, 2014-08-15(001).
- [3] Li RF, Zanin M, Xia XS, et al. The tree shrew as a model for infectious diseases research [J]. J Thorac Dis, 2018, 10: S2272-S2279.
- [4] Yao YG. Creating animal models, why not use the Chinese tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*)? [J]. Zool Res, 2017, 38(3): 118-126.
- [5] Fan Y, Huang ZY, Cao CC, et al. Genome of the Chinese tree shrew [J]. Nat Commun. 2013, 4: 1426.
- [6] 徐林, 张云, 梁斌, 等. 实验动物树鼩和人类疾病的树鼩模型研究概述 [J]. 动物学研究, 2013, 34(2): 59-69.
- [7] Cao J, Yang EB, Su JJ, et al. The tree shrews: adjuncts and alternatives to primates as models for biomedical research [J]. J Med Primatol, 2003, 32: 123-130.
- [8] 王应祥. 中国树鼩的分类研究 [J]. 动物学研究, 1987, 8(3): 8-25.
- [9] 秦银鸽, 苏傲蕾, 郑禹, 等. 树鼩实验室规范化繁育研究初报 [J]. 内科, 2014, 9(3): 249-251.
- [10] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Mol Biol Evol, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [11] 林启存, 朱丽敏, 李忠全, 等. 中华鳖弗氏柠檬酸杆菌败血症病原分离鉴定与药敏试验 [J]. 水产科学, 2008, 27(1): 42-43.
- [12] 余德文, 田梅, 王根春. 弗劳地枸橼酸杆菌败血症 11 例报告 [J]. 西南国防医药, 1992, 2(6): 348-349.
- [13] 张振江, 夏钰淇, 罗博炜, 等. 树鼩源奇异变形杆菌的分离鉴定及生物学特性研究 [J]. 动物医学进展, 2019, 40(8): 131-136.
- [14] 蒋增海, 邓同炜, 徐耀辉, 等. 猪源气单胞菌分离鉴定及耐药谱检测 [J]. 动物医学进展, 2019, 40(7): 133-137.
- [15] 周剑辉, 陆丹, 阳艳洁. 竹鼠源松鼠葡萄球菌的分离鉴定 [J]. 广西畜牧兽医, 2013, 29(3): 179-182.
- [16] 毛磊, 王伟, 苏建荣. 北京市某医院 354 株铜绿假单胞菌分布及耐药情况分析 [J]. 检验医学, 2019, 34(6): 502-505.
- [17] 唐海波, 陈凤莲, 饶桂波, 等. 竹鼠源致病性雷氏普罗威登斯菌的分离鉴定 [J]. 中国兽医杂志, 2017, 7(53): 35-37.
- [18] 全品芬, 年朝琴, 彭超, 等. 致树鼩腹泻的奇异变形杆菌分离鉴定及药敏试验 [J]. 实验动物科学, 2014, 31(1): 41-44.
- [19] 高家红, 江勤芳, 罗志武, 等. 树鼩正常肠道细菌的培养分离及鉴定及其药敏试验研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 12: 24-26, 34.

[收稿日期] 2019-12-30