

猪链球菌病

Streptococcosis suis

汪 华 周明浩 主审
朱叶飞 张 炜 著



科学出版社

猪链球菌病

汪 华 周明浩 主审

朱叶飞 张 炜 著

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书从病原学、流行病学、临床学、实验室检测和预防与控制等五个方面,对猪链球菌病做了详尽、深入、系统的阐述。第一章主要述及猪链球菌的来源及其发现的历史、生物学特性、遗传学特性及主要的毒力因子,包括抗生素的耐药性;第二章涵盖猪链球菌病在人间和动物间的流行特征、传播途径和流行的影响因素,加入了分子流行病学相关的内容;第三章讲述动物和人感染猪链球菌病的临床表现与致病机理、诊断和鉴别诊断、治疗及预后;第四章包括传统的细菌分离、培养、鉴定、血清学检测及运用现代技术的核酸检测等;第五章则涉及动物和人感染猪链球菌病的预防控制措施,包括疫苗免疫。

本书既能满足基层防治人员的需要,也能帮助研究人员洞悉各个方向的研究热点,不仅对我国动物和人感染猪链球菌病防治的实践和研究有重要参考价值,对于其他新发人兽共患病的防治和研究也可起到借鉴作用。

图书在版编目(CIP)数据

猪链球菌病 / 朱叶飞, 张伟著. —北京: 科学出版社, 2015.10

ISBN 978-7-03-045779-0

I. ①猪… II. ①朱… ②张… III. ①猪病-链球菌病-防治 ②人畜共患病-链球菌病-防治 IV. ①S855.28 ② R515.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 225182 号

责任编辑: 矫天扬 / 责任校对: 郑金红

责任印制: 徐晓晨 / 封面设计: 北京图阅盛世文化传媒有限公司

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京京华虎彩有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015 年 10 月第 一 版 开本: 720×1000 B5

2015 年 10 月第一次印刷 印张: 13 1/2

字数: 257 000

定价: 80.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

作者简介

朱叶飞,男,1971年11月生,博士,研究员。南京医科大学兼职副教授。江苏省医学重点人才,江苏省“卫生拔尖人才”第一期培养对象,江苏省第四期“333高层次人才培养工程”培养对象。1993年毕业于南京医学院营养与食品卫生专业。2000年回南京医科大学攻读组织胚胎学硕士和博士学位。2006年获得博士学位后到江苏省疾病预防控制中心急性传染病防制所工作。2010年赴美国约翰斯·霍普金斯大学布隆伯格公共卫生学院研修。研究领域涉及传染病分子流行病学、快速诊断、病原菌耐药机制和防治策略。担任《江苏预防医学》、*Jacobs Journal of Microbiology and Pathology*、*Source Journal of Microbiology* 和 *International Journal of Virology and AIDS* 杂志编委。2006~2015年在国内外学术期刊发表文章60余篇,其中第一作者和通讯作者SCI收录论文15篇,发表刊物包括 *Lancet*、*American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*、*Epidemiology and Infection*、*Euro Surveillance* 和 *Journal of Infectious Diseases* 等。主持江苏省自然科学基金(BK2008463:人感染猪链球菌病新的生物标志物的筛选)、江苏省第十批“六大人才高峰”高层次人才选拔培养项目(2013-WSN-060:传染病分子流行病学研究)和江苏省临床医学科技专项(BL2014081:江苏省重点传染病预测预警方法的建立及应用研究)各1项。获得2014年江苏省科学技术奖二等奖、2014年中华医学科技奖二等奖和2014年江苏预防医学科技奖二等奖。

张炜,男,1976年11月生,博士,副教授,博士生导师。2007年南京农业大学预防兽医专业毕业后留校,现从事兽医微生物学及免疫学教学和科研工作,主要研究领域为病原菌的蛋白质组学和基因组学。2009年12月破格晋升为副教授。2010年获全国优秀博士论文提名奖。2011年获教育部新世纪人才支持。2012年获南京农业大学“钟山学术新秀”称号。主持国家自然科学基金青年科学基金项目及国家自然科学基金优秀青年科学基金项目各1项。主持农业部行业专项子课题1项,主持转基因重大专项子课题1项,主持校级中央高校基本科研业务费专项基金1项。主要学术成就:建立了细菌蛋白质组学分析平台,系统地对猪链球菌等动物细菌病病原进行分析,共鉴定出100余种亚单位疫苗候选分子,50余种为首次报道,差异表达蛋白质60余种,其中4种已经被证明为保护性抗原,2种可用于鉴别诊断用的分子靶点。以第一作者或通讯作者发表SCI论文10篇,发表刊物包括 *Proteomics*、*Vaccine* 及 *Veterinary Microbiology* 等。

序

全球化步伐的加快，社会经济的发展和生活方式的改变，市场交易和人口流动日益活跃，使得人兽共患病、呼吸道传染病等常见传染病发病及新发传染病、输入性传染病发生的风险不断增加，给传染病防控带来了新的挑战。

新发传染病疫情发生初期病因往往不明，临床无有效治疗方案；公卫医师对其流行特征不了解，无法提供有效的防控措施和策略；公众得不到可以利用的信息，容易产生恐慌。这些特性决定了新发传染病容易出现暴发和流行，对人类健康造成伤害，对社会和经济发展均造成巨大损失。

猪链球菌病是由猪链球菌引起的一种人兽共患传染性疾病，属国家规定的二类动物疫病。猪感染后发病率和死亡率均较高，一直是养猪业的重大威胁。人主要由破损皮肤接触被猪链球菌感染的生猪和未加工的猪肉制品等途径而感染猪链球菌，一旦感染，病死率高。

1998 年盛夏，江苏中部地区发生了一起因接触病、死猪而引起重症链球菌感染的疫情。由于是国内首次发生的人间疫情，曾一度认为是炭疽引起的败血症、流行性出血热、钩端螺旋体病等疾病。在卫生和动物防病工作者的共同努力下，最终得以成功处置。相比之下，2005 年四川暴发疫情时，因为有了第一次成功的经验，应对就要容易得多。

1998 年之前欧美学者对该病研究较多，随后国内也有很多学者在这一领域做了很多可贵的探索。但至今没有一部系统深入论述该病的专著。值得欣慰的是，两位分别从事人间和动物传染病防控的研究者填补了这一空白，他们既熟悉流行病的现场处置，对流行病防控有丰富的实践经验，又是在相关基础研究方面非常专业的科研工作者。该书对猪链球菌病诸方面（病原学、流行病学、临床学、实验室检测和预防控制）做了详尽、深入、系统的阐述，细节上亦可谓一丝不苟，引用的中英文参考文献达 1300 多篇。既能满足防治人员所需，作为其现场防治工作的参考书和技术手册，又能帮助研究人员很快洞悉各个方向的研究进展，找准学科前沿。语言文字通俗易懂，深入浅出，图文并茂，具有很强的可读性。通读该书，我感受到年轻一代科研工作者的担当和责任感，这点颇为难能可贵。

该书不仅对我国人兽猪链球菌病防治的实践和研究有重要的参考价值，对于其他新发人兽共患病的防治和研究也可起到借鉴作用。我期待作者在今后的工作中能有更多的精彩和我们分享。



2015年8月

前 言

我最初接触猪链球菌病是在 2006 年到江苏省疾病预防控制中心工作时,连云港发现一例疑似人感染猪链球菌病患者。由于对这个新发传染病一窍不通,急于想找一本参考书好现学现用,但未能如愿。在查阅 1998 年南通人感染猪链球菌病疫情历史资料和大量国内外相关研究报道后,我对这一传染病防治及研究有了较为深入的了解,遂萌生编写一本与该病相关专著的想法。由于该病是人兽共患病,若撰写专著,就不能不述及其在动物中的流行情况、临床表现、致病机理和预防控制等内容。巧合的是,我攻读博士学位时认识的老朋友——南京农业大学张炜博士的研究方向正与此相关,可谓“得来全不费工夫”。当我告诉他我的想法时,张博士欣然同意。

我们思考的首先是本书的读者群,是写一本适用于基层防治人员的工作手册,还是一本偏重于所谓科研的前沿话题。最后我们决定兼顾两者,希望既能满足基层防治人员所需,也能帮助研究人员很快洞悉各个方向的研究热点。全书共分五章,分别是病原学、流行病学、临床学、实验室检测和预防控制。病原学主要述及猪链球菌的来源及其发现的历史、生物学特性、遗传学特性及主要的毒力因子,还包括抗生素的耐药性;流行病学涵盖猪链球菌病在人间和动物间的三间分布、流行特征、传播途径和流行的影响,还加入了分子流行病学相关的内容;临床学部分讲述动物和人感染猪链球菌病的临床表现和致病机理、诊断和鉴别诊断、治疗及预后;实验室检测一章包括传统的细菌分离、培养、鉴定、血清学检测以及运用现代技术的核酸检测等;预防与控制则涉及动物和人感染猪链球菌病的预防控制措施,还包括疫苗免疫。

需要说明的是,撰写过程中,有些参考文献因年代久远,作者只能通过其摘要或它引的文章中窥其一斑;部分文献,虽然通读全文,理解上也难免失之偏颇。

本书能顺利出版,要感谢所在单位同事们的大力支持,感谢南京医科大学第一附属医院的姚爱华博士通读本书原稿并提出诸多宝贵意见,感谢研究生于岩飞、李权、杜德超和刘翰泽等查找和翻译部分文献,感谢科学出版社矫天扬编辑所做的努力,感谢江苏省临床医学科技专项(BL2014081)、江苏省“十二·五科教兴卫工程”(ZX201109 和 RC2011085)和江苏省重大新发传染病综合防控科技示范工程(BE2015714)提供的资助。

因为是我们首次尝试编写此类书籍，必然存在很多不足之处，恳请大家批评指正。如有热心读者愿意和我们讨论，则更是荣幸之至。

朱叶飞

2015年6月24日

目 录

序

前言

第一章 病原学	1
第一节 猪链球菌的命名和分类	1
第二节 生物学特性	2
一、溶血及生长特性	2
二、生化特征	2
三、血清型分型	2
四、基因分型	3
五、抵抗力	5
第三节 遗传学特征	5
第四节 毒力因子	5
一、主要毒力因子	5
二、其他	20
三、基因组学和蛋白质组学研究	20
第五节 抗生素敏感性	23
一、 β -内酰胺类抗生素	23
二、氨基糖苷类抗生素	25
三、大环内酯-林克酰胺-链阳菌素 B (MLSB) 类抗生素	25
四、四环素类抗生素	27
五、喹诺酮类抗生素	28
六、其他抗生素	29
七、多耐药	30
参考文献	32
第二章 流行病学	45
第一节 猪链球菌病在动物群体中的流行概况	45
一、猪感染猪链球菌病的流行概况	45
二、猪群中猪链球菌的携带率	47
三、猪群中猪链球菌的血清型分布情况	49
四、其他动物感染猪链球菌病的流行概况	55

第二节 人感染猪链球菌病的流行概况	56
一、人感染猪链球菌病的地区、时间分布特征	57
二、人感染猪链球菌的血清型分布特征	61
三、易感或多发人群	61
四、人感染猪链球菌病的危险因素	62
第三节 传播途径	64
一、猪群中的传播	64
第四节 流行的影响因素	66
一、病原学因素	66
二、自然因素	66
三、饲养管理模式	67
四、饲料中抗生素的影响	68
五、猪的健康状态	68
第五节 分子流行病学	68
一、基因组指纹图谱	69
二、核糖体分型	69
三、随机扩增多态性	70
四、限制性片段长度多态性	71
五、扩增片段长度多态性	72
六、脉冲场凝胶电泳分型	72
七、多位点可变数目串联重复序列分析	74
八、多位点序列分型	74
九、毒力基因谱	76
十、基因组序列分析	78
参考文献	78
第三章 临床学	98
第一节 猪感染猪链球菌病的临床特征	98
一、临床表现	98
二、病理改变	99
第二节 人感染猪链球菌病的临床特征	101
一、潜伏期	101
二、临床表现	101
三、亚临床感染和健康携带	103
四、病理改变	103

第三节 发病机制	103
一、寄生的部位和入侵的门户	104
二、黏附、侵袭	104
三、侵入血液	105
四、作用部位	106
五、细菌的毒力	108
六、机体的免疫反应	108
七、炎症反应	110
八、细胞凋亡	110
第四节 诊断与鉴别诊断	111
一、猪感染猪链球菌病的诊断	111
二、人感染猪链球菌病的诊断	112
第五节 治疗	116
一、猪感染猪链球菌病的治疗原则	116
二、人感染猪链球菌病的治疗原则	117
第六节 预后	117
参考文献	118
附件 人感染猪链球菌病诊疗方案	128
第四章 实验室检测	144
第一节 菌株分离和培养	144
一、培养基和增菌液的种类	144
二、样品采集	145
三、分离培养	146
第二节 菌株鉴定	149
一、形态鉴定	149
二、生化鉴定	150
三、免疫学鉴定	152
四、核酸检测	154
参考文献	157
附件 人感染猪链球菌病样品采集与实验室检测方案	162
第五章 预防与控制	165
第一节 猪感染猪链球菌病的预防控制	165
一、猪感染猪链球菌病的预防	165
二、猪感染猪链球菌病的控制	171

三、预防控制措施	174
第二节 人感染猪链球菌的预防控制	174
一、人感染猪链球菌的预防	174
二、人感染猪链球菌的控制	177
参考文献	179
附件 1 猪链球菌病应急防治技术规范	184
附件 2 全国人感染猪链球菌病监测方案(2009 版)	188
附表 1 人感染猪链球菌病个案调查表	195
附表 2 人感染猪链球菌病例共同暴露者管理工作表	199
附表 3 _____(省份)人感染猪链球菌病例及动物标本采样检测信息 登记表(20__年)	200
缩略词表	203

第一章 病原学

猪源链球菌 (*Swine Streptococci*) 是引起猪发病及从健康猪分离的链球菌的统称, 其中的猪链球菌 (*Streptococcus suis*, SS) 和马链球菌兽疫亚种 (*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*) 是主要的猪链球菌病 (*Streptococcosis suis*) 病原, 近年来以前者的流行为主。猪链球菌为革兰氏阳性菌, 属于芽孢杆菌纲, 乳杆菌目, 链球菌科。本章及本书涉及的内容以猪链球菌为主。

第一节 猪链球菌的命名和分类

猪链球菌的发现、研究及命名是一个较为长期的过程, 总体来说经历了从以形态、染色及血清型等表型分型, 到以基因特点为代表的分子分型的转换。

链球菌的分类体系中, 兰氏分类 (Lancefield Grouping) 有重要的地位, 该分类体系是由美国微生物学家 Rebecca Craighill Lancefield 建立, 根据血清学特性将链球菌分为 A~H、K~V 等群, 每个群结合生化和培养特性又分为若干型或亚型。在猪链球菌属建立以前, 早期的研究者曾将引起猪的败血性感染的链球菌归于兰氏分类的 R、S、RS 和 T 群。

猪链球菌在猪群中引起相关疾病的暴发, 最早是 20 世纪 50 年代, 荷兰学者 Jansen 和 van Dorssen 于 1951 年报道由溶血性链球菌引起的 1~6 月龄猪的脑膜炎, 以及 1954 年英国学者 Field 等报道由溶血性链球菌引起的 2~6 周龄猪的脑膜炎和关节炎。因为当时已有的兰氏分群 (A~Q 群) 血清都不能与分离到的病原菌产生凝集反应, 他们未能将之分群。1963 年, de Moor 在患败血症的猪体内分离到类似的溶血性链球菌, 该菌与已知的链球菌型具有不同的生化特性和血清学特征, 于是他把从成年猪只 (10~14 周龄) 体内分离的链球菌称为 R 群, 仔猪体内分离的链球菌称为 S 群, 同时和 R 群及 S 群血清发生反应的称为 RS 群, 和 A~S 群血清均不反应的称为 T 群。

1966 年, 英国的 Elliott 从刚出生后不久的病猪的心血、关节和脑部分离到链球菌, 发现其与 Field 等 1954 年的分离株和 de Moor 所描述的 S 群菌株具有相同的血清型, 属于兰氏分类 D 群的一个亚群, 并将其命名为猪链球菌 1 型。1975 年, Windsor 和 Elliott 从 10~14 周龄罹患脑膜炎的猪体内分离到了 D 群链球菌的另一个亚群, 发现其与 de Moor 所描述的 R 群相同, 但与猪链球菌 1 型具有不同的荚膜血清型, 故将其命名为猪链球菌 2 型, 同时和 1 型及 2 型血清发生反应的

称为 1/2 型, 避免了前期分类方法引起的混淆。1987 年, Kilpper-Bälz 和 Schleifer 考虑, 除此 3 类链球菌以外, 其他一些血清型的链球菌也具有与 R、S、T 群相同的表型特征, 属于同一 DNA 组, 故将其统称为猪链球菌。

后来研究发现, 虽然 D 群与 R 群链球菌的抗原非常相似, 但存在本质差别, 鉴定为 D 群是由于产生交叉反应。这些发现导致链球菌分类与命名规则的又一次改变。就目前 35 个不同的荚膜抗原血清型而言, 实际上, 猪链球菌 2 型属于 R 群, 猪链球菌 1 型属于 S 群, 1/2 型属 RS 群, 而猪链球菌 15 型属于 T 群, 有的不能分群 (Facklam, 2002)。

综上所述, 对于猪链球菌的血清型分型, 传统的兰氏分类方法是远远不够的, 取而代之的是以荚膜多糖的抗原分型为主的方法。

第二节 生物学特性

一、溶血及生长特性

猪链球菌 2 型为兼性厌氧, 菌体呈圆形或椭圆形, 直径小于 $2.0\mu\text{m}$, 多具有荚膜, 培养最适温度为 37°C 。在血平板上生长呈细小菌落, 无色, 半透明, 直径 $0.5\sim 1\text{mm}$, 边缘整齐, 凸起, 光滑; 在葡萄糖脑心浸液肉汤中呈絮状生长 (有些菌株能形成菌膜); 在含有绵羊血的血平板上, 猪链球菌呈 α 溶血, 有些菌株在含马血的琼脂平板上呈 β 溶血 (Hommeze et al., 1986)。

二、生化特征

大多数猪链球菌菌株在 0.005% 亚甲基蓝的牛奶中引起还原反应, 而在 0.1% 甲基蓝的牛奶中没有改变。菌株在 10% 胆汁血琼脂上生长良好, 并且大多数菌株在 40% 胆汁血琼脂上仍然能生长。在 pH 9.6、 45°C 或 6.5% 氯化钠条件下不生长。 60°C 牛奶中 30min 失去活性。与葡萄糖、乳糖、蔗糖、麦芽糖、海藻糖、淀粉、菊糖反应均产酸, 与阿拉伯糖、甘油、甘露醇、山梨酸均无反应 (Erickson et al., 1984; Tarradas et al., 1994)。

三、血清型分型

血清型分型是对细菌进行分类的重要依据。猪链球菌血清型分型的主要抗原荚膜多糖, 分型的方法以凝集试验为主。随着研究的深入, 越来越多的猪链球菌血清型被鉴定出来, 但同时也发现一些曾经被划为猪链球菌的细菌不属于本种, 另外还发现大量的不能分型的 (non-typeable, NT) 菌株。

自 Elliott 等分别在 1966 年和 1975 年, 分离出猪链球菌 1 型、2 型、1/2 型后

(Elliott, 1966); 1983 年, Perch 等从病猪中分离到了 6 个血清型(3 型~8 型)(Perch et al., 1983); 1989~1995 年, Gottschalk 和 Higgins 等系统描述了多个血清型(9 型~34 型)。至此, 总共有 35 个血清型被确定下来, 其中参考菌株 9 型~13 型、15 型、16 型和 22 型来源于病猪, 而 17 型、18 型、19 型和 21 型菌株来源于临床健康猪, 14 型菌株来源于人脑膜炎病例, 20 型来源于病牛(Gottschalk et al., 1989; Higgins et al., 1995)。

四、基因分型

研究人员对不同猪链球菌菌株的 16S rDNA 和 *cpn60* 基因序列分析后, 发现系统进化树上(图 1-1、1-2)6 个型别(20 型、22 型、26 型、32 型、33 型和 34 型)

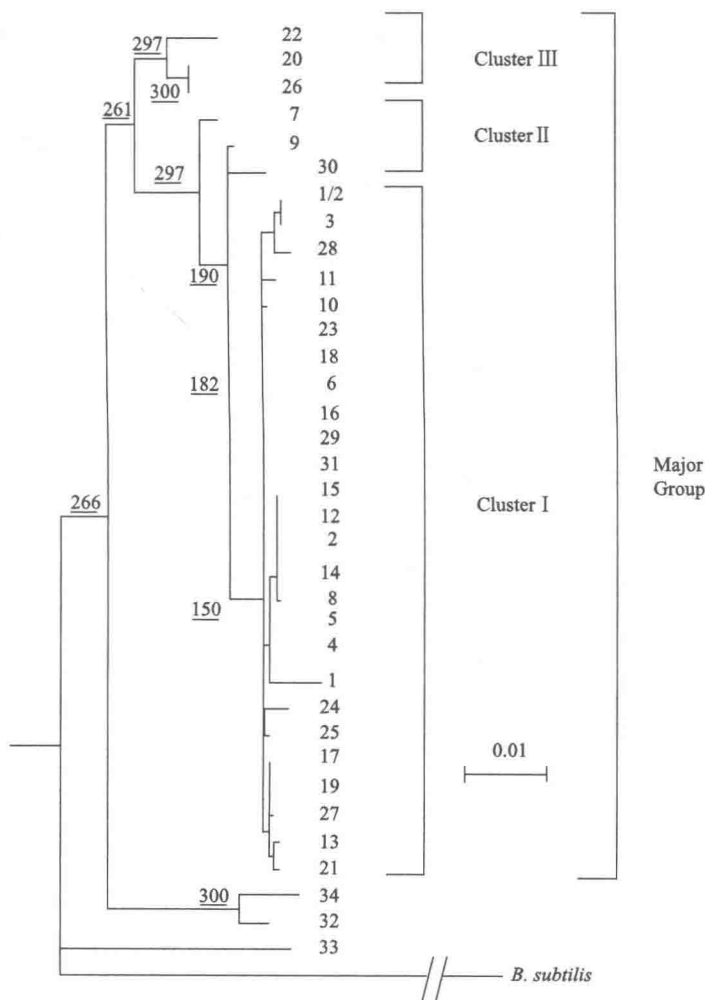


图 1-1 16s rDNA 序列分析聚类图

菌株与其他型别相距较远,但却具有相似的生化特征(Brousseau et al., 2001; Chatellier et al., 1998; Hill et al., 2005),其中 32 型和 34 型与其他型别猪链球菌差异更大,应该属于口腔链球菌(*Streptococcus orisratti*),是一种分离自 Sprague-Dawley 鼠牙齿的新的兰氏 A 群链球菌(Zhu et al., 2000),建议将此两种血清型从猪链球菌中除去。另外,还有几个血清型与其他血清型遗传距离较远,如 20 型、22 型和 26 型和 33 型,在其他报道中也得到证实(Rasmussen and Andresen, 1998; Tien le et al., 2013)。所以现在猪链球菌究竟该分为多少个血清型仍存在争议。准确的基因分型也许要依赖全基因组序列分析。对不能分型菌株的基因组序列分析也有可能发现新的型别。

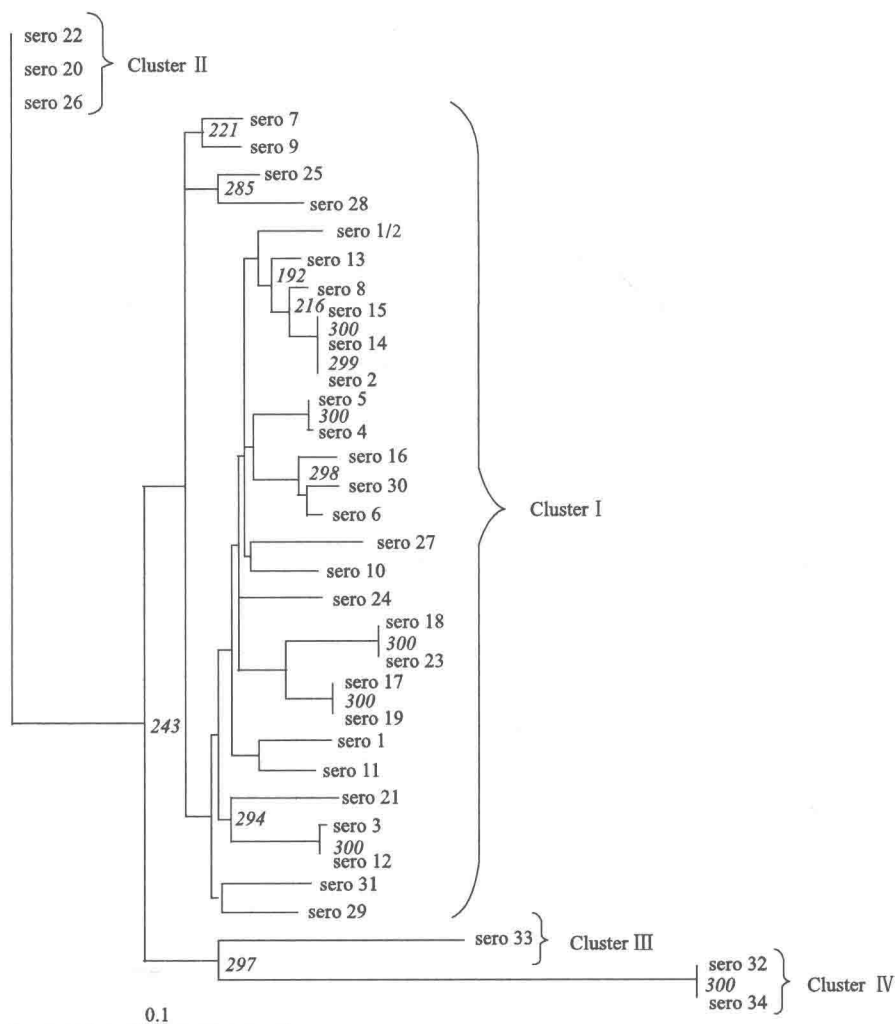


图 1-2 *cpn60* 序列分析聚类图

五、抵抗力

猪链球菌广泛存在于自然界，常污染环境，在粪便、灰尘及水中能存活较长时间。在 60℃ 水中可存活 10min，水温降至 50℃ 则可延长至 2h；4℃ 时，在动物尸体中可存活 6 周 (Clifton-Hadley et al., 1986)；0℃ 时，在尘土中可存活 1 个月，在粪便中可存活 3 个多月 (104d)；25℃ 时在灰尘和粪便中分别能存活 24h 及 8d (Clifton-Hadley and Enright, 1984)。

第三节 遗传学特征

猪链球菌基因组全长序列的测定对于研究和鉴定其毒力因子、分析菌株的致病机制，以及促进新药和疫苗的研制都具有重要意义。

现在已经有 20 株猪链球菌完成全基因组测序，包括血清型 1/2 型、1 型、2 型、3 型、4 型、7 型、9 型和 14 型，以 2 型为主 (10 株)。另有 76 株公布了部分序列。猪链球菌基因组大小在 2.1Mb 左右，G+C 含量约为 40%。

不同血清型的菌株，同一血清型中不同分离来源或不同毒力水平的菌株，其基因组均存在明显差异。作为猪链球菌感染的主要血清型，猪链球菌 2 型强毒菌株和弱 (或无) 毒菌株在基因组水平上更是差异显著，表现在基因组大小、基因组成等方面。大多数弱毒菌株基因组比强毒菌株基因组偏大，而且强、弱毒株也存在各自特有的基因。这些差异对毒力因子和致病机制的研究具有重要意义。

第四节 毒力因子

猪链球菌不同血清型的毒力不一样，同一血清型的菌株引起的疾病谱也不完全相同。不同的猪链球菌 2 型菌株的毒力亦有差异，取决于其所含有的毒力因子种类。到目前为止，猪链球菌 2 型菌株的致病机制尚不完全清楚。近期，毒力因子的研究大多采用缺失-动物毒力试验为主要流程的鉴定方法，一方面，虽有报告可以用的动物模型有微型猪、不同品系的小鼠和斑马鱼等，但未被广泛认可；另一方面，毒力因子判断的方法也存在问题，因为采用缺失某基因后，缺失株毒力是否下降来判断该基因是否为毒力因子的方法存在片面性。

下文中毒力因子英文缩写中大写表示蛋白，小写表示对应的基因。

一、主要毒力因子

(一) 荚膜多糖 (capsular polysaccharide, CPS)

猪链球菌会分泌黏性物质，并使之包裹于自身细胞壁外，从而形成荚膜