

甲鱼败血症的研究

王广和

朱永祥 钱晓明 储爱国

(江苏海安卫生防疫站 海安 226600)

(江苏海安水产品总公司 海安 226600)

摘要 海安县某水产养殖场少数池甲鱼发生死亡现象,患病甲鱼以雌性为主,不同程度出现皮肤溃烂、坏死、红斑、口鼻流血、眼睛失明等症状,用抗生素等治疗效果不好。发病率达40%,死亡率在15%以上。经病原体分离鉴定,菌种毒力测定及人工感染试验,确认由嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)感染引起的败血症所致。

关键词 甲鱼,嗜水气单胞菌,败血症

1994年9月下旬至12月中旬,海安县某水产养殖场少数池发生甲鱼大批死亡现象,经流行病学调查,临床特点观察,病原体分离鉴定和人工感染试验等,认为这是由嗜水气单胞菌(*A. hydrophila*)引起的败血症所致,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 流行病学情况

对该场发生的甲鱼死亡时间、地点、性别、流行病学情况及饲养管理水平进行现场调查。

1.2 临床特点与病理观察

对发病的甲鱼,参照文献[1,2],有关甲鱼疾病诊断标准对比分析、解剖甲鱼、仔细观察肝、肾、肠等内部器官病理变化。

1.3 实验室诊断

1.3.1 病原体分离: 甲鱼发病死亡期间,从疫区取回濒死甲鱼、清水冲净,用酒精消毒后,无菌手术剖开外壳、分别剪开肝脏、肾脏、心脏,用接种环挑取病料分别接种于血平板,麦康凯平板、弧菌平板、厌氧菌平板及自制的甲鱼汤琼脂平板上,置36℃有氧及厌氧环境下培养,分离优势菌,同时对池水、底泥和健康甲鱼进行细菌感染情况调查。

1.3.2 细菌生化鉴定: 按照文献[3,4]对分离细菌进行鉴定,确定分类位置。

1.3.3 细菌毒力测定: 小白鼠毒力试验,按照文献[5]测定半数致死量。

溶血价测定: 试验菌经改良肉汤摇床28℃培养24h,培养物离心4000r/min,取上清在微量板上用PBS作倍比稀释,然后加等量的1%人O型红细胞,于37℃放置1h,再放冰箱1h,以溶解5%的红细胞的最高稀释度为溶血价。

1.3.4 病菌药敏试验: 先用K-B纸片法对嗜水气单胞菌进行定性药敏试验,然后按文献[6]用试管稀释法测定常用药物的最低抑菌浓度(MIC)。

1.4 甲鱼人工感染试验

1.4.1 注射法: 取分离到的嗜水气单胞菌,温和气单胞菌,产硷假单胞菌,香味黄杆菌代表株的18h肉汤培养物,用盐水稀释成 10^8 /ml悬液,以每只0.2ml腹腔注射健康小甲鱼6只(50g),大甲鱼1只(500g),放25℃水温下培养,记录发病死亡情况,同时设肉汤对照。

1.4.2 浸养法: 在每只盛有25kg水的塑料盆内放进6只50g重的小甲鱼,其中3只剪伤裙边,共分四组,每组分别加上述不同细菌9ml的18h肉汤培养物,放25℃水温下培养并观察,同时设不加菌对照。

2 结果

2.1 流行病学概况

该场9月初从各地购进2kg左右的亲甲鱼,未经检疫直接投放到池内,由于收购量大而池子不够,造成少数池内养殖密度过高。9月下旬开始出现甲鱼食欲减退,不爱活动,不吃食,浮于水面,爬在池边,体表出现病变,曾用土霉素浸泡,紫药水外搽,痢特灵加甲醛泼洒均不奏效,发病率达40%,死亡率在15%以上,尤其是雌甲鱼发病死亡严重,占85%左右。12月底,温度下降,甲鱼钻入泥底,疾病停止流行,有明显的季节性。调查发现曾用过未经消毒的海杂鱼和变质猪内脏作为饲料,管理水平一般。该场地处海边盐碱地,发病池水质检查pH8.7,溶氧2.5mg/L,氨氮10.0mg/L,碱度7.5MEq/L。

2.2 临床特点与病理变化

患病最先出现的临床症状为食欲减退,精神沉郁,不爱活动,常浮于水面,行动迟缓,人走近时不逃跑,以后四肢、尾部、裙边、背部、颈部不同程度发生溃烂。坏死、水肿、出血,底板有红斑,有的脚爪脱落,骨骼外露,死亡前多口鼻流血,眼睛混浊失明,不久便死亡,整个病程一月左右。

解剖患病甲鱼多数肝肿胀、暗红色,有的灰白色、质脆易碎,有坏死灶、出血点,肾、肺、心外膜也有出血点。胃空虚无食,胆汁稀,肠粘膜脱落,糜烂,肠壁弥漫充血。

2.3 实验室诊断

2.3.1 从患病甲鱼的肝、肾及体表病灶中主要检出四种细菌,其嗜水气单胞菌7株,有5株从肝、肾中检出。另外温和气单胞菌2株、产硷假单胞菌3株、香味黄杆菌2株均从体表病料中分离到。在发病池水和底泥中也检出了嗜水气单胞菌,而在健康的甲鱼和未发病的池水中未检出嗜水气单胞菌。

2.3.2 对7株嗜水气单胞菌进行了60项生物学特性鉴定,结果一致,与有关文献报道的嗜水气单胞菌相同。

2.3.3 细菌毒力测定:小白鼠LD₅₀测定结果,小白鼠死亡数分别为10⁻¹,10⁻²,各死亡6只,10⁻³死亡4只,10⁻⁴死亡2只,10⁻⁵死亡1只,10⁻⁶无死亡。经计算,嗜水气单胞菌对小白鼠的LD₅₀为3.9×10³。溶血价测定结果,嗜水气单胞菌为1:64。

2.3.4 药敏试验:定性试验结果,高敏的有氯霉素,庆大霉素,链霉素、复方新诺明、强力霉素。中敏的有红霉素,四环素,痢特灵。而青霉素G耐药。

土霉素,欧治灵、痢特灵对嗜水气单胞菌的最低抑菌浓度分别为3×10⁻⁶、0.05×10⁻⁶、0.03×10⁻⁶。

2.4 甲鱼人工感染试验

注射法:嗜水气单胞菌组小甲鱼于18h后死亡5只,25h后又死亡1只;大甲鱼25d后死亡,症状与自然发病基本相同。而温和气单胞菌、产硷假单胞菌、香味黄杆菌组及对照组20d后甲鱼仍健活。

浸养法:四组细菌试验所有甲鱼20d仍健活,这可能与感染途径及剂量有关。

3 讨论

3.1 疾病的诊断问题

甲鱼是一种珍贵的水产动物,营养丰富,价格昂贵,国际市场畅销。近几年来,池养甲鱼发展较快,但由于追求高密度高效益及甲鱼鱼种流动频繁,其疾病的传播也日益加剧。常见的有红脖子病、出血病、腐皮病、红底板病、水霉病等^[7]。本次海安某水产养殖场少数池发生的甲鱼败血性传染病其临床症状前期多象腐皮病,四肢、颈部、尾部、裙边皮肤溃烂,坏死、水肿、底板有红斑、严重的骨骼外露,脚爪脱落;后期又酷似红脖子病,咽喉肿胀,全身出血斑点,病重时口鼻出血、眼睛失明,起病急,传播快,发病死亡率高,如不弄清病原,容易作出错误论断。

我们多次从患病甲鱼的心、肝、肾病料中,同时分离到嗜水气单胞菌,毒力很强,人工感染试验与自然发病情况基本相同,结合流

行病学调查及临床特点观察,认为该场暴发的甲鱼传染病是一种兼有红脖子病和腐皮病双重特征的由嗜水气单胞菌感染形成的一种败血症。

气单胞菌自1970年被确认为人的肠道病原菌以来,受到广泛注意,已知它与多种宿主的胃肠道及软组织感染、败血症、脑膜炎等有关^[8]。气单胞菌广泛分布于池水、底泥等自然环境,能引起水貂^[9]、家兔、牛、马、鸟、蛇等发病。水产动物象鲫、鲢、草鱼也有报道,特别是1989年以来,我国各地发生一种淡水鱼的暴发性败血症,给我国水产养殖业带来极大的损失,但由嗜水气单胞菌感染引起的具有双重疾病特征的甲鱼暴发性传染病尚不多见。

据陆承平等^[10]报道,嗜水气单胞菌能产生外毒素,具有溶血性、肠毒性和细胞毒性,该毒素对热敏感,对胰酶有抗性,与霍乱抗毒素中和试验不交叉,能溶解人、鲫鱼、团头鲂、鲢、鳙、兔多种动物的红细胞,对Vero, Hela细胞有明显的毒性,家兔肠缘结扎试验显示大量积液。我们分离到的细菌溶血价达1:64,小白鼠半数致死量为 3.9×10^3 ,表明毒力很强,可能是这些毒素促使甲鱼红肿、坏死、出血,引起甲鱼发病死亡的。

3.2 疾病的防治问题

做好疾病的防治工作是提高甲鱼养殖产量和经济效益的重要措施,在预防措施上既要消灭病原、切断传播途径,又要十分重视改善生态环境,提高甲鱼自身抗病力,采取综合防治措施。现提出以下几点供参考:

(1) 在甲鱼投放池子以前,养甲鱼池必须用生石灰彻底清塘消毒。

(2) 甲鱼入池前一定要严格挑选,剔除一切有病受伤的,同时用4%的盐水药浴一次。

(3) 控制养殖密度,稳定饲养条件。

(4) 加强水质管理、常换池水、定期对饲料,水质,食场消毒。

(5) 积极研制高效菌苗,实行群体免疫接种是防止甲鱼疾病发生的重要有效手段^[11],在甲鱼入池前普遍注射菌苗一次。

(6) 如果一旦发病,必须及早诊断,及早隔离治疗。第一步先捕出患病甲鱼,用清水洗净后放在 10×10^{-6} 漂白粉缸中浸洗15min,第二步再捞出甲鱼放在 2×10^{-6} 孔雀石绿中浸洗20min,第三步将甲鱼用磺胺嘧啶软膏全身涂抹,最后再放在已消毒的池水中,一般多可治愈^[12]。对于病较重的甲鱼可以投喂鱼泰8号或注射氯霉素、链霉素、庆大霉素等,如甲鱼吃不进药可以采取强迫喷药或灌药的办法,促进体内能达到足量的药物,以提高治疗效果。

参 考 文 献

- [1] 黄琪瑛. 水产动物疾病学. 上海: 上海科学技术出版社, 1993, 138~139.
- [2] 郝淑英. 水产养殖, 1984, 4(4): 23~24.
- [3] Popoff M. Genus VI *Aeromonas*, Krieg, N. R. & J. G. Hdt ed., *Bergey's manual of Systematic bacteriology*. (1) Williams Wilkins CO. Baltimore. 1984, 545~548.
- [4] 何晓青. 卫生防疫细菌检验. 北京: 新华出版社, 1989, 259~262.
- [5] 杜念兴. 兽医免疫学. 上海: 上海科学技术出版社, 1985, 245~205.
- [6] 刘恭桓. 微生物和微生物学检验. 北京: 人民卫生出版社, 1987, 100~116.
- [7] 王佳喜. 名特优水产动物病害防治手册. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1993, 95~104.
- [8] 程知之. 国外医学—临床生物化学与检验学分册, 1985, 7(1): 11~15.
- [9] 王广和. 中国人兽共患病杂志, 1988, 4(6): 6~8.
- [10] 陈怀青. 南京农业大学学报, 1991, 14(4): 87~91.
- [11] 张振兴. 实用兽医生物制品技术. 南京: 江苏畜牧兽医学会, 1994, 245~250.
- [12] 陈鹏飞. 淡水渔业, 1994, 24, (4): 38~39.