

猪链球菌病的研究进展

曾智勇¹ 郭万柱¹ 陈俊²

(1.四川农业大学动物生物技术中心,四川雅安 625014 2.四川省南充市畜牧局,四川南充 620000)

中图分类号 S858.285.11 文献标识码 A 文章编号 :1001-8964 (2005)12-0032-02

摘要 猪链球菌 2 型是许多国家导致猪链球菌病的主要病原,自 1998 年以来,已成为引起我国人畜共患传染病的一种新病原。它不仅可引起人和猪的败血症、脑膜脑炎、多发性关节炎,还可引起人的链球菌感染中毒休克综合征 (STSS) 和知觉性耳聋等病症。本文从病原、毒力因子、流行特点、诊断等方面进行了详细综述,强调了针对性用药及防止抗生素滥用的意义。

关键词 猪链球菌;毒力因子;人-猪重症链球菌病

1 病原

1.1 病原分类学 猪链球菌为革兰氏阳性菌,呈圆形或椭圆形,常排列成链状,长短不一。细胞壁内含有的多种多糖成分具有群特异性,为群特异性抗原,简称 C 抗原。根据 C 抗原的不同,用兰氏(Lancefield)血清学分类,可将链球菌分成 A、B、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、O、P、Q、R、S、T、U、V 等 20 个血清型。我国猪链球菌病原主要有 C、D、E、L、R、S 等群。陈永林等(1993)对国内 126 株致病性猪链球菌进行了分群鉴定,其中 C 群兽疫链球菌约占 72.22%,D 群占 7.14%,S 和 R 群只占 4.76%,E、H、T 仅各占 0.79%,尚未鉴定出 L 群。姜天童等(1999)应用间接血凝(IHA)实验和环状沉淀实验对分离自湖北、湖南、河南、江西和辽宁等省送检病料的猪源致病性链球菌共 63 株进行了血清学分群鉴定,结果分别为 C 群占 63.49% (40 株),D 群占 12.7% (8 株),E 群占 17.46% (11 株),R 群占 6.35% (4 株)。

1.2 病原特性 致病性猪链球菌对培养条件要求严格,营养要求较高。在培养基中加入血清、血液、腹水、葡萄糖等才能良好生长,最适温度为 37℃,最适 pH 值为 7.4-7.6。在血清琼脂平板中 37℃ 培养 24 h 后,形成灰白色、圆形、透明、闪光、中央隆起、表面光滑的露珠状小

菌落。明胶内穿刺沿穿刺线形成一串细小株状生长物,表面极少或无生长物,大多无液化迹象。在血清马丁肉汤中先均匀浑浊,后在试管底部形成沉淀,上部澄清,不形成菌膜。菌体呈圆形,多呈双球形或短链状,液体培养物中链较长,一般由 8-15 个球菌排成链状,无鞭毛,无芽孢,不运动,无荚膜,无黏液层,无两极着色现象。本菌为需氧或兼性厌氧菌,少数为专性厌氧菌。可发酵麦芽糖、蔗糖、葡萄糖、果糖及棉籽糖,不发酵鼠李糖、乳糖、山梨糖、甘露糖和 D-木糖。

2 病原毒力因子

对猪链球菌毒力因子的研究,主要是以 2 型猪链球菌为材料进行的。这主要是因为猪链球菌 2 型致病力最强,且广泛存在于正常猪的呼吸道中,活体扁桃体棉拭子的检出率一般在 50% 以上,屠宰猪扁桃体中 2 型链球菌的检出率高达 100%。猪链球菌的致病因子较为复杂,目前已知的毒力因子主要有溶菌酶释放因子 (MRP)、细胞外蛋白因子 (EF)、溶血素、荚膜多糖以及 44KDa 蛋白、IgG 结合蛋白、纤毛黏着素等。

2.1 荚膜多糖 Windsor(1977)依据传统观念提出决定猪链球菌 2 型侵袭力的是细菌荚膜多糖,它能保护此菌在非免疫动物中不被吞噬。在猪体内,荚膜多糖能刺激产生具有调理作用的抗体,用弗氏不完全佐剂可提高其免疫原性。

2.2 溶菌酶释放蛋白(MRP)和细胞外因子(EF) Vecht 等(1991)在比较不同菌株

的蛋白图谱时发现,从病猪体内分离的菌株含有两种大分子蛋白质,一种为 136KDa 的 MRP,存在于原生质体上清液和培养物上清液;另一种为 110KDa 的 EF,只存在于培养物上清液。人工感染实验表明,表现型为 MRP+EF+ 的菌株可以引起典型的脑炎、多发性浆膜炎及多发性关节炎,而 MRP-EF- 菌株对猪没有致病力,因此认为 MRP 和 EF 是猪链球菌的两种重要的毒力因子,并可作为判定菌株毒力的指标。虽然 MRP 和 EF 蛋白与毒力之间有着极密切的关系,但 Smith 等(1996)认为这两种蛋白对 2 型菌株的致病性并非必不可少。此外,从加拿大病猪分离到的大多数菌株并不表达 MRP 和 EF。可见除 MRP 和 EF 外,还有其他毒力因子存在。

2.3 蛋白质片段 由猪链球菌 2 型的不同片段蛋白质(44KD、54KD、78KD、86KD、94KD)所制的血清进行鼠的保护力试验。在杀细胞试验中,抗 86KD、94KD 蛋白质的血清是阳性,抗 94KD 蛋白质的血清能使鼠抵抗活菌攻击,抗 78KD 蛋白质的血清对鼠有保护力,但能抑制抗 94KD 蛋白质血清的保护作用。因而认为 94KD 的蛋白质可作为亚单位苗。然而, Gottschalk 等(1992)的研究结果却与此不同,免疫斑点试验证明 44KD 的蛋白质有很强的免疫原性,认为 44KD 蛋白质可能是猪链球菌 2 型的致病因子。

2.4 溶血素 溶血素在多种细菌中被证实是主要的毒力因子。猪链球菌溶血素又称猪溶素,其 N 端氨基酸序列与链球菌溶血素 O、李氏杆菌溶血素 O 等有较高的同源性。从病猪分离的菌株大多都显示溶血活性,可能在猪链球菌侵入和裂解细胞的过程中发挥着重要作用。用纯化的猪溶血素制备的疫苗免疫小鼠,可以完全抵抗 2 型强毒株的攻击,说

收稿日期 2005-09-22

作者简介:曾智勇(1978-),男,四川威远人,在读博士,主要从事动物传染病及病原分子生物学研究。

明猪溶血素是一种保护性抗原,亦是一种重要的致病因子。

3 流行特点及危害

该病一年四季都可发生,各年龄段的猪均易感,现代集约化密集型养猪更易流行,常呈地方性流行。新疫区多呈暴发性,流行迅猛,疫情严重。有报道称该病主要发生于每年9~12月份,即秋末冬初季节,其它季节很少发病。本病多经呼吸道和消化道感染,病猪和病愈带菌猪是本病自然流行的主要传染源。通常人感染猪链球菌是因为人与病、死猪有接触史,至今尚未发现人感染猪链球菌后再传染给他人的病例。

以前该病多以化脓性淋巴结炎,良性经过为主。但近几年,根据猪链球菌病的临床症状和病情轻重缓急不同,在兽医临床上该病主要分为以下3种类型:败血症型,主要表现败血症症状;关节炎型,主要表现腕、跗关节肿大及跛行;脑膜炎型,主要表现神经症状。在这3种类型中,以败血症型为多发,败血症型和脑膜炎型链球菌病主要发生于60~140日龄的仔猪和架子猪,成猪及6月龄以上种猪很少发生;关节炎型链球菌病可发生于任何日龄的猪,这与该类型系慢性经过有关。

4 临床症状

4.1 败血症型 该型主要表现为全身败血症。体温升高(41.5~42℃以上),呈稽留热,精神萎靡,呼吸困难,心跳加快。病猪耳、胸部、腹部出现红斑或紫斑,这一症状多见于病的后期。粪便干燥,有的呈算盘珠状,粪表面有血液或黏液。部分病猪还表现为一肢或两肢疼痛,常出现明显的跛行。该型病程短,多为2~4d。如治疗不妥,死亡率极高,可达95%以上。

4.2 脑膜脑炎型 初期体温升高,食欲废绝,粪便干燥,表现浆液性或黏液性鼻液。继而出现神经症状,表现为运动失调、转圈、空嚼、磨牙、仰卧。后期出现后躯麻痹,四肢呈游泳状态。病程短,死亡率高。

4.3 关节炎型 该型主要表现是前肢腕关节和后肢跗关节出现不同程度的肿胀,并有痛感,故病猪常出现明显的跛行。该型多表现慢性经过,所以不同年龄的猪均能发病。

4.4 化脓性淋巴结炎型 多发生于中猪,常见于颌下淋巴结,其次是咽部、耳下及颈部淋巴结,表现为受害淋巴结的

化脓性淋巴结炎,病程长,呈良性经过。

5 病理变化

5.1 败血症型 尸僵不全,包皮内多数积尿,挤出黄红色尿液,有的混浊。剖解后可见血凝不良,在皮下结缔组织可见出血点,喉头潮红,会咽软骨充血,气管内充满气泡,气管黏膜色红,并充满大量带血的淡红色泡沫。鼻腔黏膜出血性炎症,颌下淋巴结肿胀出血。肺门淋巴结肿大出血,肺严重出血性水肿。脾脏比正常大2~4倍,柔软质脆,乌黑色,有大小不同、数量不一的出血斑和出血点,边缘可见不同大小和数量的梗死灶。心包液增多,色淡黄、混浊,心外膜粗糙,多数病变不明显,有时可见出血点;心内膜上可见成条的紫色出血条和出血点。肝急性肿大,表面粗糙,有白色小点坏死灶,质脆,肝门淋巴结肿大,胆囊充满胆汁,囊壁粗糙呈胶冻样水肿。胃底黏膜脱落,并伴有出血,幽门往往有条状出血。十二指肠有轻度炎症,肠系膜淋巴结高度出血性肿胀成囊状。肾乳头扩大,皮质部变薄、色淡,肾盂扩大,色紫而突起。膀胱积尿,尿液混浊,膀胱黏膜充血。脑外膜血管树枝状充血,也有渗出性出血的病例。

5.2 关节炎型 膝关节和腕、跗、肘关节高度肿大,关节囊组织变性增生,囊内充血,滑液混浊,重症者关节化脓。

5.3 脑膜脑炎型 脑膜充血、出血,脑脊髓液增多及脑实质化脓性炎症。

6 诊断

本病的症状和病理变化比较复杂,易与多种疾病混淆,必须进行实验室检查才能确诊。

6.1 细菌学检查 根据不同病型,无菌采集不同部位的病料,制成涂片后用美蓝染色或革兰氏染色,镜检如见有多数散在的或成双排列的短链圆形或椭圆形球菌,无芽孢,有时可见带荚膜的革兰氏球菌,则可作初步诊断。细菌分离培养时,可将上述疑似病料在无菌条件下接种于鲜血琼脂平板(或马丁肉汤),于37℃培养24~48h,挑取可疑菌落涂片,染色后镜检。初步诊断后继续作相关生化培养鉴定以确诊。

6.2 动物接种 将病料制成5~10倍乳剂,给家兔腹腔或皮下注射1~2mL,或给小白鼠皮下注射0.2~0.5mL。接种动物于12~24h死亡,死后剖检取心血、肝、脾等涂片镜检或作进一步分离培养,当镜检见到大量链球菌,从培养物

中又可分离到纯的致病性链球菌时,即可确定为链球菌感染。

6.3 血清学诊断 ELISA法:陈兴扶等(1999)以2.5% NaCl浸提猪链球菌荚膜多糖抗原,选用2%明胶作封闭液,4% PEG-PBS为血清稀释液,用ELISA检测猪链球菌血清抗体。此法特异性强、操作简便迅速。

PCR法:Wisselink等在成功建立了从扁桃腺样品中检测并鉴别猪链球菌2型(MRP+EF+)强毒菌株及1型MRP(s)EF+超强毒菌株的强特异性、高灵敏度的PCR方法后,又针对荚膜生物合成基因(CPS)的DNA序列,设计了3对特异性引物,即引物CPS2J、CPSI、CPS9H,再次建立了血清型特异性多重PCR鉴定方法。该方法中,CPS2J引物可以检测出2型和1/2型,CPSI引物可以检测出1型和14型,CPS9H引物可以检测出9型。

此外,倪宏波等(2002)利用随机扩增多态性DNA(RAPD)分型技术,从分子水平上确立了该病的流行病学调查方法,同时也为该病的防制提供了理论依据。

7 防制

对本病的防制应坚持以预防为主的原则。对60日龄以上的猪,每年春秋两季用猪链球菌氢氧化铝疫苗进行预防接种。同时,加强饲养管理,注意平时的卫生消毒工作,对病死猪尸体及其排泄物等作无害化处理;发病后立即将病猪隔离,严格消毒,可疑病猪立即隔离治疗;病猪康复后2周方可宰杀,急宰猪或宰后发现的可疑病变猪,应作高温无害化处理。人在接触疑似或病、死猪时,应注意自身防护,之后应注意消毒和加强自身预防。

由于链球菌广泛存在于自然界,也存在于猪的鼻腔和气管分泌物中,一般情况下不会引起猪只发病,但当猪只受外界影响免疫力下降时,则可能繁殖引起疫病。发病后,如果治疗时用药不足,或病情稍有好转即中途停药,可使本病复发,再用同一药物治疗往往效果不佳。因此,应坚持大剂量连续3~5d投药的用药原则,同时有条件的猪场还应首先对分离到的致病菌进行药物敏感性试验,选用高度敏感的药物进行治疗。避免滥用抗生素,否则将导致病原菌耐药性的增加,给疫病防治带来困难,特别是在人猪共患的疫情中,耐药性将给人的生命健康带来极大的威胁。■

参考文献(从略)