

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.07.02

动物源细菌耐药性评估在兽用抗菌药使用 减量化行动中的应用

周芷锦, 陈洁, 沈红霞, 孙思琪, 赵灵燕, 倪柏锋, 孙冰冰, 周炜*

(浙江省动物疫病预防控制中心, 杭州 311119)

[收稿日期] 2022-04-12 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2022)07-0006-06 [中图分类号] S859.83

[摘要] 动物源细菌耐药性已引起广泛关注, 全国正在逐步推进兽用抗菌药使用减量化行动。为更好地推动减量化行动的实施, 浙江省在耐药性的评估及应用方面进行探索。研究分析了耐药性评估在减量化行动中的作用, 建立了耐药系数评估模型与应用方法, 研判了目前耐药性监测可能存在的问题, 以期更好地推进兽用抗菌药使用减量化行动。

[关键词] 耐药性评估; 兽用抗菌药减量化; 应用

Application of Antimicrobial Resistance Assessment in Veterinary Antibiotics Reduction

ZHOU Zhi-jin, CHEN Jie, SHEN Hong-xia, SUN Si-qi, ZHAO Ling-yan, NI Bo-feng,
SUN Bing-bing, ZHOU Wei*

(Zhejiang Provincial Center for Animal Disease Prevention and Control, Hangzhou 311119, China)

Corresponding author: ZHOU Wei, E-mail: zhouwei0732@sohu.com

Abstract: Antimicrobial resistance of animal-driven bacteria had attracted extensive attention, and veterinary antibiotics use reduction was gradually promoted in China. In order to promote the reduce use action of veterinary antibiotics, Zhejiang Province had paid more attention on the evaluation of antimicrobial resistance and its application. In this study, the role of antimicrobial resistance assessment in the veterinary antibiotics reduction was analyzed, an evaluation model of antimicrobial resistance assessment and its application method was established, and possible problems in the current antimicrobial resistance monitoring was concluded, in order to promote the reduce use action of veterinary antibiotics.

Key words: antimicrobial resistance assessment; veterinary antibiotics reduction; application

基金项目: 浙江省重点科技研发项目 (No. 2020C02031)

作者简介: 周芷锦, 农学学士, 从事兽药及畜产品质量安全检测、兽医公共卫生研究。

通讯作者: 周炜。E-mail: zhouwei0732@sohu.com

抗菌药物在现代化、集约化的畜牧养殖过程中发挥了重要的作用。自 1940 年以来,各类抗菌药物被广泛的应用于治疗和预防畜禽疾病。除杀菌、抑菌外,部分抗菌药物还可促进动物生长以及提高饲料的利用率^[1-2]。但抗菌药物的长期使用,加之不合理使用,特别是促生长类抗菌药物的大量使用,动物源细菌耐药性不断扩展、恶化,严重影响了畜牧业的健康、有序与绿色发展,甚至危害到了公共卫生安全。为了遏制和延缓细菌耐药性的发展,为国家政策的制定、动物养殖业、动物的健康和卫生的良好发展提供指导^[3],世界卫生组织(WHO)、世界动物卫生组织(WOAH)等国际组织号召各国对食源性细菌的耐药性进行全面监测、开展风险评估^[4]。

农业农村部自 2008 年起启动全国动物源细菌耐药性监测工作,并明确组建全国动物源细菌耐药性监测网的指导目标,为分析、评估我国动物源细菌耐药性的发生、发展情况提供了重要的数据支撑。2019 年开始,浙江省逐步推进兽用抗菌药物使用减量化和饲料环保化行动(以下简称“两化行动”),并对实施成效提出评估验收方案,这其中很重要的一项评估指标就是动物源细菌耐药性监测评估。如何运用动物源细菌耐药性监测数据进行评估,是本文思考与探索的重点。

1 动物源细菌耐药性评估在减量化行动中的作用

动物源细菌耐药性监测在评估耐药性方面的意义已然明晰^[5-8],其监测数据可较为直观地反映细菌的耐药谱和耐药程度,在兽用抗菌药使用减量化行动中具有着重要意义。

1.1 降低单一因素对风险评估的干扰,真实反映用药情况 兽用抗菌药使用减量化评估中有一个重要指标:单位动物产品抗菌药使用量。在浙江省“两化行动”实施过程中发现,受养殖规模、养殖主体的文化程度、养殖管理的规范化程度以及台账记录习惯等因素影响,用药台账的完整性和规范性差异较大,因此单位动物产品抗菌药使用量的测算结果与生产实际存在较大出入。用药台账主要存在以下几个测算难点:未使用药物的通用名、未标注

药品含量和包装规格、未明确使用畜种阶段、未注明使用时间和用药期限等。仅通过用药台账计算单位动物产品抗菌药使用量的评价指标,较难准确反映养殖场的药物使用情况,而动物源细菌耐药性评估的引入,可以相对客观、真实反应抗菌药物长期使用情况,有研究显示,细菌耐药性的升高与抗菌药物的使用量、使用强度以及疗程等存在正相关性^[9-11]。细菌耐药性的评估减少了外部和人为因素导致的明显异常,提高了“两化行动”中单位动物产品抗菌药物使用量评估的真实性和可靠性。

为进一步研判“两化行动”示范创建场是否存在使用禁用药物情况和总体用药水平,浙江省增设了畜产品、养殖粪肥和水体中抗菌药物残留量的监测考核。受检测次数与样本覆盖面等因素影响,畜产品、养殖粪肥和水体中抗菌药物残留量易出现大幅波动,可能影响最终验收评估结论。而对耐药性的评估,可减少抗菌药物残留量数据不稳定等因素对“两化行动”评估的影响,可为“两化行动”的科学合理评估验收提供更加合理的参考评估数据。

1.2 持续监测,科学反馈兽用抗菌药使用减量化行动实施成效 农业农村部出台的《全国兽用抗菌药使用减量化行动方案(2021—2025 年)》^[12]和浙江省出台的《浙江省推进兽用抗菌药减量化和饲料环保化试点行动方案(2020—2022 年)》^[13]中均把遏制动物源细菌耐药性的发展,维护公共卫生安全作为行动的重要目的之一。浙江省兽用抗菌药减量化的行动路径为“禁”、“减”、“替”。“禁”,即禁止促生长类抗菌药物饲料添加剂的生产经营和使用。“减”,即减少不规范的预防治疗用药。“替”,即选用合适的替抗产品。而动物源细菌耐药性监测评估作为研究耐药性现状及发展趋势和评估减量化行动成效的有效手段已得到了多方研究数据的证明^[14-17]。以黏菌素为例,在我国禁止黏菌素作为促生长剂用于动物养殖后,我国对黏菌素耐药的动物源大肠杆菌(CREC)的检出率从 2015 年的 38.7% 显著降低至 2021 年的 6.9%,黏菌素耐药基因 *mcr-1* 以及其携带质粒的分离率在 2015—2019 年间呈显著下降趋势^[14],从科学数据角度证

明了禁用令的成效和在遏制黏菌素耐药性进一步发展中做出的贡献。持续的细菌耐药性评估能直观科学地反馈政策执行后的有效性,为下一步政策执行和行动路径提供技术支持。

2 动物源细菌耐药评估模型建立

依据历年农业农村部动物源细菌耐药性监测计划^[18],目前评估的动物源细菌主要包括肠球菌、大肠杆菌、沙门氏菌、弯曲杆菌、金黄色葡萄球菌等 5 种;监测的药物种类也很多,肠球菌监测的药物种类多达 27 种。与此同时,为保障耐药性评估的科学性和合理性,将对耐药系数评估模型的极限值、适用性、历年数据测评等的测试,各养殖场点监测耐药指示菌的菌株数应不少于 20 株。以浙江省监测大肠杆菌和肠球菌为例,单一养殖场得到的 MIC 数据在 1000 余个左右。如要更加直观评估、比较动物源细菌耐药性现状与变化趋势,则需要进一步量化与简明化评估数据。

为此,本项目组通过近三年的不断摸索,建立了菌群耐药性强度评估模型^[19-20]。即:先对监测得到的各药物最小抑菌浓度(MIC 值)(不等于、比值等)进行修正;再将全部 MIC 值(含修正值)取对数,以缩小 MIC 值之间的倍数差异,并求得养殖场/全省(市)同一菌种的全部监测药物的 MIC 值的对数平均值、中位值、最大值和最小值,对数平均值表示为耐药强度系数,中位、最大值和最小值为参考。再佐之以各养殖场点典型耐受药物种类、数量,形成耐药系数与耐药谱相结合的评估模型。

单一数据式的耐药强度系数为评估、比较动物源细菌耐药性现状与变化趋势提供了简明的量化数值。经近三年的实践分析,该评估模型能够反映单一养殖场抗菌药物使用情况及其用药变化趋势。

3 动物源细菌耐药性评估结果的应用

动物源细菌耐药性评估过程耗时费力,要让得来不易的结果充分发挥其作用,一方面离不开服务于养殖主体,一方面离不开服务于行政监管部门。

3.1 耐药性评估结果在养殖主体中的应用 在浙江省“两化”行动调研中发现,少数大型养殖场对基于耐药性监测选择合适的抗菌药物进行针对性治

疗有一定的认识,可自行开展简易药敏试验或者通过送检的方式进行本场细菌感染疾病治疗药物的选择;大部分养殖场在用药方面仍依赖于驻场兽医、乡村兽医或者兽医诊疗机构的诊疗用药经验,常用药物种类相对集中,在同一养殖场中兽用抗菌药物轮换使用的概念尚未形成;小散户盲目用药、超时超量使用抗菌药物的情况依然存在。根据调研结果,浙江省耐药性评估在包含“两化行动”的示范场和定点场的同时,以地区为单位制定点面结合的监测方案。较长的“两化行动”周期的耐药性评估结果所总结的耐受药物(菌株耐药率超 70% 的药物)清单可指导养殖主体轮换用药,为合理用药提供科学依据,有助于减少抗菌药物的使用量;耐药强度系数的逐年变化趋势可反映“减量化”的效果,为养殖主体在评估验收时提供数据支撑。

3.2 耐药性评估结果在兽用抗菌药监管中的应用 遏制细菌耐药性问题早已成为世界范围内的共同议题,但浙江省动物源细菌的耐药现状在“两化行动”前尚不清晰,监管单位无法通过政策的制定进行指导。“两化行动”的耐药性评估结果一方面可直观全面的展示全省范围内动物源细菌耐药性的现状以及耐药性发展变化趋势,通过耐药强度系数为行政监管部门提供了量化、直观、简明的数据;另一方面耐药性评估得出的全省范围内高耐受药物清单,为行政监管单位下一步制定指导养殖用药,监管畜产品中药物残留以及畜禽排泄物中抗菌药物残留风险的相关政策提供参考依据。

4 动物源细菌耐药性评估存在的主要问题

4.1 耐药性评估方法不一致性 用于耐药性监测的研究方法较多,包括药物敏感性实验方法^[21-22]、耐药质粒检测及质粒指纹谱图技术^[23-24]、耐药基因检测技术^[25]等。药物敏感性实验方法包括琼脂稀释法、微量肉汤稀释法、KB 纸片法和 E-TEST 法等。目前耐药表型的主流监测方法有微量肉汤法和 KB 纸片法,各有优缺点。微量肉汤稀释法是目前农业农村部指定的监测方法,该方法优点在于可以准确的测得药物的 MIC 值,且实验过程简便,可以批量进行检测,有成品药敏板可供选择,但药

物种类受限且价格比较高昂;KB 纸片法的优点在于操作简单,药物种类不受限且经济实惠,是目前养殖场常用药敏试验方法,但无法测得药物的 MIC 值只可判断药物耐药与否。为了更好地服务于养殖主体,如何科学合理的评估两种方法结果的一致性,仍待权威部门提供指导或参考意见。

4.2 药敏板的质量参差不齐 目前耐药性监测所使用的药敏板大部分为成品板,种类主要包括浊度板和显色板。药敏板尚无统一的选择标准以及评价标准,浊度板和显色板的结果一致性和误差评估也未见相关文献报道。随着国内生产药敏板的厂家增多,可选择范围扩大,监测单位如何选择采购药敏板仍需权威部门给出参考标准。

4.3 耐药菌的保藏管理权限不明确 除耐药表型监测外,耐药基因的监测也是耐药性评估的重要手段。为了对未知或尚未关注的耐药基因的迁移、传播规律开展研究,需要对耐药菌进行妥善保藏。应建立耐药菌保藏管理的相关制度与规定。

5 展 望

抗菌药物被发现可用于治疗细菌感染以来,因其大大降低由细菌感染导致的死亡率,在人类和食品动物上均有广泛的使用。但随着抗菌药物的使用,细菌在与抗菌药物的斗争中逐步产生了耐药性,且出现逐步扩大加深的趋势。据报道预计未来抗菌药物的使用的增长中三分之二将用于养殖行业^[26],且人和动物的药物谱库存在大量重叠,在人、动物和环境的活动中,加强了耐药菌和耐药基因的传播^[27]。自 20 世纪末以来,各国逐步启动对动物源细菌耐药性的监测评估,并作出报告^[28-30]。动物源细菌耐药性的监测是个长期过程,我国动物源细菌耐药性监测工作较晚,监测标准和评估体系亟待完善^[31-32],覆盖全国的监测网络有待建立,耐药性研究方面的技术要求相对较高,人才储备有待加强。

参考文献:

[1] Dibner J J, Richards J D. Antibiotic growth promoters in agricul-

ture: history and mode of action. *Poultry Science*, 2005, 84(4): 634-643.

[2] Niewold T A. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action A hypothesis. *Poultry Science*, 2007, 86(4): 605-609.

[3] 程古月,李俊,谷宇锋,等. 世界卫生组织、欧盟和中国抗生素耐药性监测现状[J]. *中国抗生素杂志*, 2018, 43(6): 665-674.

Cheng G Y, Li J, Gu Y F, *et al.* Antimicrobial resistance surveillance systems of WHO, EU and China [J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2018, 43(6): 665-674.

[4] 郝海红,程古月,戴梦红,等. 对动物饲料中禁用抗菌促生长剂的反思[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(3): 594-603.

Hao H H, Cheng G Y, Dai M H, *et al.* Reflection on the prohibition of antimicrobial growth promoters in animal feed [J]. *Chinese Agricultural Science*, 2015, 48(3): 594-603.

[5] 郭凯旋,王湘如,赵月,等. 我国动物源细菌耐药性监测及预警的研究进展[J]. *中国兽药杂志*, 2021, 55(4): 79-85.

Guo K X, Wang X R, Zhao Y, *et al.* Progress in the Research of Drug Resistance Monitoring and Early Warning System of Animal-derived Bacteria in China [J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2021, 55(4): 79-85.

[6] 宋立,范学政,张纯萍,等. 我国动物源细菌耐药性数据库的建立与应用[J]. *中国兽药杂志*, 2015, 49(8): 64-69.

Song L, Fan X Z, Zhang C P, *et al.* Development and Application of National Antimicrobial Resistance Database of Bacterium from Animal Origin [J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2015, 49(8): 64-69.

[7] 张纯萍,宋立,吴辰斌,等. 我国动物源细菌耐药性监测系统简介[J]. *中国动物检疫*, 2017, 34(3): 34-38.

Zhang C P, Song L, Wu C B, *et al.* Drug Resistance Surveillance Network for Zoonotic Bacteria in China [J]. *China Animal Health Inspection*, 2017, 34(3): 34-38.

[8] 安博宇,胡蔓,徐向月,等. 兽用抗菌药耐药性风险评估研究进展[J]. *中国抗生素杂志*, 2021, 46(1): 27-33.

An B Y, Hu M, Xu X Y, *et al.* Research progress of risk assessment on veterinary antimicrobial resistance [J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2021, 46(1): 27-33.

[9] 周丽娟,蒙光义,梁春宏,等. 洋葱伯克霍尔菌的耐药性与抗菌药物使用强度相关性分析[J]. *中国药业*, 2021, 30(9): 88-91.

Zhou L J, Meng G Y, Liang C H, *et al.* Correlation Between the Drug Resistance of *Burkholderia cepacia* and the Antibiotics Use Density [J]. *China Pharmaceuticals*, 2021, 30(9): 88-91.

- [10] 金浩, 仇凡, 孙明忠, 等. 665 株鲍曼不动杆菌耐药性变化与用药频度相关性分析[J]. 临床与病理杂志, 2015, 35(10):1799-1804.
Jin H, Chou F, Sun M Z, *et al.* Correlation between drug resistance and drug consumption in 665 strains of *Acinetobacter Baumannii*[J]. *International Journal of Pathology and Clinical Medicine*, 2015, 35(10):1799-1804.
- [11] Milan M, Verica M, Tom B, *et al.* Correlation between Antibiotic Consumption and Resistance of Invasive *Streptococcus pneumoniae*[J]. *Antibiotics*, 2021, 10, 758. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070758>
- [12] 农业农村部. 农业农村部关于印发《全国兽用抗菌药使用减量化行动方案(2021—2025 年)》的通知[EB/OL]. [2021-10-25]. http://www.ivdc.org.cn/lhxd/202110/t20211025_53697.htm The Ministry of Agriculture and Rural Affairs. Notice of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs on the Issuance of the National Action Plan for Reducing the Use of Veterinary Antibiotics(2021-2025)[EB/OL]. [2021-10-25]. http://www.ivdc.org.cn/lhxd/202110/t20211025_53697.htm
- [13] 浙江省农业农村厅关于印发《浙江省推进兽用抗菌药减量化和饲料环保化试点三年行动方案(2020-2022 年)》的通知[EB/OL]. [2020-12-20]. http://nynct.zj.gov.cn/art/2020/12/20/art_1229142036_2199071.html.
Notice of Zhejiang Provincial Department of Agriculture and Rural Affairs on the Issuance of the Three-year Action Plan for Promoting the Reduction of Veterinary antibiotics and Feed Environmental Protection (2020-2022)[EB/OL]. [2020-12-20].
- [14] Wang Y, Xu C Y, Zhang R, *et al.* Changes in colistin resistance and *mcr-1* abundance in *Escherichia coli* of animal and human origins following the ban of colistin-positive additives in China: an epidemiological comparative study[J]. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20: 1161-71.
- [15] 李璧辰, 王洁, 潘玉婷, 等. 细菌耐药性调查及与抗菌药物使用相关性分析[J]. 西北药学杂志, 2017, 32(5): 666-670.
Li B C, Wang J, Pan Y T, *et al.* Investigation of bacterial drug resistance and its correlation with antibiotics[J]. *Northwest Pharmaceutical Journal*, 2017, 32(5): 666-670.
- [16] Pedro Miguela-Villoldoa, b, Marta Hernández, *et al.* National colistin sales versus colistin resistance in Spanish pig production[J]. *Research in Veterinary Science*, 2019, 123:141-143.
- [17] Zhou W, Zhang E B, Zhou J Z, *et al.* Characterization and comparative genomics analysis of IncFII multi-resistance plasmids carrying *bla*CTX-M and type 1 integrons from *Escherichia coli*. *Fomtiers in Microbiology* [J/OL], <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.753979>.
- [18] 农业农村部关于印发《2019 年动物源细菌耐药性监测计划》的通知[J]. 中华人民共和国农业农村部公报, 2019, (4): 19-21.
Notice of the Ministry of agriculture and rural areas on printing and distributing the drug resistance monitoring plan of animal borne bacteria in 2019 [J]. *Gazette of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China*, 2019, (4): 19-21.
- [19] 周炜, 索德成, 王彬, 等. 一种畜禽养殖过程中抗菌药物使用减量化测算方法: 中国, 111340642A[P]. 2020-6-26.
Zhou W, Suo D C, Wang B, *et al.* A calculation method for reducing the use of antibiotics in the process of livestock and poultry breeding; China, 111340642A[P]. 2020-6-26.
- [20] 周炜, 穆琳, 杨华, 等. 一种菌群耐药性强度评估方法: 中国, 112322696A[P]. 2021-2-5.
Zhou W, Mu L, Yang H, *et al.* A method for evaluating the intensity of drug resistance of flora; China, 112322696A[P]. 2021-2-5.
- [21] Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100 - 31th Edition [S]. USA: Clinical and Laboratory Standards institute, 2021.
- [22] Eucast. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing[EB/OL]. 2017, <http://www.eucast.org>.
- [23] Bennett P M. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria[J]. *BrjPharmacol*, 2008, 153(S1): 347-357.
- [24] Ana Beatriz Portes, Grazielle Rodrigues, Mylenna Palma Leitão, *et al.* Global distribution of plasmid-mediated colistin resistance *mcr* gene in *Salmonella*: A systematic review[J]. *J Appl Microbiol*, 2022, 132: 872-889.
- [25] Mofoluwaso Adedeji Oyinloye, Bondira Olamide Ndagana, Adeola Egbibi, *et al.* Study of virulence genes in vancomycin resistant *Enterococci* (vre) from animals and human clinical isolates [J]. *International Journal of Biosciences*, 2021, 18(1): 1-14.
- [26] 孙坚, 刘雅红, 冯友军, 等. 动物源细菌耐药性研究现状与对策[J]. 生物工程学报, 2018, 34(8): 1246-125.
Sun J, Liu Y H, Feng Y J. Towards understanding antibiotic resistance in animals-borne bacterial pathogens[J]. *Chin J Biotech*, 2018, 34(8): 1246-1258.
- [27] 李显志. 抗生素耐药基因古老起源与现代进化及其警示[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(2): 81-89.

- Li X Z. Ancient origin and modern eVolution of antibiotic resistance and their implications[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2013, 38(2): 81-89.
- [28] 徐士新. 重视抗菌药物耐药性风险 加强抗菌药物使用监管[J]. 中国兽药杂志, 2012, 46(S): 1-6.
- Xu S X. Pay attention to the risk of antimicrobial resistance and strengthen the supervision of antimicrobial use[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2012, 46(S): 1-6.
- [29] Ilbert J M, White D G, Mcdermott P F. The US national antimicrobial resistance monitoring system [J]. Future Microbiol, 2007, 2(5): 493-500.
- [30] Authority E F S. ECDC/EFSA/EMA first joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals[J]. Efsa J, 2016, 13(1): 1-135.
- [31] 房诗薇, 黄玲利, 谢书宇, 等. 兽用抗菌药耐药判定标准的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(6): 667-673.
- Fang S W, Huang L L, *et al.* Study progress on breakpoints of veterinary antibiotics[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2019, 44(6): 667-673.
- [32] 马苏, 宋立, 梁耀峰, 等. 食源性抗菌药耐药性风险分析指南介绍[J]. 中国兽药杂志, 2013, 47(3): 44-47.
- Ma S, Song L, Liang Y F, *et al.* Brief Introduce of Guidelines for Risk Analysis of Foodborne Antimicrobial Resistance [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2013, 47(3): 44-47.

(编辑:陈希)