

王伟喆,潘连德. 东锦龟摩尔摩根氏菌的分离鉴定和药敏试验[J]. 江苏农业科学,2013,41(10):205-208.

东锦龟摩尔摩根氏菌的分离鉴定和药敏试验

王伟喆, 潘连德

(上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室,上海 201306)

摘要:从患耳部感染性疾病的东锦龟(*Chrysemys picta picta*)耳部病灶处分离获得 1 株细菌。为进一步检测该菌致病性,通过腹腔注射和浸泡感染 2 种方式对健康巴西彩龟人工染毒,致死率分别为 80%、70%,且从人工感染龟体内再次分离到相同菌株。通过分离培养、形态学观察及生理生化试验等诊断,以及进一步的 16S rDNA 基因序列比对和系统发育分析都表明,该菌为摩尔摩根氏菌(*Morganella morganii*)。药敏试验结果显示,该菌对庆大霉素、妥布霉素、链霉素、氧氟沙星、头孢他啶、哌拉西林、氯霉素高度敏感,而对头孢唑啉、四环素、阿莫西林、利福平、氨苄西林不敏感。

关键词:东锦龟;人工感染试验;16S rDNA;摩尔摩根氏菌;药敏试验

中图分类号:S947.1⁺2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)10-0205-03

东锦龟(*Chrysemys picta picta*)属小型水栖龟类,各种肉类、瓜果蔬菜、混合饲料均食。由于其娇小体型和对人工圈养的适应能力,通常被作为宠物饲养,东锦龟同时具有较高的食用和药用价值^[1-2]。近年来随着龟类市场需求旺盛,龟类养殖规模和养殖密度不断扩大,各类疾病突发显著^[3]。目前对于东锦龟疾病治疗的研究处于起步阶段,同时由于养殖户缺乏防病治病知识,一旦发病往往滥用抗生素,导致疾病防治效果不理想,给养殖户带来了严重的经济损失^[4]。上海海洋大学攀世水族宠物健康中心发现一只患病东锦龟,症状为双侧耳部肿胀,鼓膜透明,病龟常用同侧前爪挠其头部。将耳部感染龟类的患部切开,发现固体干酪样物质充满中耳,容易剥离。在无菌条件下从其耳部病灶分离出 1 株细菌。本研究将该细菌人工感染巴西彩龟以明确其致病性,通过镜检观察、生理生化试验、分子生物学方法对其进行鉴定,并通过药敏试验确定该病菌的敏感药物,以期为龟类细菌性疾病的防治及临床用药提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料

健康巴西彩龟购于海南省某养殖场,体重 20~30 g。将试验龟于水族箱中暂养 7 d,暂养期间不喂食,稳定 1 周后供人工感染,试验期间每日换水,水温(28±1)℃。

1.2 方法

1.2.1 致病菌的分离培养 在无菌条件下于病龟患部切开后采样,在营养琼脂培养基和血琼脂培养基上分别平板划线,

28℃恒温培养 12 h,从营养琼脂平板上挑取特征一致的单个菌落进行纯培养,并挑取菌落进行革兰氏染色镜检观察。将纯培养菌转接于斜面培养基上,长出菌苔后,向试管加液体石蜡后封口保存于 4℃冰箱。

1.2.2 人工感染试验 将巴西彩龟随机分组,使每组龟平均体重相同。设 2 个试验组和 2 个对照组,每组 10 只龟,共 40 只龟。将分离菌株 CPP120505 接种营养肉汤培养基,28℃恒温培养 12 h。对照麦氏比浊管用无菌水稀释,制成浓度为 3×10^8 CFU/mL 的菌悬液备用,采用 2 种方法感染:(1)腹腔注射法:试验组注射浓度为 3×10^8 CFU/20 g,对照组用无菌生理盐水代替。观察龟的发病情况,连续观察 30 d,对发病龟进行细菌再次分离,并进一步鉴定;(2)浸泡感染:试验组浸泡浓度为 3×10^8 CFU/20 g,对照组用无菌生理盐水代替,浸泡 12 h 后常规饲养。观察龟发病情况,连续观察 30 d,对发病龟进行细菌再次分离,并进一步鉴定。

1.2.3 生理生化试验 采用 ARIS 2x system (TREK Diagnostic Systems Limited),按照 SENSITRE® GNID 革兰氏阴性菌鉴定卡提供的说明书进行生理生化鉴定,并用 Sensititre AutoReader® 读板。

1.2.4 16S rDNA 序列测定与分析 按照上海生工生物工程公司基因组 DNA 提取试剂盒的操作手册,提取细菌基因组 DNA 作为 PCR 模板。引物采用细菌 16S rDNA 序列扩增的通用引物,正向引物为 27F:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',反向引物为 1492R:5'-GGTTACCTGTTCAGACTT-3'。PCR 反应体系(25 μL):10×PCR 缓冲溶液(含 Mg^{2+})2.5 μL,10 mmol/L 4×dNTP 0.5 μL,10 μmol/L 正向引物、反向引物各 0.5 μL,5 U/μL TaqDNA 聚合酶 0.2 μL,模板 1 μL,加水至 25 μL。反应条件:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,55℃复性 35 s,72℃温育 1 min,35 个循环;延伸 8 min 扩增产物经电泳检测后,经柱式 DNA 胶回收试剂盒回收 PCR 产物,送至上海生工生物工程公司进行序列测定。

1.2.5 序列同源性分析及系统发育树构建 将测得菌株的 16S rDNA 序列通过 NCBI 的 Blast 检索系统进行序列同源性分析。对检索出相似性较高的序列采用 Clustal X(1.83)进

收稿日期:2013-04-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:39970582);上海市教育委员会重点项目(编号:07zz135);上海市重点学科建设项目(编号:Y1101);上海市高校知识服务平台项目(编号:zF1206)。

作者简介:王伟喆(1988—),女,山西长治人,硕士研究生,研究方向为水族宠物临床兽医学。E-mail:wangweizhe8855@126.com。

通信作者:潘连德,教授,从事水产动物医学研究。E-mail:ldpan@shou.edu.cn。

行多序列匹配排列 (multiple alignments)。使用 MEGA 5.0 软件,采用邻接法 (Neighbor – joining method) 构建系统发育树,并通过 1 000 次的自举分析 (boos trap) 进行置信度检测。

1.2.6 药敏试验 用 Kirby – Bauer (K – B) 药敏纸片扩散法^[5],在营养琼脂 (NA) 平板上进行药敏试验。药敏片分别为头孢唑林、庆大霉素、妥布霉素、红霉素、四环素、链霉素、卡那霉素、阿米卡星、氧氟沙星、阿莫西林、呋喃唑酮、氟脲酸、头孢他啶、哌拉西林、利福平、氯霉素、环丙沙星、氨苄西林,共 18 种。将分离纯化的细菌 37 ℃ 振荡培养 12 h,在无菌条件下均匀涂布于 NA 平板上,用无菌镊子夹取各种药敏纸片贴于 NA 平板上,每个培养基上贴 3 个药敏片,相间 3 cm 以上,并做好标记,然后 37 ℃ 恒温培养 24 h 后用游标卡尺测量抑菌圈。

2 结果与分析

2.1 病原分离结果

从病龟患部分离获得致病菌株,并将其命名为 CPP120505。致病菌株在营养琼脂平板培养基上生长良好,

菌落呈圆形,表面光滑,边缘整齐,湿润,有光泽;呈乳白色半透明状,菌落直径 1.0 ~ 1.2 mm。致病菌株在血琼脂平板 28 ℃ 培养 24 h 后,呈圆形、边缘整齐、白色、表面光滑、半透明、湿润、凸起,呈 β – 溶血。革兰氏染色呈阴性,形态特征为杆状或短杆状,两端钝圆,多呈单个排列,无荚膜,不形成芽孢。

2.2 人工感染试验结果

由表 1 可知,腹腔攻毒处理的巴西彩龟在攻毒 2 d 后开始出现死亡,并在 10 d 内致死率达到 80%。而浸泡感染处理的巴西彩龟则在 4 d 后开始出现死亡,并在 10 d 内致死率达到 70%。说明该菌对巴西彩龟具有致病性。对人工染毒死亡的巴西彩龟剖解发现,腹壁黏连,肝充血呈潮红色或瘀血呈紫黑色,有白色坏死点或黄色坏死斑;肠胀气,肠壁增厚;肺胀气等。

2.3 生理生化试验结果

由表 2 可见,分离菌株 CPP120505 的生理生化试验结果与摩尔摩根氏菌 (*Morganella morganii*) 相似度达 99.99%,初步认为该菌株为摩尔摩根氏菌。

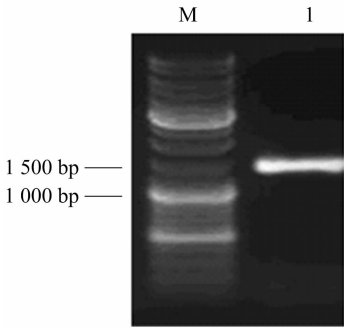
表 1 菌株 CPP120505 人工感染试验结果

组别	剂量 (CFU/20 g)	龟数 (只)	死亡龟数(只)					致死率 (%)
			2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	
注射	3×10^8	10	3	5	7	8	8	80
注射组对照	0	10	0	0	0	0	0	0
浸染	3×10^8	10	0	2	4	5	7	70
浸染组对照	0	10	0	0	0	0	0	0

表 2 分离菌株 CPP120505 的生理生化鉴定结果

试验项目	鉴定结果	试验项目	鉴定结果
FR1	—	鸟氨酸	+
木糖	+	蔗糖	—
FR3	+	FR8	+
麦芽糖	—	肌醇	—
FR5	—	七叶苷	—
阿拉伯糖	—	TDA	—
FR7	+	FR6	—
丙二酸	—	枸橼酸盐	—
尿素	+	山梨醇	—
FR12	—	FR9	—
海藻糖	—	甘露醇	—
FR4	—	FR10	—
果糖	+	阿糖醇	—
赖氨酸	—	棉籽糖	—
精氨酸	—	纤维二糖	—
丙酮酸	—	胍丁胺;鲱精胺	+

明:CPP120505 菌与摩尔摩根菌属内相关菌株的同源性在 98.6% ~ 99.2%,且在系统发育树上与 DQ355171 聚为一支,结合形态学和理化特征鉴定其为摩尔摩根氏菌。



M—DNA marker; 1—PCR产物
图1 PCR产物电泳结果

注:“+”为阳性;“—”为阴性。

2.4 16S rDNA 序列测定结果及系统发育树构建

PCR 扩增出菌株 CPP120505 的 16S rRNA 片段长度约为 1 500 bp,测序结果表明该片段有 1 504 bp (图 1)。PCR 产物经回收,获得细菌 16S rDNA 基因的部分序列。通过 NCBI 互联网,将获得的序列在 GenBank 数据库中进行 Blast 相似性搜索,检索出相似性较高的序列,采用 Clustal X (1.83) 进行多序列匹配排列,使用 MEGA 5.0 软件,采用邻接法 (Neighbor – joining method) 构建系统发育树 (图 2),结果表

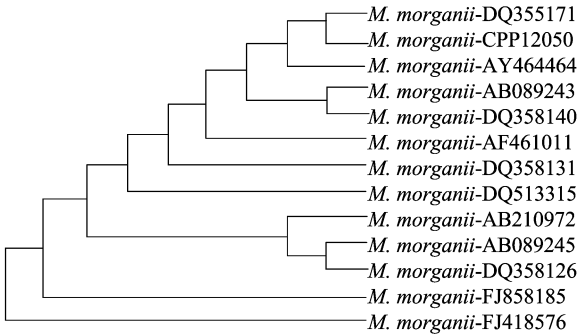


图2 菌株CPP120505的16S rDNA基因序列分子系统发育树

2.5 药敏试验结果

由表 3 可见,该菌株对多数药物敏感,对庆大霉素、妥布霉素、红霉素、链霉素、卡那霉素、氧氟沙星、头孢他啶、哌拉西林、氯霉素极度敏感,而对头孢唑啉、四环素、阿莫西林、利福平、氨苄西林不敏感。

表 3 菌株 CPP120505 对不同抗菌药物的敏感性

药物名称	纸片含量 (μg)	判断标准:抑菌圈 直径(mm)			实际抑 菌圈直径 (mm)	敏感性
		R	I	S		
头孢唑啉	30	≤ 14	15 ~ 17	≥ 18	14	R
庆大霉素	10	≤ 12	13 ~ 14	≥ 15	25	S
妥布霉素	10	≤ 12	13 ~ 14	≥ 15	25	S
红霉素	15	≤ 13	14 ~ 22	≥ 23	28	S
四环素	30	≤ 14	15 ~ 18	≥ 19	11	R
链霉素	10	≤ 11	12 ~ 14	≥ 15	23	S
卡那霉素	30	≤ 13	14 ~ 17	≥ 18	23	S
阿米卡星	30	≤ 14	15 ~ 16	≥ 17	22	S
氧氟沙星	5	≤ 12	13 ~ 15	≥ 16	25	S
阿莫西林	10	≤ 13	14 ~ 17	≥ 18	0	R
呋喃唑酮	300	≤ 14	15 ~ 16	≥ 17	18	S
氟哌酸	10	≤ 12	13 ~ 16	≥ 17	19	S
头孢他啶	30	≤ 14	15 ~ 17	≥ 18	24	S
哌拉西林	100	≤ 17	—	≥ 18	26	S
利福平	5	≤ 16	17 ~ 19	≥ 20	13	R
氯霉素	30	≤ 12	13 ~ 17	≥ 18	34	S
环丙沙星	5	≤ 15	16 ~ 20	≥ 21	23	S
氨苄西林	10	≤ 11	12 ~ 14	≥ 15	0	R

注:“S”为敏感;“I”为中度敏感;“R”为耐药。

3 结论与讨论

目前国内外学者普遍认为摩尔摩根氏菌是腐生菌^[6],该菌通常存在于人、狗、其他动物和爬虫等的粪便、污水、土壤中,特别是在动物蛋白腐烂的地方^[7]。该菌可引起养殖动物组织器官发生瘀血、脓肿等病变,或引起体表皮肤、肌肉溃烂等^[8-9]。但是在水产动物特别是龟鳖类动物的相关报道较少。本研究分离的摩尔摩根氏菌,患龟临床症状为耳部皮肤发生溃疡、肌肉充血等。

ARIS 2x 全自动微生物鉴定系统(TREK diagnostic systems limited),鉴定结果具有准确、迅速、不依赖手工操作等特点,显著优于常规生理生化鉴定方法。借助 ARIS 2x 全自动微生物鉴定系统对菌株 CPP120505 进行生化检测,计算出该菌为摩尔摩根氏菌的可能性是 99.99%,结合菌体形态特征、培养特性初步鉴定分离得到的菌株为摩尔摩根氏菌。通过该菌 16S rDNA 基因序列在系统发育树中的位置,并与 GenBank 数据库中摩尔摩根氏菌的 16S rDNA 基因序列比较,两者具有较高的同源性(98.6% ~ 99.2%),从而在分子生物水平进一步鉴定该菌为摩尔摩根氏菌。从感染病龟体中又分离到与原分离菌株相同的细菌。

龟类的耳部感染性疾病具有耳部单侧或双侧肿胀,鼓膜腔出现发炎、脓肿或纤维素肿等症状^[10],目前对于龟类耳部感染性疾病的病因尚无定论^[11-14],主要观点分为以下 3 种: Mcarthur 等认为是由于缺乏维生素 A 引起的营养不良^[15]; Mader^[16]、Joyner 等^[17]认为是因为咽鼓管感染的进一步发

展;Sleeman 等^[18]、Brown 等^[19]则倾向于环境卫生差、口内分泌物的污染和免疫抑制是诱因。本研究的人工感染试验结果显示,巴西彩龟经腹腔注射和浸泡感染后迅速死亡,剖检可见器官组织多处病变,说明摩尔摩根氏菌对龟类具有显著的致病性,但是并未出现耳部感染症状,其原因尚不清楚,所以对引起龟类耳部感染性疾病的病因须要进一步研究,在病原学研究的基础上,应综合考虑各种致病因素的共同作用,并通过病理组织学的手段研究其病理过程,对龟类耳部感染性疾病进行更深入了解。

药敏试验结果表明,菌株对多数药物不敏感,甚至对多种药物同时耐药,这可能与摩尔摩根氏菌极易产生耐药性有关^[20-21],再加上养殖户在发病初期救龟心切,大量滥用各种抗生素,促使多重耐药性的产生,使治疗效果不理想。因此在这类疾病的防治过程中,应及早诊断并进行药敏试验合理选择用药,既可以提高治疗效果,又可以避免药物滥用造成的药物残留超标和环境污染等问题。

随着养龟爱好者的增多,东锦龟养殖不断发展,但是对其病害的研究甚少,而采用先进仪器设备以及分子鉴定方法对东锦龟细菌性病原进行系统研究的结果更是缺乏。本研究从东锦龟中分离到摩尔摩根氏菌,并确定了其致病性,为东锦龟病害防治提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 周 婷. 龟鳖分类图谱[M]. 北京:中国农业出版社,2004:165 - 167.
- [2] 周 婷,王 伟. 中国龟鳖养殖原色图谱[M]. 北京:中国农业出版社,2009:123.
- [3] 周 婷,滕久光,王一军. 龟鳖养殖与疾病防治[M]. 北京:中国农业出版社,2001:156.
- [4] 洪美玲,付丽容,王锐萍,等. 龟鳖动物疾病的研究进展[J]. 动物学杂志,2003,38(6):115 - 119.
- [5] Andrews J M. For the BSAC working party on susceptibility testing, BSAC standardized disc susceptibility testing method[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy,2001,48(1):43 - 57.
- [6] 黎小正,韦信贤,童桂香,等. 黄喉拟水龟摩氏摩根菌的分离鉴定及系统发育分析[J]. 上海海洋大学学报,2010,19(3):358 - 363.
- [7] 许赞焕,罗 琳,姜 娜,等. 鼋摩氏摩根氏菌的鉴定及致病性[J]. 四川农业大学学报,2012,30(1):87 - 91.
- [8] 陆小菡,邹为民,谭爱萍,等. 锦鲤摩氏摩根氏菌的鉴定及致病性研究[J]. 淡水渔业,2005,35(2):3 - 5.
- [9] 韦信贤,黎小正,童桂香,等. 黄喉拟水龟一种慢性传染病的病原鉴定与防治[J]. 西南农业学报,2009,22(4):1129 - 1132.
- [10] Rosskopf W J, Shindo M K. Syndromes and conditions of commonly kept tortoise and turtle species[J]. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine,2003,12(3):149 - 161.
- [11] Brown J D, Sleeman J M, Elvinger F. Epidemiologic determinants of aural abscessation in free - living eastern box turtles (*Terrapene carolina*) in Virginia[J]. Journal of Wildlife Diseases,2003,39(4):918 - 921.
- [12] Schrader G M, Allender M C, Odoi A. Diagnosis, treatment, and outcome of Eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*) presented to a wildlife clinic in Tennessee, USA, 1995—2007[J]. Journal of Wildlife Diseases,2010,46(4):1079 - 1085.

谭凤霞,柴毅.季铵盐碘对气单胞菌的抑菌杀菌效果[J].江苏农业科学,2013,41(10):208-210.

季铵盐碘对气单胞菌的抑菌杀菌效果

谭凤霞,柴毅

(长江大学动物科学学院,湖北荆州 434025)

摘要:以气单胞菌属标准株 ATCC7966 和分离自养殖环境及患病鱼的气单胞菌为供试菌株,通过肉汤二倍稀释法研究季铵盐碘的抑菌杀菌效果。结果表明,季铵盐碘在低浓度时能抑制气单胞菌的生长增殖,高浓度杀灭细菌。季铵盐碘对 7 株气单胞菌的最小抑菌浓度(MIC)分别为 0.312 mL/L(ATCC7966、*Aeromonas* sp. T1、*Aeromonas* sp. T6)、0.625 mL/L(*Aeromonas* sp. T4、*Aeromonas* sp. T5)和 1.25 mL/L(*Aeromonas* sp. T2、*Aeromonas* sp. T3);其最小杀菌浓度(MBC)分别为 2.5 mL/L(ATCC7966、*Aeromonas* sp. T6)、5 mL/L(*Aeromonas* sp. T1、*Aeromonas* sp. T2、*Aeromonas* sp. T5)和 10 mL/L(*Aeromonas* sp. T3、*Aeromonas* sp. T4)。本研究结果能为季铵盐碘的合理使用提供一定的依据。

关键词:季铵盐碘;气单胞菌;最小抑菌浓度;最小杀菌浓度

中图分类号:S941.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)10-0208-03

气单胞菌属(*Aeromonas*)广泛分布于自然界,其中嗜水气单胞菌(*A. hydrophila*)、豚鼠气单胞菌(*A. caviae*)及温和气单胞菌(*A. sobria*)等已被确认是多种水产动物主要的病原菌,常给养殖生产带来较大经济损失^[1]。季铵盐碘消毒剂是由季铵盐类化合物与碘络合而成,其中表面活性剂季铵盐能改变细胞膜通透性,破坏菌体酶系统,影响细菌新陈代谢,起到载体与助透作用^[2],且与碘络合后,性温和,稀释后碘和表面活性剂仍紧密结合,保证了碘的稳定性和杀菌性^[3]。该消毒剂是一种复方消毒剂,能杀灭包括细菌、霉形体等在内的大部分病原微生物,且不受光、热、温度、有机物、pH 值以及水质的影响,可长期储存效力不减,对所消毒对象无腐蚀性和刺激性,目前已被畜禽、水产等养殖户广泛使用^[4]。本试验以气

单胞菌 ATCC7966 作为标准株,以分离自患病鱼和水产养殖环境的气单胞菌作为供试菌株,研究季铵盐碘对气单胞菌的杀菌效果,为季铵盐碘在水产养殖上的合理使用提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

季铵盐碘(季铵盐 40%,碘 10%);培养基为牛肉膏液体和固体培养基,pH 值 7.0±0.2;中和剂(5 g/L 硫代硫酸钠和 5 g/L 吐温-80)。试验所用其他试剂均为分析纯。

供试菌株为:气单胞菌标准菌株(*Aeromonas hydrophila*) ATCC7966 购自中国农业微生物保藏中心;气单胞菌(*Aeromonas* sp. T1、*Aeromonas* sp. T2)分离自患病鲫鱼^[5];气单胞菌(*Aeromonas* sp. T3、*Aeromonas* sp. T4、*Aeromonas* sp. T5、*Aeromonas* sp. T6)分离自养殖水环境^[6]。

1.2 方法

1.2.1 菌悬液的制备 气单胞菌菌株用单倍肉汤经过增菌摇床过夜培养,取 24 h 新鲜培养物加甘油置于-80℃冰箱中保存备用。试验前 1 d 分别取出保存于-80℃冰箱中的菌株,接种于营养琼脂斜面,28℃培养 24 h 取出后,用胰蛋白胨

收稿日期:2013-04-09

基金项目:湖北省教育厅项目(编号:B20121210)。

作者简介:谭凤霞(1979—),女,山东潍坊人,博士,副教授,从事微生物学研究。E-mail:tanfengxia2008@163.com。

通信作者:柴毅,博士,副教授,从事生理学研究。E-mail:chaiyi123456@126.com。

[13] Holladay S D, Wolf J C, Smith S A, et al. Aural abscesses in wild-caught box turtles (*Terapene carolina*): possible role of organochlorine-induced hypovitaminosis A[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001, 48(1): 99-106.

[14] Tangredi B P, Evans R H. Organochlorine pesticides associated with ocular, nasal, or otic infection in the eastern box turtle (*Terapene carolina carolina*) [J]. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 1997, 28(1): 97-100.

[15] McArthur S, Wilkinson R, Meyer J. *Medicine and surgery of tortoises and turtles* [M]. United Kingdom: Blackwell Publishing, 2004: 337-340.

[16] Mader D R. *Reptile medicine and surgery* [M]. Canada: Saunders Elsevier, 2006: 742-746.

[17] Joyner P H, Brown J D, Holladay S, et al. Characterization of the bacterial microflora of the tympanic cavity of eastern box turtles with and

without aural abscesses [J]. *Journal of Wildlife Diseases*, 2006, 42(4): 859-864.

[18] Sleeman J M, Brown J, Steffen D, et al. Relationships among aural abscesses, organochlorine compounds, and vitamin a in free-ranging eastern box turtles (*Terapene carolina carolina*) [J]. *Journal of Wildlife Diseases*, 2008, 44(4): 922-929.

[19] Brown J D, Richards J M, Robertson J, et al. Pathology of aural abscesses in free-living Eastern box turtles (*Terapene carolina carolina*) [J]. *Journal of Wildlife Diseases*, 2004, 40(4): 704-712.

[20] Piccolomini R, Cellini L, Allocati N, et al. Comparative in vitro activities of 13 antimicrobial agents against *Morganella*-*Proteus*-*Providencia* group bacteria from urinary tract infections [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1987, 31(10): 1644-1647.

[21] 宗志勇,吕晓菊.临床分离 87 株摩根根摩菌的体外抗菌药物敏感性研究[J]. *中国抗感染化疗杂志*, 2002, 2(4): 237-239.