

鸡源金黄色葡萄球菌噬菌体分型的研究

宋清明 甘孟侯

(北京农业大学兽医学院)

摘 要

本试验应用噬菌体分型的方法,对主要来源于我国京津地区葡萄球菌病鸡的207株金黄色葡萄球菌进行了分型。

应用国际金黄色葡萄球菌噬菌体分型系统分型的结果为:常规检验稀释度(R.T.D.)时分型率71.12%,其中属噬菌体第I裂解群的最多,II群次之,混和群和IV群(又不定群)再次之,属III群者最少(分别占可分型总株数的48.98%,18.24%,14.12%,12.84%和5.41%)。在可分型菌株中,不同分离部位(主要为皮肤病灶、内脏和眼)的菌株均以属噬菌体裂解群I群的居多;来自不同日龄(主要为雏鸡、育成鸡和成鸡)的菌株也以属噬菌体裂解群I群者居多。同时发现,鸡源金黄色葡萄球菌菌株中仅能被52A型噬菌体强烈裂解的占可分型总数的44.22%。

试验说明,自我国京津地区分离的鸡源金黄色葡萄球菌菌株与人源株有一定差异,但具有较好的同源性,文中讨论了两者的交叉感染的可能性。

关键词 鸡,金黄色葡萄球菌,噬菌体分型

前 言

1892年, Lucet证明葡萄球菌是一种鹅关节炎的病原之后,世界许多国家均有禽类葡萄球菌感染的报道。Volkman(1929)从患脐炎的小鸡和小火鸡、Hale等(1931)从患关节炎的野鸡、Povar等(1947)从患心内膜炎的病鸡、Carnaghan(1966)从患脊椎炎的病鸡中均分离到葡萄球菌。禽类葡萄球菌病为世界性分布。

1981年,国内报道了鸡葡萄球菌病(林维庆等)^[1]之后,甘孟侯等在该病病原、临床症状、病理变化、诊断与防治等方面进行了深入研究^[2、3]。

业已证明,除少数例外,鸡葡萄球菌病皆由金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)引起^[4]。近年来已经发现,来源于鸡的金黄色葡萄球菌与来源于人和其他动物的金黄色葡萄球菌有所不同。为了预防、控制和治疗鸡葡萄球菌病,研究鸡金黄色葡萄球菌的分型很有必要。

目前,鸡金黄色葡萄球菌分型方法主要有:血清学分型法、噬菌体分型法和生物学分型法。据此,可将感染鸡的金黄色葡萄球菌分为不同的血清型(serotype)、噬菌体型(phage type,或噬菌体型式, phage pattern)和被划入其相应的生物型(biotype)。详见宋清明等(1988)^[5]。

● 本文于1988年11月17日收稿。

据文献报导，与血清学方法相比，噬菌体分型方法更具有优越性。前者虽然操作较为简单，不能分型的菌株较少，但分型结果嫌不太细致，亦不十分稳定。比较而言，虽然后者操作稍为复杂，但所鉴定的型比血清学方法稳定，且分型较细，尤其追查传染来源时更易于说明问题。鸡葡萄球菌病已成为影响养鸡业发展的重要疾病之一，且发病趋势愈演愈烈，造成严重经济损失，究竟引起鸡发病的金黄色葡萄球菌来源何在？尚缺乏深入的研究。噬菌体法分型的应用，必将对其传染来源的探查、切断传播途径、研制更为有效的菌苗，从而有效地控制鸡葡萄球菌病，起到重要的作用。经过一段时间的探索，建立起适合于我国鸡金黄色葡萄球菌的分型系统，也是完全有可能的。

实 验 材 料

一、待分型菌株 207株。1986年9月至1987年12月收集自京津地区30个鸡场的52起发病材料（表1，2）。

二、金黄色葡萄球菌国际分型用噬菌体 卫生部成都生物制品研究所惠赠。噬菌体名称及其常规检验稀释度（R.T.D.）如表3。

表1 菌株分离部位分布

分离部位	皮肤病灶	内脏（心血、肝、脾、肾）	眼（结膜囊、眼房液）	关节	死胚	粪
菌株数	98	59	30	5	8	7

表2 菌株来源鸡日龄分布

鸡 龄	雏鸡（1~40日龄）	育成鸡（41~120日龄）	成鸡（120日龄以上）	死胚
菌株数	23	141	35	8

表3 金黄色葡萄球菌国际分型噬菌体及其常规检验稀释度（R.T.D.）

噬菌体	29	52	52A	79	80	3A	3C	55	71	6	42E	47
R.T.D.	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}
噬菌体	53	54	75	77	83A	84	85	81	94	95	96	
R.T.D.	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}

据该套噬菌体各株溶菌谱（Lysogenic bacteria spectrum）的范围，可将其划入下列各裂解群。I群：29、52、52A、79和80；II群：3A、3C、55和71；III群：6、42E、47、53、54、75、77、83A、84和85；IV群（又不定群）：81、94、95和96。

实 验 方 法

主要参照Blair氏（1961）〔6〕及司稚东和孟洪德等（1966）的方法〔7、8〕。

将待分型菌株接种于普通肉汤中，37℃培养18小时，摇匀后倾注少许（0.5ml左右）

于普通琼脂平板上,以“L”形玻棒在普通琼脂表面将菌液涂抹均匀,多余的细菌培养液倾去(或吸去),开盖,将培养基放37°C温箱半小时,使普通琼脂表面的细菌悬液干燥。

依平板底部标记,分别将稀释成常规检验稀释度(R.T.D.; Wilson和Atkinson规定R.T.D.是能使敏感菌株产生融合性裂解的噬菌体最大稀释度)的噬菌体液以2 ml灭菌注射器配4.5号针头滴加在培养基表面(每ml约125滴)。此时若培养皿内琼脂表面干燥不够,则会使滴加的噬菌体液扩散,影响结果的观察。

滴加噬菌体后,先将平板放37°C 8小时,再置室温24小时,然后观察结果。

判读结果时应将平皿置于斜光、暗背景下,用放大镜检查待分型菌株被噬菌体的裂解情况。R.T.D.分型结果记录标准如下:1、融合性裂解~50颗噬斑为强反应(++);2、49~20颗噬斑为中等强度反应(+);3、19~1颗噬斑为弱反应(±)。

确定菌株的噬菌体型时,以“++”作为噬菌体型别报告;如菌株同时对几个噬菌体敏感,则在一列噬菌体名称间隔以斜线表示,故此,菌株的噬菌体型也称为噬菌体型式(phage pattern);是强裂解反应的噬菌体外,如尚有呈弱反应的噬菌体时,则在后面再加之“+”表示。

实验结果

- 一、待分型菌株的噬菌体型(式)分布(表4)
- 二、不同部位分离之菌株的噬菌体型(式)分布(表5)
- 三、不同日龄鸡分离之菌株的噬菌体型(式)分布(表6)
- 四、菌株各噬菌体型(式)及数目(表7)

表4 207株金黄色葡萄球菌的噬菌体型(式)分布

噬菌体裂解群	菌株数	占总数的%	占可分型菌株数的%
I群	72	34.78	48.98
II群	8	3.86	5.41
III群	27	13.01	18.24
IV群	19	9.18	12.84
混合群	21	10.14	14.12
未分型	60	28.99	—

●噬菌体总分型率约为71.11%。

表5 不同分离部位金黄色葡萄球菌的噬菌体型(式)分布

噬菌体裂解群	分离部位						总计
	皮肤病灶	内脏(心血、肝、脾、肾)	眼(结膜囊、眼房液)	关节	死胚	粪	
I群	35	26	7	2	0	2	72
II群	6	2	0	0	0	0	8
III群	12	8	4	1	1	0	27
IV群	5	6	7	0	1	1	19
混合群	10	4	2	0	3	1	21
未分型	30	13	19	2	3	3	60
总计	98	59	30	5	8	7	207

表6 不同日龄鸡金黄色葡萄球菌的噬菌体型(式)分布

噬菌体裂解群	鸡龄	胚胎	雏鸡(1~40日龄)	育成鸡(41~120日龄)	成鸡(120日龄以上)	总计
I群		0	8	46	19	72
II群		0	0	7	1	8
III群		1	3	20	3	27
IV群		1	0	16	2	19
混合群		3	2	14	2	21
未分型		3	10	39	8	60
总计		8	23	141	35	207

表7 各裂解群噬菌体型(式)及菌株数

群别	噬菌体型(式)	菌株数	群别	噬菌体型(式)	菌株数	群别	噬菌体型(式)	菌株数
I	52A	33	II	53	5	混合群	55/95	1
	52A/+	33		47	3		83A/95	1
	29	2		83A	3		52A/53	1
	29/52A	2		75	1		52A/81/+	2
	79/+	1		53/84	1		71/95	1
	52	3		47	2		53/95	1
II	55	4	75	1	52A/95		1	
	3C	1	6/75	1	53/81		1	
	3C/55	1	IV	95	19		47/95	1
	3C/+	2		95/+	3		26/52A/6	1
III	77	1		96/+	1		52A/84	1
	6	4		94	1		52A/75/6	1
	6/53	1	81/95/+	1	52A/79/53/+		1	
	6/+	1	96	2	52A/55/+		1	
	84	1	混合群	29/3C	1	6/95	1	
	84/85	1		52/53/+	1			
53/+	1	53A/54/+		1				

讨 论

金黄色葡萄球菌分型的研究,国内外很多学者进行了多方面的工作,而所得结果往往出现很大程度的差异,这除了因为金黄色葡萄球菌自身结构的复杂性和强变异性的特点外,实验条件的控制等诸多因素也可影响其分型结果。

金黄色葡萄球菌噬菌体分型的研究,不管对于人医临床感染和兽医临床感染的流行病学调查都具有重要意义^[9]。这种方法的运用对于传染的探查、耐药菌与噬菌体型别的关系、带菌者与交叉感染等方面都具有重要意义。从文献上看,国外学者应用国际金黄色葡萄球菌分型噬菌体对动物来源的金黄色葡萄球菌分型率不一,应用于鸡源金黄色葡萄球菌的结果亦是如此。本试验应用国际分型噬菌体对鸡源金黄色葡萄球菌的分型结果显示,分型率达71.1%,此文献报道的分型率要高,说明流行于我国京津地区的鸡源金黄色葡萄球菌株与人源株具有很大程度上的一致,即鸡金黄色葡萄球菌病和人医临床金黄色葡萄球菌感染具有较好的同源性,换句话说,鸡源和人源金黄色葡萄球菌很可能存在着一定程度上的交叉感染。这种认识,对于公共卫生学及有效地控制鸡葡萄球菌病

有着重要意义。

从噬菌体分型的结果看,能够分型的菌株中属混合群的占14.12%,而一般来说,人源金黄色葡萄球菌大多数只能被属于同一裂解群的一种或一种以上噬菌体裂解,使该菌株划入确定的裂解群,仅有少数人源株亦能被不同噬菌体裂解群中的噬菌体裂解,而使该菌株的噬菌体型划入混合群,但这部分菌株的数量较少。这说明鸡源金黄色葡萄球菌表面结构与人源株表面结构有着某种程度的差异(比如细菌表面噬菌体受体的结构可能会有所不同^[10],等等),至于更确切的原因,有待以后的工作进一步证实。

对于鸡源金黄色葡萄球菌的噬菌体分型,最值得注意的是噬菌体52A对菌株的裂解特性。从文献看,不管是人或其他动物来源的金黄色葡萄球菌,皆未见到52A型噬菌体能够产生如此高的裂解程度。本试验的结果似乎能够说明52A噬菌体型的金黄色葡萄球菌在鸡葡萄球菌病的流行中占有重要地位。

另据文献报道,虽然各型菌株都可对各种抗生素产生不同程度的耐药性,但在可分型菌株中,有人发现属第Ⅲ噬菌体裂解群的菌株却较易产生耐药性(Wentworth,1963)。鸡源金黄色葡萄球菌噬菌体型与耐药性的关系有待进一步研究。

至于血清学分型与噬菌体分型的关系,有人认为可以把葡萄球菌噬菌体的各型放入同样号码的血清型中(Oeding等,1958)^[11],但后来有人证实,这种一致关系并不可靠。由本试验所得的鸡源金黄色葡萄球菌的噬菌体型与血清型的比较看(血清学分型结果另报),结果更趋向于后者(表8)。二者之间的确定关系有待进一步研究证实。

表8 噬菌体裂解群与血清型别的关系

噬菌体裂解群	血 清 型					总 计
	I型	II型	III型	IV型	未定型	
I群	34	8	10	18	2	72
II群	2	1	2	3	0	8
III群	16	3	3	5	0	27
IV群	11	1	2	4	1	19
混合群	10	3	5	3	0	21
未定型	28	4	11	15	2	60
总计	104	20	33	48	5	207

结 论

本试验对207株鸡源金黄色葡萄球菌的分型结果表明:

一、引起京津地区鸡发生葡萄球菌病的金黄色葡萄球菌,大部分菌株(71.11%)可被国际分型噬菌体裂解,但总的分型率不如血清学分型高。能够分型的菌株,属于噬菌体裂解群I群的最多,占可分型总菌株数的48.98%,其次为III群(18.24%),混合群(14.12%),IV群(12.84%)和II群(5.14%),不能分型者占28.5%。

二、噬菌体分型中,仅被52A型噬菌体强烈裂解的菌株占可用国际噬菌体系统分型总数的44.22%(其中32株的噬菌体型为52A,33株的噬菌体型为52A/+),说明属于该噬菌体型(式)的菌株在流行病学上有着较为广泛的病原分布。

三、菌株噬菌体型别与血清学型别无明显一致关系。

参 考 文 献

- [1] 林维庆等, 1981, 鸡葡萄球菌病的研究. 华南农学院学报, 2(1): 57~64.
- [2] 甘孟侯等, 1984, 鸡葡萄球菌病的研究 I、流行病学调查与分析. 中国兽医杂志, 10(2): 6~8.
- [3] 陈德威等, 1984, 鸡葡萄球菌病的研究 II、金黄色葡萄球菌的特性及致病性. 中国兽医杂志, 10(8): 6~8.
- [4] Devriese, L.A., 1980. Pathogenic Staphylococci in poultry. World's Poultry Sci. J., 36: 227~234.
- [5] 宋清明等, 1988, 鸡金黄色葡萄球菌分型的研究(综述). 中国兽医杂志, 14(3): 42~45.
- [6] Blair, J.E. et al., 1961. Phage typing of Staphylococci. Bull. World Health Org., 24: 771~784.
- [7] 司稚东, 1966, 金黄色葡萄球菌的噬菌体分型(综述) I、基本情况. 微生物学报, 12: 233~236.
- [8] 孟洪德等, 1966, 金黄色葡萄球菌的噬菌体分型(综述). I. 实际应用. 微生物学报, 12: 237~243.
- [9] Adegoke, G.O., 1986. Characteristics of Staphylococci isolated from man, poultry and some other animals. J. Appl. Bacteriol., 60: 97~102.
- [10] Douglas, J., 1975. Bacteriophage. 21~64. London, Chapman and Hall.
- [11] Oeding, P. et al., 1958. The type classification of *Staphylococcus aureus*: A comparison of phage-typing with serological typing. J. Hyg., 56: 445~454.

A STUDY ON PHAGE TYPING OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAINS ISOLATED FROM CHICKENS

Song Qingming, Gan Menghou

(Veterinary College, Beijing Agricultural University)

Abstract

Phage typing was performed on 207 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from chickens in Beijing and Tianjin areas, China, using the International *S. aureus* phage set.

71.12% strains could be typed with the International *S. aureus* phage set (at R.T.D.). of these typable strains, 48.98% belonged to phage lytic group I, 18.24% to group II, 14.12% to mixed group, 12.84% to group III and 5.41% to group IV. Of the strains isolated from the various lesions (skin lesions, internal organs and ill eyes) and differently aged chickens (totally 3 groups: 1-40 days, 41-120 days and over 120 days old), the largest amount of strains belonged to phage lytic group I, respectively. It was discovered that, of the *S. aureus* strains isolated from chickens and could be typed with the international phage set, 44.22% strains could be strongly lysed by phage 52A.

The experiment revealed that there was some difference between *S. aureus* strains isolated from chickens in Beijing and Tianjin areas and those from human origin. But the strains, isolated from chickens and human beings, had some relationship. The possibility of crossinfection of Staphylococcosis between chickens and human beings was discussed.

Key words Chicken, *Staphylococcus aureus*, Phage-typing

畜牧兽医学报 增刊 第1期目录(1988年)

1. 多元分析在动物杂种优势预测上的应用
2. 奶牛血清中某些生化物质的遗传规律及其与生产性能的关系
3. 苏系西门塔尔牛的染色体1/29易位及其效应
4. 中国三个黄牛品种血液蛋白质多态性及其品种间遗传关系的初步研究
5. 鸡的血型研究
- Ⅵ. 边鸡、大骨鸡种群关系分析
6. 数值分类学在家畜种群生态型分类中的应用
7. 阻止鸡哥伦比亚羽型黑色素沉积的基因初探
8. 关于正常牛血清中血型抗体的研究
9. 青山羊生长期蛋白质需要量的研究
10. 沙打旺、小冠花干草喂绵羊试验和安全性检验
11. 预产期日粮营养浓度对母鸡的发育、生产性能及矿物质代谢的影响
12. 白来航母鸡生长期能量与粗蛋白质需要的研究
13. 白来航鸡产蛋期能量与粗蛋白质需要的研究
14. 鸡精液冷冻保存的研究
15. 太湖猪产仔性能的遗传分析
16. 猪卵泡中后期卵母细胞超微结构的研究
17. 北京黑猪睾丸精小管上皮发育的形态学观察
18. 北京黑猪精小管内支持细胞发育及血睾屏障建立的超微结构研究
19. 鸭垂体促黄体素(LH)测定方法的研究及鸭排卵周期血浆LH含量
20. 北京鸭开产前和产蛋周期中血浆LH和孕酮含量的变化
21. 仔猪血浆脂蛋白代谢与体脂沉积率关系的研究 I. 血浆脂蛋白特征
22. 仔猪血浆脂蛋白代谢与体脂沉积率关系的研究 II. 组织中脂蛋白脂酶活性
23. 藏羊的血红蛋白多态性及海拔高度的影响
24. 安哥拉山羊、济宁青山羊、槐山羊皮肤组织结构特点的研究
25. 成年公山羊甲状腺切除对性机能和血浆睾酮含量的影响
26. 商品猪的长途运输性应激与复方苯比巴妥钠抗应激作用的比较研究
27. 绵羊创伤愈合期体内锌、铜、铁等微量元素及血清蛋白变化的研究
28. 产气荚膜梭菌的毒素分析及两个新菌群的报道
29. 兔出血症病毒血凝特性的研究
30. 用间接血凝测定五株抗鸭瘟病毒单克隆抗体对其它病毒的交叉反应性
31. 鸡源霉形体的分离和鉴定
32. 新城疫病毒在人工感染雏鸡体内的免疫荧光定位
33. 用玫瑰花环试验检测健康家畜外周血T、B、D淋巴细胞
34. 小熊猫门脉性肝硬化并发肝癌的报告
35. 湖北省巴贝斯虫病调查研究Ⅳ. 镰形扇头蜱的季节动态与某些生物学特性的研究
36. 猪浆膜丝虫成虫某些生物学特性的研究
37. 柯氏伪裸头绦虫自然传播媒介的研究
38. 鹅球虫*Eimeria Roitani*生活史的研究
39. 江西家鸭吸虫(鸚形科)一新种记述
40. 南岳双戟叉线虫新种的记述
41. 同盘科吸虫一新属及一新种
42. 猪左心室交感传入神经元的节段分布
43. 北京鸭锁骨间气囊的形态特点
44. 初生幼猪舌尖部的缘乳头
45. 牛栎树叶中毒的发病机理研究
46. 奶牛雀稗麦角菌中毒病的研究
47. 保定宁对驴呼吸系统影响原因及缓解方法的探讨
48. 黑白花乳牛腕关节滑液的研究
49. 鸬鹚前胃免疫组织化学的观察
50. 西农萨能奶山羊先天性生殖器官畸形的形态学研究