

中华鲟源维氏气单胞菌的分离鉴定及其药敏特性

田甜^{1,2}, 张建明^{1,2}, 杜合军^{1,2}

(1. 中国长江三峡集团公司中华鲟研究所, 宜昌 443100; 2. 三峡工程鱼类资源保护湖北省重点实验室, 宜昌 443100)

摘要: 以自然患细菌性败血症的子二代中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 幼鱼为研究对象, 无菌操作从濒死病鲟体内分离到 1 株致病菌 (zhx20120301)。结合传统细菌学鉴定及分子生物学鉴定方法, 对其形态、生理生化特性、16S rDNA 序列及系统发育分析等方面进行研究, 研究结果显示这株细菌为维氏气单胞菌 (*Aeromonas veronii*)。回归感染试验证实分离菌株具有较强的致病性, 能导致健康杂交鲟 (西伯利亚鲟 *Acipenser baerii* ♂ × 施氏鲟 *Acipenser schrenckii* ♀) 死亡, 并呈现与自然条件下相似的临床症状, 且再分离菌株各种生理生化特性与原分离菌株相同。药敏试验结果表明该菌株对头孢氨苄、头孢唑啉、庆大霉素、四环素、强力霉素、氟苯尼考、多粘霉素 B、恩诺沙星、氟哌酸和左氧氟沙星敏感。

关键词: 中华鲟; 幼鱼; 细菌性败血症; 维氏气单胞菌; 致病性; 药敏试验

中图分类号: S941.42

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)06-1010-07

Isolation and identification of *Aeromonas veronii* from Chinese sturgeon and its antibiotic sensitivity

TIAN Tian^{1,2}, ZHANG Jianming^{1,2}, DU Hejun^{1,2}

(1. Institute of Chinese Sturgeon Research, China Three Gorges Project Corporation, Yichang 443100;

2. Hubei Key Laboratory of Three Gorges Project for Conservation of Fishes, Yichang 443100)

Abstract: A pathogenic bacterium (zhx20120301) was isolated from Chinese sturgeon F2 juvenile with bacterial septicemia. Morphologic structure, physiological and biochemical tests, PCR amplification of 16S rDNA and phylogenetic analysis were used to determine the pathogen. The results showed that the isolate was identified as *Aeromonas veronii*. The strain zhx20120301 was isolated from Chinese sturgeon with typical syndrome and was proved to be pathogen by artificial challenge. The physiological and biochemical characteristics of the isolate were the same as those of the original isolate. An antibiotic sensitivity analysis indicated that the organism was sensitive to cephalexin, cefazolin, gentamycin, tetracycline, doxycycline, florfenicol, polymyxin B, enrofloxacin, norfloxacin and levofloxacin.

Key words: Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*); juvenile fish; bacterial septicemia; *Aeromonas veronii*; pathogenicity; antibiotic sensitivity analysis

中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 隶属于硬骨鱼纲 (Osteichthyes)、辐鳍亚纲 (Actinopterygii)、鲟形目 (Acipenseriformes), 是世界上鲟形目鱼类中分布纬度最南、长江鲟形目鱼类中唯一秋季产卵的种类。1988 年中国《野生动物保护法》和 1989 年《野生动物保护名录》将中华鲟列为国家一级重点保护动物。自 20 世纪 80 年代以来, 我国先后采取了就地保护、迁地保护、人工增殖放流和全人工繁殖等

技术措施对中华鲟群体进行积极保护和保护技术的探索。自 1984 年以来中国长江三峡集团公司中华鲟研究所已累计先后向长江流域放流各种规格中华鲟 500 余万尾, 并于 2009 年首次实现了中华鲟全人工繁殖, 使中华鲟的资源保护工作再次取得重大技术突破。

随着鲟鱼养殖业的迅猛发展, 病害问题也日趋增多, 目前已报道鲟形目鱼类的病害约 20 余种^[1-2]。

收稿日期: 2017-02-23

基金项目: 中国长江三峡集团公司项目 (项目编号 Z1102) 和国家自然科学基金面上项目 (31372537) 共同资助。

作者简介: 田甜, 工程师。E-mail: cocotian1234@126.com

其中, 中华鲟病害有烂鳃病、出血病、水霉病、肠炎病、车轮虫病和腹水病等^[3-6]。本研究对近年来中华鲟养殖过程中的常见病——细菌性败血症的病原体进行研究, 首次从中华鲟体内分离到维氏气单胞菌, 旨在填补中华鲟养殖的病害防治内容, 完善中华鲟养殖的病害防治体系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

患病子二代中华鲟幼鱼采自中华鲟研究所黄柏河基地, 健康杂交鲟购于湖北省宜昌市某杂交鲟养殖场。脑心浸液培养基 (BHI) 购自美国 BD 公司; 基因组 DNA 提取试剂盒购自上海生工生物工程有限公司; 水解酪蛋白琼脂培养基 (MH)、琼脂、多种微量生化反应管、多种药敏纸片购自杭州微生物试剂有限公司。

1.2 病鲟来源及症状观察

2012 年 3 月, 中华鲟研究所子二代中华鲟幼鱼陆续出现少量死亡, 取发病濒死的幼鲟进行观察, 并剖检典型症状的病鲟, 记录其病理变化。

1.3 病原菌分离及纯化

选取具有典型症状的濒死病鲟, 用 75% 酒精棉球擦拭消毒鱼体后, 在无菌操作条件下取肝脏、脾

脏、肾脏和腹水分别接种于脑心浸液琼脂 (BHIA) 平板上划线分离细菌。将平板置于 28℃ 恒温培养箱中培养 24 h, 待长出菌落后, 挑选优势菌株进一步纯化。

1.4 病原菌的形态观察

将分离纯化后的细菌接种于 BHIA 平板, 28℃ 恒温培养 24 h 后观察菌落形态。随后, 挑取菌落进行革兰氏染色, 于显微镜油镜下 (1 000×) 观察菌体形态和染色特征。

1.5 病原菌的人工感染试验

选择体质健壮、体表无伤且游动活泼的杂交鲟 (西伯利亚鲟 *Acipenser baerii* ♂ × 施氏鲟 *Acipenser schrenckii* ♀) 作为试验鱼 (平均体重 8.5 g)。试验分为试验组和对照组, 每组 2 个重复。在容积为 500 L 的圆形塑料桶中各组随机放养 10 尾试验鱼, 流水充气饲养, 水温 (25±1)℃, 早、晚各投喂 1 次配合饲料。试验鱼经 7 d 暂养后, 采用注射方式进行人工感染。试验组的每尾杂交鲟注射接种 0.2 mL 活菌液 (浓度为 1.0×10^8 CFU·mL⁻¹), 对照组的每尾杂交鲟注射接种相同剂量的无菌生理盐水。人工感染后连续观察 7 d, 记录试验鱼的发病症状及死亡情况, 并对死亡的杂交鲟进行解剖和病原菌的再分离, 验证其死亡是否由人工感染菌株引起。

表 1 16S rDNA 序列及其来源细菌

Table 1 16S rDNA sequences used in the present study with their derived bacteria and hosts

细菌种类 Bacterium type	菌株编号 Strain number	GenBank 登录号 GenBank accession number
维氏气单胞菌 <i>Aeromonas veronii</i>	DCH-1	KC166864
	CG1	KF561994
	JY-01	JN083778
	08001	FJ494902
	HL-9	KF413415
	WX153415	KT964297
	HT13	KF285586
	SJ-2	GU294303
	ATCC 35624	X74684
嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	KY0513	AB472956
	A-X17A	KJ806437
温和气单胞菌 <i>Aeromonas sobria</i>	MTJW-9	KM516017
	hs-1	FJ461353
杀鲑气单胞菌 <i>Aeromonas salmonicida</i>	ATCC 33658	KC24477
迟缓爱德华菌 <i>Edwardsiella tarda</i>	WX37	EU259316
链球菌 <i>Atreptococcus iniate</i>	ATCC 29178	NR025148

注: 表内信息来源于 GenBank。Note: the information in the table comes from GenBank.

1.6 病原菌的生理生化鉴定

参照文献 [7-8] 的方法对分离纯化后菌株

(zhx20120301) 和攻毒试验再分离菌株 (nzhx20120831) 进行生理生化特性鉴定。

1.7 病原菌 16S rDNA 序列测定和系统发育树分析

将细菌培养物按照细菌基因组 DNA 提取试剂盒方法提取菌体 DNA 作为 PCR 模版。采用细菌的通用引物 27f: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 1492r: 5'-ACGGCTACCTGTTACGACTT-3', 按照刘港彪等^[9]的方法进行 PCR 扩增。PCR 扩增产物送上海生工进行基因序列测序。测序结果通过 NCBI 的 blast 检索系统进行序列同源性分析, 找出相似性较高的气单胞菌作为内群, 另选迟缓爱德华菌 (*Edwardsiella tarda*) 和链球菌 (*Streptococcus iniae*) 作为外群 (具体比对菌种信息见表 1)。运用 MEGA4.0 软件构建系统进化树。

1.8 药敏试验

药敏试验是根据全国临床实验室标准委员会 (national committee for clinical laboratory standards, NCCLS) 推荐的 K-B 琼脂纸片扩散法进行。将分离菌株接种于 MH 平板, 28℃ 恒温培养 24 h, 用无菌生理盐水洗下菌苔, 并将菌液浓度调至 1.0×10^8 CFU·mL⁻¹。在无菌条件下采用涂布法接种, 用无菌镊子将待测药敏纸片紧贴于培养基上, 每个培养基 4 片, 每种药物 2 片, 28℃ 恒温培养 24 h 后, 记录各药敏纸片的抑菌直径 (mm)。根据 NCCLS 推荐的标准和药敏纸片厂家推荐的抑菌范围解释标准判定结果。

2 结果与分析

2.1 病鲟的临床症状与剖检变化

发病子二代中华鲟幼鱼全长 9~13 cm, 平均全长 11.3 cm, 体重 3.6~7.8 g, 平均体重 5.9 g。病鲟主要临床症状表现为游动缓慢、食欲差且反应迟钝, 体表口四周、眼眶、鳍条及侧骨板充血, 肛门红肿, 部分病鲟胸鳍出现蛀鳍现象; 解剖见体腔内存在红色腹水, 肝脏充血, 肠道充血, 肠道弹性差 (见图 1)。

2.2 病原菌的形态染色特征

从患病的子二代中华鲟幼鱼体内经分离纯化后获得形态特征相一致的菌株, 命名为 zhx20120301。其在 BHIA 平板上形成表面光滑、湿润、圆形、中央微隆起、且边缘整齐无色菌落 (见图 2A)。革兰氏染色结果显示为革兰氏阴性短杆菌, 两端钝圆, 单个或成双存在 (见图 2B)。

2.3 菌株的致病力

分离菌株对健康杂交鲟进行人工感染试验结果显示其可以导致试验鱼 24 h 内开始出现死亡, 5 d 内 100% 死亡, 而对照组在试验期间无死亡现象。试验组鱼体呈急性发病, 临床症状与自然发病症状相似,

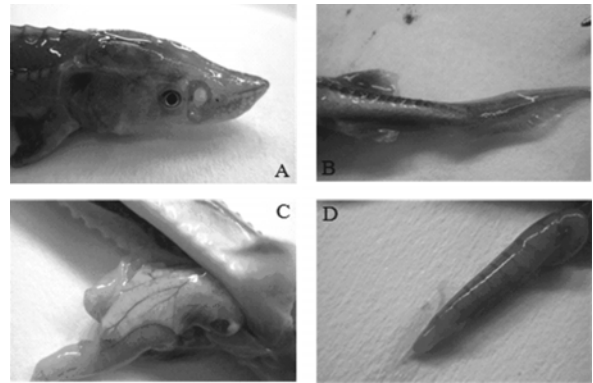


图 1 病鲟的外观与剖检变化
A. 眼眶充血 Hemorrhage in the eyes; B. 鳍条及侧骨板充血 Hemorrhage in the fins and lateral bone plates; C. 肝脏充血 Hemorrhage in the liver; D. 肠道充血 Hemorrhage in the intestines

Figure 1 Appearance and necropsy lesions of disease Chinese sturgeon

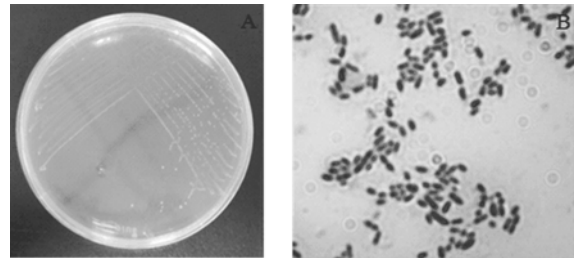


图 2 病原菌的形态染色特征
A. 分离菌株 BHIA 纯化平板结果 The morphological characteristics of isolated strain on BHIA plate; B. 分离菌株革兰氏染色结果 Gram's stain and microscopic observation of isolated strain

Figure 2 Morphological characterization of the pathogenic bacteria strain

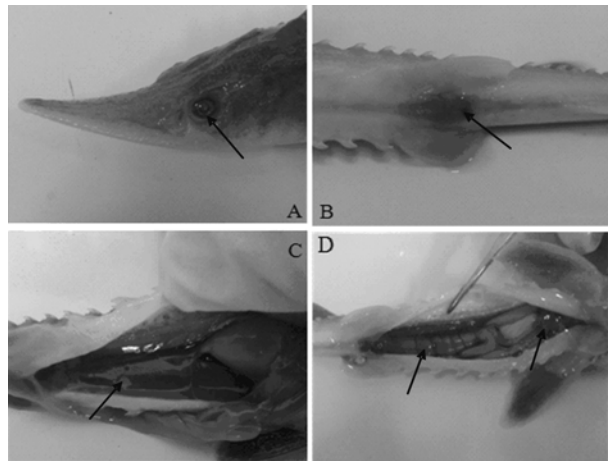


图 3 人工感染试验杂交鲟的外观及剖检变化
A. 眼眶充血 Hemorrhage in the eyes; B. 肛门红肿 Anus become red and turgescence; C. 腹腔内膜充血 Abdominal cavity congestion; D. 肠道和肝脏充血 Hemorrhage in the liver and intestines

Figure 3 Appearance and necropsy lesions of the artificial infected hybrid sturgeon (*Acipenser baerii* ♂ × *Acipenser schrenckii* ♀)

主要表现为眼眶充血发红, 肛门红肿, 鳍条基部充血, 剖检可见腹腔内充盈红色腹水, 肝脏、肠道充血 (见图 3)。

2.4 生理生化特征

分离菌株 zhx20120301 和再分离菌株 nzhx20120831 的生理生化特性归纳为表 2。如表 2 所示, 2 个菌株的生理生化特性与维氏气单胞菌的生理生化特性相一致, 初步鉴定为维氏气单胞菌。

2.5 16S rDNA 扩增结果及系统发育分析

以菌株 zhx20120301 为模板, 用细菌通用引物进行扩增, 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 最终

扩增出片段大小为 1 500 bp 左右的 PCR 产物。PCR 产物送上海生工测序, 得到序列长度为 1 444 bp, 并将此序列提交到 GenBank (No. KU991805)。对此序列进行 Blast 比对分析, 显示菌株 zhx20120301 的 16S rDNA 序列与 GenBank 中多株维氏气单胞菌分离菌株相应序列的同源性高达 99% (见图 4)。在系统发育树上分离菌株 zhx20120301 明显同爱德华菌和链球菌分开, 而与气单胞菌属聚为一个类群, 且与多株维氏气单胞菌聚为一簇, 即从分子水平上进一步证实为 zhx20120301 分离菌株为维氏气单胞菌 (*A. veronii*)。

表 2 分离菌株的生理生化特性

Table 2 Physiological and biochemical characterization of the isolated strains

项目 Items	菌株 Strains		
	zhx20120301	nzhx20120831	<i>A. veronii</i>
氧化酶 Oxidase	+	+	+
运动性 Motility	+	+	+
V-P 试验 Voges-Proskauer	+	+	+
吲哚 Indole production	+	+	+
KCN 生长 KCN growth	-	-	d
苯丙氨酸脱氨酶 Phenylalanine deaminase	-	-	(+)
赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase	+	+	+
精氨酸双水解酶 Arginine dihydrolase	-	-	-
D-葡萄糖产酸 D-glucose(acid)	+	+	+
D-葡萄糖产气 D-glucose(gas)	+	+	+
D-甘露醇 D-mannitol	+	+	+
D-甘露糖 D-mannose	+	+	+
L-阿拉伯糖 L-arabinose	-	-	-
麦芽糖 Maltose	+	+	+
纤维二糖 Cellobiose	-	-	(-)
木糖 Xylose	-	-	-
棉籽糖 Raffinose	-	-	-
鼠李糖 Rhamonse	-	-	-
海藻糖 Trehalose	+	+	+
水杨苷 Salicin	+	+	+
山梨醇 Sorbitol	-	-	-
脲素水解 Urea hydrolysis	-	-	-
明胶水解 Gelatin hydrolysis	+	+	(+)
七叶灵水解 Esculin hydrolysis	+	+	+
脂酶 Lipase	+	+	+
乙酸盐利用 Acetate utilization	+	+	(+)

注: “+”: 所有的种皆阳性 All positive; “(+)”: 多数种阳性 Most positive; “-”: 所有的种皆阴性 All negative; “(-)”: 多数种阴性 Most negative; “d”: 有的种阳性, 有的种阴性 Some positive, some negative.

2.6 药敏试验结果

分离菌株对 20 种常用抗菌药物的药敏试验结果 (见表 3) 表明, 该菌株对头孢氨苄、头孢唑啉、

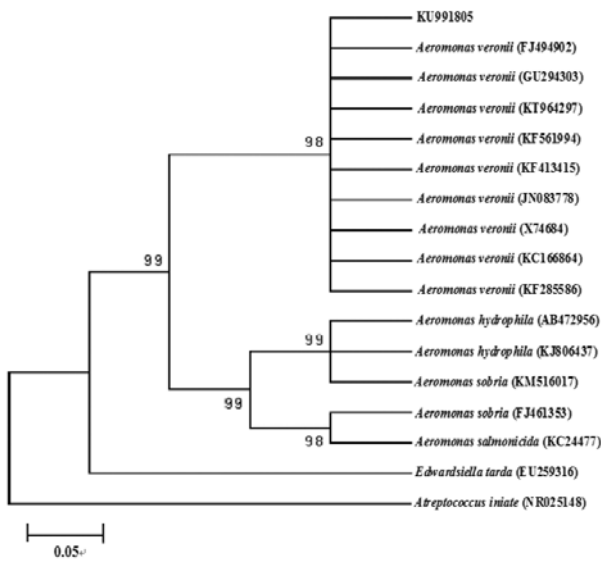
庆大霉素、四环素、强力霉素、氟苯尼考、多粘霉素 B、恩诺沙星、氟哌酸、左氧氟沙星敏感, 对新霉素中介, 对青霉素、氨苄青霉素、链霉素、卡那

霉素、麦迪霉素、乙酰螺旋霉素、复方新诺明、利福平和磺胺异恶唑显示耐药性。

3 讨论

维氏气单胞菌 (*Aeromonas veronii*) 又称为维罗纳气单胞菌、维隆气单胞菌和凡隆气单胞菌, 其隶属于气单胞菌科 (*Aeromonadaceae*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*)。该菌于 1983 年由美国疾病控制中心 (CDC) 从腹泻和伤口感染的病人中分离出来, 最终确定为气单胞菌属的一个新种, 为纪念法国微生物学家 Veron 而命名为维氏气单胞菌^[10]。该菌广泛分布于自然界中, 普遍存在于淡水、海洋、土壤和淤泥等环境中, 已被证实是一种人鱼共患病的致病菌, 除可引起人类腹泻、脑膜炎、心内膜炎等疾病外^[11-15], 还可导致斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)、黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)、罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)、团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)、乌鳢 (*Channa argus*) 和鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 等多种水产养殖动物患病^[16-22]。

本研究从自然患败血症的子二代中华鲟幼鱼体内分离纯化得到菌株 zhx20120301。传统细菌学鉴定结果显示分离菌株为革兰氏阴性短杆菌, 在 BHIA 平板上表现为表面光滑、湿润、圆形、中央微隆起且边缘整齐的奶白色菌落, 氧化酶阳性, 运



FJ494902-NR025148 为菌株在 GenBank 的登录号; 分支点上的数字为自举值

FJ494902-NR025148 were database accession numbers in GenBank. The number at each branch points is the bootstrap value

图 4 菌株 zhx20120301 16S rDNA 系统发育进化树

Figure 4 Phylogentic tree based on 16S rDNA sequence of zhx20120301

表 3 分离菌株 zhx20120301 对常用抗生素的敏感性分析

Table 3 The sensitivity of isolated strain zhx20120301 to antibiotics

抗生素 Antibiotics	含量 (IU 或 $\mu\text{g}\cdot\text{片}^{-1}$) Content	抑菌圈直径/mm Diametet	敏感性 Sensitivity
青霉素 Penicillin	10	0	R
氨苄青霉素 Ampicillin	10	0	R
头孢氨苄 Cephalexin	30	18	S
头孢唑啉 Cefazolin	30	20	S
链霉素 Streptomycin	10	9	R
庆大霉素 Gentamycin	10	16	S
新霉素 Neomycin	30	13	I
卡那霉素 Kanamycin	30	12	R
四环素 Tetracycline	30	30	S
强力霉素 Doxycycline	30	32	S
麦迪霉素 Midecamycin	30	0	R
乙酰螺旋霉素 Acetylspiramycin	30	0	R
磺胺异恶唑 Sulfisoxazole	300	10	R
复方新诺明 Compound Sulfamethoxazole	1.25/23.75	0	R
恩诺沙星 Enrofloxacin	5	24	S
氟哌酸 Norfloxacin	10	28	S
左氧氟沙星 Levxifloxacin	5	29	S
利福平 Rifampicin	5	12	R
氟苯尼考 Florfenicol	75	34	S
多粘霉素 B Polymyxin B	30	16	S

注: R: 耐药 Resistant; I: 中介 Intermediate; S: 敏感 Sensitive.

动性阳性, 葡萄糖产酸产气等一系列生理生化特性符合维氏气单胞菌特征。分子生物学鉴定方法从分子水平上证实分离菌株 16S rDNA 序列与 GenBank 中多株维氏气单胞菌分离菌株相应序列的同源性高达 99%, 系统发育分析显示其与气单胞菌属聚为一个类群, 且与多株维氏气单胞菌聚为一簇, 最终鉴定该菌为维氏气单胞菌。经回归感染表现出较强的致病力, 可导致健康杂交鲟发生以出血为主要症状的败血症。疾病呈急性发作, 临床症状与自然发病症状相似, 并从发病的试验鱼体内分离到大量形态单一的优势菌株, 经纯化后得到的再分离菌株 nzhx20120831 各种生理生化特性与原分离菌株 zhx20120301 相同。这证明分离菌株 zhx20120301 是导致子二代中华鲟幼鱼患细菌性败血症的病原菌, 此前未见该菌对中华鲟致病的相关报道, 这是首次从中华鲟体内分离到该菌。

本次分离到的维氏气单胞菌 zhx20120301 导致子二代中华鲟呈现以出血为主的临床症状, 这与斑点叉尾鮰^[16]、异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*)^[23]、黄颡鱼^[18]、黄鳝 (*Monopterus albus*)^[24]和框镜鲤 (*Cyprinus carpio*)^[25]等水生动物所表现的临床症状相似, 但与华鲮感染后表现的尾鳍溃烂和骨骼外露 (*Sinilabeo rendahl*) 症状^[26]、泥鳅患病后呈现的体表溃疡现象 (*Misgurnus anguillicaudatu*)^[27]、西伯利亚鲟出现的鳃丝苍白、皮肤脱落、花肝及心脏肿大临床症状^[28]有所差异。笔者认为这可能与菌株的致病性和养殖品种的易感性有关。即可能出现同种病原菌导致不同养殖品种患不同种类疾病, 也可出现不同致病菌使得不同水生动物患同种疾病。目前常见温和气单胞菌 (*Aeromonas sobria*)^[29]、嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)^[29-32]、豚鼠气单胞菌 (*Aeromonas punctate caviae*)^[33-34]、类志贺邻单胞菌 (*Plesiomonas shigelloides*)^[34]引起养殖鱼类细菌性败血症的报道。本研究表明维氏气单胞菌也可引起中华鲟鱼体出现以出血为主要特征的细菌性败血症。药敏结果显示分离菌株 zhx20120301 对青霉素类、大环内酯类和磺胺类耐药, 对氨基糖苷类部分耐药, 对四环素类和喹诺酮类等药物敏感。这可能与部分学者所报道的结果不尽相同, 因为细菌种类、养殖环境、养殖品种、养殖方式以及用药情况不同, 从而导致细菌对部分抗菌药物的敏感性存在差异。故今后在此病的防治过程中最好从患病动物体内分离细菌, 并及时开展药敏试验, 根据药敏试验结果, 结合药物吸收利用特性, 选择敏感度高吸收率强的药物以适宜的给药方式进行安全用药。

参考文献:

- [1] 田甜, 杨元金, 王京树, 等. 鲟鱼病害研究进展[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(3): 559-563.
- [2] 张德志, 王军红. 鲟鱼养殖中的疾病防治研究[J]. 水产科技情报, 2009, 36(1): 14-17.
- [3] 陈弟伟, 潘连德, 刘健, 等. 中华鲟烂鳃并发胃充气病的组织病理观察[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(3): 352-357.
- [4] 潘连德, 刘健, 陈锦辉, 等. 中华鲟细菌性烂鳃病和胃充气并发症的临床诊断和控制[J]. 水产科技情报, 2008, 35(5): 258-260.
- [5] 潘连德, 刘健, 陈锦辉, 等. 中华鲟主要病害临床诊断及控制技术[J]. 渔业现代化, 2009, 36(6): 29-33.
- [6] 张书环, 聂品, 舒少武, 等. 子二代中华鲟分枝杆菌感染及血液生理生化指标的变化[J]. 中国水产科学, 2017, 24(1): 136-145.
- [7] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 北京科学出版社, 2001.
- [8] KRIEG N R, HOIT J G. Bergey's manual of systematic bacteriology [M]. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins Company, 1994: 516-548.
- [9] 刘港彪, 王利, 王吉坤, 等. 齐口裂腹鱼维氏气单胞菌 16SrDNA 序列分析[J]. 水生态学杂志, 2012, 33(1): 92-96.
- [10] HICKMAN F W, MACDONALD K L, STEIGERWALT A G, et al. *Aeromonas veronii*, a new ornithine decarboxylase-positive species that may cause diarrhea [J]. J Clin Microbiol, 1987, 25(5): 900-906.
- [11] WU C J, WU J J, YAN J J, et al. Clinical significance and distribution of putative virulence markers of 116 consecutive clinical *Aeromonas* isolates in Southern Taiwan [J]. J Infection, 2007, 54(2): 151-158.
- [12] LAMY B, LAURENT F, VERDIER I, et al. Accuracy of 6 commercial systems for identifying clinical *Aeromonas* isolates [J]. Diagn Microb Infect Dis, 2010, 67(1): 9-14.
- [13] GRBNER S, BISSINGER A L, RAIBLE A, et al. Severe diarrhea caused by *Aeromonas veronii* biovar *sobria* in a patient with metastasized GIST [J]. Pol J Microbiol, 2007, 56(4): 277-279.
- [14] CUI H, HAO S, AROUS E. A distinct cause of necrotizing fasciitis: *Aeromonas veronii* biovar *sobria* [J]. Surg Infect, 2007, 8(5): 523-528.
- [15] SHIINA Y, II K, IWANAGA M. An *Aeromonas veronii* biovar *sobria* infection with disseminated intravascular gas production [J]. J Infect Chemother, 2004, 10(1): 37-41.
- [16] 赵敏, 汪开毓, 王均, 等. 斑点叉尾鮰源维氏气单胞菌对四环素类抗生素的耐药性及耐药基因的检测[J]. 水生生物学报, 2014, 38(2): 386-392.
- [17] MOHAMED N, KIDON S, SAEED A, et al. Biochemical and molecular characterization of tetracycline-resistant *Aeromonas veronii* isolates from catfish [J]. Appl Environ Microb, 2006, 72(10): 6461-6466.
- [18] 朱成科, 向桢, 叶华, 等. 黄颡鱼致病性维氏气单胞菌的分离鉴定[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2013,

- 35(5): 37-42.
- [19] 黎炯, 叶星, 卢迈新, 等. 罗非鱼维氏气单胞菌的分离鉴定和药敏试验[J]. 水生态学杂志, 2011, 32(3): 132-136.
- [20] 周光, 谢骏, 周群兰, 等. 团头鲂养殖池塘维氏气单胞菌的致病性耐药性及在不同生态位间的差异[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(5): 192-196.
- [21] 康元环, 孟庆峰, 夏京津, 等. 乌鳢致病性维氏气单胞菌的分离鉴定及生物学特性研究[J]. 动物医学进展, 2014, 35(5): 40-43.
- [22] 杨求华, 郭松林, 关瑞章, 等. 鳊鲂病原性维氏气单胞菌的分离与鉴定[J]. 生物技术通报, 2012(7): 134-139.
- [23] 夏飞, 梁利国, 谢骏. 异育银鲫病原维氏气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 淡水渔业, 2012, 42(5): 22-26.
- [24] 陈红莲, 江河, 胡王, 等. 黄鳝病原性维氏气单胞菌温和生物变种的分离与鉴定[J]. 生物技术通报, 2014(3): 37-42.
- [25] 吴同垒, 单晓枫, 孟庆峰, 等. 框镜鲤维氏气单胞菌CY0806株气溶素基因的生物信息学分析及原核表达[J]. 中国预防兽医学报, 2011, 33(11): 866-869.
- [26] 唐毅, 郑凯迪, 朱成科, 等. 华鲮烂尾病病原的分离鉴定及药敏分析[J]. 淡水渔业, 2010, 40(4): 50-55.
- [27] 秦蕾, 徐静, 张晓军. 泥鳅的凡隆气单胞菌感染[J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(12): 1100-1102.
- [28] 马志宏, 杨慧, 李铁梁, 等. 西伯利亚鲟 (*Acipenser baerii*) 致病性维氏气单胞菌的分离鉴定[J]. 微生物学报, 2009, 49(10): 1289-1294.
- [29] 田甜, 胡火庚, 陈昌福. 团头鲂细菌性败血症病原菌分离鉴定及致病力研究[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(3): 341-345.
- [30] 杨治国. 鲟鱼嗜水气单胞菌的分离鉴定[J]. 淡水渔业, 2001, 31(5): 40-41.
- [31] 赵凤岐, 曹谨玲, 刘青. 西伯利亚鲟败血症病理学观察与病原学研究[J]. 水生生物学报, 2009, 33(2): 316-323.
- [32] 孟彦, 肖汉兵, 张林, 等. 施氏鲟出血性败血症病原菌的分离和鉴定[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(6): 822-826.
- [33] 秦玉广, 陈秀丽, 王春生, 等. 鲟源豚鼠气单胞菌分离与强弱菌株病原生物学比较研究[J]. 井冈山大学学报, 2011, 32(6): 51-58.
- [34] 曹海鹏, 杨先乐, 高鹏, 等. 鲟细菌性败血综合征致病菌的初步研究[J]. 淡水渔业, 2007, 37(2): 53-56.