

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2024.04.03

# 2022 年北京市宠物源细菌耐药性监测浅析

陈玉<sup>1,2,3</sup>, 程敏<sup>1,2</sup>, 崔明全<sup>1,2</sup>, 赵琪<sup>1,2</sup>, 张纯萍<sup>1,2</sup>, 白玉惠<sup>1,2</sup>,  
张启迪<sup>3</sup>, 李霆<sup>1,2\*</sup>, 王鹤佳<sup>1,2</sup>

(1. 农业农村部动物源细菌耐药性监测重点实验室, 北京 100081; 2. 中国兽医药品监察所(农业农村部兽药评审中心), 北京 100081;  
3. 青岛农业大学动物医学院, 青岛 266109)

[收稿日期] 2023-10-31 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2024) 04-0020-07 [中图分类号] S859.79

**[摘要]** 为了解北京市宠物源细菌的抗菌药物耐药情况, 2022 年, 笔者对北京市四个城区的四家宠物医院的犬、猫共计 50 份样本的肛拭子进行了研究。试验对样品中的大肠杆菌和肠球菌首先进行了分离培养和质谱鉴定, 然后采用微量肉汤稀释法分析分离菌株的耐药表型。结果共分离出大肠杆菌 25 株、肠球菌 25 株(屎肠球菌 14 株、粪肠球菌 11 株)。大肠杆菌耐药率最高的 2 种抗菌药为四环素和氨苄西林, 多重耐药菌占 44%; 肠球菌耐药情况较严重, 粪肠球菌耐药率最高的抗菌药物为磺胺异噁唑, 屎肠球菌耐药率最高的抗菌药物为磺胺异噁唑、头孢西丁和红霉素, 二者多重耐药菌占分离株总数的 100%。综上, 北京地区宠物源大肠杆菌、肠球菌的耐药情况较为严峻, 且多重耐药现象突出, 需要加强对宠物抗菌药使用的监督与管理。

**[关键词]** 宠物源; 北京市; 大肠杆菌; 肠球菌; 耐药性

## A Brief Analysis of Antimicrobial Resistance Monitoring of Pet-derived Bacteria in Beijing in 2022

CHEN Yu<sup>1,2,3</sup>, CHENG Min<sup>1,2</sup>, CUI Ming-quan<sup>1,2</sup>, ZHAO Qi<sup>1,2</sup>, ZHANG Chun-ping<sup>1,2</sup>,  
BAI Yu-hui<sup>1,2</sup>, ZHANG Qi-di<sup>3</sup>, LI Ting<sup>1,2\*</sup>, WANG He-jia<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Animal Antimicrobial Resistance Surveillance, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081, China;  
2. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 3. College of Animal Science and Technology, QAU, Qingdao 266109, China)

**Abstract:** To understand the Antimicrobial resistance of pet-derived bacteria in Beijing, the anal swabs of 50 samples of dogs and cats from four pet hospitals in Beijing were investigated in 2022. The *Escherichia coli* and *Enterococcus* were first isolated and identified by mass spectrometer, and then, the antimicrobial resistance characteristics of the isolated bacteria was analyzed by microbroth dilution method. Results showed that 25 strains of *Escherichia coli* and 25 strains of *Enterococcus* (14 strains of *Enterococcus faecium* and 11 strains of *Enterococcus faecalis*) were isolated. The two antibiotics with the highest antimicrobial resistance rate of *Escherichia coli* were

基金项目: 国家重点研发计划 2022YFD1800405; 中国兽医药品监察所兽药行业公益性重点专项 GY202108

作者简介: 陈玉, 硕士研究生, 从事细菌耐药性研究。

通讯作者: 李霆。E-mail: lt\_cn@126.com

tetracycline and ampicillin, and multi-antibiotic resistant bacteria accounted for 44%. The highest antimicrobial resistance rate of *Enterococcus faecalis* was sulfisoxazole, and the highest antimicrobial resistance rate of *Enterococcus faecium* was sulfisoxazole, cefoxitin and erythromycin. Multi-antibiotic resistant strains accounted for 100% of the total number of isolates. In summary, the problem of antimicrobial resistance of pet-derived *Escherichia coli* and enterococci in Beijing is relatively serious, indicating that the supervision and management of the use of pet antimicrobials need to be further strengthened.

**Key words:** pet-derived; Beijing; *Escherichia coli*; *Enterococcus*; antimicrobial resistance

随着经济的发展和生活质量的提高,越来越多的人开始饲养宠物,犬猫是占比最高的宠物类型。《2021 年中国宠物行业白皮书》数据显示,2021 年全国城镇养宠人数达到 6844 万人,饲养宠物犬、宠物猫的数量分别为 5429 万只、5806 万只。随着宠物数量的不断增多,宠物疾病也呈现出高发趋势,抗菌药物的使用频率日益增多。犬猫呼吸道感染、腹腔感染和泌尿系统感染等在临床上非常普遍。为了控制这些感染及并发症,在治疗过程中会频繁地使用甚至过度使用抗菌药物<sup>[1-2]</sup>。另外,由于我国宠物专用药物少,且存在“人药宠物用”等违规用药现象<sup>[3-4]</sup>。这些不科学用药行为容易导致宠物变身为一个移动的耐药细菌储存库,而宠物产生的耐药菌一旦传播给人类,很容易发生交叉感染,出现二次传播的风险<sup>[5]</sup>。目前,已经有国外学者发现犬的多重耐药细菌传播给了人<sup>[6]</sup>。因此,开展宠物源细菌耐药性监测对加强宠物用药管理和保证人类身体健康具有重要的公共卫生意义。近年来,我国开始逐步重视宠物耐药问题,农业农村部不仅于 2022 年分别颁布了《动物诊疗机构管理办法》和《执业兽医和乡村兽医管理办法》规范宠物用药行为,并于 2022 年首次将宠物源细菌耐药性监测工作纳入全国动物源细菌耐药性监测计划,分别对北京、上海、四川和广东四个省市首先开展了宠物源细菌耐药性的试点监测工作,旨在加强对宠物源细菌耐药性的跟踪监测,并掌握宠物源细菌的耐药现状,对指导宠物行业科学用药和遏制耐药性传播具有重要意义。本研究首次对北京地区的四家宠物医院进行采样,经细菌分离鉴定后进行了耐药性分析,旨在初步了解北京地区宠物源细菌耐

药情况,为宠物临床合理用药提供一定参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 样品和菌株 从北京市朝阳区、海淀区、丰台区、西城区的四家宠物医院共采集 50 份肛拭子样品(其中犬 24 份、猫 26 份)。质控菌株:大肠杆菌 ATCC 25922、肠球菌 ATCC 29212 由中国兽药药品监察所安全评价室保存。

1.1.2 试剂与仪器 Amies 运送培养基、麦康凯琼脂、普通营养琼脂、肠球菌显色培养基均购买自青岛海博生物有限公司;革兰氏阳性需氧菌药敏板、革兰氏阴性需氧菌药敏板购自上海星佰生物公司;甲酸;乙腈;无水乙醇;CHCA 基质溶液;台式冷冻离心机;德国 Sigma 公司;基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪(Matrix-assisted laser desorption ionization time-off flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS);岛津公司。

### 1.2 方法

1.2.1 样品采集 采集北京市四个城区四家宠物医院中犬猫的肛拭子样品,立即放入无菌 Amies 运送培养基中保存,低温运送至实验室。

1.2.2 细菌分离 将保存在 Amies 运送培养基中的样品分别在麦康凯培养基和肠球菌显色培养基划线,置于 37 °C 恒温培养箱中培养 18 ~ 24 h。挑取麦康凯培养基上单个桃红色或红色菌落和肠球菌显色培养基上的红色或紫色的单个菌落(疑似肠球菌)再次在麦康凯培养基和肠球菌显色培养基上划线进行二次纯化。

将质控菌株大肠杆菌: ATCC25922、肠球菌: ATCC29212 复苏,在普通养琼脂上划线,37 °C 恒温

培养 18 ~ 24 h。

**1.2.3 MALDI-TOF MS 鉴定** 样品前期处理: 挑取纯化后的疑似单菌落在营养琼脂上划线, 37 °C 培养 18 h。用一次性无菌接种环挑取适量样品于 1.5 mL 离心管中, 加入 900  $\mu$ L 无水乙醇、300  $\mu$ L 纯水混匀, 12000 rpm/min, 离心 2 min, 弃去上清液, 向沉淀中加入 50  $\mu$ L 70% 甲酸, 混匀, 再加入 50  $\mu$ L 乙腈, 混匀, 12000 rpm/min, 离心 2 min, 保留上清液。质控菌株 ATCC25922、ATCC29212 的处理方法同上。

点样: 先在干净的靶板样品孔中点 1  $\mu$ L 上清液, 放干后再点 2  $\mu$ L CHCA 基质溶液, 待其晾干后送入上样系统。

**MALDI-TOF 鉴定:** 选择仪器运行模式 Linear\_saramis, 设置扫描范围为 2000 ~ 20000, 激光频率为 20, 激光能量为 66, 采集谱图数 Profiles 100, shot 2, Blank 1500, P $\mu$ Lsed Extraction 8330; 利用 Auto quality 自动获得谱图。设置好参数后开始采集质控菌株 ATCC25922 的数据进行校准, 校准完成后进行样品数据的采集。

数据的处理: 将导出格式为 txt 的数据拷贝到数据库电脑的鉴定软件中自动读取数据并进行鉴定。

**1.2.4 药敏试验** 采用微量肉汤法测定不同抗菌药物对大肠杆菌、肠球菌的最小抑菌浓度 (Minimal

inhibitory concentration, MIC)。挑取 2 ~ 3 个单菌落置 2 mL 灭菌生理盐水中, 用 0.5 麦氏比浊管进行比浊, 调制菌液浓度为  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL 左右。取 12 mL 的营养肉汤培养液倒入加样槽中, 从加样槽中吸取药敏培养液 100  $\mu$ L 加入阴性对照孔中。再取上述菌液 60  $\mu$ L 加入药敏培养液中混匀进行稀释, 用排枪吸取稀释液 100  $\mu$ L 加入 96 孔微量药敏板条中。将加样完成后的药敏板条放入恒温培养箱 37 °C 培养 16 ~ 20 h。在阴性对照孔清澈, 阳性对照孔混浊以及质控菌株 MIC 值符合规定范围的前提下, 参照美国临床实验室标准化委员会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 标准对结果进行判定。

## 2 结果与分析

**2.1 菌株鉴定结果** 针对四家宠物医院样品采集的 50 份样品 (犬 24 份、猫 26 份), 将棉签拭子样本分别在麦康凯培养基和肠球菌显色培养基上划线过夜培养。大肠杆菌典型菌落呈鲜桃红色或微红色, 菌落中心呈深桃红色、扁平、边缘整齐, 表面光滑湿润, 不透明的圆形大菌落; 肠球菌典型菌落为红色至紫色, 边缘整齐, 表面湿润的针尖样菌落。针对上述疑似大肠杆菌或肠球菌进行 MALDI-TOF MS 鉴定, 鉴定出大肠杆菌 25 株, 肠球菌 25 株 (粪肠球菌 11 株, 屎肠球菌 14 株), 部分 MS 鉴定图谱如图 1 所示。

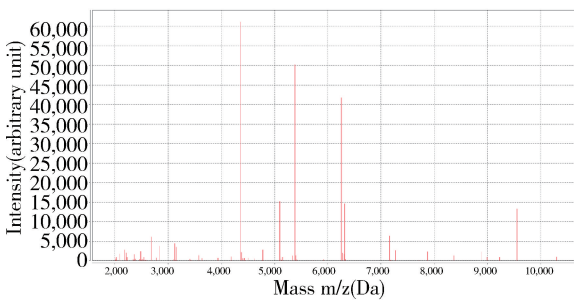


图 1 (a) 大肠杆菌 MALDI-TOF MS 鉴定图

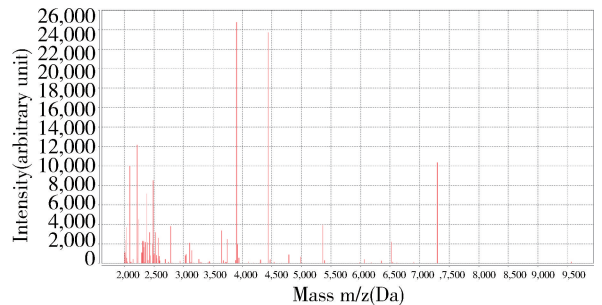


图 1 (b) 屎肠球菌 MALDI-TOF MS 鉴定图

Fig 1 (a) MALDI-TOF MS spectrum of *Escherichia coli* Figure 1 (b) MALDI-TOF MS spectrum of *Enterococcus faecium*

## 2.2 药敏试验结果

**2.2.1 大肠杆菌药敏试验结果** 对 25 株大肠杆

菌进行 8 类 (16 种) 抗菌药物的药物敏感性试验, 抗菌药物耐药率如图 2 (a)。结果表明, 宠物源大

肠杆菌分离株对四环素的耐药率最高,为 100%;其次是氨苄西林,耐药率高达 60%;对磺胺异噁唑、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑、恩诺沙星、庆大霉素、头孢噻呋、氟苯尼考、氧氟沙星中度耐药;对阿莫西林/克拉维酸、大观霉素、头孢他啶相对敏感;仅对美罗培

南和粘菌素全部敏感。由于安普霉素和乙酰甲喹两种抗菌药物目前尚无耐药折点,故分析他们的耐药性情况需通过 MIC 分布图如图 2(b),MIC 分布图显示安普霉素和乙酰甲喹的 MIC 分布整体相对集中。

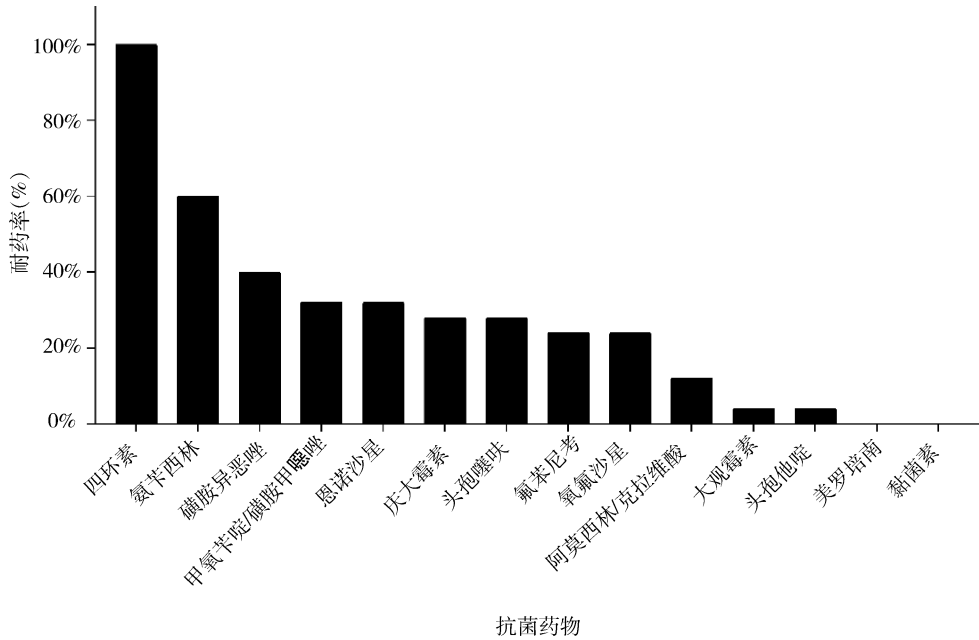


图 2 (a) 宠物源大肠杆菌对抗菌药物耐药率

Fig 2 (a) Antimicrobial resistance rate of pet – derived *Escherichia coli*

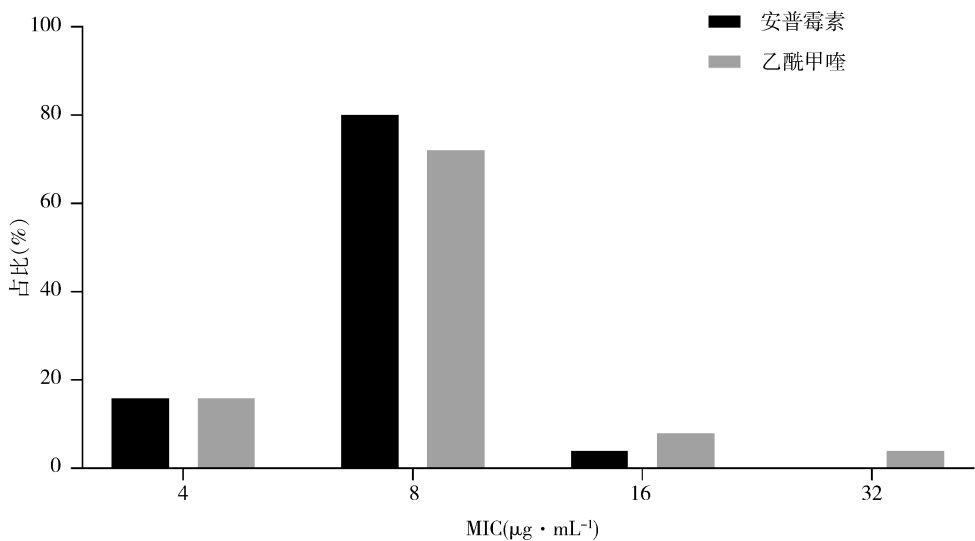


图 2 (b) 安普霉素、乙酰甲喹 MIC 分布

Fig 2 (b) MIC distribution of ampramycin and acetoquinone

2.2.2 肠球菌药敏试验结果 对 25 株肠球菌(屎肠球菌 14 株、粪肠球菌 11 株)进行 11 类(18 种)抗菌药物的药物敏感性试验,抗菌药物耐药率如图 3。结果表明,屎肠球菌对红霉素、头孢西丁和磺胺异噁唑的耐药率最高,为 100%;其次是克林霉素,耐药率高达 92.86%;对泰妙菌素、氧氟沙星、头孢噻唑、替米考星、四环素耐药严重,耐药率均超过 50%;对青霉素、阿莫西林/克拉维酸、庆大霉素、恩诺沙星、多西环素中度耐药;对甲氧苄啶/磺胺甲噁唑和氟苯尼考相对敏感;对青霉素、阿莫西林/克拉维酸、氟苯尼考和利奈唑胺四种抗菌药物全部敏感。

唑和氟苯尼考相对敏感;仅对万古霉素和利奈唑胺全部敏感。而粪肠球菌耐药情况和屎肠球菌则不太相同,粪肠球菌对磺胺异噁唑的耐药率最高,为 100%;其次是克林霉素、头孢噻唑、头孢西丁、泰妙菌素四种抗菌药物,耐药率均为 81.82%;对红霉素、氧氟沙星、替米考星、庆大霉素和四环素耐药严重;对甲氧苄啶/磺胺甲噁唑和多西环素相对敏感;对青霉素、阿莫西林/克拉维酸、氟苯尼考和利奈唑胺四种抗菌药物全部敏感。

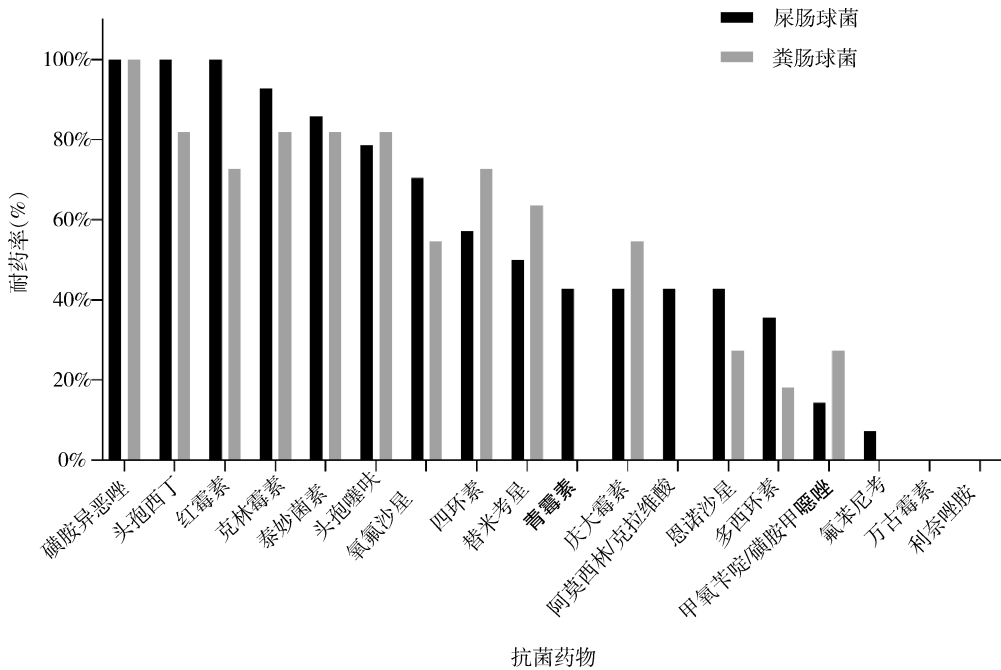


图 3 宠物源肠球菌对抗菌药物耐药率

Fig 3 Resistance rate of *Enterococcus* of pet origin to antibiotics

### 2.3 多重耐药性分析

2.3.1 宠物源大肠杆菌多重耐药性分析 宠物源大肠杆菌多重耐药分布情况见图 4。针对 7 类抗菌药物,多重耐药菌株(耐 3 类及以上药物)共 11 株,占大肠杆菌分离株的 44%;其中 3 重的耐药菌株所占比例最高,5 重的耐药菌株比例最小,未检测到对 7 类抗菌药物全部耐药的菌株。

2.3.2 宠物源肠球菌多重耐药性分析 针对 11

类 18 种抗菌药物,宠物源肠球菌多重耐药情况较为严重,多重耐药菌株占肠球菌分离株总数的 100%。如图 5 所示,屎肠球菌和粪肠球菌分离株中均存在多重耐药现象;屎肠球菌 4 重耐药菌株占比最小,而粪肠球菌耐 4 重耐药菌株和 5 重耐药菌株所占比例最小,均为 9.09%;屎肠球菌和粪肠球菌耐 8 类抗菌药物所占比例最高,且二者未检测到对 11 类抗菌药物全部耐药的菌株。

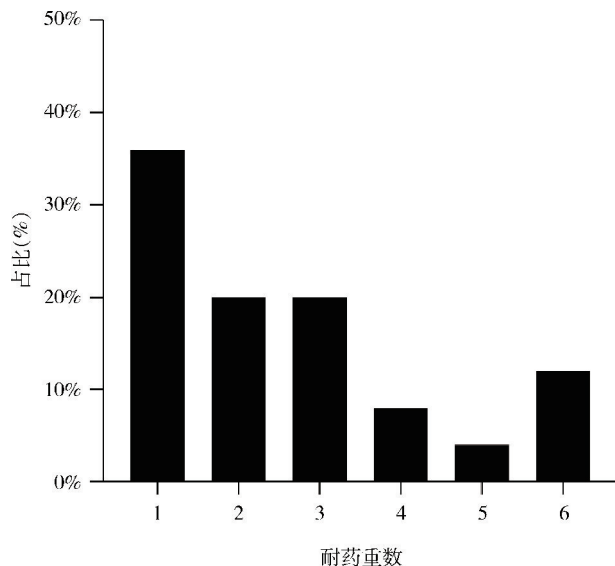


图 4 宠物源大肠杆菌多重耐药分布

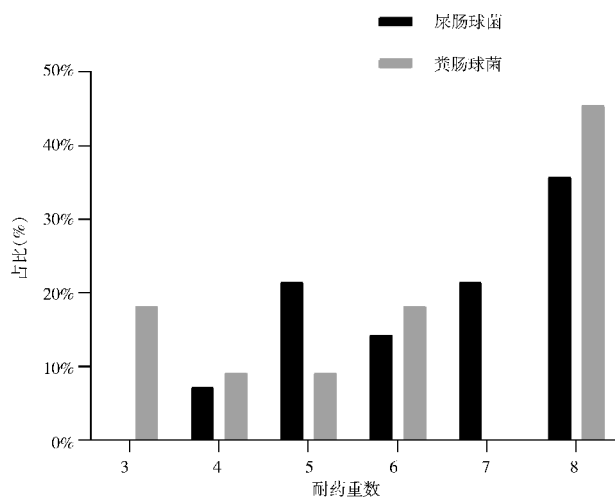
Fig 4 Distribution of multiple drug resistance in pet - derived *Escherichia coli*

图 5 宠物源肠球菌多重耐药分布

Fig 5 Distribution of multiple drug resistance in pet - derived *Enterococcus*

### 3 讨论

宠物源细菌耐药现象日益严重,近年来从宠物中分离出多重耐药菌的报道越来越多,由于宠物与人类的亲密关系,这些耐药菌携带的耐药基因可以很容易在人类和动物之间进行水平传播<sup>[7-8]</sup>。宠物耐药菌的产生和流行受到国内外的广泛关注<sup>[9-11]</sup>。据《2021 年中国宠物医疗白皮书》数据显

示,养宠用户主要集中在沿海和中部地区,接近 25% 的宠物用户位于北上广地区。其中北京在宠物市场规模中占 8.5% 的比重,饲养的宠物数量也最多,因此,选择北京地区开展监测具有较高的研究价值。

我国部分地区开展了针对宠物源细菌的耐药性研究,包括吉林、广州和石河子等<sup>[10-12]</sup>。本研究中北京地区宠物源大肠杆菌分离株对氨苄西林、氧氟沙星的耐药率与石河子地区报道的宠物源大肠杆菌的耐药率相近<sup>[10]</sup>;对庆大霉素、头孢他啶和甲氧苄啶/磺胺甲噁唑的耐药率则与广州地区健康动物体内分离出来的大肠杆菌的耐药率相近<sup>[12]</sup>。与石河子地区和广州地区相比,北京地区宠物源大肠杆菌对四环素的耐药率高于这两个地区,而对恩诺沙星和氟苯尼考的耐药率与这两个地区又不相同。此外,宠物源分离菌株对于同一类的抗菌药物的耐药率也存在一定的差异,如磺胺异噁唑和甲氧苄啶/磺胺甲噁唑,这可能与临床宠物医生的用药习惯与用药频率有关。

已有研究指出,不同种类的肠球菌对同种类的抗菌药物会有不同的耐药表现<sup>[13-14]</sup>。本研究对 2 种肠球菌进行的药敏试验分析发现,受试肠球菌除对万古霉素和利奈唑胺的药敏试验结果无差异外,对其他抗菌药物的药敏试验结果均有差异。万古霉素作为治疗革兰氏阳性菌的“最后一道防线”,对于治疗肠球菌感染具有重要意义。由于抗菌药物的滥用,已经出现了耐万古霉素肠球菌(Vancomycin resistant *Enterococcus*, VRE),VRE 的出现不仅会造成严重的经济损失,而且还会威胁公共健康。本研究中虽未发现耐万古霉素的肠球菌,但对其耐药性的监测需持续关注。

本研究对大肠杆菌、肠球菌进行不同种类抗菌药物的药敏试验,发现多重耐药现象较为普遍,其中 3 重耐药大肠杆菌和 8 重耐药的肠球菌最多。提示宠物源细菌的耐药问题日趋严重。

综上,北京地区宠物源细菌耐药情况比较严峻,耐药谱种类多样,多重耐药现象严重。因此,对宠物源细菌的耐药性问题进行预防和控制已经刻

不容缓,必须持续加强对宠物源细菌耐药性的日常监测和抗菌药物的使用监管。

### 参考文献:

- [1] Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd D H. Pet animals as reservoirs of antimicrobial - resistant bacteria[J]. J Antimicrob Chemother. 2004, 54(2): 321 - 332.
- [2] Johnson J K, Perencevich E N, Lincalis D P, *et al.* Dog bite transmission of antibiotic - resistant bacteria to a human [J]. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006, 27(7): 762 - 763.
- [3] 张晓琳. 宠物诊疗用药误区[J]. 畜牧兽医科学(电子版). 2020(18): 131 - 132.  
Zhang X L. Mistaken Ideas of Drug Use in Pet Diagnosis and Treatment [J]. Graziery Veterinary Sciences;Electronic Version. 2020(18):131 - 132.
- [4] 刘丹华, 张晓伟, 张 翀. 抗生素滥用与超级细菌[J]. 国外医药(抗生素分册). 2019, 40(01): 1 - 4.  
Liu D H, Zhang X W, Zhang C. Antibiotic misuse and superbugs [J]. World Notes on Antibiotics. 2019, 40(01): 1 - 4.
- [5] Chung Y S, Park Y K, Park Y H, *et al.* Probable secondary transmission of antimicrobial - resistant *Escherichia coli* between people living with and without pets[J]. J Vet Med Sci. 2017, 79(3): 486 - 491.
- [6] 刘 果, 纪 雪, 孙 洋, 等. 宠物源大肠埃希菌的分离鉴定和耐药性研究[J]. 动物医学进展. 2016, 37(02): 120 - 124.  
Liu G, Ji X, Sun Y, *et al.* Isolation, Identification and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* in Companion Animals[J]. Progress in Veterinary Medicine. 2016, 37(02): 120 - 124.
- [7] Rubin J E, Pitout J D. Extended - spectrum beta - lactamase, carbapenemase and AmpC producing *Enterobacteriaceae* in companion animals[J]. Vet Microbiol. 2014, 170(1 - 2): 10 - 18.
- [8] Pedersen K, Pedersen K, Jensen H, *et al.* Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs[J]. J Antimicrob Chemother. 2007, 60(4): 775 - 781.
- [9] Jacob J, Lorber B. Diseases Transmitted by Man's Best Friend: The Dog[J]. Microbiol Spectr. 2015, 3(4):111 - 131.
- [10] 王 蕾, 王 婧, 张 晓 洁, 等. 犬源大肠杆菌的药敏分析研究[J]. 畜牧兽医杂志. 2019, 38(02): 4 - 6.  
Wang L, Wang J, Zhang X J, *et al.* Analysis of Drug Sensitivity of Canine *Escherichia coli* [J]. Journal of Animal Science and Veterinary Medicine. 2019, 38(02): 4 - 6.
- [11] 赵相胜, 孙 洋, 纪 雪, 等. 犬源大肠杆菌分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国人兽共患病学报. 2014, 30(03): 268 - 272.  
Zhao X S, Sun Y, Ji X, *et al.* Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from dogs [J]. Chinese Journal of Zoonoses. 2014, 30(03): 268 - 272.
- [12] 易梦颖, 王 晶, 卢沛兰, 等. 宠物源大肠埃希菌耐药性及耐药基因调查[J]. 华南农业大学学报. 2019, 40(6): 15 - 21.  
Yi M Y, Wang J, Lu P L, *et al.* Antimicrobial resistance and resistance genes of *Escherichia coli* from pets [J]. Journal of South China Agricultural University. 2019, 40(6): 15 - 21.
- [13] Bertelloni F, Salvadori C, Lotti G, *et al.* Antimicrobial resistance in *Enterococcus* strains isolated from healthy domestic dogs[J]. Acta Microbiol Immunol Hung. 2017, 64(3): 301 - 312.
- [14] 高杰英, 王缚鲲, 顾 江, 等. 粪肠球菌和屎肠球菌耐药性分析[J]. 解放军医药杂志. 2019, 31(11): 37 - 42.  
Gao Y J, Wang F K, Gu J, *et al.* Analysis of Drug Resistance of *Enterococcus Faecalis* and *Enterococcus Faecium* [J]. Medical & Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army. 2019, 31(11): 37 - 42.

(编辑:陈 希)