

江苏地区渔源嗜水气单胞菌流行病学调查

刘训猛¹, 习丙文², 胡翔¹, 王习达¹, 袁锐¹, 吴亚锋¹, 陈辉¹, 方苹^{1*}

(1. 江苏省水生动物疫病预防控制中心, 南京 210036; 2. 中国水产科学院淡水渔业研究中心, 无锡 214081)

摘要: 以江苏地区主要淡水渔业养殖品种为研究对象, 无菌采集样品肝、脾、肾、腹腔积液和血液增菌纯化后, 用 API20E 试剂条检测嗜水气单胞菌阳性样品 92 份, 阳性率为 17.79%。同时用 PCR 方法对 92 株初筛阳性进行验证核对, 得到 60 株可鉴定到种的嗜水气单胞菌, 其余 32 株可以鉴定到气单胞菌属。同时对 92 株阳性菌株进行溶血性试验, 其中 60 株菌具有溶血性, 32 株不具有溶血性。对采样数据进行综合分析, 在 12 个采样地区样品中均有携带, 携带率最低为金坛的 10%, 最高为大丰的 30.77%。在 3-10 月采样期内均有检出, 其中从 6 月份开始增加, 7-9 月份较其他月份具有比较明显的增加。从病原生物侵袭品种上看, 此次调查的主要淡水养殖品种嗜水气单胞菌平均品种检出率为 17.79%。

关键词: 嗜水气单胞菌; 16SrRNA; 流行病学

中图分类号: S917.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2017)03-0381-07

Epidemiological investigation of piscine source *Aeromonas hydrophila* in Jiangsu region

LIU Xunmeng¹, XI Bingwen², HU Xiang¹, WANG Xida¹, YUAN Rui¹, WU Yafeng¹, CHEN Hui¹, FANG Ping¹

(1. Jiangsu Center for Control and Prevention of Aquatic Animal Infectious Disease, Nanjing 210036;

2. Freshwater Fisheries Research Center of Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081)

Abstract: The notorious pathogen of *Aeromonas hydrophila* has high genetic and phenotyping diversity in fisheries aquaculture, which has caused severe mortality of fishes in freshwater fish farming. In this study, we isolated and purified the bacteria from the liver, spleen, kidney, peritoneal effusion and blood of the main reared fishes in Jiangsu region, and tried to unclothe the infection prevalence of *A. hydrophila*. Ninety-two out of the total isolated bacteria (17.79%) were identified as *A. hydrophila* using API20E method, while 60 out of the 92 isolates were confirmed as *A. hydrophila* by PCR method, and the other 32 isolates were detected as *Aeromonas* spp. The hemolytic test showed that 60 out of the 92 isolates were positive. *A. hydrophila* was detected in all 12 sampling localities, and the highest positive rate (30.77%) occurred in Dafeng, the lowest in Jintan (10.00%). *A. hydrophila* was detected between March and October, and it increased since June, reaching the peak between July and September. The assessment of *A. hydrophila* infection in different cultured fish species showed an average detection rate of 17.79%.

Key words: *Aeromonas hydrophila*; 16SrRNA; epidemiology

嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 为革兰氏阴性杆菌, 在世界各地自然环境中分布较为广泛。海产品检查中发现在印度南海岸的鲸和虾体上^[1], 未经处理的井水中^[2], 以及土壤、海水、淡水、农产品和污水中均能分离到。Park 等检测了 84 份海鲜样品, 在 27 份样品中发现了 91 株嗜水气单胞菌, 进一步的检测发现 91 株气单胞菌中绝大部分均可产生溶血素^[3]。Radu 等报道从水体、土壤、浮游生

物及下水道中分离和鉴定的气单胞菌属细菌中嗜水气单胞菌占 41.7%, 并且都能产生细胞毒素^[4]。

嗜水气单胞菌在被分离发现的初期, 由于其非主要的致病病原而被忽略。但最近几十年不断引起人、畜、鱼致病的信息屡见报道, 因而受到人类医学、畜牧医学和水产医学界的重视^[5]。在人类医学临床中, 可导致肝胆疾病及恶性肿瘤等免疫功能较低者感染发病, 且病死率很高^[6-7]。在水产养殖中,

收稿日期: 2016-08-03

基金项目: 江苏省水产三新项目(D2015-11; D2013-5)资助。

作者简介: 刘训猛, 工程师。E-mail: lxmxmeng@163.com

* 通信作者: 方苹, 高级工程师。E-mail: fang-ping@126.com

嗜水气单胞菌可引起多种水生动物养殖的传染病。国内外已有学者做了相关研究报道,从发病的鳊鱼体^[8]、斑点叉尾鮰^[9]、罗非鱼体^[10]、欧鳊体^[11]、黄鳝体^[12]和鳖体^[13]分离得到的病原菌均为嗜水气单胞菌。此外,两栖类的牛蛙^[14],观赏类的金钱鱼^[15]等均亦有类似报道。本研究将为江苏地区渔源性气单胞菌病的流行病学分析、疾病预防和治疗等方面提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验试剂:普通营养肉汤培养基、普通营养琼脂培养基、碱性胨水培养基和MH琼脂培养基购于杭州天和生物试剂公司;API20E细菌生化鉴定试剂条为法国梅里埃公司生产;琼脂糖、50xTAE电泳缓冲液、10×TE由上海生工生物工程技术服务有限公司购置;SDS、蛋白酶K、酚/氯仿(1:1)混合液、无水乙醇、引物27F、引物1492R、10×PCR缓冲液、dNTP Mixture、MgCl₂(0.025 mol·L⁻¹)和TaqDNA聚合酶由上海皓嘉科技发展有限公司购置。

1.2 方法

1.2.1 采样 2014—2015年连续2年对江苏12个县(市、区),每个县(市、区)选取2个重点养殖场或养殖户(养殖场、户的选择以典型品种、养殖面积及品种差异化等原则为主),每年的3—10月中旬左右在样品点进行活体采样,未发病的样品点每个样品采样5~10尾,发病样品点每个样品采集3~5尾,发病期将采样频次由每月1次增加到每10~15 d 1次。

1.2.2 病原分离 将采样样品用酒精(75%)体表消毒后进行解剖,无菌采集肝、脾、肾(约0.1 g)及血液和腹腔积液0.1 mL,置于碱性胨水培养液,30℃恒温24 h培养后,各取1接种环培养液于普通营养琼脂培养基平板上,划线,30℃恒温24 h培养,挑选表面光滑微凸、无色或淡黄色菌落进行纯化。将纯化的菌株转接至普通营养琼脂斜面,4℃保存备用。

1.2.3 病原鉴定 生理生化鉴定:取纯化后的菌株应用API20E细菌生化快速鉴定试剂条进行生理生化鉴定。

16S rRNA鉴定:(1)DNA提取。将待检菌株接种营养肉汤培养基,37℃振荡培养24 h,收获细菌。加TE缓冲液467 μL,100 mg·mL⁻¹ SDS 30 μL,20 mg·mL⁻¹蛋白酶K 3 μL,55℃温育1 h。等体积酚-氯仿混合液抽提,转移上层水相(重复2次)。

加1/10体积3 mol·L⁻¹醋酸钠,轻轻混匀。加2倍体积无水乙醇,于-20℃沉淀。使用前14 000 r·min⁻¹离心3 min,700 mL·L⁻¹乙醇洗涤2次,55℃烘干。加20 μL TE溶解,4℃保存备用。

(2)PCR扩增。应用16S rRNA基因序列通用引物:27F:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'(对应于*E.coli* 16SrRNA基因的第8~27位碱基);1492R:5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'(对应于*E.coli* 16SrRNA基因的第1 492~1 510位碱基)。反应体系:10×PCR缓冲液10 μL,10 mmol·L⁻¹ dNTP Mixture 2 μL,10 μmol·L⁻¹ 27F和1492R引物各5 μL,MgCl₂(0.025 mol·L⁻¹)2.5 μL,5 U·μL⁻¹ TaqDNA聚合酶1 μL,模板10 μL。扩增条件95℃预变性5 min,94℃变性45 s,54℃退火45 s,72℃延伸90 s,35个循环,72℃延伸10 min,4℃保存。PCR扩增产物用10 g·L⁻¹琼脂糖凝胶电泳回收,由上海生工生物工程技术服务有限公司纯化和测序。

(3)序列及聚类分析。待鉴定菌株16S rRNA基因序列,采用DNA Star5.02(DNA STAR Inc)软件对所测序列进行对比分析。通过NCBI的BLAST检索系统进行序列同源性比较,使用Clu-stalX1.83软件与GenBank数据库中获得菌株的16S rRNA基因序列进行多序列匹配排列。

1.2.4 溶血性试验 对生理生化鉴定结果和16S rRNA鉴定结果进行比较,选取鉴定嗜水气单胞菌阳性的菌株,用普通营养琼脂培养基进行复苏培养。将复苏的阳性菌划线于血琼脂培养基上,30℃恒温24 h培养,观察各阳性菌对血琼脂培养基的溶血状况。

1.2.5 流行病学分析 依据江苏省采样、分离鉴定和药敏试验结果,进行数据的处理分析,继而从时间上和空间上对江苏省水产养殖主要品种的病原分布情况,不同品种的发病状况、发病季节、主要危害的养殖品种、耐药性状况以及主要发病的季节、水温等方面进行分析。

2 结果与分析

2.1 样品采集分布情况

调查共采集样品517份,采集养殖品种有异育银鲫、草鱼、鳊鱼、鲢鱼、鲤鱼、鳙鱼、鲈鱼、斑点叉尾鮰、河蟹、小龙虾、青虾、南美白对虾和罗氏沼虾,共计13个主要养殖品种(见表1)。主要采样地点为金坛、江宁、通州、泗洪、句容、宝应、江都、姜堰、兴化、常熟、大丰和新沂,共计12个主要养殖县(市、区)(见表2)。

表 1 不同采样品种阳性率
Table 1 Positive rate of different varieties of sampling

采样品种 Variety	样品采集数 Number of sample	阳性数 Positive number	阳性率/% Positive rate
异育银鲫 <i>Carassius auratus gibelio</i>	103	35	33.98
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	77	17	22.08
鳙鱼 <i>Aristichthys nobilis</i>	36	1	2.78
鲢鱼 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	31	6	19.35
鲤鱼 <i>Cyprinus carpio</i>	8	1	12.50
鳊鱼 <i>Parabramis pekinensis</i>	39	2	5.13
鲈鱼 <i>Lateolabrax japonicus</i>	12	2	16.67
斑点叉尾鮰 <i>Ictalurus punctatus</i>	15	4	26.67
河蟹 <i>Crab</i>	83	12	14.46
小龙虾 <i>Procambarus clarkii</i>	37	3	8.11
青虾 <i>Squilla</i>	26	4	15.38
南美白对虾 <i>Penaeus vannamei</i>	24	2	8.33
罗氏沼虾 <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	26	3	11.54
合计/Total	517	92	17.79

表 2 不同采样地区阳性率
Table 2 Positive rate of different regions

采样区域 Region	样品采集数 Number of sample	阳性数 Positive number	阳性率/% Positive rate
金坛 Jjintan	40	4	10.00
江宁 Jjiangning	40	6	15.00
通州 Tongzhou	39	6	15.38
泗洪 Sihong	35	4	11.43
句容 Jurong	34	5	14.71
宝应 Baoying	43	7	16.28
江都 Jiangdu	47	7	14.89
姜堰 Jiangyan	35	9	25.71
兴化 Xinghua	49	14	30.61
常熟 Changshu	54	6	11.11
大丰 Dafeng	52	16	30.77
新沂 Xinyi	49	8	16.33
合计 Total	517	92	17.79

2.2 渔源嗜水气单胞菌检测

2.2.1 渔源嗜水气单胞菌检测结果汇总 对采集的全部样品采用 API20E 细菌生化鉴定试剂条进行初步鉴定, 共分离纯化嗜水气单胞菌目标菌株 92 份, 阳性率为 17.79%(92/517)(见表 1)。从 92 份 API20E 生化鉴定阳性样品中, 鉴定到嗜水气单胞菌种的菌株 60 株, 其余 32 株细菌鉴定至气单胞菌属。在溶血性试验方面: 92 株嗜水气单胞菌中有 60 株具溶血性, 32 株不具有溶血性(见表 3)。

2.2.2 渔源嗜水气单胞菌检测结果分析 从病原生物侵染品种上看, 此次调查的主要淡水养殖品种嗜水气单胞菌检出率为: 异育银鲫 33.98%、草鱼

22.08%、鳙鱼 2.78%、鲢鱼 19.35%、鲤鱼 12.50%、鳊鱼 5.13%、鲈鱼 16.67%、斑点叉尾鮰 26.67%、河蟹 14.46%、小龙虾 8.11%、青虾 15.38%、南美白对虾 8.33%和罗氏沼虾 11.54%, 平均品种检出率为 17.79%, 最高为异育银鲫的 33.98%(见表 1)。

从病原携带率上看, 12 个采集地区嗜水气单胞菌携带率为: 金坛 10.00%、江宁 15.00%、通州 15.38%、泗洪 11.43%、句容 14.71%、宝应 16.28%、江都 14.89%、姜堰 25.71%、兴化 30.61%、常熟 11.11%、大丰 30.77%和新沂 16.33%。最低携带率为金坛的 10.00%, 最高携带率为大丰的 30.77%(见表 2)。

从检测病原的时间上看,在连续2年的3—10月采样期内,即:2014年(3月2份、4月2份、5月3份、6月6份、7月8份、8月9份、9月4份和10月2份),2015年(3月4份、4月3份、5

月5份、6月8份、7月12份、8月13份、9月7份和10月3份)。采集的样品中嗜水气单胞菌在采样期内均有检出,其中从6月份开始增加,7—9月份较其他月份有明显的增加量(见表3)。

表3 各地区水产动物嗜水气单胞菌携带情况调查
Table 3 Regional aquatic animal's moisture carry bacterium information form

菌株号 Isolate number	宿主 Host	时间(年/月) Time(year/month)	地点 Site	部位 Position	API20E 鉴定值/% Identification	分子鉴定 Molecular identification	溶血 Hemolysis
SC003	鲫鱼	2014/03	姜堰	血液	99.3	+	+
SC012	草鱼	2014/03	大丰	肾	99.0	-	-
SC027	异育银鲫	2014/04	大丰	肝	97.5	+	+
SC039	鲢鱼	2014/04	通州	肾	98.7	+	+
SC051	鲢鱼	2014/05	句容	肝	89.9	+	+
SC060	异育银鲫	2014/05	大丰	血液	89.6	-	-
SC068	草鱼	2014/05	兴化	血液	97.9	+	+
SC078	草鱼	2014/06	常熟	肝	99.4	+	+
SC090	异育银鲫	2014/06	大丰	血液	97.5	-	-
SC096	异育银鲫	2014/06	江都	肾	99.3	+	+
SC098	鲫鱼	2014/06	姜堰	肝	97.9	+	+
SC101	鲫鱼	2014/06	江宁	脾	98.5	+	+
SC102	鳊鱼	2014/06	新沂	肝	78.8	-	-
SC103	草鱼	2014/07	兴化	腹	97.5	+	+
SC114	南美白对虾	2014/07	大丰	肝	99.0	+	+
SC116	异育银鲫	2014/07	大丰	血液	89.6	-	-
SC119	异育银鲫	2014/07	江都	肾	99.3	+	+
SC133	异育银鲫	2014/07	宝应	肝	99.8	+	+
SC135	鲫鱼	2014/07	泗洪	肾	99.9	-	-
SC136	鲫鱼	2014/07	兴化	肝	97.9	+	+
SC137	鲢鱼	2014/07	常熟	血液	98.1	-	+
SC142	异育银鲫	2014/08	大丰	血液	98.8	+	+
SC147	草鱼	2014/08	大丰	肝	89.9	+	+
SC158	草鱼	2014/08	金坛	血液	98.2	+	+
SC163	鲈鱼	2014/08	江都	肾	98.7	-	-
SC166	河蟹	2014/08	姜堰	肝	98.1	-	-
SC171	鲢鱼	2014/08	江宁	脾	97.9	+	+
SC175	草鱼	2014/08	通州	肝	97.9	-	-
SC176	罗氏沼虾	2014/08	兴化	肝	86.0	-	-
SC177	鲫鱼	2014/08	新沂	脾	98.5	+	+
SC188	异育银鲫	2014/09	大丰	血液	98.2	+	+
SC194	鲢鱼	2014/09	江都	肾	99.3	+	-
SC199	河蟹	2014/09	兴化	肝	78.8	-	-
SC207	异育银鲫	2014/09	新沂	肾	99.9	+	+
SC212	异育银鲫	2014/10	大丰	肝	99.3	+	+
SC229	小龙虾	2014/10	宝应	血液	98.5	+	+
SC242	异育银鲫	2015/03	江都	血液	99.0	-	-
SC253	草鱼	2015/03	姜堰	肝	86.0	+	+
SC257	异育银鲫	2015/03	通州	血液	97.9	+	+
SC260	异育银鲫	2015/03	兴化	肾	98.8	-	-
SC269	异育银鲫	2015/04	通州	肝	97.9	+	+
SC270	草鱼	2015/04	常熟	脾	98.1	+	+
SC283	鲤鱼	2015/04	新沂	肝	98.8	+	+

续表 3 Continued table 3

SC289	斑点叉尾	2015/05	大丰	腹	89.9	-	-
SC299	鲢鱼	2015/05	江宁	脾	86.0	-	-
SC307	鲫鱼	2015/05	句容	血液	98.7	+	+
SC310	河蟹	2015/05	常熟	腹腔	98.1	-	-
SC311	草鱼	2015/05	新沂	肝	97.9	-	-
SC319	斑点叉尾	2015/06	大丰	肾	98.2	+	+
SC327	异育银鲫	2015/06	金坛	肝	99.3	+	+
SC336	异育银鲫	2015/06	宝应	血液	99.8	+	+
SC342	河蟹	2015/06	姜堰	肝	98.2	+	+
SC343	草鱼	2015/06	江宁	血液	97.5	-	+
SC347	青虾	2015/06	句容	肝	99.3	+	+
SC352	罗氏沼虾	2015/06	兴化	肝	98.8	+	-
SC353	异育银鲫	2015/06	兴化	肝	89.9	-	-
SC355	草鱼	2015/06	新沂	脾	99.9	+	+
SC358	斑点叉尾	2015/07	大丰	肝	97.9	+	+
SC362	南美白对虾	2015/07	大丰	肝	98.1	+	+
SC369	草鱼	2015/07	金坛	脾	89.6	-	+
SC373	鲈鱼	2015/07	江都	血液	97.9	-	-
SC375	鳊鱼	2015/07	宝应	肾	98.1	-	-
SC376	异育银鲫	2015/07	姜堰	肝	98.8	+	+
SC377	小龙虾	2015/07	姜堰	肝	89.9	-	+
SC389	鳊鱼	2015/07	通州	肝	99.3	+	+
SC390	河蟹	2015/07	泗洪	血液	99.8	+	+
SC395	草鱼	2015/07	兴化	血液	99.9	+	-
SC397	异育银鲫	2015/07	新沂	肝	78.8	+	+
SC398	草鱼	2015/07	新沂	血液	97.5	+	+
SC407	青虾	2015/08	句容	肝	99.0	-	-
SC409	异育银鲫	2015/08	大丰	肝	89.6	-	+
SC410	河蟹	2015/08	宝应	腹腔	99.9	+	+
SC412	鲫鱼	2015/08	姜堰	肝	98.7	+	+
SC415	小龙虾	2015/08	姜堰	肝	99.3	-	-
SC420	鲫鱼	2015/08	江宁	脾	99.8	+	+
SC421	草鱼	2015/08	通州	血液	78.8	-	-
SC428	鲫鱼	2015/08	泗洪	肾	97.5	+	+
SC435	河蟹	2015/08	泗洪	腹腔	89.9	+	+
SC436	鲫鱼	2015/08	句容	肾	89.6	+	+
SC438	河蟹	2015/08	兴化	肝	98.1	+	+
SC440	鲫鱼	2015/08	兴化	血液	97.9	+	-
SC443	河蟹	2015/08	常熟	腹腔	99.9	+	+
SC449	斑点叉尾	2015/09	大丰	肝	97.9	+	+
SC452	河蟹	2015/09	宝应	肝	99.3	+	+
SC477	草鱼	2015/09	江宁	肝	99.8	-	-
SC479	青虾	2015/09	兴化	肝	99.0	+	+
SC480	罗氏沼虾	2015/09	兴化	肝	89.6	-	-
SC483	鲫鱼	2015/09	兴化	血液	99.9	+	+
SC484	青虾	2015/09	常熟	肝	97.9	-	-
SC488	河蟹	2015/10	金坛	肝	80.0	-	-
SC490	河蟹	2015/10	江都	腹	98.2	+	-
SC504	鲫鱼	2015/10	宝应	脾	98.8	+	+

注: “+”表示鉴定至种;“-”表示鉴定至属。Note:“+”identified to species;“-”identification to genus.

2.3 16S rRNA 鉴定及聚类分析

对 92 份 API20E 生化鉴定阳性样品,通过基因

扩增进行 16S rRNA 鉴定,有 60 株细菌鉴定为嗜水气单胞菌,32 株细菌鉴定至气单胞菌属。结合溶血

试验结果, 选取 50 株嗜水气单胞菌和标准菌株 ATCC7966, 采用邻近法构建 16S rRNA 基因的系统发育树(图 1)。通过 MEGA 软件分析确定 50 株嗜水气单胞菌的遗传距离在 0.05~0.48 之间。图 1 显示全树共有 48 个分支, 其中最大的一个分支群具有 38 个分支, 占总分支的 81.25% (38/48)。通过基因聚类分析表明: 江苏地区 80% 以上嗜水气单胞菌具有较高基因距离上的同源性, SC078 作为唯一的外围分支, 与其余 49 株菌的相对距离最远, SC068 分支、SC119 分支、SC358 分支和 SC483 分支与其余菌株的基因遗传距离相对较远。

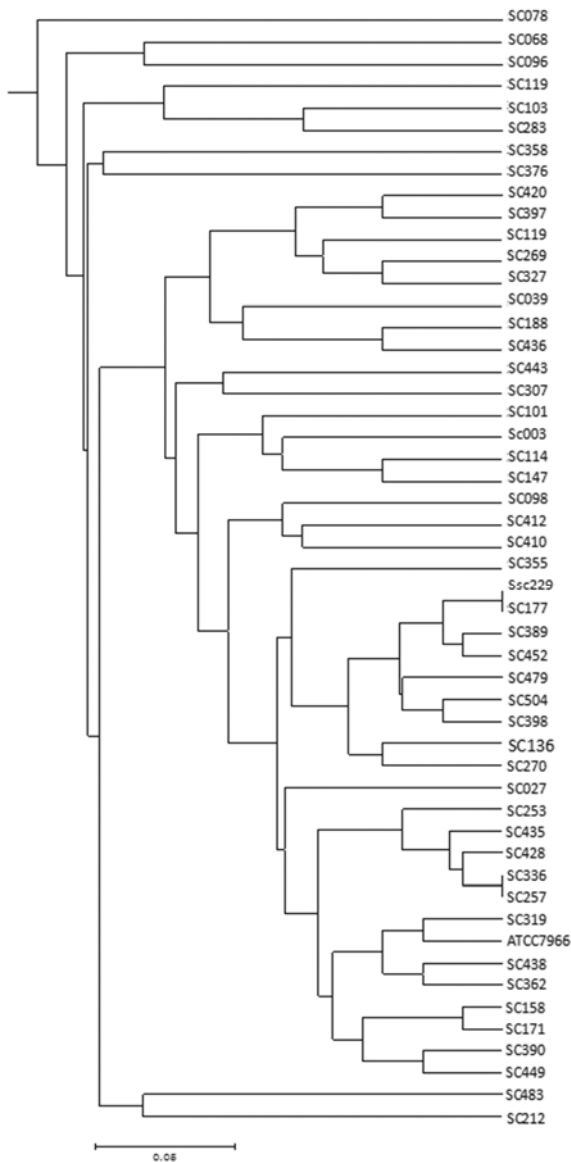


图 1 采用 NJ 法构建系统发育树

Figure 1 Construct phylogenetic trees using NJ method

3 讨论

从空间分布状况上分析, 在 12 个采样地区样品中均有携带, 最低为金坛的 10.00%, 最高为大丰的

30.77%。在携带率方面显现一定的差异, 其中姜堰超过 25%, 兴化和大丰超过 30%, 与近几年在盐城地区出现的大面积异育银鲫“鳃出血”和“大红鳃”病^[16]及在泰州、姜堰地区出现的河蟹“水瘪子”病^[17]具有很大的相关性, 致使该养殖地区养殖水生动物机体免疫力降低, 为条件致病菌-嗜水气单胞菌的感染、携带甚至发病提供了较为理想的“温床”。

从时间分布状况上分析, 每年 3—10 月采样期内均有检出, 从 6 月份开始增加, 7—9 月份较其他月份具有明显的增加量, 因此 6—9 月份为嗜水气单胞菌在江苏渔业养殖中的高流行月份。这与贺文旭等^[18]在豫北地区的调查和司丽娜等^[19]在东北地区的调查结果相一致; 也与嗜水气单胞菌最适流行水温为 27~30℃ 的生物特性相符。

从种间和个体流行情况上分析, 13 个调查品种皆有检测到携带, 国内许多研究也证明了嗜水气单胞菌可以感染、引起异育银鲫^[20]、草鱼^[21]、鲢鳙鱼^[22]、鲤鱼^[23]、鳊鱼^[8]、斑点叉尾鲴^[9]和小龙虾^[24]等的发病, 这些研究与本研究结果相吻合。92 株嗜水气单胞菌在不同种养殖鱼类中的分布呈现一定的差异化, 最高的是异育银鲫, 为 33.98%, 最低的是鳊鱼, 为 2.78%, 表明在江苏渔业养殖环境中异育银鲫对嗜水气单胞菌最为敏感。王友娟等^[25]的研究结果显示在中国北方地区草鱼最为敏感, 江苏渔源嗜水气单胞菌调查显示草鱼携带率为 22.08%, 也具有较高的敏感度。这说明在中国南、北方虽有地域的差异, 但嗜水气单胞菌的敏感宿主具有一定相似性。本次平均检出率 17.79% 的结果与王友娟等^[25]从发病鱼体的 50.98%、Thayumanavan 等^[1]从鲸鱼和虾体的 37.3% 和 35.6% 及 Ghenghesh 等^[2]从井水的 28.7% 的分离率均具有较大的差异。究其原因: 本研究从常规养殖品种中采样, 而王友娟等从发病养殖品种中采样; 本研究与 Thayumanavan 等和 Ghenghesh 等的差异化则可能由于取样的重复性、时效性及地域性等采样方法的不同所造成。在个体上, 从养殖水产品的肝脏、肾脏、脾脏、腹腔积液和血液中均有分离到嗜水气单胞菌, 这与嗜水气单胞菌具有广泛寄生和自然界普遍存在的特性相吻合^[3-5]。在江苏地区渔源嗜水气单胞菌流行病学调查中, 还发现不同种类、不同地域、不同塘口、不同鱼龄和不同季节, 会导致不同的病程和病症。

通过对检测的 50 株嗜水气单胞菌进行聚类分析显示, 江苏地区的嗜水气单胞菌具有较高基因距离上的同源性。这与王狄等^[26]和连浩淼等^[27], 不同地区相同菌株的 16SrRNA 的序列基本一致, 保守区

目的片段变化较小, 同源性较高, 没有形成明显的区域性和特异性变化的结论相同。

在水产养殖中, 无论是传染病还是非传染病, 只要有了流行病学调查研究作基础, 就可以从水产生产实际出发制定出符合实际的、行之有效的疾病预防和治疗对策。本研究通过 2014 和 2015 连续 2 年对江苏 12 个地区的渔源性嗜水气单胞菌进行采样、检测, 并对监测结果数据汇总, 从时间、空间、种间及个体分布等情况进行分析, 初步了解了江苏水产养殖中嗜水气单胞菌的流行情况, 后续还进行了药敏试验(另行发表), 以期对江苏地区渔源性嗜水气单胞菌病的预防、治疗提供基础数据和理论指导。

参考文献:

- [1] THAYUMANAVAN T, VIVEKANANDHAN G, SAVITHAMANI K, et al. Incidence of haemolysin-positive and drug-resistant *Aeromonas hydrophila* in freshly caught finfish and prawn collected from major commercial fishes of coastal South India[J]. *Fems Immunol Med Mic*, 2003, 36(1/2): 41-45.
- [2] GHENGHESH K S, EL-GHODBAN A, DKAKNI R, et al. Prevalence, species differentiation, haemolytic activity, and antibiotic susceptibility of aeromonads in untreated well water[J]. *Mem I Oswaldo Cruz*, 2001, 96(2): 169-173.
- [3] PARK Y H, LEE H C, SONG H G, et al. Recent increase in antibiotic-resistant microorganisms in patients with spontaneous bacterial peritonitis adversely affects the clinical outcome in Korea[J]. *J Gastroen Hepatol*, 2003, 18(8): 927-933.
- [4] RADU S, AHMAD N, LING F H, et al. Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia[J]. *Int J Food Microbiol*, 2003, 81(3): 261-266.
- [5] 王玉, 冯建军, 郭松林, 等. 嗜水气单胞菌与迟顿爱德华氏菌二联外膜蛋白的表达及其初步免疫原性[J]. *华中农业大学学报*, 2015, 34(1): 96-102.
- [6] CLARK N M, CHENOWETH C E. *Aeromonas* infection of the hepatobiliary system: report of 15 cases and review of the literature[J]. *Clin Infect Dis*, 2003, 37(4): 506-513.
- [7] 黄艳, 韦小瑜, 吴成梅, 等. 一起嗜水气单胞菌引起的食物中毒调查[J]. *中国食品卫生杂志*, 2012, 24(4): 391-393.
- [8] 胡王, 蒋启欢, 范腾飞, 等. 鳊鱼出血病嗜水气单胞菌的分离·鉴定与 ERIC-PCR 指纹图谱研究[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(4): 2056-2057.
- [9] 李艳和, 杨克礼, 潘庭双, 等. 安徽省斑点叉尾鲷细菌性病原的分离鉴定及药物敏感性分析[J]. *安徽农业大*
- [10] 刘杰, 龙宜楠, 李大广, 等. 罗非鱼烂尾病原菌的分离、鉴定及药敏试验[J]. *广西畜牧兽医*, 2014, 30(6): 316-319.
- [11] 林天龙, 陈日升, 等. 欧鳊嗜水气单胞菌的分离、鉴定和特性分析[J]. *福建农业学报*, 2001, 16(4): 34-40.
- [12] 庄健, 张治平, 曾明华, 等. 黄鳝出血病病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. *长江大学学报(自科版)*, 2016, 13(1): 23-25.
- [13] 刘杰, 黄艳华, 黄钧, 等. 黄沙鳖源嗜水气单胞菌的致病力与毒力基因型相关性[J]. *中国水产科学*, 2015, 22(4): 698-706.
- [14] 刘训猛, 黄春贵, 邹勇, 等. 发病牛蛙病原鉴定及防治药物筛选[J]. *河北渔业*, 2011(2): 41-43.
- [15] 张庆华, 马文元, 陈彪, 等. 嗜水气单胞菌引致的金钱鱼细菌性疾病[J]. *水产学报*, 2016, 40(4): 634-643.
- [16] 刘韬, 汪开毓, 陈俊杰, 等. 江苏盐城地区异育银鲫大红鳃疾病病原学研究及病理学观察[J]. *水生生物学报*, 2016, 40(5): 928-934.
- [17] 方苹, 陈静, 倪金梯, 等. 2015 年江苏省水产养殖病情监测分析[J]. *水产养殖*, 2016, 37(9): 11-15.
- [18] 贺文旭, 毛会丽, 杨利敏, 等. 豫北地区主要淡水鱼类感染嗜水气单胞菌的流行病学调查[J]. *水产科学*, 2016, 35(3): 278-283.
- [19] 司力娜, 李绍戊, 王荻, 等. 东北三省 15 株致病性嗜水气单胞菌分离株的药敏实验分析[J]. *江西农业大学学报*, 2011, 33(4): 786-790.
- [20] 曾燕玲. 鲫鱼人工感染嗜水气单胞菌的病理组织观察[J]. *遵义师范学院学报*, 2015, 17(6): 86-89.
- [21] 李楠, 郭慧芝, 焦冉, 等. 草鱼的一种急性细菌性传染病病原的分离鉴定及致病性研究[J]. *水生生物学报*, 2011, 35(6): 980-987.
- [22] 孙承文, 任燕, 石存斌, 等. 鲢鳙鱼源致病性嗜水气单胞菌的分离、鉴定[J]. *广东农业科学*, 2010, 37(9): 5-8.
- [23] 钟妮娜, 汪开毓. 鲤鱼细菌性败血症及穿孔病病原菌与嗜水气单胞菌标准株特性的比较研究[J]. *四川农业大学学报*, 2001, 19(1): 94-96.
- [24] 刘训猛, 赵宜清, 陈静. 我国克氏原螯虾病害及防治技术研究进展[J]. *中国水产*, 2013(10): 64-66.
- [25] 王友娟, 李荣峰, 李华, 等. 辽宁地区养殖淡水鱼感染嗜水气单胞菌的流行病学调查[J]. *中国农业科技导报*, 2012, 14(4): 128-134.
- [26] 王荻, 李绍戊, 刘红柏, 等. 东北三省 9 株嗜水气单胞菌 16S rDNA 序列比较研究[J]. *水产学杂志*, 2010, 23(2): 11-15.
- [27] 连浩淼, 李绍戊, 张辉, 等. 三北地区冷水鱼常见病原菌的分布及药敏试验[J]. *江西农业大学学报*, 2015, 37(2): 339-345.