

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.11.03

鸡源大肠杆菌和沙门氏菌的分离鉴定及耐药分析

高 强¹, 薛瑞林¹, 李守湖², 柳纪省², 唐德富^{1*}

(1. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 兰州 730070; 2. 兰州威特森生物科技有限公司, 兰州 730030)

[收稿日期] 2020-05-11 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 11-0014-08 [中图分类号] S852.61

[摘 要] 为探究甘肃省民勤县某饲养场肉仔鸡腹泻的病原及复方中草药制剂和抗生素分别对分离病原的抑菌效果, 对 7 日龄病死肉鸡进行解剖, 通过采集死亡肉仔鸡肝脏、脾脏、心脏进行病原菌分离培养、形态观察、16S rDNA 分子鉴定, 最终鉴定该病死肉仔鸡为大肠杆菌与沙门氏菌混合感染。抑菌结果显示, 复方中草药对分离得到的大肠杆菌、鸡白痢沙门氏菌、鸡副伤寒沙门氏菌均有良好的抑菌效果。10 种抗生素药敏试验结果显示, 此三株菌同时对氨苄西林、环丙沙星、四环素、恩诺沙星四种药物耐药; 鸡大肠杆菌对庆大霉素、阿米卡星敏感, 鸡白痢沙门氏菌对链霉素、氟苯尼考、头孢噻肟敏感, 鸡副伤寒沙门氏菌对头孢曲松、链霉素、头孢噻肟敏感。上述研究结果为肉仔鸡大肠杆菌与沙门氏菌混合感染的分离鉴定以及科学指导用药提供参考。

[关键词] 肉仔鸡; 大肠杆菌; 沙门氏菌; 分离鉴定

Study on the Antibacterial Effect of Compound Chinese Herbal Medicine on *E. coli* and *Salmonella* from Chicken

GAO qiang¹, XUE Rui-lin¹, LI Shou-hu², LIU Ji-xing², TANG De-fu^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

2. Lanzhou Wittson Biotechnology Co., Ltd, Lanzhou 730070, China;)

Corresponding author: TANG De-fu, E-mail: tangdf@gsau.edu.cn

Abstract: In order to explore the pathogenic effect of broiler chicken diarrhea and compound Chinese herbal preparations and antibiotics in a breeding farm in Minqin county, Gansu province, respectively, on the antibacterial effect of isolated pathogens, in this experiment, 7-day-old dead broilers were dissected. The liver, spleen and heart of dead broilers were collected for pathogenic bacteria isolation and culture, morphological observation, and 16S rDNA molecular identification. Finally, the dead broilers were identified as mixed infection of *E. coli* and *Salmonella*. The antibacterial results show that the compound Chinese herbal medicine has a good antibacterial effect on the isolated *E. coli*, *Salmonella gallinarum* and *Salmonella paratyphi*. The results of 10

基金项目: 国家自然科学基金(31660664); 甘肃省猪鸡产业技术体系(GARS-ZJ-3)

作者简介: 高 强, 硕士研究生, 从事家禽营养研究。

通讯作者: 唐德富。E-mail: tangdf@gsau.edu.cn

antibiotic susceptibility tests showed that these three strains were simultaneously resistant to four drugs, ampicillin, ciprofloxacin, tetracycline, and enrofloxacin; *Salmonella gallinarum* is sensitive to streptomycin, florfenicol and cefotaxime, while *Salmonella paratyphi* is sensitive to ceftriaxone, streptomycin and cefotaxime. The above research results provide references for the isolation and identification of broiler chicken *E. coli* and *Salmonella* mixed infection and scientific guidance for medication.

Key words: Broiler; *E. coli*; *salmonella*; isolation and identification

目前,中国畜禽养殖业中流行的细菌性传染病主要由条件致病菌和耐药菌引起^[1]。在家禽养殖中最为常见的致病性细菌有大肠杆菌和沙门氏菌,发病的形式主要有单发、混合感染及与其他疾病并发^[2]。鸡源大肠杆菌不仅会引起鸡只腹泻、气囊炎、滑膜炎等疾病,而且可因继发感染导致生长缓慢、产蛋下降^[3]。鸡白痢沙门氏菌极易引起雏鸡下痢、急性败血症等,死亡率较高,成年鸡主要呈现慢性感染或隐形感染,长期带毒且经卵垂直传播^[4]。鸡副伤寒沙门氏菌可感染大多数温血动物和冷血动物,全世界范围内已分离到鸡副伤寒沙门氏菌有 90 多个血清型,其中鼠伤寒、海德堡和肠炎沙门氏菌是主要血清型^[5]。作为条件致病菌,大肠杆菌和沙门氏菌都具有水平传播和垂直传播的特点,四季均可发病,不但对家禽业生产造成严重的经济损失,而且威胁到人类的健康^[6]。加强生物安全防护、疾病净化、病原菌疫苗免疫、抗生素预防与治疗等措施,可以有效预防控制鸡病原菌病的发生^[7]。肉仔鸡生长发育尚未健全,机体抵抗力较弱,易受大肠杆菌和沙门氏菌的感染。常用抗生素因长期不合理的使用,致使病原菌的耐药性越来越强。本试验采集甘肃省民勤县某鸡场 7 日龄病死肉鸡肝脏、脾脏、心脏进行病原菌分离培养、形态观察、16S rDNA 分子鉴定,确认引起肉仔鸡腹泻、死亡的病原菌,之后通过复方中草药及常用抗生素的药敏实验分析抑菌效果,对此次病情的预防控制和科学用药及复方中药应用于肉鸡生产提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 病料来源 2019 年 6~8 月,甘肃省民勤县勤峰滩某肉鸡饲养场前期幼鸡出现腹泻、精神萎

靡、厌食并出现死亡症状,无菌采集 10 只患病鸡心脏、肝脏、脾脏带回实验室进行病原菌的分离培养及检测。

1.1.2 主要试剂及仪器 普通琼脂培养基、血平板培养基,购自北京索莱宝科技有限公司。DNA 提取试剂盒、胶回收试剂盒,购自美国纽英伦生物技术(NEB);DL 2000 Marker,购自宝生物(Takara)工程(大连)有限公司;浓度为 1 g/mL 复方中草药制剂由兰州威特森生物科技有限公司自主研发,主要成分为女贞子、板蓝根、当归、柴胡、丹参、黄芪;其他化学试剂均购自美国 SIGMA 生物科技有限公司。实验所用主要仪器 PCR 仪、电泳仪、凝胶成像仪(Bio-Rad);离心机(德国赫默);水浴锅、电热恒温培养箱(上海,一恒);恒温培养摇床(上海,南荣);超净工作台(苏州,安泰)。

1.2 实验方法

1.2.1 细菌的形态学观察 将无菌采集患病鸡心、肝、脾分别划线接种于普通琼脂培养基 37 ℃ 恒温培养 24 h。挑取典型优势菌落继续接种培养,37 ℃ 培养 24 h,挑取优势菌落进行涂片,将镜检结果为革兰氏阴性短杆菌进一步划线纯化,以备后续实验。

1.2.2 16S rDNA 分子鉴定 制备分离纯化后的细菌菌液,根据细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取 DNA。以细菌 16S rDNA 通用引物扩增提取 DNA,预期扩增长度 1400 bp 左右。反应体系 50 μL;DNA 模板 5 μL、Mix 25 μL、通用引物 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R(5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3')各 2 μL、无菌双蒸水补足至 50 μL。反应条件:94 ℃ 预变性 2 min,98 ℃ 变性 10 s,56 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 90 s,共

进行 31 个循环,最后 70 ℃ 延伸 10 min。扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测。

根据 PCR 产物纯化试剂盒说明书将所得产物纯化,纯化产物送至武汉金开瑞生物工程有限公司进行测序。将所得测序结果与 GenBank 数据库进行同源性分析,分别选取其中同源性较高菌株的 16S rDNA 序列,使用 Mega 7.0 软件基于邻接法 (NeighborJoining, NJ 法) 构建系统进化树, Bootstraps 重复检验 1000 次,以确定各菌株在分类学上的定位。

1.2.3 菌液及药敏纸片的制备 利用平板计数法将菌液浓度调至 1.0×10^6 CFU/mL。无菌采用二倍稀释法,将原浓度的复方中草药制剂依次稀释至最低浓度为 31.25 mg/mL。10 片灭菌 6 mm 小纸片依次平铺与无菌培养皿,每纸片滴加 30 μ L 中草药制剂,密封培养皿,烘干 4 ℃ 保存。

1.2.4 体外抑菌 将调制后菌液 200 μ L 均匀涂抹于普通琼脂培养基,取 4 片不同浓度中草药药敏纸片置于上述涂有菌液培养基,倒置 37 ℃ 恒温 24 h,测定抑菌圈直径。判定标准:抑菌圈直径 ≥ 20 mm 为高敏, $15 \text{ mm} \leq$ 抑菌圈直径 < 20 mm 为中敏, $10 \text{ mm} \leq$ 抑菌圈直径 < 15 mm 为低敏, 10 mm 以下的为不敏感^[8]。同时用 10 种常用抗生素药敏纸片做对照,药敏试验采用 Kirby – bauer 琼脂扩散法并参照参考文献^[9]进行。

2 结果与分析

2.1 菌株的分离与镜检 经分离纯化培养,在 10 只病鸡心、肝、脾脏中分离得到三株病原菌,依次编号 G1、G2、G3。如图 1 所示,在血琼脂平板上, G1 为灰白色、不透明菌落,未见明显溶血环。 G2、G3 菌落呈针尖大小“露珠状”,圆形,微隆起,光滑湿润、半透明,边缘整齐。革兰氏镜检发现三株菌均为革兰氏阴性短杆菌, G1 菌珠多以单个存在,无芽孢、是两端钝圆的短杆菌。 G2、G3 菌两端钝圆,短杆状,单个、成对或成丛排列。通过镜检得知 G1 菌与大肠杆菌的形态特征相似; G2、G3 与沙门氏菌的形态特征相似。

2.2 16S rDNA 基因序列及系统进化关系

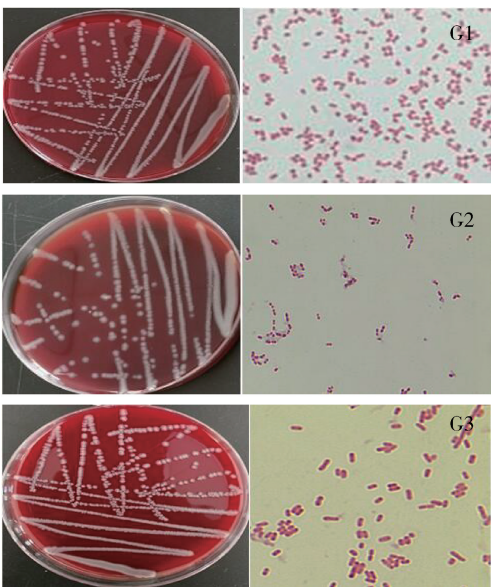
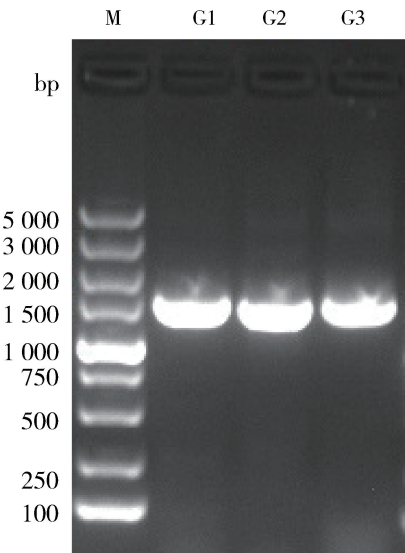


图 1 分离菌株菌落形态与革兰染色图

Fig 1 Colony morphology and Gram staining of isolated strains

2.2.1 PCR 结果 PCR 结果如图 2 所示,测序结果显示 G1 扩增长度 1406 bp, G2 扩增长度 1386 bp, G3 扩增长度 1394 bp,各菌株序列均与预期扩增长度结果一致。



M: DL2000 Marker; G1 – G3 分离菌株

M: DL2000 Marker; G1 – G3 isolated strain

图 2 16S rDNA PCR 扩增电泳图

Fig 2 16S rDNA PCR electrophoresis

2.2.2 同源性比较和进化树 将 PCR 测序结果提交至 GenBank 数据库进行 BLAST 同源性搜索,发现 G1 菌株与 GenBank 已登录的大肠杆菌基因序列同源性高达 98% 以上,G2、G3 与沙门氏菌菌株同源性达 99% 以上。分别选取同源性最高菌株的 16S rDNA 序列,使用 Mega 7.0 软件基于邻接法构建系统进化树。图 3 可得,所有菌株形成 2 个主要

分支,分离菌 G1 与 GenBank 已登录的大肠杆菌 Nbrc 102203 聚为一支,置信度为 100。图 4 可得,G2 与 GenBank 已登录的肠沙门氏菌亚种小肠浆液白痢株 S09629 序列聚为一支,置信度为 100。从图 5 可得,G3 与 GenBank 已登录的沙门氏菌肠杆菌亚种甲型副伤寒肠杆菌 GZ9A00052 序列聚为一支,置信度为 98。

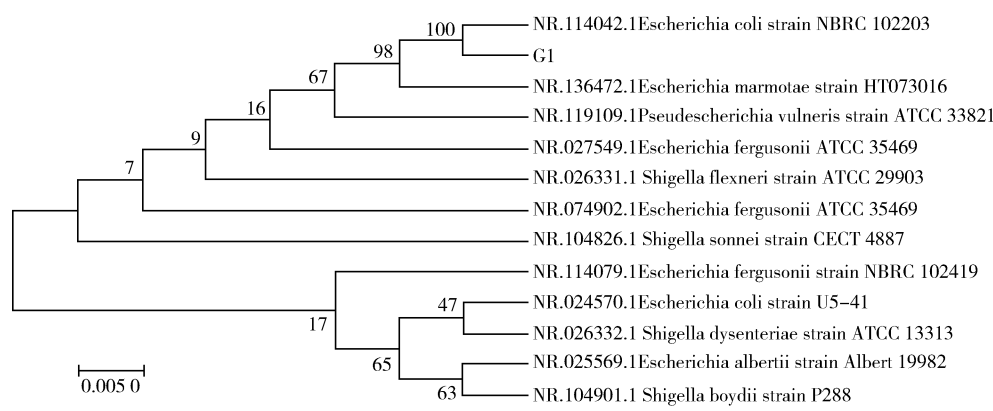


图 3 基于 16S rDNA 序列构建的大肠杆菌种群邻接法系统进化树

Fig 3 Phylogenetic tree of *E. coli* population adjacency method based on 16S rDNA sequence

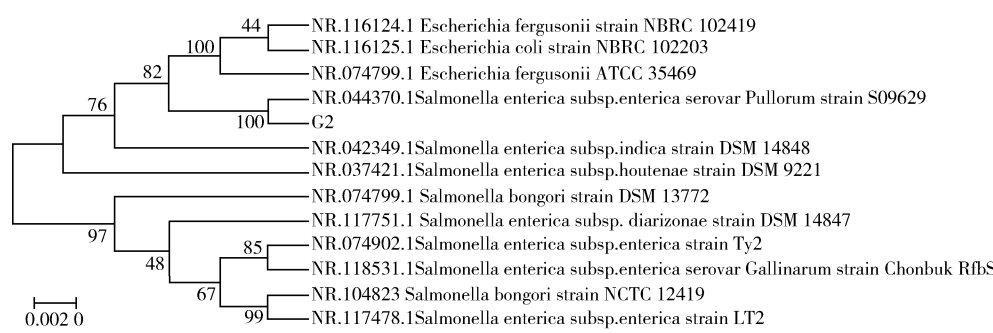


图 4 基于 16S rDNA 序列构建的沙门氏菌种群邻接法系统进化树

Fig 4 Phylogenetic tree of *Salmonella* population based on 16S rDNA sequence construction

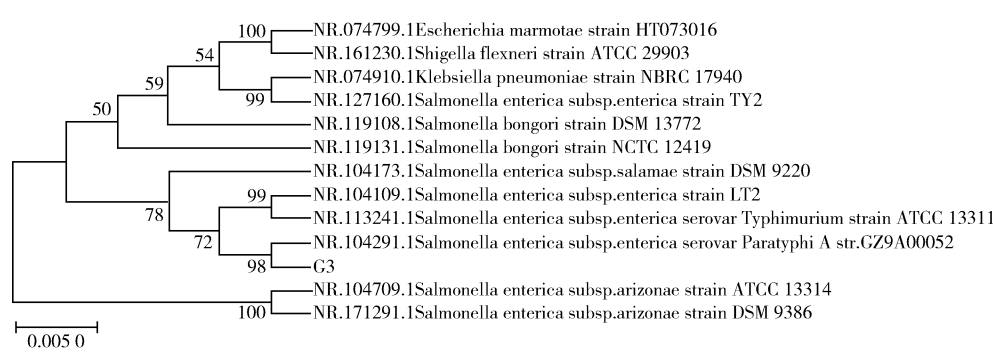


图 5 基于 16S rDNA 序列构建的沙门氏菌种群邻接法系统进化树

Fig 5 Phylogenetic tree of *Salmonella* population based on 16S rDNA sequence construction

2.3 抑菌结果

2.3.1 复方中草药制剂 由表 1 可知,复方中草药制剂抑菌效果与其浓度呈正相关。其最小抑菌

浓度(MIC)为 62.5 mg/mL。浓度为 1 g/mL 时三株菌均为高度敏感,抑菌效果最好。

表 1 复方中草药制剂抑菌试验

Tab 1 Antibacterial test of compound Chinese herbal medicine preparations												
菌株	1 g/mL		500 mg/mL		250 mg/mL		125 mg/mL		62.5 mg/mL		31.25 mg/mL	
	抑菌圈直径/mm	判定	抑菌圈直径/mm	判定	抑菌圈直径/mm	判定	抑菌圈直径/mm	判定	抑菌圈直径/mm	判定	抑菌圈直径/mm	判定
鸡大肠杆菌	24	高敏	20	高敏	16	中敏	12	低敏	10	低敏	8	不敏感
鸡白痢沙门氏菌	21	高敏	17	中敏	15	中敏	11	低敏	9	不敏感	4	不敏感
鸡副伤寒沙门氏菌	23	高敏	21	高敏	18	中敏	14	低敏	9	不敏感	6	不敏感

2.3.2 抗生素 由图 6 可知,此次分离鸡大肠杆菌对庆大霉素、阿米卡星 2 种药物敏感,对头孢曲松、链霉素、氨苄西林、氟苯尼考、环丙沙星、头孢噻肟和恩诺沙星 7 种药物耐药;而鸡白痢沙门氏菌对链霉素、氟苯尼考、头孢噻肟 3 种药物敏感,对庆大霉素、氨苄西林、环丙沙星、四环素、恩诺沙星 5 种药物表现耐药;鸡副伤寒沙门氏菌对头孢曲松、链霉素、头孢噻肟 3 种药物敏感,对庆大霉素、氨苄西林、环丙沙星、四环素、恩诺沙星 5 种药物耐药。

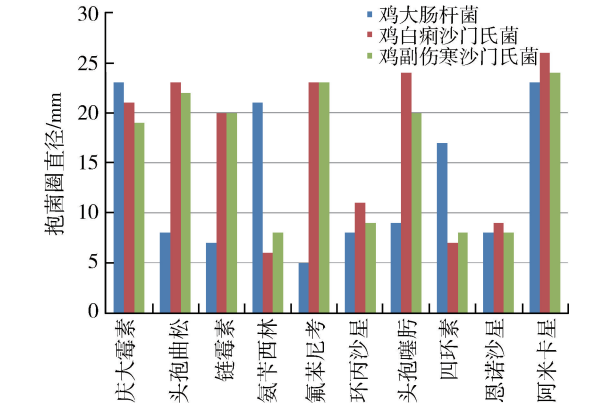


图 6 分离株药敏试验结果

Fig 6 Isolate drug sensitivity test results

3 讨论与结论

禽大肠杆菌病和沙门氏菌病混合感染的情况越来越严重,在卫生状况差、消毒不彻底、空气流通不足、鸡群抵抗力下降时极易发生^[10]。大肠杆菌为条件性致病菌,当动物机体抵抗力下降时,大肠

杆菌与宿主的生态平衡被打破,形成生态失调,细菌的致病性便会表现出来,引起感染肉鸡腹泻、呕吐、出血性结肠炎等疾病^[11]。大肠杆菌与沙门氏菌既可单独感染肉鸡,也可与其他病原菌混合感染致发病,实际生产中,大肠杆菌和沙门氏菌混合感染的病例尤为突出。安慧慧等^[12]在固原区检测出引起鸡输卵管炎症的病原菌为大肠杆菌。李蕴玉等^[13]从采集的秦皇岛地区患病死亡育成鸡 38 份肝脏病料组织中分离鉴定出 20 株大肠杆菌。宋欣媛等^[14]在昆明地区发病鸡的肝脏和脾脏病料中分离出沙门氏菌。陈培培等^[15]在即墨地区从病样中分离出大肠杆菌和沙门氏菌。李志红^[16]在宁夏某商品蛋鸡养殖场病料中分离鉴定出两株鸡白痢沙门氏菌。宋海霞等^[17]在河南省地区腹泻鸡群中检测出主要致病菌为鸡大肠杆菌和沙门氏菌。上述结果与本试验结果基本一致。

大肠杆菌和沙门氏菌都易产生对抗生素的耐受性,而且多重耐药现象严重,尤其是大肠杆菌和沙门氏菌混合感染的病例^[18]。混合感染时,鸡的死亡率较高,用药难度较大,其发病率、死亡率显著增高。两种细菌血清型种类较多,不同地区差别较大;不同菌株之间不产生交叉保护作用,极易产生耐药性^[19]。中草药具有毒副作用小、促进生长、促进动物新陈代谢、无耐药性、提高饲料报酬、预防疾病等优点^[20]。关于鸡大肠杆菌和沙门氏菌分离鉴定及抗生素药敏实验的文献报道较多,但以复方中

药代替抗生素做体外抑菌实验报道少见。尹姣姣等^[21]在晋中地区分离出鸡致病性大肠杆菌做药敏试验,结果显示耐药率极高。宋健等^[22]分离出鸡白痢沙门氏菌对环丙沙星、恩诺沙星高度敏感。其结果与本实验不一致可能是地理和养殖环境所不同造成,此结果也提示肉鸡生产中要合理使用抗菌药物,避免经验用药。中草药中的生物活性物质能够促进动物健康生长,使畜禽机体内环境保持平衡状态^[23]。女贞子所含的路类及苯苄醇巧类等具有补肝补肾、清虚热的作用;板蓝根当中所含有的黄酮类和三萜皂巧类具有清热解毒的作用;当归中含有的当归多糖和挥发油具有补血活血、润燥滑肠作用;柴胡中所含的皂苷能抑制各种炎症因子引起的踝关节肿胀和结缔组织增生性炎症^[24]。本试验复方中药抑菌实验结果显示,将 1 g/mL 复方中草药制剂浓度稀释至 62.5 mg/mL (MIC) 时依然对 3 株菌均有抑菌作用。刘永波等^[25]以云南 10 种中草药水煎剂对猪源大肠杆菌进行体外抑菌实验,结果显示中药材水煎液对猪源大肠杆菌皆有不同程度的体外抑菌效果。林炎权等^[26]对四种中草药对致病菌的抑菌作用测试结果显示,在药液 pH 值调至中性后,五倍子和石榴皮能有效抑杀四种弧菌。综上所述结果所述,中草药对致病菌有抑制作用。

根据大肠杆菌与沙门氏菌的流行特点,要有效控制和预防疾病的发生,除改善环境卫生条件外,还需提高机体的抵抗力,从而有效抵御病原的侵袭。由于人们对抗生素的滥用,导致常见病原菌对很多药物产生了耐药性,因此,治疗效果十分不明显。本试验结果显示大肠杆菌和沙门氏菌耐药性极高,复方中药抑菌效果较好。故鸡场发生此类型病情时应根据药敏试验结果指导科学用药,才能获得良好的治疗效果。

本实验条件下,研究发现常用抗生素的杀菌效果并不理想,复方中草药制剂杀菌效果良好。建议生产中应采用药敏试验,根据其结果选择敏感药物,且应注意交替用药,以收到良好的治疗效果。可以考虑在生产中使用复方中草药制剂代替部分常用抗生素。

参考文献:

- [1] 马馨,刘一飞,王志宇,等. 鸡源大肠杆菌分离鉴定及 ESBLs 与 AmpC 酶基因型检测及耐药性分析[J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(9): 2715–2725.
Ma Xin, Liu Yifei, Wang Zhiyu, *et al.* Isolation and identification of chicken-derived *E. coli* and genotype detection of ESBLs and AmpC enzymes and drug resistance analysis[J]. Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2019, 46(9): 2715–2725.
- [2] 高玉斌,赵格,王君玮,等. 我国不同地区鸡源致病性大肠杆菌分离株的 PFGE 分子分型[J]. 中国动物检疫, 2020, 37(4): 96–100.
Gao Yubin, Zhao Ge, Wang Junwei, *et al.* PFGE molecular typing of chicken pathogenic *E. coli* isolates in different regions of my country[J]. Animal Quarantine of China, 2020, 37(4): 96–100.
- [3] Wang X M, Liao X P, Hang W J, *et al.* Prevalence of serogroups, virulence genotypes, antimicrobial resistance, and phylogenetic background of avian pathogenic *Escherichia coli* in south of China[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2010, 7(9): 1099–1106.
- [4] 鹿意,梁晓,秦志华,等. 八味中药及其复方对鸡大肠杆菌的体外抑制试验[J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(6): 70–72.
Lu Yi, Liang Xiao, Qin Zhihua, *et al.* In vitro inhibition test of Bawei Chinese medicine and its compound on *Escherichia coli* [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2018, 54(6): 70–72.
- [5] Kim Yeong Bin, Seo Kwang Won, Shim Jong Bo, *et al.* Molecular characterization of antimicrobial-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from layer parent stock[J]. Poultry science, 2019, 98(11): 5892–5899.
- [6] 刘喆,张书萧,王少辉,等. 沙门氏菌的检测技术进展[J]. 中国动物传染病学报, 2012, 20(2): 81–86.
Liu Zhe, Zhang Shuxiao, Wang Shaohui, *et al.* Advances in detection technology of *Salmonella* [J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2012, 20(2): 81–86.
- [7] 李成忠,王宏宁,黄勇,等. 多重耐药鸡致病性沙门氏 I 类整合子的检测技术[J]. 中国畜牧兽医, 2012, (1): 172–177.
Li Chengzhong, Wang Hongning, Huang Yong, *et al.* Detection technology of pathogenic Salmon Class I integrants in multi-drug resistant chickens [J]. Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2012, (1): 172–177.

- [8] 陈丹清, 王建. 鸡白痢沙门氏菌的分离鉴定与耐药性分析[J]. 中国动物传染病学报: 2020, 12(6): 1-5.
Chen Danqing, Wang Jian. Isolation, identification and drug resistance analysis of *Salmonella gallinarum*[J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases; 2020, 12(6): 1-5.
- [9] 阚刘刚, 赵丽杰, 李秀业, 等. 鸡沙门氏菌病的生物预防和控制研究进展[J]. 动物营养学报, 2018, (9): 3432-3443.
Kan Liugang, Zhao Lijie, Li Xiuye, et al. Advances in research on the biological prevention and control of chicken salmonellosis [J]. Journal of Animal Nutrition, 2018, (9): 3432-3443.
- [10] 韩雪. 岷县仔猪大肠杆菌病调查及主要分离株的中草药抑菌实验[D]. 甘肃农业大学, 2017.
Han Xue. Investigation of colibacillosis of piglets in Minxian County and experiment of Chinese herbal medicine bacteriostasis of main isolates [D]. Gansu Agricultural University, 2017.
- [11] Li Y, Frey E, Mackenzie A M R, et al. Human Response to *Escherichia coli* O157:H7 infection; Antibodies to secreted virulence factors[J]. Infection and Immunity, 2000, 68(9): 5090-5095.
- [12] 安慧慧. 固原地区鸡输卵管炎病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 甘肃畜牧兽医, 2019, 49(10): 68-71.
An Huihui. Isolation, identification and drug susceptibility test of pathogens of chicken salpingitis in Guyuan area [J]. Gansu Animal Science and Veterinary Medicine, 2019, 49(10): 68-71.
- [13] 李蕴玉, 葛成, 焦贺静, 等. 秦皇岛地区育成鸡大肠杆菌血清型鉴定及耐药性分析[J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(8): 71-73.
Li Yunyu, Ge Cheng, Jiao Hejing, et al. Identification of serotypes and drug resistance analysis of *E. coli* bred in Qinhuangdao region [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2019, 55(8): 71-73.
- [14] 宋欣媛, 谭珊, 吴培福. 昆明地区鸡源沙门氏菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 现代畜牧兽医, 2019, (4): 1-5.
Song Xinyuan, Tan Shan, Wu Peifu. Isolation, identification and drug resistance analysis of *Salmonella* from chickens in Kunming area [J]. Modern Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2019, (4): 1-5.
- [15] 陈培培, 齐心, 张灿. 即墨区鸡源大肠杆菌及沙门氏菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019, 11(9): 1-7.
Chen Peipei, Qi Xin, Zhang Can. Isolation, identification and drug resistance analysis of chicken-derived *E. coli* and *Salmonella* from Jimo District [J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2019, 11(9): 1-7.
- [16] 李志红. 鸡白痢沙门氏菌病原分离与鉴定[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016, (8): 125-127.
Li Zhihong. Isolation and identification of the pathogen of *Salmonella gallinarum*[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2016, (8): 125-127.
- [17] 宋海霞. 河南省鸡腹泻重要病原菌的分离鉴定与耐药性及PCR检测方法的研究[D]. 河南农业大学, 2010.
Song Haixia. Isolation, identification, drug resistance and PCR detection methods of important pathogens of chicken diarrhea in Henan Province [D]. Henan Agricultural University, 2010.
- [18] 徐喆. 鸡大肠杆菌与沙门氏菌混合感染的诊断与治疗[J]. 饲料博览, 2019, (11): 60.
Xu Zhe. Diagnosis and treatment of chicken *E. coli* and *Salmonella* mixed infection [J]. Feed Expo, 2019, (11): 60.
- [19] 贺永明, 鄂禄祥. 肉鸡大肠杆菌与沙门氏菌混合感染的诊治[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016, (4): 105-106.
He Yongming, E Luxiang. Diagnosis and treatment of mixed infection of *Escherichia coli* and *Salmonella* in broilers [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2016, (4): 105-106.
- [20] 苏记良, 梁祖满, 罗秋兰, 等. 复方中草药对黄羽肉鸡生长性能及免疫功能的影响[J]. 饲料研究, 2016, 42(10): 13-27.
Su Jiliang, Liang Zuman, Luo Qiulan, et al. Effect of compound Chinese herbal medicine on growth performance and immune function of yellow feather broiler chickens [J]. Feed Research, 2016, 42(10): 13-27.
- [21] 尹姣姣, 何敏, 翟晶晶, 等. 晋中地区鸡致病性大肠杆菌分离株的鉴定及其16S rDNA序列的同源性分析[J]. 中国兽医学, 2019, 49(3): 341-346.
Yin Jiaojiao, He Min, Zhai Jingjing, et al. Identification of chicken pathogenic *E. coli* isolates and homology analysis of 16S rDNA sequence in Jinzhong area [J]. Chinese Veterinary Science, 2019, 49(3): 341-346.
- [22] 宋健, 龚子恒, 王蒙蒙, 等. 鸡白痢沙门氏菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017, (16): 110-112.
Song Jian, Gong Zihuan, Wang Mengmeng, et al. Isolation, identification and drug sensitivity test of *Salmonella gallinarum* [J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2017, (16): 110-112.
- [23] 崔宇林. 中草药在畜牧业中的应用[J]. 畜禽业, 2017, (1): 19-20.
Cui Yulin. Application of Chinese herbal medicine in animal husbandry [J]. Animal and Poultry Industry, 2017, (1): 19-20.

[24] 孙 启. 复方中草药添加剂的研发及其在肉鸡生产中的应用研究[D]. 安徽科技学院, 2017.

Sun Qi. Research and development of compound Chinese herbal medicine additives and its application in broiler production [D]. Anhui University of Science and Technology, 2017.

[25] 刘永波, 舒相华, 白华毅, 等. 云南 10 种中草药水煎剂对猪源大肠杆菌体外抑菌实验[J]. 中兽医学杂志, 2017, (4): 13 – 15.

Liu Yongbo, Shu Xianghua, Bai Huayi, *et al.* *In vitro* antibacterial experiment of 10 Chinese herbal medicine decoctions against *E. coli* from pigs[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2017, (4): 13 – 15.

[26] 林炎权, 王 康, 林 先, 等. 四种中草药对致病菌的抑菌作用测试[J]. 海洋与渔业, 2019, (7): 104 – 105.

Lin Yanquan, Wang Kang, Lin Xian, *et al.* Antibacterial effects of four Chinese herbal medicines on pathogenic bacteria [J]. Ocean and Fisheries, 2019, (7): 104 – 105.

(编 辑:侯向辉)