

鳎爱德华氏病病原菌及一新种

王国良 徐兴林 路 正

(浙江水产学院宁波分院, 315010)

提 要 本文报道在我国浙江省发现的鳎爱德华氏病病原菌特征。从患病鳎内脏分离到9株菌,用其中的E895205等4株菌进行人工感染,死亡率均为100%,与自然发病症状相似。这些菌株的特征一致。均为G⁻短杆菌,单个,周鞭毛,兼性厌氧,发酵葡萄糖产酸产气。氧化酶阴性,接触酶阳性,产H₂S。不能利用柠檬酸盐和丙二酸盐作为唯一碳源,鸟氨酸和赖氨酸脱羧酶阳性。属爱德华氏菌属细菌。比较已报道的四个种,认为E895205等菌株为一新种,定名为浙江爱德华氏菌(*Edwardsiella zhe jiangensis* sp. nov.)。

关键词 爱德华氏病,爱德华氏菌属,浙江爱德华氏菌,鳎

我国浙江省各养鳎场常流行爱德华氏病,引起饲养鳎的批量死亡,也有出现大批死亡情况,给生产造成较大损失。已成为当今养鳎业中的主要病害之一。1987年10月至1989年6月,我们对鳎爱德华氏病进行流行病学调查及病原菌的分离,鉴定和人工感染试验。国内外先后有Hoshina[1962]、Ewing[1965]、Sakazaki[1975]、Hawke[1981]、韩先朴[1989]等报道鱼类爱德华氏病及其病原菌的研究工作。本文报道鳎爱德华氏病一种新病原菌的生物学性状及致病性。

一、材料与方 法

1. 病原菌的分离 分离病原菌培养基成分(%):胰蛋白胨1,酵母膏0.5,NaCl0.5,琼脂1.8,pH7.2—7.4,15磅20分钟灭菌。从浙江省水产试验场养鳎池中选取有明显症状的病鳎,以无菌操作取肝、肾或血液等材料在平板上划线分离。25—28°C培养48小时后,选取形态一致的单个菌落进行纯培养,转接斜面,供鉴定和人工感染用。

2. 病原菌的致病性试验 将分离得到的纯培养菌种在斜面上培养18—24小时,用无菌生理盐水制成细菌悬液。稀释成感染用浓度,给体重5—10g的健康鳎每尾背部肌肉注射0.1ml,同时设对照。被接种的鳎与对照鳎分别饲养在25—28°C的清水中,随时观察。同时测定每毫升菌悬液的活细菌数。

3. 生理生化特性 依常规方法进行[中科院微生物研究所,1987;韩先朴等,1989]。

二、结 果

(一) 病鳎主要症状

病鳎的外表症状为胸、背、臀鳍均充血;肛门扩大且突出,周围发红肿胀;腹部显著发

红肿胀,失去弹性,严重的在肝脏部位穿孔,可见肝脏外露。体内肝、肾都有症状,但以肝脏较为严重,明显肿大,色泽不匀有浊斑;盲囊充水,肠没有显著症状。

(二) 病原菌的致病性

从病鳗的肝、肾和血液等部位中分离到 9 株菌。选择了其中 E895201、E895202、E895205 和 E895206 等 4 株菌进行人工感染,死亡率均为 100%。从感染的病鳗中又重新分离到病原菌,并以 E895205-2 为代表作再次感染,被感染的鳗鲡 100% 死亡(见表 1)。人工感染的鳗鲡起初在注射部位出现充血,随着时间延长,各鳍条出现点状或丝状充血,活动能力明显减弱,直至死亡。肝、肾都肿大,肝脏有混浊斑,肛门充血。与自然发病症状相似。对照组无症状。

表 1 几个菌株对鳗鲡的致病性

Table 1 Virulence of strains in the experimental infection of eels

菌 株	活细胞数 (cell/ml)	剂 量 (ml)	鱼体重 (g)	死亡数/ 试验数	致死时间 (h)
E895205	2.6×10^8	0.1	5-10	5/5	18-46
E895201	2.6×10^8	0.1	5-10	5/5	16-45
E895202	2.6×10^8	0.1	5-10	5/5	20-47
E895206	2.6×10^8	0.1	5-10	5/5	18-46
E895205-2	2.6×10^8	0.1	5-10	5/5	16-46
对 照	无菌生理盐水	0.1	5-10	0/5	

注: E895205-2 为再次感染菌株。

(三) 病原菌的特性

所有分离菌株的特征基本一致。革兰氏阴性短杆菌,菌体直,两端圆形,单个。26°C 培养 24 小时菌体为 $0.5 - 0.8 \times 0.8 - 1.5 \mu\text{m}$ 。周鞭毛,运动,无荚膜,无芽孢(图 1)。在



图 1 E895205 菌株菌体电镜照片(20,000×)

Fig. 1 Electron micrograph of strain E895205(20,000×)

普通培养基上 26°C 培养 48 小时菌落直径为 0.7mm 左右。正圆形灰白色透明隆起, 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。利用纤维糖、蔗糖、甘油、甘露糖、果糖、乳糖、阿拉伯糖、半乳糖、麦芽糖, 不利用甘露醇、山梨醇、肌醇、鼠李糖、棉子糖、菊糖、淀粉、海藻糖、卫矛醇、糖原、水杨甙、木糖、七叶灵。生理生化特性见表 2。

表 2 几个菌株的生化特性
Table 2 Biochemical characters of the strains

特 性	E895205	E895201	E895202	E895206	E895205-2
接触酶	+	+	+	+	+
氧化酶	-	-	-	-	-
脲酶	-	-	-	-	-
脂肪酶	-	-	-	-	-
精氨酸脱氢酶	-	-	-	-	-
鸟氨酸脱羧酶	+	+	+	+	+
赖氨酸脱羧酶	+	+	+	+	+
苯丙氨酸脱氨酶	-	-	-	-	-
MR	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	-
水解淀粉	-	-	-	-	-
产氨	+	+	+	+	+
还原硝酸盐	+	+	+	+	+
产生吲哚	+	+	+	+	+
产 H ₂ S	+	+	+	+	+
液化明胶	-	-	-	-	-
石蕊牛奶	-	-	-	-	-
柠檬酸钠	-	-	-	-	-
酒石酸钠	-	-	-	-	-
KCN	-	-	-	-	-
丙二酸钠	-	-	-	-	-

表 3 几个菌株对抗生素的敏感性
Table 3 Sensitivity of the strains to antibiotics

抗 生 素	E895205	E895201	E895202	E895206	E895205-2
链霉素	+	+	+	+	+
新霉素	++	++	++	++	++
苯唑青霉素	-	-	-	-	-
磺胺甲基异恶唑	+++	+++	+++	+++	+++
先锋霉素	++	++	++	++	++
卡那霉素	+++	+++	+++	+++	+++
多粘菌素 B	+	+	+	+	+
土霉素	+++	+++	+++	+++	+++
氯霉素	+++	+++	+++	+++	+++
四环素	++	++	++	++	++
庆大霉素	++	++	++	++	++
麦迪霉素	-	-	-	-	-
羧苄青霉素	+	+	+	+	+
呋喃唑酮	++	++	++	++	++
红霉素	+	+	+	+	+
洁霉素	-	-	-	-	-
金霉素	++	++	++	++	++

注: “+++”: 高度敏感; “++”: 中度敏感; “+”: 敏感; “-”: 不敏感。

最适生长温度 26—30°C, 5°C 和 42°C 不生长。在普通液体培养基中, NaCl 浓度在 0—3.5% 的范围内均能生长, 在 0.5—2% 的 NaCl 中生长较丰盛。生长 pH 范围为 4.7—9.0, 在 pH4 以下或 pH10 以上不生长。几个菌株对抗生素的敏感性见表 3。

三、讨 论

1. E895205 等的分类位置 根据细菌形态和生理生化试验结果, 可以确定 E895205 等菌株属于肠杆菌科爱德华氏菌属 (*Edwardsiella* Ewing & McWhorter 1965), 但与该属的已知种又有所区别。这一属中现已报道的共有四个种, 国外的手册中只记载一种即迟缓爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*) [Buchanan 和 Gibbons, 1974], Sakazaki [1975] 曾提出将 *E. tarda* 改用鳗致死爱德华氏菌 (*E. anguillimortifera*), 但国际微生物命名委员会确定用 *E. tarda*。还有三个种是保科爱德华氏菌 (*E. hoshinae*) [Grimont 等, 1980]、叉尾鲷爱德华氏菌 (*E. ictaluri*) [Hawke 等, 1981] 和福建爱德华氏菌 (*E. fujianensis*) [韩先朴等, 1989]。

E895205 等与 *E. ictaluri* 的特性比较, 有较大差异, *E. ictaluri* 在甲基红试验、H₂S 试验、吲哚试验和运动性几个方面都为负反应, 而 E895205 等为正反应, 所以不能归属于 *E. ictaluri*。但与 *E. hoshinae*、*E. tarda* 和 *E. fujianensis* 的特性较相近 (见表 4)。E895205 不利用甘露醇、海藻糖和丙二酸盐, 与 *E. tarda* 一致, 与 *E. hoshinae* 不同。E895205 和 *E. fujianensis* 都能利用蔗糖和纤维糖, 与 *E. tarda* 不同, *E. hoshinae* 能利用蔗糖而不利用纤维糖。E895205 在海藻糖、麦芽糖和鸟氨酸脱羧酶三个方面, 均与 *E. fujianensis* 不同。此外, E895205 能利用阿拉伯糖和乳糖, 与这三个种明显不同。从以上比较可见, E895205 等菌株归属于 *E. tarda*、*E. hoshinae* 或 *E. fujianensis* 都不合适。因此, 我们认为 E895205 等菌株为一新种, 定名为浙江爱德华氏菌 (*Edwardsiella zhejiangensis* sp. nov.)。典型菌株为 E895205, 存浙江水产学院宁波分院。

表 4 几个菌株的特性比较

Table 4 Comparison of the characters of the strains

特 性	迟缓爱德华氏菌	保科爱德华氏菌	福建爱德华氏菌	E895205
丙二酸盐	-	+	-	-
甘露醇	-	+	-	-
海藻糖	-	+	+	-
蔗糖	-	+	+	+
纤维糖	-	-	+	+
阿拉伯糖	-	-	-	+
麦芽糖	+	+	-	+
乳糖	-	-	-	+
鸟氨酸脱羧酶	+	+	-	+

2. 浙江爱德华氏菌 (*Edwardsiella zhejiangensis* sp. nov.) 的特征 短杆状细菌, 0.5—0.8 × 0.8—1.5 μm, 菌体直, 两端圆形, 单个, 革兰氏染色阴性, 周鞭毛, 运动, 无荚

膜,无芽孢。在普通培养基上 26°C培养 48 小时的菌落为正圆形灰白色透明隆起,周缘光滑,直径为 0.7mm 左右。能在 SS 培养基上生长。

兼性厌氧。发酵葡萄糖产酸产气。利用纤维糖、蔗糖、麦芽糖、阿拉伯糖和乳糖,不利用甘露醇和海藻糖。柠檬酸盐和丙二酸盐不能作为唯一碳源。产 H_2S , 产生吲哚,还原硝酸盐。甲基红试验阳性, V. P. 反应阴性。接触酶、鸟氨酸脱羧酶和赖氨酸脱羧酶阳性;氧化酶、脲酶、脂肪酶、精氨酸脱氢酶和苯丙氨酸脱氨酶阴性。在含 0—3.5% NaCl 的培养液中生长, NaCl 浓度高于 3.5% 则不生长。低于 5°C 或高于 42°C 不生长。生长 pH 范围为 4.7—9.0, 在 pH4 以下或 pH10 以上不生长。

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, 135—187。科学出版社(京)。
- [2] 韩先朴等, 1989。鳃瓣爱德华氏病的研究。水生生物学报, 13(3): 259—264。
- [3] Buchanan, R. E. & Gibbons, N. E., 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 290—296. 8th ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- [4] Ewing, W. H. *et al.*, 1965. *Edwardsiella*, a new genus of *Enterobacteriaceae* based on a new species, *E. tarda*. *Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon.*, 15: 33—38.
- [5] Grimont, P. A. D. *et al.*, 1980. *Edwardsiella hoshinae*, a new species of *Enterobacteriaceae*. *Curr. Microbiol.*, (4): 347—351.
- [6] Hawke, J. P. *et al.*, 1981. *Edwardsiella icatului* sp. nov., the causative agent of enteric septicemia of Catfish. *Int. Jour. Syst. Bacteriol.*, 31(4): 396—400.
- [7] Hoshina, T., 1962. On a new bacterium, *Paracolobactrum anguillimortiferum* n. sp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 28: 162—164.
- [8] Sakazaki R. *et al.*, 1975. Priority of the specific epithet *anguillimortiferum* over the specific epithet *tarda* in the name of the organism presently known as *Edwardsiella tarda*. *Int. Jour. Syst. Bacteriol.*, 25(2): 219—220.

THE PATHOGENS AND A NEW SPECIES OF EDWARDSIELLIASIS IN EELS

Wang Gueliang, Xu Xinlin and Lu Zheng

(Zhejiang Fisheries College, Ningbo Branch, 315010)

ABSTRACT The present paper describes the characters of pathogenic bacteria of Edwardsielliasis in eels in Zhejiang Province. The four strains isolated from the liver, kidney and blood of the diseased eels were shown to be the cause of the disease by infection experiment. The symptom was similar to that of natural incidence.

These bacterial isolates are short rod shaped, 0.5—0.8X0.8—1.5 μ m, arranged singly, Gram-negative, motile by peritrichous flagella, no capsule and spore, and facultatively anaerobic. Produce acid and gas from glucose, produce hydrogen sulfide and indole. Nitrate is reduced. They can utilize cellobiose, sucrose, maltose,

arabinose and lactose, and can not utilize mannitol and trehalose. Citrate and malonate are not utilized as sole source of carbon. M. R. test is positive and V. P. reaction is negative. Catalase, lysine decarboxylase and ornithine decarboxylase are positive and oxidase, urease, lipase, arginine dehydrolase and phenylalanine deaminase are negative. They can grow in 0—3.5% NaCl, or at pH among 4.7—9.0, but can not grow in medium containing NaCl more than 3.5%, or at pH 4 and pH 10, or at 5°C and 42°C.

According to the morphological features, physiological and biochemical characteristics of the strains E895205, they are different from those of *Edwardsiella tarda*, *E. hoshinai*, *E. ictaluri* and *E. fujianensis*. So, E895205 can be considered as a new species, and it is named *Edwardsiella Zhejiangensis* sp. nov. Type culture is deposited in the Zhejiang Fisheries College, Ningbo Branch, Ningbo Municipality.

KEYWORDS *Edwardsielliasis*, *Edwardsiella*, *Edwardsiella Zhejiangensis*, eel

欢迎订阅《水产养殖》

《水产养殖》是江苏省水产学会等单位主办的国内外公开发行人刊物。她坚持为水产养殖生产服务的办刊宗旨,贯彻理论联系实际、普及与提高相结合的办刊方针,并密切注意水产养殖生产的发展水平,从生产实际需要出发,报道水产科研成果、交流水产技术经验、传布水产科学知识、沟通水产情报信息,以促进水产养殖生产的发展。

《水产养殖》主要刊登鱼虾贝藻等海水及淡水水产动植物、名贵水产动植物、特种水产动植物的养殖技术、人工繁殖技术、苗种培育技术、病害敌害防治技术以及各类水体增养殖技术、饲料开发利用技术等方面的稿件及有关信息。内容实用,形式活泼。

《水产养殖》的主要读者对象是各级水产科技工作者、水产院校师生、以及从事水产养殖生产的人员,并兼顾其他有关专业读者。

《水产养殖》是双月刊,每逢单月1日出版,每期定价1.20元,全年6期,共7.20元。全国各地邮局都可订阅。如当地邮局订阅不便,也可直接汇款到编辑部订阅。

编辑部地址:南京市,南湖,江苏省淡水水产研究所内;

邮政编码:210017。