



疾病诊断与防控 Disease Diagnosis, Treatment and Prevention

蓝腹鹇源鸽里默氏杆菌 分离鉴定及生物学特性分析

曾繁文, 萨家祺, 陈绚姣, 郭勇,
邱杰, 刘璐, 黄康, 王国蓓, 陈谭子芃*

(广州动物园, 广州市野生动物研究中心, 广州 510075)

稿件运行过程

收稿日期: 2025-04-04

修回日期: 2025-10-24



关键词: 鸽里默氏杆菌;

蓝腹鹇;

分离鉴定;

耐药性;

毒力基因

Keywords: *Riemerella columbina*;

Swinhoe's pheasant (*Lophura swinhoii*);

Isolation and identification;

Drug resistance;

Virulence gene

中图分类号: Q959.7; S858.9

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2026)-01-0109-07

DOI: 10.12375/ysdwxb.202504003

摘要

为明确广东省某动物救护机构蓝腹鹇(*Lophura swinhoii*)的死亡原因,采集病死个体心脏组织进行病原分离。经血平板培养纯化后获得一株细菌分离菌,通过菌落形态观察、生化特性鉴定及16S rRNA基因测序确定其为鸽里默氏杆菌(*Riemerella columbina*)。进一步生物学特性分析结果显示,该分离菌对磺胺甲噁唑、甲氧苄啶和林可霉素耐药(R),并携带*tbdR1*毒力基因。研究结果可为鸽里默氏杆菌在野生动物中的临床诊断、防治及相关研究提供参考依据。

Isolation, Identification and Biological Characteristics Analysis of *Riemerella columbina* Derived from Swinhoe's Pheasant

ZENG Fanwen, SA Jiaqi, CHEN Xuanjiao, GUO Yong, QIU Jie,
LIU Lu, HUANG Kang, WANG Guoqian, CHEN Tanzipeng*

(Guangzhou Zoo & Guangzhou Wildlife Research Center,
Guangzhou 510075, China)

Abstract: In order to clarify the cause of death of the Swinhoe's pheasant (*Lophura swinhoii*) at a certain animal rescue institution in Guangdong Province, the heart tissues of the deceased individuals were collected for pathogen isolation. After culturing and purify-

基金项目: 广州动物园(广州市野生动物研究中心)园立科研项目(YL202409)

第一作者简介: 曾繁文(1993—),男,畜牧师;主要从事野生动物繁育及疾病防控研究。E-mail:544678915@qq.com

*通信作者: 陈谭子芃, E-mail:490510254@qq.com

ing the bacteria on blood agar plates, a single bacterial isolate was obtained and was identified as *Riemerella columbina* by colony morphology, biochemical characteristics identification and 16S rRNA gene sequencing. Further analysis of biological characteristics showed that this isolate was resistant to sulfamethoxazole, trimethoprim, and lincomycin (R), and carried the *tbdR1* virulence gene. This is the first report of Swinhoe's pheasant infected with *Riemerella columbina*, providing a reference basis for clinical diagnosis, prevention and related research of this bacteria in wild animals.

鸽里默氏杆菌(*Riemerella columbina*)是一种革兰氏阴性、不产孢子且形态多变的短杆菌,属于黄杆菌科(Flavobacteriaceae)里默氏菌属(*Riemerella*)^[1]。该菌最初由 Hinz *et al.*^[2]从鸽中分离,并描述为类里默氏菌分类群A(*Riemerella*-like taxon A),后由 Vandamme *et al.*^[3]正式命名为 *Riemerella columbina*。其致病特征类似于鸭疫里默氏杆菌(*R. anatipestifer*),可引发家禽气管炎、肺炎、气囊炎和多浆膜炎等病变,严重时可导致死亡^[4]。目前已知该菌可感染鸽、树鼩(*Tupaia glis*)和非洲鸵鸟(*Struthio camelus*)^[5-7]。然而,国内外对鸽里默氏杆菌研究仍然有限,在其他鸟类尤其是野生动物中的感染情况尚不明确。

广东省某动物救护机构出现蓝腹鹇(*Lophura swinhoii*)急性死亡病例,死亡原因不明。为明确其致死病因,本研究对病死个体进行剖检,从心脏组织中分离获得一株优势菌,经细菌培养、形态学观察、生化鉴定及16S rRNA基因测序,首次确认该分离菌为鸽里默氏杆菌。目前尚无该菌感染蓝腹鹇的文献报道,为进一步了解其生物学特性,本研究分析了该分离菌的药物敏感性及其毒力基因携带情况,旨在为蓝腹鹇乃至其他珍稀鸟类的临床诊断与细菌性疫病防控提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 病料来源与处理

病料取自广东省某动物救护机构2只急性死亡的蓝腹鹇。在无菌条件下进行剖检,采集其心脏组织样本,低温运送至实验室进行后续检测。

1.2 细菌分离、纯化与革兰氏染色

将无菌采集的心脏组织采用三线划线法接种到血平板培养基(#024070;广东环凯微生物科技有限公司,中国),置于恒温培养箱37℃培养12h。挑取形态典型的单菌落接种到新的血平板中纯化培养,

观察并记录纯化菌落的形态特征。随后,挑取纯化菌落,使用革兰氏染色液试剂盒(#BA-4016;珠海贝索生物科技有限公司,中国)染色并镜检。

1.3 细菌生化试验

参照《常见细菌系统鉴定手册》^[8],使用配套的细菌生化试验试剂盒(广东环凯微生物科技有限公司)对纯化分离菌进行生化鉴定。挑取新鲜纯培养物分别接种于各类生化反应管中,置于恒温培养箱中37℃培养24~48h,观察、记录结果并对照手册判定生化特性。

1.4 16S rRNA 基因鉴定

以分离菌基因组DNA为模板,参照文献^[9]的方法,利用16S rRNA基因鉴定通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和1492R(5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3')进行PCR扩增。反应体系(20μL):2×Taq Master Mix酶(#10342053;ThermoFisher Scientific, USA)10μL,上、下游引物各1μL, DNA模板2μL,以无菌去离子水补足至20μL。反应条件:94℃预变性3min;94℃变性30s,55℃退火30s,72℃延伸90s,35个循环;72℃终延伸5min。PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳检测后,于凝胶成像系统中观察结果。扩增产物送交生工生物工程(上海)股份有限公司广州分公司进行双向测序。所获序列经拼接校对后,通过NCBI网站进行BLAST比对,以确定菌种分类地位。所用引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司广州分公司合成。

1.5 药敏试验

参照临床和实验室标准协会(CLSI)推荐的纸片扩散法(K-B法)^[10]对15种抗菌药物进行药敏检测。根据抑菌圈直径判定分离菌的耐药性,用敏感(S)、中介(I)和耐药(R)记录结果。药敏纸片购自温州泰康生物科技有限公司。

1.6 毒力基因PCR检测

参考鸭疫里默氏杆菌的7种毒力基因(*camp*、*wza*、*as87_04050*、*fur*、*sip*、*tbdR1*和*luxE*)^[11]设计特异性引物,引物序列及扩增片段大小见表1。采用PCR

方法检测分离菌株中毒力基因的携带情况,以分离菌基因组DNA为模板,分别进行各毒力基因的PCR扩增,PCR产物于2%琼脂糖凝胶电泳上检测,观察凝胶成像系统并记录结果。

表1 毒力基因PCR引物信息
Table 1 PCR primer information of virulence genes

毒力基因 Virulence gene	引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	目的片段大小/bp Size of the target fragment
<i>camp</i>	camp-F	ATGAAACAATCTATTATCTTAGGTA	1 026
	camp-R	TTACTTTGCATTTAACTCATATC	
<i>wza</i>	wza-F	AGTCTTTAGACAAGTAGATGCC	936
	wza-R	TTACTTTGCATTTAACTCATATC	
<i>as87_04050</i>	as87_04050-F	AGGCCGCTTTAGGTTCTGTTC	585
	as87_04050-R	CTTCGCTATTTTCTCATCGTATTT	
<i>fur</i>	fur-F	ATGGAACATCAAGAGAAAGATATAG	468
	fur-R	TTATGCTTTTTTATGACCGTAGA	
<i>sip</i>	sip-F	ATGCCTAAGACACCGAAATGGATG	729
	sip-R	TTACAAACCTTGTTTTCTTCCACC	
<i>tbdR1</i>	tbdR1-F	TCGTGGGGCAATCTAAACTAAGC	427
	tbdR1-R	AGCCCTGCCCAAACATCATAA	
<i>luxE</i>	luxE-F	ATGCCCTTCTATTTTGTATTAACAC	999
	luxE-R	CTAAGAAACCAAAGGCTACAACC	

2 结果

2.1 临床症状及病理剖检

两只患病蓝腹鹧均表现为急性死亡,未见明显

前驱临床症状。尸体剖检见外观状况良好,胸肌较丰满,除心脏冠状脂肪有出血点外,其余脏器未见明显异常(图1)。

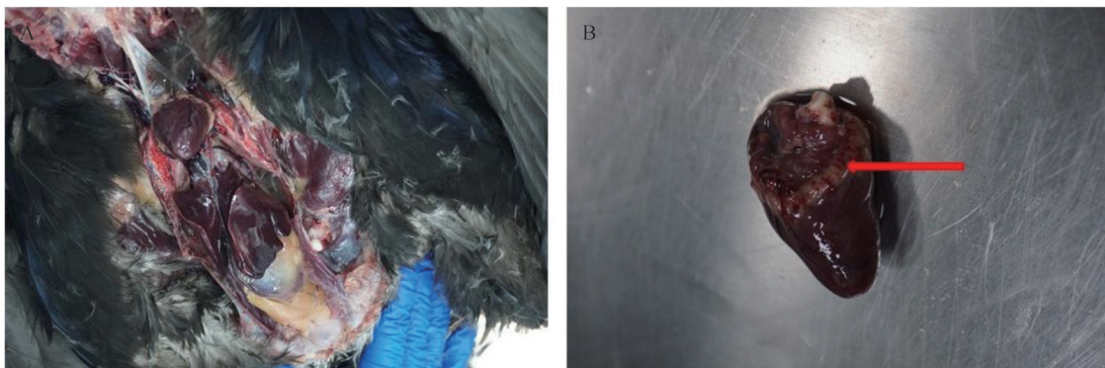


图1 病死蓝腹鹧病理剖检内脏全貌(A)与心脏冠状脂肪出血点(B)

Figure 1 The overall view of internal organs during autopsy of the deceased Swinhoe's pheasant (A) and the coronary fat hemorrhage points in the heart (B)

2.2 细菌分离及染色镜检

经血平板接种培养,从病死蓝腹鹧心脏组织中分离纯化出一株优势菌。该菌菌落均呈边缘整齐、

表面光滑湿润的乳脂状圆形凸起(图2A)。革兰氏染色镜检显示为阴性短小杆菌(图2B)。

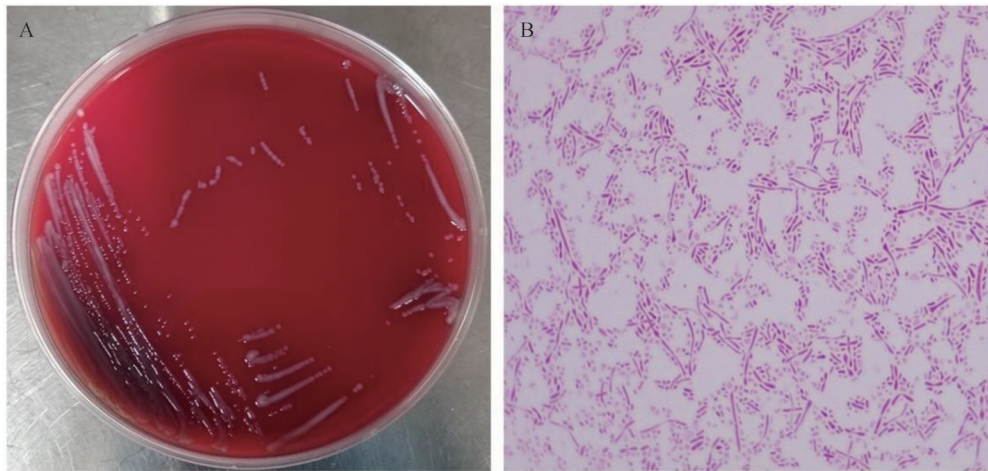


图2 分离菌菌落形态(A)与革兰氏染色镜检结果(B, 1 000×)

Figure 2 Colony morphology of pathogenic bacteria (A) and Gram staining microscopic examination (B, 1 000×)

2.3 生化特性

分离菌生化鉴定结果显示,该菌对葡萄糖、麦芽糖、甘露醇和山梨醇呈阳性,对乳糖、蔗糖、果糖、硝

酸盐还原、氧化酶、触酶、V-P反应、甲基红和靛基质呈阴性(表2)。结合其培养特性、菌体形态及染色特征,初步判定该分离菌为鸽里默氏杆菌。

表2 分离菌生化鉴定结果

Table 2 Results of biochemical identification of isolated bacteria

项目 Item	结果 Result	项目 Item	结果 Result	项目 Item	结果 Result
葡萄糖 Glucose	+	甘露醇 Mannitol	+	V-P反应 Voges & Proskauer	-
乳糖 Lactose	-	山梨醇 Sorbitol	+	西蒙氏柠檬酸盐 Simeon's citrate	+
麦芽糖 Maltose	+	硝酸盐还原 Nitrate reduction	-	甲基红 Methyl red	-
蔗糖 Saccharose	-	氧化酶 Oxidase	-	靛基质 Indole	-
果糖 Fructose	-	触酶 Catalase	-		

注: +. 阳性; -. 阴性。

Note: +. Positive; -. Negative.

2.4 基于16S rRNA基因序列的分子鉴定

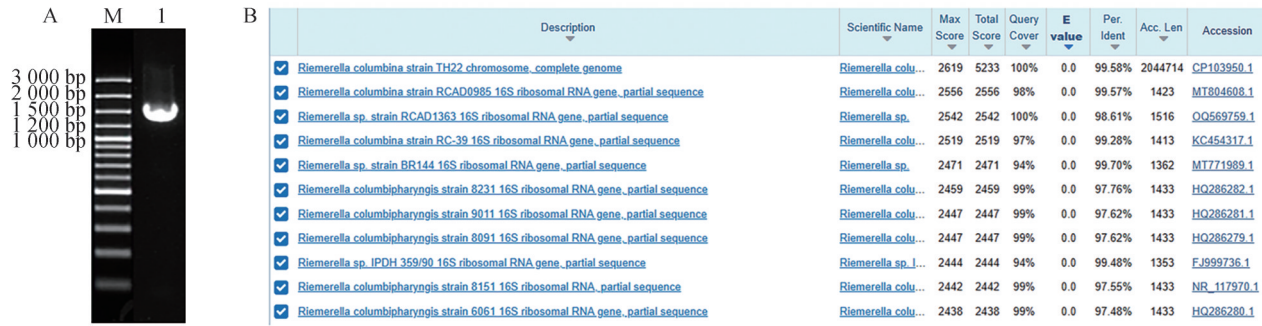
采用16S rRNA基因鉴定通用引物对分离菌基因组DNA进行PCR扩增,产物经琼脂糖凝胶电泳检测,可见一条大小约1 500 bp的清晰特异性扩增条带(图3A)。测序结果经拼接核对后,在NCBI数据库进行BLAST比对,结果显示,该序列与已知的鸽里默氏杆菌参考菌株(CP103950.1、MT804608.1、OQ569759.1、KC454317.1、MT771989.1、HQ286282.1、HQ286281.1、HQ286279.1、FJ999736.1、NR_117970.1和HQ286280.1)同源性均在97.48%以上(图3B)。结合其形态与生化特征,最终确定该分离菌为鸽里默氏杆菌。

2.5 药敏试验结果

采用纸片扩散法对分离菌进行药敏试验,结果显示:分离菌对磺胺甲噁唑、甲氧苄啶和林可霉素表现为耐药(R),对红霉素表现为中介(I),对其余药物均表现为敏感(S)(表3)。

2.6 毒力基因检出情况

以鸭疫里默氏杆菌为参考^[11],对分离菌株进行7种毒力基因(*camp*、*wza*、*as87_04050*、*fur*、*sip*、*tbdR1*和*luxE*)PCR检测,结果显示:分离菌只检出*tbdR1*一种毒力基因(图4),可能意味着该鸽里默氏杆菌菌株的毒力机制与鸭疫里默氏杆菌存在差异,但不排除其拥有其他未知或未被检测的毒力因子。



M. DL3000 DNA Marker; 1. 分离菌 16S rRNA 基因 PCR 扩增产物。
 M. DL3000 DNA Marker; 1. The PCR amplification product of 16S rRNA gene of the isolated bacteria.

图3 分离菌 16S rRNA 基因 PCR 扩增产物电泳(A)及序列比对(B)结果

Figure 3 Electrophoresis (A) and sequence alignment (B) results of 16S rRNA gene PCR products of isolated bacteria

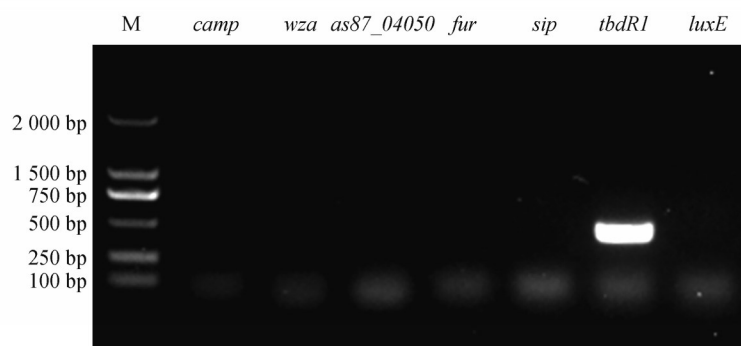
表3 分离菌药敏试验结果

Table 3 Analysis results of drug resistance of isolated bacteria

药物类别 Drug class	药物名称 Drug name	抑菌圈直径/mm Inhibitory zone diameter	敏感程度 Level of sensitivity
β-内酰胺类 Beta-lactams	青霉素 Penicillin	22	S
	头孢曲松 Ceftriaxone	26	S
头孢菌素类 Cephalosporins	头孢克肟 Cefixime	22	S
	头孢吡肟 Cefepime	29	S
氨基糖苷类 Aminoglycosides	链霉素 Streptomycin	20	S
	妥布霉素 Tobramycin	17	S
	庆大霉素 Gentamicin	18	S
大环内酯类 Macrolides	红霉素 Erythromycin	21	I
	阿奇霉素 Azithromycin	22	S
四环素类 Tetracyclines	多西环素 Doxycycline	28	S
喹诺酮类 Quinolones	左氧氟沙星 Levofloxacin	23	S
氯霉素类 Chloramphenicols	氯霉素 Chloramphenicol	32	S
磺胺类 Sulfonamides	磺胺甲噁唑 Sulfamethoxazole	0	R
	甲氧苄啶 Trimethoprim	0	R
林可酰胺类 Lincosamides	林可霉素 Lincomycin	0	R

注：R. 耐药；I. 中介；S. 敏感。

Note: R. Resistance to drugs; I. Intermediary to drugs; S. Sensitive to drugs.



M: DL2000 DNA Marker.

图4 分离菌毒力基因PCR扩增产物电泳结果

Figure 4 Electrophoretic results of PCR amplification products of virulence genes of isolated bacteria

3 讨论与结论

鸽里默氏杆菌自首次从鸽体分离并命名以来,其宿主范围与致病特征尚未完全明确。目前,除鸽外,仅有树鼯^[5]和非洲鸵鸟^[7]感染该菌的少量报道,且该菌的生物学特性和致病机制研究仍较薄弱。本研究从急性死亡的蓝腹鹁心脏组织中分离出一株病原菌,经形态学、生化试验和16S rRNA基因测序,确认该分离菌为鸽里默氏杆菌,为国内首次从该物种中分离并鉴定出该菌。

本病例中,两只蓝腹鹁均表现为无明显前驱症状的急性死亡,剖检仅见心脏冠状脂肪出血点,其余脏器未见显著病变。已有研究表明,鸽里默氏杆菌在鸽中可引起气管炎、肺炎、气囊炎和多浆膜炎^[3-6],而在鸵鸟感染病例中则观察到气囊肿胀、肺水肿、肝脏和小肠炎^[7]。不同宿主间的病理差异提示该菌的致病表现可能具有宿主特异性。为探究本分离菌株的毒力特征,本研究检测了7种常见毒力基因,结果显示仅*tbdR1*基因为阳性。该基因编码一个TonB依赖性外膜受体,主要参与血红素铁的摄取,对细菌的生物膜形成、黏附/侵袭宿主细胞能力及体内致病力至关重要^[12],但其单一存在是否足以导致急性死亡尚不明确。蓝腹鹁的急性死亡可能还与宿主免疫状态、应激条件或存在其他未检测的毒力因子有关,需进一步通过动物回归试验等加以验证。

细菌耐药性是疫病防治的重大挑战^[13],其产生与抗生素使用频繁、选择不当及不规范用药等因素密切相关^[14]。本研究中,分离菌对磺胺甲噁唑、甲氧苄啶及林可霉素耐药,对红霉素中介,而对多数 β -内酰胺类、氨基糖苷类、喹诺酮类及氯霉素等仍保持敏

感,该菌并未有过度的耐药情况,可能与暂未引起广泛流行和关注有关。相比之下,与本分离菌同属的鸭疫里默氏杆菌因其在水禽养殖业中流行,已出现广泛且严重的耐药现象^[15-16]。这一结果提示,在野生动物临床救治中,应基于药敏试验合理选用抗生素,并持续监测其耐药性演变趋势。

综上,本研究首次报道了蓝腹鹁感染鸽里默氏杆菌的病例,初步揭示了该菌在珍稀鸟类中的致病特点与药物敏感性,为今后类似病例的诊断、用药及该菌的流行病学研究提供了基础数据和参考依据。

参考文献:

- [1] RUBBENSTROTH D, RYLL M, HOTZEL H, *et al.* Description of *Riemerella columbipharyngis* sp. nov., isolated from the pharynx of healthy domestic pigeons (*Columba livia* f. domestica), and emended descriptions of the genus *Riemerella*, *Riemerella anatipestifer* and *Riemerella columbina* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63 (Pt 1): 280-287.
- [2] HINZ K H, RYLL M, GLÜNDER G. *Riemerella anatipestifer*-like bacteria from pigeons with respiratory disease [C]//Proceedings of the IX. DVG-Tagung über Vogelkrankheiten. Munich: DVG, 1994: 245-248.
- [3] VANDAMME P, VANCANNEYT M, SEGERS P, *et al.* *Coenonia anatina* gen. nov., sp. nov., a novel bacterium associated with respiratory disease in ducks and geese [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1999, 49: 867-874.
- [4] VANCANNEYT M, VANDAMME P, SEGERS P, *et al.* *Riemerella columbina* sp. nov., a bacterium associated with respiratory disease in pigeons [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1999, 49(1): 289-295.
- [5] RUBBENSTROTH D, HOTZEL H, KNOBLOCH J, *et al.* Isolation and characterization of atypical *Riemerella columbina* strains from pigeons and their differentiation from *Riemerella anatipestifer*

- [J]. *Veterinary Microbiology*, 2011, 147(1/2): 103–112.
- [6] CHRISTENSEN H, BISGAARD M. Phylogenetic relationships of *Riemerella anatipestifer* serovars and related taxa and an evaluation of specific PCR tests reported for *R. anatipestifer* [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 108(5): 1612–1619.
- [7] BOCKLISCH H, HÜHN F, HEROLD W, *et al.* Ostrich; A new avian host of *Riemerella columbina* [J]. *Veterinary Microbiology*, 2012, 154(3/4): 429–431.
- [8] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 318–320.
- DONG X Z, CAI M Y. Handbook of identification of common bacterial systems [M]. Beijing: Science Press, 2001: 318–320.
- [9] WOO P C Y, CHEUNG E Y L, LEUNG K W, *et al.* Identification by 16S ribosomal RNA gene sequencing of an Enterobacteriaceae species with ambiguous biochemical profile from a renal transplant recipient [J]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2001, 39(2): 85–93.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 30th ed: CLSI supplement M100 [M]. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.
- [11] 陈泽辉, 嵇辛勤, 阮涌, 等. 三穗鸭源致病性大肠杆菌与鸭疫里默氏杆菌的分离与鉴定 [J]. *中国兽医科学*, 2025, 55(4): 500–506.
- CHEN Z H, JI X Q, RUAN Y, *et al.* Isolation and identification of avian pathogenic *Escherichia coli* and *Riemerella anatipestifer* from Sansui ducks [J]. *Chinese Veterinary Science*, 2025, 55(4): 500–506.
- [12] LU F Y, MIAO S, TU J, *et al.* The role of TonB-dependent receptor TbdR1 in *Riemerella anatipestifer* in iron acquisition and virulence [J]. *Veterinary Microbiology*, 2013, 167(3/4): 713–718.
- [13] LIVERMORE D M. Bacterial resistance: Origins, epidemiology, and impact [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2003, 36(Suppl 1): S11–S23.
- [14] MACESIC N, UHLEMANN A C, PELEG A Y. Multidrug-resistant gram-negative bacterial infections [J]. *The Lancet*, 2025, 405(10474): 257–272.
- [15] 陈亦杏, 张美琳, 李仕楷, 等. 广东部分地区鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定和耐药性分析 [J]. *中国畜牧兽医*, 2024, 51(7): 3185–3194.
- CHEN Y X, ZHANG M L, LI S K, *et al.* Isolation, identification and drug resistance analysis of *Riemerella anatipestifer* from some areas in Guangdong [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2024, 51(7): 3185–3194.
- [16] 杨智灿, 张美琳, 李仕楷, 等. 18型鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定及致病性研究 [J]. *中国预防兽医学报*, 2024, 46(9): 909–914.
- YANG Z C, ZHANG M L, LI S K, *et al.* Isolation, identification and pathogenicity of *Riemerella anatipestifer* serotype 18 [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2024, 46(9): 909–914.