

王彦红, 胡沁楠, 杨跃飞, 等. 4 株兔源荚膜血清 F 型多杀性巴氏杆菌的生物学特性 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (11): 69–75.

WANG Y H, HU Q N, YANG Y F, et al. Biological characteristics of four strains of capsular serotype F *Pasteurella multocida* isolated from rabbits [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (11): 69–75.

4 株兔源荚膜血清 F 型多杀性巴氏杆菌的生物学特性

王彦红^{1,2#}, 胡沁楠^{1,2#}, 杨跃飞^{1,2}, 周雯^{1,2}, 赵一宁^{1,2}, 陈新延^{1,2}, 侯照峰^{1,2}

(1. 扬州大学兽医学院, 江苏 扬州 225009;

2. 江苏高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009;)

摘要: 为了研究兔源多杀性巴氏杆菌的生物学特性, 对 2013—2021 年期间 4 例送检的病兔肺脏组织分离细菌, 用 PCR 检测多杀性巴氏杆菌特异性基因 *kmt*、荚膜血清型、多位点序列分型 (MLST)、18 种毒力基因, 并对分离菌进行致病性和药物敏感试验。结果: 从兔肺组织分离出 4 株细菌, 分别命名为 P1、P2、P3 和 P4; 经 PCR 鉴定, 4 株分离菌 *kmt* 基因阳性, 荚膜血清型均为 F 型; MLST 分型显示 4 株分离菌的序列型 (ST) 分别为 3、74、74 和 67; 4 株菌均含有毒力基因 *HgbA* 和 *RpoB*, 均无 *ToxA*、*PfhA*、*TbpA* 和 *P6*; 致病性试验显示 4 株分离菌株均导致小鼠和 SPF 鸡的死亡; 药敏结果表明 4 株分离菌对头孢哌酮-舒巴坦、头孢曲松和诺氟沙星等药物敏感, 而部分菌株对多西环素、氟苯尼考等药物耐药。研究表明, 4 株分离株均为 F 型多杀性巴氏杆菌, 隶属不同 ST 型, 具有明显的致病性。本研究为兔巴氏杆菌病的防控提供了科学依据。

关键词: 兔; 多杀性巴氏杆菌; 多位点序列分型; 毒力基因

中图分类号: S855.1 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)11-0069-07

Biological characteristics of four strains of capsular serotype F *Pasteurella multocida* isolated from rabbits

WANG Yanhong^{1,2#}, HU Qinnan^{1,2#}, YANG Yuefei^{1,2}, ZHOU Wen^{1,2}, ZHAO Yining^{1,2}, CHEN Xinyan^{1,2}, HOU Zhaofeng^{1,2}

(1. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: In order to explore the biological characteristics of *Pasteurella multocida* from rabbit, the strains were isolated from the lung tissue of 4 cases of dead rabbits from 2013 to 2021. The strains were identified as *Pasteurella multocida* by PCR due to the *kmt* gene, and followed by PCR identification of capsular serotypes, multilocus sequence typing (MLST) and 18 kinds of virulence genes, drug sensitivity and pathogenicity. The 4 strains isolated from rabbit lung tissue were named P1, P2, P3 and P4, respectively. The four isolates were identified by PCR as positive for the *kmt* gene, and they belonged to the capsular serotype F of *Pasteurella multocida*. Therefore, the 4 isolates were all of the *Pasteurella multocida* F type. The results of MLST showed that STs of the 4 isolates were 15, 74, 74 and 67, respectively. The virulence-associated genes *HgbA* and *RpoB* gene were positive for the 4 isolates, whereas *ToxA*, *PfhA*, *TbpA* and *P6* gene were negative. The pathogenicity of the 4 isolates was determined to lead to death in mice and SPF chickens infection. The drug sensitivity results showed that the 4 isolates were sensitive to cefoperazone sulbactam, ceftriaxone, norfloxacin, and so on, and a little resistant to doxycycline and florfenicol. The present study indicated that the 4 isolates from rabbit were all of the *Pasteurella multocida* capsular serotypes F, belonged to the differences sequence types, and possessed significant pathogenicity. Hence, this study on the biological characteristics of the strains from dead rabbit lung tissue contributed to the prevention and control of rabbit pasteurellosis.

Keywords: rabbit; *Pasteurella multocida*; multilocus sequence typing; virulence gene

收稿日期: 2024-12-30; 修回日期: 2025-08-26

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程项目 (PAPD); 扬州大学大学生创新创业训练计划基金项目 (X20210688)

第一作者: 王彦红, 女, 博士, 讲师, 主要从事动物疾病诊断与防控的研究工作, E-mail: wyh7405@163.com; 胡沁楠, 女, 本科生。[#]共同第一作者

多杀性巴氏杆菌 (*Pasteurella multocida*) 为革兰阴性菌, 需氧或兼性厌氧, 对营养要求较严格。多杀性巴氏杆菌感染多种动物, 包括猪、牛、兔、禽类等, 可引起呼吸道疾病^[1], 在同种或不同种动物间可相互感染。多杀性巴氏杆菌有 5 个荚膜血清型, 分别为 A、B、D、E 和 F^[2]。对感染兔引起致死的多杀性巴氏杆菌主要是 A 型和 D 型^[3-4]。2008 年研究发现 F 型对兔具有高致病性^[4]。在意大利, 1924—2008 年分离的 39 株兔源菌株主要是 A (20/39)、D (9/39) 和 F (10/39) 型^[5]。在中国, 30 株兔源菌株经检测发现主要是 A (25/30) 和 F (5/30) 型^[6]。

近年来, 多位点序列分型 (multilocus sequence type analysis, MLST) 成为多杀性巴氏杆菌研究的重要方法之一。数据库 (<https://pubmlst.org/organisms/pasteurella-multocida>) 针对多杀性巴氏杆菌的 MLST 分型有两种方式: 一是对禽源多杀性巴氏杆菌的分型, 另一种是对多动物来源的多杀性巴氏杆菌进行分型。目前, 较多研究使用禽源多杀性巴氏杆菌分型的方法对其他动物来源的菌株进行研究。本研究从临床分离出 4 株兔源多杀性巴氏杆菌, 分析其血清型、毒力基因携带情况, 并利用禽源多杀性巴氏杆菌分型方法进行序列型 (ST) 分析。

1 材料与方法

1.1 病例背景

2013 年 11 月, 扬州大学某实验室养殖 6 月龄新西兰兔 30 只, 病死兔剖检病变为肺部有较多化脓灶, 切开后有脓汁, 编号 P1。

2013 年 4 月, 扬州大学某实验室从南京购回 2 月龄新西兰兔 60 只, 病死兔经剖检病变为心包粘连,

肺部膈叶粘连, 有大量渗出物附着, 编号 P2。

2014 年 4 月, 此实验室再次从南京购回 12 月龄新西兰兔 60 只, 购回 1 月余, 口鼻流血, 全身抽搐最后死亡。剖检病变为肺部有较多出血, 编号 P3。

2021 年 6 月, 扬州仪征送检病兔, 剖检病变为肺部有较多化脓灶, 心包粘连, 编号 P4。

1.2 主要试剂

培养基和药敏试纸片均购自杭州天和微生物试剂有限公司。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。测序由南京金斯瑞生物科技有限公司完成。染色使用的 Diff-Quik 染色液购自南京建成科技有限公司。

1.3 实验动物

清洁级 6 周龄 C57BL/6 雄性小鼠 4 只, 健康状况良好, 购自扬州大学比较医学中心。6 只 SPF 鸡, SPF 鸡胚购自山东济南斯帕法斯家禽有限公司, 自行孵化饲养至 49 日龄。

1.4 细菌分离

将 4 只病兔的肺和肝脏组织接种于绵羊血琼脂培养基上。在 37 °C 培养 24 h 后观察菌落生长情况, 将菌落分别接种于绵羊血培养基和麦康凯培养基进行传代, 观察结果。

1.5 PCR 鉴定多杀性巴氏杆菌及其荚膜血清型

用多杀性巴氏杆菌鉴定基因 *kmt* 引物对 4 株分离株进行 PCR 鉴定, 再用荚膜血清型引物 *capA*、*capB*、*capC*、*capE* 和 *capF* (表 1) 进行多重 PCR 鉴定其血清型^[6]。PCR 反应条件: 首先 95 °C 变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 72 °C 延伸保持 5 min。采用琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物是否有相应的目的条带。

表 1 鉴定基因和荚膜血清型引物^[6]

基因名称	引物名称	序列 (5'→3')	长度/bp
<i>kmt</i>	<i>kmt-F</i>	ATCCGCTATTTACCCAGTGG	460
	<i>kmt-R</i>	GCTGTAAACGAACCTGCCAC	
<i>capA</i> (A 型)	<i>capA-F</i>	TGCCAAAATCGCAGTCAG	1 050
	<i>capA-R</i>	TTGCCATCATTGTCAGTG	
<i>capB</i> (B 型)	<i>capB-F</i>	CATTTATCCAAGCTCCACC	760
	<i>capB-R</i>	GCCCGAGAGTTTCAATCC	
<i>capD</i> (D 型)	<i>capD-F</i>	TTACAAAAGAAAGACTAGGAGCCC	648
	<i>capD-R</i>	CATCTACCCACTCAACCATATCAG	
<i>capE</i> (E 型)	<i>capE-F</i>	TCCGAGAAAATTATTGACTC	511
	<i>capE-R</i>	GCTTGCTGCTTGATTTTGTCT	
<i>capF</i> (F 型)	<i>capF-F</i>	AATCGGAGAACCAGAAATCAG	851
	<i>capF-R</i>	TTCCGCCGTCAATTACTCTG	

1.6 MLST 分析

adk、*est*、*pmi*、*zvf*、*mdh*、*gdh*、*pgi* 这 7 个多杀性巴氏杆菌的管家基因分别编码腺苷酸激酶 (adenylate kinase, ADK), 酯酶 (esterases, EST), 6-磷酸甘露糖异构酶 (6-phosphomannose isomerase, PMI), 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PDH), 苹果酸脱氢酶 (malate dehydrogenase, MDH), 谷氨酸脱氢酶 (glutamate dehydrogenase, GDH), 磷酸葡萄糖异构酶 (phosphoglucose isomerase, PGI)。将 4 株分离菌株的 DNA 模板

对上述 7 个基因分别进行 PCR 检测, PCR 的引物见表 2。PCR 反应条件: 94 °C 变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 50 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 72 °C 延伸保持 5 min。应用数据库 (<https://pubmlst.org/organisms/pasteurella-multocida>) 查询 PCR 产物测序结果所对应的序列号。用琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物是否是目的基因, 扩增产物送南京金斯瑞生物科技有限公司测序。应用 Mega 软件分析 ST 型遗传进化关系。

表 2 MLST 引物

基因	引物名称	引物序列 (5'→3')	扩增产物/bp
<i>adk</i>	<i>adk-F</i>	GCAAAGGTACGCAAGCTCAG	604
	<i>adk-R</i>	AAATTTTCGCTAACTCAGCAC	
<i>est</i>	<i>est-F</i>	TCTGGCAAAAGATGTTGTCC	641
	<i>est-R</i>	CCAAATTCCTGGTTGGTTGG	
<i>pmi</i>	<i>pmi-F</i>	TGCCTTGAGACAGGGTAAGC	739
	<i>pmi-R</i>	GCCTTAACAAGTCCCATTCC	
<i>zvf</i>	<i>zvf-F</i>	TGATGAAGTCGCAAAAGTGC	671
	<i>zvf-R</i>	ACGGTTTTTCGCCATACTTTG	
<i>mdh</i>	<i>mdh-F</i>	AGTAACCGGTTTTGCAGGTG	503
	<i>mdh-R</i>	GCTTTTGCCTCAACCACTTC	
<i>gdh</i>	<i>gdh-F</i>	ATCGACTTCTCCGCAGACC	702
	<i>gdh-R</i>	GCGGGTGATATTGCTGTAGG	

1.7 毒力因子检测

对 4 株分离菌株的唾液酸酶 (*NanB*、*NanH*)、超氧化物歧化酶 (*SodA*、*SodC*)、透明质酸合成酶 (*HAS*)、血红蛋白结合蛋白 (*HgbA*、*HgbB*)、自动转运黏附素 (*Hsf-1*、*Hsf-2*)、RNA 聚合酶 (*RpoB*)、编码外膜蛋白基因 (*P6*、*Oma87*、*OmpH*)、4 型菌毛 (*Fim4*)、皮肤坏死毒素 (*ToxA*)、丝状血球凝集素 (*PfhA*)、铁摄取相关蛋白基因 (*TonB*、*TbpA*) 等 18 种与毒力相关的基因^[7-10]进行 PCR 检测, 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳, 将扩增出阳性条带的产物送南京金斯瑞生物科技有限公司测序并进一步确定。

1.8 小鼠攻毒试验

对照组和攻毒组小鼠各 2 只。取分离株 P4 过夜培养, 根据文献 [11], 攻毒组小鼠腹腔注射 0.2 mL 的 3×10^3 CFU/mL 菌液, 对照组小鼠腹腔注射等量生理盐水, 观察小鼠状况。对 4 只小鼠进行剖检, 取心脏组织触片, Diff-Quik 染色液染色和镜检, 对肝脏组织进行细菌分离。

1.9 鸡攻毒试验

对照组和攻毒组 SPF 鸡各 2 只。攻毒组鸡注射

0.4 mL 的 6×10^{10} CFU/mL P4 菌液, 菌液制备、试验方法按 1.8 进行。

1.10 药敏试验

采用纸片扩散法进行药敏试验, 具体方法参见文献 [12]。

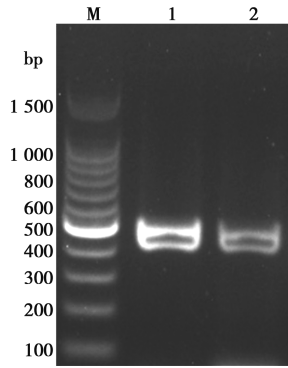
2 结果与分析

2.1 细菌分离

4 份病料接种绵羊血琼脂培养基, 经培养均长出露珠样、透明、不溶血的中等大小菌落, 而在麦康凯培养基上不生长。革兰染色结果为革兰阴性杆菌。

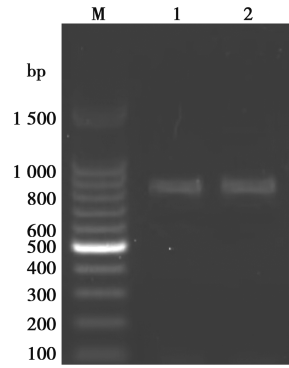
2.2 PCR 鉴定与分型

多杀性巴氏杆菌的特异性基因 *kmt* PCR 扩增结果显示, 4 株分离株均扩增出 460 bp 的阳性条带 (图 1), 确定 4 株分离株均为多杀性巴氏杆菌。随后用 5 种特异性引物 *capA*、*capB*、*capD*、*capE* 和 *capF* 进一步鉴定分离株荚膜血清型, 结果表明 4 株分离株仅引物 *capF* 均扩增出 700 bp 左右的目的条带 (图 2), 从而确定这 4 株分离株均为荚膜血清型 F 型多杀性巴氏杆菌。



M. DNA Marker; 1. 阳性对照; 2. 样品。

图1 *kmt* 基因 PCR 检测结果



M. DNA Marker; 1. 阳性对照; 2. 样品。

图2 *capF* 基因 PCR 检测结果

2.3 MLST 分析

4 株菌株以 *adk*、*est*、*pmi*、*zwf*、*mdh*、*gdh* 和 *pgi* 等 7 个多杀性巴氏杆菌的管家基因进行 PCR 鉴定, PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳得到的目的条带大小分别为 570、641、739、614、620、702 和 784 bp。4 株菌株的 7 个管家基因测序结果上传至数据库获得相应的

ST, 分别为 3、74、74 和 67 (表 3), ST3 和 ST74 克隆复合体 (clonal complex, CC) 分别为 CC ST15 和 ST74。根据数据库已有的序列型分析发现 (图 3), 3 种 ST 型在世界范围存在, 处于不同分支, ST3 和 ST67 处于同一分支, ST74 与 ST50、ST129 相近。

表 3 MLST 分析结果

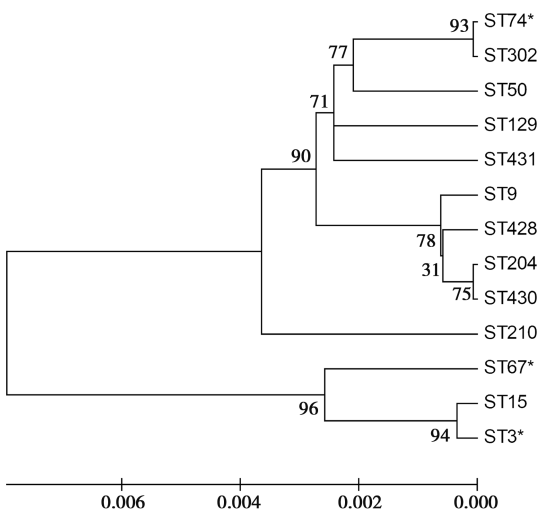
菌株	管家基因							ST 型	CC 克隆群
	<i>adk</i>	<i>est</i>	<i>pmi</i>	<i>zwf</i>	<i>mdh</i>	<i>gdh</i>	<i>pgi</i>		
P1	1	5	10	1	1	6	11	3	15
P2	22	13	8	29	8	3	31	74	74
P3	22	13	8	29	8	3	31	74	74
P4	1	42	10	1	1	1	16	67	

2.4 毒力基因检测

18 种毒力基因检测结果显示 4 株菌均检测到 *HgbA* 和 *RpoB*, 均未检测到 *ToxA*、*PfhA*、*TbpA* 和 *P6*。此外, P1 还携带 *SodA*、*Hsf-2*、*Fim4*、*SodC*、*Oma87*、*HAS*、*TonB* 和 *Hsf-1* 基因, P2 携带 *Hsf-2*、*OmpH*、*Fim4*、*NanH*、*NanB*、*HAS* 和 *TonB* 基因, P3 携带 *SodA*、*OmpH*、*Fim4*、*NanH*、*NanB*、*SodC*、*Oma87*、*HAS*、*TonB*、*HgbB* 和 *Hsf-1* 基因, P4 携带 *NanH* 基因 (表 4)。

2.5 小鼠攻毒试验

小鼠于 P4 菌攻毒 29 h 后死亡, 剖检见肺脏轻微出血, 肝脏稍肿胀、色暗。对照组小鼠不死亡且剖检后肉眼可见病变。攻毒组小鼠心脏触片染色后显微镜观察见大量两极浓染杆菌 (图 4)。



ST3*、ST67* 和 ST74* 为本研究分离菌的 ST 型, 其他的 STs 来自数据库 <https://pubmlst.org/organisms>。

图 3 兔源多杀性巴氏杆菌 MLST 分型的遗传关系

表 4 毒力因子检测结果

毒力因子	菌株				毒力因子	菌株			
	P1	P2	P3	P4		P1	P2	P3	P4
<i>SodA</i>	+	-	+	-	<i>HgbA</i>	+	+	+	+
<i>Hsf-2</i>	+	+	-	-	<i>NanB</i>	-	+	+	-
<i>RpoB</i>	+	+	+	+	<i>SodC</i>	+	-	+	-
<i>OmpH</i>	-	+	+	-	<i>Oma87</i>	+	-	+	-
<i>Fim4</i>	+	+	+	-	<i>HAS</i>	+	+	+	-
<i>ToxA</i>	-	-	-	-	<i>TonB</i>	+	+	+	-
<i>PfhA</i>	-	-	-	-	<i>HgbB</i>	-	-	+	-
<i>TbpA</i>	-	-	-	-	<i>Hsf-1</i>	+	-	+	-
<i>NanH</i>	-	+	+	+	<i>P6</i>	-	-	-	-

注：“+”为阳性，“-”为阴性。

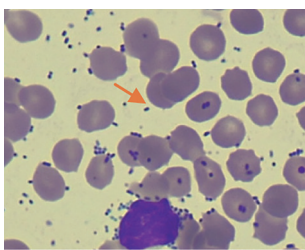


图 4 攻毒小鼠心脏触片镜检 (1 000×)

2.6 鸡的攻毒试验

SPF 鸡于 P4 菌攻毒 24 h 后死亡，剖检见肺脏轻微出血、肿胀，心脏肿大，脾脏发黑（图 5）。对照组鸡未见死亡，且剖检后也未见肉眼可见病变。攻毒组鸡心脏触片染色后显微镜观察见大量两极浓染杆菌。

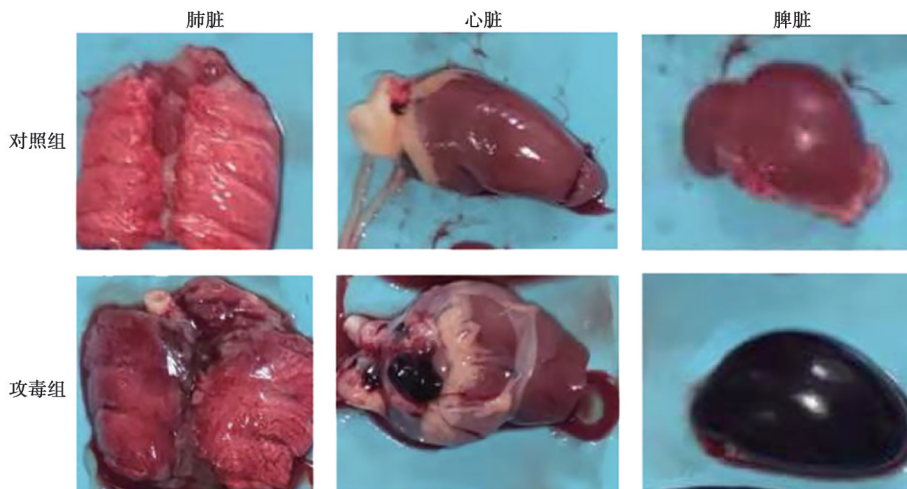


图 5 攻毒鸡剖检结果

2.7 药敏试验

4 株分离菌对药物的敏感性分析结果见表 5。4 株分离菌均对多黏菌素 B、头孢曲松、左氧氟沙星、环丙沙星、头孢噻肟、头孢哌酮-舒巴坦和诺氟沙星

敏感，均对庆大霉素耐药。部分菌株对阿莫西林、多西环素、复方新诺明、氟苯尼考、卡那霉素、新霉素和丁胺卡那耐药，尤其是 P1，对阿莫西林、多西环素和氟苯尼考等药物呈现多重耐药性。

表 5 药敏试验结果 (抑菌圈直径)

mm

抗菌药物	判定标准			P1	P2	P3	P4
	R	I	S				
多黏菌素 B	≤7	8~11	≥12	18 (S)	13 (S)	16 (S)	13 (S)
头孢曲松	≤13	14~20	≥21	24 (S)	32 (S)	38 (S)	22 (S)
左氧氟沙星	≤13	14~16	≥17	20 (S)	36 (S)	36 (S)	26 (S)
阿莫西林	≤12	13~16	≥17	0 (R)	34 (S)	38 (S)	20 (S)
多西环素	≤14	15~16	≥17	0 (R)	25 (S)	32 (S)	24 (S)
庆大霉素	≤17	18~20	≥21	17 (R)	16 (R)	17 (R)	13 (R)
复方新诺明	≤17	18~20	≥21	0 (R)	19 (I)	30 (S)	0 (R)
氟苯尼考	≤15	16~17	≥18	0 (R)	27 (S)	40 (S)	26 (S)
环丙沙星	≤15	16~20	≥21	24 (S)	31 (S)	25 (S)	24 (S)
美洛西林	≤17	18~20	≥21	24 (S)	20 (I)	44 (S)	36 (S)
头孢噻肟	≤13	14~20	≥21	26 (S)	42 (S)	44 (S)	22 (S)
头孢哌酮/舒巴坦	≤12	13~16	≥17	24 (S)	40 (S)	42 (S)	26 (S)
链霉素	≤12	13~16	≥17	16 (I)	13 (I)	13 (I)	11 (I)
卡那霉素	≤13	14~17	≥18	12 (R)	16 (I)	18 (S)	19 (S)
新霉素	≤12	13~16	≥17	14 (R)	16 (I)	18 (S)	17 (S)
妥布霉素	≤12	13~16	≥17	23 (S)	18 (S)	18 (S)	13 (I)
诺氟沙星	≤12	13~16	≥17	25 (S)	26 (S)	26 (S)	25 (S)
丁胺卡那	≤14	15~16	≥17	23 (S)	13 (R)	19 (S)	14 (R)

注: S 代表敏感, R 代表耐药, I 代表中度敏感。

3 讨论

多杀性巴氏杆菌在动物和人类中,通常与慢性和急性感染有关,这些感染可能导致显著的发病率(表现为巴氏菌病、肺炎等)^[11]。本研究从 2013—2021 年 4 例肺炎致死兔肺中分离的 4 株菌均为 F 型荚膜血清型的多杀性巴氏杆菌,MLST 有 3 种 ST 型,虽然分离菌株比较少,但是仍显示出兔源多杀性巴氏杆菌基因型的多样性。此外,根据 <https://pubmlst.org/organisms> 数据库中已有的数据分析可见兔源多杀性巴氏杆菌基因型是多样性的,欧洲国家尤其意大利的分离菌株 ST 型多为 9、50、74、204 和 302 等,在中国 ST 型为 302、428、430 和 431 等,CC ST9 和 CC ST74 是意大利和中国兔源菌株的主要基因型^[6];从感染动物范围来说,ST9、ST15 和 ST74 均可感染鸡、猪和兔等多种动物,ST15 出现在法国人源分离株,ST67 有猫源分离株;从遗传关系来看,分离菌株 ST3 和 ST67 与 ST15 同一分支,ST302 的 CC 为 ST74,ST74 则与 ST50 及我国禽源基因型 ST129 相近,国内其他 ST428、ST430 则与 ST9 同一分支。

不同地区分离菌株相同基因型在毒力基因 *HgbB* 和 *PfhA* 并不完全一致^[5-6]。*HgbB*⁻ 和 *PfhA*⁺ 多见于意大利 CC ST9 分离菌株,而 CC ST74 菌株主要是

HgbB⁺ 和 *PfhA*⁻,也有少量 ST74 菌株为 *HgbB*⁻ 和 *PfhA*⁻^[5]。例如,中国分离株中 CC ST9 分离菌主要是 *HgbB*⁺ 和 *PfhA*⁺,CC ST74 主要是 *HgbB*⁺ 和 *PfhA*⁻,少量 ST74 菌株为 *HgbB*⁺ 和 *PfhA*⁺^[6]。本次 2 株 ST74 分离株中一株是 *HgbB*⁺ 和 *PfhA*⁻,另一株为 *HgbB*⁻ 和 *PfhA*⁻,与上述报道不同。此外,意大利和中国分离株相同的基因型具有相似的血清型,CC 为 ST9 分离菌株的一半是 A 型,一半是 F 型,CC 为 ST74 的全为 A 型^[5-6]。然而,本研究此次分离的 4 株菌株均为 1 种血清型 F 型,3 种序列型,携带不同的毒力基因。2 株 ST74 分离株均是荚膜血清型 F 型,1 株血清型 F 型 ST3 菌株毒力型 *HgbB*⁻ 和 *PfhA*⁻ 与已报道的中国分离株 A 型 ST3 毒力型 *HgbB*⁺ 和 *PfhA*⁻^[6] 不同,1 株血清型 F 型 ST67 菌株毒力型 *HgbB*⁻ 和 *PfhA*⁻。

一些毒力因子在多杀性巴氏杆菌的感染如黏附、定殖、入侵等过程中起关键作用,如细菌黏附和定植的基因 (*Fim4*、*Hsf-1*)、铁摄取基因 (*TonB*、*HgbA*)、超氧化物歧化酶基因 (*SodA*、*SodC*) 和外膜蛋白基因 (*OmpH*、*Oma87*) 等,虽然是同一血清型,但是不同动物来源的菌株携带毒力基因有差异^[1]。F 型菌株可导致兔发病致死^[13]。致病性试验显示低剂量可致小鼠死亡,但需要高剂量才能导致鸡死亡,这一结果与之前研究相似^[12],主要原因是不同种属动

物对巴氏杆菌的易感性不同。

本试验分离菌对头孢曲松、诺氟沙星、环丙沙星和头孢噻肟等临床常用药物敏感，但对庆大霉素耐药。因此，发病兔场采用一种敏感药物治疗即可。对于规模化养殖的兔场，建议选用 1 种敏感药物拌料或者饮水给药 3~5 d，避免长期口服用药。因为兔的盲肠发达，长期使用抗菌药物会引起不良反应。同时建议病兔采用注射 1 种或者 2 种敏感药物 3~5 d，以获得更好用药效果。文献报道通过饮用水给药恩诺沙星治疗患病的动物，但因生病的动物饮水量减少，导致用量不足而达不到治疗效果^[14]。因此，对于疾病的治疗，不仅要考虑细菌对于药物的耐药性，也要考虑实际应用，合理用药以防止长期或者大量滥用抗菌药物。

综上所述，本研究从 2013—2021 年临床病例中分离出 4 株 F 型荚膜血清型多杀性巴氏杆菌，具有 3 种 ST 型，均含有毒力基因 *HgbA* 和 *RpoB*，对小鼠和鸡具有致病性，对头孢曲松和诺氟沙星等药物敏感，庆大霉素均耐药。

参考文献：

- [1] PENG Z, LIANG W, WANG F, et al. Genetic and phylogenetic characteristics of *Pasteurella multocida* isolates from different host species [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1408.
- [2] TOWNSEND K M, BOYCE J D, CHUNG J Y, et al. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system [J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39 (3): 924-929.
- [3] DABO S M, CONFER A W, MONTELONGO M, et al. Characterization of rabbit *Pasteurella multocida* isolates by use of whole-cell, outer-membrane, and polymerase chain reaction typing [J]. *Lab Anim Sci*, 1999, 49 (5): 551-559.
- [4] JAGLIC Z, JEKLOVA E, LEVA L, et al. Experimental study of pathogenicity of *Pasteurella multocida* serogroup F in rabbits [J]. *Vet Microbiol*, 2008, 126: 168-177.
- [5] MASSACCI F R, MAGISTRALI C F, CUCCO L, et al. Characterization of *Pasteurella multocida* involved in rabbit infections [J]. *Vet Microbiol*, 2018, 213: 66-72.
- [6] ZHU W, FAN Z, QIU R, et al. Characterization of *Pasteurella multocida* isolates from rabbits in China [J]. *Vet Microbiol*, 2020, 244: 108649.
- [7] DOUGHTY S W, RUFFOLO C G, ADLER B. The type 4 fimbrial subunit gene of *Pasteurella multocida* [J]. *Vet Microbiol*, 2000, 72 (1/2): 79-90.
- [8] OGUNNARIWO J A, SCHRYVERS A B. Characterization of a novel transferrin receptor in bovine strains of *Pasteurella multocida* [J]. *J Bacteriol*, 2001, 183 (3): 890-896.
- [9] TANG X, ZHAO Z, HU J, et al. Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China [J]. *J Clin Microbiol*, 2009, 47 (4): 951-958.
- [10] EWERS C, LÜBKE-BECKER A, BETHE A, et al. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status [J]. *Vet Microbiol*, 2006, 114 (3/4): 304-317.
- [11] 井郁金, 金映红, 汪萍, 等. 绵羊源荚膜血清 A 型多杀性巴氏杆菌的分离鉴定及其生物学特性研究 [J]. *中国兽医科学*, 2020, 50 (8): 1012-1017.
- [12] 魏诗谣, 王丽扬, 张信军, 等. 3 株羊源 D 型多杀性巴氏杆菌的生物学特性研究 [J]. *扬州大学学报 (农业与生命科学版)*, 2021, 42 (4): 12-17.
- [13] WANG J, SUN S, CHEN Y, et al. Pathogenic and genomic characterisation of a rabbit sourced *Pasteurella multocida* serogroup F isolate s4 [J]. *BMC Vet Res*, 2022, 18 (1): 288.
- [14] D'AMICO F, CASALINO G, BOZZO G, et al. Spreading of *Pasteurella multocida* infection in a pet rabbit breeding and possible implications on healed bunnies [J]. *Vet Sci*, 2022, 9 (6): 301.