

副猪嗜血杆菌4型分离株耐药表型及耐药基因分析研究

王治方^{1,2}, 徐引弟^{1,2}, 张青娴^{1,2}, 朱文豪^{1,2}, 焦文强^{1,2}, 李海利^{1,2}, 白红杰³, 许峰^{1,2}, 王克领^{1,2}

(1.河南省农业科学院畜牧兽医研究所, 河南 郑州 450002;

2.河南省畜禽繁育与营养调控重点实验室, 郑州 450002; 3.河南省农业科学院, 郑州 450002)

中图分类号: S858.28

文献标志码: A

文章编号: 1002-1957(2020)06-0097-05

摘要 为了解掌握副猪嗜血杆菌4型 (*Haemophilus parasuis serotype 4, HPS4*) 临床分离菌株的耐药性和耐药基因携带情况。试验选用6大类18种常用抗菌药物, 通过药敏纸片扩散法对10株HPS4菌株的耐药性进行检测研究, 并通过PCR方法检测了菌株携带氨基糖苷类和喹诺酮类药物的耐药基因情况。结果表明, 被检菌株对红霉素、阿奇霉素、替米考星、四环素、土霉素、强力霉素和氟苯尼考有很好敏感性, 耐药率均为10%; 对头孢噻吩、头孢他啶和大观霉素较敏感, 耐药率为20%; 对氨基糖苷类卡那霉素、阿米卡星、新霉素和喹诺酮类诺氟沙星、左氟沙星、氧氟沙星表现出较高耐药性, 耐药率均在50%以上, 且所有菌株均表现出3重及以上多重耐药现象。10株HPS4菌株共检出了*strB*、*aphA1*、*gyrA*、*parC* 4种耐药基因, 检出率分别为50%、60%、80%、80%, 结合耐药表型结果, 表明这4种耐药基因可能是介导HPS4菌株对氨基糖苷类及喹诺酮类药物产生耐药性的主要原因。研究为临床防控副猪嗜血杆菌4型选药用药提供了科学的理论依据, 充实了副猪嗜血杆菌耐药谱的数据库, 为进一步研究其耐药机制奠定基础。

关键词 副猪嗜血杆菌4型; 耐药性; 耐药基因

DOI:10.13257/j.cnki.21-1104/s.2020.06.030

Analysis of Drug Resistance Phenotype and Gene of *Haemophilus Parasuis* Type 4

WANG Zhifang^{1,2}, XU Yindi^{1,2}, ZHANG Qingxian^{1,2}, ZHU Wenhao^{1,2}, JIAO Wenqiang^{1,2}, LI Haili^{1,2},
BAI Hongjie³, XU Feng^{1,2}, WANG Keling^{1,2}

(1.Institute of Animal Husbandry and Veterinary Research, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;2.Henan Key Laboratory of Farm Animal Breeding and Nutritional Regulation, Zhengzhou 450002, China;3.Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract To understand the drug resistance and gene carrying of *Haemophilus parasuis serotype 4 (HPS4)* clinical isolates. The drug resistance of 10 strains of *HPS4* was detected by the method of drug sensitive disk diffusion, and the drug resistance genes of aminoglycosides and quinolones were detected by PCR. The results showed that the tested strains were sensitive to erythromycin, azithromycin, tilmicosin, tetracycline, oxytetracycline, doxycycline and florfenicol, with the drug resistance rate of 10%; to ceftiofur, ceftazidime and spectinomycin, with the drug resistance rate of 20%; to aminoglycoside kanamycin, amikacin, neomycin and quinolones norfloxacin, levofloxacin, ofloxacin the drug resistance rate of floxacin was more than 50%, and all strains showed three or more multiple drug resistance. *strB*, *aphA1*, *gyrA* and *parC* 4 genes were detected in 10 strains of *HPS4*, the detection rates were 50%, 60%, 80% and 80% respectively. Combined with the results of drug resistance phenotype, it was suggested that these four genes might be the main reason for the drug resistance of *HPS4* to aminoglycosides and quinolones. This study provides a scientific theoretical basis for the clinical prevention and control of the drug selection of *Haemophilus parasuis type 4*, enriches the database of the drug resistance spectrum of *Haemophilus parasuis*, and lays a foundation for further study of its drug resistance mechanism.

Key words *Haemophilus parasuis type 4*; drug resistance; drug resistance gene

收稿日期: 2020-07-06

基金项目: 河南省农科院科技成果示范推广项目(2020TG12); 河南省农业科学院自主创新基金项目(2020ZC40)

作者简介: 王治方(1978-), 男, 河南鹤壁人, 副研究员, 研究方向为动物病原微生物. E-mail: 398651910@qq.com

副猪嗜血杆菌病是当前规模化猪场常见的细菌病之一,由副猪嗜血杆菌(*Haemophilus parasuis*, HPS)引起的,各种年龄阶段的猪均可感染,主要发生在断奶后和保育阶段,主要感染2周龄到4月龄的猪,发病率一般在10%~15%,严重时死亡率可达50%^[1-3],该病已成为近年来断奶仔猪、保育猪死亡的主要原因之一,是临床混合感染的主要细菌性病原。该病临床症状主要表现为咳嗽、呼吸困难、消瘦、跛行和被毛粗乱;病理变化以纤维素性胸膜炎、心包炎、腹膜炎、关节炎和脑膜炎等为主要特征^[4]。副猪嗜血杆菌血清型较多,目前共鉴定了15种血清型,临床上还有15%~20%的不可分型菌株^[5-6],该病原呈世界性分布,各地流行菌株血清型不一,世界范围内包括日本、德国、加拿大、美国、西班牙、丹麦、中国,流行的主要血清型为4、5和13型^[7-8]。

目前抗生素仍然是临床上预防和治疗副猪嗜血杆菌病的常用方法。抗生素的不规范使用及长期滥用,使得副猪嗜血杆菌对各类抗生素的耐药性逐渐增强,甚至出现多重耐药,给临床治疗带来了困难^[9-10]。副猪嗜血杆菌病已成为影响全球养猪业的典型细菌性疾病,该病的发生已严重影响了全球养猪业的健康发展,造成了较大的经济损失。

研究表明从不同国家或地区分离获得的副猪嗜血杆菌菌株,对抗生素耐药性表现不同。由于细菌受到抗生素强大的选择,逐渐产生了不同的耐药机制。研究表明,同一种抗生素可能存在多种耐药机制,一种耐药机制也可能在不同种抗生素中发挥作用^[11]。副猪嗜血杆菌的耐药机制产生的因素较多,主要包括遗传因素、化学因素及环境因素等。因此了解副猪嗜血杆菌的耐药性及耐药机制,从根源减少耐药菌株的产生具有重要意义。

本试验对10株2019年分离获得副猪嗜血杆菌4型菌株,通过纸片扩散法和PCR技术检测了菌株的耐药性及相关耐药基因,以期为副猪嗜血杆菌4型的预防和临床治疗提供参考,减少或延缓耐药菌株的出现。

1 材料与方法

1.1 菌株

本试验的副猪嗜血杆菌菌株,是2019年1—12月由河南省农业科学院畜牧兽医研究所传染病研究室从河南省多个地区规模化猪场采集疑似副猪嗜血杆菌病例的发病猪只肺脏、气管、心血样品,分离纯化、生化鉴定、PCR鉴定及分型,获得4型副猪嗜血杆菌10株。菌株信息见表1。

表1 菌株来源

菌株名称	来源	地区	分离时间	组织
1384	病猪	河南濮阳	2019.01	肺脏
1486	病猪	河南济源	2019.03	肺脏
1504	病猪	河南济源	2019.06	气管
1608	病猪	河南平顶山	2019.08	肺脏
1612	病猪	河南周口	2019.08	气管
1613	病猪	河南周口	2019.09	肺脏
1619	病猪	河南新乡	2019.09	气管
1651	病猪	河南驻马店	2019.10	心血
1652	病猪	河南周口	2019.11	肺脏
1653	病猪	河南周口	2019.12	肺脏

1.2 主要仪器与试剂

Thermo 5020 PCR扩增仪、Thermo 1300SERIES A2生物安全柜购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;电泳仪(DYY-6型)购自北京市六一仪器厂;凝胶成像系统购自沙船(天津)生物科技发展有限公司;TK-15台式高速冷冻离心机购自SIGMA公司。胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)购自美国Difco公司;新生犊牛血清购自生工生物工程(上海)股份有限公司;烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(辅酶I, NAD)购自Roche公司;微生物DNA提取试剂盒、Tap PCR master mix、DL 2 000 DNA Marker等PCR试剂均购自北京擎科新业生物科技有限公司。常用抗生素标准药敏片[头孢他啶(CAZ)、阿莫西林(AML)、青霉素(P)、卡那霉素(KAN)、新霉素(NEO)、阿米卡星(AMK)、壮观霉素(SPT)、红霉素(E)、替米考星(TIL)、阿奇霉素(AZM)、四环素(TE)、强力霉素(DO)、诺氟沙星(NOR)、左氟沙星(LEV)、氧氟沙星(OFL)],购自杭州滨河微生物试剂有限公司;头孢噻吩(EFT)、土霉素(OT)、氟苯尼考(FFC)药敏片购自Sigma公司。

1.3 培养基的配制

TSA琼脂平板:称取TSA琼脂粉4 g,溶于100 mL超纯水中,于121 °C高压灭菌15 min,冷却至约45 °C左右,添加新生犊牛血清5 mL和1 mL的0.01% NAD,充分混匀后倾倒入平皿,4 °C保存备用。

1.4 菌株培养

将10株冻存的副猪嗜血杆菌4型菌株分别接种TSA平板,于37 °C 5% CO₂培养箱培养24~36 h后,再分别挑选单个典型菌落传代接种于TSA平板,37 °C 5% CO₂培养箱培养24~36 h,备用。

1.5 药物敏感性试验

参考文献^[12-13]采用琼脂扩散法(K-B法)分别

对HPS4每个菌株进行药敏试验。挑取复壮纯化过的TSA平板上若干单个菌落,置于0.9%灭菌生理盐水中,制成菌悬液,浓度为0.5麦氏单位(比色仪比色),用灭菌的棉拭子或棉签蘸取制成细菌悬液,均匀涂布于TSA平板上,稍干后,用灭菌镊子分别取药敏纸片均匀贴于TSA平板上,并用镊子轻按纸片中心,使药敏纸片与平板培养基附着紧密,放置于5% CO₂培养箱37℃培养36 h。取出观察并记录药敏片抑菌圈直径。判断标准参照药敏纸片说明书。

1.6 耐药基因检测

1.6.1 引物设计 参考文献^[14],设计10个耐药基因包括氨基糖苷类[*aadA1*、*aadA2*、*strA*、*strB*、*aadB*、*aacC2*、*aac(3)-IV*、*aphA1*]和喹诺酮类(*gyrA*、*parC*)的引物,用于每个菌株的耐药基因检测扩增,10对耐药基因引物序列及相关信息见表2。

表2 耐药基因引物序列及相关信息

基因	GenBank 登录号	引物序列 (5'→3')	退火 温度 /°C	产物 大小 /bp
<i>aadA1</i>	DQ915932	TTTGCTGGTTACGGTGAC GCTCCATTGCCAGTCG	56	499
<i>aadA2</i>	EF56079	GGTGCTAAGCGTCATTGAGC GCTTCAAGGTTTCCTCAGC	59	470
<i>strA</i>	CP000971	CCTGGTGATAACGGCAATTC CCAATCGCAGATAGAAGCC	57	546
<i>strB</i>	CP000971	ATCGTCAAGGATTGAAACC GGATCGTAGAACATATTGGC	55	509
<i>aadB</i>	AM295980	ATGGACACAACCGCAGTCCAC TTAGGCCGCATATCCCGACC	59	534
<i>aacC2</i>	X51534	GCAATAACGGAGGCAATTCCA CTCGATGCCGACCGAGCTTCA	58	697
<i>aac(3)-IV</i>	X01385	TGCTGTCCACAGCTCCCTTC CGGATGCAGGAAGATCAA	56	653
<i>aphA1</i>	M18329	ATGGGCTCCGATAATGTC CTCACCGAGGCAGTTCAT	58	600
<i>gyrA</i>	EU512995	ACGTACTAGGCAATGACTGG TCCGTACGTTGTGCGGCG	59	408
<i>parC</i>	CP001164	TGTATGCCGATGCTGAACTG CTCAATAGCAGCTCGGAATA	58	265

1.6.2 模板DNA的提取 用接种环挑取传代复苏好的HPS4典型菌落放入装有50 μL纯水的EP管中,按照DNA提取试剂盒上的步骤严格操作,DNA于-80℃保存备用。

1.6.3 反应体系 反应体系为25 μL: 2×Taq Mix 13 μL, 10 μM/L上、下游引物各1 μL, 模板DNA 2 μL, 加ddH₂O至25 μL。反应条件: 95℃预变性5 min; 95℃变性1 min, 适宜温度下(表2)退火1 min, 72℃延伸30 s, 共35个循环; 最后72℃延伸10 min, PCR产物4℃保存备用。取10 μL PCR

扩增产物于1.0%琼脂糖凝胶电泳检测,凝胶成像系统中比照DNA Marker DL 2 000确定条带大小。

2 结果

2.1 药物敏感性检测结果

10株HPS4菌株的药物敏感性检测结果如表3所示,试验菌株对氨基糖苷类(卡那霉素、阿米卡星)、喹诺酮类(诺氟沙星、左氟沙星、氧氟沙星)耐药均在60%以上; 对大环内酯类、四环素类、氟苯尼考敏感; 对β-内酰胺类药物较敏感,但对β-内酰胺类的阿莫西林、青霉素G的耐药性不容乐观,分别是30%、40%。

表3 10株HPS4型菌株药敏统计

药敏片	敏感/株	中介/株	耐药/株	耐药率/%
头孢噻吩(Ceftiofur)	7	1	2	20
头孢他啶(Ceftazidime)	6	2	2	20
阿莫西林(Amoxicillin)	6	1	3	30
青霉素G(Penicillin G)	3	3	4	40
卡那霉素(Kanamycin)	1	3	6	60
新霉素(Neomycin)	0	5	5	50
阿米卡星(Amikacin)	1	3	6	60
壮观霉素(Spectinomycin)	6	2	2	20
红霉素(Erythromycin)	5	4	1	10
替米考星(Tilmicosin)	5	4	1	10
阿奇霉素(Azithromycin)	6	3	1	10
四环素(Tetracycline)	7	2	1	10
强力霉素(Doxycycline)	7	2	1	10
土霉素(Oxytetracycline)	7	2	1	10
诺氟沙星(Norfloxacin)	1	2	7	70
左氟沙星(Levofloxacin)	2	1	7	70
氧氟沙星(Ofloxacin)	2	1	7	70
氟苯尼考(Florfenicol)	8	1	1	10

2.2 菌株耐药谱

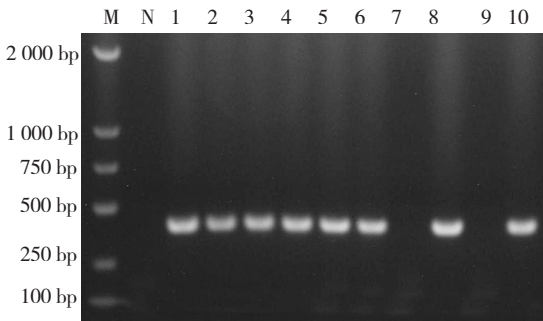
10株HPS4菌株对18种常用抗生素药物敏感性结果显示,10菌株均表现出多重耐药现象,共表现出9种耐药谱,其中有2株耐受3种药物(诺氟沙星、左氟沙星、氧氟沙星),为3重耐药; 1株表现出8重耐药,同时对头孢他啶、头孢噻吩、阿莫西林、青霉素、卡那霉素、阿米卡星、新霉素和壮观霉素表现耐药。结果如表4所示。

表4 HPS4菌株耐药谱

谱值	株数	耐药谱
3	2	LEV+NOR+OFL
4	1	AMK+LEV+NOR+OFL
5	1	LEV+NOR+OFL+KAN+NEO
5	1	LEV+KAN+AMK+NEO+SPT
6	1	KAN+AMK+NEO+NOR+OFL+P
7	1	KAN+AMK+AML+P+TE+DO+OT
7	1	EFT+CAZ+AML+P+NOR+LEV+OFL
7	1	KAN+AMK+NEO+LEV+NOR+OFL+FFC
8	1	CAZ+EFT+AML+P+KAN+AMK+NEO+SPT

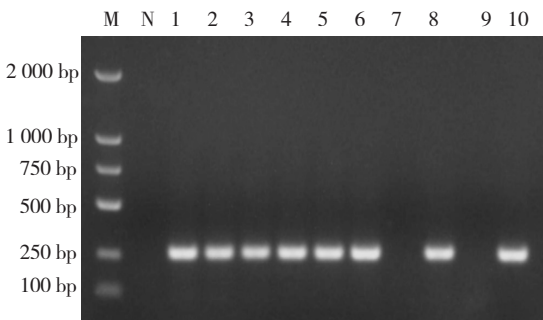
2.3 耐药基因检测结果

用10对耐药基因引物分别对10株HPS4进行耐药基因检测,其中有1株未检测到耐药基因,其余9个菌株检测出了4种耐药基因,分别是*strB*、*aphA1*、*gyrA*、*parC*耐药基因,其中有8个菌株都检测出喹诺酮类耐药基因*gyrA*、*parC*阳性,检出率达80% (图1、图2);有6个菌株检测出氨基糖苷类耐药基因*aphA1*阳性,检出率60% (图3),有5个菌株检测出氨基糖苷类耐药基因*strB*阳性,检出率50% (图4)。



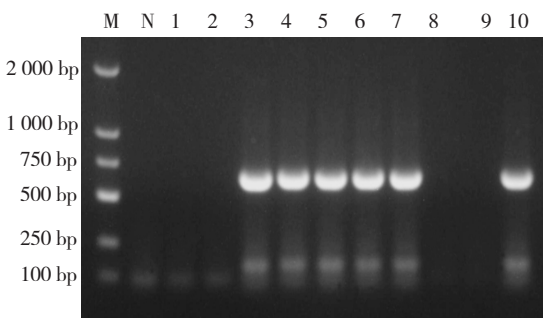
M为DL2000 DNA Marker; N为阴性对照; 1~10为被检HPS4菌株。

图1 耐药基因 *gyrA* PCR 检测结果



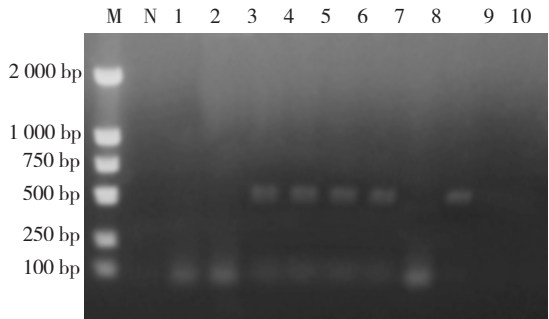
M为DL2000 DNA Marker; N为阴性对照; 1~10为被检HPS4菌株。

图2 耐药基因 *parC* PCR 检测结果



M为DL2000 DNA Marker; N为阴性对照; 1~10为被检HPS4菌株。

图3 耐药基因 *aphA1* PCR 检测结果



M为DL2000 DNA Marker; N为阴性对照; 1~10为被检HPS4菌株。

图4 耐药基因 *strB* PCR 检测结果

3 讨论

本试验针对10株副猪嗜血杆菌4型河南临床分离菌株进行了表型耐药检测及耐药基因检测研究,发现10株HPS4菌株对18种临床常用抗菌药物均表现出不同程度的耐药现象。总体情况,HPS4菌株对红霉素、阿奇霉素、替米考星、四环素、土霉素、强力霉素和氟苯尼考有很好敏感性,耐药率均为10%;和忽占利等报道的浙江菌株对四环素耐药率高达75%有明显差异^[15],这可能是菌株区域性差异引起的。虽然本试验HPS4菌株对 β -内酰胺类药物(头孢噻唑、头孢他啶)和壮观霉素较敏感,耐药率为20%,但和作者2018年检测30株副猪嗜血杆菌菌株对头孢噻唑100%敏感结果^[16]有所不同,说明副猪嗜血杆菌临床菌株耐药性在逐渐增强。HPS4菌株对青霉素G和阿莫西林耐药性不容乐观,耐药率分别为40%、30%。HPS4菌株对氨基糖苷类卡那霉素、阿米卡星、新霉素和喹诺酮类诺氟沙星、左氟沙星、氧氟沙星表现出较高耐药性,耐药率均在50%以上;与董永军等^[17]、蒋增海等^[6]试验分离株对诺氟沙星、氧氟沙星等喹诺酮类高敏有明显差异。试验菌株对18种常用抗生素均表现出多重耐药现象,耐药谱多达9种,最少为3重耐药,最多为8重耐药。充分说明,不同地区、猪场分离获得的HPS4菌株耐药性有一定差异,耐药现象较普遍,而且有增强扩大的趋势。本试验HPS4菌株的耐药表型为建立副猪嗜血杆菌河南分离株耐药谱积累了一定的数据材料,为河南省规模化猪场预防控制副猪嗜血杆菌临床选择药物提供了科学依据。

细菌的耐药机制复杂,不同细菌及同一细菌对不同类药物均能表现出不同的耐药机制。细菌对氨基糖苷类药物耐药的机制主要有:1)产生一

种或多种功能修饰酶,使药物降低或失去活性,氨基糖苷类修饰酶有乙酰转移酶、磷酸转移酶和核苷转移酶3类;2)药物作用靶位的核糖体碱基发生改变或与核糖体结合的核蛋白编码基因发生突变,药物的结合位点发生改变,无法发挥抗菌作用;3)改变细胞膜的通透性,主动外排机制增强。第一种是氨基糖苷类药物耐药的普遍机制,细菌能够产生50多种分别编码乙酰转移酶,腺苷转移酶和磷酸转移酶的基因^[18-19]。耐药基因*aphA1*和*strB*都是与编码磷酸转移酶有关的基因,本次试验对10株HPS4菌株进行耐药基因检测,6株检测出*aphA1*基因,5株检测出*strB*基因,说明*aphA1*和*strB*是HPS4河南分离菌株对氨基糖苷类药物产生耐药性的主要原因。

喹诺酮类药物主要通过和细菌不同部位上的靶位蛋白结合,发挥杀菌、抑菌作用的,DNA回旋酶和拓扑异构酶IV是喹诺酮类药物的主要作用靶位^[20]。耐药基因*gyrA*、*parC*则分别与DNA回旋酶和拓扑异构酶IV的基因编码有关。本次试验10株HPS4菌株进行耐药基因检测,8株都检测出*gyrA*、*parC*基因,表明*gyrA*、*parC*是HPS4河南分离菌株对喹诺酮类药物产生耐药性的主要原因。

结合本次研究的耐药表型结果和耐药基因检测结果,表明HPS4河南分离菌株对临床常用药物耐药表现明显;耐药菌株表型耐药和其携带的耐药基因表现出很大的相关性,临床菌株之间很可能存在耐药性的遗传传递情况,在临床防控副猪嗜血杆菌时,尽可能规范或减少氨基糖苷类和喹诺酮类药物的使用。

参考文献

- [1] Olvera A, Pina S, Perez-Simo M, et al. Immunogenicity and protection against *Haemophilus parasuis* infection after vaccination with recombinant virulence associated trimeric autotransporters (VtaA)[J]. Vaccine, 2011, 29(15): 2797-2802.
- [2] Olvera A, Martinez-Moliner V, Pina-Pedrero S, et al. Serum cross-reaction among virulence-associated trimeric autotransporters (VtaA) of *Haemophilus parasuis*[J]. Veterinary microbiology, 2013, 164(3-4): 387-391.
- [3] 田其真,朱利娟,蔡丙严,等.江苏部分规模化猪场副猪嗜血杆菌病的调查与分析[J].黑龙江畜牧兽医, 2018(2): 100-102, 243.
- [4] 邱静静,丁轲,余祖华,等.2014—2017年河南省副猪嗜血杆菌分离菌株的PCR鉴定及分型[J].畜牧兽医学报, 2019, 50(8): 1649-1657.
- [5] 林尖兵,高清清,易新健,等.江苏地区副猪嗜血杆菌病流行现状调查[J].畜牧与兽医, 2020(2): 107-110.
- [6] 蒋增海,徐耀辉,邓同炜,等.副猪嗜血杆菌分离鉴定及药敏试验[J].动物医学进展, 2016, 37(6): 124-128.
- [7] 李新果,史志斌,张磊,等.副猪嗜血杆菌河南流行株的分离鉴定及分型[J].河南农业科学, 2018, 47(11): 116-119.
- [8] 丁文文,王乐,李飞跃,等.副猪嗜血杆菌的分离鉴定及其流行病学研究[J].中国预防兽医学报, 2019, 41(8): 789-794, 835.
- [9] 付丹,谭晓婷,曹玉琴,等.副猪嗜血杆菌耐药性研究进展[J].中国预防兽医学报, 2016(7): 591-594.
- [10] 郭龙,宋文博,贾双,等.2017年我国规模化猪场副猪嗜血杆菌流行病学调查[J].中国兽医学报, 2019, 39(11): 2152-2156.
- [11] 陈章,汪清峰,刘晓露,等.副猪嗜血杆菌安徽株血清型、基因型及耐药性[J].微生物学通报, 2020(2): 571-582.
- [12] 徐引弟,鲁杨超,王治方,等.4型副猪嗜血杆菌的分离鉴定与生物学特性研究[J].黑龙江畜牧兽医, 2018(13): 131-134, 246.
- [13] 王治方,焦文强,张青娟,等.规模化猪场副猪嗜血杆菌、多杀性巴氏杆菌和化脓性链球菌控制性研究[J].山西农业科学, 2018, 46(7): 1181-1185.
- [14] 徐引弟,张青娟,王治方,等.河南省规模化猪场猪肠外致病性大肠杆菌的耐药性分析[J].中国兽医学报, 2019, 39(8): 1526-1532.
- [15] 忽占利,李军星,胡松华,等.副猪嗜血杆菌分离株的耐药性及耐药基因分析[J].华北农学报, 2013, 28(4): 228-233.
- [16] 王治方,徐引弟,朱文豪,等.副猪嗜血杆菌流行优势菌株调查和耐药性分析[J].中国兽医学报, 2019, 39(10): 1942-1946.
- [17] 董永军,王丽荣,徐银兰,等.副猪嗜血杆菌分离株的分离鉴定及药敏试验[J].浙江畜牧兽医, 2015, 40(1): 1-3.
- [18] 钟艾玲,田敏,刘艳全,等.氨基糖苷类抗生素的耐药机制研究进展[J].中国抗生素杂志, 2019, 44(4): 401-405.
- [19] 武灵芝,胡栋,秦猛.氨基糖苷类修饰酶引起的细菌耐药性机制的研究进展[J].生物物理学报, 2013, 29(1): 15-25.
- [20] 邵莉萍,张继瑜.喹诺酮类药物的抗菌活性与细菌耐药性研究进展[J].中国畜牧兽医, 2017, 44(9): 2773-2782.

(编辑:郭玉翠)