

# 1 株马源致病性蜡样芽孢杆菌的分离与鉴定

王玉田<sup>1</sup>, 王承民<sup>2</sup>, 刘艳华<sup>3</sup>, 何宏轩<sup>2</sup>, 金银姬<sup>1</sup>, 刘鑫<sup>1</sup>, 白煦<sup>4</sup>, 李志衍<sup>1</sup>, 郑瑞峰<sup>1</sup>

(1. 北京市畜牧总站, 北京 朝阳 100107; 2 中国科学院动物研究所, 北京 朝阳 100101;

3. 北京农道众联农业科技有限公司, 北京 海淀 100086; 4. 中国马业协会, 北京 朝阳 100125)

中图分类号: S852.6

文献标志码: B

文章编号: 0529-6005(2016)11-0052-02

蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)是革兰阳性需氧产芽孢杆菌,一种广泛分布于土壤、水、空气、饲料、食品和环境中的产芽孢杆菌。该菌为条件致病菌,容易污染食物和饲料,也可引起牛乳房炎、子宫内膜炎,但还未见马感染该菌的报道。

2015年5月,北京市某马术俱乐部赛马皮肤下有直径2~3 cm大小的脓肿结节。结节逐渐增大,突起于皮肤表面,变成脓肿,然后破溃流出黄白色或淡红色脓液,逐渐形成溃疡。溃疡高于皮肤表面如蘑菇状或周围突起中间凹陷,易于出血,不易愈合。溃疡不断地分泌出脓性分泌物,使病灶附近的毛粘结成痂皮,检测内容和结果报告如下。

## 1 材料与方 法

1.1 病料来源 (1)脓汁:对没有破溃脓包皮肤用碘酊和75%医用消毒酒精消毒,用无菌注射器吸取或用消毒棉签蘸取脓汁,放入营养肉汤培养基中;(2)血液:前腔静脉无菌采集静脉血5 mL,注入血液增菌培养基中。

1.2 细菌分离培养、生化鉴定 营养肉汤和血液培养基37℃厌氧和需氧培养48 h增菌;将脓汁样本涂抹于新鲜血液和巧克力琼脂培养基培养;用革兰染色镜检,观察细菌形态,多次分离纯化,得到纯化细菌<sup>[1]</sup>。接种各种糖发酵培养基进行糖发酵试验,吡啶试验、甲基红试验、V-P试验、触酶试验、硫化氢试验、淀粉水解试验、D-阿拉伯糖试验、青霉素抑制试验、观察生化反应特性<sup>[2]</sup>。

1.3 细菌16S rDNA的检测 取分离到细菌的DNA作为模板,用细菌菌种鉴定通用引物(7F:5'-CAGAGTTTGTATCCTGGCT-3', 1540R:5'-AGGAG-GTGATCCAGCCGCA-3'; 27F:5'-AGTTTGATC-MTGGCTCAG-3', 1492R:5'-GGTTCCTTGTTACGACTT-

3')进行PCR扩增。扩增产物送上海生工生物工程技术服务有限公司进行测序。测序结果提交GenBank,并与其他芽孢杆菌进行比对,确定16S基因型。

## 2 结果与分析

2.1 细菌培养特征 经鲜血琼脂培养基和巧克力琼脂培养基生长良好。菌落浅灰色,毛玻璃状,伴有草绿色溶血和透明溶血环。在鲜血琼脂培养基上呈明显β型溶血(见中插彩版图1A)。菌体两端钝圆,单个或长链状排列,无荚膜,有鞭毛,能运动。芽孢呈椭圆形,位于中央或近端。革兰染色呈阳性,可形成芽孢(见中插彩版图1B)。

2.2 细菌16S rDNA分析 芽孢杆菌群成员有13个基因型,根据16S rDNA序列差异性分析,确定该菌株16S rDNA序列(GenBank登录号为JX294967)为蜡样芽孢杆菌群(见图2)。

2.3 生化特性、药敏试验 该菌株能发酵葡萄糖、蔗糖和麦芽糖,不发酵乳糖、木糖、甘露醇和果胶糖。过氧化氢酶试验、甲基红试验(M.R.)和乙酰甲基甲醇试验(V-P)为阳性,吡啶试验和硫化氢试验为阴性。青霉素抑菌试验阴性,在高浓度处生长,排除炭疽杆菌<sup>[3]</sup>。对青霉素、氨苄西林、头孢菌素耐药;对克林霉素、红霉素、磺胺类药物敏感。分离菌生化特性符合蜡样芽孢杆菌。

## 3 讨论

3.1 通过病原检测,可以判定为蜡样芽孢杆菌感染,引起皮肤产生脓疱,破溃导致出现的淋巴管炎。病马由皮肤伤口感染,经淋巴及血液循环引起全身菌血症。通过文献检索,该菌是人医骨科创伤感染的常见菌,导致创面均有红肿、渗出和脓性分泌物。与本病例症状相符,但是在国内在马上没有报道,需引起临床兽医注意。

3.2 马传染性脉管炎是由伪皮疽组织胞浆菌引发的疾病,是真菌感染性疾病。通过涂片镜检及培养结果为阴性。应用大剂量抗生素克林霉素治疗,伤口处涂抹磺胺粉,经15 d治疗后治愈。

收稿日期:2016-08-04

作者简介:王玉田(1971-),男,高级兽医师,本科,从事动物疫病诊治工作,E-mail:646795388@qq.com

通讯作者:郑瑞峰,E-mail:1138028814@qq.com

# 鸭细小病毒变异株引起肉鸭大舌头病

贾佳丽<sup>1</sup>, 于沛江<sup>2</sup>, 王新伟<sup>2</sup>, 王群义<sup>3</sup>

(1. 河南省新乡市农牧局, 河南 新乡, 453000; 2. 山东省即墨市移风店动物卫生与产品质量监督站, 山东 即墨 266200; 3. 青岛易邦生物工程有限公司, 山东 青岛 266032)

中图分类号: S858.32

文献标志码: B

文章编号: 0529-6005(2016)11-0053-02

“大舌头病”是一种发生在肉鸭、番鸭,以鸭喙粗短,鸭舌外露,生长受阻,骨骼易断等特征为主的疾病。该病2013年首先在江苏的丰县、沛县发现,2014年发病范围扩大到山东的临沂等地,2015年山东、河南、江苏、安徽等肉鸭养殖密集区域大面积发生,给肉鸭养殖带来巨大经济损失。经流行病学调查、病原检测和血清学检测证实,“大舌头病”是由鸭细小病毒变异株引起的。

## 1 流行特点

1.1 一年四季均可发生:多发生于10-25日龄。主

要发生在樱桃谷肉鸭和商品番鸭,樱桃谷种鸭和商品蛋鸭发病较少。河南、江苏、安徽、浙江、福建、广西等省份养鸭密集的区域均有发病,个别区域如山东临沂发病率较高。

1.2 该病一旦在某个鸭场发生,往往会批批发病,发病率呈增加趋势,从首次发病的0.5%,逐渐增加到10%以上。并且向周围的养殖场传播。

1.3 发病率与病原污染程度、管理水平、鸭舍卫生、细菌继发并发感染和饲料霉变等因素有密切相关。管理水平低(如不空栏、不消毒、密度大、温度低、湿度大、通风不良等)和卫生条件差的鸭场发病率高。地面平养比网上养殖的发病率高。

1.4 病鸭药物治疗效果不明显。该病死亡率低,但残鸭率极高。从开始发病到出栏,病鸭可达10%以上。料肉比差,屠宰废弃率高达60%以上,经济损失巨大。

收稿日期:2016-07-04

作者简介:贾佳丽(1983-),女,兽医师,本科,从事动物检疫工作, E-mail:26274304@qq.com

通讯作者:王群义, E-mail:wangqunyi1977@126.com

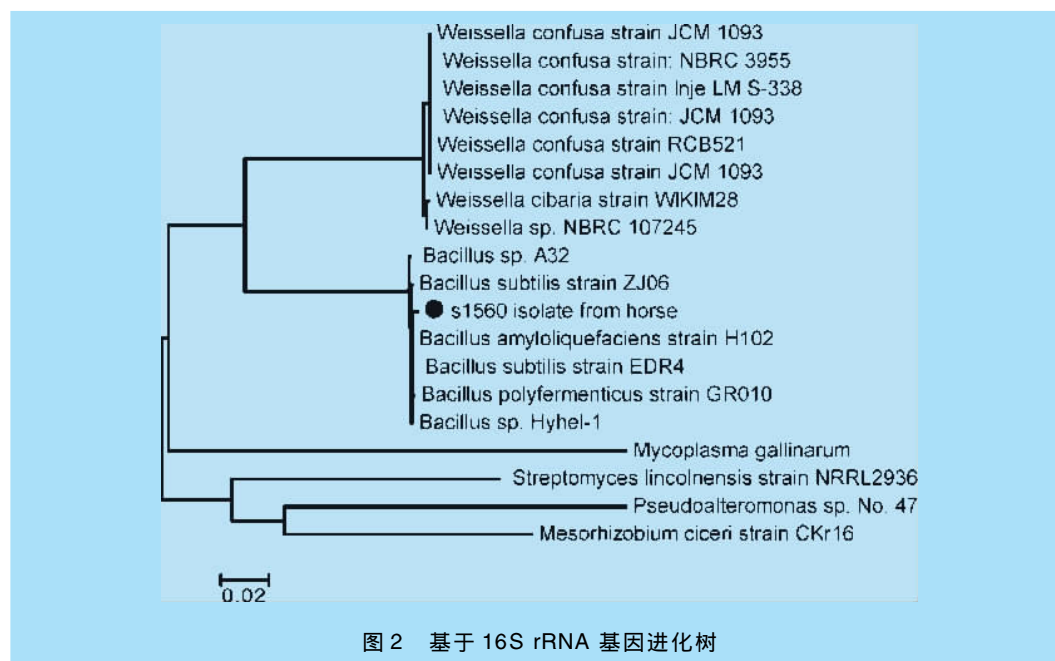


图2 基于16S rRNA基因进化树

## 参考文献:

[1] GB4789.14—2014, 食品微生物学检验 蜡样芽孢杆菌检验[S].

[2] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].北京:人民卫生出版社,2015:667-668.

[3] NY/T 561—2015, 动物炭疽诊断技术[S].

# 《动物 RNA 病毒检测关键试剂—反转录酶 ( M-MLV RTase ) 的制备》图版

(作者牛建蕊, 张鹤晓 等, 正文见第 26 ~ 28 页)

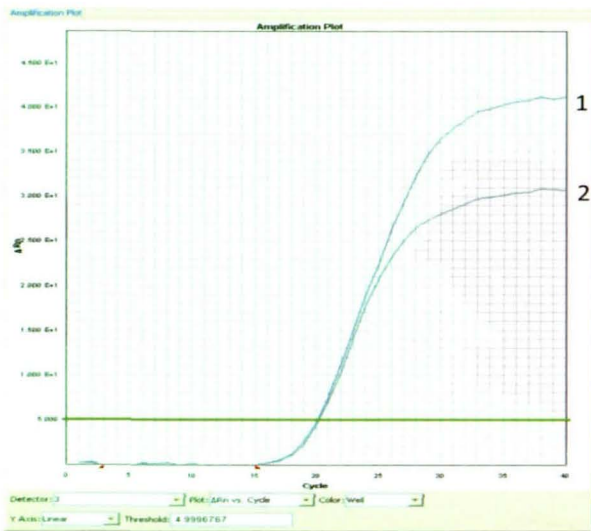


图 5 重组酶的荧光 RT-PCR 检测结果

1: 重组酶; 2: 商品酶

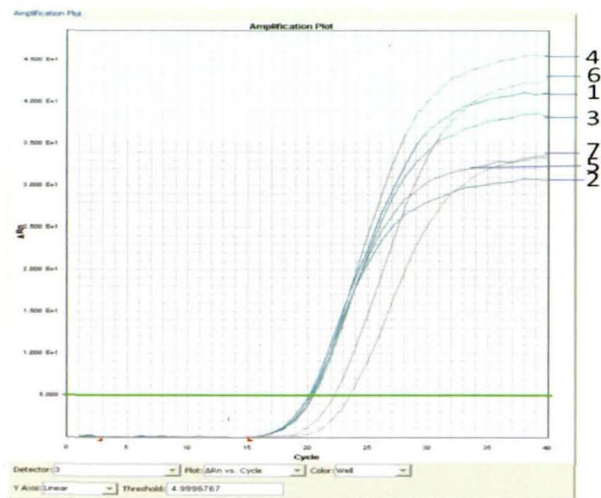


图 6 不同稀释度重组酶荧光 RT-PCR 检测结果

1: 0.5 μL (200 U/μl) 商品酶; 2: 重组酶; 3: 2 倍稀释; 4: 4 倍稀释; 5: 8 倍稀释; 6: 16 倍稀释; 7: 32 倍稀释

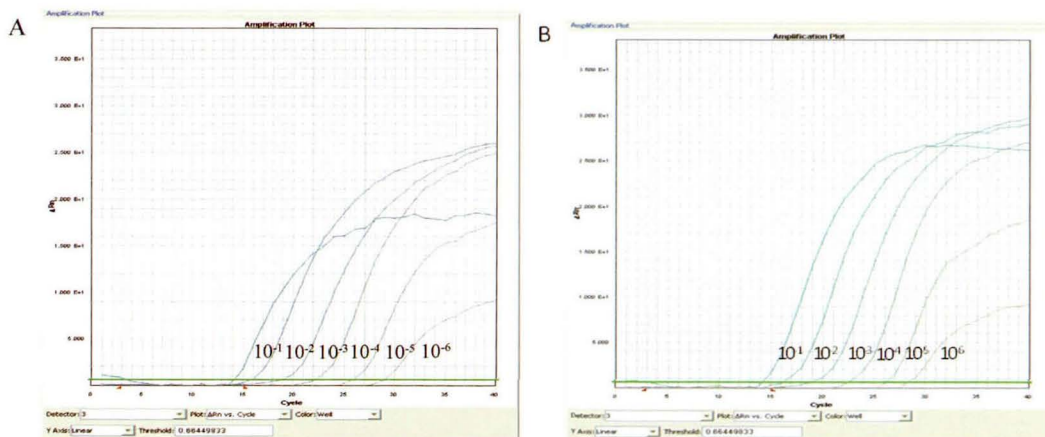


图 7 重组酶与商品酶的灵敏度检测结果

A: 商品酶荧光 RT-PCR 检测结果, 10<sup>-1</sup> 到 10<sup>-6</sup> 为待检样品的稀释倍数;

B: 重组酶荧光 RT-PCR 检测结果, 10<sup>-1</sup> 到 10<sup>-6</sup> 为待检样品的稀释倍数

# 《1 株马源致病性蜡样芽孢杆菌的分离与鉴定》图版

(作者王玉田, 郑瑞峰 等, 正文见第 52 ~ 53 页)

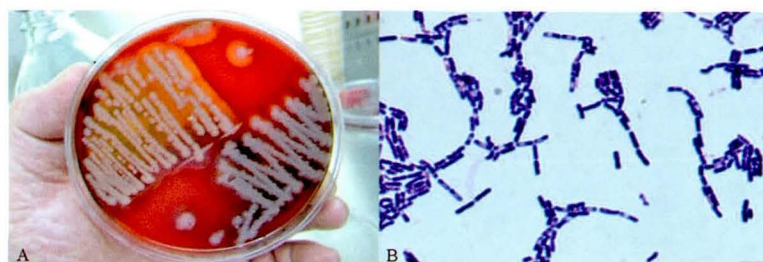


图 1 细菌形态学观察

A: 菌落浅灰色, 毛玻璃状, 呈明显 β 型溶血; B: 菌体两端钝圆, 单个或长链状排列, 无荚膜