

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2025.01.003

猪链球菌 9 型分离鉴定、致病性与药敏分析

王永浩^{1,2}, 宋 帅², 温肖会², 陈玉婷², 李文超^{1*}

(1. 安徽科技学院 a. 动物科学学院; b. 动物营养调控与健康安徽省重点实验室, 安徽 凤阳 233100; 2. 广东省农业科学院动物卫生研究所 a. 广东省畜禽疫病防治研究重点实验室; b. 农业农村部兽用药物与诊断技术广东科学观测实验站, 广东 广州 510640)

摘要: [目的] 对广东省河源市某猪场的发病猪组织样本进行细菌分离, 为该猪场制定针对性的治疗方案与防控措施。[方法] 通过形态观察和 *16S rRNA* 基因扩增、测序进行细菌鉴定, 随后对其进行血清型分型, 毒力基因检测, 小鼠致病性及药物敏感性试验。[结果] 该分离株在 TSA 平板上呈现为灰白色、半透明的光滑圆形, 在血平板培养基上菌落周围形成 α 溶血环, 染色显示该菌为革兰氏阳性的短链或长链球菌; *16S rRNA* 基因的 PCR 扩增和测序分析显示该分离株为猪链球菌, 血清型鉴定为猪链球菌 9 型, 毒力基因检测显示菌株毒力基因型为 *epf*⁺。致病性试验显示, 攻毒 6 h 后试验组小鼠均出现不同的临床症状, 部分小鼠死亡, 存活小鼠在 48 h 后症状有所缓解, 表明该菌株具有显著致病性。药敏试验结果显示, 该菌株对氨苄西林、头孢曲松、头孢西丁等表现出高度敏感性。[结论] 以上结果可为预防和控制猪链球菌病提供科学依据。

关键词: 猪链球菌 9 型; 分离鉴定; 毒力基因; 致病性试验; 药敏试验

中图分类号: S852.611 文献标志码: A 文章编号: 1673-1891(2025)01-0015-08

On the Isolation, Identification, Pathogenicity and Susceptibility Analysis of *Streptococcus suis* Serotype 9

WANG Yonghao^{1,2}, SONG Shuai², WEN Xiaohui², CHEN Yuting², LI Wenchao^{1*}

(1 a. College of Animal Science; b. Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition Regulation and Health, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, Anhui, China; 2 a. Guangdong Provincial Key Laboratory of Livestock and Poultry Disease Prevention; b. Experiment Station of Veterinary Drugs and Diagnostic Technology of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Animal Health, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, Guangdong, China)

Abstract: [Objective] Bacterial isolation was conducted on tissue samples from diseased pigs in a pig farm in Heyuan City, Guangdong Province, to develop targeted treatment plans and prevention and the take control measures for the farm. [Method] Morphological observation, *16S rRNA* gene amplification, and sequencing were used for bacterial species identification. Subsequently, serotype typing, virulence gene detection, pathogenicity, and drug sensitivity tests were performed. [Result] The results showed that the isolated strain appeared as a gray white, semi transparent smooth circle on

基金项目: 安徽科技学院兽医学校级高峰学科项目(XK-XJGF002); 安徽科技学院校级稳定人才项目(dkwd201702); 广东省科技计划项目(2021B1212050021)。

作者简介: 王永浩(1997—), 男, 山东诸城人, 硕士研究生, 研究方向: 动物疫病防控, e-mail: 1587025565@qq.com。

***通信作者:** 李文超(1979—), 男, 河南南阳人, 教授, 博士, 研究方向: 人兽共患原虫病, e-mail: liwen303@126.com。

TSA agar, and formed an α hemolytic ring around the colony on blood agar medium. Staining displayed that the bacterium was a purple Gram positive short chain or long chain streptococcus. The PCR amplification and sequencing analysis of the *16S rRNA* gene demonstrated that the isolated strain is *Streptococcus suis*. Serotype identification revealed that the strain belongs to *S. suis* type 9, and virulence gene testing indicated that the strain's virulence genotype is *epf+*. The pathogenicity test showed that after 6 hours of infection, the mice from the experimental group exhibited different clinical symptoms, with some mice dying. The surviving mice showed some relief of symptoms after 48 hours, indicating that the strain has significant pathogenicity. The results of the drug sensitivity test displayed that the strain shows high sensitivity to ampicillin, ceftriaxone, cefoxitin, and other antibiotics. [Conclusion] The results of the research in this study could provide scientific basis for the prevention and control of *Streptococcus suis*.

Keywords: *Streptococcus suis* type 9; isolation and identification; virulence genes; pathogenicity test; drug sensitivity test

0 引言

猪链球菌病是由多种不同群的链球菌所引致猪传染病的总称,猪链球菌(*Streptococcus suis*,简称SS或*S. suis*)是一种革兰氏阳性病原菌,依据荚膜多糖的抗原特性,猪链球菌目前被分为29种血清型(1~19、21、23~25、27~31和1/2型),其中猪链球菌1、2、7和9型是常见的致病血清型,尤其是猪链球菌2型因其高分离率和强致病性而备受关注^[1]。除猪链球菌2型外,猪链球菌9型(SS9)是澳大利亚、比利时、荷兰和德国猪群中流行的主要血清型^[2],尽管中国尚未有猪链球菌9型引起的大规模流行报道,但其流行率和致病力正在上升,成为威胁猪群健康的重要细菌病^[3]。

自1968年首次在丹麦发现猪链球菌感染人可引起脑膜炎以来,猪链球菌已经传播到近30个国家或地区,累计造成1600多例感染。在中国和泰国,由猪链球菌引起的疾病爆发已导致多人死亡,显示出较高的发病率和死亡率^[4]。其中,猪链球菌2型是国内主要的强致病菌,曾1998年在江苏省,2005年在四川省引发大规模感染,造成多人死亡^[5]。人可能通过直接接触感染的猪或食用未经充分烹饪的受污染猪肉而感染。此外,猪链球菌多重耐药性谱系不断出现,增加了感染复杂性^[6]。猪链球菌携带的多种毒力因子如荚膜多糖、猪链球菌溶血素、溶菌酶释放蛋白等共同作用,增强了其侵袭力和生

存能力,使其能够在宿主体内引发感染^[7-8]。鉴于该菌的快速传播特性和人畜共患性,采取有效的预防和控制策略对于保障养殖业稳定发展和维护公共卫生安全具有重要意义。

本研究旨在对从广东省河源市某猪场取得的发病猪组织样本中分离出一株疑似猪链球菌菌株进行分离、鉴定其血清型,检测其毒力基因、致病性及耐药性等,为猪链球菌病的诊断和治疗提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料

病料来自广东省河源市某猪场疑似感染猪链球菌病的发病保育猪,病猪表现为精神状态下降、嗜睡、食欲丧失,眼结膜充血和流泪,呼吸频率加快,伴有咳嗽症状,耳尖、四肢下端、背部和腹部皮肤观察到广泛的充血和潮红现象,腹股沟淋巴结肿大。剖检发现其腹股沟淋巴结呈化脓性淋巴结炎,心耳、心冠、心内膜有出血斑,脾脏肿大充血,关节周围肿胀、充血,滑液浑浊。取其脾脏、心脏、淋巴结和关节液,4℃保存,用于细菌分离鉴定。

1.1.2 主要试剂

牛血清,杭州四季青生物工程材料有限公司产品;大豆酪蛋白琼脂培养基(TSA)、血平板培养基,广东环凯微生物科技有限公司产品;DL 2000 DNA

Marker, 欣凯莱生物技术有限公司产品; 2×Accurate Taq 预混液(含染料), 艾科瑞生物工程有限公司产品; Super GelBlue™ 核酸染料, 苏州优逸兰迪生物科

技有限公司产品; 药敏纸片, 杭州微生物试剂有限公司产品。本研究中所用引物(表 1), 均由广州生物工程科技有限公司合成。

表 1 引物信息

引物名称	引物序列(5'→3')	产物长度/bp	退火温度/°C
<i>16S rRNA</i>	F:AGAGTTTGATCCTGGCTCAG R:CGGTTACCTTGTTACGACTT	1 500	55
猪链球菌 1 型	F:GGCGGTCTAGCAGATGCTCG R:GCGAACTGTTAGCAATGAC	442	56
猪链球菌 2 型	F:TTAGCAACGTTGCCAATAAG R:AATCCTCCATTAACCCCTG	173	58
猪链球菌 7 型	F:GAATCAATCCAGTCAGTGTGG R:CTAATTCGATACGAAGCTAAAC	609	56
猪链球菌 9 型	F:GAAAGTAGGTATATCTCAGC R:GGGCTATTAACCTCCTATC	368	58
<i>mrp</i>	F:GACAGATGGTGAGGAAAATGG R:TGAGCTTTACCTGAAGCGGT	1 148	55
<i>epf</i>	F:CGCAGACAACGAAAGATTGA R:AAGAATGTCTTTGGCGATGG	744	55
<i>fbps</i>	F:CAAGTGTATGTGGATGGG R:ATCCAGTTGACACGTGCA	1 310	55
<i>manN</i>	F:CAGAAAAAATTCAACTTCCCGT R:TTACATAATTCCGAAGAAACGA	908	55
<i>purD</i>	F:CGTTGCTTGGACTTTTGTGGGT R:GACGGTGTCTGCTGTGGTACT	979	55

1.1.3 主要仪器

电热恒温培养箱(DHP-9162, 苏州环美生物医疗科技有限公司); 恒温摇床(THZ-300, 上海一恒科学仪器有限公司); 梯度 PCR 仪(BIO-RAD T100, 美国伯乐公司); 高速冷冻离心机(FRESCO17, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司); 电泳仪(EP5-300, 广州誉维生物科技仪器有限公司); 凝胶成像系统(天能 1600, 广州誉维生物科技仪器有限公司); 洁净工作台(SW-CJ-1F, 苏净集团苏州安泰空气技术有限公司)。

1.1.4 试验动物

50 只 5~6 周龄健康雌性 SPF 昆明小鼠, 质量为 18~22 g, 购自广东省医学实验动物中心。广东省农

业科学院动物卫生研究所实验动物伦理委员会已批准动物实验, 动物饲养和感染过程均严格遵循相关规定。

1.2 方法

1.2.1 分离与鉴定

无菌采集病猪脾脏、心脏和淋巴结组织, 接种至含 5% 牛血清的 TSA 平板和血平板培养基, 37 °C 培养 18~24 h。选取与链球菌形态相似的单个菌落, 革兰氏染色镜检。参照 Ramya 等^[9]的引物和方法, 进行 *16S rRNA* 基因 PCR 扩增及测序鉴定, 引物信息如表 1 所示。挑取单个疑似猪链球菌菌落, 将其转移至 200 μL PBS 溶液中, 煮沸处理 10 min, -20 °C 冷冻 10 min, 解冻后高速离心, 取上清作为模板, 进行

16S rRNA 基因 PCR 扩增, PCR 扩增体系为 25 μL , 含 $2\times\text{Accurate Taq Master Mix (dye plus)}$ 12.5 μL , 模板 DNA 1 μL , 上下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 1 μL , 灭菌双蒸水 9.5 μL 。PCR 扩增参数为 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 98 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 50~55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 2 min。PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离后, 切下目的条带送广州生工生物科技有限公司进行测序。所得序列在 GenBank 用 Blast 比对, 选取与分离菌株同源性高且为猪链球菌属的其他菌株 *16S rRNA* 基因序列, 用 Mega 7.0 软件以邻接法 (neighbor-joining method) 构建系统进化树, 自展值 (bootstrap) 设为 1 000。对经染色镜检和 PCR 鉴定为阳性的菌落, 在 TSA 培养基上继续纯化培养。

1.2.2 血清型鉴定

参照王飞鸿^[10]的方法设计合成猪链球菌 1、2、7、9 型特异性鉴定引物 (表 1)。PCR 扩增体系同 1.2.1, 反应参数除退火温度为 56~58 $^{\circ}\text{C}$ 外, 其余同 1.2.1。PCR 产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分析。

1.2.3 毒力基因检测

参照黄晓慧等^[11]的方法设计合成 5 对猪链球菌毒力基因引物 (表 1)。毒力基因 PCR 扩增体系及反应参数同 1.2.1, 扩增产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分析。

1.2.4 致病性试验

SPF 昆明小鼠购回适应性饲养 1 周后, 剔除体重异常 (过大或过小) 及健康状况不佳的 5 只小鼠, 得到 45 只 SPF 昆明小鼠。45 只 SPF 昆明小鼠随机分为 5 组, 其中 1~4 组为不同剂量攻毒组, 每组 10 只

小鼠, 每只小鼠分别经腹腔注射 200 μL 4×10^7 CFU/mL、 4×10^8 CFU/mL、 4×10^9 CFU/mL 和 8×10^9 CFU/mL 的菌液; 第 5 组为空白对照组, 共 5 只小鼠, 注射相同体积无菌 PBS 溶液。攻毒后小鼠隔离饲养, 连续 1 周观察其健康状况及存活情况, 结果如表 2 所示。对死亡小鼠进行解剖, 无菌收集其肝脏和肺脏组织样本, 进行病原菌分离和鉴定。

表 2 分离株对昆明小鼠的致病性

组别	总数/只	死亡数/只	死亡率/%
1	10	0	0
2	10	4	40
3	10	10	100
4	10	10	100
5	5	0	0

1.2.5 药敏试验

使用 K-B 纸片扩散法分析分离株对 26 种临床常用抗菌药物的敏感性, 依据 WS/T 639—2018《抗菌药物敏感性试验的技术要求》判定分离株对抗生素敏感程度。

2 结果与分析

2.1 分离鉴定结果

纯化后的单菌落在 TSA 平板上呈现为灰白色、半透明的光滑圆形, 类似针尖大小 (图 1)。在血平板培养基上生长可观察到菌落周围形成 α 溶血环 (图 2)。革兰氏染色镜检, 分离株为紫色阳性, 具有单个、成对、短链或长链球菌 (图 3), 与 Xia 等^[12] 研究结果一致, 初步确定分离到一株疑似猪链球菌菌株。

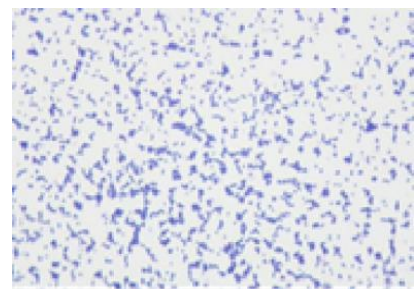
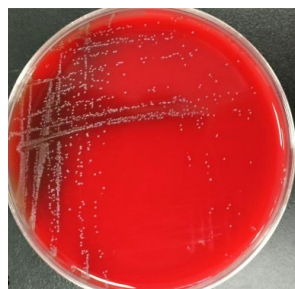
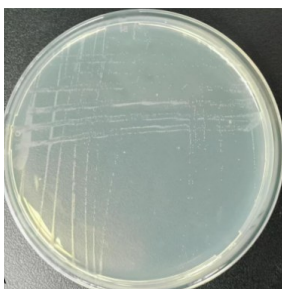
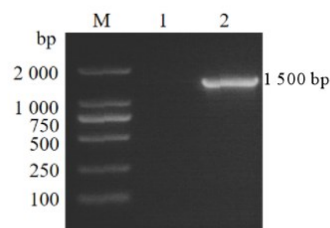


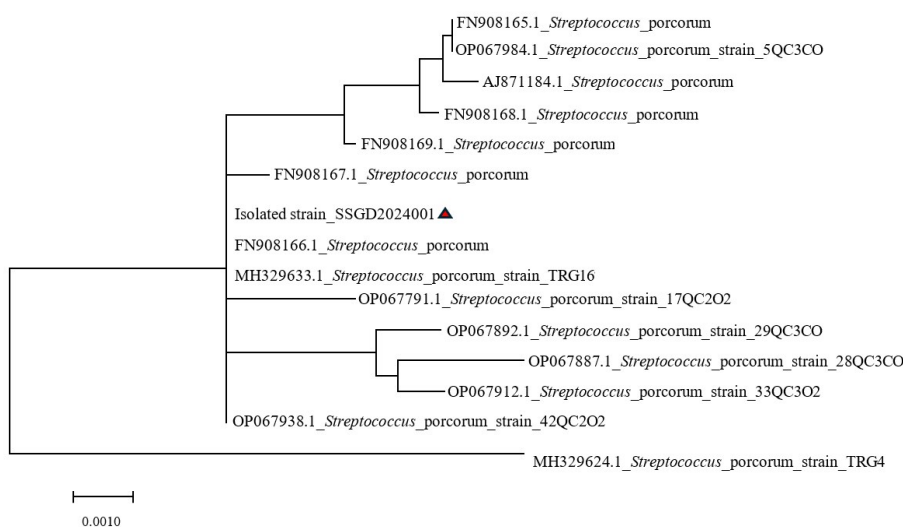
图 1 分离株在 TSA 培养基上的菌落形态 图 2 分离株在血平板上的菌落形态 图 3 分离株革兰氏染色镜检 (1 000 \times)

分离株 *16S rRNA* 基因 PCR 扩增显示扩增出约 1 500 bp 的片段 (图 4), 序列 Blast 比对显示该菌株 *16S rRNA* 基因序列与 GenBank 数据库中收录的猪链球菌序列具高达 99% 的同源性。构建的系统进化树表明其与其他猪链球菌位于同一进化分支 (图 5), 故确定该分离株为猪链球菌。



注: M 为 DL 2 000 Marker, 1 为阴性对照, 2 为分离株。

图 4 分离株 *16S rRNA* 基因 PCR 鉴定结果



注: ▲ 为本研究所获菌株 *16S rRNA* 基因。

图 5 基于分离株与猪链球菌参考株 *16S rRNA* 基因构建的遗传进化树 (邻接法)

2.2 血清型鉴定结果

对分离株采用猪链球菌 1、2、7、9 型的特异性引物进行 PCR 扩增, 仅猪链球菌 9 型的特异性引物扩增出大小为 368 bp 的条带 (图 6), 符合预期, 其他型特异性引物无扩增条带, 显示本研究所获链球菌为猪链球菌 9 型。



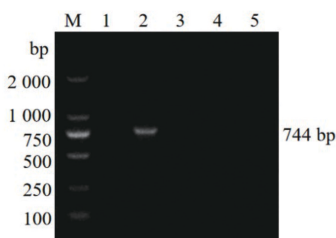
注: M 为 DL 2 000 Marker, 1 为阴性对照, 2 为猪链球菌 9 型引物, 3 为猪链球菌 1 型引物, 4 为猪链球菌 2 型引物, 5 为猪链球菌 7 型引物。

图 6 猪链球菌血清型分型鉴定结果

2.3 毒力基因鉴定结果

猪链球菌 9 型分离株的 5 个毒力基因 PCR 扩增

结果如图 7 所示, 仅 *epf* 基因扩增获得阳性结果, 其它毒力基因未获得阳性结果, 显示该分离株含有 *epf* 基因。



注: M 为 DL 2 000 Marker, 1 为 *mrp* 基因, 2 为 *epf* 基因, 3 为 *fbps* 基因, 4 为 *manN* 基因, 5 为 *purD* 基因。

图 7 猪链球菌 9 型毒力基因鉴定结果

2.4 致病性试验结果

试验组小鼠在攻毒 6 h 后, 均表现出精神萎靡、嗜睡、被毛凌乱、行动迟缓等症状, 除 1 组小鼠外, 其它各组均有死亡 (表 2), 存活小鼠在 48 h 后症状有所缓解; 对照组则未观察到显著症状。对死亡小鼠

肝、肺脏组织进行细菌分离,成功从这些组织中分离出猪链球菌9型菌株,分离株特性与原菌株一致。

2.5 药敏试验结果

药敏试验结果如表3所示,该分离株对氨苄西林、头孢曲松、头孢西丁等11种抗生素表现出敏感性,对青霉素G、新霉素和诺氟沙星3种抗生素表现为中度敏感,对庆大霉素、林可霉素、多西环素等12种抗生素则表现为耐药性。

表3 药敏试验结果

抗生素	判定标准			抑菌圈直径/mm	判定结果
	耐药	中度	敏感		
新霉素	≤12	>12~<17	≥17	13.8	I
妥布霉素	≤12	>12~<15	≥15	0	R
庆大霉素	≤12	>12~<15	≥15	0	R
奈替米星	≤12	>12~<15	≥15	0	R
链霉素	≤11	>11~<15	≥15	0	R
环丙沙星	≤15	>15~<21	≥21	24.7	S
恩诺沙星	≤15	>15~<21	≥21	24.0	S
氟苯尼考	≤12	>12~<18	≥18	19.9	S
阿奇霉素	≤10	>10~<16	≥16	0	R
丁胺卡那	≤14	>14~<17	≥17	0	R
头孢拉定	≤14	>14~<18	≥18	30.7	S
头孢唑林	≤14	>14~<18	≥18	35.4	S
头孢西丁	≤14	>14~<18	≥18	32.8	S
头孢曲松	≤13	>13~<21	≥21	39.2	S
头孢氨苄	≤14	>14~<18	≥18	30.8	S
氨苄西林	≤13	>13~<17	≥17	43.2	S
青霉素G	≤19	>19~<28	≥28	23.6	I
氧氟沙星	≤12	>12~<16	≥16	21.5	S
四环素	≤14	>14~<19	≥19	7.4	R
多西环素	≤12	>12~<16	≥16	12.3	R
红霉素	≤13	>13~<23	≥23	0	R
复方新诺明	≤10	>10~<16	≥16	19.5	S
林可霉素	≤14	>14~<21	≥21	0	R
卡那霉素	≤13	>13~<18	≥18	0	R
诺氟沙星	≤12	>12~<17	≥17	15.0	I
多粘菌素B	≤8	9~11	≥12	0	R

注:S代表敏感性,R代表耐药,I代表中介(中度敏感性)。

3 结论与讨论

猪链球菌是可导致养猪业重大经济损失的顶级病原体之一,也是1种具全球影响力、危害严重的人畜共患病原体。尽管猪链球菌2型是全球猪和人中最常见的血清型,但猪链球菌9型在多个欧洲国家的流行率有所上升,已成为临床病猪携带的主要血清型^[13]。流调显示,猪链球菌9型在我国猪群中的流行也呈类似规律。2003—2007年,该型分离率仅为1.2%^[14];2015—2017年,其已成为第2大流行血清型^[15];而2000—2021年21篇论文提供的数据显示猪链球菌9型占比达10.9%^[16-17]。最近,泰国报道了一起由猪链球菌9型感染人的病例,显示该型可能具人畜共患特性,因此加强对猪链球菌9型的研究势在必行^[18]。

2005年,余炜烈等^[19]首次在广东分离到猪链球菌9型,此后,流调显示猪链球菌9型在全国的商品猪场临床患病猪群中广泛存在^[17]。本研究采用细菌分离培养、形态学观察、16S rRNA基因扩增与测序、血清型分型鉴定等,从病死猪组织样本中成功分离、鉴定出一株猪链球菌9型菌株。*mvp*和*epf*是猪链球菌重要的毒力基因,本研究获得的分离株仅为*epf*基因阳性,这与余炜烈等^[19]、李丽等^[20]分离的猪链球菌9型广东株在毒力基因分布上有差异,也不同于澳大利亚和一些欧洲国家报道的猪链球菌9型具有*mvp*⁺和*epf*⁻的表型,可能与*epf*毒力基因分布不具普遍性有关^[21]。致病性试验显示,该菌株对小鼠具有显著致病性,是否与*epf*基因毒力有关尚待进一步研究。

抗生素过度使用和滥用加速了耐药细菌和耐药基因的出现,增加了治疗人和动物病原体的难度。目前,抗生素耐药性被公认为严重的全球公共卫生问题,是当代医学和兽医学最重要的挑战之一^[22]。Yang等^[23]报道猪链球菌9型菌株含有至少10种耐药基因,包括对杆菌肽、环丙沙星、林可酰胺、大环内酯类、诺氟沙星、青霉素、替考拉宁、四环

素、甲氧苄啶和万古霉素的耐药性。类似地,加拿大也报道了与四环素、林可酰胺和大环内酯类耐药相关的耐药基因在猪链球菌9型菌株中的高检出率^[24],与我国的猪链球菌菌株耐药数据一致^[25]。此外,近年来猪链球菌对甲氧苄啶、环丙沙星、诺氟沙星的耐药率明显升高^[26]。本研究中,药敏试验筛选

出了一系列对该猪链球菌9型菌株具有显著抑制作用的抗生素,尤其是头孢类、氟喹诺酮类和磺胺类药物显示出较高的敏感性,而四环素和大环内酯类药物则表现出一定的耐药性,研究结果可为该猪场猪链球菌9型的药物防治提供参考。

参考文献:

- [1] KEONAM K, NAM N H, SAKSANGAWONG C, et al. Prevalence of *Streptococcus suis* serotype 2 isolated from pigs: a systematic review and meta-analysis[J]. *Veterinary World*, 2024, 17(2):233-244.
- [2] 况诚建.猪链球菌9型CZ16A菌株的分离鉴定及灭活疫苗研制[D].南京:南京农业大学,2018.
- [3] BRIZUELA J, ROODSANT T J, HASNOE Q, et al. Molecular epidemiology of underreported emerging zoonotic pathogen *Streptococcus suis* in Europe[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2024, 30(3):413-422.
- [4] SEGURA M, ARAGON V, BROCKMEIER S L, et al. Update on *Streptococcus suis* research and prevention in the era of antimicrobial restriction: 4th international workshop on *S. suis*[J]. *Pathogens*, 2020, 9(5):374-374.
- [5] PALLARÉS F J, SCHMITT C S, ROTH J A, et al. Evaluation of a ceftiofur-washed whole cell *Streptococcus suis* bacterin in pigs[J]. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 2004, 68(3):236-240.
- [6] BRIZUELA J, KAJEEKUL R, ROODSANT T J, et al. *Streptococcus suis* outbreak caused by an emerging zoonotic strain with acquired multi-drug resistance in Thailand[J]. *Microbial Genomics*, 2023, 9(2): mgen 000952.
- [7] 李倩倩,黄超,汤细彪,等.猪链球菌3型疫苗候选菌株筛选及3+9型二价灭活疫苗对小鼠免疫效果评估[J]. *中国畜牧兽医*, 2022, 49(6):2307-2317.
- [8] LIU L, ZHANG Q, XU Z, et al. Screening of virulence-related transcriptional regulators in *Streptococcus suis*[J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(9):972.
- [9] SRINIVASAN R, KARAOZ U, VOLEGOVA M, et al. Use of *16S rRNA* gene for identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2):e0117617.
- [10] 王飞鸿.规模化猪场副猪嗜血杆菌和猪链球菌的分离鉴定及生物学特性研究[D].武汉:华中农业大学,2022.
- [11] 黄晓慧,韩雪姣,刘雪兰,等.199株猪链球菌临床分离株血清型、毒力基因及多位点序列分型分析[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(10):4209-4223.
- [12] XIA X J, WANG X, WEI X B, et al. Methods for the detection and characterization of *Streptococcus suis*: from conventional bacterial culture methods to immunosensors[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2018, 111(12):233-2247.
- [13] MASSACCI FR, CUCCO L, PANICCIÁ M, et al. *Streptococcus suis* serotype 9 in Italy: genomic insights into high-risk clones with emerging resistance to penicillin[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2024, 79(2):403-411.
- [14] WEI Z, LI R, ZHANG A, et al. Characterization of *Streptococcus suis* isolates from the diseased pigs in China between 2003 and 2007[J]. *Veterinary Microbiology*, 2009, 137(1-2):196-201.
- [15] ZHANG B Z, KU X G, YU X X, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens in Chinese pig farms from 2013 to 2017[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1):9908
- [16] LIU P, ZHANG Y, TANG H, et al. Prevalence of *Streptococcus suis* in pigs in China during 2000-2021: a systematic review and meta-analysis[J]. *One Health*, 2023, 16:100513.

- [17] XIA Y, WANG Z, HU Y, et al. Isolation, identification, genomic diversity, and antimicrobial resistance analysis of *Streptococcus suis* in Hubei province of China from 2021 to 2023[J]. *Microorganisms*, 2024, 12(5): 917.
- [18] KERDSIN A, HATRONJIT R, GOTTSCHALK M, et al. Emergence of *Streptococcus suis* serotype 9 infection in humans[J]. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2017, 50(4): 545–546.
- [19] 余炜烈, 李春玲, 王贵平, 等. 猪链球菌 2 型和 9 型广东分离株的病原特性[J]. *中国兽医科学*, 2007(8): 650–654.
- [20] 李丽, 黄良宗, 谢博, 等. 9 型猪链球菌广东株的分离鉴定和基因序列分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2018, 45(4): 1016–1026.
- [21] WISSELINK H J, SMITH H E, STOCKHOFE-ZURWIEDEN N, et al. Distribution of capsular types and production of muramidase-released protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries[J]. *Veterinary Microbiology*, 2000, 74(3): 237–248.
- [22] PAZDA M, KUMIRSKA J, STEPNOWSKI P, et al. Antibiotic resistance genes identified in wastewater treatment plant systems – a review[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 697: 134023.
- [23] YANG H H, HUANG J J, HU X T, et al. Comparative genome analysis of *Streptococcus suis* serotype 9 isolates from China, the Netherland, and the U.K.[J]. *Life(Basel)*, 2021, 11(12): 1324.
- [24] ZHENG H, DU P C, QIU X T, et al. Genomic comparisons of *Streptococcus suis* serotype 9 strains recovered from diseased pigs in Spain and Canada[J]. *Veterinary Research*, 2019, 50(1): 62.
- [25] ZHANG C Y, ZHANG P, WANG Y, et al. Capsular serotypes, antimicrobial susceptibility, and the presence of transferable oxazolidinone resistance genes in *Streptococcus suis* isolated from healthy pigs in China[J]. *Veterinary Microbiology*, 2020, 247: 108750.
- [26] SOARES T C, PAES A C, MEGID J, et al. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from clinically healthy swine in Brazil[J]. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 2014, 78(2): 145–149.