

鳢爱德华氏病的研究*

韩先朴 李伟

陈光辉

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

(中国粮油进出口公司福建省分公司, 福州)

提 要

本文记述了在我国新发现的鳢爱德华氏病的症状和病原菌的特征。病鱼的症状表现为两大类型,以肾脏病变为主的肾脏型和以肝脏病变为主的肝脏型。

从病鱼的内脏分离到7株菌,用其中的E 86-205进行人工感染,100%的鳢死亡,与自然发病的症状相似,从感染的鳢上又重新分离到菌株E 86-203。E 86-203与E 86-205以及其他菌株的特征也都一致。均为革兰氏阴性杆菌。菌体直,两端圆形,单个,大小为 $0.6-0.8 \times 0.8-2.4$ 微米。周鞭毛,运动,兼性厌氧,发酵葡萄糖产酸产气。氧化酶阴性,过氧化氢酶阳性,产生硫化氢。不能利用柠檬酸盐和丙二酸盐作为唯一的碳源,精氨酸脱氢酶阴性,赖氨酸脱羧酶阳性。属爱德华氏菌属的细菌。但是鸟氨酸脱羧酶阴性,能迅速利用纤维糖,不同于已报道的三个种(*Edwardsiella tarda* Ewing and McWhorter 1965, *E. hoshinae* Grignani 1980, *E. ictaluri* Hawke 1981)中任何一个种,因此认为E 86-205等菌株为一新种,定名为福建爱德华氏菌(*Edwardsiella fujianensis* sp. nov.)。

关键词 爱德华氏病,爱德华氏菌属,鳢

我国福建省有些养鳢场经常流行一种鱼病,引起饲养鳢的批量死亡,给生产带来一定的损失。1986年8月至1987年2月,我们先后从几个养鳢场患病鱼体内分离到一种病原菌,并进行了鉴定和人工感染试验,证实为爱德华氏病(*Edwardsielliasis*)。保科^[4]、Hawke^[3]等先后报道过鳢和斑点叉尾鲷鱼有爱德华氏病,但国内迄今还未见有关鱼类发生爱德华氏病的研究报告。

材 料 与 方 法

1. 用于分离病原菌的培养基成分如下(%)：蛋白胨 1.5, 酵母膏 0.5, 葡萄糖 0.5, K_2HPO_4 0.05, 食盐 0.25, pH 调至 7.2—7.4, 8磅 30分钟灭菌。从病情严重的养鳢池中选取有明显症状的病鱼,取肝脏或肾脏材料在平板上划线分离,室温培养。根据气温高低不同,一般在2—3天后即可看到长出形态基本一致的小菌落,从中选取1—2个单个菌落进行纯培养,转接斜面,供鉴定和人工感染用。

* 承蒙倪达书教授热忱指导并审阅本稿,研究工作得到中国粮油进出口公司福建省分公司资助及邱周平、林仁官、陈晓斐等大力协助,武汉大学生物系学生张七文参加部份工作,刘建雄协助拍摄照片,一并致谢。

1987年8月18日收到。

2. 人工感染用腹腔注射法。活菌计数和细菌鉴定按以前描述的方法进行^[1-3]。

结果与讨论

1. 危害情况 根据我们的调查了解,大多数养鳊场都曾发生过爱德华氏病,造成不同程度的危害。有的损失很大,如B养鳊场12号池于1987年1月下旬发病后每天死亡10余公斤,高峰时每天死亡50余公斤,前后共死亡350余公斤。还有的养鳊场死亡数达数吨之多。1987年2月间,一些养鳊场的白仔鳊相继流行爱德华氏病,病情严重池每天死亡数百尾,损失也很大。

露天养鳊池流行季节一般是以夏季为中心,但从春末到秋都可发生,加温的养鳊池,水温在20℃以上时均可见到爱德华氏病,特别是在白仔鳊饲养诱食阶段,投喂丝蚯蚓时常急性暴发,出现大批死亡的情况。

发病与鱼的年龄没有关系,各生长阶段,无论白仔、黑仔鳊还是成鳊均有感染(表1)。但白仔鳊阶段多为急性型,危害大,来势猛。

2. 主要症状 鱼病的症状表现为两大类型:一种是肾脏型。主要症状在肾脏,从外表看,后肾位置的躯干明显凸出,解剖时可见到后肾肿大、坚实(图1)。另一种是肝脏型。主要症状在肝脏,外表可见到前胸部明显膨出、肿大或前胸部腹壁穿孔、体内外相通。肝脏型病鱼病变过程大致如下:肝脏感染病菌以后,形成一个或数个大小不等的病灶,里面充满脓液,病灶逐步向肝脏表层发展,直至肝表面破溃形成空洞,流出脓液。脓液中的病原菌继续感染相连的肌肉和皮肤。被感染的肌肉、皮肤逐步软化、化脓而穿孔。穿孔继续扩大,直至肝脏露出体外,直至死亡。在发病的养鳊池中可见到病症发展过程中各种不同症状的病鱼。

表1 菌株来源

Tab. 1 Sources of the bacterial strains

编号 Strains	分离时间 Date of isolation	地点 (场) Source	器官 Organ	平均体重 Body weight (Number/Kg)	饲养池水温 Temperature (℃)
E 86-205	1986.8.3.	A	肝	15	28—30
E 87-101	1987.2.5.	B	肝	6.5	81—19
E 87-102	1987.2.5.	B	肾	6.5	18—19
E 87-103	1987.2.23.	C	肝	3 000	28
E 87-104	1987.2.23.	C	肾	3 000	28
E 87-105	1987.2.27.	A	肝	4 000	28
E 87-106	1987.2.27.	A	肾	4 000	28

病鱼体表和鳍条有不同程度的点状出血。

白仔鳊由于体躯肌肉透明,从外表即可见到病变和出血斑。

无论是肝脏型还是肾脏型病鱼均可从肝脏和肾脏同时分离到病原菌。也有的病鱼肝脏、肾脏同时都有症状。稚鳊和成鳊多数表现为肝脏型,而白仔鳊则肝脏型和肾脏型出现的百分率相近。

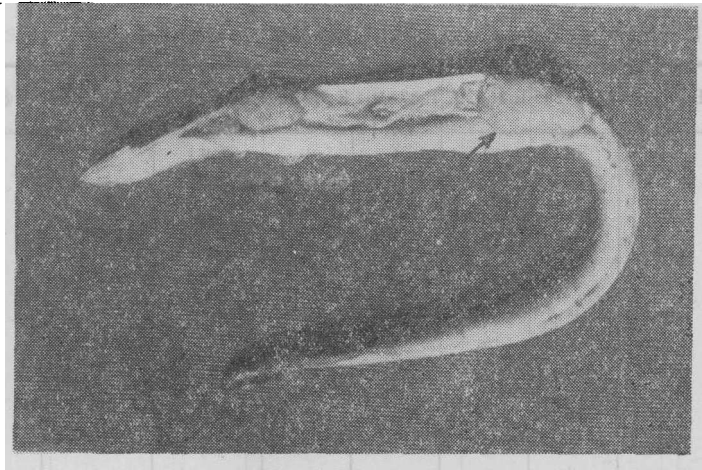


图 1 病鱼肿大的肾脏

Fig. 1 The Swollen kidney of a diseased eel

3. 病原菌的致病性 表 1 列出三个养鳗场分离到的 7 株菌。其中 A 养鳗场和 B 养鳗场的取样池已有批量鳗鲡死亡。用 E 86-205 作代表进行人工感染,每次被感染的鳗鲡 100% 死亡,从感染的病鱼肝脏又重新分离到 E 86-203。用 E 86-203 再次感染,从感染的病鱼上再次分离到 E 86-207。

感染量的不同症状差别较大,第一批感染剂量为 1.76×10^8 个活菌/尾,被感染后在 34 小时内全部死亡,除胸鳍和口腔等处充血外,见不到其他明显症状。随感染量减少,死亡时间延长(表 2),与自然发病的症状越相似。每尾注射 1.7×10^7 活细菌/尾,感染的病鳗,肝脏已出现明显病灶,注射部位穿孔,脓液从穿孔地方流出体外。无论感染剂量多少,除肛门有轻度充血外,消化道无肉眼可见症状。

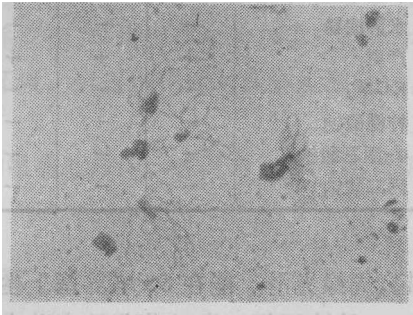


图 2 周鞭毛菌体(鞭毛染色, $\times 1250$)

Fig. 2 Cells with peritrichs

表 2 感染剂量与致死时间

Tab. 2 Time after inoculation when total mortality occurred in relation to the infection dosage

接种量 (Live cell/Fish)	平均体重 (g)	饲养水温 ($^{\circ}\text{C}$)	致死时间 (h)
1.76×10^8	48	24	34
3.50×10^7	129	23	108
1.75×10^7	147	23	216

4. 病原菌的特征: 所有分离菌株的特征基本一致。革兰氏阴性杆菌,菌体直、单个。 28°C 培养 24 小时菌体 $0.6-0.8 \times 0.8-2.4$ 微米,多数为 $0.7-0.8 \times 1.1-1.4$, 随培养时间延长菌体缩短。长时间培养菌体很多呈球形。周鞭毛,运动,无荚膜,无芽孢(图 2)。

在普通培养基上 28°C 培养 48 小时菌落直径为 0.5 毫米左右。正圆形灰白色透明隆

表 3 几个菌株的生化特征

Tab. 3 Biochemical characters of the strains

检查项目 Item of test	E 86-203	E 86-205	E 86-207	E 87-101	E 87-102	E 87-103	E 87-104	E 87-105	E 87-106
接触酶	+	+	+	+	+	+	+	+	+
氧化酶	-	-	-	-	-	-	-	-	-
尿素酶	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脂肪酶	-	-	-	-	-	-	-	-	-
精氨酸脱氢酶	-	-	-	-	-	-	-	-	-
鸟氨酸脱羧酶	-	-	-	-	-	-	-	-	-
赖氨酸脱羧酶	+	+	+	+	+	+	+	+	+
苯丙氨酸脱氢酶	-	-	-	-	-	-	-	-	-
产生硫化氢	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MR 试验	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP 试验	-	-	-	-	-	-	-	-	-
产生吲哚	+	+	+	-	-	+	+	+	+
还原硝酸盐	+	+	+	+	+	+	+	+	+
液化明胶	-	-	-	-	-	-	-	-	-
石蕊牛奶	-	-	-	-	-	-	-	-	-
水解淀粉	-	-	-	-	-	-	-	-	-
产氨	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KCN	-	-	-	-	-	-	-	-	-
柠檬酸钠	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -酒石酸钠	-	-	-	-	-	-	-	-	-
丙二酸钠	-	-	-	-	-	-	-	-	-

起,周缘光滑。能在 SS 培养基上生长。

兼性厌氧。发酵葡萄糖产酸产气,迅速发酵纤维糖。利用果糖、海藻糖、蔗糖、甘油、甘露糖,不利用木糖、棉子糖、七叶灵、水杨甙、卫矛醇、鼠李糖、麦芽糖、甘露醇、淀粉、糖原、阿拉伯糖、肌醇、山梨醇、乳糖、菊糖,微弱利用半乳糖。生化特征见表 3。最适生长温度 28—31℃, 5℃ 和 42℃ 不生长。 在普通液体培养基中食盐的浓度在 3% 以下均能生长。低盐度生长较丰盛。生长 pH 范围为 5.0—8.5。根据以上特性应归属于爱德华氏菌属 (*Edwardsiella* sp.)。

这一属共有三个种,在伯杰氏手册第八版中只记载一种 *Edwardsiella tarda* (应该用 *E. anguillimortifera*)^[5,7]。以后又发现 *E. hoshinae*^[6] 和 *E. ictaluri*^[8]。E 86-205 与 *E. ictaluri* 的特性相差较大,显然不属于 *E. ictaluri*, 与 *E. anguillimortifera* 和 *E. hoshinae* 的特性相近。*E. anguillimortifera* 和 *E. hoshinae* 最显著的区别在于: 利用丙二酸盐和发酵蔗糖。E 86-205 不利用丙二酸盐,与 *E. anguillimortifera* 一致,与 *E. hoshinae* 不同。利用蔗糖与 *E. hoshinae* 一致,与 *E. anguillimortifera* 不同。此外 E 86-205 能迅速利用纤维糖,鸟氨酸脱羧酶阴性,与这两个种明显不同,显然,归属于 *E. anguillimortifera* 或 *E. hoshinae* 都不合适,因此认为 E 86-205 等为一新种,定名为福建爱德华氏菌 (*Edwardsiella fujianensis* sp. nov.)。

5. 药物试验 菌株 E 86-205 对各种药物的敏感程度如表 4。氯霉素、四环素、土霉

表 4 菌株 E 86-205 对几种抗菌素和药物的敏感性

Tab. 4 Sensitivity of the strain E86-205 to several antibiotics and medicaments

浓 度 (ppm)	100	10	1	0.1
青 霉 素	+			
链 霉 素		—	+	
卡那霉素		—	+	
四 环 素			—	+
土 霉 素			—	+
氯 霉 素			—	+
强力霉素		—	+	
庆大霉素		—	+	
鱼 安			—	+
呋喃唑酮		—	+	
福尔马林		—	+	
百 炎 净		—	+	

注: “+”表示在该浓度中生长, “—”表示不生长, 菌体被杀灭或抑制。

素都有较好的抑制效果, 而且均可混合在饲料中投喂, 适宜作预防和治疗用药。鱼安、福尔马林和呋喃唑酮杀菌效果较好, 在有效范围内鳗鲡能忍受, 可用于全池泼洒杀灭池水中的病原菌, 预防传染。其中鱼安用量少, 经济, 不污染环境, 但超过用量对鳗鲡刺激较大, 不如呋喃唑酮安全。

同其他鱼类致病菌比较, E 86-205 对呋喃唑酮的敏感性较差, 这可能与养鳗场长期使用呋喃唑酮消毒有关。

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。
- [2] 韩先朴、卢全章, 1984。鳗鲡弧菌病原菌的分离与鉴定。微生物学报, 24(4): 386—391。
- [3] 韩先朴、李伟、徐伯亥, 1987。斑点气单胞菌对草鱼的毒力。水生生物学报, 11(3): 284—286。
- [4] 江草周三, 1983。鱼病学。恒星社厚生阁。
- [5] Buchanan, R. E. & Gibbons, N. E., 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed. The Williams & Wilkins Co, Baltimore, 290—296.
- [6] Grimont, P. T., Grimont, D. F., Richard, C. and Sakazaki, R., 1980. *Edwardsiella hoshinae*, a new species of Enterobacteriaceae. *Curr. Microbiol.*, (4): 347—351.
- [7] Sakazaki, R. and Tamura, K., 1975. Priority of the specific epithet *anquillimortiferum* over the specific epithet *tarda* in the name of the organism presently known as *Edwardsiella tarda*. *Int. Jour. Syst. Bacteriol.*, 25(2): 219—220.
- [8] Hawke, John, P., McWhorter, Alma, C., Steigerwalt, Arnold G. and Brenner, Don J., 1981. *Edwardsiella ictaluri* sp. nov. the causative agent of enteric septicemia of Catfish. *Int. Jour. Syst. Bacteriol.*, 31(4): 396—400.

STUDY ON THE EDWARDSIELLIASIS OF THE EEL

Han Xianpu and Li Wei

(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan*)

Cheng Guanghui

(*China National Cereals, Oil & Foodstuffs Import & Export Corporation Fujian Branch, Fuzhou*)

Abstract

The present paper describes the symptoms of Edwardsielliasis and the characters of its pathogenic bacteria which are epidemic in some eel farms in Fujian Province.

There are two types of symptoms of the diseased eel: the kidney type which shows mainly the pathological change in the kidney, and the liver type which shows mainly the pathological change in the liver.

The strains of pathogenic bacteria isolated from the liver and kidney of diseased eels had identical characters. They belong to the genus *Edwardsiella*. The artificial infection was made by using E86-205 and all the infected eels died. The symptom was similar to that of natural incidence. When infection dosage was 1.7×10^7 active bacteria for each eel, mortality occurred, after eight days. Again, the strain E86-203 was isolated from the infected dead eels and its characters were the same as those of E86-205. Both strains belonged to Gram-negative bacteria, measuring $0.6-0.8 \times 0.8-2.4 \mu\text{m}$. They were peritrichous, motile, and facultatively anaerobic. They may ferment glucose and produce hydrogen sulfide; they are oxydase negative, peroxide hydrogenase positive, lysine decarboxylase positive, and ornithine and arginine negative. They may quickly utilize cellobiose.

The above characters are different from those of *Edwardsiella tarda*, *E. hoshinae* and *E. ictaluri*. So, E86-205 is considered as a new species, and is named *Edwardsiella fujianensis* sp. nov.

Key words Edwardsielliasis, *Edwardsiella*, eel