

# 人工繁育恒河猴的肺炎链球菌携带状况调查及分析

刘 雨, 李艳艳, 张 伟, 杨凤梅, 刘 权, 李咏洁, 靳玮华, 段素琴, 王俊斌, 陈丽雄, 徐鸿界, 赵 远\*, 和占龙\*

(中国医学科学院 / 北京协和医学院医学生物学研究所, 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 昆明 650118)

**[摘要]** 目的 探究人工繁育的恒河猴群体中肺炎链球菌的自然感染状况, 为肺炎链球菌感染的临床诊断和治疗提供参考。方法 从恒河猴猴群中随机采集 20 只婴猴、30 只成年猴和 30 只老年猴的鼻拭子和咽拭子样本, 采用细菌培养和实时荧光定量 PCR 方法同时筛查样本中肺炎链球菌的携带情况, 并对筛查结果为阳性的婴猴的亲代母猴进行肺炎链球菌筛查。再结合革兰染色法、奥普托欣药敏试验、胆汁溶解试验、菊糖发酵试验和 PCR 扩增测序对样本进行进一步鉴定。结果 恒河猴婴猴携带肺炎链球菌的检出率为 20% (4/20), 而这 4 只阳性婴猴的亲代母猴检测结果均为阴性。成年恒河猴和老年恒河猴中肺炎链球菌的检出率均为 0%。细菌培养物在形态学上观测显示, 该菌为灰白色凸起状, 周围草绿色溶血环, 呈脐窝状, 为典型肺炎链球菌的菌落特征。革兰染色结果显示为阳性, 胆汁溶解试验和菊糖发酵试验结果均呈阳性, 并且该菌对奥普托欣敏感; 以上结果表明本次从婴猴鼻咽拭子分离到的 4 株菌落均为肺炎链球菌。结论 本调查发现在恒河猴中肺炎链球菌自然感染群体主要为婴猴, 婴猴携带率约为 20%, 其鼻、咽部均为该菌寄住场所, 且未发现母婴垂直传播情况。

**[关键词]** 恒河猴; 肺炎链球菌; 携带率; 婴猴

**[中图分类号]** Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)03-0259-07

## Analysis on Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Captive Rhesus Macaques

LIU Yu, LI Yanyan, ZHANG Wei, YANG Fengmei, LIU Quan, LI Yongjie, JIN Weihua, DUAN Suqin, WANG Junbin, CHEN Lixiong, XU Hongjie, ZHAO Yuan\*, HE Zhanlong\*

(Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College; Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research and Development on Severe Infectious Diseases, Kunming 650118, China)

Correspondence to: ZHAO Yuan, E-mail: zy-315@imbcams.com.cn; HE Zhanlong, E-mail: hzl612@126.com

**[Abstract]** **Objective** To explore the natural infection status of *Streptococcus pneumoniae* in captive bred rhesus macaques, and to provide reference for the clinical diagnosis and treatment of *Streptococcus pneumoniae* infection. **Methods** Twenty infant monkeys, 30 adult monkeys and 30 elderly monkeys were randomly selected from a rhesus macaques population, and the nasal swabs and pharynx swabs were collected and screened for *Streptococcus pneumoniae* simultaneously by bacterial culture and real-time fluorescent quantitative PCR. The mother monkeys of the positive infant monkeys were screened for

**[基金项目]** 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2016-I2M-2-001; 2018-I2M-3-002); 云南省科技创新人才计划 (2015HC027); 昆明市科技创新和服务能力提升计划重点项目 (2016-2-R-07674)

**[作者简介]** 刘 雨 (1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 疾病动物模型。E-mail: 357074037@qq.com

**[通信作者]** 赵 远 (1974—), 男, 硕士, 主任技师, 研究方向: 实验动物微生物学。E-mail: zy-315@imbcams.com.cn  
和占龙 (1972—), 男, 研究员, 博士, 研究生导师, 研究方向: 非人灵长类疾病模型建立及机制研究。

E-mail: hzl612@126.com

\* 共同通信作者

*Streptococcus pneumoniae*. Gram staining method, Optochin drug sensitivity test, bile solubility test, inulin fermentation test and PCR amplification and sequencing were used to further identification. **Results** The positive rate of rhesus macaques carrying *Streptococcus pneumoniae* was 20% (4/20), and the mother macaques of the four positive infant macaques tested negative. The positive rate was 0% in both adult and elderly rhesus monkeys. The morphological observation results of the bacterial culture showed that the bacteria appeared gray and raised, and produced a surrounding green zone of hemolysis with a flattened center, indicating typical *Streptococcus pneumoniae* colony characteristics. The results of Gram dyeing, bile dissolution test, and inulin fermentation test were all positive, and the bacteria were sensitive to Optochin. The above results showed that the four strains isolated from the infant monkeys' nasopharyngeal swabs were *Streptococcus pneumoniae*. **Conclusion** The investigation findings show that *Streptococcus pneumoniae* is mainly found in the noses and throats of 20% infant monkeys among rhesus macaques, and no vertical transmission from mother to child is found.

**[Keywords]** Rhesus macaques; *Streptococcus pneumoniae*; Carrying rate; Infant monkeys

肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 是一种似矛头状的革兰阳性双球菌, 成双或成短链状排列, 为人兽共患菌。肺炎链球菌是一种条件致病菌, 一般定植于健康人群和动物的鼻咽部, 致病因子为荚膜多糖<sup>[1-2]</sup>。当定植的环境发生变化, 如宿主体免疫力降低或有关呼吸道病原体感染宿主时, 肺炎链球菌会突破机体的黏膜防御体系, 进入下呼吸道引起肺炎, 或通过咽鼓管进入中耳引发中耳炎, 或穿过肺泡上皮细胞和血管引起菌血症, 或透过血脑屏障引发脑膜炎等<sup>[3-4]</sup>。上述由肺炎链球菌导致的疾病统称为肺炎链球菌性疾病 (pneumococcal disease, PD)。据 2017 年 WHO 数据统计, 全球儿童 PD 发病率高达 0.5 人次/年, 全球每年大约有 46 万的儿童死于肺炎链球菌感染<sup>[5]</sup>。可见, 肺炎链球菌是引起儿童发病和死亡的主要原因之一。

肺炎是人工饲养实验猴场内常见且多发的疾病之一<sup>[6-11]</sup>。在人类和动物中, 引起肺炎的病原体有细菌、支原体、病毒等, 其中细菌性肺炎大多由肺炎链球菌引起。肺炎链球菌主要寄居于鼻咽部, 是机体上呼吸道的一种正常定植菌, 当机体免疫功能受损时, 有毒力的肺炎链球菌入侵人体而致病。在规模化人工繁育猴场开展早期监测, 了解和快速确定病原体携带状况, 针对性地制定预防措施, 合理选择抗菌药物进行治疗, 是有效提高实验猴场疾病防控能力的重要工作。然而目前实验猴肺炎链球菌携带状况监测及快速检

测方法的研究报告较少, 因此开展此项工作对提高实验猴养殖水平, 确保实验猴质量和减少经济损失具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

普通级恒河猴 (rhesus macaque, 中国猕猴的一个指名亚种, 学名为 *Macaca mulatta mulatta*) 80 只 (包括婴猴 20 只, 3~4 月龄; 成年猴 30 只, 4~10 岁; 老年猴 30 只, 11~20 岁), 雌雄不限, 均来源于中国医学科学院医学生物学研究所医学灵长类研究中心[SCXK (滇) K2020-0005] 人工繁育超 20 代的恒河猴种群。这些受检猴是按照年龄组成结构随机抽样选取, 均饲养于普通环境[SYXK (滇) K2020-0008]。其中, 婴猴小笼饲养, 每笼 2 只; 成年猴和老年猴大笼饲养, 每笼 6~8 只; 均设置温度为 20~25 °C, 相对湿度为 40%~70%, 饲喂全价颗粒饲料[SCXK (滇) K2020-0006], 自由饮水。实验方案经本单位实验动物伦理审查委员会审核批准 (批准号: DWSP201902034), 实验过程严格遵循 3R 原则, 给予实验动物人道关怀。

### 1.2 主要试剂与仪器

实时荧光 PCR 法肺炎链球菌核酸检测试剂盒购自江苏硕世生物科技股份有限公司; 哥伦比亚血琼脂、葡萄糖肉浸汤、去氧胆酸钠和菊糖发酵管购自广东环凯微生物科技有限公司; 革兰染色

试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司；奥普托欣药片购自温州市康泰生物科技有限公司。高速冷冻离心机购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；超净操作台购自中国苏净集团苏州安泰空气技术有限公司；荧光定量 PCR 仪器、PowerPac HC 高流电泳仪和凝胶成像自动分析系统 Image Lab 购自美国 Bio-Rad 公司。

### 1.3 样品采集

用无菌棉签将鼻、咽拭子各分成一式两份，2~8℃保存，分别做培养鉴定和实时荧光定量 PCR 检测。所有样本须在 2~3 d 内完成检测。

### 1.4 肺炎链球菌分离培养及生化鉴定<sup>[12]</sup>

鼻、咽拭子样品分别接种在哥伦比亚血培养基中，在 5% CO<sub>2</sub>、37℃培养箱中培养 24 h 后，挑取单个灰白色、周围有草绿色溶血环、部分呈典型脐窝状的可疑菌落进行革兰染色。镜检显示形态呈矛头状，成双或链状排列，宽端相对，尖端相背，颜色为紫色，初步确定为肺炎链球菌。

奥普托欣药敏试验：挑取革兰染色阳性的菌落均匀密涂于哥伦比亚血培养基上，置于 5% CO<sub>2</sub>、37℃培养箱中培养 24 h。然后将 5.0 μg 奥普托欣药片紧压到平皿中央，置于培养箱中培养 24 h 后取出，观察并测量抑菌圈的直径大小，抑菌圈大于 14 mm 时判定为药敏阳性。

胆汁溶解试验：挑取革兰染色阳性的菌落，接种到含有 2~3 mL 葡萄糖肉浸汤的试管中培养 24 h。然后，一支加入 1~2 滴 10% 去氧胆酸钠，另一支加入 1~2 滴 0.9% 氯化钠溶液（即生理盐水）作为对照，置于 5% CO<sub>2</sub>、37℃培养箱中培养 2 h。观察发现液体澄清透明，即确定为胆汁溶解阳性。

菊糖发酵试验：挑取革兰染色阳性的菌落，接种到菊糖发酵管中，在 5% CO<sub>2</sub>、37℃培养箱中培养 24 h 后，观察甲酚紫变为黄色，即确定为菊糖发酵阳性。

按照国家标准的肺炎链球菌检测要求，以上 3 个试验均为阳性时，即可确定该样本为肺炎链球菌阳性。

### 1.5 肺炎链球菌核酸检测

肺炎链球菌核酸检测试剂盒（荧光 PCR 法）最低检测限值可达到 1 × 10<sup>3</sup> 拷贝/mL，与感染部

位相同或感染症状相似且常见的其他病原体如 B 族链球菌、肺炎克雷伯菌、A 组乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌、流感嗜血杆菌等细菌和人类白细胞的总核酸无交叉反应，特异性较好，并且检测精密度参考品的变异系数小于 5%。具体检测步骤：（1）新鲜采集的同一只恒河猴鼻、咽拭子样本混合后经葡萄糖肉浸汤培养；（2）取 1 mL 培养液于 1.5 mL 无菌离心管中，1 000 r/min 离心 3 min 后弃掉上清液，保留沉淀；（3）每管沉淀溶于 50 μL DNA 提取液，沉淀悬浮后 100℃煮沸 5 min；（4）1 000 r/min 离心 3 min，取 5 μL 上清液，即肺炎链球菌 DNA，用于实时荧光定量 PCR 检测。

实时荧光定量 PCR 反应体系总体积为 25 μL，包括 PCR 反应组分 5 μL、酶混合液 0.2 μL、肺炎链球菌反应液 4 μL、无酶水 10.8 μL 和 DNA 5 μL。PCR 反应条件：95℃ 5 min；95℃ 10 s，55℃ 40 s，40 个循环。结果判定：Ct ≤ 35 且曲线呈 S 型，判断为阳性感染；Ct > 38 或者未检出，判断为阴性感染。

### 1.6 PCR 扩增和测序

根据 GenBank 肺炎链球菌 DNA 基因序列，利用 Prime 5 软件设计引物，扩增目的片段长 258 bp。上游引物序列为 5'-GTTAAGATTGCTGATCGA-TTAATTGATATCC-3'，下游引物序列为 5'-GT-AATATGTCTTTAGGGCGTTTATGGCGATAG-3'。引物由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。利用 1.5 节中提取的肺炎链球菌 DNA 作为模板，进行 PCR 扩增。扩增体系包括上下游引物各 1 μL、PCR Mix 12.5 μL、模板 DNA 2 μL，dd H<sub>2</sub>O 补至总体积 25 μL。PCR 扩增程序：94℃预变性 3 min；94℃变性 30 s，56℃退火 30 s，72℃延伸 35 s，35 个循环；72℃延伸 10 min，12℃停止反应。取 5 μL PCR 扩增产物在 1.0% 琼脂糖凝胶上进行电泳，用凝胶成像仪进行观察并拍照。PCR 扩增产物由广州擎科生物技术有限公司测序。

### 1.7 统计学分析

采用定性描述的方法，判断肺炎链球菌感染情况；然后用 Excel 软件录入整理阳性数据，计算不同年龄组的带菌率。

## 2 结果

### 2.1 肺炎链球菌的菌落形态特征

在哥伦比亚血琼脂平板上接种鼻、咽拭子样品,培养 24 h 后进行观察,发现 80 份样品有 4 份婴猴样品为阳性,菌落为灰白色湿润的凸起,且周围有草绿色溶血环,呈脐窝状,总体表现为

典型肺炎链球菌的菌落特征(图 1A)。革兰染色后镜检结果显示,该细菌为革兰阳性链球菌,菌体呈成双或短链状排列(图 1B),进一步确定为肺炎链球菌。对结果为阳性的 4 只婴猴对应的母猴(不包括在 30 只成年猴中)鼻咽拭子进行细菌培养,均未培养出肺炎链球菌。

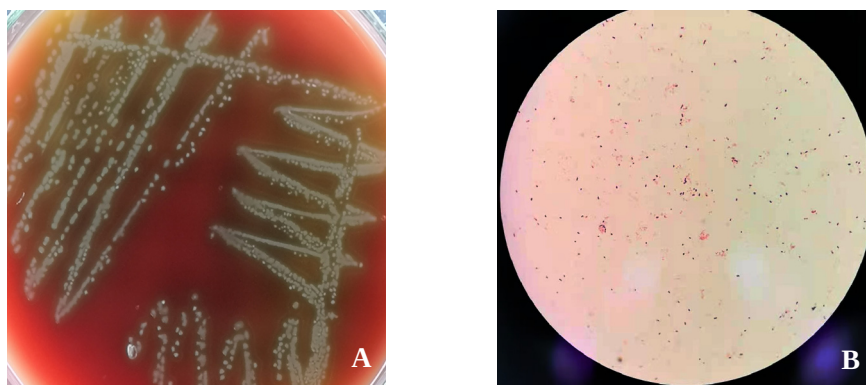


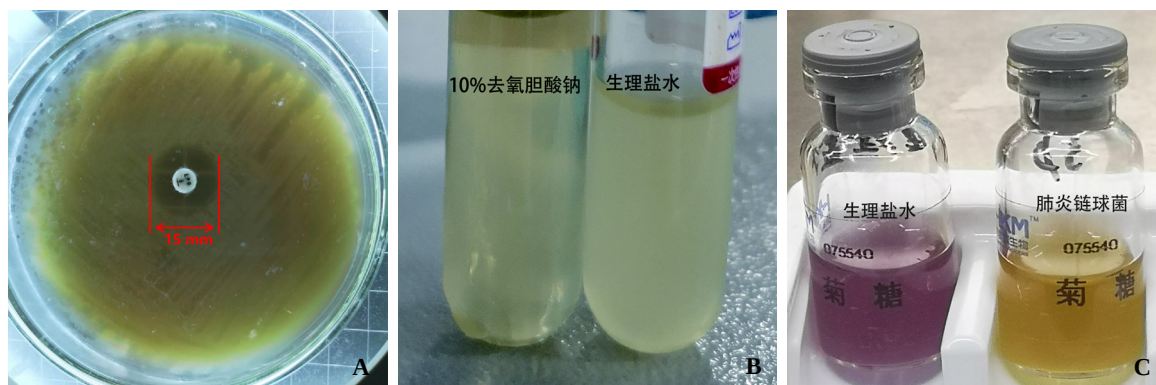
图 1 婴猴感染肺炎链球菌的菌落(A)及菌体(B)形态

Figure 1 The colony (A) and bacteria (B) morphology in infant rhesus macaques infected with *Streptococcus pneumoniae*

### 2.2 肺炎链球菌的生化特性

奥普托欣药敏试验测得抑菌圈直径大小为 16 mm (图 2A)。抑菌圈大于 14 mm 表明该菌对奥普托欣敏感,即可确定为阳性。胆汁溶解试验中,加入 10% 去氧胆酸钠溶液的试管液体澄清透明,加入生理盐水的试管液体浑浊(图 2B),

表明胆汁溶解试验为阳性。菊糖发酵试验中,接种菌落的菊糖发酵管中甲酚紫由紫色变为黄色,加入生理盐水的菊糖发酵管中液体颜色没有变化,表明该菌可发酵菊糖(图 2C),即菊糖发酵试验为阳性。通过以上试验可确定分离获得的菌落为肺炎链球菌。



注: A 为奥普托欣药敏试验; B 为胆汁溶解试验; C 为菊糖发酵试验。

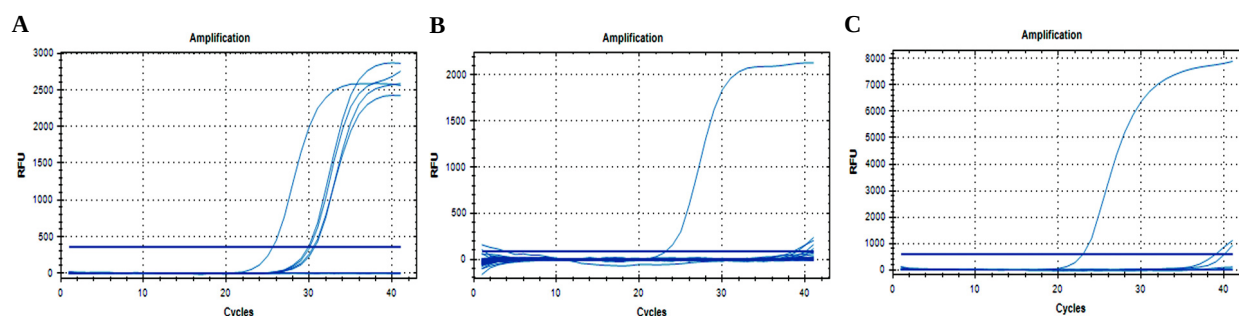
图 2 婴猴感染肺炎链球菌的生化鉴定

Figure 2 Biochemical identification of *Streptococcus pneumoniae* in infant rhesus macaques

## 2.3 肺炎链球菌实时荧光定量 PCR 筛查结果

鼻咽拭子样本通过提取DNA进行实时荧光定量 PCR 检测,发现婴猴中 4 份样本检测结果为阳

性,成年猴和老年猴检测结果均为阴性;对结果为阳性的婴猴的母亲(不包括在 30 只成年猴中)进行 PCR 检测,筛查结果均为阴性(图 3)。



注: A 为 3~4 月龄的婴猴, B 为成年猴和老年猴, C 为 4 只阳性婴猴所对应的母亲。阳性样品的循环数( $C_t$ )=29.49, 阳性对照的  $C_t$ =22.26, 3~4 月龄的婴猴、成年猴和老年猴样本的  $C_t$  分别为 30.22、30.58 和 30.27。

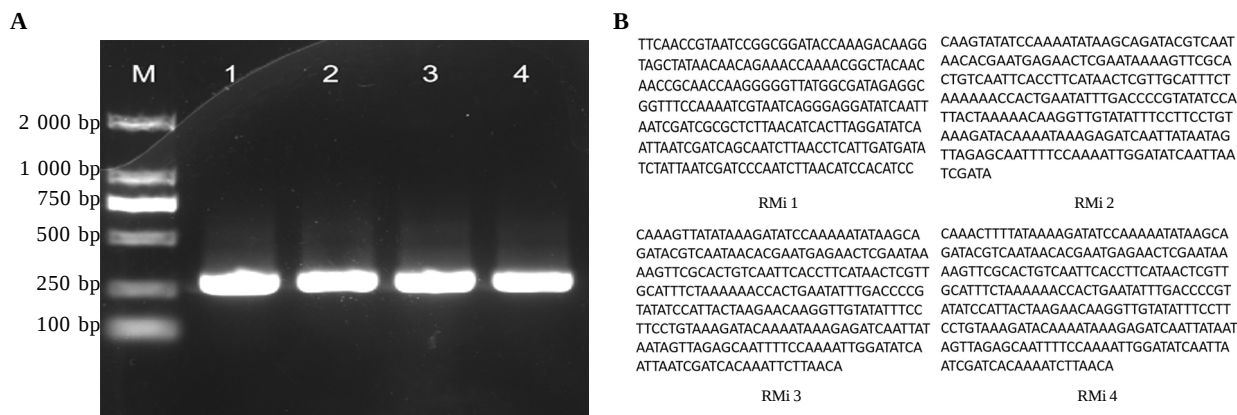
图 3 实时荧光定量 PCR 检测不同年龄组的恒河猴肺炎链球菌携带情况

Figure 3 Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in rhesus macaques at different ages detected by real-time fluorescent quantitative PCR

## 2.4 肺炎链球菌 PCR 扩增与测序结果

用根据肺炎链球菌DNA序列设计的引物进行 PCR 扩增,产物经凝胶电泳分离,目的片段长度为 258 bp (图 4A)。将扩增的 PCR 产物进

行测序,结果如图 4B 所示。扩增的目的片段序列与 GenBank 中的序列进行比对分析,发现与肺炎链球菌标准菌株 DNA 序列的同源性达 97.6% 以上。



注: M 为 DNA Marker, 1~4 分别为 4 只阳性婴猴鼻咽拭子的肺炎链球菌 DNA 样本。

图 4 婴猴肺炎链球菌感染阳性样本的 PCR 扩增(A)和测序(B)结果

Figure 4 PCR amplification (A) and sequencing (B) results in positive samples of *Streptococcus pneumoniae* infection in infant rhesus macaques

## 2.5 不同年龄组恒河猴的肺炎链球菌携带情况

在 3~4 月龄恒河猴婴猴的鼻、咽拭子中检测出肺炎链球菌,检出率为 20% (4/20)。另外对检测结果阳性的 4 只婴猴的母亲进行筛查,发现 4 只母猴(30 只成年猴中不包括这 4 只母猴)

并未携带肺炎链球菌。4~20 岁年龄组的恒河猴咽拭子、鼻拭子均未检测出肺炎链球菌。经过对比标号发现,细菌培养和 PCR 筛查的阳性结果均一致。不同年龄组恒河猴的肺炎链球菌携带情况见表 1。

表 1 不同年龄组恒河猴肺炎链球菌的携带情况  
Table 1 Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in  
different age groups of rhesus macaques

| 组 别          | 例数 | 阳性例数 | 带菌率/% |
|--------------|----|------|-------|
| 婴猴组(3~4 月龄)  | 20 | 4    | 20    |
| 成年组(4~10 岁)  | 30 | 0    | 0     |
| 老年组(11~20 岁) | 30 | 0    | 0     |
| 合计           | 80 | 4    | 5     |

### 3 讨论

正常菌群是微生物与其宿主在共同的进化过程中形成的对人有益的微生物群,主要存在于人类体表和体腔部位,这些正常菌群大部分与细胞密切接触并参与人体能量供给、物质交换、遗传信息传递等生命活动<sup>[13]</sup>。研究发现在人体鼻腔的定植微生物以葡萄球菌为最多,其次是肺炎链球菌、奈瑟菌、嗜血流感杆菌等。鼻咽部链球菌与嗜血流感杆菌的数量大,肺炎链球菌占比较高。多年来人们主要关注口腔鼻咽部正常菌群的致病作用,即引起内源性感染的作用,忽视了这些菌群正常的生物拮抗、营养及免疫等生理作用。正常情况下,口腔鼻咽部正常菌群之间以及菌群中多种微生物之间,互相依存,互相制约,构成一种生态平衡,发挥着重要的生理作用。基于非人灵长类动物与人的生理结构和功能以及遗传信息具有相似性,本研究开展了正常猴群中肺炎链球菌在咽鼻部定植情况的筛查,为早期该病原体的检测提供一定的参考依据。从实验结果可以看出,在正常猴群中肺炎链球菌携带率相对较高,如环境、个体免疫力等因素一旦发生改变将会引起肺炎的发生。因此,在实践工作中检测肺炎链球菌的同时,应加强对动物口腔鼻咽部其他常见的正常菌群中多种微生物的监测和研究,建立一个完善的可检测多种微生物的技术方法,获得非人灵长类实验动物的咽鼻部微生物信息数据,从而指导饲养、质量检测和疾病防控等。

大量研究表明,在猪、羊、貂、兔等动物中均发现了 PD<sup>[14-17]</sup>。有文献资料显示,导致猴呼吸系统疾病的常见且重要的病原菌为肺炎链球菌,死亡率高达 82%<sup>[18]</sup>。郑振峰等<sup>[6]</sup>报告猴肺炎链球菌是导致呼吸道疾病的第二大病原菌。这

些文献资料的数据结果大多数是在实验猴出现临床症状或死亡的样本中获得,而在正常恒河猴群体中调查报告肺炎链球菌携带情况的文献较少。据报告,中国内地健康儿童鼻咽部肺炎链球菌的携带率为 21.7%,其中幼儿园儿童(2~5 岁)的携带率高达 25.0%<sup>[19]</sup>。本研究分别从恒河猴群体的婴猴、成年猴和老年猴中随机抽取 20 只、30 只、30 只进行肺炎链球菌携带情况筛查,结果显示,20 只 3~4 月龄的婴猴中有 4 只的鼻咽部肺炎链球菌为阳性,16 只为阴性;但 4 只阳性婴猴的亲代母猴中并未检测出肺炎链球菌。因此,推测本研究中婴猴所携带的肺炎链球菌并非经垂直传播,而是自然感染状态。目前发现肺炎链球菌有 96 个血清型<sup>[20-22]</sup>,其中确定的致病性血清型约 20~30 种。本次检测结果为阳性的婴猴均未发生肺炎情况,推测所检测到的肺炎链球菌可能不属于致病性血清型,也有可能是由于携带(定植)载量较低,或者与动物机体抵抗力等因素有关。因此,本课题组后期将对分离到的肺炎链球菌进一步开展血清型鉴定,并跟踪观察动物健康状况。

陈文标等<sup>[23]</sup>和王哲等<sup>[24]</sup>发现,不同年龄、不同季节时人类肺炎链球菌感染的分布有一定差异性,但总体而言,小于 5 岁的儿童和大于 50 岁的老年人发病率较高。推测其原因主要是婴儿刚出生时会从母体获得一部分免疫力,而 3 个月后免疫力逐渐丧失,且 3 个月~2 岁的儿童免疫系统发育不完善,容易受到病原菌感染;老年人由于机体功能逐渐退化,运动减少,多伴有基础疾病,抵抗力较弱,相对于年轻人更易感染。而本研究结果显示,3~4 月龄的婴猴肺炎链球菌携带率达 20%,但在成年猴、老年猴中未检测到肺炎链球菌。推测这可能与环境和饲养密度有一定关系。本次研究的婴猴饲养在饲养室内,提供保温、空气净化等设备,但每个笼内饲养 2 只,动物密切接触、饲养密度较高等因素可能导致肺炎链球菌携带率较高;而成年猴和老年猴饲养在室外大笼内,饲养密度低、空气流通和日光中紫外线照射等较好的环境因素不利于肺炎链球菌的定植,另外动物长期接触同一外界环境的过程中可能导致微生物菌群发生适应性的变化。需要说明:在生产实践中老年猴群的肺炎发病率相对较

高,因此尤其要做好确诊为肺炎或者因肺炎死亡的病例的病原体检测、分离和培养,才能积极有效地开展预防及治疗工作。

本次调查结合分子生物学手段和微生物学手段,对恒河猴群体中肺炎链球菌的携带情况进行筛查和鉴定,探究不同年龄阶段的恒河猴体内肺炎链球菌的携带率。结果发现自然状态下婴猴为肺炎链球菌的主要携带群体,其携带率约为20%,该结果与人类儿童中肺炎链球菌的感染情况相近。未来可进一步对所分离到的肺炎链球菌进行亚型鉴定和菌株毒理实验,为肺炎球菌感染的临床诊断和防治提供进一步的基础依据。

### [参考文献]

- [1] 王华庆,安志杰.肺炎球菌性疾病免疫预防专家共识(2017版)[J].中国预防医学杂志,2018,19(3):161-191. DOI:10.16506/j.1009-6639.2018.03.001.
- [2] PENNINGTON J E. Treating respiratory infections in the era of cost control[J]. Am Fam Physician, 1986, 33(2): 153-160.
- [3] 张雪梅.肺炎链球菌自然转化机制的研究进展[J].国外医学(临床生物化学与检验学分册),2002,23(6):348-350. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2002.06.016.
- [4] 孟江萍,尹一兵.肺炎链球菌致病机理的最新研究进展[J].微生物学杂志,2002,22(2):39-41. DOI:10.3969/j.issn.1005-7021.2002.02.015.
- [5] WHO Publication. Pneumococcal vaccines WHO position paper: 2012 recommendations[J]. Vaccine, 2012, 30(32): 4717-4718. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.04.093.
- [6] 郑振峰,李秦,孙岩松,等.猴肺炎双球菌性败血症尸检分析[J].中国实验动物学杂志,1991,1(2):120.
- [7] 代解杰,谢晋,和占龙.人工饲养条件下恒河猴病理分析的研究[J].中国实验动物学杂志,1999,9(1):34-38. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.1999.01.008.
- [8] 程树军,黄韧,秦瑶,等.实验恒河猴肺自发病变的组织学观察[J].中国比较医学杂志,2003,13(4):197-199. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2003.04.002.
- [9] 赵玺龙,杨举伦,王力,等.人工饲养条件下死亡恒河猴肺脏病理改变分析[J].中国比较医学杂志,2011,21(5): 1-4,9. DOI: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.05.001.
- [10] 王宏,陈智岗,张龙,等.猕猴链球菌性大叶性肺炎的诊断与防治[J].黑龙江畜牧兽医,2018(8):181-182,237. DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2017.07.0223.
- [11] 李俊保,侯超鹏,韩笑.猕猴群链球菌和溶血性大肠杆菌混合感染的处置[J].野生动物学报,2020,41(2):439-442. DOI:10.19711/j.cnki.issn2310-1490.2020.02.024.
- [12] 周庭银,章强强.临床微生物学诊断与图解[M].4版.上海:上海科学技术出版社,2017.
- [13] 陈世钰.口腔鼻咽部正常菌群与健康[J].湖北民族学院学报(医学版),2007,24(2):72-73.
- [14] 刘杰,刘维康.一例猪肺炎链球菌病的诊断与防治[J].猪业科学,2017,34(3):73-74.
- [15] 薛锦.羊肺炎链球菌病的防治[J].湖北畜牧兽医,2020,41(8):13-14. DOI:10.16733/j.cnki.issn1007-273x.2020.08.004.
- [16] 商园园.貂源肺炎双球菌和金黄色葡萄球菌的毒力基因检测及其致病性研究[D].泰安:山东农业大学,2019.
- [17] 莫玲.兔肺炎双球菌病的病原分离与培养基优化及其流行病学调查[D].长春:吉林大学,2014.
- [18] Benirschke K, Garner F M, Jones T C. Pathology of laboratory animals[M]. New York: Springer, 1978.
- [19] 傅锦坚,丁燕玲,徐少林,等.中国内地健康儿童鼻咽携带肺炎链球菌及其血清型分布的系统评价[C]//第七届中国临床微生物学大会暨微生物学与免疫学论坛论文集.宁波,2016:255.
- [20] GRABENSTEIN J D, MUSEY L K. Differences in serious clinical outcomes of infection caused by specific pneumococcal serotypes among adults[J]. Vaccine, 2014, 32(21):2399-2405. DOI:10.1016/j.vaccine.2014.02.096.
- [21] AHL J, LITTORIN N, FORSGREN A, et al. High incidence of septic shock caused by Streptococcus pneumoniae serotype 3: a retrospective epidemiological study[J]. BMC Infect Dis, 2013, 13:492. DOI:10.1186/1471-2334-13-492.
- [22] GARCIA-VIDAL C, ARDANUY C, TUBAU F, et al. Pneumococcal pneumonia presenting with septic shock: host- and pathogen-related factors and outcomes[J]. Thorax, 2010, 65(1):77-81. DOI:10.1136/thx.2009.123612.
- [23] 陈文标,朱焱,黄东红,等.2013—2014年泉州地区肺炎链球菌感染的分布及耐药性分析[J].海南医学,2015,26(24):3655-3658.
- [24] 王哲,刘丹,于波心,等.某院肺炎链球菌感染的临床分布及耐药性分析[J].安徽医药,2019,23(6):1250-1253. DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.06.054.

(收稿日期: 2021-02-23 修回日期: 2021-05-31)