

猪链球菌病病原分离鉴定及防治研究

白静 (郑州牧业工程高等专科学校生物工程系, 河南郑州450011)

摘要 从20份疑似猪败血型链球菌病和神经型链球菌病的病料中分离到12株细菌,通过培养特性、菌落形态、染色特性、生化试验及血清学试验确定为C群兽医链球菌7株,D群猪链球菌5株。药敏试验证明分离菌对先锋霉素V、阿米卡星敏感,经临床应用效果良好。用分离菌株研制成二价氢氧化铝胶灭活苗能有效地预防猪链球菌病,临床应用免疫保护率可达90%以上。

关键词 猪链球菌病; 分离; 鉴定; 药敏试验; 氢氧化铝胶灭活苗

中图分类号 S852.61⁺¹ 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)07-01944-01

Isolation and Identification of Swine Streptococcus and its Control Test

BAI Jing (Zhengzhou Higher Vocational School of Animal Husbandry Engineering, Zhengzhou, Henan 450011)

Abstract 12 strains of streptococcus were isolated from the diseased pigs, of which 7 strains of C group belonged to *S. zooepidemicus* and 5 strains of D group belonged to *S. suis* according to cultivation characters, colonial morphology, stain peculiarity, biochemistry test and serum experiment. Drug susceptibility test proved that the isolated strains was susceptible to Cefazolin and Amikacin, had good clinical application effect. A divalent Al(OH)₃ killing vaccine made by the isolated strains could effectively prevent on Swine streptococcus, with the clinical application protection rate over 90%.

Key words Swine streptococcus; Isolation; Identification; Drug susceptibility test; Al(OH)₃ killing vaccine

猪链球菌病(Swine streptococcosis)是由多种链球菌感染引起的不同临床症状的疾病,常见的有败血症型、脑膜炎型、化脓性淋巴结炎型、关节炎型。链球菌的抗原构造比较复杂,有核蛋白抗原(P抗原),无群型的特异性;群特异性抗原(C抗原),具有群特异性;型特异性抗原,又称表面抗原,具有型特异性。根据C抗原不同,用兰氏(Lancefield)血清学分类,可将链球菌分成A、B、C、D、E、F、G等19个血清群。引起猪链球菌病的病原多为C群的兽医链球菌(*S. zooepidemicus*)和类马链球菌(*Seqisnilis*),D群的猪链球菌(*S. suis*),以及E、L、S、R等群。该病分布广泛。除英、美、法、日外,俄罗斯、印度、丹麦等22个国家均有该病的报道。我国最早由吴硕显在上海郊区发现该病的散发病例,1963年广西部分地区开始流行,继之蔓延广东、四川、福建等我国大部分省市,流行范围大,而且发病场发病率较高,特别是急性败血症型和脑膜炎型链球菌病,其病死率较高,给养猪业造成极大损失。2005年笔者对怀疑发生急性败血症型和脑膜炎型链球菌的病猪采集病料,进行病原分离鉴定和防治试验。

1 材料与方 法

1.1 病料 对于怀疑患败血型链球菌的病猪,无菌采取心血、脾、肝;对于怀疑患脑膜炎型病猪,则以无菌操作采取脑脊髓液、脑组织。

1.2 培养基 硫乙醇盐肉汤、鲜血琼脂平板、血清肉汤、各种生化培养基均为自制。

1.3 药敏纸片 抗菌药物药敏纸片购自北京天坛生物技术公司,-20℃保存。

1.4 病原的分离培养 对于怀疑为败血型链球菌的病猪,无菌采集心血,用硫乙醇盐肉汤培养24h后,再接种于血液琼脂平板;对于怀疑为脑膜炎型链球菌的病猪,用接种环钩取脑脊髓液,直接画线接种于血液琼脂平板上进行分离培养,37℃培养24h观察菌落特征,并挑取可疑菌落进行涂片染色镜检、纯培养及生化特性检查。

1.5 生化试验 将待检菌株分别接种于6.5%NaCl肉汤、pH9.6肉汤、0.1%美兰牛乳、马尿酸钠等培养基做生长基水解试验;接种于蔗糖、葡萄糖、乳糖、棉子糖、水扬苷、菊糖、蕈糖、山梨醇等发酵培养基做糖发酵试验。

1.6 菌株分群 采用进口兰氏分群试剂盒。

1.7 药敏试验 将分离菌株均匀涂布于鲜血琼脂平板,贴上阿米卡星、卡那霉素V、庆大霉素、硫酸新霉素、先锋霉素、环丙杀星、氟哌酸、卡那霉素、青霉素、四环素9种药敏纸片,37℃培养24h,并用敏感药物对发病猪进行治疗。

1.8 动物感染试验 将分离菌株24h鲜血琼脂平板培养物用生理盐水适当稀释,配成悬浊液,腹腔注射5只健康小白鼠,接种量为0.2ml/只;另设健康小白鼠5只,注射同剂量的生理盐水作对照。

1.9 二价铝胶灭活苗研制 将C群和D群菌株分别在血清肉汤中增菌培养,调整菌体浓度为30亿/ml,经甲醛灭活后加入20%氢氧化铝胶,摇匀,并按常规方法进行无菌检验、安全检验和效力检验,合格后进行预防试验。每头猪无论大小均免疫2次,间隔15d,第1次5ml/头,第2次10ml/头。

2 结果与分析

2.1 病料中链球菌的分离结果 从20份怀疑患败血型链球菌病和神经型链球菌病的病料中分离到12株细菌,分离率60%。分离菌在鲜血琼脂上生长出湿润、光滑、圆形的灰白色菌落,呈溶血。经革兰氏染色镜检,分离菌是阳性球菌,呈链状排列。其生化鉴定结果及血清群见表1。

2.2 药敏试验结果 在9种抗生素中,抑菌作用最强的是阿米卡星和先锋霉素V,其次为硫酸新霉素、庆大霉素、卡那霉素、氟哌酸,对青霉素、四环素、环丙杀星不敏感。对50kg左右的发病猪,使用先锋霉素V2瓶(即1g),肌肉注射,每日2次,连用3d,病猪痊愈。

2.3 小白鼠感染试验 小白鼠感染后6h开始死亡,12h后全部死亡。死后可见肝、脾、肾肿大,膀胱高度充血,胸腔积液,用心血及胸腔积液涂片,革兰氏染色镜检,发现有大量单个、成对或短链的革兰氏阳性球菌,对照组小鼠未见异常。

2.4 二价铝胶灭活苗的研制 研制的二价铝胶灭活苗,按

基金项目 河南省科技攻关项目(0423011200)。

作者简介 白静(1970-),女,河南郑州人,讲师,从事兽医微生物学方面的教学与研究工 作。

收稿日期 2006-11-29

(下转第1947页)

常规方法进行无菌检验、安全检验和效力检验均合格。经

表1 12个分离菌株的生化试验结果及血清群

菌株数	生长试验			水解试验		糖发酵							
	0.1%美兰牛乳	6.5%NaCl肉汤	pH9.6肉汤	马尿酸钠	淀粉	蔗糖	葡萄糖	乳糖	棉子糖水	扬苷	菊糖	蕈糖	山梨醇
C群 7	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+
D群 5	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-

注：“+”、“-”分别表示阳性、阴性。

3 小结与讨论

(1) 从怀疑患败血型链球菌病和神经型链球菌病的20份病料中分离到12株链球菌。经生化试验和兰氏分群试剂盒分群,C群兽医链球菌7株,D群猪链球菌5株。

(2) 用市售链球菌疫苗免疫猪群常出现免疫失败,爆发链球菌病。其主要原因是市售链球菌疫苗只含C群抗原,而败血型链球菌病和脑炎型链球菌病是由C型兽医链球菌和D群猪链球菌引起。笔者用本地分离的C群兽医链球菌和D群猪链球菌研制成二价氢氧化铝胶灭活苗,经临床试

用预防效果良好。

(3) 目前猪链球菌对常用抗生素产生了严重的耐药性,而对一些新药和以前未大量使用的药物如先锋霉素和阿米卡星则非常敏感,所以经临床应用取得了满意的治疗效果。

参考文献

[1] 白文彬,于康震.动物传染病诊断学[M].北京:中国农业出版社,2002:516-523.

[2] 廖延雄.兽医微生物实验室诊断手册[M].北京:中国农业出版社,1995:81-114.

[3] 宣长和.猪病学[M].北京:中国农业科学技术出版社,2003:147-151.

[4] 王明俊.兽医生物制品学[M].北京:中国农业出版社,1997:476-478.