

猪源嗜麦芽寡养单胞菌的分离鉴定与生物学分析

张鹏飞^{1,2} 王印^{1,2*} 杨泽晓¹ 姚学萍¹ 张博^{1,2}

(1. 四川农业大学 动物医学院, 成都 611130;

2. 动物疫病与人类健康四川省重点实验室, 成都 611130)

摘要 从四川省某规模化养猪场病死猪肺脏分离得到 1 株嗜麦芽寡养单胞菌, 分析其生物学特性, 为临床鉴别诊断和治疗提供参考。观察分离株的染色特点、培养特性, 并通过生化试验进行鉴定; 测定分离株对小鼠的 LD₅₀ 并进行药物敏感试验, 以分析分离株的致病性与耐药性; 测序分析分离株 16S rRNA 基因序列, 构建系统进化发育树。结果表明: 该分离株的 16S rRNA 基因序列与嗜麦芽寡养单胞菌的同源性为 99%; 在 TSA 琼脂培养基上培养 18 h 后可长成灰白色、光滑的露珠样小菌落, 在血琼脂上菌落周围呈现 α 溶血; 对小鼠的致病性试验测得 LD₅₀ 为 6.62 × 10⁷ cfu/只; 药敏试验发现分离株对多粘菌素 B 较为敏感, 对喹诺酮类、四环素类、头孢类、碳青霉烯类和氨基糖苷类药物均表现为耐药。经鉴定, 分离株为嗜麦芽寡养单胞菌, 致病性较强, 对多种药物耐药。该研究为该菌的临床诊断、选药治疗、疾病控制等奠定了基础。

关键词 嗜麦芽寡养单胞菌; 16S rRNA; 分离鉴定; 人兽共患病

中图分类号 S855.1

文章编号 1007-4333(2018)04-0045-08

文献标志码 A

Isolation, identification and biological characteristics analysis of *Stenotrophomonas maltophila*

ZHANG Pengfei^{1,2}, WANG Yin^{1,2*}, YANG Zexiao¹, YAO Xueping¹, ZHANG Bo^{1,2}

(1. College of Veterinary medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. Key Laboratory of Animal Disease and Human of Sichuan Province, Chengdu 611130, China)

Abstract The aim of this study was to investigate the biological characteristics and provide references for *Stenotrophomonas maltophila* identification, diagnosis and treatment. The dyeing characteristics and culture characteristics of the isolate was observed and identified by biochemical tests. To determine LD₅₀ of the isolate in mice, drug sensitive test was conducted to analyze the toxicity and drug resistance. A system evolutionary tree was built based on the result of 16S rRNA gene sequence analysis. The results of the 16S rRNA sequencing of the isolated strain showed 99% homology with *S. maltophila*. The colonies of the isolated strain on TSA agar appeared to be smooth, circular and translucent and had α-hemolysis on blood agar. The LD₅₀ of isolated strain to mice was 6.62 × 10⁷ cfu per mouse. The results of antibiotic sensitivity experiment showed that it was sensitive to cephalosporin antibiotics but insensitive to quinolone, tetracycline, cephalosporin antibiotics, carbapenems and aminoglycoside antibiotics. In conclusion, this pathogen was identified to be *S. maltophila*. In addition, it was proved to have strong pathogenicity and powerful drug resistance. This study provided references for the clinical diagnosis, disease prevention and drug treatment of associate streptococcus disease.

Keywords *Stenotrophomonas maltophila*; 16S rRNA; isolation and identification; zoonosis

高热病猪临床表现为体温升高, 呼吸急促, 出现严重的腹式呼吸, 精神沉郁, 并伴随腹泻及神经系

统症状; 病理剖检可见全身淋巴结肿大出血, 肺脏塌陷伴弥漫性出血, 脾、肝、肾肿大出血, 胃肠道粘膜出

收稿日期: 2017-03-19

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2013BAD12B04)

第一作者: 张鹏飞, 硕士研究生, E-mail: zpfscnd@foxmail.com

通讯作者: 王印, 教授, 主要从事动物传染病病原分子生物学研究, E-mail: yaanwangyin@tom.com

血。病毒、细菌、寄生虫的混合感染是引起猪高热病的主要原因,病因复杂多变,临床上难以控制^[1]。

嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)属于黄单胞菌科寡养单胞菌属,是一种专性需氧的非发酵型革兰氏阴性机生多鞭毛杆菌。该菌存在于水、土壤、植物根系以及人和动物皮肤、呼吸道和胃肠道,是人和动物共患条件致病菌,感染该菌后会引发肺炎、脑炎、心内膜炎、败血症等^[2]。该菌对猪有一定致病力,感染后临床表现为高热、呼吸急促并伴有神经系统症状,引起多器官败血症,导致病猪死亡^[3]。嗜麦芽寡养单胞菌引起的疫情近年来频繁发生,人类感染的病死率较高,经治疗临床症状消失后复发率达10%~45%^[4]。2004—2005年,西南地区斑点叉尾鮰养殖业爆发一种急性传染病^[5]。耿毅等^[6]从病死鱼肝脏分离到1株嗜麦芽寡养单胞菌,人工感染健康鱼36h后,死亡率可达100%。此外,该菌也可感染陆生动物如:猪^[7]、山羊^[8]等和其他水产养殖动物如:金枪鱼^[9]、中华绒毛龟^[10]等,给养殖业和食品安全带来严重危害。已有关于猪源嗜麦芽寡养单胞菌分离的研究由于分离时间较早且未对其危害做系统分析,加上近年来广谱抗生素的大量使用,导致临床分离菌株耐药性不断变化增强^[3,11],其对防治该菌的指导意义不够充分。因此,本研究拟通过病理剖检、细菌的分离培养、生化鉴定和16S rRNA基因序列分析,确定分离所得菌株,测定该分离株的致病力和耐药谱,以期为科学预防嗜麦芽寡养单胞菌的感染和临床合理用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

四川某规模化猪场采集病死猪组织。SPF级昆明小鼠30只,体重为18~20g,雌雄各半(成都达硕生物科技有限公司)。

1.2 试剂及培养基

5%小牛血清 TSA 培养基、脱纤维绵羊血培养基(成都万科生物技术有限公司)。抗菌药物药敏纸片、细菌微量生化反应管(杭州微生物试剂有限公司)。pMD19-T载体(宝生物工程(大连)有限公司)。大肠杆菌 DH5 α 、2 \times Taq PCR Master Mix、DNA 分子量标准、标准小牛血清、细菌基因组 DNA 提取试剂盒、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司)。

1.3 细菌分离、纯化及培养特性

取肝脏病变明显部位接种于5%小牛血清 TSA

培养基,挑取灰白色、光滑、圆形的单个菌落进行纯化。挑取纯化后的菌落进行革兰氏染色,观察染色特点和细菌的个体形态;接种于脱纤维绵羊血培养基,观察溶血形态。

1.4 生化试验

挑取纯化后的单个菌落接种于细菌微量生化反应管,于37℃培养24h后,参考伯杰氏细菌鉴定手册判定结果^[12]。

1.5 药敏试验

采用纸片扩散法测定分离株的药物敏感度,挑取纯化后的单个菌落,密集划线接种于 TSA 培养基,培养24h后,刮下菌苔并溶解于少量无菌生理盐水,调整菌液浓度至 1.00×10^8 cfu/mL,均匀涂布于 TSA 培养基,在培养基表面贴上药敏纸片。于37℃培养24h后,观察测量抑菌环直径并参照 CLSI 标准^[13]判定试验结果。

1.6 引物设计

参考16S rRNA通用引物序列扩增分离株16S rRNA基因^[14]。引物序列为F:5'-AGAG-TTTGATCCTGGCTCAG-3'; R:5'-GGTTACCTTGTTACGACT-3',由上海生工生物工程股份有限公司合成。

1.7 16S rRNA 基因的扩增及序列分析

提取分离株基因组 DNA 进行 PCR 扩增,扩增体系共50 μ L,2 \times Taq PCR Master Mix 25.0 μ L, RNase-free H₂O 20.0 μ L,上下游引物各1.5 μ L,基因组模板2.0 μ L。PCR反应程序为:94℃预变性5min;94℃变性30s,55℃退火30s,72℃延伸1min,进行30个循环;最后72℃延伸10min。取PCR产物50 μ L进行琼脂糖凝胶电泳,切胶回收目的条带并连接至pMD19-T载体,转化大肠杆菌 DH5 α ,经菌液 PCR 鉴定为阳性的克隆,送至华大科技有限公司测序。测序结果经 Blast 比对分析,使用 DNASTar 软件将测序得到的序列与 GenBank 已登录的嗜麦芽寡养单胞菌16S rRNA基因序列进行同源性比对,利用 MEGA4.1 软件中 Neighbor-Joining 方法构建系统进化树。

1.8 LD₅₀的测定

挑取纯化后的单个菌落,密集划线接种于 TSA 培养基,培养24h后,刮下菌苔并溶解于无菌生理盐水。调整菌液浓度至 1.00×10^9 、 1.00×10^8 、 1.00×10^7 、 1.00×10^6 、 1.00×10^5 cfu/mL,分别对应5组试验组。每组随机选取5只小鼠腹腔注射0.2mL菌液,以0.2mL无菌生理盐水腹腔注射对

对照组小鼠。攻毒后连续观察 7 d,剖检死亡小鼠,按上述方法进行细菌的分离鉴定,并记录每组小鼠死亡数量计算 LD₅₀。

2 结果与分析

2.1 分离株生长特性及镜下形态

分离株在 5% 小牛血清 TSA 琼脂培养基上呈灰白色、表明光滑、如露珠状的菌落,菌落直径为 0.8~1.2 mm(图 1(a));镜检观察,菌体为直或弯曲的革兰氏阴性杆菌(图 1(b));在脱纤绵羊血琼脂

培养基上,菌落周围呈现 α 溶血,出现 1 mm 左右的草绿色溶血环。

2.2 生化特性鉴定

分离株可利用乳糖、麦芽糖、甘露糖、蔗糖、木糖和果糖作为碳源,但不能降解鼠李糖、甘露醇、肌醇、山梨醇、枸橼酸盐和丙二酸盐;氧化酶、脲酶阴性;过氧化酶、DNA 酶、脂酶、蛋白酶和赖氨酸脱羧酶为阳性(表 1)。参照伯杰氏细菌鉴定手册分析,该分离株符合嗜麦芽寡养单胞菌的生化特性,且与其他报道的猪源分离株生化特性一致^[11]。

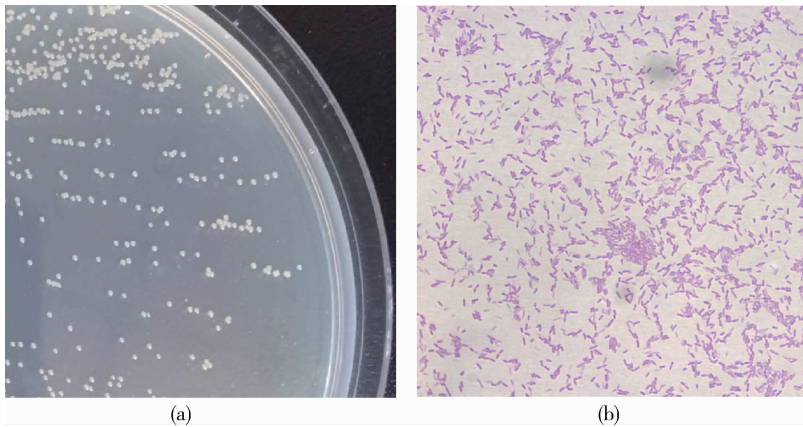


图 1 分离株在 TSA 琼脂上的生长特性(a)及分离菌的革兰氏染色结果(b)

Fig. 1 Growth characteristic of the isolate on TSA agar (a) and microscope observations after Gram-staining (b)

表 1 分离株生化试验结果

Table 1 Biochemical tests results of the isolate

底物 Substrate	测试结果 Test result	底物 Substrate	测试结果 Test result
乳糖 Lactose	+	氧化酶 Oxidase	-
麦芽糖 Malotase	+	过氧化酶 Peroxidase	+
甘露糖 Mannose	+	DNA 酶 DNAses	+
蔗糖 Sucrose	+	脂酶 Lipase	+
鼠李糖 Rhamnose	-	蛋白酶 Protease	+
木糖 Xylose	+	脲酶 Urease	-
果糖 Fructose	+	赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase	+
甘露醇 Mannitol	-	硝酸盐还原 Nitrate reduction	+
肌醇 Inositol	-	枸橼酸盐 Citrate	-
山梨醇 Sorbitol	-	丙二酸盐 Malonate	-

注: + 表示可降解; - 表示不可降解。

Note: +, degradable; -, nondegradable.

2.3 药敏试验结果

分离株在所使用的 27 种抗菌药物中,仅对多黏

菌素 B 呈高度敏感,对萘啶酸、氧氟沙星呈中度敏感,对其他抗菌药物均不敏感(表 2)。

表 2 分离株药敏试验结果

Table 2 Antimicrobial susceptible tests of the isolate

药物名称 Drug	判定标准 Assessment criteria		抑菌圈直径/mm Diameter of inhibition zone	敏感性 Sensitivity
	R	S		
多粘菌素 B Polymyxin B	≤ 8	≥ 12	13	S
萘啶酸 Nalidixic acid	≤ 13	≥ 19	15	M
氧氟沙星 Ofloxacin	≤ 10	≥ 17	12	M
环丙沙星 Ciprofloxacin	≤ 15	≥ 21	10	R
红霉素 Erythrocin	≤ 15	≥ 21	8	R
氟苯尼考 Florfenicol	≤ 13	≥ 18	8	R
庆大霉素 Gentamycin	≤ 12	≥ 15	8	R
万古霉素 Vancomycin	≤ 14	≥ 17	6	R
头孢哌酮 Cefoperazone	≤ 13	≥ 21	0	R
头孢噻吩 Cefalotin	≤ 14	≥ 18	0	R
头孢他啶 Ceftazidime	≤ 14	≥ 18	0	R
头孢唑啉 Cefazolin	≤ 14	≥ 18	0	R
头孢氨苄 Cefalexin	≤ 14	≥ 18	0	R
头孢呋辛 Cefuroxime	≤ 14	≥ 18	0	R
头孢吡肟 Cefepime	≤ 14	≥ 18	0	R

表 2(续)

药物名称 Drug	判定标准 Assessment criteria		抑菌圈直径/mm Diameter of inhibition zone	敏感性 Sensitivity
	R	S		
	新霉素 Neomycin	≤12		
卡那霉素 Kanamycin	≤14	≥17	0	R
青霉素 Penicilin	≤14	≥15	0	R
四环素 Tetracycline	≤11	≥15	0	R
左氧氟沙星 Levifloxacin	≤13	≥17	0	R
诺氟沙星 Norfloxacin	≤12	≥17	0	R
妥布霉素 Tobramycin	≤12	≥15	0	R
厄他培南 Ertapenem	≤13	≥16	0	R
美罗培南 Meropenem	≤13	≥16	0	R
亚胺培南 Imipenem	≤13	≥16	0	R
磺胺甲恶唑 Sulfamethoxazole	≤10	≥16	0	R
呋喃妥因 Macrochantin	≤14	≥17	0	R

注：S,敏感；M,中等敏感；R,抗药。

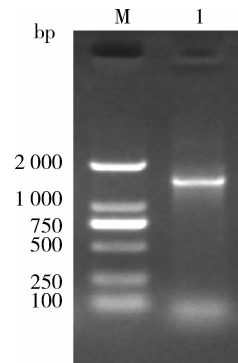
Note: S, sensitivity; M, moderate; R, resistance.

2.4 16S rRNA 扩增及序列分析

通用引物扩增分离株 16S rRNA 基因,琼脂糖凝胶电泳结果显示,在约 1 500 bp 处有一特异性条带(图 2)。测序结果经 Blast 比对分析,显示分离株与嗜麦芽寡养单胞菌的 16S rRNA 基因序列同源性为 99%,判定分离株为嗜麦芽寡养单胞菌。从 GenBank 中选取 8 株不同来源的嗜麦芽寡养单

胞菌(环境、医源、猪源)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)、野油菜假单胞菌(*Xanthomonas campestris*)、洋葱假单胞菌(*Burkholderia cepacia*)的 16S rRNA 基因序列与分离株 16S rRNA 基因序列构建系统进化树(图 3),结果显示分离株与一株猪源嗜麦芽寡养单胞菌 M5-1(GenBank 登录号 AY880274)的 16S rRNA

基因序列同源性最高,为99.9%;与两株临床分离的医源嗜麦芽寡养单胞菌 LMG958(GenBank 登录号 X95923)和 LMG957(GenBank 登录号 AJ131907)同源性稍低,为99.86%和99.14%,与环境分离的嗜麦芽寡养单胞菌 LMG11087(GenBank 登录号 X95924)和 LMG10989(GenBank 登录号 AJ131114)同源性分别为98.57%和97.71%,与荧光假单胞菌(GenBank 登录号 FJ226759)、野油菜假单胞菌(GenBank 登录号 AF123092)、洋葱假单胞菌(GenBank 登录号 FJ969840)同源性仅为79.48%~83.07%,不是同一个属。



1, 16S rRNA 扩增目的条带; M, DNA Marker DL2000。

图2 分离株 16S rRNA PCR 扩增结果

Fig. 2 PCR detection of the isolate based on 16S rRNA gene

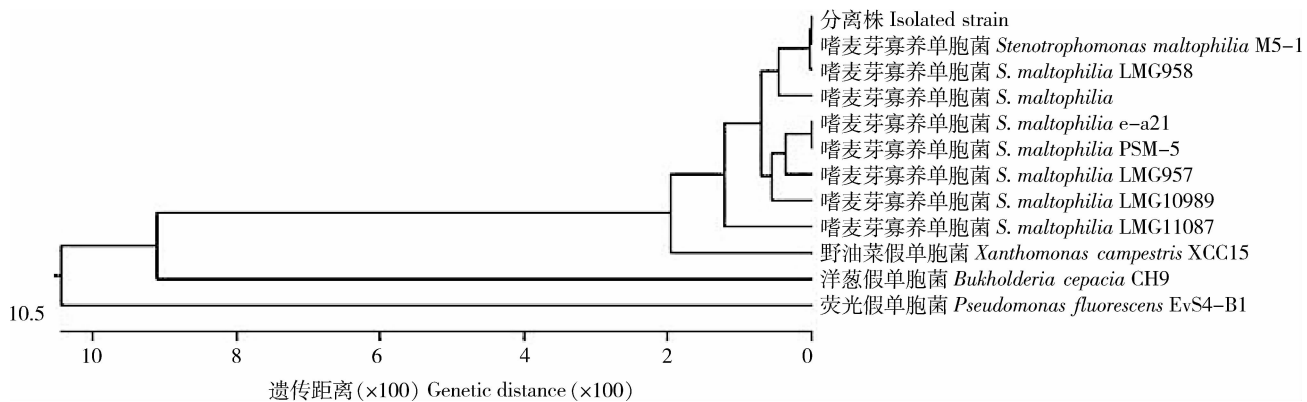


图3 分离株 16S rRNA 系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on 16S rRNA of the isolate

2.5 分离株对小鼠 LD₅₀ 的测定

攻毒后,各试验组小鼠采食饮水量均有下降,精神不振,21 h 后陆续出现死亡。剖检死亡小鼠可见肝脏水肿,脾肿大出血,肠道充血出血。对照组小鼠未见发病或死亡。各试验组小鼠死亡情况为: 1.00×10^9 cfu/mL 组死亡 5 只, 1.00×10^8 cfu/mL 组死亡 4 只, 1.00×10^7 cfu/mL 组死亡 1 只。经 Bliss 法计算得,分离株对小鼠的 LD₅₀ 为 6.62×10^7 cfu/只。从死亡小鼠病变组织分离得到的菌株,经生化试验鉴定和 16S rRNA 基因序列测序分析,确定为嗜麦芽寡养单胞菌,且各项试验结果与猪肺脏中分离株一致。

3 讨论与结论

本研究从患有高致病性猪繁殖与呼吸综合征的病死猪肺脏中分离到致病菌,通过试验鉴定该分离株为嗜麦芽寡养单胞菌。李超等^[15]检测了 5 个不

同环境条件的猪舍中微生物气溶胶的含量与构成成分,结果表明假单胞菌属在猪舍内所占比例为 17.6%~64.7%,其中嗜麦芽寡养单胞菌在 5 个猪场中均能检测到,含量高达 45.5%~81.9%,在假单胞菌属中为优势菌属,可进入人畜的鼻腔气管、支气管甚至是细支气管,引起呼吸道感染,对饲养员与猪群构成严重危害。推测嗜麦芽寡养单胞菌发生感染并导致死亡的原因如下:1)该菌属条件致病菌,广泛存在于猪场环境及猪呼吸道中,在猪体因某些不良因素(如环境温度变化、饲料供给中断、其他病原感染等)导致机体稳态扰乱及免疫力下降的情况下,该菌的继发感染,从而使猪群发病;2)由于该菌具有多重耐药性且猪场普遍存在抗生素滥用及给药方式不当的问题,导致治疗失败;3)由于环境、宿主以及表达致病因子的毒力因子的变化,导致该菌毒力增强。

嗜麦芽寡养单胞菌可产生多种致病因子,如弹

性蛋白酶、脂酶、黏多糖酶、透明质酸酶等,相关研究报道较少,临床预防治疗该菌感染困难^[2]。本研究所分离的嗜麦芽寡养单胞菌在血琼脂平板上呈现 α 溶血,对小鼠的LD₅₀为 6.62×10^7 cfu/只。而以往报道的分离株多为不溶血并且未进行毒力定量测定^[3,7,11]。溶血素是细菌重要的致病因子,作用于细胞时,导致内容物外泄,造成细胞死亡^[16]。分离株出现 α 溶血现象可能与溶血素基因的突变及不同菌株间的基因水平转移有关^[17]。溶血素基因的表达可能是嗜麦芽寡养单胞菌毒力增强的关键原因。本研究的药敏试验结果显示,在所测试的27种药物中,分离株仅对多粘菌素B敏感,对萘啶酸和氧氟沙星中等敏感,对喹诺酮类、四环素类、头孢类药物、碳青霉烯类以及氨基糖苷类药物耐药,表现出对多种药物的耐药性,对比其他猪源分离株耐药性增强^[11],病原性更加突出,说明养殖场可能存在滥用抗菌药物的情况。因此,临床表现出高热的病猪,治疗初期往往可以通过用药控制病情,但后期又会出现病情加重的现象,可能是由于其他病原感染后,继发嗜麦芽寡养单胞菌感染;也可能是由于该菌的复发感染所致。嗜麦芽寡养单胞菌分布广泛、耐药性不断增强、且极易复发感染,给临床治疗带来极大挑战。该菌可产生青霉素酶、头孢菌素酶和金属 β -内酰胺酶等,可水解 β -内酰胺类抗菌药物^[18],其中金属 β -内酰胺酶可水解超广谱抗菌药物亚胺培南,故该菌对亚胺培南天然耐药^[19];该菌还可通过改变磷酸含量与脂多糖侧链来降低膜通透性,阻止氨基糖苷类药物的渗入^[20];同时,该菌含有编码红霉素甲基化基因和外排决定子基因,故对大环内酯类药物有耐药性^[21]。

分离株与其他嗜麦芽寡养单胞菌的同源性达98.78%以上,与来源于临床的分离株同源性达99.14%~99.86%,该猪源嗜麦芽寡养单胞菌有感染饲养人员的潜在危险,结合国外的流行现状,应引起国内对该菌广泛关注以及重视。嗜麦芽寡养单胞菌的耐药种类多样,机制复杂,畜牧业生产上应密切关注该菌感染的发生,同时由于该菌存在广泛,应充分认识到该菌的清除存在极大困难,针对其防控应依赖于建立完善的控制措施,如为猪群提供理想的生长环境,减少应激;科学合理使用药物,及时评价治疗效果修正治疗方案,掌握耐药性变化趋势,避免临床高耐药菌株的产生。

参考文献 References

- [1] 唐建华,傅国才,陈吉轩.“猪高热病”的研究概况及对策[J].中国畜牧兽医,2007,34(9):110-112
Tang J H, Fu G C, Chen J X. Research situation and countermeasures of swine high fever cases[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2007, 34(9): 110-112 (in Chinese)
- [2] 耿毅,汪开毓,陈德芳,黄小丽.嗜麦芽寡养单胞菌研究进展[J].动物医学进展,2006,27(5):28-31
Geng Y, Wang K Y, Chen D F, Huang X L. Progress on research of *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2006, 27(5): 28-31 (in Chinese)
- [3] 陈龙,谢文绮,王礼兴,李蜜,颜其贵,何曼莉,冯迎春.“高热病”病猪嗜麦芽寡养单胞菌的分离鉴定[J].动物医学进展,2009,30(11):25-28
Cheng L, Xie W Q, Wang L X, Li M, Yan Q G, He M L, Feng Y C. Isolation, Identification and pathogenicity of *Stenotrophomonas maltophilia* strain derived from swine high fever cases [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2009, 30(11): 25-28 (in Chinese)
- [4] 孟拥军,薛俊峰.嗜麦芽寡养单胞菌的感染特点和防治[J].当代医学,2000(8):53-56
Meng Y J, Xu J F. Characteristics and treatment of *Stenotrophomonas maltophilia* infections [J]. *Contemporary Medicine*, 2000(8): 53-56 (in Chinese)
- [5] 耿毅,汪开毓,黄小丽,凌方志.一种斑点叉尾鲷急性暴发性细菌性传染病初报[J].科学养鱼,2005(3):51-51
Geng Y, Wang K Y, Huang X L, Ling F Z. Preliminary investigation of explosive bacterial infectious diseases in channel catfish [J]. *Scientific Fish Farming*, 2005(3): 51-51 (in Chinese)
- [6] 耿毅,汪开毓,陈德芳,黄小丽.斑点叉尾鲷嗜麦芽寡养单胞菌的分离鉴定及系统发育分析[J].中国兽医学报,2007,27(3):330-335
Geng Y, Wang K Y, Chen D F, Huang X L. Isolation, identification and phylogenetic analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* in channel catfish [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2007, 27(3): 330-335 (in Chinese)
- [7] 张浩吉,谢明权,张健骅,覃宗华,蔡建平,顾万军.猪源嗜麦芽寡养单胞菌16S rRNA基因的克隆和序列分析[J].中国兽医学报,2004,34(6):3-5
Zhang H J, Xie M Q, Zhang J F, Tan Z H, Cai J P, Gu W J. Cloning and sequencing of 16S rRNA gene of *Stenotrophomonas maltophilia* from swine [J]. *Veterinary Science in China*, 2004, 34(6): 3-5 (in Chinese)
- [8] Johnson E H, Al-Busaidy R, Hameed M S. An outbreak of lymphadenitis associated with *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* in Omani goats [J]. *Journal of Veterinary Medicine B Infectious Diseases & Veterinary Public Health*,

- 2003,50(2):102-104
- [9] Ben-Gigirey B, Vieites J M, Kim S H. Specific detection of *Stenotrophomonas maltophilia* strains in albacore tuna (*Thunnus alalunga*) by reverse dot-blot hybridization [J]. *Food Control*, 2002, 13(4/5): 293-299
- [10] 李瑾年, 江定丰, 李琳, 方兵, 祖国掌. 28株水产动物致病菌的编码鉴定[J]. 水生生态学杂志, 2004, 24(2): 62-64
Li J N, Jiang D F, Li L, Fang B, Zu G Z. Coding identification of 28 strains aquatic animal pathogens [J]. *Journal of Hydroecology*, 2004, 24(2): 62-64 (in Chinese)
- [11] 梁祥解, 袁生, 王秋泉, 庄庆均, 张伟国, 骆敏祥, 张盛, 张浩吉. 猪源嗜麦芽窄食单胞菌的分离鉴定与耐药性研究[J]. 佛山科学技术学院学报: 自然科学版, 2008, 26(3): 41-43
Liang X J, Yuan S, Wang Q Q, Zhuang Q J, Zhang G W, Luo M X, Zhang S, Zhang H J. Study on the drug resistance and identification of *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from swine [J]. *Journal of Foshan University: Natural Science Edition*, 2008, 26(3): 41-43 (in Chinese)
- [12] R. E. 布坎南, N. E. 吉本斯. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 第八版. 北京: 科学出版社, 1984
Buchanan R E, Gibbons N E. *Bergey's manual of Determinative Bacteriology* [M]. 8th ed. Beijing: Science Press, 1984 (in Chinese)
- [13] 陈宏斌, 王辉. 2017年 CLSI M100-S27 主要更新内容解读[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(4): 238-241
Chen H B, Wang H. Interpretation of major changes in CLSI M100-S24 [J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2017, 40(4): 238-241 (in Chinese)
- [14] 高雅, 丁文, 张琦, 王立明, 杨志荣, 孙群. 传统发酵豆瓣中产毒黄曲霉高效拮抗菌的筛选[J]. 微生物学通报, 2010, 37(3): 369-374
Gao Y, Ding W, Zhang Q, Wang L M, Yang Z R, Sun Q. Screening of antagonistic bacteria against aflatoxinogenic *Aspergillus flavus* from fermented bean paste [J]. *Microbiology China*, 2010, 37(3): 369-374 (in Chinese)
- [15] 李超, 郝海玉, 孙玲玉, 柴同杰, 王海荣. 猪舍环境气载微生物监测[J]. 畜牧兽医学报, 2014, 45(10): 1684-1692
Li C, Hao H Y, Sun L Y, Chai T J, Wang H R. Airborne microbiological of swine houses monitoring [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2014, 45(10): 1684-1692 (in Chinese)
- [16] 陈希, 索占伟, 许剑琴, 穆祥. 细菌溶血素的分类及代表性溶血素研究进展[J]. 中国农学通报, 2008, 24(8): 16-22
Chen X, Suo Z W, Xu J Q, Mu X. Review on classification and representative species of hemolysin [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(8): 16-22 (in Chinese)
- [17] Noegel A, Rdest U, Goebel W. Determination of the functions of hemolytic plasmid pHly152 of *Escherichia coli* [J]. *Journal of Bacteriology*, 1981, 145(1): 233-247
- [18] 黄绍光, 李敏, 郭雪君, 岳文香, 聂森, 倪语星, 项明洁, 万欢英, 邓伟吾. 重症监护室嗜麦芽窄食单胞菌的分子流行病学研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(11): 651-654
Huang S G, Li M, Guo X J, Yue W X, Nie S, Ni Y X, Xiang M J, Wan H Y, Deng W W. Study on molecular epidemiology of *Stenotrophomonas maltophilia* in intensive care units [J]. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 2001, 24(11): 651-654 (in Chinese)
- [19] 陈照强, 刘一方, 朱宁, 陈姣, 郑珩. 金属 β -内酰胺酶的研究进展[J]. 国外医药抗生素分册, 2011, 32(3): 111-115
Zhang Z Q, Liu Y F, Zhu N, Chen J, Zheng H. Recent advances on the research of metallo- β -lactamase [J]. *World Notes on Antibiotics*, 2011, 32(3): 111-115 (in Chinese)
- [20] Lambert T, Ploy M. C, Denis F. Characterization of the chromosomal *aac*(6')-Iz gene of *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. *Antimicrob Chemother*, 2000, 46(6): 2366-2374
- [21] 袁瑾, 邓小明, 刘海云. 呼吸道感染嗜麦芽窄食单胞菌的临床及耐药分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(6): 702-704
Yuan J, Deng X M, Liu H Y. *Stenotrophomonas maltophilia* in respiratory tract infection: Its clinical factors and antimicrobial drug-resistance [J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2005, 15(6): 702-704 (in Chinese)

责任编辑: 杨爱东