

二龄草鱼肠炎病的研究*

徐伯亥 熊木林 韩先朴 卢全章 葛蕊芳

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

提 要

本文从细菌学、血清学、鱼体免疫以及药物治疗等几个方面, 阐明了点状产气单胞菌是二龄草鱼肠炎病的病原菌。另外还对这种细菌特性及其致病方式进行了讨论, 并对该病的诊断提供了方法。

关键词 产气单胞菌、肠炎病、草鱼

1958年王德铭等从患病草鱼中分离到一种肠型点状产气单胞菌 (*Aeromonas punctata* f. *intestinalis* Wang) 代号为58-20-9^[1]。该菌通过对健康草鱼的腹腔注射感染, 获得阳性结果, 而浸泡或口服均不能使健康草鱼感染; 加上多年来从鱼体免疫和药物防治效果来看, 也颇不一致。从而对产气单胞菌是否就是草鱼传染性肠炎的致病菌, 产生了怀疑。从1964年起, 作者继续采用口喂以促进肠道感染的方法寻找该病的致病菌, 但坚持了10年(1964—1974)却始终没有分离到口喂成功的致病细菌^[2]。

在这10年期间, 我们又先后从患病草鱼中, 通过注射感染, 分离到毒力较强的64-16-35, 73-9-7, 73-20-5等菌株。经鉴定它们与58-20-9同属一种点状产气单胞菌。同时还发现患出血病的草鱼也往往表现肠道发炎, 与草鱼肠炎病不易区分。倪达书教授分析认为磺胺类药物能治好60—70%二龄草鱼“桑尖瘟”(4—5月的二龄草鱼病), 并推测出“桑尖瘟”中有60—70%由细菌引起的可能性^[3]。根据这一推论, 我们通过细菌学、血清学、鱼体免疫以及药物治疗等工作, 进一步阐明产气单胞菌是二龄草鱼细菌性肠炎病的致病菌。而本文不涉及由病毒引起的肠道发炎的病毒病——草鱼出血病^[4]。

材 料 与 方 法

(一) 材料来源

病鱼材料从湖南岳阳南湖养殖场和湖北鄂城各养殖场的天然发病池中获得, 并且所有病鱼都是半死不活的二龄草鱼“殃胚”。

(二) 采血及取肠方法

采血 先用70%酒精擦拭鱼体表消毒, 按无菌操作在胸腔剪一小孔, 刺破心脏取血,

* 湖南省岳阳市南湖渔场刘金武、夏小温及湖北省鄂州市水产局徐兴川同志的大力协助,特此致谢。

1985年11月15日收到。

1) 倪达书, 1980。论草鱼细菌性肠炎与草鱼出血病的关系。鱼病简讯, (19):1-4。

将血液吸入无菌离心管中，置 4,000 转/分离心 10 分钟，吸出血清置 4℃ 冰箱中保存备用。

取肠 鱼体表用 70% 酒精擦拭消毒后，从肛门后剪开，然后向上朝前剪成弧形，掀开游离腹壁，展现肠道。从距肛门 1 厘米处剪断，再往前 3 厘米处剪断，取出约 2 厘米长的后肠，置无菌小烧杯中，称其重量。

(三) 定量和定性方法^[3,14]

定量方法：剪碎，用 10 倍 0.85% 无菌生理盐水洗下，置匀浆器中研磨 10 分钟，吸出 0.5 毫升移入已盛 4.5 毫升无菌生理盐水管中，摇匀后同样吸出 0.5 毫升于下一管，以此类推，择用 3 个不同稀释度各吸出 0.1 毫升，置于备有选择和区分产气单胞菌培养基的平板表面，涂抹均匀，每稀释度设 3 个重复，28℃ 培养 24 小时后计数。

定性方法：选取生长稀疏的菌落平板，挑取细菌移植斜面，培养后加无菌水制成悬液，置冰箱中保存。供生理生化测定和制备抗原时使用。

(四) 培养基和生理生化测定^[7]

1. 蛋白胨牛肉膏培养基：蛋白胨 10 克，牛肉膏 5 克，食盐 5 克，磷酸氢二钾 2 克，蒸馏水 1,000 毫升，pH 7.2—7.4，15 磅 30 分钟灭菌。

2. Rimler-Shotts 培养基(简称 R-S 选择和鉴别培养基)^[12] L——赖氨酸盐酸盐 (L—Lysine-hydrochloride) 5.0 克；L——鸟氨酸盐酸盐 (L—Ornithine-hydrochloride) 6.5 克；麦芽糖 3.5 克；硫代硫酸钠 (Sodium thiosulfate) 6.8 克；L——半胱氨酸盐酸盐 (L—Cysteine-hydrochloride) 0.3 克；溴麝香草酚蓝 (Bromo thymol blue) 0.03 克；去氧胆酸钠 (Sodium deoxycholate) 1.0 克；新生霉素 (Novobiocin) 0.005 克；酵母浸膏 3.0 克；食盐 5.0 克；琼脂粉 13.5 克；蒸馏水 1,000 毫升，pH 7.0。

加热溶解，经常搅拌，使药溶解，煮沸 1 分钟，待培养基冷却至 45℃，倾注平板，贮于冰箱中保存。接种培养于 37℃，20—24 小时获得最好鉴别。

3. 选择和区分产气单胞菌培养基^[8]：蛋白胨 10 克；牛肉膏 10 克；肝糖 (Glycogen) 4 克；食盐 5 克；溴麝香草酚蓝 0.1 克；硫酸十二烷基钠 (Sodium lauryl sulfate) 0.1 克；琼脂粉 16 克；水 1,000 毫升，pH 7.2—7.5。10 磅 20 分钟灭菌。

生理生化测定：见鲢鳙鱼打印病致病细菌的研究^[4]，嗜水气单胞菌一点状产气单胞菌群的分类研究^[10]以及一般细菌常用鉴定方法^[3]。

(五) 血清学分析^[2,11]

抗原制备：细菌经琼脂平板 28℃ 24 小时培养后，加生理盐水洗下，制成浓菌液，置 100℃ 加热 2 小时 30 分，破坏“H”抗原。置冰箱中，注射时稀释到所需浓度。

“O”血清制备：将上述“O”抗原，注射家兔耳静脉内和草鱼腹腔中，每 5 天一次，剂量从 0.2, 0.4 到 1 毫升(鱼体第三针是 0.5 毫升)。最后一次注射后 10 天采血。

玻片凝集反应：将抗血清用生理盐水稀释成 1:10，滴加生理盐水于清洁玻片上左右各 1 滴，随后蘸刮少许菌苔，分别混匀，在其中一方加 1 滴血清，另一方不加作对照，混匀

稍等片刻,肉眼或置低倍显微镜下观察。

试管凝集试验: 采用连续倍数稀释法。

步 骤 和 结 果

(一) 正常草鱼肠道、心血和内脏中细菌的数量和类别

要使患病草鱼肠道和内部器官中细菌的变化有所比较,就必须以正常草鱼作为基础。因此我们在发病前和发病过程中,对6条正常草鱼的肠道进行了分离测定。从6条正常草鱼肠道中获得99个菌株,经鉴定表明:其中有64个菌株类似球状到杆状,极端单鞭毛的形态,革兰氏染色阴性,细胞色素氧化酶、氧化酶阳性,发酵葡萄糖产酸产气或产酸不产气,对0/129弧菌抑制剂不敏感等产气单胞菌的主要特性。说明该菌是在正常草鱼肠道内原来就存在的类群,也是草鱼肠道中常居者。

与此同时,我们又用R-S选择和鉴别培养基进行培养试验,表明产气单胞菌是优势种(表1),与上述结果一致。

表1 R-S培养基上产气单胞菌出现的频率

Tab. 1 Frequency of occurrence of *Aeromonas* on R-S media

鱼体大小 (cm) Size of fish	水温℃ Water temperature	充实度 Intestinal fullness of feeding	黄 (个) Yellow	绿 (个) Green	绿(中带黑) Green (blackish centrally)	总计 (个) Total	百分率(%) Percentage
12(10.1)×2.5	14	5	620	0	0	620	100
21.5(18.7)×4.2	15	5	19.5	14.5	33	67	2.9
11.8(10.9)×2.7	17	1	8	1	1	10	80
14.8(12.3)×2.9	17	1	6.6	7	1	74	90
14.2(11.8)×2.7	21.5	0	5.5	0.5	3.5	9.5	58

黄: 产气单胞菌属 (*Aeromonas*); 绿: 极毛杆菌属 (*Pseudomonas* spp.), 埃希氏菌属 (*Escherichia*), 肠杆菌属 (*Enterobacter*); 绿(中间带黑): 爱德华氏菌属 (*Edwardsiella*)

12条正常草鱼心血和内脏(脾、肝、肾)中,细菌的调查结果(表2)表明:无论是在冬天,还是在夏天(水温12—31℃),草鱼在正常情况下,心血和内脏中是无菌的。

(二) 患病鱼肠道和心血中的细菌数量和血清学测定

草鱼细菌性肠炎病与病毒性出血病往往并发,亦均能引起草鱼肠道充血发炎。对一尾病鱼来说,可能集几种症状于一身,使诊断产生困难。从选择和区分产气单胞菌培养基测定的结果可以看出:症状以肠道发炎为主的(其他症状不明显)病鱼,肠道和心血中所含的产气单胞菌的数量之多,为其他各组所不及;肠道发炎并伴有红鳍红鳃盖的以及正常鱼的肠道中所含菌量则相对要少(表3,表4)。

病鱼肠道中产气单胞菌数量的增加,是否包含有类型的变化呢? 我们从上述肠炎和正常鱼肠道的细菌计数平板中,择其生长稀疏的平板,考虑到其代表性和工作量,各挑取10个菌落,共20个菌株。对这20个菌株进一步从血清学角度来比较其异同。我们将从

表 2 正常草鱼内部器官中细菌的调查

Tab. 2 Bacteria found in internal organs of normal grass carp

鱼体大小 Size of fish (cm)	水温(℃) Water temper- ature	培养温度(℃) Incubation temperature	培养基 Medium	检查部位 Location of examination	结果(个) Result			
					24h	48h	72h	96h
18.5(16.2)×3.3	12	28	营养琼脂	肝	1	1	1	1
				脾	0	1	2	2
				肾	0	0	0	0
				心血	0	0	0	0
16.4(14.2)×3.0	12	28	营养琼脂	肝	0	0	0	0
				脾	0	1	1	1
				肾	0	0	0	0
				心血	2	60	98	98*
15.2(13.5)×3.0	12	28	营养琼脂	肝	0	0	0	0
				脾	0	0	0	0
				肾	0	0	0	0
				心血	0	0	0	0
17(14.5)×3.0	12	28	营养琼脂	肝	0	0	0	0
				脾	0	0	0	0
				肾	0	0	0	0
				心血	0	0	0	3
23.8(21)×4.5	15	28	营养琼脂	肝	0	0	0	0
				脾	0	1	1	1
				肾	0	0	0	0
				心血	0	0	0	0
24(21)×3.8	15	28	营养琼脂	肝	无 菌			
				脾	无 菌			
				肾	无 菌			
				心血	无 菌			
19(15.5)×3.0	24	28	营养琼脂	肝	无 菌			
				脾	无 菌			
				肾	无 菌			
				心血	无 菌			
18.5(15.5)×2.8	24	28	营养琼脂	肝	无 菌			
				脾	无 菌			
				肾	无 菌			
				心血	无 菌			
34.5(28)×7.4	30	28	营养琼脂		0	0	0	0
27(23)×5.7	30				0	0	0	0
22.5(18.5)×4	31				4	4	4	4
23(19.5)×4.1	31				0	0	0	0

* 菌落很小；生长慢。

表3 湖南病鱼、正常鱼的肠道与血液中细菌数量的比较

Tab. 3 Comparison of bacterial densities in intestine and blood between diseased and healthy fish from Hunan

症状 Symptom	来源 Source	充实度 Intestinal fullness of feeding	水温 Water temperature (°C)	鱼体大小 Size of fish (cm)	一环心血中的 菌数(个) Number in a loop	肠道中菌数个/克* Intestinal bacterial counts cell/g
正常	二队 网箱	1	31	22.5(18.5)×4	4	1.53×10^5
		1	31	23(19.5)×4.2	0	2.67×10^5
		4	27	19.5(15.3)×4.4	0	8.4×10^8
	五队 网箱	2	25	30.5(26.8)×6.3	0	4.4×10^7
		2	25	29(25)×6.2	8	4.5×10^7
红鳍红 鳃盖肠炎	二队千亩湖	0	26	21.5(18.4)×4.5	2	1.3×10^5
		0	26	21(17.8)×4.3	0	7.8×10^5
		1	-	31(27.4)×7.8	9	3.7×10^6
肠炎	七队张家叉 七队8号池	0	30	16.5(13.7)×3.5	无法计数	9.0×10^{10}
		0	32	13.5(11.2)×3	无法计数	7.5×10^{11}

* 因吸管有差误仅表示趋势。

表4 湖北病鱼、正常鱼肠道中细菌数量的比较

Tab. 4 Comparison of bacterial densities in intestine between diseased and healthy fish from Hubei

症状 Symptom	来源 Source	充实度 Intestinal fullness of feeding	水温 Water temperature (°C)	鱼体大小 Size of fish (cm)	肠道中菌数个/克 Intestinal bacterial counts cell/g
正常	三山 渔场	5	33.2	15(12.5)×3.3	9.8×10^6
		5		14.5(12)×3.2	8.6×10^6
		5		14(11.7)×3	1.0×10^7
红鳍红 鳃盖 肠炎	泽林 养殖场 三山渔场	0	29.5	20.5(17.5)×4.5	1.46×10^7
		0		21(17.8)×4.2	1.26×10^7
		0		33.5(31)×7.0	1.56×10^7
		0		17.5(14.8)×3.5	1.31×10^7
	长港 渔场 三山渔场	0	28.3	30.5(26)×6	8.1×10^7
肠炎	长港 渔场 三山渔场	0		28(23.8)×6.0	1.9×10^8
		0		25(19)×5.5	4.0×10^9
		0		22(19)×4.5	1.0×10^8

肠炎病鱼中所得到的菌株,通过加热去“H”抗原,注射鱼体和家兔制备抗血清,然后将它与上述20个菌株进行凝集试验和效价测定,两者结果基本一致(表5,6)。肠炎病鱼肠道中所增加的这些细菌,其血清型是不同的。为了便于叙述起见,我们把这种血清型暂称为“BD”血清型。也就是说,当二龄草鱼患细菌性肠炎病时,这种点状产气单胞菌中的“BD”血清型在剧烈增加,该血清型的点状产气单胞菌,可能就是使二龄草鱼生病,致死的病原菌。

与此同时,我们又用肠炎病鱼肠道中所分离到的细菌作抗原,注射家兔和鱼体制备的

表 5 10号病鱼细菌的抗血清与各种细菌的凝集效价

Tab. 5 Agglutinating titer of bacterial antisera of No. 10 diseased fish with various bacteria

Number of bacterium 菌号	Antisera 抗血清	Item 项目	凝集反应效价 Agglutination titer								
			10-1	10-2	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	10-8	10-9
4-3*						+80			+2560		+80
4-4	+640	+160			+320				+320		+320
4-8						+640	+640				
4-10							+640			+640	
10-1	+160	+80		+80							+160
10-3			+640				+320	+320			
10-4		+40		+320					+40		
10-5				+160	+640	+80	+160				
10-6					+80	+640	+320			+80	
10-7					+160	+640	+640			+40	
10-8					+160	+160	+160	+80			
10-9					+320	+320	+160		+1280		
10-10											+80

* 4-1, 4-2, 4-5, 4-6, 4-7, 4-9, 10-2 没有测出效价。空格均为 0。

表 6 10号病鱼细菌的兔血清与各种细菌的凝集效价

Tab. 6 Agglutinating titer of rabbit antisera of the bacteria from No. 10 diseased fish with various bacteria

项目 Item	Antisera	凝集反应效价 Agglutination titer				
		10-3	10-5	10-6	10-7	10-9
菌号 Number of bacterium						
4-4*	+320	+320	+40	+40		
10-2		+80	+320	+320		
10-3	+640	+320	+320	+80		
10-4		+320	+640	+320		+640
10-5		+640	+640	+640		
10-6		+640	+1280	+160		+1280
10-7		+640	+640	+640	+160	
10-9	+320	+640	+160		+2560	

* 4-1 到 4-3, 4-5 到 4-10, 10-1, 10-2, 10-8, 10-10 均测定没有效价, 空格为 0。

抗血清, 与我们以往所分离到的 58-20-9, 64-16-35, 73-9-7, 73-20-5 等 4 株菌进行凝集反应, 可是只与 73-9-7 菌有阳性反应, 且效价很低, 仅有 1:20—1:40, 说明它们血清型不尽相同。表明这 4 株菌可能还包括不了使鱼发病的所有血清型。

(三) 天然患病二龄草鱼血清的血清学检验

为了进一步阐明以往所分离到的 58-20-9 等 4 株点状产气单胞菌, 是否就是草鱼肠炎病的致病菌, 我们将浙江和湖北两地的天然发病病鱼的血清作为抗体, 与 58-20-9 等 4

表 7 天然发病的病鱼血清与4株菌的凝集反应

Tab. 7 Agglutinating tests of the antisera of yearling enteritis grass carp in nature reacted with four bacterial strains

血清号* Number of serum	症状 Symptom			菌号 Number of bacterium			
	前肠 Foregut	中肠 Midgut	后肠 Hindgut	58-20-9	64-16-35	73-9-7	73-20-5
1	+	++	+++				+
2	++	+++	+++			+++	+
3	++	+++	+++			++	+
4	++	++				++	+
5		+	++		++	+++	++
6	++	++	+		+	++	+
7	++	+++	+++			++	
8	++	++	++			+++	
9	++	++	++		±	++	
10	+	+			±	+++	
11	+	+	++			++	
12	-	-	++		++	+	+++
13	++	+	+		+++	++	+
14			+			+++	
15	+	+	+			+	
16	+++	+	+++			+++	
17	±	+	+	+		+++	
18	+		+			+++	
19	++	+	++	++	±	+++	
20 ¹	+++	+++	++	++	++	++	
21	+	+	+				++
22	+	+	+				+
23	+	+	+				+
24	++	++	++				+
25					+		
26						+	
27						+	
28						+	++

* 1-20 号血清来自浙江省病鱼, 21-28 号来自湖北。

株菌进行凝集试验。结果表明 20 尾浙江病鱼有 19 尾的血清与 73-9-7 菌株有凝集, 出现率为 95%; 而湖北的 8 尾病鱼却有 6 尾的血清与 73-20-5 菌株发生凝集, 出现率为 75%; 与 58-20-9 和 64-16-35 菌株发生凝集反应的出现率不高(表 7)。

我们又将 58-20-9 等 4 株菌进行血清学比较, 结果 73-20-5, 73-9-7 血清型较接近, 而 58-20-9, 64-16-35 两株菌各有各的血清型(表 8)。可见地区不同或同地区不同鱼池所出现的细菌其血清型是不同的。

(四) 鱼体免疫试验

我们将产气单胞菌做成菌苗。用出血病病鱼的脏器做成疫苗, 注射鱼体, 放养于网箱

表 8 4 株菌之间的交叉凝集

Tab. 8 Cross agglutination tests among four bacterial strains

Antisera Number of Bacterium 菌号	58-20-9				64-16-35				73-9-7				73-20-5			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
58-20-9	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64-16-35	-	-	-	-	+	+	++	++	+	-	++	+	-	-	-	+
73-9-7	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+++	++	+++	+	+	++	++
73-20-5	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	++	+	+	+	+	+

注: “-”不凝集; “+”凝集; “++”较显著; “+++”显著。

表 9 菌苗和疫苗注射免疫试验

Tab. 9 Immunity test of bacterial vaccine and hemorrhage vaccine

时间.地点 Date place	类别 Type	鱼体大小 Size of fish (cm)	注射鱼数(尾) Number of fish injected	成活数(尾) Survive	死亡数(尾) No. of death	成活率(%) Survival rate
湖 北 云梦县 1982年	疫苗	15-20	50	40	10	80
	菌苗	15-20	50	30	20	60
	对照	15-20	50	0	50	0
湖 北 麻 城 1982年	疫苗	10-15	100	94	6	94
	菌苗	10-15	100	85	15	85
	对照	10-15	158	122	36	77

中, 观察其抗病情况, 结果是疫苗和菌苗都有免疫力, 而疫苗免疫力要比菌苗强(表 9)。

(五) 发病鱼池药物治疗试验

为了更进一步阐明产气单胞菌是二龄草鱼肠炎病的致病菌, 和对上述试验结果的验证。我们采用对细菌病有效, 而对病毒病无效的药物——呋喃唑酮 (Furanzolidone), 在天然发病池中进行治疗。下药前预先捞取“殃胚”鱼, 检查内脏是否含菌, 然后下药, 每百斤鱼用药 10 克拌饵投喂, 连续五天。结果是天门县东风渔场 1 号池, 内脏无菌的情况下, 治疗效果不好; 而病鱼内脏有菌的健康渔场 7 号池和鄂州市三山渔场 4 号池, 下药后死亡数量逐渐减少, 药喂完后停止死亡。

讨 论

草鱼细菌性肠炎病, 就目前我们的研究结果来看, 主要指的是二龄草鱼的肠炎病, 该病在我国饲养鱼类中是相当严重的病害之一。

近年来我们通过对病鱼体内的细菌学测定、血清学分析、鱼体免疫以及药物治疗等试验, 进一步证实了点状产气单胞菌 (*Aeromonas punctata*) 是二龄草鱼肠炎病的致病菌。

草鱼细菌性肠炎病的病原菌, 除了王德铭报道外, 台湾省吴伸元 (1971)^[15] 也有报道,

都认为其致病菌是点状产气单胞菌,通过注射获得感染。

在 Bergey's 细菌鉴定手册第八版中^[7], 记述产气单胞菌属 (*Aeromonas*) 下设三个种——嗜水产气单胞菌 (*A. hydrophila*), 点状产气单胞菌 (*A. punctata*) 和灭鲑产气单胞菌 (*A. salmonicida*)。后者主要是鲑鳟鱼类的病原菌,此菌在我国目前尚未发现。而前两者, McCarthy (1973)^[9], Popoff (1976)^[10] 等学者都认为是同物异名, 我们同意这一看法,按照优先律应该用点状产气单胞菌这个名称。

Snieszko (1964)^[13]和 Bullock (1964)^[6]将鱼类的病原菌分为专一性病原菌和条件性病原菌两大类,把产气单胞菌列入条件性病原菌。根据我们从正常鱼体的检查中看到,此菌在正常鱼体肠道中是一常居者。在天然水体中和水底部都大量存在, 同鱼接触的机会是很多的。当鱼处在良好条件时,虽然感染但不发病。在恶劣条件下,才导致流行病的爆发。这种所谓的恶劣条件相当复杂,可能是综合性的,非一般所能模拟。这可能就是口服难以成功的原因。

从我们的血清学分析中可以看到,这种菌有许多血清型,这也可能就是多年来进行鱼体免疫,效果不稳定的原因所在。因为我们还不可能在制备菌苗时,把所有血清型都包括进去。

由产气单胞菌所引起的肠炎病,往往与病毒性出血病并发,在天然状况下,单纯细菌性肠炎病的出现率并不高,因此给药物治疗造成困难。近年来,我们用对付病毒性出血病脏器疫苗来对付细菌性肠炎病,同样可以收到很好的效果,可能病毒促使宿主机体发生改变,导致鱼体抵抗力下降,防御功能降低,从而细菌容易侵入血液和内脏组织中,并在其中大量繁殖,造成鱼体严重损伤和出现全身中毒症状——败血症 (Septicemia)。事实告诉我们,这两种病的关系是相当密切的。

用检查病鱼心血和内脏中细菌的方法,在某种程度上,可以作为诊断的一种手段,可能有助于对症下药,提高疗效。

至于对这种病的治疗,过去已经研究了一些方法,找到了几种有效药物,如磺胺胍、大蒜、金霉素和土霉素等;后来又有许多中草药应用于治疗肠炎、如地锦草 (*Euphorbia humifusa* L.) 穿心莲 (*Andrographis Paniculata*) 等。但在与病毒性出血病并发的情况下,便达不到应有的疗效。在这种情况下,最好是制作疫苗、进行鱼体免疫。

参 考 文 献

- [1] 王德铭、葛蕊芳、吴兰影、王银妙, 1959。鲩、青鱼传染性肠炎的研究 1. 肠炎致病细菌的研究。水生生物学集刊, (3): 241—254。
- [2] 上海市卫生防疫站, 1979。细菌检验。上海科学出版社。p. 33—50。
- [3] 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。
- [4] 徐伯亥、葛蕊芳、熊木林, 1980。鲢鳙鱼打印病致病细菌的研究。海洋与湖沼, 11(1): 85—93。
- [5] 湖北省水生生物研究所第三室, 1977。草鱼肠炎病病原研究的进展。水生生物学集刊, 6(2): 245—246。
- [6] Bullock, G. L., 1964. *Pseudomonades as fish pathogens. Dev. Ind. Microbiol.* (5): 101—108.
- [7] Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons (eds.), 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8th ed. Williams and Wilkins, Co., Baltimore, p345—348.
- [8] McCoy, R. H. and K. S. Pilcher, 1974. Peptone beef extract glycogen agar, a selective and differential *Aeromonas* medium. *J. Fish. Res. Board. Can.* 31: 1553—1555.
- [9] McCarthy, D. H., 1973. Thesis. Institute of Biology, London.
- [10] Popoff, M. and M. Veran, 1976. A taxonomic study of the *Aeromonas hydrophila*-*Aeromonas punctata* group.

J. Gen. Microbiol. 94: 11—22.

- [11] Paterson, W. D., Douey, D. and D. Desautels, 1980. Relationships between selected strains of typical *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*, and *Haemophilus piscium*. *Can. J. Microbiol.* 26: 588—598.
- [12] Shotts Jr., E. B. and R. Rimler, 1973. Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. *Appl. Microbiol.* 26: 550—553.
- [13] Snieszko, S. F., 1964. Remarks on some facets of epizootiology of bacterial fish diseases. *Dev. Ind. Microbiol.* 5: 97—100.
- [14] Trust, T. J. and R. A. H. Sparrow, 1974. The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fishes. *Can. J. Microbiol.* 20: 1219—1228.
- [15] Wu, Sheng-yu, 1971. A disease of the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) and its chemotherapeutical control. *Aquatic Sci & Fish. Abstracts.* 2(2): p. 140. 1972.

STUDIES ON THE ENTERITIS OF YEARLING GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*)

Xu Bohai Xiong Mulin Han Xianpu Lu Quanzhang and Ge Ruifang

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan)

Abstract

The fact that *Aeromonas punctata*, a bacterium, causes enteritis of grass carp was reported decades ago, yet some suspicions against the pathogen have since been aroused, mainly because oral infections with the isolated strains of this bacterium were ineffective. The therapeutic effects of antibacterial medicines on diseased fish were also uncertain. Attempting to clarify the matters, further studies on this disease with yearling grass carp from Hunan and Hubei provinces were proceeded during 1964—1974. Oral infections were still unsuccessful, but more injurious strains were isolated from fish showing enteric symptom under natural condition and were identified to belong to the same species previously reported. Other results in relation to fish enteritis were also obtained. They provided additional evidence that may further confirm the originally reported pathogen.

Bacteriologically, the abundance of *Aeromonas* was found to be related to enteric disease. In 1g fish hind-gut, the number of bacteria (mostly *Aeromonas*) was 10^8 — 10^{11} for diseased fish but 10^5 — 10^7 for normal ones. This relationship was even more prominent in fish blood, in which bacteria were normally absent, yet they increased to a considerable number when fish were suffering from enteritis.

In serological and immunological aspects, it should be mentioned that bacteria derived from pond-fish with enteritis from natural source could be agglutinated by the antisera of pure strains of *A. punctata*, and *vice versa*.

Treatments of enteric fish through diet containing antibacterial medicine, e. g. Furanzolidone, were practiced and fairly good results have been obtained, provided that it was not complicated by hemorrhage.

Key words *Aeromonas punctata*, enteritis, grass carp