

鲢细菌性败血症病原的研究

吴建农

(上海水产大学, 200090)

摘要 从患细菌性败血症的鲢肝脏中分离到一菌株, 编号青1-2-3。通过人工感染试验, 发病症状与自然病鱼基本一致。对致病菌株进行细菌学鉴定为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*), 青1-2-3的生化表型不同于银鲫病原, 为致病性嗜水气单胞菌的不同菌株。

关键词 鲢, 细菌性败血症, 嗜水气单胞菌, 菌株

淡水养殖鱼类暴发性疾病的广泛流行, 给我国淡水渔业带来了严重危害。该病多见于鲫、鲢、鳙、鳊鱼等, 主要症状为: 鱼体表及眼睛充血, 腹部、鳍基、下颚、口腔尤为严重, 肝脏肿大呈花肝, 贫血; 部分病鱼肠道充血, 肛门红肿, 有的有腹水, 少数有突眼, 竖鳞等。对该病的暴发, 广大水产研究工作者纷纷从病因分析, 流行情况, 防治方法等方面, 已有广泛深入的调查和研究报道, 并取得一定成效。本文报道对上海青浦地区鲢细菌性败血症的病原研究工作。

1 材料与方法

1.1 病原分离

病鱼来自上海青浦某养殖场, 取具典型症状的病鱼的肝脏, 分离方法参照孙其焕[1991], 培养基采用普通营养琼脂+0.5%酵母膏。

1.2 人工感染试验

青1-2-3菌株在琼脂平板上, 经28℃, 18-24小时培养, 用无菌生理盐水洗下, 制成菌悬液, 并用比浊管稀释成为MCF3号管浓度, 分别以1ml、0.3ml、0.15ml剂量对健康鱼体进行背部肌肉注射感染; 对照组注射生理盐水, 剂量为1ml。饲养在25℃-28℃的水族箱内。试验组共用鱼8尾, 对照组用鱼2尾, 每尾鱼重为200-230克。

1.3 生理生化特征测定

参照《一般细菌常用鉴定方法》[中国科学院微生物研究所细菌分类组, 1978]进行。

2 试验结果

2.1 致病性

通过病原分离获得纯培养青1-2-3菌株。用青1-2-3菌株进行鱼体毒力感染试验, 具较

强致病力,各试验组在12—26小时均出现典型症状,有的死亡,发病率为100%,发病鱼症状与自然病鱼症状基本一致。对照组饲养三天均健康,无任何症状(表1)。

表1 青1—2—3菌株注射感染试验

Tab. 1 The infectional experiments of injecting method with Qing 1—2—3 strain

菌株	菌液浓度	剂量 (ml)	感染途径	水温 (°C)	死亡数/试验数	感染结果
青1—2—3	MFC3	1	背肌注射	25—28	3/3	24小时后出现明显症状,31小时后死亡。 +++ +++ +++
青1—2—3	MCF3	0.3	背肌注射	25—28	3/3	24小时后出现较明显症状,36小时先后死亡。 +++ ++ +
青1—2—3	MCF3	0.15	背肌注射	25—28	1/2	26小时后出现症状,48小时后一条死亡。 + —
对照	生理盐水	1	背肌注射	25—28	0/2	正常生活,无症状。

注:1. 试验鱼先在25°C—28°C水温下饲养三天,无任何症状。

2. 发病程度相对比较划分表示为:+++ ,全身充血,腹部、鳍、下顎、口腔充血严重,肛门红肿,有的肠道充血,有的肝脏发白,肿大,或伴有腹水;++ ,全身呈现出血点,鳍基、腹部、下顎充血明显,肛门红肿;+ ,鳍基、腹部、下顎较微充血,肛门红肿。—,无明显症状。

2.2 菌体形态,培养特征和生理生化反应

2.2.1 菌体形态(电镜照片)

革兰氏染色阴性,两端钝圆,短杆状,大小约0.5—0.7×1.0—1.3 μm(24小时),单个或两两排列,有运动能力,极端单鞭毛,无芽胞,无荚膜。

2.2.2 培养特征

营养琼脂平板上经28°C,24小时培养,菌落形态一致,圆形,直径约1.3mm左右,无水性色素,表面湿润,光滑,扁平微凸,边缘整齐半透明、浅黄色。

液体经28°C,24小时培养,生长良好,均呈浑浊,表面有少量薄膜状生长,底部有少许絮状沉淀,均一摇即散。

2.2.3 菌株的生理生化反应

葡萄糖氧化发酵试验(O/F)为发酵型,氧化酶阳性,接触酶阳性,不发酵肌醇,对 o/129

弧菌抑制剂不敏感,精氨酸双水解酶阳性,赖氨酸脱羧酶阴性,鸟氨酸脱羧酶阴性,水杨苷利用阳性,其它生化及糖发酵特性如表2所示。兼性厌氧,最适温度在28°C左右,在4°C—10°C下微弱生长,42°C不生长,pH生长范围5—10,在无NaCl的胨水中生长良好,7%NaCl不生长。

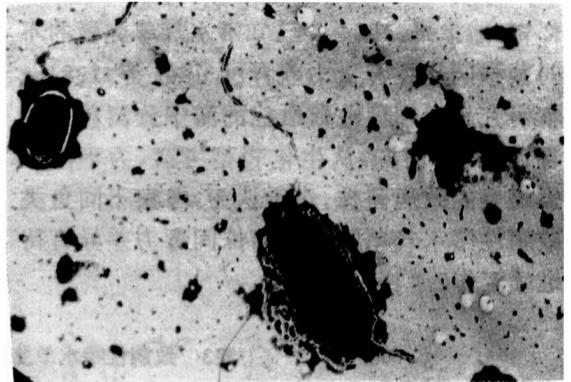


图1 青1—2—3菌株电镜照片(12,000×)

Fig. 1 Electron micrograph of strain Qing 1—2—3(12,000×)

3 讨论

病原菌分离及人工复制鲢细菌性败血症的成功,证实青1-2-3菌株为引起上海青浦地区鲢细菌性败血症的致病菌。根据 Popoff [1984],其性状符合对嗜水气单胞菌的描述,故鉴定为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)。

淡水鱼类的细菌性败血症病原主要为嗜水气单胞菌[孙其焕等,1991;陈怀育、陆承平,1991;陆承平,1992]同时从不同的鱼类上分离获得的致病菌,在生化表型上常有一些差异。仅从本课题组获得的菌株比较(表3),可以看出它们的生化表型的不同,可归纳为两类,即银鲫的致病菌株89-7-14,D-I-1为赖氨酸脱羧酶阳性,水杨苷利用阴性,而鲢及团头鲂的致病菌株青1-2-3,S-2-1-2为赖氨酸脱羧酶阴性,水杨苷利用阳性。

嗜水气单胞菌致病菌株可产生多种毒力因子,如溶血素、细胞毒素、肠毒素和表层蛋白等(Cipriano 等,1984;Dooley 等,1988;陈怀育、陆承平,1994),已知嗜水气单胞菌的不同菌株间存在着毒力差异[Lallier 等,1984]。本研究从患细菌性败血症的鲢中分离获得的青1-2-3菌株,从生化表型考察,为不同于银鲫等的致病菌株。作者认为,考察不同鱼类致病性嗜水气单胞菌的菌株间毒力差异有待继续工作。

表2 青1-2-3菌株的生化特性

Tab. 2 The biochemical characteristics of Qing 1-2-3 stain

测定项目	青1-2-3	<i>A. hydrophila</i>
葡萄糖氧化发酵	发酵型	发酵型
氧化酶	+	+
接触酶	+	+
精氨酸双水解酶	+	+
赖氨酸脱羧酶	-	d
鸟氨酸脱羧酶	-	-
V-P反应	+	+
37℃营养肉汤生长	+	+
糖分解		
葡萄糖	⊕	⊕
甘油	+	+
甘露醇	⊕	+
蔗糖	⊕	+
水杨苷	+	+
阿拉伯糖	+	+
七叶苷	+	+
半乳糖	⊕	+
肌醇	-	-
可作唯一碳源氨基酸		
L-精氨酸	+	+
L-天门冬素	+	+
L-丝氨酸	+	+
L-组氨酸	⊕	⊕
L-丙氨酸	+	d
L-谷氨酸	+	+

注:1. *A. hydrophila* 典型生化特性来源于文献[9]。

2. ⊕表示产酸产气,+表示阳性,-表示阴性,d表示菌株间有差异。

表3 致病性嗜水单胞菌不同菌株的生化表型

Tab. 3 The biochemical characteristic of the different strains of pathogenic *Aeromonas hydrophila*

	鲢致病菌株青	异育银鲫致病菌株		团头鲂致病菌株	嗜水气单胞菌标准菌株
	1-2-3	89-7-14	D-I-1	S-2-1-2	
精氨酸双水解酶	+	+	+	+	+
赖氨酸脱羧酶	-	+	+	-	d
鸟氨酸脱羧酶	-	-	-	-	-
水杨苷利用	+	-	-	+	+

注:1. 团头鲂致病菌株(S-2-1-2),其资料来自:孙其焕,1993.上海市郊团头鲂细菌性败血症病原研究。

2. 嗜水气单胞菌标准菌株引自参考文献[9]。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院微生物研究所细菌分类组, 1978. 一般细菌常用鉴定方法. 科学出版社(京).
- [2] 孙其焕等, 1991. 异育银鲫溶血性腹水病病原的研究. 水产学报, 15(2): 130-139.
- [3] 陆承平, 1992. 致病性嗜水气单胞菌及其所致鱼病综述. 水产学报, 16(3): 282-288.
- [4] 陈怀青、陆承平, 1991. 家养鲤科鱼类暴发性传染病的病原研究. 南京农业大学学报, 14(4): 87-91.
- [5] ——, 1994. 嗜水气单胞菌的致病机理. 淡水渔业, 24(特刊): 106-108.
- [6] Cipriano, R. C. *et al.*, 1984. *Aeromonas hydrophila* and motile *Aeromonas* Septicemias of fish, Fish disease leaflet 68, United States Dept of the interior, Washington D. C.
- [7] Dooley, J. *et al.*, 1988. Surface protein composition of *Aeromonas hydrophila* strains virulent for fish, identification of a surface assay protein J. Bacteriol., 170: 499-506.
- [8] Lallier, R. *et al.*, 1984. Difference in the extracellular products of two strain of *Aeromonas hydrophila* virulence and weakly virulent for fish. Can. J. Microbiol., 30: 900-904.
- [9] Popoff, M., 1984. Genus ■ *Aeromonas*, Krieger, N. R. & J. G. Holt ed, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol 1. 545-548.

STUDIES ON THE PATHOGEN OF THE BACTERIAL SEPTICEMIA OF SILVER CARP *HYPOPTHALMICHTHYS MOLITRIX*

Wu Jian-nong

(Shanghai Fisheries University, 200090)

ABSTRACT One strain of germ is isolated from the bacterial septicemia sufferer of silver carp. It is numbered as Qing 1-2-3. The bacterial septicemia artificially duplicated has succeeded by using germ Qing 1-2-3 infect the healthy individuals of silver carp. The morphology, nutrient demand, growth characteristic and biochemical reaction of the strain has been observed. It is found the germ of Qing 1-2-3 is *Aeromonas hydrophila*. The biochemical characteristic of Qing 1-2-3 is different to the pathogenic bacteria of allogynogentic crucian carp. It is indicated that Qing 1-2-3 strain is a different strain of pathogenic *Aeromonas hydrophila*.

KEYWORDS silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*, bacterial septicemia, *Aeromonas hydrophila*, strain