

禽病原性大肠杆菌外膜蛋白的研究进展

高 崧 刘秀梵

(扬州大学农学院动物医学系 扬州 225009)

大肠埃希氏菌是家禽最常见的病原菌之一,可引起家禽胚胎死亡、脐炎、败血症、肉芽肿、卵黄性腹膜炎和全眼球炎等一系列疾病,给养禽业带来重大损失。禽病原性大肠杆菌大部分属 O1: K1、O2: K1 和

O78: K80^[1]。以往国内外对禽源性大肠杆菌主要根据 O 抗原分型^[1~3]。最近的研究结果显示: O2 和 O78 血清

本文受国家自然科学基金和江苏省教委自然科学基金资助
1995-05-02 收稿

型的分离株在外膜蛋白(OMP)型,菌毛和代谢特性上亦存在多态性^[4-9]。衡量大肠杆菌分离株的遗传相关性,通常采用两种方法:一是用多位点酶电泳法(multilocus enzyme electrophoresis),直接检测分离株酶位点上等位基因的多样性,这些酶的编码基因均在染色体上^[7-10];二是OMP型的测定,通过测定主要外膜蛋白及其差异,确定OMP型。

多位点酶电泳法中,每一电泳型(electrophoresis-type, ET)即为1个克隆;而OMP型测定中,每一OMP型也称1个克隆。每一克隆的分离株,都是同一祖代菌的后代^[11]。上述两种方法对分离株进行遗传学分型,多能取得一致的结果^[4-9],表明ET和OMP型均能客观地反映大肠杆菌分离株的遗传相关性,即可作其克隆标志。

近年来,国外就OMP型作禽病原性大肠杆菌O2、O78分离株的克隆标志,OMPs在禽大肠杆菌病的致病机理和免疫机理中的作用等方面进行了研究,取得了一些进展,综述如下。

1 OMP型作禽病原性大肠杆菌O2、O78分离株的克隆标志

OMP型是由主要OMPs及其差异决定的。主要OMPs的亚单位在SDS-PAGE中的分子量大约在30至40ku之间。分子量由大到小的顺序是微孔蛋白(porins)、K蛋白(Kproteins)、ompA蛋白(ompA proteins)和质粒编码蛋白(plasmid encoded proteins, PCP)。除PCP外,其余的主要OMPs亦为染色体编码,因此,主要OMPs及其迁移率的差异,也间接反映了分离株染色体上外膜蛋白编码基因的差异^[11]。

由于从禽大肠杆菌败血症病例中所分离到的病原性大肠杆菌的血清型比较一致,即O2、O78的出现率是其他血清型的2倍(52%比21%)^[12]。因此,目前国内外对禽病原性大肠杆菌OMP型的研究多限于这2个血清型。Achtman等测定了来自鸡败血症的23个O2分离株,将其归入同一OMP型^[13]。Belkebir等亦将从鸡败血症病例所分离到的3个O78分离株归入同一OMP型^[13]。我们对来自江苏地区禽败血症病例的11个O2、O78分离株的OMP型进行了初步研究,发现6个O2分离株、5个O78分离株分别属于2个OMP型,其中的1个OMP型为二者所共有^[14]。

Kapur等对来自美国、法国和西班牙的鸡、火鸡

败血症的33个O2、O78分离株的OMP型进行了测定,发现23个O2分离株属6个OMP型,10个O78分离株属3个OMP型,其中的2个OMP型为二者所共有^[14](表1)。

由表1可知,OMP型与ET有很高的符合率,即ET相同的分离株配对于同一OMP型;而ET不同者则失配于同一OMP型。在同一ET中,只有3个分离株的OMP型不同:即830127(ET1)、820970(ET3)和830121(ET4)。

在两种情形下,不同ETs的分离株具有同一OMP型(ET3和ET4拥有OMP-1; ET5和ET6拥有OMP-4),反映了这些ETs对间存在很近的遗传关系。ET3和ET4分离株间紧密相关(遗传距离=0.05),在20个酶位点中,只有1个酶位点上的等位基因不同,所以,主要OMPs型的相似性很可能说明它们刚从一共同祖代菌分化而来;ET5和ET6亦紧密相关(遗传距离亦等于0.05),且表达同样的OMP型。尽管同一OMP型中的这些分离株的ET不同,它们之间的遗传距离仍是很近的。

上述资料表明,目前普遍采用的O血清学分型法,并不能反映分离株间的遗传多态性。事实上,同一血清型的O2或O78菌株可能属于完全不同的克隆;相反,血清学上毫不相关的O2和O78分离株也可归为同一克隆。因此,O血清学分型不能作为分离株的克隆标志。

为什么在禽败血症或其他禽大肠杆菌病的分离株中,O1、O2和O78血清型的分离株居多?一种可能是:通过疾病过程本身的突变和选择作用,使得决定O1、O2和O78血清型的脂多糖抗原集中在遗传上相距很远的菌株中;另一种可能是:决定O1、O2和O78表型的基因,在禽源性大肠杆菌群体中发生了水平传递。Kapur等认为,无论上述何种情形,均存在一种与疾病相关的选择作用。该选择作用有利于增加那些遗传上相距很远但能表达O1、O2和O78抗原的菌株的出现频率与地理分布^[9]。

2 OMPs在禽大肠杆菌病的致病机理与免疫机理中的作用

近来,OMPs在禽大肠杆菌病的致病机理和免疫机理中的作用,引起了越来越多的学者的关注。

Weiser等将转座子插入一株有毒力K1大肠杆菌

表 1 禽 O2 和 O78 大肠杆菌主要克隆的 36 个代表分离株的性质

ET	分离株 代号	O 血清 型 ^a	OMP 型 ^b	地区	分离情况 ^c		
					年份	宿主	部位
1	820905	O2	5	USA(Del.)	1982	C	气囊
	820949	O2	5	USA(Del.)	1982	C	尿道
	820950	O2	5	USA(Del.)	1982	C	心
	830127	O2	6	USA(Del.)	1983	C	窦
	830137	O2	5	USA(Del.)	1983	C	心
	830153	O2	5	USA(Del.)	1983	C	肝
	830467	O2	5	USA(Del.)	1983	C	气囊
	830495	O2	5	USA(Del.)	1983	C	气囊
	830497	O2	5	USA(Del.)	1983	C	窦
	830507	O2	5	USA(Del.)	1983	C	心
2	S56	O2	3	Spain	1979	C	心
	S70	O78	3	Spain	1979	C	肝
	S72	O78	3	Spain	1979	C	心
	S84	ON	3	Spain	1979	C	肝
3	820928	O78	1	USA(Del.)	1982	C	气囊
	MT458	O78	1	France	1984	T	心血
	MT515	O78	1	France	1972	C	肺
	820970	O5	8	USA(Del.)	1982	C	肝
4	820887	O2	1	USA(Del.)	1982	C	皮肤
	820889	O2	1	USA(Del.)	1982	C	关节腔
	820917	O2	1	USA(Del.)	1982	C	血
	820981	O2	1	USA(Del.)	1982	C	心
	820983	O2	1	USA(Del.)	1982	C	骨髓
	830121	O78	2	USA(Del.)	1983	C	气囊
	830148	O78	1	USA(Del.)	1983	C	气囊
	830158	O78	1	USA(Del.)	1983	C	关节腔
	T25	O78	1	USA(Minn.)	N.D.	T	不详
	T26	O78	1	USA(Minn.)	N.D.	T	不详
5	820891	O2	4	USA(Del.)	1982	C	心
	820931	O2	4	USA(Del.)	1982	C	窦
	820964	O2	4	USA(Del.)	1982	C	肺
	MT78	O2	4	France	1977	C	气管
6	820954	ON	4	USA(Del.)	1982	C	皮肤
	MT181	O2	4	France	1984	T	肝
	MT512	O2	4	France	1972	C	气管
	MT513	O2	4	France	1972	C	输卵管

a: ON 示 O 抗原不能定型
b: USA(Del.), 美国 Delmarva 地区; USA(Minn.), 美国明尼苏达州; Spain, 西班牙; France, 法国
c: 宿主 C, 鸡; 宿主 T, 火鸡; 年份 N. D., 无资料

(ompA⁻)的染色体中,得到 ompA⁻ 突变体。两者同时接种 10 日龄鸡胚, ompA⁻ 突变体对鸡胚的致死能力显著低于 ompA⁻ 亲本株,它在鸡胚中存活和繁殖数量亦比后者低 10 倍,且对经补体激活旁路产生的杀菌作用更敏感。若用大肠杆菌 K-12 菌株的 ompA 基因对突变体进行矫正,则后者重新获得与亲本株同等的毒力。由此可见, ompA 可增强 K1 大肠杆菌的毒力,该作用也许是通过增强菌株抵抗血清的杀菌作用而实现的^[15]。

Fantinatti 等对 17 株来自禽大肠杆菌败血症的分离株的 OMP 型进行了研究,发现无毒力或低毒力菌株中缺少 40.7 和 28.8ku 的 2 条带,它们只出现于有毒力菌株^[6]。Nolan 等通过对一株禽病原性大肠杆菌分离株及其转座子插入突变体的 OMPs 进行分析,认为某一大于 16.2ku 的外膜蛋白与该分离株的抗补体结合作用和毒力有关^[7]。

Bolin 等用兔抗禽大肠杆菌铁调节 OMPs 抗体对鸡被动免疫并攻毒。结果发现,与未免疫组相比,被动免疫火鸡菌血症的出现率显著下降,表明该抗体可对火鸡败血症提供被动免疫力和保护^[18]。

3 OMP 型在禽大肠杆菌病防制中的应用前景

OMP 型不仅可用作禽病原性大肠杆菌分离株的遗传标志,而且有些 OMPs 本身即涉及禽大肠杆菌病的致病机理与免疫机理,预示着 OMP 型在禽大肠杆菌病的防制中有着广阔的应用前景。

目前,禽大肠杆菌病的控制途径之一是使用疫苗。现行疫苗的研制是建立在血清学分型的基础上,亦即由不同血清型的代表株相加而成。由于血清学分型并不能反映禽大肠杆菌分离株的遗传多态性,上述资料也已表明:同一血清型的 O2 或 O78 菌株的 OMP 型可能完全不同;当然,血清学上毫不相关的 O2 和 O78 菌株亦可属于同一 OMP 型。因此,以 O 血清型为依据选择疫苗株,很难达到理想的免疫效果。

江苏地区 11 个禽败血症大肠杆菌 O2、O78 分离株的 OMP 型研究表明,6 个 O2 分离株、5 个 O78 分离株分属 2 个 OMP 型,其中的 1 个为二者所共有,

亦即出现了 3 个 OMP 型。如果不同 OMP 型之间缺乏交叉保护能力,则在研制针对上述分离株的疫苗时,疫苗株应选择代表不同 OMP 型的 3 个菌株,而不只是代表 O 血清的 2 个菌株,否则,疫苗就不能对所有 11 个分离株的侵袭提供完全的保护。

参 考 文 献

- [1] Gross W B. Colibacillosis. In: M S Hofstad, H J Barnes, B W Calnek, C F Beard, W M Reid, and H W Yoder, Jr. (Editors) Disease of Poultry. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1984. 270 ~ 278.
- [2] 崔保安, 卢中华, 毛春生, 等. 中国兽医科技, 1993, 23 (8): 7 ~ 9.
- [3] 韦平, 李康然. 广西农学院学报, 1989, 8(2): 31 ~ 38.
- [4] Achtman M, M Heuzenroeder, B Kusecek, et al. Infect Immun, 1986, 51: 268 ~ 276.
- [5] Picard B, P Gouillet, M Contrepolis. Ann Inst Pasteur, 1988, 139: 239 ~ 242.
- [6] Suwanichkul A, B Panigraphy. Avian Dis, 1986, 30: 781 ~ 787.
- [7] White D G, R A Wilson, A S Gabriel, et al. Infect Immun, 1990, 58: 3613 ~ 3620.
- [8] Whittam T S, R A Wilson. Infect Immun, 1988, 56: 2458 ~ 2466.
- [9] Kapur V, D G White, R A Wilson, et al. Infect Immun, 1992, 60: 1687 ~ 1691.
- [10] White D G, R A Wilson, D A Emery, et al. Vet Microbiol, 1993, 34: 19 ~ 34.
- [11] Achtman M, A Mercer, B Kusecek, et al. Infect Immun, 1983, 39: 315 ~ 335.
- [12] Sojka W J, R B A Carnaghan. Res Vet Sci, 1961, 2: 340 ~ 352.
- [13] Belkebir A D M, M Contrepolis, J P Girardeau, et al. Vet Microbiol, 1988, 17: 345 ~ 356.
- [14] 高松, 刘秀梵, 张如宽. 江苏农学院学报, 1995, 16: 59 ~ 63.
- [15] Weiser J N, E C Gotschlich. Infect Immun, 1991, 59: 2252 ~ 2258.
- [16] Fantinatti F, W D Silveira, A F P Castro. Vet Microbiol, 1994, 41: 75 ~ 86.
- [17] Nolan L K, R E Wooley, C W Giddings, et al. Avian Dis, 1994, 38: 146 ~ 150.
- [18] Bolin C A, A E Jensen. Infect Immun, 1987, 55: 1239 ~ 1242.