

# 鲟爱德华氏菌变异株 C9605 及对鳖的致病性研究

肖克宇 江为民 舒新华 金燮理

(湖南农业大学水产系 长沙 410128)

**摘要** 从患白板综合症的病鳖分离到一株细菌(C9605),该菌为革兰氏阴性,直杆状,周生鞭毛。接触酶阳性,氧化酶阴性,还原硝酸盐,对多粘菌素不敏感,不利用柠檬酸盐和丙二酸盐作唯一碳源,不从甘露醇、蔗糖、海藻糖、L-阿拉伯糖产酸。根据这些特性,菌株可归于鲟爱德华氏菌。但是该菌发酵木糖产酸,产生 $H_2S$ ,耐青霉素,故鉴定为鲟爱德华氏菌变异株(*Edwardsiella ictaluri* variation strain)。人工感染实验证实,该菌株是鳖白板综合症的病原菌。

**关键词** 鲟爱德华氏菌,鳖,白板综合症。

**分类号** Q93-31

鳖白板综合症是我国人工养殖鳖新发生的一种传染性疾病,发病率和死亡率高,危害甚大,其病因尚不明了,李荷超等认为可能是水质污染和饲料中有害物质过多导致的综合中毒症<sup>[1]</sup>。作者从病鳖体内分离到一种细菌,经微生物学鉴定为鲟爱德华氏菌变异株,人工感染试验证实可引起健康幼鳖发生自然发病时相似的症状和病变,并出现死亡。现报道如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品来源和细菌分离

3只濒死鳖来源于湖南长沙市望城县某养殖场,体重0.1~0.3kg,主要表现为腹甲苍白,背甲青灰色,头颈伸出,呼吸困难,体表无损伤,口咽腔发白,有少量腹水,肝、肾黄白色,肿大,肠内有少量淤血,其余脏器无明显病变。将病鳖体表用酒精棉球擦拭,无菌水淋洗,无菌纱布吸干,置超净工作台内用紫外灯照射20min,无菌法从肝、肾取材划线接种于普通营养琼脂平板,28℃恒温培养24h,取单个菌落再划线纯化,移种于普通营养琼脂斜面保存。

### 1.2 菌种鉴定

形态检查、生理生化特性测定参见文献[2~3],药敏试验参见文献[4]。

### 1.3 人工感染试验

**1.3.1 动物:**体重50~80g中华鳖购自湖南农科院特种水产研究所。

**1.3.2 菌液制备:**将纯化的分离菌接种普通营养琼脂平板,28℃恒温培养22h,无菌生理盐水洗下菌苔,稀释成每毫升含 $10 \times 10^8$ 个活菌悬液。

**1.3.3 感染方法:**采用肌肉注射和口服两种途径接种。肌肉注射部位为后肢基部肌肉丰满处,剂量为0.3ml。口服感染是先将小套管让鳖咬住,从中插入连接注射器的小橡胶导管至咽腔下,将1ml菌液直接注入食道。两种途径均设用生理盐水对照。各组鳖均分别用水簇箱隔离饲养,水温控制在28~32℃,逐日检查病情。

## 2 结果

### 2.1 细菌分离

用鳖肝脏、肾脏接种的平板上均长有形态特征相同的细菌,从中选出一株代表菌株(C9605)用于试验。

### 2.2 细菌分类鉴定

**2.2.1 菌体形态:**C9605菌株为革兰氏染色阴

性,周生鞭毛,无荚膜和芽胞,直杆状,固体培养 24h 的细胞大小为  $0.5 \sim 0.7 \times 1.2 \sim 2.0 \mu\text{m}$ , 电子显微镜观察结果如图 1。

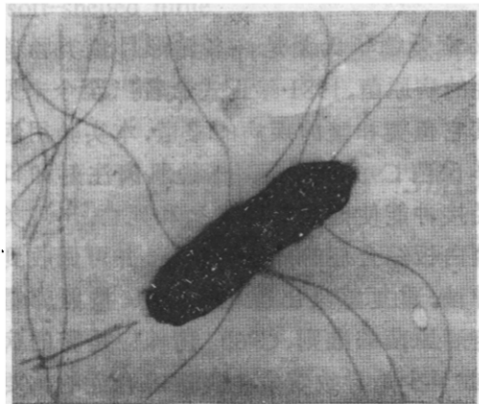


图1 C9605菌株电镜照片(15000×)

**2.2.2 培养特性:** C9605 菌株为兼性厌氧菌,生长温度  $15 \sim 39^\circ\text{C}$ , 最适温度  $28^\circ\text{C}$ , 生长 pH 范围  $5.5 \sim 9.0$ , 最适  $6.5 \sim 7.5$ , 在  $0 \sim 3\%$  NaCl 胨水中生长良好, 在  $4\%$  NaCl 胨水中不能生长。在普通营养琼脂培养基上生长较缓慢,  $28^\circ\text{C}$  培养 24h, 菌落圆形, 隆起, 灰白色, 湿润, 半透明, 直径  $0.5 \sim 1.2\text{mm}$ , 培养 48h 的菌落直径约  $2\text{mm}$ 。在普通肉汤中能缓慢生长, 均匀混浊, 不形成菌膜。在兔血琼脂上生长良好, 弱  $\beta$  溶血。

**2.2.3 生理化特性:** C9605 菌株具有鲍爱德华氏菌 (*Edwardsiella ictaluri*) 相似的生化性状, 见表 1。

**2.2.4 药敏特性:** C9605 菌株对庆大霉素、妥布霉素高度敏感, 对头孢替坦、氨基曲南、丁氨卡那霉素中度敏感, 对替卡西林低度敏感, 对痢特灵、

表1 C9605菌株和*E. ictaluri*的生理性生化特性比较

特 性	C9605	<i>E. ictaluri</i>	特 性	C9605	<i>E. ictaluri</i>
吡啶产生	-	-	从D葡萄糖产气	+	+
M. R	-	-	D-甘露糖	+	+
V. P	-	-	麦芽糖	+	+
硝酸盐还原	-	-	木糖	+	-
产生 $\text{H}_2\text{S}$	+	-	甘露醇	-	-
尿酶	-	-	蔗糖	-	-
DNA酶	-	-	海藻糖	-	-
脂酶	-	-	L-阿拉伯糖	-	-
苯丙氨酸脱氨酶	-	-	甘油	-	-
赖氨酸脱羧酶	+	+	水杨苷	-	-
精氨酸脱羧酶	-	-	卫矛醇	-	-
鸟氨酸脱羧酶	+	+	乳糖	-	-
柠檬酸盐利用	-	-	肌醇	-	-
丙二酸盐利用	-	-	棉子糖	-	-
运动 ( $36^\circ\text{C}$ )	-	-	鼠李糖	-	-
运动 ( $25^\circ\text{C}$ )	+	+	七叶苷水解	-	-
明胶水解	-	-	果胶水解	-	-
KCN生长	-	-	氧化酶	-	-
接触酶	+	+			

注: *E. ictaluri* 性状引自伯杰氏系统细菌学手册(九版)

氯霉素、磺胺甲基异噁唑、四环素、链霉素、红霉素、强力霉素、卡那霉素、青霉素 G、呋喃妥因和多粘菌素不敏感。

### 2.3 致病性

肌肉注射和口服两种途径接种 C9605 菌株的幼鳖均有发病和死亡现象, 注射接种鳖在注射后 10h 注射部位红肿, 第 3d 浮出水面, 反应迟钝, 头颈伸出, 呼吸困难, 腹甲较苍白, 腹甲中

央出现黄豆至蚕豆大暗红区,一周内全部死亡。口服接种鳖发病时间比注射接种的推迟2~3d,出现症状较典型,腹甲苍白,6~9d内死亡率达75%,12d内全部死亡。所有死亡鳖均出现自然发生白板综合症时类似的病理变化。从死亡鳖体内又分离到原接种菌,重复感染获得相同结果,所有对照鳖均未发病死亡。见表2。

表2 C9605菌株对幼鳖的致病力

组别	接种菌数 (cell/只)	试验鳖数 (只)	发病数 (只)	死亡数 (只)
注射接种	$3 \times 10^8$	4	4	4
对 照	0	4	0	0
口服接种	$10 \times 10^8$	4	4	4
对 照	0	4	0	0

### 3 讨论

从湖南省望城县白板综合症病分离到C9605菌株,其菌体革兰氏染色阴性,直杆状,周生鞭毛,兼性厌氧,接触酶阳性,氧化酶阴性,还原硝酸盐,在营养琼脂上培养24h,菌落小,直径0.5~1.2 $\mu$ m,对多粘菌素不敏感,不利用柠檬酶盐、丙二酸盐,不产生吡啶,不从D-甘露醇、蔗糖、海藻糖和L-阿拉伯糖产酸,按伯杰氏系统细菌学手册(第九版)关于爱德华菌属内生物群和种的区分方法分类,C9605菌株应属于鲎爱德华氏菌,但产生 $H_2S$ ,发酵木糖产酸,对青霉素不敏感等性状又有别于鲎爱德华氏菌,因此,

我们将C9605菌株暂定为鲎爱德华氏菌变异株(*Edwardsiella ictaluri* variation strain),该菌株现保存于湖南农业大学水生经济动物病害研究室。

鲎爱德华氏菌是许多鲈形目鱼类肠道败血症的病原菌,1981年正式命名<sup>[6]</sup>,至今未见引起其它鱼类和鳖的疾病的报道,本实验用鲎爱德华氏菌C9605变异菌株经肌肉注射和口服途径接种能使健康幼鳖发病和死亡,出现类似于鳖白板综合症的症状和病变,并可回收到原接种菌,重复感染出现相同结果,按照郭霍氏确定病原菌的准则,C9605菌株应是鳖的病原菌,或至少是导致鳖发生白板综合症的重要病原之一。

### 参 考 文 献

- [1] 李荷超, 田恩善, 宋帆. 科学养鱼, 1995, 6(3): 28~29.
- [2] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978, 82~194.
- [3] 韩文瑜, 何邵阳. 病原细菌检验技术. 长春: 吉林科学技术出版社, 1992, 442~444.
- [4] 谢正易, 吴挹芳. 现代微生物培养基和试剂手册. 福州: 福建科学技术出版社, 1994, 411~434.
- [5] Farmer T J. Berger's Manual of systematic Bacteriology 9th ed, 1984, 486~491.
- [6] Hawhe T P. Int Jour syst Bacterial, 1981, 31(4): 396~400.

## STUDIES ON *EDWARDSIELLA ICTALURI* VARIATION STRAIN (C9605) AND ITS PATHOGENICITY TO SDET-SHELL TURTLES

Xiao Keyu Jiang Weiming Shu Xinhua Jin Xieli

(Faculty of Aqua Culture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128)

**Abstract** A strain C9605 was isolated from the diseased Soft-shell turtles in Wangcheng county, Hunan province. The bacteria are Gram negative, straight rods, with peritrichous flagella, catalase positive, Oxidase-negative, reduce nitrate to nitrite, resistant to colistin. Citrate and malonate are not utilized as sole source of carbon. They do not produce acid from mannitol, sucrose, trehalose and L-arabinose. Based on the characteristics, the strain C9605 could be included

*Edwardsiella ictaluri*, but since C9605 produce acid from xylose, produce hydrogen sulfide and resistand to pentcillinum, it was identified as *Edwardsiella ictaluri* Variation strain. The challenge fest showed that thise strain was the pathogenic bacteria of white abdomen syndrome in soft-shelled turtle.

**Key words** *Edwardsiella ictaluri*, Soft-shelled turtle, White abdomen syndrome