

# 河北省秦皇岛地区肉鸡大肠杆菌血清型的调查

田 勇<sup>1</sup>, 乔 健<sup>1</sup>, 李鹤飞<sup>2</sup>, 李爱花<sup>2</sup>, 王会杰<sup>2</sup>

(1. 中国农业大学动物医学院, 北京 海淀 100094; 2. 河北省秦皇岛畜牧局, 河北 秦皇岛 066001)

中图分类号: S858.315.1

文献标识码: B

文章编号: 0529-6005(2007)08-0036-02

河北省秦皇岛地区是肉鸡养殖, 养殖规模日益扩大, 而大肠杆菌、沙门氏菌等细菌性疾病为困扰肉鸡业集约化发展的主要矛盾, 经济损失巨大。

大肠杆菌病是由大肠埃希氏杆菌(*E. Coli*)某些血清型菌株引起的一类疾病的总称, 临床主要表现为败血症、气囊炎、腹膜炎、输卵管炎、滑膜炎和眼炎等。对大肠杆菌血清分型调查, 它在追踪传染源、摸清传染途径, 从而为该地区该病的防治和新菌苗的研制提供可靠依据。笔者在 2002 年 10 月至 2003 年 5 月, 对河北省秦皇岛地区肉鸡大肠杆菌病流行情况及血清型进行了调查, 报告如下。

## 1 材料

1.1 培养基 麦康凯琼脂、营养肉汤、牛肉浸膏、蛋白胨、琼脂。

1.2 大肠杆菌“O”因子定型血清 共计 155 种, 购自中国兽医药品监察所。

1.3 细菌染色用溶液 革兰氏染液、美蓝染液、瑞氏染液、姬姆萨氏染液。

1.4 细菌生化微量鉴定管及相应试剂 糖微量发酵管(葡萄糖、乳糖、麦芽糖、蔗糖、甘露醇、肌醇、山梨醇、阿拉伯糖); 尿素分解管; 蛋白胨水; 硝酸盐还原管; 葡萄糖磷酸盐胨水; 枸橼酸盐利用试验管; 甲基红试剂(M. R.); 硝酸盐还原试剂; V-P 试剂; 靛基

质试剂。购自杭州天和微生物试剂有限公司。

1.5 病料来源 取自河北省某肉鸡集团公司合同养鸡户和专业养鸡户鸡场。临床症状和病理剖检初步诊断为大肠杆菌病, 死亡时间不超过 24 h 或濒死鸡的肝、心血、脾、气囊内容物、肿胀的眼液及关节液等共 206 份。同时统计发病周龄。

## 2 方法

2.1 大肠杆菌的分离和生化鉴定 无菌采取上述病料, 直接划线接种于麦康凯琼脂平板上, 37℃ 培养 18~24 h, 选取红色或砖红色单个菌落, 一半用来涂片、革兰氏染色、镜检, 观察细菌的形态及染色特征, 另一半斜面划线、底层穿刺接种于三糖铁琼脂, 37℃ 培养 24~48 h。

符合大肠杆菌形态特征及三糖铁琼脂培养特征的做生化特性检查, 不符合的丢弃。

2.2 血清型的鉴定 按中国兽医药品监察所提供的说明书进行。

2.2.1 “O”抗原的制备 将被检细菌用普通营养琼脂斜面和普通肉汤培养, 营养琼脂斜面纯培养物用少量生理盐水洗下, 制成浓稠菌悬液与普通肉汤培养物一起经 15 磅压力(121℃)高压灭菌 2 h, 破坏 K、H 抗原, 即为“O”抗原。

2.2.2 菌株“O”抗原的鉴定 首先将分离菌株经玻板凝集试验初步筛选可能的“O”血清型, 然后通过试管凝集反应来确定其“O”血清型, 定型标准为血清型的试管凝集价不低于 1:640。

收稿日期: 2005-12-15

通讯作者: 乔健, E-mail: qiaojian@cau.edu.cn

产性能不同程度的下降。以杨树皮类脂为佐剂制备鸡新城疫类脂灭活疫苗免疫肉鸡后, 免疫部位的显微结构观察表明, 免疫后第 21~35 d, 肌纤维修复, 类脂疫苗基本吸收分解, 肌肉组织基本恢复正常, 免疫后第 42 d, 肌肉已完全恢复正常。因此, 采用该疫苗免疫肉鸡, 不会影响出栏时的肉质。

3.4 在免疫后雏鸡出现应激反应, 主要原因是由于 0.3 mL 的免疫剂量对 9 日龄雏鸡而言刺激性较大, 而雏鸡此时的生理状态对强刺激的耐受性较弱所致。对杨树皮成分分析还表明, 类脂内含有微量亚油酸与亚麻酸, 二者的生理学功能主要体现在对于心血管系统、神经系统具有较强的修复功能, 在治疗动脉粥样硬化方面具有得天独厚的优势。试验中雏鸡出现蜷

卧、微睡现象, 可能与亚油酸、亚麻酸有关。另外, 与鸡的品种和应激性也可能有一定的关系。

## 参考文献:

- [1] 张兴晓, 李丙更. 具有高度生物学活性的杨树皮类脂[J]. 中国禽业导刊, 2003, 24: 27-28.
- [2] 张兴晓, 刘美丽, 杨灵芝, 等. 鸡传染性鼻炎与鸡毒霉形体类脂灭活疫苗的研究[J]. 中国禽业导刊, 2003, 24: 29-30.
- [3] 黄国模, 李玉文. 鸡新城疫油乳剂灭活疫苗应用效果报告[J]. 辽宁畜牧兽医, 1999, (6): 15-16.
- [4] 刘思当, 赵德明, 郝俊峰, 等. 试验性热应激对肉仔鸡免疫器官的影响[J]. 中国兽医学报, 2003, 23(3): 281-283.
- [5] 王福传, 韩一超, 赵洪恩. 复方中草药免疫增强剂对鸡免疫器官组织形态学影响的研究[J]. 中国预防兽医学报, 2001, 23(6): 419-421.

(1)玻板凝集反应:将每个分离株的“O”抗原与多价“O”抗血清置于洁净的玻璃板上混匀,1~2 min 内出现明显凝集者,再分别与多价内的各单价“O”血清作凝集反应。

(2)试管凝集反应:用0.5%石炭酸生理盐水将玻板凝集呈阳性反应的单价“O”抗血清作10×、20×、40×、80×……120×系列稀释,然后加分离菌株的“O”抗原0.5 mL,37℃过夜后判定。

3 结果

3.1 分离菌的培养特性及形态特征、生化特性  
37℃培养18~24 h,分离菌在麦康凯琼脂平板上形成红色或砖红色、圆形、隆起、光滑、边缘整齐、直径1.5~2.5 mm的小菌落;普通肉汤中呈均匀浑浊,管底有灰白色的沉淀,振荡呈云雾状散开,并有粪臭味。挑取菌落及培养物经革兰氏染色镜检,可见革兰氏阴性,两端钝圆的短杆菌,多单在,偶有2~3个菌体连在一起。

经生化试验表明,分离菌株全部发酵葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、山梨醇和阿拉伯糖,不发酵肌醇,对蔗糖的发酵因菌株而异。吡啉试验阳性,甲基红试验阳性,V-P试验阴性,不产生H<sub>2</sub>S,不利用枸橼酸盐,不分解尿素。根据参考文献鉴定为大肠杆菌。

3.2 分离与鉴定情况 从206份病料中分离出183株大肠杆菌,分离率为89.3%。除23株未能定型外,鉴定出160个分离株的血清型,占分离菌株的87.3%。160个定型菌株中包括了32个血清型,其中检出率较高的前8种血清型,见表1。

表1 160株大肠杆菌中主要血清型的分布			
血清型	菌株数	占定型菌株百分比 (%)	占供鉴定菌株百分比 (%)
O <sub>78</sub>	27	16.8	13.1
O <sub>2</sub>	23	14.4	11.2
O <sub>1</sub>	15	9.4	7.3
O <sub>88</sub>	12	7.5	5.8
O <sub>76</sub>	11	6.9	5.3
O <sub>38</sub>	9	5.6	4.4
O <sub>111</sub>	8	5.0	3.9
O <sub>35</sub>	6	3.8	2.9
合计	110	68.75	53.4

另外,检出率较低的血清型还有O<sub>103</sub>、O<sub>36</sub>各5株;O<sub>26</sub>、O<sub>131</sub>各4株;O<sub>4</sub>、O<sub>55</sub>、O<sub>13</sub>各3株;O<sub>18</sub>、O<sub>54</sub>、O<sub>11</sub>、O<sub>83</sub>、O<sub>6</sub>、O<sub>101</sub>各2株;O<sub>152</sub>、O<sub>138</sub>、O<sub>15</sub>、O<sub>86</sub>、O<sub>38</sub>、O<sub>60</sub>、O<sub>5</sub>、O<sub>115</sub>、O<sub>48</sub>、O<sub>64</sub>、O<sub>84</sub>各1株。共50株,占定型菌株的31.25%。

表2 肉鸡大肠杆菌病在饲养周期内的流行情况							
周龄	1	2	3	4	5	6	7
检出大肠杆菌的次数	12	8	36	56	48	28	18
占总检出数的比例(%)	5.83	3.88	17.48	27.18	23.30	13.59	8.74

3.3 病鸡发病周龄情况 肉鸡大肠杆菌病的发病高峰主要分布在3~5周龄,6~7周龄*E. coli*的检出比

例高于1~2周龄。肉鸡大肠杆菌病在饲养周期内的流行情况见表2。

4 讨论

4.1 秦皇岛地区肉鸡大肠杆菌的优势血清型:从商品肉鸡场发病鸡群中分离到183株病原性大肠杆菌,共鉴定出160个分离株的血清型。以O<sub>78</sub>、O<sub>2</sub>、O<sub>1</sub>、O<sub>88</sub>、O<sub>76</sub>、O<sub>38</sub>、O<sub>111</sub>和O<sub>35</sub>为主,共110株占定型菌株的68.75%。前5种血清型在种类上仅占总量的15.6%,却拥有87个分离株,占定型菌株的54.4%,结果表明O<sub>78</sub>、O<sub>2</sub>、O<sub>1</sub>、O<sub>88</sub>、O<sub>76</sub>等5个血清型为本地区的优势血清型。与Dozois CM<sup>[2]</sup>等报道国外禽病原性大肠杆菌常见血清型为O<sub>1</sub>、O<sub>2</sub>、O<sub>78</sub>结果基本一致,而O<sub>76</sub>血清型大肠杆菌致病的国内外却报道的很少,深入研究O<sub>76</sub>血清型分离株,有助于揭示该病在本地区的流行机制和提供有效防治措施奠定基础。

4.2 本鉴定结果表明,同一鸡场或区县大肠杆菌血清型大多相同,但也存在多个致病血清型;不同鸡场或区县大肠杆菌血清型有所差异。这一结果与国外J. E. Blanco<sup>[3]</sup>、Allan B. J<sup>[4]</sup>等报道一致,与国内林维庆<sup>[5]</sup>、霍龙飞等<sup>[6]</sup>、张春荣<sup>[7]</sup>等人报道相符。为使用这些血清型菌株制作疫苗,为预防和控制本病提供了可能。

4.3 肉鸡大肠杆菌病从发病时间看,3~6周龄为肉鸡大肠杆菌病的高发期,1~2周龄也可发病,这一方面与鸡舍、孵化厅的环境污染和垂直传播有关;另一方面也与大肠杆菌的耐药性有直接的关系。因为1~2周龄大多养殖户投药预防本病及白痢等细菌性疾病的发生。6~7周龄发病率显然下降,但不能说明肉仔鸡在生长后期大肠杆菌的发病率降低,而是因为出口厂家为控制产品药残,在42日龄以后不允许使用抗生素治疗。肉仔鸡生长后期患病则是以提前出栏或淘汰病鸡,而未采集到病料。可以相信,由于6周后停用抗生素肉仔鸡大肠杆菌病的发病仍然很严重。

参考文献:

[1] 布坎南, R E 主编. 中国科学院微生物所译. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社. 1984. 669-675.  
[2] Dozois CM, Fairbrother JM, Harel J, et al. pap<sup>+</sup> and pil<sup>+</sup>-related NDA sequences and other virulence determinants associated with *Escherichia coli* isolated from septicemic chickens and turkeys[J]. Infect Immun. 1992; 60: 2648-2656.  
[3] J. E. Blanco, M. Blanco, A. Mora, et al. Serotypes of *Escherichia coli* from septicemic chickens in Galicia [J]. Veterinary Microbiology. 1998, 61: 229-235.  
[4] Allan B J, Hurk J V, Potter A A. Characterization of *Escherichia coli* isolated from cases of avian colibacillosis [J]. Vet Res. 1993, 57: 146-151.  
[5] 林维庆. 鸡大肠杆菌[J]. 华南农业大学学报. 1991, 12(3): 7-13.  
[6] 霍龙飞, 毕丁红. 湖北省鸡源致病性大肠杆菌某些生物学特性研究[J]. 中国畜禽传染病. 1995, (1): 39-40.  
[7] 张春荣, 苏亚拉图. 我国流行的鸡致病性大肠杆菌的血清型[J]. 中国动物检疫. 1996, 13(1): 27.