

研究报告

鸭疫里默氏杆菌流行菌株的分离鉴定及生物学特性

冯雅婷^{1,2}, 朱敏¹, 刘丹^{1,2}, 沈如玉¹, 牛朋飞¹, 郭容³, 于圣青^{*1,3}

1 中国农业科学院上海兽医研究所, 上海 200241

2 安徽农业大学动物科技学院, 安徽 合肥 230036

3 扬州优佳创生物科技有限公司, 江苏 扬州 225261

冯雅婷, 朱敏, 刘丹, 沈如玉, 牛朋飞, 郭容, 于圣青. 鸭疫里默氏杆菌流行菌株的分离鉴定及生物学特性[J]. 微生物学通报, 2022, 49(11): 4778-4785

Feng Yating, Zhu Min, Liu Dan, Shen Ruyu, Niu Pengfei, Guo Rong, Yu Shengqing. Isolation, identification, and biological characterization of *Riemerella anatipestifer* epidemic strains[J]. Microbiology China, 2022, 49(11): 4778-4785

摘要:【背景】鸭疫里默氏杆菌(*Riemerella anatipestifer*, RA)是引起雏鸭、鹅、火鸡等多种家禽、野禽发生传染性浆膜炎的病原, 在全世界范围内广泛存在, 危害养禽业发展, 造成严重的经济损失。【目的】了解国内 RA 的流行现状, 探究该菌的生物学特性, 更好地指导防控鸭疫里默氏杆菌病。【方法】对 2020-2021 年从山东省、河北省、广东省、山西省等地分离的 RA 疑似菌株进行 PCR、生化和血清型鉴定, 并根据药物敏感性结果分析耐药现象, 根据半数致死量(median lethal dose, LD_{50})测定结果分析致病力差异。【结果】共鉴定 78 株 RA 分离株, 其中, 血清 1 型 4 株、2 型 21 株、10 型 11 株、6 型 3 株、7 型 17 株, 1 株有交叉凝集现象, 21 株血清型未定型; 药敏结果显示 78 株分离株对多粘菌素 B、磷霉素、克林霉素等的耐药性最强, 对头孢拉定、多西环素、呋喃唑酮、氟苯尼考等抗生素最为敏感, 并且 78 株分离株均存在多重耐药性, 其中 77 株耐药 5 重及以上; 动物试验结果显示, RA 的分离株致病力普遍较强, 而且不同地区分离株、同地区不同分离株之间均存在差异, 数株 RA 分离株的 LD_{50} 在 10^4 - 10^7 CFU 不等。【结论】RA 在国内流行表现了强致病力及严重耐药情况, 本研究结果为更好地预防控制、临床用药及后续致病机制研究提供了参考依据。

关键词: 鸭疫里默氏杆菌; 分离; 鉴定; 耐药性; 致病性

基金项目: 上海市科技创新行动计划(19391902800)

Supported by: Shanghai Science and Technology Innovation Action Project (19391902800)

*Corresponding author: E-mail: yus@shvri.ac.cn

Received: 2022-05-19; Accepted: 2022-07-05; Published online: 2022-08-08

Isolation, identification, and biological characterization of *Riemerella anatipestifer* epidemic strains

FENG Yating^{1,2}, ZHU Min¹, LIU Dan^{1,2}, SHEN Ruyu¹, NIU Pengfei¹, GUO Rong³,
YU Shengqing^{*1,3}

1 Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 200241, China

2 College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, Anhui, China

3 Yangzhou Youjiachuang Biotechnology Limited Company, Yangzhou 225261, Jiangsu, China

Abstract: [Background] *Riemerella anatipestifer* (RA) is the pathogen that causes infectious serositis in a variety of domesticated and wild birds such as ducklings, geese, and turkeys. With wide distribution all over the world, it endangers the development of poultry industry and causes serious economic losses. [Objective] To learn the epidemic status and biological characteristics of RA in China and guide the prevention and control of RA-caused disease. [Methods] PCR, biochemical tests, and serotyping were carried out for the suspected RA strains isolated from Shandong province, Hebei province, Guangdong province, and Shanxi province from 2020 to 2021. The drug resistance of the strains was evaluated by drug sensitivity test, and the pathogenicity was analyzed based on median lethal dose. [Results] A total of 78 RA strains were identified, including 4 strains of serotype 1, 21 strains of serotype 2, 11 strains of serotype 10, 3 strains of serotype 6, and 17 strains of serotype 7, 1 strain with cross agglutination, and 21 strains not serotyped. The 78 strains had the strong drug resistance to polymyxin B, fosfomycin, and clindamycin and were sensitive to cefradine, doxycycline, furazolidone, and florfenicol. In addition, all the 78 strains had multiple drug resistance, among which 77 strains had resistance to more than 5 antibiotics. The animal test results showed that the RA strains generally had strong pathogenicity, which varied among different strains of the same region and among strains of different regions. The LD_{50} of 14 RA strains ranged from 10^4 to 10^7 CFU. [Conclusion] RA has demonstrated strong pathogenicity and drug resistance in China. The results of this study provide a basis for the prevention and control, clinical medication, and subsequent research on the pathogenic mechanism of RA.

Keywords: *Riemerella anatipestifer*; isolation; identification; drug resistance; pathogenicity

鸭疫里默氏杆菌(*Riemerella anatipestifer*, RA)是一种无鞭毛和芽孢的短杆状、近球形的革兰氏阴性菌, 主要侵害 1-8 周龄雏鸭, 以纤维素性心包炎、肝周炎、气囊炎为主要临床特征^[1-2]。作为养殖业最重要的致病菌之一, RA 感染的发病率与死亡率都很高, 患病后雏鸭表现严重抑郁、共济失调、腹泻、头颈下垂等症状, 病程约一周, 即雏鸭感染后会在一周内发病死亡, 所有雏鸭的死后检查显示类似的病变, 心脏、肝脏和气囊的浆膜上有不同数量的纤维

蛋白, 部分有明显的脑膜炎病灶^[3-4]。

早在 1904 年就有了 RA 感染鹅致病的报道^[5]。我国于 1980 年后, 由郭玉璞等首先从北京的鸭场发现并且分离出 RA^[6]。多年研究发现, RA 具有较强传染性, 能通过污水、污染的饲料、飞沫、蚊虫叮咬等方式传播, 对环境有一定耐受力, 无明显季节性。RA 血清型众多, 截至目前已鉴定出 21 种血清型, 国内优势流行株为血清 1 型、2 型和 10 型, 而各血清型间缺乏交叉保护, 现有疫苗在临床使用中不能对这

种具有不同血清型的菌株感染起到完全预防作用,从而导致该病控制较缓^[7-8]。本研究鉴定多株 RA 分离株的生物学特性,以期为其流行现状分析及防控提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

78 株 RA 分离株来源:山东省 40 株、河北省 16 株、广东省 16 株、山西省 3 株、福建省 1 株、河南省 1 株、江苏省 1 株,均分离自养殖场;药敏对照菌株大肠埃希菌 ATCC 25922 由中国农业科学院上海兽医研究所保藏。

1.1.2 主要试剂和仪器

TSB 培养基和琼脂糖,北京鼎国昌盛公司; 2×*Taq* Plus Master Mix II 和 DNA Marker, 南京诺唯赞生物科技有限公司; 药敏纸片,温州康泰公司; 细菌生化微量鉴定管,杭州滨和公司; 胎牛血清,ExCell Bio 公司。CO₂ 培养箱,Thermo Fisher Scientific 公司; PCR 仪,ABI 公司; 超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司; 分光光度计,Bio-Rad 公司; 核酸电泳仪和全自动凝胶成像处理系统,上海天能科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 鸭疫里默氏杆菌分离与 PCR 鉴定

在含 2% 胎牛血清的 TSA 平板上,将临床分离的 RA 疑似菌株以四区划线法接种,于 5% CO₂ 恒温培养箱 37 °C 培养 24 h,观察菌落形成特征。挑取 3-5 个呈半透明、圆形光滑、稍突起,直径约 1-2 mm 的乳油状小菌落再次划线接种含 2% 胎牛血清的 TSA 平板,于 5% CO₂ 恒温培养箱 37 °C 培养 24 h 后,挑取 3-5 个典型特征菌落用 TSB 液体培养基,37 °C、220 r/min 培养 10 h 增菌。以该二次克隆纯化的菌液为模板,用三重 PCR 方法进行 RA 的 16S rRNA、*ompA* 和 *groEL* 基因鉴定^[9]。PCR 反应

体系: 2×*Taq* Plus Master Mix II 10 μL, 上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL, 模板 1 μL, ddH₂O 补足至 20 μL。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 15 s, 56 °C 20 s, 72 °C 1 min, 共 35 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳后进行凝胶成像观察结果。

1.2.2 血清型鉴定

将 RA 分离株于 TSA 平板上纯化培养,挑取单个菌落,在干净玻片上与 10 μL RA 血清 1 型、2 型、6 型、7 型、10 型抗血清(中国农业科学院上海兽医研究所制备并保存)混匀,进行平板凝集试验,观察是否出现絮状凝集。依据凝集现象判定分离株的血清型,记录结果。

1.2.3 生化鉴定

挑取各株 RA 单菌落分别接种于细菌生化微量鉴定管,同时在干净玻片上与 3% 过氧化氢溶液进行触酶试验,观察并记录结果。

1.2.4 药物敏感性试验

采用纸片扩散法(K-B)对各 RA 分离株进行药物敏感性试验。将已纯化的单菌落接种于 TSB 液体培养基,37 °C、220 r/min 培养 10 h,经过再次 PCR 鉴定后,取新鲜菌液均匀涂布到 TSA 平板上,将药敏纸片均匀地间隔贴在平板上,置 37 °C、5% CO₂ 恒温箱培养 16-48 h,形成完整均匀的抑菌圈。设置大肠杆菌 ATCC 25922 作质控,记录抑菌圈直径,参考说明书结果标准及 RA 耐药性试验相关文献,判定结果分为敏感株、中介株(中等耐药株)和耐药株^[2,10-11]。

选取 30 种抗菌药进行试验,分别为: 头孢菌素类的头孢拉定、头孢噻肟、头孢他啶、头孢曲松和头孢吡肟; 青霉素类的阿莫西林和氨苄西林; 氨基糖苷类的丁胺卡那、卡那霉素、庆大霉素、壮观霉素、新霉素和链霉素; 四环素类的米诺环素、四环素和多西环素; 喹诺酮类的洛美沙星、左氧氟沙星和诺氟沙星; 酰胺醇类的氟苯尼考和氯霉素; 大环内酯类的罗红

霉素和阿奇霉素; 磺胺类的磺胺甲恶唑(甲氧苄啶); 多肽类的多粘菌素 B; 林可酰胺类的克林霉素; 利霉素类的利福平; 硝基咪唑类的呋喃唑酮; 其他类抗生素的磷霉素和奥普托欣。

1.2.5 动物回归试验及半数致死量测定

动物与伦理声明: 试验鸭的饲养和实验程序按照中国农业科学院上海兽医研究所制定的《实验动物饲养和应用指南》进行。本研究方案经中国农业科学院上海兽医研究所实验动物福利与伦理管理委员会批准(批准号为 SV-20210819-Y01)。

选取 14 株 RA 分离株于 TSA 平板上挑取典型菌落传代 3 次, 将第 3 次传代后生长良好的新鲜菌体(5% CO₂ 培养箱培养 18 h)使用无菌 PBS 轻轻洗下, 4 °C、5 000 r/min 离心 5 min, PBS 重悬洗涤菌体 2 次, 调整菌液使得含菌量为 2×10⁷ CFU/mL, 腿部肌肉注射 16 日龄的樱桃谷鸭, 0.5 mL/只, 每组 3 只, 记录动物发病情况。若出现雏鸭发病死亡, 即在无污染条件下进行解剖, 在肝脏、心脏、脑组织部位取样接种于 TSA 培养基, 挑取单菌落 3-5 个, 接种于 TSB 培养基, 37 °C、220 r/min 培养 10 h, 同样进行三重 PCR 鉴定, 鉴定为阳性则增菌并保存为该 RA 复壮分离株。

经过回归到雏鸭体内复壮的 RA 分离株仍按上述方法洗涤后, 分别稀释至 2×10⁹、2×10⁸、2×10⁷、2×10⁶、2×10⁵ CFU/mL, 各浓度的菌液分别攻毒 10 只 22 日龄的樱桃谷鸭, 0.5 mL/只。以接种后的 7 d 为一个观察周期, 记录攻毒后雏鸭死亡数量, 用改良寇氏法计算半数致死量(LD₅₀)。

2 结果与分析

2.1 RA 的分离鉴定结果

78 株分离株于 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养

24 h, 在含 2% 胎牛血清的 TSA 上可见长成半透明、圆形光滑、稍突起, 直径约 1-2 mm 的乳油状小菌落。通过 PCR 鉴定, 78 株分离株均扩增出 RA 16S rRNA、ompA 和 groEL 基因片段, 目的片段大小分别为 250、500 和 750 bp, 鉴定为 RA 阳性菌株。

2.2 血清型鉴定结果

玻板凝集试验结果显示: 78 株 RA 分离株中, 血清 1 型 4 株; 血清 2 型 21 株; 血清 10 型 11 株; 血清 6 型 3 株; 血清 7 型 17 株; 1 株为血清 1、2、6、7、10 型交叉凝集反应; 21 株血清型未定型。

2.3 生化鉴定结果

生化试验结果显示: 78 株 RA 分离株均不发酵葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖和半乳糖; 硫化氢试验、靛基质试验、VP、MR 试验、硝酸盐还原和枸橼酸盐试验均为阴性; 触酶试验均为阳性; 尿素酶试验中, 78 株中有 42 株可分解尿素, 其余均为阴性; 明胶试验中, 55 株分离株可液化明胶, 其余为阴性。以上试验结果基本符合 RA 的生化特性。

2.4 药物敏感性试验结果

药敏结果显示: 78 株 RA 分离株对多粘菌素 B、磷霉素、克林霉素的耐药性最强, 对氨苄西林、阿莫西林等青霉素类抗生素及诺氟沙星、洛美沙星等喹诺酮类抗生素表现为中介敏感, 对头孢拉定、多西环素、呋喃唑酮等抗生素最为敏感(表 1)。

在对每株分离株的耐药情况分析后发现, 78 株分离株都具有多重耐药现象, 其中 77 株的多重耐药性达 5 重及以上, 耐药 9、10 重的菌株比例最高, 均达 19.2%, 如表 2 所示。

2.5 动物回归试验及半数致死量测定结果

RA 分离株攻毒雏鸭后, 在第 2 天开始出现致病症状, 神经症状最为典型, 病鸭精神不振、

站立不稳,不愿进食,有绿色下痢,出现症状后数天内死亡。剖检后见雏鸭肝脏肿大出血,颜色暗沉等症状,以及心包充血发炎、脑膜出血、脑粘连等病变。雏鸭攻毒后死亡及临床剖检症状,如图1所示。

根据改良寇氏法计算 RA 分离株的 LD_{50} 。结果显示,RA 分离株致病力普遍较强,而且不

同地区的分离株及相同地区不同分离株之间均存在差异, LD_{50} 在 10^4 – 10^7 不等,如表3所示。

3 讨论与结论

RA 在全国各地流行,经多途径传播,引起养禽业严重的经济损失。本研究旨在探寻 RA 在全国多地区的流行现状,对分离获得的 78 株

表 1 RA 分离株的抗生素耐药情况

Table 1 Antibiotic resistance of RA isolates

抗生素 Antibiotic		耐药菌株数量 Number of resistant strains		
		耐药 Resistant	中介 Intermediate	敏感 Sensitive
头孢菌素类 Cephalosporins	头孢拉定 Cefradine	0	1	77
	头孢噻肟 Cefotaxime	0	12	64
	头孢他啶 Ceftazidime	8	15	55
	头孢曲松 Ceftriaxone	4	29	45
	头孢吡肟 Cefepime	13	16	49
青霉素类 Penicillins	氨苄西林 Ampicillin	12	20	46
	阿莫西林 Amoxicillin	14	16	48
氨基糖苷类 Aminoglycosides	丁胺卡那 Amikacin	36	21	21
	庆大霉素 Gentamicin	35	16	27
	卡那霉素 Kanamycin	60	9	9
	壮观霉素 Spectinomycin	1	10	67
	新霉素 Neomycin	51	15	12
四环素类 Tetracyclines	链霉素 Streptomycin	32	18	28
	四环素 Tetracycline	0	28	50
	多西环素 Doxycycline	0	4	74
喹诺酮类 Quinolones	米诺环素 Minocycline	1	3	74
	诺氟沙星 Norfloxacin	23	28	27
	洛美沙星 Lomefloxacin	33	30	15
酰胺醇类 Amide alcohols	左氧氟沙星 Levofloxacin	5	47	26
	氯霉素 Chloramphenicol	0	18	60
大环内酯类 Macrolides	氟苯尼考 Florfenicol	1	0	77
	罗红霉素 Roxithromycin	25	26	27
其他类 Other	阿奇霉素 Azithromycin	58	1	19
	磺胺甲恶唑 Sulfamethoxazole	54	4	20
其他类 Other	多粘菌素 B Polymyxin B	76	1	1
	克林霉素 Clindamycin	71	0	7
	利福平 Rifampicin	0	17	61
	呋喃唑酮 Furazolidone	0	7	71
	磷霉素 Fosfomycin	72	2	4
	奥普托欣 Uptoshin	68	4	6

表 2 78 株 RA 多重耐药性

Table 2 Multidrug resistance of 78 RA isolates

耐药数	菌株数	占比
Number of resistant	Number of strains	Percentage (%)
3	1	1.3
5	4	5.1
6	6	7.7
7	7	9.0
8	7	9.0
9	15	19.2
10	15	19.2
>10	23	29.5

RA 疑似菌株分别进行了 PCR 鉴定、血清型鉴定、生化试验及耐药性和致病力检测, 阐明了 RA 分离株的优势血清型、耐药特性及致病性, 为 RA 的综合防控提供了理论依据。RA 血清型众多, 已报道的血清型至少有 21 个, 各血清型之间无交叉保护, 因此, 针对性地使用与流行菌株相同血清型的疫苗是使用疫苗进行有效防控的关键手段。本研究结果表明, 血清 2 型和 7 型为优势血清型, 提示未来的疫苗研究需要包括 7 型菌株。RA 的生化特性鉴定中, 我们发

现尿素试验中呈现阳性的菌株几乎全部为血清 2 型、6 型、7 型, 尿素试验阴性的菌株均为血清 1 型、10 型、未鉴定型, 提示不同血清型 RA 分离株对利用尿素具有差异性。同时, 半数致死量的测定为 RA 分离株致病力的统计提供了数据支撑。研究测定了国内部分地区的数株 RA 分离株的致病力, LD_{50} 值为 $6 \times 10^4 - 3 \times 10^7$ CFU, 说明分离株致病性差异明显, 由此可能造成养殖业忽视或者过度防控的情况。

随着养殖户对 RA 防控力度加大, 各地区菌株耐药性不断变化。在治疗中, 一些多年前常用的抗生素逐渐失去效用。之前的流行病学调查中, 在 2000 年左右, 胡建华等指出丁胺卡那霉素和卡那霉素等药可以在防治 RA 中起到很好的疗效, 而多株海南地区 RA 分离株对卡那霉素和恩诺沙星不敏感, 湖北、湖南地区分离的 RA 对庆大霉素、恩诺沙星、土霉素敏感^[12-15]。这表现出 RA 的地域性耐药, 不同地区有着不同耐药谱。2011 年, 孙静等发现头孢类药物是治疗 RA 的首选药物^[16]。2015 年, 山东地区分

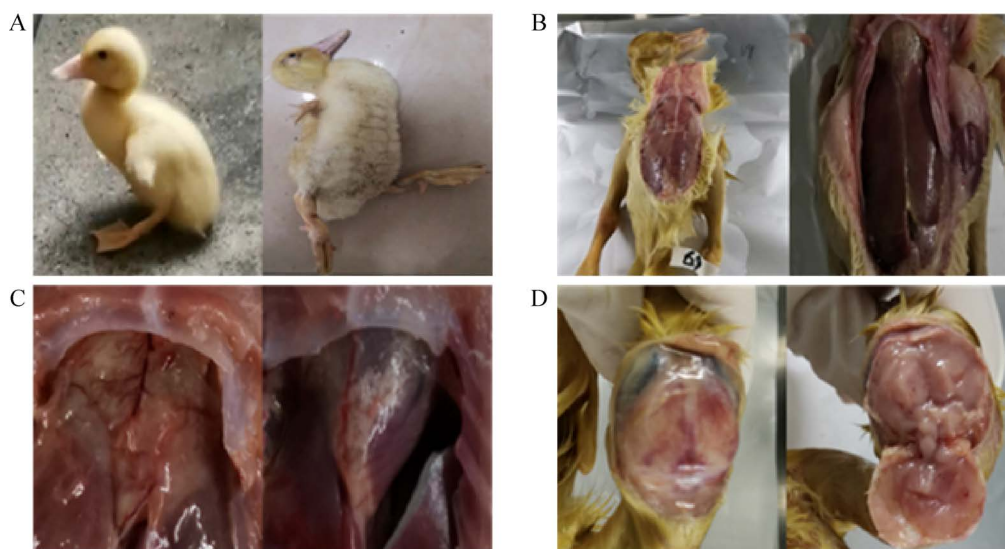


图 1 雏鸭症状及剖检病变 A: 感染鸭; B: 肝脏肿大出血; C: 心包充血发炎; D: 脑出血

Figure 1 Symptoms and pathological changes of ducklings. A: Infected ducks; B: Liver swelling and bleeding; C: Pericardial congestion and inflammation; D: Cerebral hemorrhage.

表3 RA分离株半数致死量测定结果

Table 3 Determination results of median lethal dose of RA isolates

Strain	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	LD ₅₀ (CFU)
SDD-15	10	9	6	4	4	1.26×10 ⁶
HB-30	10	10	8	10	6	8.91×10 ⁴
HB-31	10	10	9	8	10	3.98×10 ⁴
HB-32	10	9	10	9	8	5.01×10 ⁴
HB-34	10	8	6	7	4	7.94×10 ⁵
HB-36	7	8	6	4	6	2.24×10 ⁶
SDJ-80	9	7	6	7	6	7.50×10 ⁵
SDS-54	10	10	8	7	7	1.33×10 ⁵
FJ-56	10	10	9	8	8	6.31×10 ⁴
GDX-58	9	10	9	9	7	8.41×10 ⁴
SDJ-69	10	9	9	9	8	6.31×10 ⁴
SDJ-70	10	8	7	7	5	4.73×10 ⁵
SDJ-71	8	4	4	2	2	3.16×10 ⁷
SX-72	10	10	6	4	2	1.78×10 ⁶

离到的RA对卡那霉素、庆大霉素、氟苯尼考耐药性增加,而且表现出多重耐药性;2015–2019年,调查发现分离菌株对磺胺类和四环素类药物不敏感,青霉素类药物效果减弱^[17-18]。各类抗生素被不断运用到治疗中,导致药物反应各不相同,对不同地区分离株耐药情况具体分析,在临床中才能很好地控制和减少经济损失,进行药物敏感性试验就是为了筛选可以对致病菌起到很好抑制作用的抗生素,用于指导用药。考虑到地域差异,建议在本研究调查的山东省、广东省、山西省、河北省等地将头孢拉定、头孢噻肟、米诺环素、氟苯尼考和呋喃唑酮等抗生素作为参考药物使用。

REFERENCES

- [1] 牛朋飞. 鸭疫里默氏杆菌IX型分泌系统效应分子MPPE的生物学特性分析及单克隆抗体制备[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2021
Niu PF. Analysis of biological characteristics and monoclonal antibody preparation of MPPE, an effector molecule of type IX secretion system of *Riemerella anatipestifer*[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021 (in Chinese)
- [2] 任晓梅, 王小兰, 韩文龙, 张雪梅, 陈宗超, 李涛, 丁

铲, 于圣青. 鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定与生物学特性研究[J]. 中国动物传染病学报, 2018, 26(4): 47-51

- Ren XM, Wang XL, Han WL, Zhang XM, Chen ZC, Li T, Ding C, Yu SQ. Isolation, identification and biological characterization of *Riemerella anatipestifer*[J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2018, 26(4): 47-51 (in Chinese)
- [3] Ren XM, Chen ZC, Niu PF, Han WL, Ding C, Yu SQ. XRE-type regulator BioX acts as a negative transcriptional factor of biotin metabolism in *Riemerella anatipestifer*[J]. Journal of Bacteriology, 2021, 203(15): e0018121
- [4] Leavitt S, Ayroud M. *Riemerella anatipestifer* infection of domestic ducklings[J]. The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne, 1997, 38(2): 113
- [5] Segers P, Mannheim W, Vancanneyt M, De Brandt K, Hinz KH, Kersters K, Vandamme P. *Riemerella anatipestifer* gen. nov., comb. nov., the causative agent of septicemia anserum exsudativa, and its phylogenetic affiliation within the *Flavobacterium-Cytophaga* rRNA homology group[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1993, 43(4): 768-776
- [6] 郭玉璞, 陈德威, 范国雄, 刘瑞萍. 北京鸭小鸭传染性浆膜炎的调查研究[J]. 畜牧兽医学报, 1982, 13(2): 35-41
Guo YP, Chen DW, Fan GX, Liu RP. Studies on infections serositis in white Beijing ducklings[J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 1982, 13(2): 35-41 (in Chinese)

- [7] Hou WW, Wang SH, Wang XL, Han XG, Fan HJ, Cao SL, Yue JP, Wang Q, Jiang W, Ding C, et al. Development of colloidal gold immunochromatographic strips for detection of *Riemerella anatipestifer*[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0122952
- [8] Pathanasophon P, Phuektes P, Tanticharoenyos T, Narongsak W, Sawada T. A potential new serotype of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand[J]. Avian Pathology, 2002, 31(3): 267-270
- [9] 王小兰. 鸭疫里默氏杆菌病多价油乳剂灭活疫苗的研制[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2012
Wang XL. Study on the polyvalent inactivated oil-emulsion vaccine of *Riemerella anatipestifer*[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012 (in Chinese)
- [10] 杨永胜, 陈研, 薛亚飞, 徐欣欣, 王西, 杜晓莉, MD Nazrul, 宫艳杉, 胡青海. 4 株鹅源鸭疫里默氏杆菌生物学特性分析[J]. 中国动物传染病学报, 2020, 28(5): 62-66
Yang YS, Chen Y, Xue YF, Xu XX, Wang X, Du XL, Nazrul MD, Gong YS, Hu QH. Biological characteristics of four *riemerella anatipestifer* isolates from geese[J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2020, 28(5): 62-66 (in Chinese)
- [11] 朱玲玲, 孙敏华, 胡怡, 汪婷, 徐欢, 汪威, 殷世彬, 汪招雄. 湖北省鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国动物传染病学报, 2021. https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CAPJ&dbname=CAPJLAST&filename=ZSJB20210304007&uniplatform=NZKPT&v=ozQHRCMdoKrzeNNT9j8fJf7jdNn8_K6MJegn7ZrTGvTjpdiiWiPdrRZVR_aeEg9
Zhu LL, Sun MH, Hu Y, Wang T, Xu H, Wang W, Yin SB, Wang ZX. Isolation, identification and drug resistance analysis of *Riemerella anatipestifer* in Hubei province[J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2021. https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CAPJ&dbname=CAPJLAST&filename=ZSJB20210304007&uniplatform=NZKPT&v=ozQHRCMdoKrzeNNT9j8fJf7jdNn8_K6MJegn7ZrTGvTjpdiiWiPdrRZVR_aeEg9 (in Chinese)
- [12] 胡建华, 孙凤萍, 金佩芳, 刘洪云, 吴祖立. 鸭疫里默氏杆菌流行病学调查[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2002(2): 44
Hu JH, Sun FP, Jin PF, Liu HY, Wu ZL. Epidemiological investigation of *Riemannia anatipestifer*[J]. Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2002(2): 44 (in Chinese)
- [13] 陈兴生, 李布勇. 海南省鸭疫里默氏杆菌病流行病学调查[J]. 中国预防兽医学报, 1999, 21(3): 231-233
Chen XS, Li BY. Epidemiological investigation of *Riemannia anatipestifer* in Hainan province[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 1999, 21(3): 231-233 (in Chinese)
- [14] 邹联斌, 熊毅, 黄胜斌, 李华明, 覃芳芸, 覃贞娇. 鸭疫里默氏杆菌病的防治试验[J]. 广西畜牧兽医, 1999, 15(3): 24
Zou LB, Xiong Y, Huang SB, Li HM, Qin FY, Qin ZJ. Study on prevention and treatment of *Riemannia anatipestifer*[J]. Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 1999, 15(3): 24 (in Chinese)
- [15] 黄夏, 韦婷, 李华明, 棒玉雏, 陆光进, 李小莲, 黄胜斌. 鸭疫巴氏杆菌病的诊断及防治[J]. 河南畜牧兽医, 1996, 17(4): 34-36
Huang X, Wei T, Li HM, Feng YC, Lu GJ, Li XL, Huang SB. Diagnosis and control of pasteurellosis of duck plague[J]. Henan Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 1996, 17(4): 34-36 (in Chinese)
- [16] 孙静, 郭浩, 王秀玲, 常维山. 近年我国部分地区鸭疫里默氏杆菌耐药性分析[J]. 山东畜牧兽医, 2011, 32(5): 61-62
Sun J, Guo H, Wang XL, Chang WS. Analysis of drug resistance of *Riemerella anatipestifer* in China in recent years[J]. Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2011, 32(5): 61-62 (in Chinese)
- [17] 陈基明, 梁竞臻, 赵长润, 徐子恒, 磨美兰, 韦平. 一例雏鹅感染鸭疫里默氏杆菌的病例报告[J]. 广西畜牧兽医, 2018, 34(6): 291-292
Chen JM, Liang JZ, Zhao CR, Xu ZH, Mo ML, Wei P. A case report of a gosling infected with *Riemerella anatipestifer*[J]. Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2018, 34(6): 291-292 (in Chinese)
- [18] 骆延波, 李兰波, 贾纪美, 刘晓东, 齐静, 李璐璐, 胡明, 刘玉庆. 山东省肉鸭鸭疫里默氏杆菌流行病学调查及耐药性分析[J]. 中国家禽, 2015, 37(21): 79-82
Luo YB, Li LB, Jia JM, Liu XD, Qi J, Li LL, Hu M, Liu YQ. Epidemiological investigation and drug resistance analysis of *Riemerella anatipestifer* in meat ducks in Shandong province[J]. China Poultry, 2015, 37(21): 79-82 (in Chinese)