

康霞梅,何深宏,任绍科,等. 海藻糖比伯斯坦杆菌研究进展[J]. 江苏农业学报,2019,35(4):980-985.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2019.04.033

海藻糖比伯斯坦杆菌研究进展

康霞梅, 何深宏, 任绍科, 刘 威, 李小燕, 曹立亭, 郭建华, 程方俊
(西南大学动物科学学院,重庆 402460)

摘要: 海藻糖比伯斯坦杆菌(*Bibersteinia trehalosi*)属于巴氏杆菌科比伯斯坦杆菌属,是健康羊上呼吸道(鼻咽)和扁桃体正常菌群的一部分。然而,越来越多研究结果表明,海藻糖比伯斯坦杆菌能够感染反刍动物,引起牛呼吸道疾病(BRD)和羊的肺炎,导致其繁殖性能下降,生长发育不良,甚至死亡。目前,海藻糖比伯斯坦杆菌在中国报道较少,为了更好地预防和控制反刍动物呼吸道疾病的发生,需要对海藻糖比伯斯坦杆菌进行深入研究。本文从病原学、致病机制、致病性、基因组特征、检测方法和治疗措施等方面综述了海藻糖比伯斯坦杆菌的研究进展,并对其研究趋势进行了展望。

关键词: 海藻糖比伯斯坦杆菌; 基因组特征; 致病性; 检测方法

中图分类号: S852.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2019)04-0980-06

Research progress of *Bibersteinia trehalosi*

KANG Xia-mei, HE Shen-hong, REN Shao-ke, LIU Wei, LI Xiao-yan, CAO Li-ting, GUO Jian-hua, CHENG Fang-jun

(College of Animal Science, Southwest University, Chongqing 402460, China)

Abstract: *Bibersteinia trehalosi* belongs to *Bibersteinia* genus of the Pasteurellaceae family. It is a part of the normal microflora of the upper respiratory tract (nasopharynx) and the tonsil in healthy sheep. However, more and more results showed that *Bibersteinia trehalosi* could infect ruminants and cause bovine respiratory disease (BRD) and sheep pneumonia, resulting in decreased reproductive performance, poor growth, and even death. At present, there were few reports about *Bibersteinia trehalosi* in China. In order to better prevent and control the occurrence of respiratory diseases in ruminants, it was necessary to conduct in-depth research on *Bibersteinia trehalosi*. In this paper, the research progress of *Bibersteinia trehalosi* was summarized from the aspects of etiology, pathogenicity, pathogenesis, genomic characteristics, detection methods and therapeutic measures, and the research trend was prospected.

Key words: *Bibersteinia trehalosi*; genomic characteristics; pathogenicity; detection methods

海藻糖比伯斯坦杆菌(*Bibersteinia trehalosi*)属于巴氏杆菌科比伯斯坦杆菌属^[1],存在于健康大角

羊的上呼吸道^[2]和扁桃体^[3]内。近年来,海藻糖比伯斯坦杆菌作为引起反刍动物肺炎的一种重要病原体,在世界范围内被广泛关注^[4]。海藻糖比伯斯坦杆菌主要感染牛^[5]和羊等反刍动物,引起牛、羊的呼吸道疾病,临床表现为发热、呼吸急促、反复咳嗽、腹泻、脱水、食欲不振以及眼和鼻常有分泌物等^[6],给很多国家的畜牧业带来了巨大危害,造成严重的经济损失^[7]。海藻糖比伯斯坦菌为人兽共患病菌^[8],给中国养殖业^[9-10]和人类公共卫生^[11]带来了

收稿日期:2019-04-22

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0501705);重庆市社会民生科技创新专项项目(cstc2016shmszx0932)

作者简介:康霞梅(1998-),女,湖南新化人,本科,主要从事动物医学研究。(E-mail)1978750407@qq.com

通讯作者:程方俊,(E-mail)cfjxndx@163.com;郭建华,(E-mail)guo0619@163.com

一定的安全隐患。本文拟从病原学、致病性、致病机制、基因组特征、检测方法和治疗措施等方面总结海藻糖比伯斯坦杆菌的研究进展,以期反刍动物呼吸道疾病的防控提供依据。

1 病原学

1.1 分类

1999年,根据DNA-DNA杂交和16S rRNA基因序列分析结果,溶血性巴氏杆菌T生物型的4种血清型(T3、T4、T10、T15)被重新命名为海藻糖巴氏杆菌(*Pasteurella trehalosi*)^[4]。2006年,Villard等^[12]指出T3血清型是法国最常见的分离株。2007年,该菌被再次重新分类并命名为海藻糖比伯斯坦杆菌(*Bibersteinia trehalosi*)^[13]。海藻糖比伯斯坦杆菌与曼氏杆菌属(*Mannheimia*)成员的亲缘关系相对较近,如溶血性曼氏杆菌(*Mannheimia haemolytica*)^[4],它们常一起引起反刍动物的呼吸道疾病。

1.2 形态特征和培养特性

海藻糖比伯斯坦杆菌为革兰氏阴性菌,呈杆状或球杆状,菌体较小,为0.2~0.4 μm,无鞭毛,不运动(22~37℃)^[13],其细胞壁主要由脂多糖和蛋白质组成^[14]。海藻糖比伯斯坦杆菌在含有10%兔血的鲜血平板上生长,24h后形成灰白色、圆形、表面光滑凸起、针尖大小的透明菌落,并且有β-溶血现象;在麦康凯培养基上生长缓慢,呈针尖大小的红色菌落,能够耐受胆盐^[15]。Dassanayake等^[2]发现,海藻糖比伯斯坦杆菌能够以一种接近依赖性抑制(PDI)机制来抑制溶血性曼氏杆菌(*M. haemolytica*)的生长,这种机制最早存在于不同的大肠杆菌菌株中,与接触依赖抑制剂A(CdiA)及双伴侣分泌蛋白质(CdiB)有关^[16],解释了患病大角羊肺中无法大量分离出溶血性曼氏杆菌的原因。

1.3 生化特性

海藻糖比伯斯坦杆菌可发酵多种糖类,如葡萄糖、蔗糖、果糖、核糖、甘露糖、D-海藻糖、棉子糖、乳糖等^[13,17-18],不发酵L-阿拉伯糖、岩藻糖、半乳糖、蜜二糖、松三糖、松二糖、菊糖、木糖醇、甘露醇、侧金盏花醇等,对卫矛醇、甘油、肌醇、鼠李糖的发酵性尚不能确定。吡啶、磷酸酶、脲酶和丙氨酸氨基肽酶试验结果均为阳性,Voges-Proskauer试验、尿素酶、过氧化氢酶、精氨酸脱氢酶、赖氨酸脱羧酶、苯丙氨酸脱氨酶、岩藻糖苷酶、半乳糖糖苷酶、葡萄糖醛酸酶、甘

露糖苷酶和木糖糖苷酶的试验结果均为阴性,不产生淀粉,不分解尿素,不液化明胶,还原硝酸盐^[19]。

2 致病性和致病机制

海藻糖比伯斯坦杆菌是导致大角羊暴发流行性肺炎的重要病原体^[4,20],常引起反刍动物呼吸道感染。据报道,在1997-2000年肺炎流行,大大降低了大角羊的存活率和种群数量^[21]。对病死羊进行剖检,发现羊只大面积出血,特别是在颈部皮下以及胸腔部位,肺脏边缘点状出血,肠道尤其是十二指肠呈出血性肠炎,肝脏、脾脏和肺脏均出血且肝脏有很多灰色病灶。目前,海藻糖比伯斯坦杆菌在中国的研究不多。2015年,李富祥等^[9]从病羊肺脏中分离鉴定得到一株高致病性海藻糖比伯斯坦杆菌。2017年,罗怡琳等^[8]从病死羔羊中也分离得到该菌。此外,海藻糖比伯斯坦杆菌还是一种人畜共患病原菌,该菌可引起人脑部脓肿^[11]、面痈^[22]、泌尿系统感染^[23]、肺部感染^[24]等。

海藻糖比伯斯坦杆菌含有多个毒力因子,包括白细胞毒素(Lkt)、黏附素、荚膜和内毒素等^[4],其中Lkt为海藻糖比伯斯坦杆菌最重要的毒力因子,4种血清型均能产生Lkt。Lkt是由953个氨基酸组成的蛋白质,分子量大小为102 000,属于RTX毒素家族成员,与大肠杆菌(*Escherichia coli*)、胸膜肺炎放线杆菌(*Actinobacillus pleuropneumoniae*)及放线杆菌(*Actinobacillus*)所产生外毒素的同源性较高。Lkt的基因簇由4个基因构成,从5'到3'分别为LktC、LktA、LktB、LktD。LktA为独立的效应蛋白质,LktC蛋白具有转酰酶作用,可对LktA蛋白进行酰基化,LktB和LktD蛋白则负责将LktA通过I型分泌系统转运至胞外^[25]。Lkt能够以单体或多聚体的形式作用于反刍动物的白细胞,多形核细胞(PMNS)最易受Lkt细胞溶解作用的影响,Lkt诱导的PMNS裂解和脱颗粒是急性炎症以及肺损伤的主要原因。Lkt与牛白细胞(嗜中性白细胞、巨噬细胞、血小板和淋巴细胞)表面上表达的CD18(一种β2整联蛋白)相结合,极低浓度或亚细胞毒性浓度时可激活靶细胞并启动凋亡,高浓度时造成靶细胞细胞膜穿孔,导致细胞肿胀坏死^[26]。此外,黏附素的表达可能依赖于环境因素,当微生物定殖在上皮表面时黏附素可以表达,从而增强定殖。荚膜不仅可以抑

制补体介导的血清杀伤作用,还可以增强中性粒细胞向肺泡上皮迁移和黏附的能力。内毒素能改变反刍动物白细胞的功能,对动物血管内皮细胞直接发挥毒性作用,提高前列腺素、5-羟色胺、环磷酸腺苷(cAMP)和环磷酸鸟苷(cGMP)的含量^[27]。

3 基因组特征

随着测序技术的飞速发展,第三代单分子测序增加了测序读长,从而解决了第一代和第二代DNA测序仪因短读输出不能完全重建微生物染色体的问题。Koren等^[28]使用长读单分子测序仪测出了海藻糖比伯斯坦杆菌的第一个基因组序列——USDA-ARS-USMARC-192(NCBI检索号CP003745)。Harhay等^[29]用血液和细胞培养DNA试剂盒提取海藻糖比伯斯坦杆菌的基因组DNA(USDA-ARS-USMARC-188、USDA-ARS-USMARC-189、USDA-ARS-USMARC-190),使用测序仪器测得USDA-ARS-USMARC-188、USDA-ARS-USMARC-189和USDA-ARS-USMARC-190的基因组大小分别为2 340 975 bp、2 454 127 bp和2 443 169 bp,基因计数分别为2 221、2 448和2 377,编码序列数分别为2 146、2 373、2 301,tRNA数分别为56、56、57,rRNA数分别为19、19和19,G+C含量分别为38.3%、41.0%和36.8%(3个基因组序列在NCBI的检索号分别为CP006954、CP006955、CP006956)。Kugadas等^[20]从死于肺炎的大角羊肺脏中分离出了海藻糖比伯斯坦杆菌Y31菌株,用QIAamp DNA minikit试剂盒分离出基因组DNA,并使用单分子实时测序技术(SMRT)测得其基因组序列长度为2 334 734 bp,G+C含量为41%。使用原核基因组注释管道在NCBI上对基因组序列进行自动标注^[30],结果产生2 240个基因、5个rRNA操纵子、56个tRNA和1个非编码RNA。Anton等^[5]利用单分子实时测序技术对4株海藻糖比伯斯坦杆菌(检索号为CP006954、CP006955、CP006956和CP003745)甲基化和相关基因含量进行了表征工作,测得每株之间的甲基化模式以及编码DNA甲基转移酶的基因组是不同的,唯一的共同模式是苷甲基化酶。DNA甲基化是一种重要的表观遗传,高甲基化可抑制基因转录。研究海藻糖比伯斯坦杆菌不同菌株间甲基化的细微差别以及这种变异对转录的影响,对于制定减轻反刍动物呼吸道疾病的策略具有重要意义。Narayanan

等^[1]从一头死于肺炎的母牛中分离出一株海藻糖比伯斯坦杆菌,并测得其全基因组序列,指出该基因组与细菌的耐氨基糖苷类、磺胺类、四环素等抗生素有关,为进一步研究海藻糖比伯斯坦杆菌的抗生素耐药性及功能基因组之间的关系提供了可能。

4 抗菌疫苗

海藻糖比伯斯坦杆菌、溶血性曼氏杆菌等巴氏杆菌科成员是引起牛、羊呼吸道疾病的重要病原体^[4,5,20]。在防控由海藻糖比伯斯坦杆菌等细菌引起的反刍动物呼吸道疾病上,学者们做了积极的探索。Foreyt^[31]早期制备的针对溶血性曼氏杆菌(A1)和海藻糖比伯斯坦杆菌(T3、T10)的多价细菌-类毒素疫苗,在预防和治疗肺炎方面并不成功。Subramaniam等^[32]制成了一株多价疫苗,这株疫苗以溶血性曼氏杆菌血清型A2菌株(WSU-1)和海藻糖比伯斯坦杆菌血清型T10菌株(ATCC 33374)作为免疫原,采用培养物对数期的上清液制备,疫苗包括等量的上清液和佐剂复合物,佐剂复合物由Al(OH)₃和Quil-A组成,该疫苗对治疗大角羊肺炎有一定作用,但效果不明显。Muruganathan等^[4]针对海藻糖比伯斯坦杆菌白细胞毒素的抗原表位设计了单抗AM113,该单抗具有中和海藻糖比伯斯坦杆菌白细胞毒素的作用,因此该表位为研发亚单位疫苗和病毒载体疫苗,防治反刍动物呼吸道疾病奠定了基础。此外,海藻糖比伯斯坦杆菌的细胞壁成分荚膜是一种重要的致病因子,传统的以荚膜聚合物作为抗原生产的糖结合疫苗制剂,因需要培养病原体而耗费较大成本,往往不作为疫苗的最佳选择。相比之下,酶法合成荚膜聚合物具有无致病性、反应速度快、效率高、选择性强的优点,为新一代疫苗的研制提供了思路^[32]。

5 检测方法和治疗措施

5.1 检测方法

目前,针对海藻糖比伯斯坦杆菌的检测方法有:病原学检测法、免疫检测法、分子生物学检测法。

5.1.1 病原学检测法 病原学检测法是用于检测海藻糖比伯斯坦杆菌的传统方法,主要有革兰氏染色法、细菌分离鉴定法和全自动仪器分析系统检测法。对这些方法获得检测结果的判定依据主要是海藻糖比伯斯坦杆菌的培养特性、生长特性、生化特性

以及血清型等。

5.1.2 免疫检测法 细菌的免疫检测法主要有酶联免疫吸附试验(ELISA)、间接酶联免疫吸附试验、荧光抗体检测^[33]、免疫组织化学(IHC)法^[34]以及凝集试验法^[15]等。海藻糖比伯斯坦杆菌引起动物呼吸道疾病时,血清中触珠蛋白基质金属蛋白酶9复合物(Hp-MMP 9)的浓度升高,用ELISA方法测其浓度,可初步检测是否有海藻糖比伯斯坦杆菌等细菌的存在^[35];间接ELISA可以检测海藻糖比伯斯坦杆菌培养上清液中的Lkt蛋白,该方法以Lkt特异性小鼠单克隆抗体MM601作为一抗,以酶标羊抗小鼠抗体为二抗,2'-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)为底物^[32,36]。海藻糖比伯斯坦杆菌的每一种血清型都可以通过间接血细胞凝集试验或者快速玻片凝集试验进行测定^[15]。

5.1.3 分子生物学检测法 分子生物学检测技术是以基因检测为基础,通过分析特定基因从而对该病原微生物进行定性、定量分析的一种检测手段。目前最常用的分子生物学检测方法为聚合酶链式反应(PCR),与传统检测方法相比,该法具有特异性强、灵敏度高、检测速度快、准确率高的优点。Dasanayake等^[2]应用CLUSTAL W程序开发了一种多重PCR检测方法,设计了针对*gcp*和*sodA*基因的特异性引物,用于区分溶血性曼氏杆菌和海藻糖比伯斯坦杆菌。其中,海藻糖比伯斯坦杆菌PCR反应体系包括浓度均为0.2 μmol/L的上游引物sodAF(5'-GCCTGCCGACAAACGTGTTG-3')和下游引物sodAR(5'-TTTCAACAGAACCAAAATCACGAATG-3')以及2 μl细菌裂解液。PCR程序为:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸40 s,35个循环,最后在72℃的条件下延伸5 min,此法为研究海藻糖比伯斯坦杆菌是否以PDI方式抑制溶血性曼氏杆菌生长提供了思路。Hanthorn等^[37]设计上游引物:LktA9(5'-TCAAGAAGAGCTGGCAAC-3')和下游引物LktA7(5'-AGTGAGGGCAACTAAACC-3'),用16S rRNA扩增*LktA*基因,试验结果表明,海藻糖比伯斯坦杆菌可以作为一种继发性病原体或机会性病原体在反刍动物呼吸道疾病中发挥作用。Killion等^[38]设计了一种实时PCR用来检测海藻糖比伯斯坦杆菌。

5.2 治疗措施

海藻糖比伯斯坦杆菌与溶血性曼氏杆菌的亲缘

关系较近,对溶血性曼氏杆菌引起的感染多采用抗生素治疗^[39],所以推测可以采用同样方法治疗海藻糖比伯斯坦杆菌引起的感染,例如服用土霉素、四环素、氨苄西林等。环丙沙星及头孢他啶可以治疗海藻糖比伯斯坦杆菌引起的泌尿系统感染^[23],头孢哌酮和舒巴坦可以治疗其引起的肺部感染^[24]。何琼^[22]用米诺环素、万古霉素等治疗海藻糖比伯斯坦杆菌引起的面痈,起到了一定的治疗效果。Shoemake等^[40]发现,牛呼吸道疾病(BRD)病原体对体外乳过氧化物酶/过氧化氢/碘化物系统敏感,并确定口服碘化钠能使呼吸道分泌物中碘达到足够的浓度,从而在体内灭活海藻糖比伯斯坦杆菌等病原体,这具有重大意义。目前,国内外还没有研发出有效的单价疫苗来专门治疗海藻糖比伯斯坦杆菌引起的感染,但是上述结果为今后疫苗的研制提供了方向,随着生物技术的进步以及疫苗生产工艺的优化,可以有效预防治疗反刍动物呼吸道疾病的兽用疫苗将会大范围投入市场。

6 展望

虽然海藻糖比伯斯坦杆菌在中国养殖行业中不是主要的致病菌,但随着中国经济的快速增长,与世界各国的贸易往来也日益频繁,这就增大了中国养殖业暴发呼吸道疾病的风险,也就意味着目前有许多问题亟待解决。要从根本上解决海藻糖比伯斯坦杆菌的危害,必须对其致病机制进行深入研究,尤其是对其致病机理的研究,将有助于找到防控反刍动物呼吸道疾病的有效策略。同时,针对海藻糖比伯斯坦杆菌的疫苗从研究到临床应用仍有很长的路要走,尤其是在新型疫苗的研发方面,比如亚单位疫苗。另外,对其基因及基因组的研究也是需要认真对待的一个问题。当前,加强对反刍动物的检疫以及正确使用抗生素是防控反刍动物呼吸道疾病的有效措施。生物学技术的快速发展以及越来越多海藻糖比伯斯坦杆菌基因组序列的公布,极大地促进了其病原学、基因组特征、致病性、致病机理、检测方法和防控措施等方面的深入研究,为从根本上有效防控海藻糖比伯斯坦杆菌引起的疾病提供理论依据。

参考文献:

- [1] NARAYANAN S, BATES H, CONFER A, et al. Whole-genome sequence of multidrug-resistant *Bibersteinia trehalosi* strain

- OADDL-BT1 [J]. *Microbiol Resource Announcements*, 2019, 8 (6): e01690-18.
- [2] DASSANAYAKE R P, CALL D R, SAWANT A A, et al. *Bibersteinia trehalosi* inhibits the growth of *Mannheimia haemolytica* by a proximity-dependent mechanism [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2010, 76(4): 1008-1013.
- [3] WARD A C, DYER N W, FENWICK B W. Pasteurellaceae isolated from tonsillar samples of commercially-reared American bison (*Bison bison*) [J]. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 1999, 63(3): 161-165.
- [4] MURUGANANTHAN A, SHANTHALINGAM S, BATRA S, et al. Leukotoxin of *Bibersteinia trehalosi* contains a unique neutralizing epitope, and a non-neutralizing epitope shared with *Mannheimia haemolytica* leukotoxin [J]. *Toxins*, 2018, 10(6): 220.
- [5] ANTON B P, HARHAY G P, SMITH T P L, et al. Comparative methylome analysis of the occasional ruminant respiratory pathogen *Bibersteinia trehalosi* [J]. *PLoS ONE*, 2016, 11(8): e0161499.
- [6] MCGUIRK S M. Disease management of dairy calves and heifers [J]. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2008, 24(1): 139-153.
- [7] ANGEN O, MUTTERS R, CAUGANT D A, et al. Taxonomic relationships of the [*Pasteurella*] *haemolytica* complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of *Mannheimia haemolytica* gen. nov., comb. nov., *Mannheimia granulomatis* comb. nov., *Mannheimia glucosida* sp. nov., *Mannheimia ruminalis* sp. nov. and *Mannheimia varigena* sp. nov [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1999, 49(1): 67-86.
- [8] 罗怡琳, 蒙正群, 周丽君, 等. 一株羊源海藻糖比伯斯坦菌的分离鉴定及生物学分析 [J]. *中国预防兽医学报*, 2018, 40(6): 26-29.
- [9] 李富祥, 宋建领, 赵文华, 等. 山羊海藻糖百伯史杆菌 (*Bibersteinia trehalosi*) 的分离鉴定及致病性 [J]. *中国兽医学报*, 2018, 38(8): 1528-1532.
- [10] 王娜, 张迎春, 彭安业, 等. 犊牛海藻糖比伯斯坦杆菌分离株鉴定与分析 [J]. *中国奶牛*, 2018(7): 12-15.
- [11] 汪斌, 梁慧, 韩彬, 等. 海藻巴斯德菌感染导致脑脓肿1例 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2007, 23(1): 98.
- [12] VILLARD L, GAUTHIER D, LACHERETZ A, et al. Serological and molecular comparison of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* strains isolated from wild and domestic ruminants in the French Alps [J]. *The Veterinary Journal*, 2006, 171(3): 545-550.
- [13] BLACKALL P J, BOJESEN A M, CHRISTENSEN H, et al. Re-classification of [*Pasteurella*] *trehalosi* as *Bibersteinia trehalosi* gen. nov., comb. nov [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57(4): 666-674.
- [14] SMITH G R. Isolation of two types of *Pasteurella haemolytica* from sheep [J]. *Nature*, 1959, 183(4668): 1132.
- [15] 奎恩. 兽医微生物及所致传染病 [M]. 陈继明, 马洪超, 陆承平, 译. 北京: 中国农业出版社, 2015: 268.
- [16] AOKI S K, PAMMA R, HERNDAY A D, et al. Contact-dependent inhibition of growth in *Escherichia coli* [J]. *Science*, 2005, 309(5738): 1245-1248.
- [17] 李一经. 兽医微生物学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2011.
- [18] 胡桂学. 兽医微生物学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2018.
- [19] 孔宪刚. 兽医微生物学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2013.
- [20] KUGADAS A, HUMANN J L, PIERLÉ S A, et al. Genome sequence of *Bibersteinia trehalosi* strain Y31 isolated from the pneumonic lung of a bighorn sheep [J]. *Genome Announcements*, 2016, 4(4): e00722-16.
- [21] ASSEFA G A, KELKAY M Z. Goat pasteurellosis: serological analysis of circulating *Pasteurella* serotypes in Tanqua Aberegele and Kola Tembien Districts, Northern Ethiopia [J]. *BMC Research Notes*, 2018, 11: 485.
- [22] 何琼. 溶血性巴斯德菌致面痍1例 [J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2012, 26(8): 732.
- [23] 何银华, 方芳, 金立钢, 等. 溶血巴斯德菌致泌尿系感染1例报道 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2008, 18(12): 1666.
- [24] 常璠. 溶血巴斯德菌生物T型致肺部感染1例 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2010, 20(23): 3786.
- [25] 张继鑫, 彭远义, 李能章, 等. 溶血性曼氏杆菌白细胞毒素研究进展 [J]. *中国预防兽医学报*, 2019, 41(9): 1-5.
- [26] SHEWEN P E, WILKIE B N. Cytotoxin of *Pasteurella haemolytica* acting on bovine leukocytes [J]. *Infection and Immunity*, 1982, 35(1): 91-94.
- [27] PAULSEN D B, CONFER A W, CLINKENBEARD K D, et al. *Pasteurella haemolytica* lipopolysaccharide-induced arachidonic acid release from and neutrophil adherence to bovine pulmonary artery endothelial cells [J]. *American Journal of Veterinary Research*, 1990, 51(10): 1635-1639.
- [28] KOREN S, HARHAY G P, SMITH T P L, et al. Reducing assembly complexity of microbial genomes with single-molecule sequencing [J]. *Genome Biology*, 2013, 14(9): R101.
- [29] HARHAY G P, MCVEY D S, KOREN S, et al. Complete closed genome sequences of three *Bibersteinia trehalosi* nasopharyngeal isolates from cattle with shipping fever [J]. *Genome Announcements*, 2014, 2(1): e00084-14.
- [30] ANGIUOLI S V, GUSSMAN A, KLIMKE W, et al. Toward an online repository of standard operating procedures (SOPs) for (meta) genomic annotation [J]. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 2008, 12(2): 137-141.
- [31] FOREYT W J. Fatal *Pasteurella haemolytica* pneumonia in bighorn sheep after direct contact with clinically normal domestic sheep [J]. *American Journal of Veterinary Research*, 1989, 50(3): 341-344.
- [32] SUBRAMANIAM R, SHANTHALINGAM S, BAVANANTHASIVAM J, et al. A multivalent *Mannheimia-Bibersteinia* vaccine protects bighorn sheep against *Mannheimia haemolytica* challenge [J]. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2011, 18(10):

- 1689-1694.
- [33] LITSCHKO C, OLDRINI D, BUDDI I, et al. A new family of capsule polymerases generates teichoic acid-like capsule polymers in gram-negative pathogens[J]. *mBio*, 2018, 9(3): e00641-18.
- [34] FULTON R W, CONFER A W. Laboratory test descriptions for bovine respiratory disease diagnosis and their strengths and weaknesses: gold standards for diagnosis, do they exist? [J]. *The Canadian Veterinary Journal*, 2012, 53(7): 754-761.
- [35] HANTHORN C J, DEWELL G A, DEWELL R D, et al. Serum concentrations of haptoglobin and haptoglobin-matrix metalloproteinase 9 (Hp-MMP 9) complexes of bovine calves in a bacterial respiratory challenge model[J]. *BMC Veterinary Research*, 2014, 10(1): 285.
- [36] BAVANANTHASIVAM J, SHANTHALINGAM S, KUGADAS A, et al. β -hemolysis may not be a reliable indicator of leukotoxicity of *Mannheimia haemolytica* isolates[J]. *Toxins*, 2018, 10(5): 173.
- [37] HANTHORN C J, DEWELL R D, COOPER V L, et al. Randomized clinical trial to evaluate the pathogenicity of *Bibersteinia trehalosi* in respiratory disease among calves[J]. *BMC Veterinary Research*, 2014, 10(1): 89.
- [38] KILLION H J, EDWARDS W, JENNINGS-GAINES J, et al. Development and validation of a real-time PCR specific for the leukotoxin gene of *Bibersteinia trehalosi*[J]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2018, 30(4): 589-592.
- [39] LAHUE N, PARISH S. *Mannheimia haemolytica* vegetative endocarditis in a Suffolk wether[J]. *The Canadian Veterinary Journal*, 2015, 56(5): 484.
- [40] SHOEMAKE B M, VANDER LEY B L, NEWCOMER B W, et al. Efficacy of oral administration of sodium iodide to prevent bovine respiratory disease complex[J]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2018, 32(1): 516-524.

(责任编辑:王 妮)