

鲟源致病性嗜水气单胞菌 X1 的分离 鉴定与药敏特性研究

李圆圆* 曹海鹏* 何 珊 杨先乐**

(农业部渔业动植物病原库 上海海洋大学 上海 200090)

摘 要: 从患细菌性败血症的西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)的体内分离到一株致病菌株X1, 其对西伯利亚鲟的半数致死浓度(LC₅₀)为 5.62×10^5 CFU/mL, 具有较强毒力; 菌株X1 为革兰氏阴性杆菌, 菌体大小为 $1.0 \mu\text{m} \sim 1.2 \mu\text{m} \times 2.1 \mu\text{m} \sim 2.4 \mu\text{m}$, 周生侧鞭毛, 在兔血琼脂平板上能形成明显的 β -溶血圈, 经ATB细菌鉴定仪鉴定和 16S rDNA序列分析, 菌株X1 为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)(登录号: EU669667); 其系统发育分析表明, 菌株X1 与嗜水气单胞菌ATCC35654(登录号: X74676.1)的亲缘关系最近, 其同源率为 99%。此外, 菌株X1 对先锋必、左氧沙星等 2 种药物高度敏感, 对妥布霉素、氟哌酸、舒普深、卡那霉素、庆大霉素、复达欣、万古霉素、新霉素、多粘菌素B、洛美沙星等 10 种药物中度敏感。

关键词: 西伯利亚鲟, 嗜水气单胞菌, 鉴定, 药敏特性

Isolation and Identification of *Aeromonas hydrophila* Strain X1 from *Acipenser baerii* and Its Antibiotic Sensitivity

LI Yuan-Yuan* CAO Hai-Peng* HE Shan YANG Xian-Le**

(Aquatic Pathogen Collection Center of Ministry of Agriculture, SHOU, Shanghai 200090)

Abstract: A pathogenic bacterial strain X1 was isolated from Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) suffering with bacterial septicemia. The 50% lethal concentration (LC₅₀) of strain X1 was 5.62×10^5 CFU/mL, which showed that strain X1 was rather strong virulent to *Acipenser baerii*. Strain X1 was gram negative and $1.0 \mu\text{m} \sim 1.2 \mu\text{m} \times 2.1 \mu\text{m} \sim 2.4 \mu\text{m}$ in size with peritrichous flagella, and had β -hemolytic activity on rabbit blood agar. By means of ATB expression identification and 16S rDNA sequence analysis, strain X1 was identified as *Aeromonas hydrophila* (locus number: EU669667), which was the closest relative to *Aeromonas hydrophila* strain ATCC35654 (locus number: X74676.1) with 99% homology. In addition, strain X1 was highly sensitive to cefoperazone and cravit, and intermediately sensitive to ten kinds of antibiotics including tobramycin, norfloxacin, sulperazone, kanamycin, gentamycin, fortum, vancomycin, neomycin, polymyxin B and lomefloxacin.

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目(No. 2006BAD03B0506); 上海市优秀青年教师科研专项基金(No. B-8101-08-0017); 上海海洋大学青年科研基金(No. 6690107251)

*共同第一作者

** 通讯作者: Tel: 021-65710870; 信箱: xlyang@shfu.edu.cn

收稿日期: 2008-01-12; 接受日期: 2008-04-25

Keywords: *Acipenser baerii*, *Aeromonas hydrophila*, Identification, Antibiotic sensitivity

西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)隶属于鲟科(Acipenseridae)鲟属(*Acipenser*),是现存 26 种鲟类中的一种,主要分布于俄罗斯西部的鄂毕河至东部的科雷马河之间的西伯利亚各河流之中^[1]。西伯利亚鲟具有生长速度快、适应性强、肉质好、鱼籽品质高等优点,已推广至德国、法国和匈牙利等国进行人工养殖^[2]。西伯利亚鲟自 1996 年首次被中国引进,目前其养殖量仅次于施氏鲟(*Acipenser schrenckii*),居中国鲟鱼养殖产量的第 2 位^[3]。然而,近年来病害的发生已成为鲟鱼养殖业可持续发展的瓶颈。因此,关于鲟鱼病害的分离鉴定及其药敏特性等基础理论研究对鲟鱼病害的有效防治显得尤为重要。2006 年 6 月中旬,我国浙江省千岛湖鲟鱼养殖场的西伯利亚鲟感染了严重的以“肌肉、肾脏、性腺、肠道充血、出血,肝脏有出血点,肛门红肿并伴有血水流出”为主要病症的细菌性败血症,本实验从自然发病的鲟鱼体内分离得到 1 株致病菌 X1,经人工回归感染试验和毒力试验证实该菌株具有较强致病力;在此基础上,在电镜下观察了菌株 X1 的形态,分析了菌株 X1 的生理生化特性,通过对菌株 X1 的 16S rDNA 序列分析构建了系统发育树,采用生理生化鉴定和分子鉴定 2 种手段对该菌株进行了鉴定,并进一步研究了其药敏特性,以期丰富鲟鱼病原生物学特性,为鲟细菌性病害的有效防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 鲟鱼来源

自然患病和健康的西伯利亚鲟,体重 50 g~70 g,体长 13 cm~16 cm,均由浙江省千岛湖鲟鱼养殖基地提供。

1.2 致病菌的分离与鉴定

1.2.1 致病菌的分离:选取具有典型自然发病症状的濒死西伯利亚鲟,用 75% 的酒精棉反复擦拭病鱼体表后,无菌操作取病鱼的肝、肾等病灶组织以及少量腹水,分别于胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)培养基平板上划线分离,于 28℃ 下培养 24 h 后,挑取优势单菌落划线纯化,并接种于 TSA 培养基斜面上,于 4℃ 冰箱保存。

1.2.2 致病菌的人工回归感染试验:用无菌生理盐

水分别刮下斜面保藏的各分离菌株的菌苔,并将其菌悬液浓度稀释为 2.2×10^7 CFU/mL,然后分别对健康的西伯利亚鲟进行胸鳍基部注射感染,每尾注射剂量为 0.2 mL。以注射等量无菌生理盐水的健康西伯利亚鲟作为对照。每注射组实验鱼各 8 尾,水温为 19~22℃。连续 7 d 观察并记录实验鱼的病症及死亡数目,同时对人工回归感染发病濒死的实验鱼进行病原菌再分离,观察再分离的菌株与原分离菌株在形态与理化特性等方面是否一致。

1.2.3 致病菌株毒力测定:将分离的致病菌株菌悬液分别稀释成 2.2×10^4 CFU/mL、 2.2×10^5 CFU/mL、 2.2×10^6 CFU/mL、 2.2×10^7 CFU/mL,然后分别对健康的西伯利亚鲟进行胸鳍基部注射感染,每尾注射剂量为 0.2 mL。以注射等量无菌生理盐水的健康西伯利亚鲟作为对照。每注射组实验鱼各 8 尾,水温为 19~22℃。连续 7 d 观察并记录实验鱼的死亡数目,并用概率单位图解法^[4]计算半数致死浓度(LC₅₀)。

1.2.4 病原菌的鉴定:将分离的致病菌株接种在兔血琼脂平板上,于 28℃ 下培养 24 h,观察有无溶血圈产生;同时将新鲜培养的致病菌株进行革兰氏染色,并用透射电镜对其形态进行观察。此外,用 ATB 细菌鉴定仪对分离的致病菌株进行生理生化鉴定,并测定其 16S rDNA 序列,在 NCBI 中利用 Blastn 软件与 GenBank + EMBL + DDBJ + PDB 基因库中已知的 16S rDNA 序列进行同源性比较,选取同源性较高的序列并利用 BioEdit 7.0 和 Mega 4.0 软件进行多重比较后构建系统发育树。

1.3 致病菌药敏特性的测定

药敏试验采用 KB 纸片扩散法^[4]。即以涂布法接种致病菌株,然后将药敏纸片(购于杭州天和微生物制剂有限公司)贴在培养基上,28℃ 培养 24 h 后,测定抑菌圈直径(mm),根据《现代诊断学手册》标准^[5],判断致病菌株对药物的敏感程度。

2 结果

2.1 致病菌的分离

从自然发病的西伯利亚鲟体内分离到 4 株优势菌株,分别暂命名为 X1、X2、X3、X4,经过人工回归感染试验,仅菌株 X1 对西伯利亚鲟具有致病性,

人工注射感染西伯利亚鲟后 7 d, 西伯利亚鲟的死亡率高达 100%(表 1), 实验病鱼也表现出肛门红肿, 腹部充满血水, 肠道充血、出血等病症, 而且从人工回归感染濒死的病鱼体内又可分离到与菌株X1 形态特征及理化特性一致的菌株。根据建立的实验鱼

死亡率(%)与菌液浓度对数[log(CFU/mL)]的关系曲线： $y=36.25x-158.58$ (图 1), 菌株X1 对西伯利亚鲟的半数致死浓度(LC₅₀)为 5.62×10^5 CFU/mL, 根据 Devesa对鱼类致病菌毒力的划分标准^[6], 可判定菌株X1 对西伯利亚鲟具有较强的毒力。

表 1 人工回归感染结果										
Table 1 Results of artificial infection test of strain X1										
菌株 Strain	注射浓度 Concentration(CFU/mL)	鱼数 Number (尾)	死亡数目 Death number(尾)							死亡率 Mortality(%)
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	
X1	2.2×10^7	8	2	4	6	6	7	8	8	100%
X2	2.2×10^7	8	0	0	0	0	0	0	0	0
X3	2.2×10^7	8	0	0	0	0	0	0	0	0
X4	2.2×10^7	8	0	0	0	0	0	0	0	0

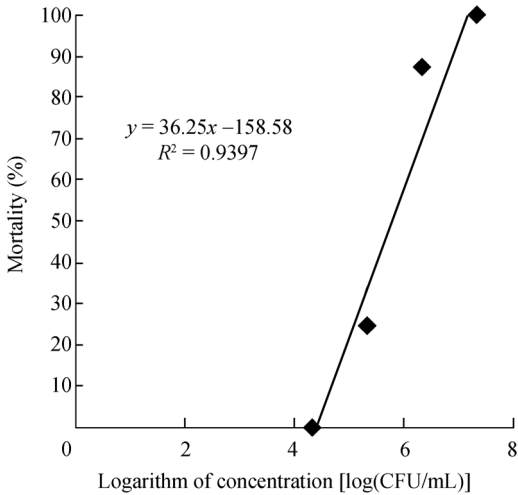


图 1 鲟死亡率(%)与菌液浓度对数 (log (CFU/mL)) 的关系曲线
Fig. 1 The relation curve of sturgeon mortality with logarithm of bacterial concentration

2.2 致病菌的鉴定

菌株X1 为革兰氏阴性杆菌, 大小约为 1.0 μm~1.2 μm×2.1 μm~2.4 μm, 周生侧鞭毛(图 2), 在兔血琼脂平板上可产生明显的β-溶血圈(图 3)。ATB细菌鉴定仪对菌株X1 的生理生化鉴定结果表明(表 2), 菌株X1 为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*), 鉴定结果的可信度为 99%。通过NCBI网站搜索与菌株X1 的 16S rDNA序列同源性高的各种菌的 16S rDNA序列, 结果表明(表 3), 菌株X1 的 16S rDNA序列与GenBank基因库中细菌菌株的同源性比较最为接近的菌株均为气单胞菌属(*Aeromonas*), 构建的系统发育树结果进一步表明(图 4), 菌株X1(登录号: EU669667)与嗜水气单胞菌ATCC35654(登录号: X74676.1)的亲缘关系最近, 其同源性为 99%。综合

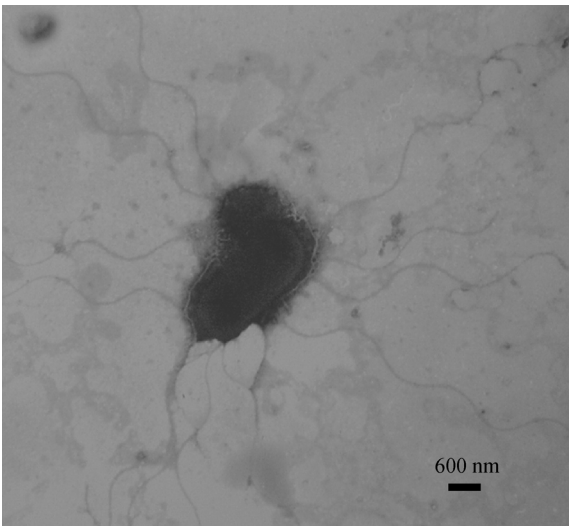


图 2 电镜下菌株 X1 的形态
Fig. 2 The morphological characteristics of strain X1 by electro microscope

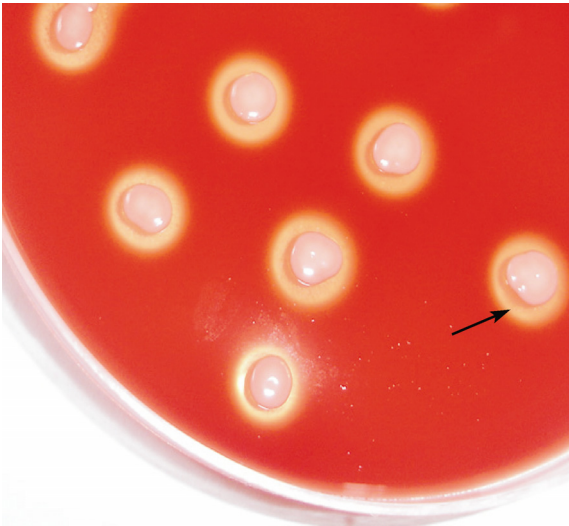


图 3 菌株 X1 在兔血琼脂平板上产生的 β-溶血圈
Fig. 3 The beta hemolysis zone of strain X1 on rabbit-blood agar plate

表 2 ATB 细菌鉴定仪对菌株 X1 的鉴定结果					
Table 2 The identification of strain X1 by ATB bacteria identification instrument					
测定项目 Test item	结果 Result	测定项目 Test item	结果 Result	测定项目 Test item	结果 Result
氧化酶 OX	+	柠檬酸盐 CIT	-	蔗糖 SAC	+
D-葡萄糖 GLU	+	组氨酸 His	+	麦芽糖 MAL	+
水杨素 SAL	+	2-酮葡萄糖酸盐 2 kg	-	衣康酸 ITA	-
D-蜜二糖 MEL	-	3-羟基-丁酸盐 30BU	-	辛二酸盐 SUB	-
L-岩藻糖 FUC	-	5-酮基-葡萄糖酸盐 5 kg	-	丙二酸盐 MNT	-
D-山梨醇 SOR	-	3-羟基-苯甲酸盐 30BU	-	乙酸盐 ACE	-
L-阿拉伯糖 ARA	+	鼠李糖 RHA	+	DL-乳酸盐 LAT	+
丙酸盐 PROP	-	N-乙酰葡萄糖胺 NAG	+	L-丙氨酸 Ala	+
癸酸盐 CAP	-	L-脯氨酸 Pro	+	糖原 GLYG	+
戊酸盐 VALT	+	肌醇 INO	-		
甘露醇 MAN	+	L-丝氨酸 Ser	+		

注：+：表示阳性；-：表示阴性
Note: +: Denotes positivity; -: Denotes negativity

表 3 菌株 X1 的 16S rDNA 序列同基因库中细菌菌株同源性的比较				
Table 3 The comparison of 16S rDNA sequence of strain X1 with high homological strains in GenBank				
菌种名称 Species	菌种编号 Strain number	登录号 Locus number	分值 Score	相似 Identity(%)
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC49140	AY987754.1	2579	99
嗜水气单胞菌脱色亚种 <i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. decolorations	-	AY686711.1	2573	99
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	CCM7232	DQ207728.2	2567	99
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	WAB1968	AM184287.1	2567	99
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	T20	AF099022.1	2567	99
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	WAB1877	AM184219.1	2566	99
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC35654	X74676.1	2560	99
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	WAB1943	AM184282.1	2560	99
维隆气单胞菌 <i>Aeromonas veronii</i>	211c	AY987746.1	2556	99
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	WAB1920	AM184260.1	2553	99
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC7966T	X74677.1	2549	99
中间气单胞菌 <i>Aeromonas media</i>	CDC	AY987773.1	2545	99
中间气单胞菌 <i>Aeromonas media</i>	ATCC33907	X60410.1	2543	99
维隆气单胞菌 <i>Aeromonas veronii</i>	HQ010516C	DQ029351.1	2532	99
中间气单胞菌 <i>Aeromonas media</i>	ATCC37907T	X74679.1	2532	99
斑点气单胞菌 <i>Aeromonas punctata</i>	RK27611	AY987760.1	2518	98
斑点气单胞菌 <i>Aeromonas punctata</i>	WAB1928	AM184267.1	2503	98

形态与生理生化特性鉴定以及 16S rDNA 序列分析结果, 菌株 X1 可鉴定为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)。

2.3 致病菌的药敏特性

菌株 X1 对 30 种药物的敏感性实验结果表明(表 4), 菌株 X1 仅对先锋必、左氟沙星等 2 种药物高度敏感, 对妥布霉素、氟哌酸、舒普深、卡那霉素、庆大霉素、复达欣、万古霉素、新霉素、多粘菌素 B、洛美沙星等 10 种药物中度敏感。

3 讨论

目前国内关于鲟鱼细菌性病害的报道不多, 仅

杨治国、储卫华、曹海鹏等先后对俄罗斯鲟、杂交鲟和达氏鳇的败血症进行过报道, 其主要病原为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、豚鼠气单胞菌(*Aeromonas caviae*)以及类志贺邻单胞菌(*Plesiomonas shigelloides*)^[7-9]。但从现有文献资料来看, 国内尚无关于西伯利亚鲟细菌性病害的报道。本实验从患细菌性败血症的西伯利亚鲟体内分离得到 4 株优势菌株, 其中仅菌株 X1 经人工回归感染试验证实其对西伯利亚鲟具有极高的致死率, LC₅₀ 为 5.62 × 10⁵ CFU/mL, 实验鱼发病症状与自然发病症状基本相同, 而且从人工回归感染的病鱼体内再次分离到与原致病菌株 X1 形态特征、理化特性一致

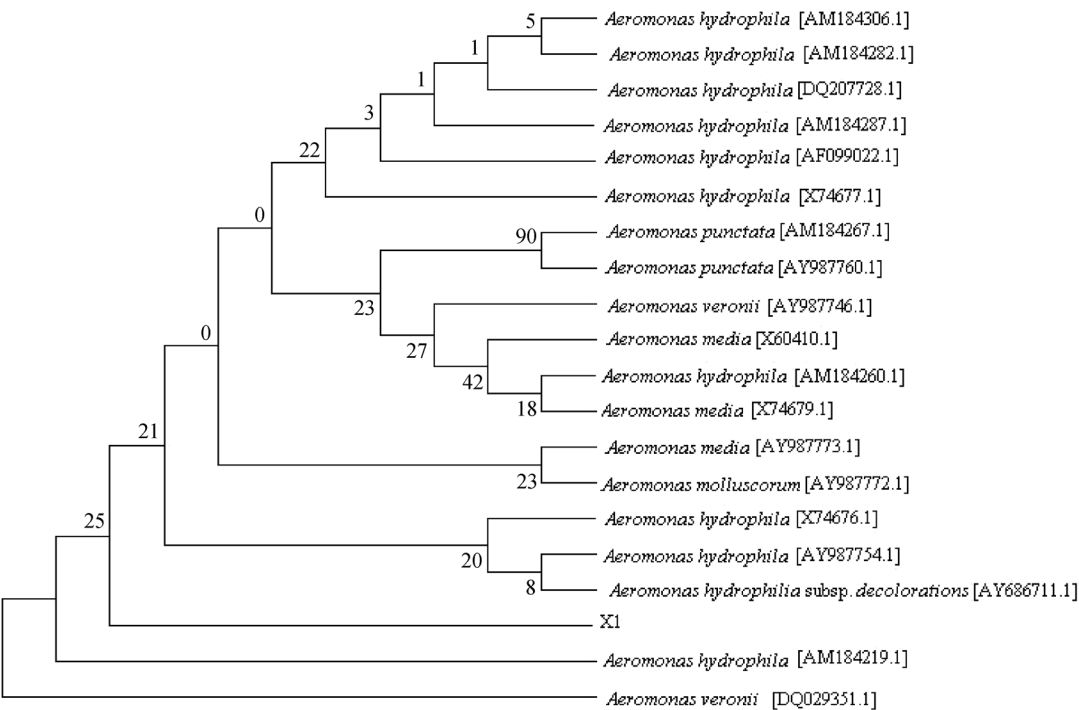


图 4 基于 16S rDNA 序列的系统发育树

Fig. 4 The phylogenetic tree based on 16S rDNA sequence

表 4 菌株 X1 的药物敏感性					
Table 4 The antibiotic sensitivity of strain X1					
药物 Antibiotics	敏感程度 Sensitivity	药物 Antibiotics	敏感程度 Sensitivity	药物 Antibiotics	敏感程度 Sensitivity
妥布霉素 Tobramycin	I	新生霉素 Novobiocin	R	头孢西丁 Cefoxitin	R
头孢呋肟 CXM	R	安灭菌 Augmentin	R	洛美沙星 Lomefloxacin	I
氟哌酸 Norfloxacin	I	复达欣 Fortum	I	氧氟沙星 Ofloxacin	R
舒普深 Sulperazone	I	氧哌嗪青霉素 Avocin	R	头孢拉啶 Cefradine	R
卡那霉素 Kanamycin	I	青霉素 Penicillin	R	先锋噻吩 Cefaran	R
先锋必 Cefoperazone	S	氨苄青霉素 Ampicillin	R	头孢噻吩 Cefalotin	R
庆大霉素 Gentamycin	I	万古霉素 Vancomycin	I	苯唑青霉素 Bactocill	R
壮观霉素 Spectinomycin	R	新霉素 Neomycina	I	羧苄青霉素 Carbenicillin	R
呋喃西林 Furacilin	R	先锋 V Cefalim V	R	头孢孟多 Cefamandole	R
左氟沙星 Cravit	S	多粘菌素 B Polymyxin B	I	特美汀 Timentin	R

注: S: 表示高度敏感($d > 15$ mm); I: 表示中度敏感($10 \text{ mm} \leq d \leq 15 \text{ mm}$); R: 表示低度敏感或不敏感($0 \text{ mm} \leq d < 10 \text{ mm}$)

Note: S: Denotes high sensitivity ($d > 15 \text{ mm}$); I: Denotes moderate sensitivity ($10 \text{ mm} \leq d \leq 15 \text{ mm}$); R: Denotes low or no sensitivity ($0 \text{ mm} \leq d < 10 \text{ mm}$)

的菌株, 由此证实菌株 X1 是该病的致病菌株。菌株 X1 经过形态学和生理生化鉴定以及 16S rDNA 序列分析证实该菌株为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*), 进一步证实了嗜水气单胞菌在鲟鱼人工养殖中的巨大危害性。

嗜水气单胞菌一般单鞭毛, 以极生鞭毛运动^[10], 而本实验分离的嗜水气单胞菌 X1 为周生侧鞭毛, 与杨治国、储卫华等报道的嗜水气单胞菌分离株有明

显不同^[7,8], 是国内具有周生侧鞭毛的鲟源嗜水气单胞菌的首次报道。侧生鞭毛的形成, 可能与嗜水气单胞菌的*flhA*、*lafK*、*fliL*、*flgN*、*flgE*和*maf-5*等基因有关^[11]。Gavin 等研究表明, 嗜水气单胞菌侧生鞭毛能够增强细菌的粘附能力, 是其群体运动和生物膜形成所必需的^[12], 这与本实验分离的嗜水气单胞菌 X1 具有较强毒力的结果是一致的。

目前在细菌分类鉴定方法上, 基于细菌生理生

化特性的ATB细菌鉴定系统操作方便, 结果准确, 但数据库中模式菌种数量有限, 部分细菌只能鉴定到属, 对革兰氏阳性菌和厌氧菌的鉴定效果较差; 而分子遗传学鉴定虽然可从本质上阐述细菌间的亲缘关系, 但专业性强, 鉴定时间长^[13]。因此, 本实验在菌株X1 的分类鉴定时, 将生理生化特性测定与16S rDNA序列分析鉴定相结合, 使鉴定方法更科学, 鉴定结果更可靠、更准确。但本实验发现, 嗜水气单胞菌X1 与沈锦玉等分离的嗜水气单胞菌TS6-2 以及张晓君等分离的嗜水气单胞菌菌株在鼠李糖等生化特性方面有所差异^[14,15]。出现这些差异, 可能是由于从不同地区和寄主体内分离到的菌株由于地区、气候、水质条件及实验室培养条件等方面的不同而产生的^[16]。

本实验结果表明, 嗜水气单胞菌X1 对先锋必、左氟沙星等 2 种药物高度敏感, 对氟哌酸、卡那霉素、庆大霉素、新霉素、多粘菌素B、洛美沙星等 10 种药物中度敏感, 这与储卫华等从患细菌性败血症的俄罗斯鲟和杂交鲟体内分离到的嗜水气单胞菌XY-1 的药敏特性有所不同^[8], 与沈锦玉等分离的嗜水气单胞菌TS6-2、张晓君等分离的 5 株嗜水气单胞菌的药敏特性也不尽相同^[14,15]。产生这些药敏特性差异的原因可能是由于不同地方、不同环境中的菌株因接触不同的药物环境影响而产生耐药性变异^[17]。此外, 本实验选取的药物并非均可用于生产, 在本实验中仅用于分析嗜水气单胞菌X1 的药敏特性, 从嗜水气单胞菌X1 的药敏实验结果来看, 嗜水气单胞菌X1 对新生霉素、青霉素等水产常见抗生素已产生较强的耐药性, 这警示养殖者在鲟鱼养殖过程中要慎重使用渔用抗生素, 尽量防止细菌耐药性的产生与加重。

参 考 文 献

- [1] Ruban GI. Species structure, contemporary distribution and status of the siberian sturgeon *Acipenser baerii*. *Environ Biol Fishes*, 1997, **48**: 221–230.
- [2] Bronzi P, Rosenthal H, Arlati G, *et al.* A brief overview on the status and prospects of sturgeon farming in Western and Central Europe. *J Appl Ichthyol*, 1999, **15**: 224–227.
- [3] 曲秋芝, 高艳丽. 西伯利亚鲟的人工繁殖. *中国水产科学*, 2005, **12**(4): 492–495.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈 修. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 2002, pp. 1651–1654.
- [5] 王淑娟. 现代诊断学手册. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1995, pp. 511–522.
- [6] Devesa S. First report of vibriosis in turbot (*Scophthalmus maximus*) cultured in Northwestern Spain: fish and shellfish pathology. New York: Academic press, 1985, pp. 131–140.
- [7] 杨治国. 鲟鱼嗜水气单胞菌的分离. *淡水渔业*, 2001, **31**(5): 40–41.
- [8] 储卫华, 于 勇. 鲟鱼嗜水气单胞菌的分离与鉴定. *淡水渔业*, 2003, **33**(2): 16–17.
- [9] 曹海鹏, 杨先乐, 高 鹏, 等. 鲟细菌性败血症致病菌的初步研究. *淡水渔业*, 2007, **37**(2): 53–56.
- [10] 布坎南, 吉本斯. 伯杰细菌鉴定手册. 北京: 科学出版社, 1984, pp.482–486.
- [11] Canals R, Altarriba M, Vilches S, *et al.* Analysis of the lateral flagellar gene system of *Aeromonas hydrophila* AH-3. *Journal of Bacteriology*, 2006, **188**(3): 852–862.
- [12] Gavin R, Rabaan AA, Merino S, *et al.* Lateral flagella of *Aeromonas* species are essential for epithelial cell adherence and biofilm formation. *Mol Microbiol*, 2002, **43**: 383–397.
- [13] 李 琳, 李瑾年, 余为一. 细菌分类鉴定方法的研究概况. *安徽农业科学*, 2004, **32**(3): 549–551.
- [14] 沈锦玉, 潘晓艺, 余旭平, 等. 中华鲟白底板病原的分析. *中国水产科学*, 2007, **14**(5): 815–822.
- [15] 张晓君, 陈翠珍, 房 海. 草鱼肠炎嗜水气单胞菌分离株的主要特性及系统发育学分析. *中国人兽共患病学报*, 2006, **22**(4): 334–337.
- [16] 李小波, 黄文芳. 丰产鲫细菌性败血症的研究 I-病原分离与鉴定. *微生物学通报*, 2003, **30**(5): 56–61.
- [17] 李爱华, 蔡桃珍, 吴玉深, 等. 我国鱼类病原—嗜水气单胞的耐药性研究. *微生物学报*, 2001, **28**(1): 58–63.