

草鱼出血病

邱并生

(《微生物学通报》编委会 北京 100101)

草鱼 *Ctenopharyngodon idella* 是我国重要的淡水鱼类养殖品种, 但养殖过程极易发生出血病导致草鱼大量死亡, 给草鱼养殖业带来巨大损失。我国在 20 世纪 70 年代开始进行病原的研究, 1980 年发现病毒颗粒并确认为草鱼出血病病原, 1991 年国际病毒分类委员会将其命名为草鱼呼肠孤病毒(Grass carp reovirus, GCRV)。一直以来除呼肠孤病毒感染草鱼引起出血病外, 未见有病毒和细菌混合感染的报道。本刊 2009 年 8 期介绍了邓国成、叶星等发表的文章“草鱼出血病混合感染的嗜水气单胞菌的分离、鉴定与理化特性”^[1]。作者采集广东、福建等省部分地区的病鱼进行病原分析, 发现所检病鱼样本存在病毒和细菌合并感染的情况, 细菌性病原为嗜水气单胞菌 *Aeromonas hydrophila*。研究结果为草鱼病害的有效防治提供了新的思路与科学依据。

该研究小组近年来针对草鱼出血病的病毒性与细菌性病原进一步开展研究。对从草鱼病鱼上所分离到的嗜水气单胞菌, 研究重点放在抗原相关基因的克隆与免疫原性的分析上。克隆了外膜蛋白 OmpW 基因, 采用基因工程技术获得 OmpW 重组蛋白, 重组蛋白免疫草鱼后进行攻毒实验, ELISA 和 Western blot 及 qPCR 分析表明重组蛋白 His-W 可诱导草鱼机体产生免疫应答并产生高效抗体, 不同免疫剂量(2–8 μg/g 鱼体重)均可使 His-W 免疫组获得较高保护率(57%–86%)。因此认为重组 OmpW 可作为草鱼嗜水气单胞菌的候选基因工程亚单位疫苗^[2], 并对毒力基因气溶素(Aerolysin)基因 *aerA* 和溶血素(Hemolysin)基因 *hlyA* 进行序列与功能的分析及抗原区预测, 探讨其作为基因工程候选疫苗的可能性^[3]。

在病毒方面, 该研究组分离纯化了一株强致病性的水生呼肠孤病毒毒株, 由于它源于广东养殖草鱼, 具有 11 个节段的双链 RNA, 因此暂命名为 GCRV-GD108。目前已完成该毒株的全基因组序列分析, 序列比较显示该毒株与草鱼呼肠孤病毒 GCRV 及水生呼肠孤病毒属其它已知种存在较大的分子差异。在此基础上采用 RT-PCR 方法进一步检测了广东、福建、湖南等地近年草鱼出血病流行毒株的分子特性。结果表明各检测样品均可扩增到特异性条带, 而草鱼 GCRV 标准株则无特异条带; 同时根据 GCRV 标准株序列合成的特异引物进行扩增, GCRV 标准株有特异性条带, 而各检测样品则均无带。测序结果显示各样品间相应片段序列的同源性很高(95.2%–99.4%), 与 GCRV-GD108 的相应序列也具有高同源性(95.0%–99.8%), 说明检测样品与 GCRV-GD108 株具有相似的分子特性, 均与 GCRV 及水生呼肠孤病毒属的其它种存在较大差异。此研究结果提示我国养殖草鱼出血病病毒存在着不同的分子类型, GCRV-GD108 株在南方具有一定的代表性, 在病害防控上尤其是疫苗研制与使用上应予关注。此外, 从上述所用引物中筛选出适合于双重 PCR 的引物对, 建立了双重 PCR 检测方法, 可在一次 PCR 反应中鉴别所感染的病毒属于 GC 或 GCRV-GD108 株。相关研究论文已被《病毒学报》录用。近年来国内在草鱼出血病疫苗应用上取得了较好的效果^[4–5]。

关键词: 草鱼呼肠孤病毒, 草鱼出血病, 嗜水气单胞菌, 免疫防治, 疫苗

参考文献

- [1] 邓国成, 江小燕, 叶星, 等. 草鱼出血病混合感染的嗜水气单胞菌的分离、鉴定与理化特性[J]. 微生物学通报, 2009, 36(8): 1170–1177.
- [2] 刘明智, 叶星, 田园园, 等. 嗜水气单胞菌外膜蛋白 W 基因的表达及其免疫原性分析[J]. 微生物学通报, 2011, 38(3): 437–445.
- [3] 刘明智, 叶星, 田园园, 等. 嗜水气单胞菌气溶素和溶血素基因的克隆与结构预测[J]. 江西农业大学学报, 2010, 32(2): 356–362.
- [4] 陈道印, 欧阳敏. 草鱼出血病简易灭活疫苗本地化制作与应用效果观察报告[J]. 江西农业学报, 2009, 21(10): 143–144.
- [5] 林明辉, 刘春花, 陈道印, 等. 草鱼出血病冻干细胞疫苗与三联灭活疫苗在草鱼精养中的应用研究[J]. 江西农业学报, 2010, 22(10): 126–127.

Grass carp bleeding disease

QIU Bing-Sheng

(The Editorial Board of Microbiology China, Beijing 100101, China)

Keywords: Grass carp reovirus, Grass carp bleeding disease, *Aeromonas hydrophila*, Immune control, Vaccine