

异育银鲫细菌性败血症病原与防治研究

储卫华

(南京农业大学动物医学院水生动物疾病研究室 210095)

1 材料与方 法

1.1 病料来源

患病异育银鲫来自南京某部队养殖场。

1.2 细菌分离鉴定

选取症状典型、濒临死亡的病鱼,清水冲洗后,用 75% 的酒精对病鱼体表进行擦拭消毒,按常规方法,无菌取病鱼腹水、肝、肾,接种于普通营养琼脂平板上,28℃ 培养,24 h 观察结果。

病原菌生物学性状的测定按照(一般细菌常用鉴定方法)进行。鉴定菌株均经营养琼脂斜面于 28℃ 恒温培养,16~18 h 活化后再进行菌体形态观察及生理生化试验。

1.3 致病因子检测

将菌株 YJ-1 接种于含 5% 的兔全血琼脂平板和含 1.5% 的脱脂奶平板上,检测溶血素和蛋白酶的生成情况,并用致病性气单胞菌检测试剂盒检测。

1.4 人工感染试验

试验用异育银鲫购自南京市水产研究所养殖场,体重 150~200 g,在水族箱内饲养数天,证实无病后用于试验。试验组采用浸泡攻毒,即将纯培养 24 h 的菌液接种于水族箱内,细菌浓度为 10 万个/L,水温(30±1)℃,连续观察记录 7 d,同时设对照组。

1.5 药物筛选

采用药物敏感试纸进行,方法是将幼龄菌的菌苔调成菌液后,均匀地涂布于平板培养基上,然后贴上药物试纸,28℃ 恒温培养 24 h 观察结果。

1.6 治疗试验

主要是在改善水环境等防病措施的基础上进行内服药物。在进行漂白粉精 20 g/m³ 药浴消毒的同时,饲喂自制新药“鱼康泰 1 号”。

2 结 果

2.1 病原菌的鉴定

患病银鲫病料在普通营养琼脂平板上,经 28℃ 恒温培养 24 h,出现形态完全一致的大量菌落,菌落圆形,中央微凸、灰白色、半透明、表面光滑湿润。菌体革兰氏染色为阴性,两端钝圆,无芽胞和荚膜,经生化试验(表 1)确定该菌为嗜水气单胞菌。

2.2 人工感染试验

健康鲫鱼在接种细菌后 2 d 内开始出现症状,感染后第 5 天全部死亡。病鱼表现上下颌、口腔等体表充血、出

血,眼球突出,肛门红肿,腹部膨大,腹腔内有腹水等典型的嗜水气单胞菌感染的症状,临死前经细菌分离,得到与初次从病鱼体内分离到的菌株特征完全一致的菌体,对照组无症状,表现正常。

表 1 Ah YJ-1 菌株与 A. hydrophila 模式菌株特性比较

| 鉴定项目 | Ah YJ -1 | A. hydrophila | 鉴定项目 | Ah YJ -1 | A. hydrophila |
|--------|----------|---------------|---------|----------|---------------|
| 氧化酶 | + | + | 水杨苷 | + | + |
| O/F 试验 | F | F | 甘露醇 | + | + |
| 葡萄糖产气 | + | + | 山梨醇 | — | — |
| 乳糖 | — | — | 枸橼酸盐 | — | — |
| 麦芽糖 | + | + | VP | + | + |
| 蔗糖 | + | + | 赖氨酸脱羧酶 | + | + |
| 阿拉伯糖 | + | + | 鸟氨酸脱羧酶 | + | + |
| 纤维二糖 | — | — | 精氨酸双水解酶 | — | — |
| 七叶苷 | + | + | 苯丙氨酸脱氨酶 | — | — |
| 鼠李糖 | — | — | | | |

2.3 致病因子检测

菌株 YJ-1 在鲜血琼脂平板上出现明显的 β 溶血现象,在 1.5% 脱脂奶平板上有明显的溶蛋白圈,致病性气单胞菌检测试剂盒检测呈阳性。

2.4 药物筛选

菌株 YJ-1 对药物的敏感程度有异,较敏感的药物有妥布霉素、丁胺卡那、新霉素、氯霉素、庆大霉素、氟哌酸、恩诺沙星(药物试纸片自制),较不敏感的有先锋霉素、麦迪霉素、磺胺甲基异恶唑。

2.5 治疗情况

经用漂白粉精 20 g/m³ 消毒,再加上饲喂 1.5% “鱼康泰 1 号”,用药后第 2 天死亡迅速减少,第 3 天死亡停止。

3 讨 论

嗜水气单胞菌在水中广泛分布,寄主范围广,能引起软体动物三角蚌瘟疫、两栖动物蛙的红腿病、爬行类甲鱼的红脖子病以及淡水鱼类暴发性败血症。嗜水气单胞菌过去认为是条件致病菌,近年来,已有报道证明,在鱼体正常菌株内存在 Ah,更多的研究指出致病性与溶血素和蛋白酶等致病因子有关。当然外界环境条件如水温、水质等对发病固然有影响,但与 Ah 能否分泌溶血素、蛋白酶有更直接的关系。在气温高的季节,由于温度适宜,致病菌大量繁殖,如果不注意消毒则会导致鱼病暴发。因此对细菌性暴发性败血症应以综合预防为主,在夏季进行定期消毒,才能得到有效的控制。

(责任编辑 万月华)