

# 鸡舍内外环境中气载大肠杆菌同源性的分子鉴定

段会勇, 柴同杰\*

(山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018)

**摘要:** 采用 ANDERSEN-6 级空气微生物样品收集器和 RCS 离心式采样器在 5 个鸡场舍内空气、舍外上风向和下风向不同距离收集气载大肠杆菌; 并收集鸡的粪便, 分离大肠杆菌。利用大肠杆菌基因间重复一致序列为引物的聚合酶链式反应(ERIC-PCR)分型技术, 扩增不同测量点收集的大肠杆菌的 DNA 图谱。通过每个采样点的大肠杆菌的浓度变化以及大肠杆菌遗传相似性分析确认动物舍微生物气溶胶向舍外环境的传播。结果显示: 5 个鸡舍内空气中大肠杆菌的浓度远远高于舍外上风和下风向的大肠杆菌浓度 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 但是舍外不同距离间的大肠杆菌浓度差异并不显著 ( $P > 0.05$ )。同样, ERIC-PCR 结果表明, 从鸡的粪便中分离的大肠杆菌与从舍内空气中分离的部分大肠杆菌(34.1%), 以及从鸡场舍外下风方向分离到的多数大肠杆菌(54.5%)与从舍内空气或粪便中分离的大肠杆菌相似性可达 100%。而从鸡舍上风向分离到的大肠杆菌与从舍内空气或粪便中分离的大肠杆菌相似性为 73%~92%。从而说明来自动物体的大肠杆菌既能污染舍内空气, 又能对其周围的环境构成污染。本研究揭示了微生物气溶胶的传播规律, 具有公共卫生及流行病学意义。

**关键词:** 鸡舍; 气载大肠杆菌的传播; ERIC-PCR; 同源性鉴定; 流行病学

中图分类号: S851.61<sup>+</sup>2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)05-0614-07

## The Homology Molecular Identification of Airborne *Escherichia coli* Isolated from Indoor and Outdoor Air of Chicken Houses

DUAN Hui-yong, CHAI Tong-jie\*

(College of Animal Science and Technology,  
Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

**Abstract:** In order to study the transmission of *E. coli* from chicken houses to their ambient air, the air samples, including indoor air, upwind air and downwind air of 5 chicken houses were collected using ANDERSEN-6 stages sampler and RCS. Chicken feces samples were collected according to the standard method. *E. coli* strains were isolated from these samples. The enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR method was applied to generate genomic amplification products of isolated *E. coli*. According to the concentration and genetic similarity of *E. coli* in every sampling site, the transmission of bioaerosol from animal houses to their ambient can be identified. The results showed that the culturable *E. coli* concentration in indoor air in 5 chicken houses were higher than that in upwind and downwind ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), but there were no significant differences in *E. coli* concentration among different downwind site ( $P > 0.05$ ). The fingerprints and the phylogenetic tree indicated that a part of the *E. coli* (34.1%) isolated from indoor air had the same ERIC-PCR fingerprints with those isolated from feces, the most of *E. coli* (54.5%) isolated from downwind 10 m, 50 m, 100 m even 200 m away from the houses had the same ERIC-PCR fingerprints with those isolated from indoor air or feces. But *E. coli* isolated from upwind air had the low similarity coefficients (73%—92%) with those isolated

收稿日期: 2007-07-16

基金项目: 国家自然科学基金(30571381)

作者简介: 段会勇(1975-), 男, 博士生, 主要从事环境病原微生物的研究, E-mail: huiyongduan@163.com

\* 通讯作者: 柴同杰, 教授, 博导

from indoor air or feces. So, it was concluded that the *E. coli* in chicken feces can be aerosolized and transmitted into the indoor and outdoor air, especially the downwind air. This study revealed the transmitting rule of airborne *E. coli* bioaerosol. Hygienic measures took in animal farms have the significance of public hygiene and epidemiology.

**Key words:** chicken house; transmission of airborne *E. coli*; ERIC-PCR; homological identification; epidemiology

微生物是动物舍环境污染的主要因素,动物舍的微生物污染可以引起一系列传染病的流行。动物舍空气中的细菌包括致病菌、条件性致病菌和非病原菌<sup>[1]</sup>,它们在一定程度上均可导致动物或饲养员的感染<sup>[2]</sup>。甚至极少量的致病菌就可直接导致呼吸道的感染,特别是下呼吸道的感染<sup>[2]</sup>。所以,动物舍空气中微生物气溶胶的污染,不仅能够影响人及动物的健康,而且使一些人兽共患疾病病原体在人和动物间传播。

研究表明,一些气载病原微生物能够通过空气传播很远,造成传染病的流行<sup>[3]</sup>。1981年口蹄疫病毒(FMDV)由法国布列塔尼以惊人的速度通过空气传到英格兰南部<sup>[4]</sup>;2002—2003年SARS的流行(Severe Acute Respiratory Syndrome)证明空气传播是其重要的传播方式<sup>[5-6]</sup>;更典型的是麻疹病毒通过空气的传播,引起了未接种疫苗地区人们麻疹病的大流行<sup>[7]</sup>。2001—2002年在美国由于气载炭疽引起人类死亡<sup>[8]</sup>;肺炎克雷波氏菌可以通过空气传播,并造成极高的发病率和死亡率<sup>[9]</sup>;铜绿假单胞菌也可

以通过空气传播<sup>[10]</sup>。大量的事实证明,微生物气溶胶的传播与感染是威胁畜禽和人类健康的一大杀手。

过去对畜禽养殖环境微生物气溶胶的传播主要是通过舍内外环境中的细菌浓度的变化<sup>[11]</sup>以及细菌耐药性及某些致病菌含量<sup>[12]</sup>等方面来确认的。不能证明舍内外环境分离的微生物气溶胶的起源及其同源性,没有畜禽舍微生物气溶胶向环境传播的证据。因此,笔者测量了5个鸡场舍内及舍外不同距离的大肠杆菌含量,在细菌学鉴定的基础上,采用ERIC-PCR方法鉴定不同地点分离大肠杆菌的同源性,获得大肠杆菌ERIC片段指纹图谱,通过该片段在细菌基因组内的数量和分布之间的关系,比较其遗传相似性,确定动物舍微生物气溶胶向环境中的传播。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物舍情况

本试验在5个鸡场内进行,各个鸡场的具体情况见表1。

表1 被研究的5个鸡场情况

Table 1 Description of chicken houses studied

鸡舍 Chicken houses	饲养数量 Number of chicken	饲养方式 Layout	舍内 Indoor			舍外 Outdoor		
			温度 T/°C	相对湿度 RH/%	风速 WS/(m/s)	温度 T/°C	相对湿度 RH/%	风速 WS/(m/s)
A	6 000	地面 Floor unit	26	40	0	21	50	1—3
B	2 200	笼养 Cage unit	26	34	0	29	50	1—3.1
C	3 000	笼养 Cage unit	31	44	0	35	36	1.5—3
D	3 500	笼养 Cage unit	31	60	0	32	75	0—1.5
E	4 500	笼养 Cage unit	30	70	0	31	65	0—2

T. Temperature; RH. Relative humidity; WS. Wind speed

### 1.2 鸡场内外环境空气样品的采集

舍内采用ANDERSEN-6级<sup>[13]</sup>空气微生物样品收集器,气流速度28.3 L/min,收集器设置于鸡舍中央,放置高度为1 m,根据不同卫生条件驱动时间在1~5 min;舍外(上风向10、50 m和下风向10、

50、100、200、400 m)同时采用两台RCS-离心式采样器(Reuter Centrifugal Sampler, Biotest, Frankfurt)采样,气流速度40 L/min,采集时间在0.5~8 min。采样时,均选用麦康凯3号(OXOID, CM0115)培养基为采样介质。在每个采样点重复

采样 5 次。

### 1.3 空气中大肠杆菌的分离、鉴定与浓度计算

采集的样本在 37℃ 培养 24 h 后,所有的阳性菌落进行“KOH 反应”鉴定。革兰氏阴性菌再在麦康凯培养基上进行一次纯分离培养,然后用 API 20 E (Bio Merieux, Marcy-I'Etoile, France) 鉴定,统计大肠杆菌的数量,并根据公式计算每立方米空气中大肠杆菌的含量(CFU/m<sup>3</sup>),最后将含 20% 甘油的肉汤培养物保存在 -20℃。

### 1.4 粪便中大肠杆菌的分离与鉴定

在每个鸡舍中随机采集 15 个样本。根据 Lim 等<sup>[14]</sup>介绍的方法,将粪便样本在实验室经过 10~10<sup>3</sup> 倍递增稀释后接种到伊红美蓝培养基(杭州天河),37℃ 培养 18~20 h,挑取黑色带金属闪光的菌落接种到麦康凯 3 号(OXOID)培养基 37℃ 培养 18~20 h,每个平板挑取 1~2 个典型红色菌落,并根据 1.3 方法鉴定保存。

### 1.5 模板的制备

将大肠杆菌接种到 5 mL Luria-Bertani 培养基中振荡培养 18 h。然后取出培养液 1.5 mL 10 000 ×g 离心 2 min,弃掉上层液体,用 100 μL TE 缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA, pH 8.0)悬浮沉淀,在 100℃ 条件下煮沸 10 min,再迅速冰浴 5 min,最后 12 000 ×g 离心 2 min,取出上清液作为模板 -20℃ 保存备用。

### 1.6 ERIC-PCR 反应

引物 ERIC1 (3'-CACTTAGGGGTCCTCGA-ATGTA-5') 和 ERIC2 (5'-AAGTAAGTGACT-GGGGTGAGCG-3') 均由大连宝生物公司合成。ERIC-PCR 反应体系: 1 × buffer, 200 μmol/L dNTPs, 1.5 U *Taq* DNA 聚合酶, 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub> (TaKaRa), 引物 ERIC1 和 ERIC2 各 50 pmol, 3 μL 模板 DNA, 最后用灭菌双蒸水补充至 50 μL。反应参数: 95℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 51℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 共 32 个循环; 最后 72℃ 延伸 16 min 结束反应。PCR 产物经 1.2%~1.5% 的琼脂糖凝胶电泳分离(1 × TAE 为电泳缓冲液, EB 染色, 3 V/cm 条件下电泳 1.5~2 h), 以 DL2000 Maker (TaKaRa) 作为分子量标准, 电泳结果在紫外分析仪 (Tanon-2500, Shanghai, China) 上照相。

### 1.7 ERIC-PCR 反应结果分析

记录经过扩增及电泳、染色过程得到的谱带。

每个样品的扩增带存在时赋值为“1”, 不存在时赋值为“0”, 用电泳图像分析软件 (Gel Image System, Version 4.00) 自动生成矩阵图。采用非加权对数算术平均法 (Unweighted pair group method using averages algorithm, UPGMA), 利用 NTSYS-pc 2.10<sup>[15]</sup> 软件构建聚类树状图。

## 2 结果

### 2.1 舍内外不同采样点空气中大肠杆菌含量

5 个鸡场舍内 ANDERSEN-6 采样器测得的大肠杆菌含量(中间值)分别为 37、13、14、63、9 CFU/m<sup>3</sup>。舍外大肠杆菌含量如下: 上风向 10 m 和上风向 50 m 仅在 2 个鸡场分离到大肠杆菌, 含量分别为鸡舍 A 的 2、1 CFU/m<sup>3</sup> 和鸡舍 D 的 7、2 CFU/m<sup>3</sup>; 5 个鸡舍下风向 10 m 处大肠杆菌含量分别为 12、8、3、24 和 5 CFU/m<sup>3</sup>, 下风向 50 m 处大肠杆菌含量分别为 6、2、0、16、0 CFU/m<sup>3</sup>; 下风向 100 和 200 m 处也仅在 2 个鸡场分离到大肠杆菌, 鸡舍 A 含量分别为 3、1 CFU/m<sup>3</sup>, 鸡舍 D 为 2、2 CFU/m<sup>3</sup>; 下风向 400 m 处都没有分离到大肠杆菌。而且, 同一鸡场舍内与舍外不同距离处(上风向 10、50 m 和下风向 10、50、100、200 m) 得到的大肠杆菌含量差异显著 ( $P < 0.05$ ), 但是舍外下风向不同距离间(10~200 m) 的大肠杆菌含量差异并不显著 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。

### 2.2 ERIC-PCR 结果

用 ERIC-PCR 方法对鸡粪便中、舍内空气和舍外空气中分离到的大肠杆菌进行扩增, 得到了每一个鸡场舍内外不同环境中大肠杆菌的遗传进化树(图 1)。具有相同进化关系的大肠杆菌具有相同的 ERIC-PCR 指纹图谱。同时, 为了减少误差, 把同一个鸡场粪便、舍内空气和舍外空气中分离到的大肠杆菌在同一个反应条件下一次完成, 而且电泳时也是在同一块凝胶中一次完成电泳。

结果显示: 在鸡舍 A (图 1A) 粪便中分离的 1 株大肠杆菌 (Feces-6) 与舍内 2 株气载大肠杆菌 (Indoor-6 和 Indoor-7) 和下风向 10 m 处分离的 1 株气载大肠杆菌 (Downwind10m-1) 具有相同 ERIC-PCR 指纹图谱, 即遗传相似性为 100%; 舍内 2 株气载大肠杆菌 (Indoor-1 和 Indoor-2) 与下风向处分离的 3 株气载大肠杆菌 (Downwind10m-3、Downwind50m 和 Downwind200m-1), 以及粪便中 1 株大肠杆菌 (Feces-9) 与下风 100 m 处分离的 1 株气载

表 2 5 个鸡场环境中气载大肠杆菌的含量(n=5)

Table 2 The concentration of airborne *Escherichia coli* in five chicken houses(n=5)CFU/m<sup>3</sup>

鸡舍	上风向 50 m	上风向 10 m	舍内	下风向 10 m	下风向 50 m	下风向 100 m	下风向 200 m	下风向 400 m	
Chicken houses	UW 50 m	UW 10 m	Indoor	DW 10 m	DW 50 m	DW 100 m	DW 200 m	DW 400 m	
A	最大值 Max	7	11	134	49	24	11	3	0
	最小值 Min	0	0	7	0	0	0	0	0
	中间值 Median	1	2	37	12	6	3	1	0
B	最大值 Max	0	0	59	35	12	0	0	0
	最小值 Min	0	0	3	0	0	0	0	0
	中间值 Median	0	0	13	8	2	0	0	0
C	最大值 Max	0	0	71	12	0	0	0	0
	最小值 Min	0	0	0	0	0	0	0	0
	中间值 Median	0	0	14	3	0	0	0	0
D	最大值 Max	10	27	236	80	40	10	10	0
	最小值 Min	0	0	11	0	0	0	0	0
	中间值 Median	2	7	63	24	16	2	2	0
E	最大值 Max	0	0	35	18	0	0	0	0
	最小值 Min	0	0	0	0	0	0	0	0
	中间值 Median	0	0	9	5	0	0	0	0

UW. Upwind; DW. Downwind

大肠杆菌(Downwind 100m)相似性都为 100%。它们可能来自于粪便,由粪便中的大肠杆菌繁殖而来;而粪便中 1 株大肠杆菌(Feces-3)与上风向 10 m 处分离的 1 株气载大肠杆菌(Upwind10m)相似性仅为 77%,与上风向 50 m 处分离的 2 株气载大肠杆菌(Upwind50m-1 和 Upwind50m-2)相似性仅为 73%,从而说明从上风向分离的这 3 株细菌都不是来自于粪便;上风向 50 m 处分离的 2 株气载大肠杆菌(Upwind50m-1 和 Upwind50m-2)与下风向 100 m 处分离的 1 株气载大肠杆菌(Downwind100m-2)相似性为 91%。

同样,在鸡舍 B 内(图 1B)粪便中分离的 2 株大肠杆菌(Feces-2 和 Feces-3)与舍内空气中分离的 2 株气载大肠杆菌(Indoor-1 和 Indoor-3)及下风向 50 m 处分离的 1 株气载大肠杆菌(Downwind50m)相似性为 100%;粪便中分离的 2 株大肠杆菌(Feces-10 和 Feces-11)与舍内空气中分离的 1 株气载大肠杆菌(Indoor-5)以及下风向 10 m 处分离的 2 株气载大肠杆菌(Downwind10m-2 和 Downwind10m-3)相似性为 100%;而下风向 10 m 处分离的 1 株气载大肠杆菌(Downwind10m-1)与粪便中分离的多株大肠杆菌(Feces-2、Feces-3 等)及舍内空气中的气载大肠杆菌(Indoor-1、Indoor-3 等)相似性仅为 83%(图 1B),可见下风向分离到的这株大肠杆菌既不是来自于粪便,也不是来自于舍内空气。

在鸡舍 C(图 1C)内粪便中分离的 1 株大肠杆

菌(Feces-2)与舍内空气中分离的 1 株气载大肠杆菌(Indoor-2),粪便中分离的 1 株大肠杆菌(Feces-3)与舍内空气中分离的 1 株气载大肠杆菌(Indoor-4)及下风向 10 m 处分离的 1 株气载大肠杆菌(Downwind10m-1),粪便中分离的 3 株大肠杆菌(Feces-4、Feces-6 和 Feces-7)与舍内空气中分离的 1 株气载大肠杆菌(Indoor-1)相似性均为 100%(图 1C);而下风向 10 m 处分离的 1 株气载大肠杆菌(Downwind10m-2)与粪便中分离的大肠杆菌(Feces-3 等)及舍内空气中分离的大肠杆菌(Indoor-1 等)相似性仅为 80%。

在鸡舍 D 内(图 1D)粪便中分离的 1 株大肠杆菌(Feces-8)与下风向 100 m 处分离的 1 株气载大肠杆菌(Downwind100m-2),粪便中分离的 1 株大肠杆菌(Feces-10)与舍内空气中分离的 1 株气载大肠杆菌(Indoor-11),粪便中分离的 2 株大肠杆菌(Feces-11 和 Feces-12)与舍内空气中分离的 1 株气载大肠杆菌(Indoor-4),舍内空气中分离的 2 株气载大肠杆菌(Indoor-1 和 Indoor-5)与下风向 10 m 处分离的 1 株气载大肠杆菌(Downwind10m-2)相似性都为 100%;而 Feces-9 与 Upwind50m-2 相似性为 92%;粪便中分离的 3 株大肠杆菌(Feces-10、Feces-11 和 Feces-12)与 Upwind50m-1 相似性仅为 80%。

在鸡舍 E 内(图 1E)粪便中分离的 3 株大肠杆菌(Feces-2、Feces-4 和 Feces-8)与舍内空气中分离的 1 株气载大肠杆菌(Indoor-4),粪便中分离的 1

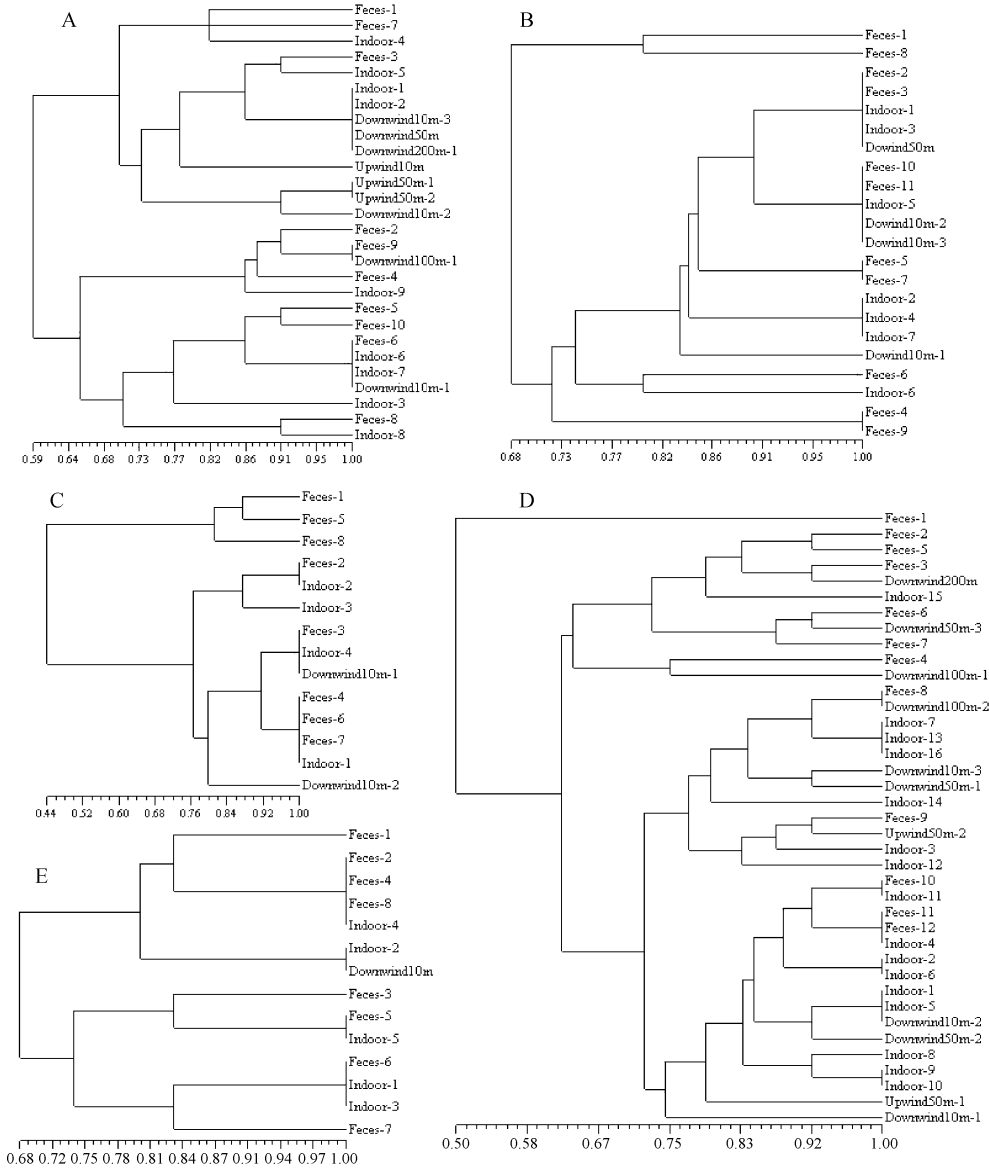


图 1 基于 ERIC-PCR 的大肠杆菌起源关系 (A、B、C、D、E 5 个鸡舍) 聚类分析

Fig. 1 Dendrogram of *Escherichia coli* strains in 5 chicken houses

(A, B, C, D, E) based on ERIC-PCR method

株大肠杆菌 (Feces-5) 与舍内空气中分离的 1 株气载大肠杆菌 (Indoor-5), 粪便中分离的 1 株大肠杆菌 (Feces-6) 与舍内空气中分离的 2 株气载大肠杆菌 (Indoor-1, Indoor-3) 相似性都为 100%。本鸡场在上风向各处以及下风向 50 m 处, 甚至更远的地方都没有分离到大肠杆菌。

### 3 讨论

大肠埃希菌 (*E. coli*) 是人和动物肠道中的一种共栖菌<sup>[16]</sup>, 在特定条件下可致大肠杆菌病, 作为共生或腐生菌在肠道中含量达到  $10^4 \sim 10^8$  CFU/g,

可以随粪便排出。因此, 大肠杆菌在人和温血动物生活环境中到处存在, 可作为环境、水、食品等粪便污染的指示细菌<sup>[17-19]</sup>。Hojovec 等<sup>[20]</sup> 曾将大肠杆菌作为评估畜禽舍空气的指示细菌。多数致病性大肠杆菌都能够通过消化道、接触感染, 也能够通过气源性呼吸道感染<sup>[21]</sup>。大肠杆菌有多种血清型, 有些是致病菌。不同血清型的大肠杆菌其感染途径和毒素产生机制不同。少数大肠杆菌与动物和人的大肠杆菌病密切相关。在禽类, 大肠杆菌能导致禽的多种疾病, 如败血症、肿头综合征、脐带炎、卵黄性腹膜炎和慢性呼吸道病等, 给养禽业造成巨大的经济损

失。对人类而言,少数大肠杆菌可以导致人类的多种疾病,如:溶血性尿毒症(HUS)、血小板减少性紫癜(TTP)、溶血性肠炎(HC)、新生儿脑膜炎以及血痢等<sup>[22]</sup>。因此,在本试验中,以大肠杆菌作为指示菌来研究动物舍中微生物向周围环境的传播,具有兽医公共卫生学意义。

通过比较舍内外的气载大肠杆菌含量可以发现(表2),鸡场舍内空气中大肠杆菌的浓度高于舍外下风向不同距离处空气中大肠杆菌的浓度( $P < 0.05$ ),该结果说明,鸡舍中鸡的粪便等排泄物不断形成微生物气溶胶,舍内微生物气溶胶含量较高,随着舍内外气体的交换不断传播到舍外。舍外上风向仅在鸡舍A和D分离到气载大肠杆菌,并且含量较低,在其它3个鸡舍上风向处都没有分离到,而且在下风向5个鸡场都可以分离到气载大肠杆菌。可见,上风向大肠杆菌的含量不足以影响下风向气载大肠杆菌的含量,下风向气载大肠杆菌主要由鸡场舍内传播而来。而舍外下风向不同距离处(10~200 m)大肠杆菌的浓度差异不显著( $P > 0.05$ ),意味着舍内大肠杆菌气溶胶向舍外传播距离较大,影响范围较广(>200 m)。由此可见,舍内大肠杆菌在舍内外气体交换的过程中对其周围的环境会产生影响。本试验仅在2个鸡舍(A和D)的上风向分离到气载大肠杆菌,在鸡舍下风向400 m处都没有分离到大肠杆菌,这可能是此处大肠杆菌含量较低,或者是紫外线、氧气含量、各种污染物以及温度和相对湿度等多种因素影响了微生物在空气中的存活<sup>[23]</sup>,此外,较长时间的采样、应激等因素对细菌的伤害也能导致细菌死亡<sup>[24]</sup>。

细菌的传统分类方法难以区分同一种类中极为相近的菌株。近十年来,在肠道细菌中发现的大肠杆菌基因间的重复共有序列(Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus,ERIC序列)是一段126 bp的反向重复序列,定位于基因组内可转录的非编码区域或与转录有关的区域<sup>[25]</sup>。ERIC序列散布在整个基因组中,具有极强的保守性,用ERIC-PCR得到的DNA条带特征能反映出细菌整个基因组结构的差异,能清晰地区别包含有ERIC序列的不同细菌种和不同菌株,因此对于菌种乃至菌株具有很强的鉴别能力<sup>[26]</sup>。deBruijn<sup>[27]</sup>用ERIC特异的引物以*R. meliloti*(草木樨根瘤菌)的染色体DNA为模板进行PCR扩增,发现供试的30多个菌株的产物在琼脂糖凝胶电泳分离时能各自显示独特的条带特征,从而有效区分不同

的菌株。Judd等<sup>[28]</sup>用ERIC-PCR对慢生型大豆根瘤菌血清簇123个菌株进行的系统发育分析与限制性片段长度多态性(RFLPs)分析的结果一致。可见,ERIC-PCR作为一种有效的分子分型技术,可以用于分子流行病学调查。

本研究通过ERIC-PCR方法发现各鸡舍内从鸡粪样中分离的大肠杆菌与在舍内空气中分离到的14株大肠杆菌相似性分别达100%,提示舍内空气中分离到的这些大肠杆菌来自粪便中基因型完全相同的菌株;同样,从鸡场舍外下风向分离到大肠杆菌有12株与舍内空气或粪便中的大肠杆菌相似性也为100%,而从2个(A和D)鸡舍上风向分离到的大肠杆菌与舍内空气、粪便中的大肠杆菌相似性较小,仅为73%~92%。可见,在所测量的5个鸡舍内,鸡粪便中的大肠杆菌可以经过复杂的物理化学过程形成气溶胶,进入气悬状态,对鸡舍的鸡群和饲养人员形成感染威胁。而且,这些气载菌能够随着舍内外气体的交换而传播到鸡场周围环境中,传播到下风向一定的距离,对牧场周边环境造成污染,对邻近人员和动物的健康构成潜在威胁,其危害程度及机制有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] DOWES J, THORNE P, PEARCE N, et al. Bio-aerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects [J]. *Ann Occup Hyg*, 2003, 47(3): 187-200.
- [2] FIEGEL J, CLARKE R, EDWARDS D A. Airborne infectious disease and the suppression of pulmonary bioaerosols [J]. *Drug Discovery Today*, 2006, 11(1/2): 51-57.
- [3] MIMS S A, MIMS III F M. Fungal spores are transported long distances in smoke from biomass fires [J]. *Atmospheric Environment*, 2004, 38: 651-655.
- [4] DONALDSON A I, GLOSTER J, HARVEY L D, et al. Use of prediction models to forecast and analyse airborne spread during the foot-and-mouth disease outbreaks in Brittany, Jersey and the Isle of Wight in 1981 [J]. *Veterinary Record*, 1982, 110:53-57.
- [5] EUBANK S, GUCLU H, KUMAR, et al. Modeling disease outbreaks in realistic urban social networks [J]. *Nature*, 2004, 429:180.
- [6] WEISS R A, MCMICHAEL A J. Social and environmental risk factors in the emergence of infectious diseases [J]. *Nat Med*, 2004,10(12):S70-S76.

- [7] RILEY E C, MURPHY G, RILEY R L. Airborne spread of measles in a suburban elementary school [J]. *Am J Epidemiol*, 1978, 107:421-432.
- [8] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Follow-up of deaths among U. S. Postal Service workers potentially exposed to *Bacillus anthracis* District of Columbia, 2001-2002 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2003, 52:937-938.
- [9] CHANDRASHEKAR M R, RATHISH K C, NAGESHA C N. Reservoirs of nosocomial pathogens in neonatal intensive care unit [J]. *J Indian Med Assoc*, 1997, 95: 72-74, 77.
- [10] JONES A M, GOVAN J R W, DOHERTY C J, et al. Identification of airborne dissemination of epidemic multiresistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* at a CF centre during a cross infection outbreak [J]. *Thorax*, 2003, 58: 525-527.
- [11] 柴同杰, 柴家前, MUELLER W. 牛舍空气微生物及向环境传播的研究[J]. *中国预防兽医学报*, 1999, 21(4):311-313.
- [12] 柴同杰, 赵云玲, 刘文波, 等. 鸡舍环境耐药细菌气溶胶及其向环境传播的研究[J]. *中国预防兽医学报*, 2003, 25(3): 209-214.
- [13] ANDERSEN A. New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles [J]. *J Bacteriol*, 1958, 76: 471-484.
- [14] LIM S K, LEE H S, NAM H M, et al. Antimicrobial resistance observed in *Escherichia coli* strains isolated from fecal samples of cattle and pigs in Korea during 2003-2004 [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 116:283-286.
- [15] ROHLF F J. NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multi-variate analysis system[CP]. Version 2. 10. Exeter Software, 2000, Setauket, New York.
- [16] DOMIG K J, MAYER H K, KNEIFEL W. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus spp* 1. Media for isolation and enumeration [J]. *Int J Food Microbiol*, 2003, 88:147-164.
- [17] SOMARELLI J A, MAKAREWICZ J C, SIA R, et al. Wildlife identified as major source of *Escherichia coli* in agriculturally dominated watersheds by BOX A1R-derived genetic fingerprints [J]. *Journal of Environmental Management*, 2007, 82:60-65.
- [18] JACKSON V, BLAIR I S, MCDOWELL D A, et al. The incidence of significant foodborne pathogens in domestic refrigerators[J]. *Food Control*, 2007, 18: 346-351.
- [19] BEUTIN L, STEINR CK H, KRAUSE G, et al. Comparative evaluation of the ridascreen verotoxin enzyme immunoassay for detection of Shiga-toxin producing strains of *Escherichia coli* (STEC) from food and other sources [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 102:630-639.
- [20] HOJOVEC J, FISER A, KUBICEK K Z. Die Rolle von indikator keimen fuer die Beurteilung der Stallluft [J]. *Mh Vet Med*, 1977, 32:766-769.
- [21] MUELLER W V, DOSSOW A, DINTER P S. Die Tenazitaet von Bakterien im luftgetragenen Zustand. V. Mitt. : Vergleich zwischen kaelber und ferkelpathogenen *E. coli* Staemmen; Tieraerztl [J]. *Umschau*, 1988, 4:258-262.
- [22] VIDOTTO M C, QUEIROZ M B, DE LIMA N C S, et al. Prevalence of *ibeA* gene in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) [J]. *Veterinary Microbiology*, 2007, 119:88-89.
- [23] HERMANN J R, HOFF S J, YOON K J, et al. Effect of temperature and relative humidity on the stability of infectious porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols [J]. *Vet Res*, 2007, 38:81-93.
- [24] MARTHI B, FIELAND V P, WALTER M, et al. Survival of bacteria during aerosolization [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56:3 463-3 467.
- [25] VERSALOVIC J, KOEUTH T, LUPSKI J R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 1991, 19:6 823-6 831.
- [26] JURKOVI C D, KRIŽKOVÁ L, SOJKA M, et al. Genetic diversity of *Enterococcus faecium* isolated from Bryndza cheese [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 116:82-87.
- [27] deBRUIJN F J. Use of repetitive (repetitive extragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergeneric consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1992, 58(7):2 180-2 187.
- [28] JUDD A K, SCHNEIDER M, SADOWSKY M J, et al. Use of repetitive sequences and the polymerase chain reaction technique to classify Genetically related *Bradyrhizobium japonicum* serocluster 123 strains [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59(6):1 702-1 708.