

谭美芳,谭佳,李海琴*,等.江西部分地区临床健康猪群中副猪嗜血杆菌的血清型鉴定及耐药性调查[J].江西农业大学学报,2020,42(5):953-959.



江西部分地区临床健康猪群中副猪嗜血杆菌的血清型鉴定及耐药性调查

谭美芳,谭佳,李海琴*,曾艳兵,季华员,方绍培,杨群

(江西省农业科学院 畜牧兽医研究所,江西 南昌 330200)

摘要:【目的】调查江西省部分地区临床健康猪群中副猪嗜血杆菌的优势血清型及耐药现状。【方法】2018—2019年从江西几个规模化猪场的临床健康猪群中采集114份鼻腔棉拭子,通过菌落形态观察和PCR方法分离副猪嗜血杆菌,进行血清分型鉴定,应用Kerby-Bauer纸片扩散法测定分离菌株对17种抗生素的耐药性。【结果】共检出13株副猪嗜血杆菌,检出率为11.40%;通过PCR的方法确定江西省地区流行的优势菌株为血清13型,占比46.15%,其次分别是不可分型菌株(38.46%)、血清5型(7.69%)和血清11型(7.69%);13株副猪嗜血杆菌分离株对氨基糖苷类抗菌药(卡那霉素、链霉素)、大环内酯类抗菌药(麦迪霉素)、氨苄西林、哌拉西林耐药率较高,而对喹诺酮类抗菌药(氧氟沙星)和头孢类抗菌药敏感率可达100%;多重耐药现象突出,以3重、4重耐药菌株为主。【结论】江西省部分地区规模化猪场当前流行的副猪嗜血杆菌优势血清型为13型,头孢类、喹诺酮类抗菌素是防控副猪嗜血杆菌病发生的有效药物。目前副猪嗜血杆菌的耐药情况比较严重,猪场应多方面做好副猪嗜血杆菌的防控工作,建立完善合理的细菌病防控方案。

关键词:副猪嗜血杆菌;临床健康猪群;PCR分型;耐药性

中图分类号:S852.61*2 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2020)05-0953-07

Serotyping and Drug Resistance of *Haemophilus parasuis* in Clinically Healthy Pigs in Some Areas of Jiangxi Province

TAN Mei-fang, TAN Jia, LI Hai-qin*, ZENG Yan-bing,
JI Hua-yuan, FANG Shao-pei, YANG Qun

(Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China)

Abstract: [Objective] This study was performed for investigating the prevalent serotypes and drug resistance of *Haemophilus parasuis* present in Jiangxi Province, China. [Method] 114 nasal swabs were collected from clinically healthy pigs from several large-scale pig farms in Jiangxi Province from 2018 to 2019. The identification and serotyping of *H. parasuis* isolates were identified by PCR assays. The resistance profiles of the isolates to 17 kinds of antibiotics were determined by the Kerby-Bauer method. [Result] Results showed that 13 of *H. parasuis* isolates were identified with the positive isolation rate of 11.40%. PCR assays showed that the most

收稿日期:2020-01-23 修回日期:2020-03-25

基金项目:江西省重点研发计划项目(20171BBF60053)和江西省生猪产业体系赣抚平原试验站项目(JXARS-01)

Project supported by the Primary Research and Development Program of Jiangxi Province (20171BBF60053) and Jiangxi Modern Agriculture Pig-industry Technology Research System (JXARS-01)

作者简介:谭美芳,0000-0001-5601-8478,1136938026@qq.com; *通信作者:李海琴,助理研究员,主要从事动物疫病防控研究,0000-0003-1438-5485,278030049@qq.com。

prevalent serotype in this study were serotype 13 with a proportion of 46.15%, followed by the non-classifiable strains (38.46%), serotype 5 (7.69%) and serotype 11 (7.69%). Thirteen *H. parasuis* isolates were highly resistant to aminoglycosides (kanamycin and streptomycin), macrolides (medicin), ampicillin, and piperacillin, but were sensitive to quinolones (ofloxacin) and cephalosporins with the sensitivity rates of 100%. The phenomenon of multi-drug resistance was observed. Most of these isolates showed resistance to 3 or 4 kinds of antibiotics. [Conclusion] These results revealed that the most common serotype of *H. parasuis* in these large-scale pig farms was serotype 13. Cephalosporins and quinolones were effective drugs for the prevention and control of *H. parasuis* infection. At present, multi-drug resistance for *H. parasuis* isolates is serious. Effective prevention and control strategies of *H. parasuis* infection are needed to be performed from many aspects to establish a reasonable anti-infection system.

Keywords: *Haemophilus parasuis*; clinically healthy pigs; serotyping; drug resistance

【研究意义】副猪嗜血杆菌(*Haemophilus parasuis*, HPS)是一种非溶血、不运动的革兰氏阴性、多形态杆菌,属于巴斯德菌科嗜血杆菌属,是正常猪群上呼吸道的一种常在的条件性致病菌,生长依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD或V因子),可引起猪的多发性浆膜炎、脑膜炎和关节炎^[1]。随着养猪业的规模化、集约化发展,副猪嗜血杆菌已成为近年来危害养猪业的重大生猪疫病之一,呈世界性分布^[2]。副猪嗜血杆菌只感染猪,且可感染不同阶段的猪群,主要在断奶前后和保育阶段发病,也在某些病毒性疾病暴发后继发感染,发病率一般在10%~15%,严重时死亡率可达50%^[3]。此外,副猪嗜血杆菌还可引起败血症,并且在急性感染后可能留下后遗症,即母猪流产、公猪慢性跛行^[3]。近年来副猪嗜血杆菌病在我国的发病率和死亡率均呈显著上升趋势,给养猪业造成严重经济损失^[4]。因此,在临床实际中对副猪嗜血杆菌进行流行病学调查和耐药性监测,有助于正确选择有效药物来防控副猪嗜血杆菌病的暴发,并降低耐药菌株和耐药基因水平传播的风险,促进养猪业健康绿色发展。【前人研究进展】副猪嗜血杆菌的血清型较多,目前可分为15个血清型,临床还有26%以上的分离株尚不能分型^[5]。各血清型和毒株间致病力存在很大的差异,且各血清型之间缺乏有效的交叉免疫保护,另外不同国家、地区优势流行菌株不同,因此商品化疫苗临床使用效果并不理想^[6]。副猪嗜血杆菌的血清型普遍被认为是其毒力的标志,其中血清1、5、10、12、13和14型毒力最强,4 d内引起病猪死亡或濒死;血清2、4、8和15型毒力中等,感染后死亡率较低;血清3、6、7、9和11型被认为是无毒株,感染后无明显临床症状^[7]。我国当前流行的主要血清型是4、5、12、13型和14型^[6]。目前,抗菌药物是防治副猪嗜血杆菌病的主要措施。在病症发生早期,使用抗生素能够起到延迟发病以及降低死亡率的效果^[8]。但是,长期、广泛、不合理的使用抗菌药势必导致耐药菌株不断增多、耐药谱日益扩大^[9]。

【本研究切入点】副猪嗜血杆菌在江西省部分地区规模化猪场中的流行和耐药情况尚不清楚。另外,目前对副猪嗜血杆菌的血清型分型和耐药性调查主要集中于发病猪只^[10-13],对临床的表观健康猪群中所携带的副猪嗜血杆菌的调查研究相对较少。【拟解决的关键问题】本研究选定江西省部分地区的几个规模化猪场,采集健康猪只鼻拭子并进行副猪嗜血杆菌的分离鉴定、血清分型和耐药性研究,为有效防控副猪嗜血杆菌病的发生提供科学依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 样本来源

1.1.1 临床健康猪群鼻拭子 样本来自2018—2019年江西省南昌、吉安、抚州、赣州等地的规模化猪场。在保育猪群和种猪群中随机挑选表观健康猪只共计114头,经体积分数75%酒精棉擦拭猪鼻表面后,用无菌棉签采集鼻液拭子114份。将鼻拭子保存在生理盐水中,4℃冷藏运输和保存。

1.1.2 参考菌株 本研究所用参考菌株为副猪嗜血杆菌CVCC3729,购自中国兽医微生物菌种保藏管理中心(CVCC)。本研究所用质控菌株为大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)模式菌株ATCC25922,购自青岛海博生物技术有限公司。

1.2 主要试剂

Premix Taq DNA 聚合酶、ddH₂O、DL2000 DNA marker、50×TAE 缓冲液购自大连 Takara 公司;胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)、胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)购自青岛海博生物技术有限公司;新生牛血清(无噬菌体低内毒素)购自杭州四季青生物工程材料有限公司;NAD 购自北京索莱宝科技有限公司;引物由深圳华大基因科技有限公司合成。革兰氏阴性杆菌药敏试剂盒(扩散法)购自杭州滨和微生物试剂有限公司,包含 17 种抗生素:氨苄西林(10 μg/片),氨基糖苷(30 μg/片),头孢唑林(30 μg/片),头孢噻吩(30 μg/片),头孢唑辛(30 μg/片),头孢哌酮(75 μg/片),头孢噻肟(30 μg/片),头孢曲松(30 μg/片),头孢吡肟(30 μg/片),头孢他啶(30 μg/片),头孢西丁(30 μg/片),氧氟沙星(5 μg/片),链霉素(10 μg/片),妥布霉素(10 μg/片),卡那霉素(30 μg/片),麦迪霉素(30 μg/片),哌拉西林(100 μg/片)。

1.3 细菌分离培养及初步鉴定

用无菌接种环蘸取鼻拭子液,划线接种至含 5% 新生牛血清与 0.01% NAD 的 TSA 平板上,37 ℃ 恒温培养 24 h。选取无色透明、边缘整齐、光滑湿润的圆形小菌落进行革兰氏染色,观察细菌的显微形态特征。将可疑菌落接种到新鲜的 TSA 平板上,继续划线纯培养。培养后的细菌进行 PCR 鉴定。选取 1 株确定为副猪嗜血杆菌的菌株,由武汉塞维尔生物科技有限公司通过扫描电镜观察细菌形态。

1.4 副猪嗜血杆菌的 PCR 鉴定

用煮沸法制备细菌基因组 DNA。PCR 鉴定副猪嗜血杆菌的高度保守基因(HPS_219690793, GenBank 登录号:CP020085.1),引物为:HPS-F(5'-ACAACCTGCAAGTACTTATCGGGA-3'),HPS-R(5'-TAGCCTCCTGTCTGATATTCCCAC-3')[13]。对副猪嗜血杆菌进行血清分型的引物参照 Howell 等[13]设计的 15 对 PCR 分型鉴定引物。所有的 PCR 反应体系(20 μL)均为:Taq mixture 10 μL,上游引物 1 μL,下游引物 1 μL,模板 2 μL,ddH₂O 6 μL。PCR 反应程序为:95 ℃ 预变性 3 min;95 ℃ 30 s,56 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,共 30 个循环;72 ℃ 延伸 10 min。扩增产物进行 0.8% 琼脂糖凝胶电泳。在所有的 PCR 反应中,用 ddH₂O 替代模板的 PCR 反应作为阴性对照。

1.5 药敏试验

采用 Kirby-Bauer(KB)纸片扩散法调查副猪嗜血杆菌的药敏情况,本次试验所用平板为含 5% 新生牛血清和 0.01% NAD 的 TSA 平板。详细试验步骤如下:将已纯化鉴定的菌株划线接种至 TSA 平板上,37 ℃ 恒温培养 24 h;用无菌棉拭子蘸取 3~5 个单菌落,置于 1 mL 灭菌生理盐水中稀释,将菌悬液浓度调整至 0.5 麦氏比浊度;另取无菌棉拭子浸润菌悬液,在管壁上旋转挤压几次,均匀涂布到新鲜 TSA 培养基表面;平板在室温下干燥 3~5 min,用镊子取药敏片贴在琼脂表面,轻轻压平;贴好药敏片后 15 min 内,将平板在 35 ℃ 条件下恒温倒置培养 24 h。培养后取出平板,用毫米尺量取抑菌圈直径,抑菌环的边缘以肉眼看不见细菌为限,根据药敏试剂盒说明书判读结果,以敏感(S)、中介(I)、耐药(R)报告。

2 结 果

2.1 副猪嗜血杆菌的分离纯化和形态观察

本研究采集 114 份临床健康猪群的鼻液拭子,划线接种于 TSA 培养基表面,挑选圆形隆起、无色透明、光滑湿润的细小露珠样菌落,菌落直径约为 0.5~1.0 mm,自然光下呈现淡蓝色,进一步划线纯化。副猪嗜血杆菌具有多种不同的形态,从单个的革兰氏阴性小杆菌到长的、细长的,甚至丝状的菌体[14]。通过菌落形态和细菌形态观察(图 1),共分离纯化得到 13 株疑似菌株。

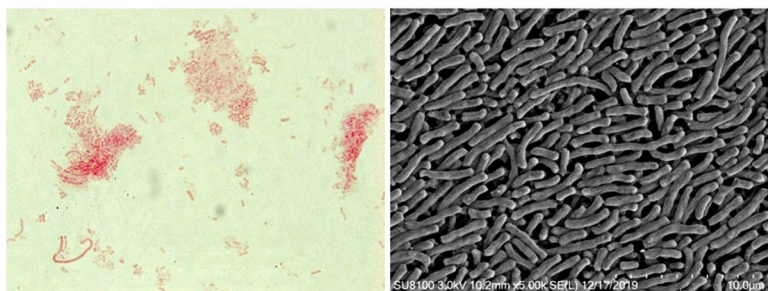
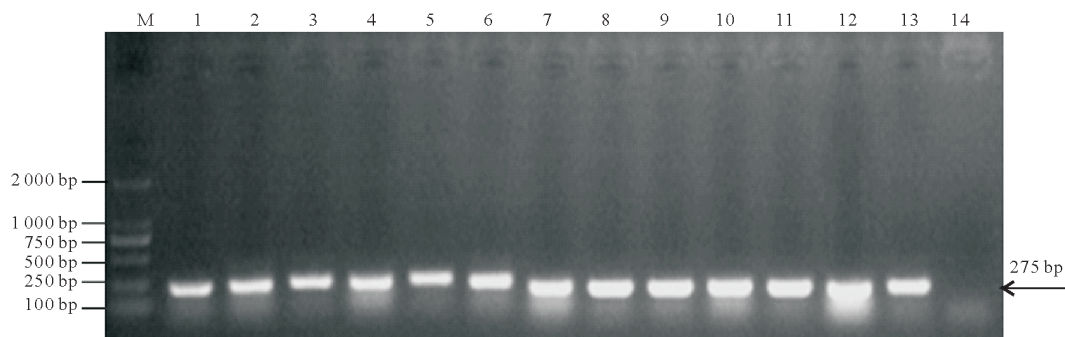


图 1 革兰氏染色(左,1 000×)与透射电镜(右,5 000×)

Fig.1 Gram staining(left, 1 000×) and transmission electron microscopy(right, 5 000×)

2.2 副猪嗜血杆菌的 PCR 鉴定

采用 PCR 的方法检测副猪嗜血杆菌的高度保守基因,结果显示,13 株细菌均能扩增得到 275 bp 的条带(图 2),与预期条带大小相符,证实该 13 株疑似菌株均为副猪嗜血杆菌,检出率为 11.40%(13/114)。



M: DL2000 DNA Marker; 泳道 1~13: 编号 HPS01~13 的待鉴定菌株; 泳道 14: 阴性对照

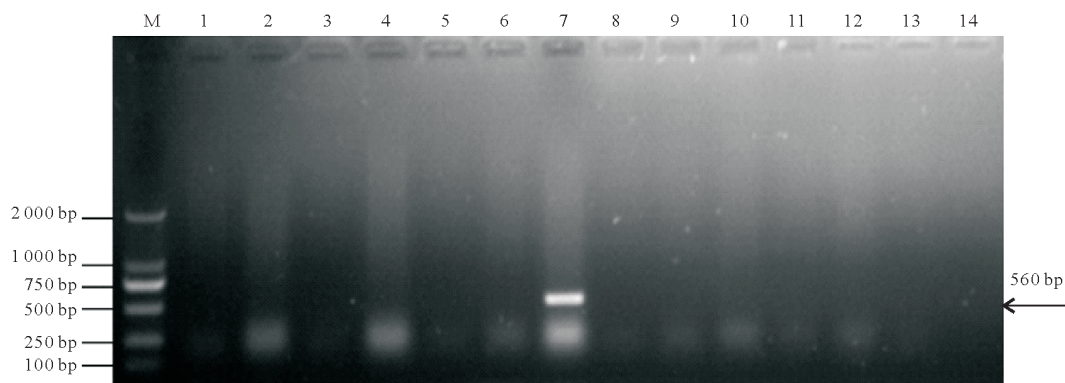
M: DL2000 DNA Marker; Lane 1~13: Strain HPS01~13 to be identified; Lane 14: the negative control

图 2 13 株副猪嗜血杆菌的 16S rRNA 扩增结果

Fig.2 PCR amplification of HPS 16S rRNA

2.3 血清型鉴定结果

采用 15 对 HPS 分型引物同时对上述 13 株副猪嗜血杆菌分离株进行 PCR 扩增,结果显示,除 5 株未显示条带不可分型(NT)外,其余菌株的扩增结果分别为血清 5 型 1 株(目的条带 560 bp,图 3),血清 11 型 1 株(目的条带 890 bp,图 4)和血清 13 型 6 株(目的条带 840 bp,图 5),NT、5 型、11 型、13 型的占比分别为 38.46%(5/13)、7.69%(1/13)、7.69%(1/13)、46.15%(6/13)。

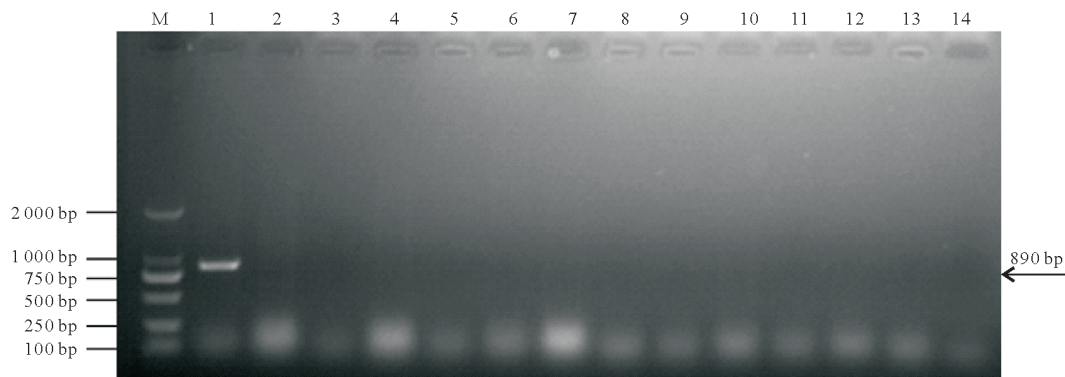


M: DL2000 DNA Marker; 泳道 1~13: HPS 菌株; 泳道 14: 阴性对照

M: DL2000 DNA Marker; Lane 1~13: HPS strains; Lane 14: the negative control

图 3 血清 5 型的 PCR 鉴定结果

Fig.3 PCR identification of HPS serotype 5

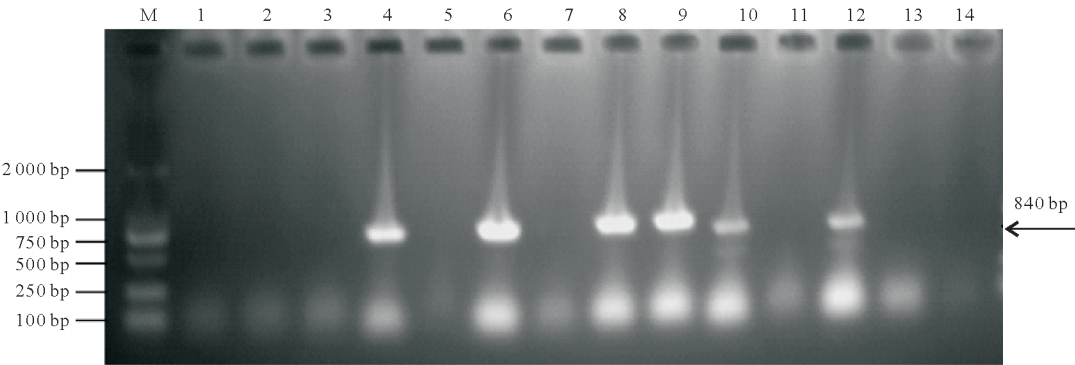


M: DL2000 DNA Marker; 泳道 1~13: HPS 菌株; 泳道 14: 阴性对照

M: DL2000 DNA Marker; Lane 1~13: HPS strains; Lane 14: the negative control

图 4 血清 11 型的 PCR 鉴定结果

Fig.4 PCR identification of HPS serotype 11



M:DL2000 DNA Marker;泳道 1~13:HPS 菌株;泳道 14:阴性对照
M:DL2000 DNA Marker;Lane 1~13:HPS strains;Lane 14:the negative control

图5 血清 13 型的 PCR 鉴定结果
Fig.5 PCR identification of HPS serotype 13

2.4 药敏试验结果

13 株副猪嗜血杆菌对 17 种抗生素的药敏试验结果显示(图 6),菌株对不同抗生素的敏感性存在较大差异。13 株分离株对氧氟沙星和大部分头孢类抗生素具有很强的敏感性,敏感率可达 100%(13/13)。对妥布霉素、氨基糖苷类和喹诺酮类也有很好的敏感性,敏感率达 92.31%(12/13)。同样是β-内酰胺类抗生素,13 株分离株对哌拉西林和氨苄西林的敏感性明显下降,耐药率分别达到 46.15%(6/13)和 61.54%(8/13);对链霉素和麦迪霉素的耐药率最高,均达到 69.23%(9/13)。

多重耐药性分析结果显示(表 1),1 株分离株不耐药,2 株耐受 2 种,4 株耐受 3 种,5 株耐受 4 种,1 株耐受 6 种,无单一耐药菌株;共呈现 10 种耐药谱。

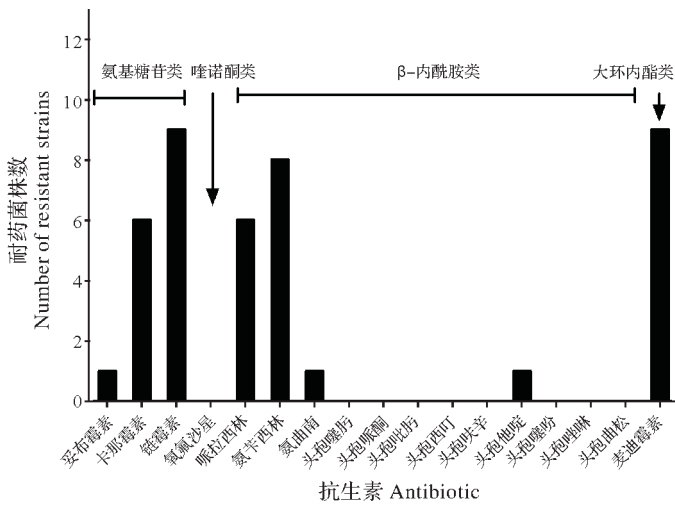


图6 抗生素耐药试验结果
Fig.6 Antibiotic resistance results

表 1 HPS 菌株的多重耐药性情况分析
Tab.1 Analysis of multi-drug resistance of HPS isolates

菌株编号 Number of isolates	耐药谱 Drug resistance phenotype	多重耐药 Multi-drug resistance
HPS01	卡那霉素+氨苄西林	2
HPS02	哌拉西林+链霉素+氨苄西林	3
HPS03	哌拉西林+卡那霉素+链霉素+氨苄西林	4
HPS04	哌拉西林+氨苄西林+麦迪霉素	3
HPS05	-	0
HPS06	哌拉西林+氨苄西林+麦迪霉素	3
HPS07	链霉素+麦迪霉素	2
HPS08	妥布霉素+卡那霉素+链霉素+氨苄西林+麦迪霉素+氨基糖苷类	6
HPS09	哌拉西林+链霉素+氨苄西林+麦迪霉素	4
HPS10	卡那霉素+链霉素+氨苄西林+麦迪霉素	4
HPS11	卡那霉素+链霉素+氨苄西林+麦迪霉素	4
HPS12	卡那霉素+链霉素+麦迪霉素	3
HPS13	哌拉西林+头孢他啶+链霉素+麦迪霉素	4

3 讨 论

副猪嗜血杆菌是条件性致病菌,通常定植在猪鼻腔、扁桃体和气管前段等上呼吸道表面,不引起临床症状^[2]。以往副猪嗜血杆菌病的发生与饲养管理密切相关,例如寒冷、湿热、氨气浓度过高、断奶、转群、去势或疫苗接种等常见应激情况,因此多呈散发^[8]。但是随着养猪业生产模式的快速转变和免疫抑制性病毒(猪繁殖与呼吸综合征病毒、猪圆环病毒、猪流感病毒等)的出现,副猪嗜血杆菌病成为常见的危害严重的猪呼吸系统疾病之一^[8]。自2006年发生高热病以来,临床上副猪嗜血杆菌病常以继发病病毒感染或混合病毒感染存在,加重了病猪的临床症状和病理变化^[6]。因此,副猪嗜血杆菌病的发生意味着猪场管理方面存在问题或猪场发生免疫抑制性病毒感染,猪群免疫能力下降所致^[8]。

疫苗免疫接种是预防副猪嗜血杆菌病最有效的方式^[6]。副猪嗜血杆菌的血清型种类较多,不同地区、不同猪场其流行菌株的血清型存在差异,而且不同血清型之间缺乏交叉免疫保护^[6]。本研究在表现健康猪群中分离出13株副猪嗜血杆菌,经过分型,发现血清13型占比最高,为优势血清型,其次是NT型、血清5型、血清11型。2014年华中农业大学动物疫病诊断中心对全国21个省市送检的12 452份临床病料进行细菌分离和鉴定,从中分离到致病菌3 926株,其中副猪嗜血杆菌占比22.49%,优势血清型为血清4型、5型和13型^[15]。2017—2018年河南省规模化猪场流行的优势菌株为血清5型、7型和4型^[13]。2008—2017年安徽地区副猪嗜血杆菌的主要流行血清型为4型和13型^[11],可见血清型流行情况具有明显的地方特征性。因此,做好猪场流行菌株的血清型检测、选择对型的疫苗株,是防控该病的关键。有条件的规模化猪场有必要对本场猪群抗体定期监测和评估,并尽可能选择与本场主要流行血清型相符合的疫苗进行合理免疫,以增强保护力^[15]。

抗菌药物的使用是控制副猪嗜血杆菌病最有效的手段^[6]。由于长期、广泛和不合理使用抗菌药,猪群对抗菌药物的依赖性不断增加,导致临床上副猪嗜血杆菌的耐药菌株频繁产生、耐药谱日益扩大^[4]。目前,副猪嗜血杆菌在我国主要对磺胺类、 β -内酰胺类和喹诺酮类药物较敏感,而对氨基糖苷类、大环内酯类药物有一定的抵抗力,且极易产生耐药性^[6]。此次分离的13株副猪嗜血杆菌的耐药性结果与上述结论一致:菌株对氨基糖苷类(卡那霉素、链霉素)、大环内酯类(麦迪霉素)耐药率较高,而对喹诺酮类(氧氟沙星)和 β -内酰胺类,尤其是头孢类抗菌药敏感率可达100%。耐药性分析是选择有效药物的基本依据^[11],本研究为江西地区规模化猪场选择科学有效的抗菌药物来防控副猪嗜血杆菌感染提供了科学依据。

细菌性疾病的防控是一个结合抗生素治疗、疫苗免疫和良好管理等综合过程^[16]。目前对于副猪嗜血杆菌病的防控应坚持防重于治、防治结合的原则,生物安全措施是防控副猪嗜血杆菌病发生的关键^[6]。作为条件致病菌,该病的发生与饲养管理息息相关,因此要从源头进行控制,找出病因并改善饲养条件,从营养因素、环境卫生、规范生产、消毒、疫苗接种等角度提高猪群免疫力,从而有效地预防该病发生^[17]。有条件的猪场可以考虑定期通过实验室分离具有代表性的致病菌进行药敏试验^[16]。一旦发病,选择敏感药物合理治疗,避免出现治疗过程出现费事费力、成本高且易产生耐药性等情况。

参考文献:

- [1] 李静怡,张建民,徐成刚,等.副猪嗜血杆菌主要毒力因子和致病机理的研究进展[J].中国畜牧兽医,2010,37(12):173-176.
Li J Y, Zhang J M, Xu C G, et al. Study progress on major virulence factors and pathogenic mechanism of *Haemophilus parasuis* [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2010, 37(12): 173-176.
- [2] Macedo N, Rovira A, Torremorell M. *Haemophilus parasuis*: infection, immunity and enrofloxacin [J]. Veterinary Research, 2015, 46(1): 128.
- [3] 张颖.副猪嗜血杆菌病诊断研究进展[J].兽医导刊,2016(17):16-17.
Zhang Y. Research progress in diagnosis of *Haemophilus parasuis* [J]. Veterinary Orientation, 2016(17): 16-17.
- [4] 付丹,谭晓婷,曹玉琴,等.副猪嗜血杆菌耐药性研究进展[J].中国预防兽医学报,2016,38(7):591-594.
Fu D, Tan X T, Cao Y Q, et al. Research progress in drug resistance of *Haemophilus parasuis* [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2016, 38(7): 591-594.
- [5] Kielstein P, Rapp-gabrielson V J. Designation of 15 serovars of *Haemophilus parasuis* on the basis of immunodiffusion using heat-stable antigen extracts [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1992, 30(4): 862-865.

- [6] 张永香.副猪嗜血杆菌病的流行病学及其综合防控措施[J].福建畜牧兽医,2019,41(6):36-37.
Zhang Y X.Epidemiology and comprehensive prevention strategies of *Haemophilus parasuis*[J].Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine,2019,41(6):36-37.
- [7] 刘英玉.副猪嗜血杆菌耐药性调查和耐药机制研究[D].武汉:华中农业大学,2013.
Liu Y Y.Investigation and mechanisms of drug resistance in *Haemophilus parasuis*[D].Wuhan:Huazhong Agricultural University,2015.
- [8] 王景成,高日明,李志杰,等.副猪嗜血杆菌病的流行状况及综合防控[J].猪业科学,2019,36(11):98-100.
Wang J C,Gao R M,Li Z J,et al.Epidemiology status and comprehensive prevention strategies of *Haemophilus parasuis*[J].Swine Industry Science,2019,36(11):98-100.
- [9] 张耀东,汪邯郸,胡金陵.细菌耐药性与抗菌药物使用的相关性分析[J].中国药师,2012(11):118-119.
Zhang Y D,Wang H D,Hu J L.Analysis of the relationship between bacterial drug resistance and the use of antibiotics[J].China Pharmacist,2012(11):118-119.
- [10] 王治方,徐引弟,朱文豪,等.副猪嗜血杆菌流行优势菌株调查和耐药性分析[J].中国兽医学报,2019,39(10):1942-1946.
Wang Z F,Xu Y D,Zhu W H,et al.Investigation of prevailing strains and drug resistance analysis of *Haemophilus parasuis*[J].Chinese Journal of Veterinary Science,2019,39(10):1942-1946.
- [11] 陈章,汪清峰,刘晓露,等.副猪嗜血杆菌安徽株血清型、基因型及耐药性[J].微生物学通报,2020,47(2):226-237.
Chen Z,Wang Q F,Liu X L,et al.Serotype,genotype and drug resistance of *Haemophilus parasuis* in Anhui Province[J].Microbiology China,2020,47(2):226-237.
- [12] 胡星星,郭龙,宋文博,等.2017年我国猪源多杀性巴氏杆菌的分离鉴定及耐药性分析[J].中国兽药杂志,2019,53(3):4-9.
Hu X X,Guo L,Song W B,et al.Isolation,identification and drug resistance of *Pasteurella multocida* in Chinese pigs in 2017[J].Chinese Journal of Veterinary Drug,2019,53(3):4-9.
- [13] Howell K J,Peters S E,Wang J,et al.Development of a multiplex PCR for rapid molecular serotyping of *Haemophilus parasuis*[J].Journal of Clinical Microbiology,2015,53(12):3812-3821.
- [14] 陈勇,高艳,张定全,等.副猪嗜血杆菌的分离鉴定与培养基筛选[J].动物医学进展,2013,34(10):67-71.
Chen Y,Gao Y,Zhang D Q,et al.Isolation,identification and medium screening of *Haemophilus parasuis*[J].Progress in Veterinary Medicine,2013,34(10):67-71.
- [15] 郭龙,汤细彪,刘田,等.2014年猪群常见细菌性疫病的分离鉴定与流行病学调查[J].养殖与饲料,2015(10):5-7.
Guo L,Tang X B,Liu T,et al.Isolation,identification and epidemiological investigation of common bacterial diseases in pigs in 2014[J].Animals Breeding and Feed,2015(10):5-7.
- [16] 何启盖.我国生猪主要细菌性疾病的流行现状及防控策略[J].北方牧业,2018(13):15.
He Q G.Epidemic status and prevention strategies of major bacterial diseases in pigs in China[J].Northern Animal Husbandry,2018(13):15.
- [17] 惠尚英,张小翠.浅析副猪嗜血杆菌病的预防[J].畜禽业,2019(9):89.
Hui S Y,Zhang X C.Prevention of *Haemophilus parasuis*[J].Livestock and Poultry Industry,2019(9):89.