

副溶血弧菌对文蛤的致病性及其防治

PATHOGENICITY OF *VIBRIO PARAHAE-* *MOLYTICUS* TO HEALTHY CLAM *MERETRIX MERETRIX* AND THE PREVENTION AND TREATMENT OF *VIBRIO* INFECTIONS

沈亚林 于业绍

(东海水产研究所, 上海 200090)

Shen Yalin and Yu Yeshao

(East China Sea Fisheries Research Institute, Shanghai 200090)

关键词 文蛤, 副溶血弧菌, 防治

KEYWORDS *Meretrix meretrix*, *Vibrio parahaemolyticus*, prevention and treatment

八十年代以来,江苏南部沿海屡次发生文蛤大批死亡现象,使文蛤资源量急剧下降,生产遭受重大损失。关于文蛤大批死亡的原因研究,目前已有几篇报道。郑国兴等〔1991〕从病文蛤体内分离到溶藻弧菌并证实其致病性。王广和等(1991)研究证实弗尼斯弧菌是引起文蛤大批死亡的病原菌。杨美桂等(1978)报道了1977年引起台湾新竹区养殖丽文蛤大量死亡的病原菌——副溶血弧菌。但有关文蛤病的防治,国内外尚未见报道。为了了解副溶血弧菌对文蛤的致病性,探讨人工感染过程中细菌密度与文蛤患病之间的关系以及药物治疗方法,作者于1991年在江苏启东县黄海盐场进行了有关试验,现将结果报道如下。

一、材料与方 法

1. 病原性试验 副溶血弧菌和溶藻弧菌分别分离于中国对虾和病文蛤。感染方法为浸浴。每个5升容器放养壳长3.7—4.4厘米文蛤10只。细菌制成悬液,用量杯加入不同浓度试验组。细菌计数采用TCBS平板涂布法。

2. 药物治疗试验

(1) 药敏试验 采用纸片琼脂扩散法,纸片由上海医疗器械试剂供应部提供。

(2) 抗菌素在不同pH条件下最低抑菌浓度测定 四环素(效价981)为上海第三制药厂提供。培养基为无盐蛋白胨10克,氯化钠20克,蒸馏水1升。调整pH值至6.0、7.0、8.0和9.0。高压灭菌后

收稿日期:1992-09-07。

(1) 王广和等,1991。文蛤弗尼斯弧菌研究报告。全国第一届致病性弧菌学术研讨会论文集,73。

测得相对应 pH 值分别是 6.2、7.3、8.1 和 8.8。抗菌病物母液是将抗菌素加入相同培养基制成,其目的在于不使试管中的培养基因加入药物而稀释。每支试管加菌液一滴,摇匀,在 30°C 下培养四天,观察细菌生长。

(3) 室内治疗试验 用副溶血弧菌感染健康文蛤获得病文蛤。为使感染条件相对一致,将 110 只文蛤放入 2 只盛水 20 升的大盆(细菌密度 $2.2 \times 10^6/\text{ml}$)中感染 48 小时,选出 100 只文蛤分成五组进行药物治疗试验。试验期间每 24 小时换水换药,施药三天。

实验海水为水库沉淀海水, pH 7.2—7.5; 比重 1.014—1.018; 水温 23.8—28.0°C。

二、试验结果

(一) 病原性试验结果

病原性试验结果表明,副溶血弧菌对健康文蛤具有很强的致病性。患病文蛤松口、足伸出、对刺激反应迟钝、外壳边缘附有粘液、足端略为变红、离水不久体液溢出,其症状与自然发病文蛤相似。感染死亡率可高达 100% (表 1)。副溶血弧菌对文蛤致病性与感染水体中细菌密度密切相关, χ^2 值为 62.260 远远超过非常显著临界值 13.277 ($\gamma=3, p=0.01$) (表 2)。细菌密度越高,文蛤死亡率越高,而且死亡集中,潜伏期相对较短;反之则潜伏期长,死亡持续时间亦长。

表 1 副溶血弧菌、溶藻弧菌感染文蛤的死亡量

Table 1 Mortality of *Meretrix meretrix* challenged with *V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus*

菌 株	细菌密度	受试文蛤数 (只)	死 亡 数 (只)					死亡数/总数
			1	2	3	4	5(日)	
副溶血弧菌	6.5×10^6	10	7	3				10/10
溶藻弧菌	9.8×10^6	10		2	2			4/10
对 照	1.8×10^3	10						0/10

注:对照组的细菌密度为海水弧菌本底数。

表 2 不同浓度副溶血弧菌感染文蛤的死亡量

Table 2 Mortality of *Meretrix meretrix* challenged with different concentrations of *V. parahaemolyticus*

细菌密度	受试文蛤数 (只)	死 亡 数 (只)									死亡数/总数
		1	2	3	4	5	6	7	8	9(天)	
1.48×10^5 (I杯)	20							1			1/20
$2 \times 1.48 \times 10^5$ (II杯)	20				1		1	1	2	2	7/20
$3 \times 1.48 \times 10^5$ (III杯)	20			4	4	3	2	2			15/20
6.45×10^5 (IV杯)	20			5	4	6	5				20/20
1.4×10^3 对照	20										0/20

注:对照组的细菌密度为海水弧菌本底数。

(二) 药物治疗试验结果

1. 药敏试验 副溶血弧菌对抗菌药物敏感性测定结果表明,本菌对氯霉素、四环素、强力霉素、复方TMP、呋喃唑酮、卡那霉素、庆大霉素、红霉素、新霉素高度敏感,抑菌圈大于16mm;对麦迪霉素、链霉素、先锋霉素V、丁胺卡那霉素中度敏感,抑菌圈10—16mm;而对青霉素G、羧苄青霉素显示抗性,抑菌圈小于7mm。

2. 不同pH条件下最低抑菌浓度 四环素在不同pH条件下对副溶血弧菌、溶藻弧菌和鳃弧菌的最低抑制浓度见图1。四环素的药效受海水pH影响甚大,在碱性溶液中易破坏失效。当pH在6.2—7.3范围时,四环素对副溶血弧菌的最低抑制浓度(2ppm)保持不变,当pH从7.3上升到8.1时,曲线开始上升,最低抑制浓度增大;当pH值达到8.8时,曲线直线上升,最低抑制浓度达15ppm,是原来的7.5倍。四环素对溶藻弧菌的最低抑制浓度略低于副溶血弧菌,而鳃弧菌是三者中最易被抑制的弧菌。

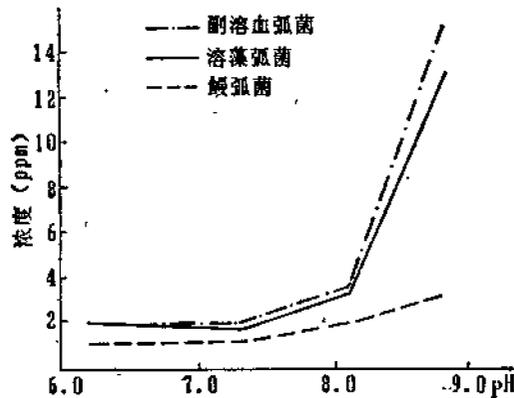


图1 四环素在不同pH条件下的最低抑菌浓度

Fig. 1 Minimal inhibitory concentrations of tetracycline under the various pH

3. 室内治疗试验 四环素对文蛤弧菌病的治疗效果见表3。从表中可以看出,连续施用四环素三天对治疗文蛤弧菌病有效。当四环素浓度为4ppm时,治疗成活率可达90%。应用统计方法检验, χ^2 值(31.694)超过非常显著临界值13.277($\gamma=4, p=0.01$),这说明五个实验组之间的差别非常显著。

表3 不同四环素浓度对文蛤弧菌病治疗效果观察

Table 3 Treatment effects of diseased *Meretrix meretrix* with different tetracycline concentrations

浓度 (ppm)	受试文蛤数 (只)	死亡数(只)							死亡数/总数
		1	2	3	4	5	6	7(天)	
1	20	1	1	1	4	3	1		11/20
2	20		1	1	1	1			4/20
3	20	1			2		1	1	5/20
4	20	1						1	2/20
对照	20	2	2		2	4	6	1	17/20

注:虚线框内表示药浴。

三、讨 论

1. 副溶血弧菌通常被认为条件致病菌,广泛存在于海水中,能引起虾(叶孝经、王文兴,1986)、蟹[Krantz, G. E.等,1969]及海产贝类[Bartly 和 Slanetz, 1971]患病。作者在调查中,从海水、健康文蛤内脏团中多次分离到副溶血弧菌。探讨副溶血弧菌对文蛤的致病性有助于进一步揭示文蛤弧菌病。此外,副溶血弧菌较溶藻弧菌和鳃弧菌更难抑制,研究副溶血弧菌引起的文蛤病治疗方法具有普遍意义。

2. 文蛤具有与鱼、虾不同的滤水特性。感染试验中,细菌密度、水体大小、受试文蛤数量三者中改变任何一个因子都会影响随水流进入文蛤体内的细菌数量。以往感染只采用单一浓度,判断感染成功率及分离菌株毒力常带有偶然性。对文蛤发病与水体中细菌浓度关系的探讨,有助于今后对分离菌株致病性及毒力的判断,提高感染成功率。

3. 文蛤是滩涂上自然生产的贝类,试图在广阔无边的滩涂进行治疗确实难以办到。近年来随着文蛤价值提高,原先生长在滩涂的文蛤逐渐被移入堤内蓄水池、水渠和养殖池内(单养或与对虾混养),为治疗文蛤弧菌病创造了有利条件,使之成为切实可行。在生产上可将池水排至10—20公分,然后施药,这样可以降低成本。

在探讨药物治疗过程中,曾使用强力霉素、消毒灵进行试验。尽管强力霉素在试管中的最低抑菌浓度低于四环素,但二者在相同浓度下治疗结果差别不显著,考虑到强力霉素价格是四环素的七倍。本文未将结果总结入内,用10ppm消毒灵治疗文蛤病的效果不显著。

本研究是瑞典国际科学基金会(International Foundation for Science)资助的项目A/1319-1。实验承蒙郑国兴副研究员,李何,盛文权及黄海盐场协助,谨此致谢。

参 考 文 献

- [1] 郑国兴等,1991. 文蛤病原菌(溶藻弧菌)的分离与性状及病文蛤组织的电镜观察。水产学报,15(2): 85—95。
- [2] 杨美桂等,1978. 新竹区养殖文蛤病原菌 *Vibrio parahaemolyticus* 之分离。农发会鱼病研究专集(二)(台刊),59—67。
- [3] Bartley, C. H. and L. W. Slanetz, 1971. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in estuarine waters and oysters of New Hampshire. *Appl. Microbiol.*, 21: 965—966.
- [4] Krantz, G. E. et al., 1969 *Vibrio parahaemolyticus* from the blue crab, *Gallinectes sapidus*, in Chesapeake Bay. *Science*, 164: 1286—1287.