

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.12.02

鸡滑液支原体的分离鉴定与多位点序列分型

田野¹, 朱杰², 陈玲¹, 杜鹏飞¹

(1. 中国兽医药品监察所, 北京 100081; 2. 山东滨州沃华生物工程有限公司, 山东滨州 256600)

[收稿日期] 2022-04-13 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2022) 12-0006-10 [中图分类号] S852.62

[摘要] 为研究国内鸡滑液支原体 (*Mycoplasma synoviae*, MS) 的流行情况, 2016-2021 年间从山东、四川、河北等 9 省份共计分离到 54 株 MS, 通过多位点序列分型 (multilocus sequence typing, MLST) 方法对分离株进行基因分型, 同时结合国内外的分离株信息, 进一步分析了不同菌株间的进化关系。结果表明, 54 株 MS 分离株可分为 9 种 ST 型, 分别是 34、44、93、95、96、102、103、148、153, 主要流行的 ST 型为 ST34 和 ST93; 按照进化关系可分为 A-I 共 9 类, 其中最主要的流行株为 A 类和 E 类。通过对国内外 MS 流行株进行遗传进化分析, 可依据地域将其分为亚洲株、欧洲株、北美株和其他株, 其中中国分离株有独特的地域进化分支。本研究结果丰富了国内的 MS 流行病学数据, 对防控与净化 MS 具有重要意义。

[关键词] 鸡滑液支原体; 分离; 多位点序列分型

Isolation, Identification and Multilocus Sequence Typing of *Mycoplasma synoviae*

TIAN Ye¹, ZHU Jie², CHEN Ling¹, DU Peng-fei¹

(1. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China;

2. Shandong Binzhou Wohua Biological Engineering Co., Ltd., Binzhou, Shandong 256600, China)

Abstract: This study aims to research the epidemic situation of *Mycoplasma synoviae* (MS) in China. Between 2016 and 2021, 54 MS strains were isolated from nine provinces, including Shandong, Sichuan, and Hebei. These strains were genotyped using multilocus sequence typing (MLST). The evolutionary relationships of different strains were analyzed using gene sequences with china isolates and foreign isolates. The results indicated that 54 MS strains were classified into nine ST types, including 34, 44, 93, 95, 96, 102, 103, 148, and 153. According to the evolutionary relationship, they could be divided into nine groups from A to I, with the most popular strains belonging to groups A and E. The phylogenetic analysis of MS epidemic strains worldwide revealed that they might be classified as Asian strains, European strains, North American strains, and other strains. Among them, Chinese strains have a unique evolutionary relationship. The results of this study enriched the epidemiological data and were of great significance for the prevention and eradication of MS in China.

Key words: *Mycoplasma synoviae*; isolation; multilocus sequence typing

鸡滑液支原体 (*Mycoplasma synoviae*, MS) 可引起鸡和火鸡的呼吸道感染及传染性滑膜炎等病症,它可通过直接接触或呼吸道进行水平传播,也可以垂直传播,近年来在我国鸡群中广泛流行,造成了严重的经济损失。

目前,MS 只有一个血清型,因此需要通过基因分型进一步明确 MS 的流行情况。通过 MS 基因型进行溯源分析,对于制定有效的预防、控制和根除MS的策略是至关重要的。常用的方法是通过 *VlhA* 基因进行分型,这是一种简单、经济的分型方式,但是区分度不足,适用于初步研究^[1]。目前,EL - Gazzar 等^[2]建立了多位点序列分型 (Multilocus sequence typing, MLST) 方法,依靠多个管家基因积累的突变点进行分型,具有较好的分型效果。本研究针对 2016 - 2021 年间分离的 MS 菌株进行测序,同时结合 NCBI 基因库中的国内外 MS 菌株的数据进行 MLST 分型并建立进化树,以明确国内 MS 流行株所属的基因型及相互之间的进化关系,为我国养鸡业的 MS 防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 病料来源 样品为来自山东、四川、河北、湖北、辽宁、安徽、江苏、黑龙江、宁夏共 9 省份疑似爆发 MS 感染鸡场的鸡腿、拭子等病料。

1.2 主要试剂 氯化钠、氯化钾、磷酸氢二钠、磷酸氢二钾、硫酸镁等盐类购自国药集团,支原体培养基采用改良 Frey 氏培养基(购自 OXOID),辅酶购自罗氏。细菌 DNA 提取试剂盒和 PCR mix 购自北京全式金生物技术有限公司。

1.3 菌株的分离、纯化及鉴定 将关节液或拭子溶解在 MS 液体培养基中,通过 0.45 μm 滤器过滤除菌。将过滤液在 37 ℃ 恒温箱中培养 1 ~ 3 d,待变色后保种。将培养物 10 倍倍比稀释,选取合适的稀释度接种支原体固体培养基,在 5% CO₂ 培养箱中培养 3 ~ 7 d 后挑取单菌落,按同样方法进行 3 代的纯化后,使用明胶蔗糖保护剂进行冻干保种。通过 OIE 推荐的 MS 特异性引物进行分离株的鉴定 (MS 1 - GAGAAGCAAAATAGTGATATCA ; MS2 - CAGTCGTCTCCGAAGTTAACAA)^[3]。

1.4 多位点序列基因分型

1.4.1 DNA 提取 取纯化保种的 MS 冻干菌种复溶,按照 DNA 提取试剂盒说明书进行 MS 分离株基因组模板的提取,置于 -20 ℃ 条件下暂存。

1.4.2 引物合成 MLST 引物参考 El - Gazzar M 等^[2]建立的 MLST 方法设计,送生工生物工程 (上海)股份有限公司进行合成。

表 1 引物信息
Tab 1 Primer information

引物	引物 5' - 3'	扩增片段/bp
<i>Adk</i> - F	GCTTTGGATTAGATTTCWGAGCTA	498
<i>Adk</i> - R	TTCTTATGCGGAATGCCAGGTT	
<i>atpG</i> - F	GCTACAATTTTCGGTTATTTCTTGAG	669
<i>atpG</i> - R	ATGCTATGCAGYTGTTTCTACTT	
<i>Efp</i> - F	CGACATATTTACCGGTTTCAGTT	450
<i>Efp</i> - R	CTGGAATTACATTTCAAGATTCAGGAA	
<i>Gmk</i> - F	TCAATGTCTAACTCCTTGTGAAGA	470
<i>Gmk</i> - R	TTTACAGGTCCATCAGGTGTT	
<i>nagC</i> - F	CCGATTATTCGCGCTTATT	708
<i>nagC</i> - R	ATYGGGGGCACTTCTATTAAAT	
<i>Ppa</i> - F	AGTAATTGAAATCCAAAAGGCTCA	453
<i>Ppa</i> - R	AACTATATTTCTCTGGATGTTTTTCTT	
<i>recA</i> - F	CTTTACCTTGCGCTACGTTATT	711
<i>recA</i> - R	TTCGAAAAGAATCTATTATGGTTC	

1.4.3 MLST 目的基因扩增 PCR 扩增体系 (50 μL): 2 × EasyTaq PCR SuperMix 25 μL, 上游引物 F (10 μmol/L) 2 μL, 下游引物 R (10 μmol/L) 2 μL, ddH₂O 18 μL, DNA 模板 3 μL, 共 50 μL。反应程序: 95 ℃ 预变性 3 min; 94 ℃ 变性 30 s, 54 ℃ 复性 30 s, 72 ℃ 延伸 90 s, 共 45 个循环; 72 ℃ 延伸 5 min。取 8 μL PCR 产物通过 1% 琼脂糖凝胶进行电泳分析。

1.4.4 测序及序列分析 将 PCR 产物送往生工生物进行测序,将测序结果用 Bio Edit 进行编辑处理。

1.4.5 MLST 分型 用 DNASTAR Lasergene 7.1 将测序的片段进行比对、剪切掉多余部分。整理后的 *Adk*、*Ppa*、*Gmk*、*nagC*、*Efp*、*atpG*、*recA* 测序片段在

PubMLST 官网上进行等位基因的查找 (https://pubmlst.org/bigsdb?db=pubmlst_msynoviae_seqdef&page=sequenceQuery), 并根据 7 个等位基因确定 ST 型 (https://pubmlst.org/bigsdb?db=pubmlst_msynoviae_seqdef&page=profiles&scheme_id=1)。

1.4.6 进化树的建立 将 *Adk*、*Ppa*、*Gmk*、*nagC*、*Efp*、*atpG*、*recA* 基因连接, 通过 Mega6.0 软件完成进化树构建, bootstrap 设置为 1000, 使用的 MS 参考株信息见表 2。

表 2 MS 参考株信息
Tab 2 Information of MS reference strains

aliases	country	year	ST	aliases	country	year	ST
MS53	Brazil	2003	1	Z6	China	2016	96
MS-H	Australia	1987	2	Anhui/2018-1	China	2018	97
WVU GA	USA	1955	3	Jiangsu/2018-1	China	2018	98
K1968	USA	1985	4	Jiangsu/2018-3	China	2018	99
F10	USA	1971	5	Jiangsu/2018-5	China	2018	100
FMT	USA	1979	6	Jiangsu/2018-6	China	2018	101
K3344	USA	1992	7	Anhui/2019-1	China	2019	102
K5091	Argentina	/	8	Z82	China	2020	102
K5230	Israel	/	9	QingdaoYB	China	2015	103
K5079	USA	2001	11	Z2	China	2016	103
K5420	USA	2001	13	Henan/2019-1	China	2019	104
K4822B	Canada	1999	14	IZSVE/6642/D11/3	Italy	2011	105
ZR34-18	USA	2010	17	IZSVE/4418/D14/6	Italy	2014	106
ZR43	USA	2010	18	IZSVE/5502/D15/3	Italy	2015	107
ZR59	USA	2010	19	IZSVE/5872/D15/3	Italy	2015	108
MYCAV 186	Hungary	2015	21	IZSVE/554/MAV16/1	Italy	2016	110
MYCAV 189	Ukraine	2015	21	IZSVE/470/MAV17/71	Italy	2017	111
MYCAV 303	Russia	2016	21	IZSVE/4828/D13/1	Italy	2013	112
IZSVE/5715/D12/4	Italy	2012	21	IZSVE/1353/D14/1	Italy	2014	113
ZR133	USA	2011	23	IZSVE/2005/MAV17/1	Italy	2017	114
ZR156	USA	2012	25	IZSVE/3400/D15/1	Italy	2015	115
ZR170	USA	2012	26	IZSVE/4444/D13/23	Italy	2013	116
ZR233	USA	2013	29	IZSVE/3681/MAV17/1	Italy	2017	117
ZR242	USA	2013	30	IZSVE/1687/D15/1	Italy	2015	118
Shandong/2019-4	China	2019	34	IZSVE/346/MAV19/1	Italy	2019	119
Z60	China	2019	34	IZSVE/1722/MAV16/5	Italy	2016	120
K1968/clone ZC3	USA	1983	42	IZSVE/86/D12/2	Italy	2012	121
MYCAV 215	Hungary	2015	43	IZSVE/1594/MAV17/3	Italy	2017	122
WVU 1853T	USA	/	44	IZSVE/3301/MAV/17/1	Italy	2017	123
MYCAV 365	Hungary	2017	44	IZSVE/3214/MAV17	Italy	2017	124

续表							
aliases	country	year	ST	aliases	country	year	ST
IZSVE/3291/D13/2	Lebanon	2013	44	IZSVE/6681/D13/7	Italy	2013	125
Z1	China	2016	44	IZSVE/1021/MAV18	Italy	2018	126
MYCAV 237	Romania	2015	58	IZSVE/7106/D11/12	Italy	2011	127
IZSVE/589/D14/1	Italy	2014	60	IZSVE/2974/D14/1	Italy	2014	128
IT2/A	Slovenia	2002	61	IZSVE/2395/MAV17/2	Italy	2017	129
MYCAV 217	Hungary	2015	62	IZSVE/3035/MAV17/1	Italy	2017	130
MYCAV168	Czech Republic	2015	63	IZSVE/3304/MAV17/10	Italy	2017	132
MYCAV 185	Hungary	2015	64	IZSVE/1807/MAV16/2	Italy	2016	133
IZSVE/3274/MAV16/3	Spain	2016	65	IZSVE/5524/D13/6	Italy	2013	135
IZSVE/4663/D13/2	Italy	2013	66	IZSVE/10559/MAV19	Italy	2019	136
MYCAV 188	Hungary	2015	67	IZSVE/252/MAV19/1	Italy	2019	137
IZSVE/3757/D13/2	Italy	2013	68	IZSVE/6709/D14/1	Italy	2014	138
IZSVE/6077/D12/1	Tunisia	2012	69	IZSVE/4004/D13/3	Italy	2013	139
MYCAV 191	Hungary	2015	70	IZSVE/2347/VR20/1	Italy	2020	140
IZSVE/4498/D13/2	Italy	2013	71	IZSVE/370/VR20/14	Italy	2020	141
IZSVE/740/D1517	Italy	2015	72	IZSVE/4742/VR/20/2	Italy	2020	142
IZSVE/4599/D15/2	Italy	2015	73	IZSVE/6700/VR20/1	Italy	2020	143
IZSVE/5871/D15/2	Italy	2015	74	IZSVE/6707/VR20/1	Italy	2020	144
MYCAV79	Hungary	2014	76	Anhui/2020 – 1	China	2020	145
MYCAV 173	Russia	2015	77	IZSVE/9479/VR20	Italy	2020	146
MYCAV 281	Hungary	2016	78	Anhui/2020 – 2	China	2020	147
MYCAV167	Hungary	2015	79	Z85	China	2020	148
IZSVE/244/D13/1	Lebanon	2013	80	IZSVE/13083/VR/20/17	Italy	/	149
IZSVE/560/D13/1	Jordan	2013	81	IZSVE/13092/VR/20/51	Italy	/	150
IZSVE/564/D13/3	Jordan	2013	82	JS/ZX312/2021	China	2021	151
IZSVE/5914/D13/1	Italy	2013	83	GZ/ZRX4/2021	China	2021	152
IZSVE/3007/MAV16/1	Italy	2016	84	Z88	China	2020	153
IZSVE/2376/D15/1	Italy	2015	86	SD2/2020	China	2020	154
IZSVE/2958/MAV16/11	Spain	2016	87	IZSVE/6055/VR/21/1	Italy	2021	155
IZSVE/5872/D15/3	Italy	2015	88	11091231	USA	2021	156
Ningxia/2018 – 4	China	2018	90	MS2143	USA	2021	157
Ningxia/2018 – 6	China	2018	91	IZSVE/7794/VR/21/1	Italy	2021	158
Ningxia/2018 – 8	China	2018	92	MS2143	USA	2021	159
Anhui/2019 – 2	China	2019	93	IZSVE/8830/VR/21/11	Italy	2021	160
Z37	China	2019	93	IZSVE/8901/VR/21/11	Italy	2021	161
Shandong/2017 – 1	China	2017	94	IZSVE/7518/VR/21/6	Italy	2021	162
Shandong/2018 – 1	China	2018	95	IZSVE/7580/VR/21/6	Italy	2021	163
Z13	China	2017	95	IZSVE/7229/VR/21/6	Italy	2021	164

2 结果

推荐的 PCR 方法^[3],共分离到 MS 菌株 54 株,菌株

2.1 菌株的分离、纯化、鉴定结果 根据支原体菌 详细信息见表 3。

落在固体培养基上呈“煎蛋状”的特征,结合 OIE

表 3 MS 分离株 ST 分析结果

Tab 3 ST analysis results of isolated strains

名称	来源	分离年份	<i>adk</i>	<i>atpG</i>	<i>epf</i>	<i>gmk</i>	<i>nagC</i>	<i>ppa</i>	<i>recA</i>	ST
Z1	山东临沂	2016	2	3	2	3	3	19	3	44
Z2	四川成都	2016	2	3	23	3	3	2	3	103
Z3	河北张家口	2016	28	38	19	1	10	19	17	34
Z4	山东威海	2016	28	38	19	1	10	19	17	34
Z5	河北石家庄	2016	28	38	19	1	10	19	17	34
Z6	湖北武汉	2016	28	39	19	1	10	19	31	96
Z7	河北石家庄	2016	28	38	19	1	10	19	17	34
Z8	辽宁朝阳	2016	28	38	19	1	10	19	17	34
Z9	山东潍坊	2017	28	38	19	1	10	19	17	34
Z11	山东潍坊	2017	28	38	19	1	10	19	17	34
Z12	山东济宁	2017	28	38	19	1	10	19	17	34
Z13	山东德州	2017	29	38	19	1	46	19	17	95
Z19	安徽阜阳	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z20	山东潍坊	2018	28	38	19	1	10	19	17	34
Z21	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z22	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z23	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z24	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z25	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z26	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z27	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z28	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z29	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z30	江苏	2018	28	38	19	1	46	19	17	93
Z31	山东潍坊	2018	28	38	19	1	10	19	17	34
Z32	黑龙江伊春	2018	28	38	19	1	10	19	17	34
Z33	黑龙江伊春	2018	28	38	19	1	10	19	17	34
Z34	山东潍坊	2018	28	38	19	1	10	19	17	34
Z36	江苏	2019	28	38	19	1	46	19	17	93
Z37	江苏	2019	28	38	19	1	46	19	17	93
Z60	宁夏	2019	28	38	19	1	10	19	17	34
Z61	宁夏	2019	28	38	19	1	10	19	17	34
Z64	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z65	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z66	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z68	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34

续表										
名称	来源	分离年份	<i>adk</i>	<i>atpG</i>	<i>epf</i>	<i>gmk</i>	<i>nagC</i>	<i>ppa</i>	<i>recA</i>	ST
Z69	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z70	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z71	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z72	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z73	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z74	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z78	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z79	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z80	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z81	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z82	江苏	2020	28	38	19	1	10	19	32	102
Z83	河北	2020	28	38	19	23	46	26	31	148
Z84	河北	2020	28	38	19	23	46	26	31	148
Z85	河北	2020	28	38	19	23	46	26	31	148
Z86	河北	2020	28	38	19	23	46	26	31	148
Z87	河北	2020	28	38	19	1	10	19	17	34
Z88	河北	2020	28	38	19	1	10	19	4	153
Z97	安徽	2021	28	38	19	1	10	19	17	34

2.2 MS 分离株 MLST 分析结果 通过 7 个管家基因的等位基因定位,分离株的每个基因都包含 3–5 种类型(表 4),ST 型可分为 9 种(表 3),其中以 2 种 ST 型为主,分别是 34(31,占 57.4%)、93(13,占 24%),其余 7 种 ST 型较少,分别为 44(1)、95(1)、96(1)、102(1)、103(1)、148(4)、153(1)。

2.3 MS 分离株遗传进化树的建立 将中国 MS 分离株建立进化树,通过进化关系可分为 A~I 类,进化树如图 1 所示。

2.4 世界 MS 分离株遗传进化树的构建 将分离株与国内外参考株构建进化树(图 2),可发现分离株具有很强的地域性。所有菌株可分为亚洲株(中国株和西亚株)、欧洲株、北美株(NA–1、NA–2、NA–3)和其它株。其它株包含 Others–1 和 Others–2,其中 Others–1 包含大洋洲(澳大利

表 4 管家基因的种类和数量		
Tab 4 The type and quantity of housekeeping genes		
管家基因	种类数量	等位基因型(数量)
<i>ppa</i>	3	2(1)、19(49)、26(4)
<i>adk</i>	3	2(2)、28(51)、29(1)
<i>atpG</i>	3	3(2)、38(51)、39(1)
<i>epf</i>	3	2(1)、19(52)、23(1)
<i>gmk</i>	3	1(48)、3(2)、23(4)
<i>nagC</i>	3	3(2)、10(34)、46(18)
<i>recA</i>	5	3(1)、4(1)、17(46)、31(5)、32(1)

亚)、欧洲(意大利、匈牙利、西班牙)、北美洲(美国)和南美洲(巴西)等 5 个洲的分离株;Others–2 包含亚洲(中国、黎巴嫩)、欧洲(匈牙利)、北美洲(美国)等 3 个洲的分离株。

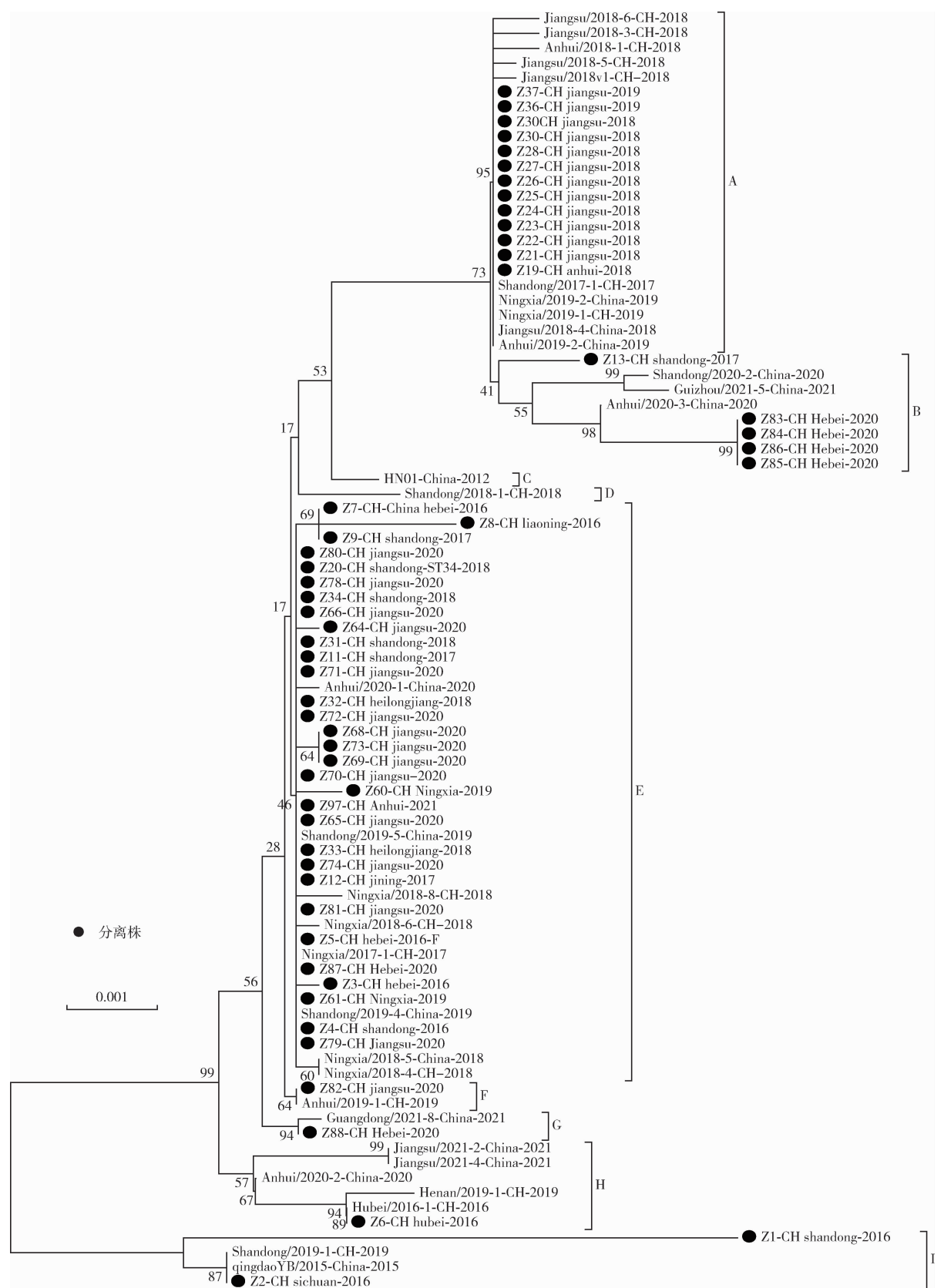


图 1 中国 MS 分离株进化树

Fig 1 Phylogenetic tree of MS isolated strains from China

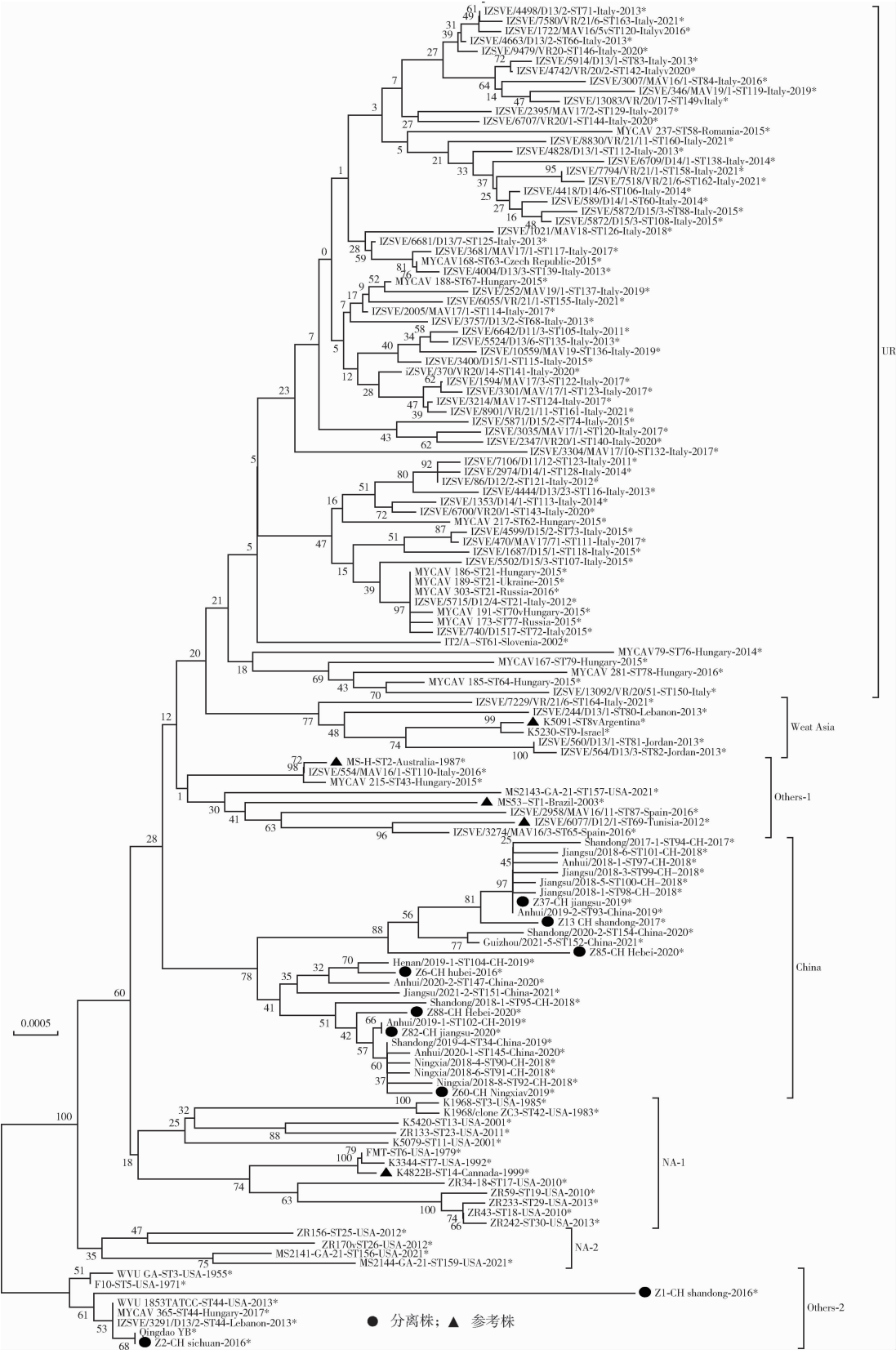


图 2 各国 MS 分类进化树

Fig 2 MS classification phylogenetic tree of each country

3 讨 论

MS 呈全球性分布,近年来包括中国在内的很多国家,MS 爆发越来越频繁,引起了国内外科研工作者和养禽业的重视。针对 2010 - 2015 年的 MS 流行情况,马爽等^[4]采用平板凝集方法对华北、华中、华南、华东、西北和东北地区 11 个省份的鸡场进行了血清学调查,表明均有 MS 感染,且抗体阳性率达 30.23% ~ 54.67%。Sun S 等^[5]对来源于 16 个省份的鸡血清进行检测,抗体阳性率高达 63%,10 周龄后的鸡阳性率最高。Xue J 等^[6]对中国 21 个省未接种疫苗的鸡群进行检测,总血清阳性率为 41.19%。2018 年,羊扬^[7]对广西省 3 个黄羽肉鸡公司的鸡群血清进行了检测,结果显示群内抗体阳性率均高于 80%。可见 MS 在我国广泛流行,情况不容乐观。

MS 目前只有一种血清型,过去十几年常用 N Jeffery 等^[8]设计的方法,即采用 *VlhA* 基因 5' 端的保守区进行基因分型,可将 MS 分为 A ~ J 等 10 种类型,是一种简单、经济的分型方式,适用于初步研究。Sun 等^[9]首次在中国发现新的 K 型基因,中国特有且该基因型属于中国最主要的基因型。谢迪等^[1]采用 *VlhA* 基因对 2016 - 2019 年我国部分地区的 48 株 MS 分离株进行了分型,46 株属于 K 型,1 株属于 A 型,1 株属于 E 型,进化树结果显示 K 型分支单一,基因亚型区分性差。

MLST 分型采用了 7 对管家基因 *Adk*、*Ppa*、*Gmk*、*nagC*、*Efp*、*atpG*、*recA*,等位基因包含的种类数量分别是 29、36、44、25、29、66、41,种类丰富。世界上已鉴定的 ST 型达 164 种之多,中国分离株的 ST 型有 23 种,分别为 34、90 ~ 104、145、147、148、151 ~ 154。MLST 分型方法可以很好的区分不同的 MS 亚群,有利于 MS 的溯源和传播规律研究。本研究采用 MLST 方法将 54 株 MS 分离株进行测序分型。54 个分离株包含 9 种 ST 型,其中 34(31,占 57.4%)、93(13,占 24%)属于优势基因型,与谢迪等^[1]研究基本一致。

统计至 2021 年 10 月,MS 的 MLST 序列有 275 份,ST 型有 164 种。其中,主要国家为中国、美国、

匈牙利和意大利 4 国,占总 MS 菌株的 85% (235/275) 以上。本研究将 MS 分离株依据进化关系和地域分为亚洲株(中国株和西亚株)、欧洲株、北美株(NA - 1、NA - 2)和其它株(Others - 1 和 Others - 2)。Others - 2 是以 MS 经典株 WVU 为代表的分支,包含了亚洲的中国、黎巴嫩,北美洲的美国和欧洲的匈牙利,共 3 个洲 4 个国家的分离株,分离株数量很少,但在 2013 - 2019 年均有分离,因此可推断它是 MS 较原始的基因型,也有可能是因为种禽引进引起的跨地域传播。在图 2 中 Others - 1 分支上,可看到澳大利亚 MS - H 分离株、非洲的突尼斯分离株 IZSVE/6077/D12/1 以及美国的 MS2143 分离株,在进化树上与部分欧洲分离的菌株相近,地缘关系远,可能与人类的交流活动有关。由以上数据可见,MS 流行的地域性比较强,只有少量交叉传播。

本研究将国内的 MS 分离株通过进化树的形式进行了分型,可分为 A ~ I 共 9 种类型。虽然全球范围内 MS 分离株的地域性很强,但是在国内各省的地域分布上相关性不强。国内主要流行的是 E 类,其次是 A、B、H 类。C 类、D 类与其它分离株进化关系比较远,很少被分离到。F 和 G 类是 2019 年后新分离的新菌株,与基因 E 型相近。关于近年 MS 爆发的主要原因,有观点认为是近年来种禽引进引起,也有观点认为是养鸡行业的快速无序扩张所致,根据本研究结果可推测本地 MS 菌株很早就存在。因此,对 MS 的综合防控需要对种源进行净化,并提升饲养管理水平,加强生物安全措施,同时采用药物和疫苗联合防控。

参考文献:

- [1] 谢迪. 2016 ~ 2019 年我国部分地区鸡滑液囊支原体的分子流行病学调查[D]. 扬州大学,2020.
Xie D. Molecular epidemiological investigation of *Mycoplasma synoviae* strains isolated from some areas of China during 2016 to 2019 [D]. Yangzhou University, 2020.
- [2] El - Gazzar M, Ghanem M, McDonald K, et al. Development of multilocus sequence typing (MLST) for *Mycoplasma synoviae* [J]. Avian Diseases, 2017, 61(1): 25 - 32.

[3] Lauerman L H, Hoerr F J, Sharpton A R, *et al.* Development and application of a polymerase chain reaction assay for *Mycoplasma synoviae* [J]. Avian Diseases, 1993, 37(3):829–34.

[4] 马 爽, 郭莉莉, 宋新宇, 等. 鸡滑液囊支原体感染的流行病学调查与分析[J]. 中国家禽, 2016, 38(023): 68–71.
Ma S, Guo L L, Song X Y, *et al.* Epidemiological investigation and analysis of *Mycoplasma synovial* infection in chickens [J]. China Poultry, 2016, 38(23): 68–71.

[5] Sun S K, Lin X, Chen F, *et al.* Epidemiological investigation of *Mycoplasma synoviae* in native chicken breeds in China[J]. BMC Veterinary Research, 2017, 13(1): 1–9.

[6] Xue J, Xu M Y, Ma Z J, *et al.* Serological investigation of *Mycoplasma synoviae* infection in China from 2010 to 2015 [J]. Poultry Science, 2017, 96(9): 3109–3112.

[7] 羊 扬, 纪凯丽, 张 欣, 等. 广西部分黄羽肉鸡场鸡滑液囊支原体感染的血清学与分子病原学检测[J]. 中国家禽, 2019, 41(6): 78–81.

Yang Y, Ji K L, Zhang X, *et al.* Serological and molecular detection of *Mycoplasma synovial* infection in yellow feather broiler in Guangxi[J]. China Poultry, 2019, 41(6): 78–81.

[8] Jeffery N, Gasser R B, Steer P A. Classification of *Mycoplasma synoviae* strains using single – strand conformation polymorphism and high – resolution melting – curve analysis of the *vlhA* gene single – copy region [J]. Microbiology, 2007, 153 (8): 2679 – 2688.

[9] Sun S, Lin X, Liu J, *et al.* Phylogenetic and pathogenic analysis of *Mycoplasma synoviae* isolated from native chicken breeds in China[J]. Poultry Science, 2017, 96(7): 2057–2063.

(编 辑:李文平)