

文章编号: 1000-0615(2007)04-0487-09

## 养殖大菱鲆的爱德华氏菌病

王印庚<sup>1</sup>, 秦 蕾<sup>1,2</sup>, 张 正<sup>1</sup>, 马爱军<sup>1</sup>, 张立敬<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 淮海工学院江苏省海洋生物技术重点建设实验室, 江苏 连云港 222005)

**摘要:** 2004 年 5 月至 2005 年 9 月间, 先后对潍坊、烟台、威海和青岛等沿海区域养殖的大菱鲆自然发生的 6 宗爱德华氏菌感染病例进行了流行病学、病原分离鉴定和组织病理学等方面的调查研究。根据分离菌株的形态、生理生化特性, 并结合 16S rDNA 序列分析, 将其鉴定为迟钝爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)。人工感染实验证实该菌为大菱鲆爱德华氏菌病的致病菌。大菱鲆迟钝爱德华氏菌病具有急性和慢性两种感染形式。迟钝爱德华氏菌感染可引起大菱鲆肾脏、脾脏、肝脏、肠、鳃、皮肤等器官组织发生不同程度的病理变化, 其显著特点是单核巨噬细胞增生, 使得各器官组织出现巨噬细胞浸润现象。病鱼的组织病理变化以肾脏最为明显, 包括巨噬细胞大量增生, 多发性局灶坏死伴有渗出性炎症反应以及肉芽肿的产生; 肾脏外观则显示异常膨大, 正常组织转变为白色脓疡或豆腐渣状。本文属国内首次报道爱德华氏菌感染大菱鲆致病, 为该鱼类的健康养殖和疾病防治提供参考和依据。

**关键词:** 大菱鲆; 迟钝爱德华氏菌; 细菌鉴定; 组织病理学; 16S rDNA

**中图分类号:** S 941.42 **文献标识码:** A

## Edwardsiellosis in cultured *Scophthalmus maximus*

WANG Yin-geng<sup>1</sup>, QIN Lei<sup>1,2</sup>, ZHANG Zheng<sup>1</sup>, MA Ai-jun<sup>1</sup>, ZHANG Li-jing<sup>1</sup>

(1. Yellow Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Jiangsu Key Lab of Marine Biotechnology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

**Abstract:** From May 2004 to September 2005, a survey was conducted in six cases of edwardsiellosis in cultured turbot, *Scophthalmus maximus*. The dominant strain isolated from diseased turbot was identified as *Edwardsiella tarda*, based on its morphology, physiological & biochemical tests and 16S rDNA sequence analysis. Challenging tests by the isolate indicated that it was the causative agent for the edwardsiellosis. The disease had two types of infection, i. e., acute and chronic, giving different clinical signs. Histopathological analysis revealed that the edwardsiellosis could cause lesions in the kidney, spleen, liver, intestine, gills and skin. The most prominent histopathological characteristics of this disease were the proliferation and infiltration of macrophages in various tissues and organs. The kidney showed the most marked changes, i. e., proliferation of microphages, multiple necrosis, exudative fibrin and formation of enormous granuloma, while the organ extremely enlarged and changed

收稿日期: 2006-09-11

资助项目: 国家“八六三”高技术发展计划(2003AA622070); 中国水产科学研究院人才基金项目; 农业结构调整重大技术研究专项(04-11-01B)

作者简介: 王印庚(1963-), 男, 河北唐山人, 博士, 研究员, 主要从事水产动物疾病学研究。Tel: 0532-85841732, E-mail: wangyg@ysfri.ac.cn

to whitish pustule. This is the first report for edwardsiellosis in cultured *Scophthalmus maximus*, in order to provide reference in health management and disease control.

**Key words:** *Scophthalmus maximus*; *Edwardsiella tarda*; bacterial identification; histopathology; 16S rDNA

大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)是原产欧洲的名贵鱼种,1992年从英国引入我国。随着1998年人工苗种培育技术获得突破,大菱鲆养殖已从山东省快速辐射至北方沿海各省,成为我国海水养殖业的一个新热点。目前,已实现年产量40 000 t,其年创产值可达30亿人民币,产生了巨大的经济效益和社会效益。然而随着大菱鲆养殖业的迅猛发展,病害问题也日渐突出<sup>[1]</sup>。自2004年开始,一种由爱德华氏菌感染导致的病症(俗称两截鱼)时常发生,造成不同程度的死亡率,给该产业带来一定的经济损失。

迟钝爱德华氏菌能引起多种水产动物如鳗鲡,牙鲆和鳖等患病<sup>[2-4]</sup>。然而迄今为止,国内尚无迟钝爱德华氏菌引起大菱鲆病的系统研究报道。本文首次报道了对6起大菱鲆迟钝爱德华氏菌感染症的研究结果,总结了该病症的发病症状、组织病理学及其病原鉴定,旨在为预防和治疗该病提供理论依据和参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 病鱼样品

于2004年5月至2005年9月,采用养殖现场取样和养殖户送样相结合的方式,从潍坊、烟台、威海和青岛等地的6家大菱鲆养殖场共取得患病大菱鲆60尾。

### 1.2 病鱼检查

肉眼观察病鱼的外表,鳃丝以及内脏器官等的宏观病理变化,然后取病鱼的鳃丝,肝脏和肾脏等器官组织制成水浸片,用Nikon E800光学显微镜进行检查,排除寄生虫和霉菌感染的可能性。

### 1.3 病原菌的分离

在无菌条件下解剖病鱼,分别取其体表病灶、鳃、肝、肾等组织少许,剪碎后在平板上划线分离,于28℃恒温培养箱中培养48 h。从平板上形态一致的优势菌落中选取单个菌落,重复进行平板划线3次,以获得病菌的纯培养。

### 1.4 人工感染实验

**试验用鱼** 试验用健康大菱鲆共计96尾[平均体长(13±0.5) cm],取自烟台开发区天源

水产有限公司。按每个150 L的塑料缸中放养6尾,暂养1周,水温控制在(20±1)℃,确认无病后开始试验。

**菌悬液制备** 将纯培养菌株接种于新鲜TSB琼脂培养基上,28℃培养24 h后,用无菌生理盐水洗下菌落,制成菌悬液,以麦氏比浊法测得 $9 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 浓度的菌悬液。

**攻毒试验** 将每缸设为一组,共7组分别用于所分离的7株菌(从养殖场患有明显爱德华氏病病症病鱼中分离的优势菌株)的攻毒试验,腹腔注射健康大菱鲆(每尾0.1 mL);每组设平行实验,同时设对照组,注射1.5%生理盐水。

### 1.5 病原菌的分类鉴定

**形态学观察** 纯培养的细菌于28℃培养24 h后,按常规方法进行革兰氏染色和显微观察。

**生理生化测定** 采用法国-梅里埃(BioMérieux)公司的API-32E鉴定系统并结合传统的手工鉴定方法对纯培养24 h的菌株进行生理生化指标的测试。

**病原菌的16S rDNA序列分析** 采用细菌16S rDNA序列扩增的通用引物(正向引物为27f: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',反向引物为1492r: 5'-TACGGCTACCTTGTTACGA CTT-3'),对纯培养的细菌16S rDNA序列进行PCR扩增,扩增产物交由上海博亚生物技术有限公司测序。将测序的结果登陆GenBank进行Blast,从中选取18株与待分类菌株序列相似的菌株,采用Clustalw软件进行多序列匹配分析后用系统发生推断软件包PHYLP3.65进行该菌的系统发育树构建<sup>[5]</sup>。

### 1.6 组织切片制备

取病鱼的鳃、肝脏、肾脏、脾脏和肠等组织,Davidson氏AFA固定液固定24 h,石蜡切片,厚度为5~6 μm,苏木精-伊红染色(H.E)染色。Nikon E800光学显微镜观察、拍照。

## 2 结果

### 2.1 临床特征及发病情况

感染迟钝爱德华氏菌的大菱鲆表现出急性感

染和慢性感染两种形式。急性感染时,病鱼的下颌、鳃盖缘膜,鳍基部以及腹面皮下充血发红。随着病情的发展,在鳍基部或腹部常出现出血点或出血斑。严重者,出血处病灶随之发生脓疡,形成皮下脓肿(图版 I -1)。解剖发现病鱼鳃丝贫血;几乎所有病鱼的肾脏都异常肿大并发生多处溃疡性坏死,严重时整个肾脏呈脓样坏死、灰白色;肝脏呈弥散性出血,肠壁和腹腔膜也有发炎充血现象;病鱼脾脏时有肿大,失血呈粉红色。

慢性感染病鱼的典型特征是身体后半部体色发黑,而前半部体色基本正常,出现明显的‘黑白’界线而呈‘两截’现象(图版 I -2)。发病开始时,病鱼尾端变黑,接着黑色面积由尾端向头部方向推进,一般其界线推进到腹腔部位发生鱼的死亡。然而,变黑的推进速度极慢,可达数月之久。

病鱼鳃丝出现白色的膨大结节并发生糜烂(图版 I -3,5);打开腹腔发现肾脏异常膨大,由正常的紫红色组织病变为灰白色,肾脏表面出现数个灰白色的黍粒状结节;严重者肾脏的质地变硬似豆腐渣状(图版 I -3,4)。部分病鱼的脾脏也出现变白、肿大现象。一般患病鱼常有腹水现象,大部分病鱼有肠炎,而肝脏病变不明显。发病时,病鱼的腹部肾脏区隆起,鱼体开始变暗,摄食量下降。

对 6 家患病大菱鲆养殖场的取样调查结果见表 1。从调查结果来看该病常年可发生,广泛分布于山东半岛沿岸养殖场。体长 10 ~ 20 cm 的养殖期大菱鲆易感染此病。一般情况下,大部分养殖场的病鱼表现为慢性感染,疾病传播蔓延速度非常慢,其死亡率在 10% 以下;而严重感染时也可达到 30% ~ 40% 的死亡率,甚至 90% 以上。

表 1 分析调查的 6 家大菱鲆养殖场的发病情况

Tab.1 Information about the disease in six turbot farms

养殖场 farm	地点 location	取样时间 time of sampling	患病大菱鲆 diseased turbot			
			平均体长(cm) mean body length	感染形式 form of infection	感染率(%) morbidity	死亡率(%) mortality
A	潍坊 Weifang	2004-05	10	慢性 chronic	1	极低 very low
B	莱州 Laizhou	2004-07	18	慢性 chronic	20	2 ~ 3
C	乳山 Rushan	2004-09	15	急性 acute	10	30
D	烟台 Yantai	2005-01	20	慢性 chronic	0.8	极低 very low
E	威海 Weihai	2005-08	14	急性 acute	60	40
F	青岛 Qingdao	2005-09	12	急性和慢性 acute and chronic	70	90

注:死亡率(%) = 死亡鱼数/受感染鱼数

Notes: mortality(%) = number of dead fish/number of infected fish

## 2.2 水浸片检查

所有病鱼的水浸片检查都发现了大量运动的短杆状细菌,没有发现霉菌和寄生虫,因此可以排除后两者感染的可能性。

## 2.3 病原菌的分离

从养殖场 A 的病鱼中没有分离到优势菌落,偶尔有病鱼能分离到细菌,但量极少;从养殖场 C, E 和 F 所有病鱼的体表病灶、鳃、肾脏和脾脏中均分离到了一种极为优势的、几乎单一的菌株,分别为菌株 QL-R, QL-W 和 QL-S。3 株菌株均生长缓慢,在 TSB 培养基上 28 °C 培养需 48 h 才可见到较明显的菌落长出,菌落形态也很相似,为圆形、表面光滑湿润,中间略隆起,呈半透明的灰白色。从养殖场 B 和 D 病鱼中分别分离到两种较为优势的菌株,分别为 QL-1 和 QL-2 以及 QL-3 和

QL-4,其中只有 QL-2 和 QL-4 表现出与菌株 QL-R, QL-W 和 QL-S 非常相似的菌落及其生长状况。

## 2.4 人工感染实验

注射菌株 QL-R, QL-W, QL-S, QL-2 和 QL-4 的大菱鲆均在 15 d 内全部死亡,从所有死亡的鱼中都分离出了与注射菌株特性一致的菌株,因此可认为死亡是由注射菌株感染造成的。死亡鱼与自然状态下急性感染的病鱼症状相似,表现为颌部和腹面肌肉充血发红;肾脏有肿大、灰白色脓样坏死灶;肝脏充血,腹腔膜和肠壁发生充血炎症。注射 QL-1 和 QL-3 菌株的病鱼在 5 个月内没有发生死亡,且无任何症状表现。对照组无死亡现象。

## 2.5 病原菌的分类鉴定

形态及生理生化测定 选取菌株 QL-R, QL-W 和 QL-S,对其进行生理生化测试,测试结

果见表2。3株菌株表现出相似的特性为:革兰氏阴性;短杆状,培养状态下有丝状体出现;具有运动性,不液化明胶;赖氨酸和鸟氨酸脱羧酶阳性,精氨酸酶阴性;氧化酶阴性,接触酶和M.R.阳性;不利用柠檬酸盐和丙二酸盐为唯一碳源;发酵葡萄糖、甘露糖、果糖和麦芽糖;吲哚阳性;10℃、45℃、5% NaCl、pH 4和pH 9条件下不生长。这些特性均与迟钝爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)的性状相符合。

16S rDNA 序列分析 选取菌株 QL-S 为代表菌株,根据其 16S rDNA 序列所构建的系统发育树如图 1。从图中可以看出,与 QL-S 菌株聚类的一个分支上的细菌全部为 *E. tarda*。其中与迟钝爱德华氏菌(A Y775313)株的相似性为 99.6%,与迟钝爱德华氏菌(A Y461379)株的相似性为 98.4%,这表明 QL-S 与迟钝爱德华氏菌(*E. tarda*)的亲缘关系最近。

表 2 菌株 QL-W, QL-R 和 QL-S 的生理生化特性比较

Tab.2 Comparison of the biochemical and physiological characteristics of three isolates QL-W, QL-R and QL-S

项目 items	QL-W	QL-R	QL-S	项目 items	QL-W	QL-R	QL-S
革兰氏 gram	-	-	-	麦芽糖 maltose	+	+	+
运动性 motility	+	+	+	D-阿拉伯糖醇 D-arabitol	-	-	-
明胶液化 gelatine liquefaction	-	-	-	L-阿拉伯糖醇 L-arabitol	+	-	-
生长 4℃ growth	-	-	-	甘露醇 mannitol	-	-	-
10℃	-	-	-	肌醇 inositol	-	-	-
25℃	+	+	+	山梨醇 sorbitol	-	-	-
35℃	+	+	+	侧金盏花醇 adonitol	-	-	-
40℃	+	+	+	半乳糖盐 galactosamine	+	+	+
45℃	-	-	-	5-酮基-葡萄糖酸钠 5-keto-sodium gluconate	+	-	-
NaCl 0%	+	+	+	天冬酰胺基转移酶 aspartoacylase	-	-	-
1%	+	+	+	β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase	+	-	+
4%	+	+	+	脲酶 urease	-	-	-
5%	-	-	-	脂肪酶 lipase	-	-	-
pH 4	-	-	-	β-半乳糖苷酶 β-galactosidase	-	-	+
5	+	+	+	α-半乳糖苷酶 α-galactosidase	-	+	+
8.5	+	+	+	鸟氨酸脱羧酶 ornithine decarboxylase	+	+	+
9.0	-	-	-	精氨酸双水解酶 arginine dihydrolase	-	-	-
D-葡萄糖 D-glucose	+	+	+	赖氨酸脱羧酶 lysine decarboxylase	+	+	+
D-棉子糖 D-raffinose	-	-	-	β-葡萄糖酸酶 β-glucuronidase	-	+	+
D-木糖 D-xylose	+	+	+	N-乙酰-β-葡萄糖苷酶 N-acety-β-glucosaminidase	-	-	-
D-甘露糖 D-mannose	+	+	+	α-麦芽糖苷酶 α-maltosidase	-	-	-
D-果糖 D-fructose	+	+	+	酚红 ruthenium purple	+	-	-
蔗糖 sucrose	-	-	-	吲哚产生 indole	+	+	+
海藻糖 trehalose	-	-	-	丙二酸盐 malonate	-	-	-
鼠李糖 rhamnose	-	-	-	柠檬酸盐 citrate	-	-	-
异麦芽酮糖 isomalt	-	-	-	甲基红 methyl red	+	+	+
L-阿拉伯糖 L-arabinose	-	-	-	氧化酶 oxidase	-	-	-
纤维二糖 cellobiose	-	-	-	接触酶 catalase	+	+	+

注: + 表示阳性; - 表示阴性

Notes: + positive; - negative

2.6 组织病理学观察

肾脏 慢性感染期以增生性炎症为主,表现为单核巨噬细胞增生,增生常呈弥漫性,使肾脏

内出现大量巨噬细胞浸润现象。巨噬细胞浸润灶内中常见有大量迟钝爱德华氏菌(图版 II -1)。对于急性感染病鱼的肾脏,当病原菌进入组织后,引

起局部组织变性坏死,发生渗出性炎症反应(图版 II-2),渗出性炎症反应一般出现在感染早期。随着病程的发展,巨噬细胞开始增生,并且吞噬细菌(图版 II-3),吞噬细菌后的巨噬细胞变成上皮样细胞聚集增生,呈环形分布,产生肉芽肿结构。早期的肉芽肿中心见有大量坏死的巨噬细胞和细菌菌体(图版 II-4),而成熟的肉芽肿中心则被增生的成纤维细胞所取代,产生典型的、轮廓分明的肉芽肿结构,使得病变部位的肾小球和肾小管均被许多肉芽肿所取代(图版 II-5)。肉芽肿的外层为成纤维细胞增生区,肉芽肿进一步纤维化,最后造成肾脏组织的干酪化。

**脾脏** 脾窦里充满大量增生的巨噬细胞。脾的椭球体、红髓和白髓等正常结构消失,整个脾脏被呈弥漫性增生的巨噬细胞所浸润。有的病鱼

脾脏实质出现了散在的增生性结节,但没有形成典型的肉芽肿结构。部分病鱼的脾脏中会发现大量变性、坏死的红细胞;感染较重的脾脏,组织发生局灶性坏死,并伴有大量纤维蛋白的渗出。

**肝脏** 肝组织中没有发现有肉芽肿结构,只是扩张的肝血窦中会发现许多增生的巨噬细胞浸润其中(图版 II-6)。部分病鱼的肝细胞发生脂肪变性,严重者会发生坏死。

**肠** 粘膜下层和固有层中出现巨噬细胞浸润现象,在部分病鱼中常伴有血管扩张、充血。在慢性感染病鱼的肠粘膜层中偶见有肉芽肿结构出现。

**鳃** 见有大量的巨噬细胞出现。肉芽肿结构也偶尔见于慢性感染病鱼的鳃小叶呼吸上皮层下。

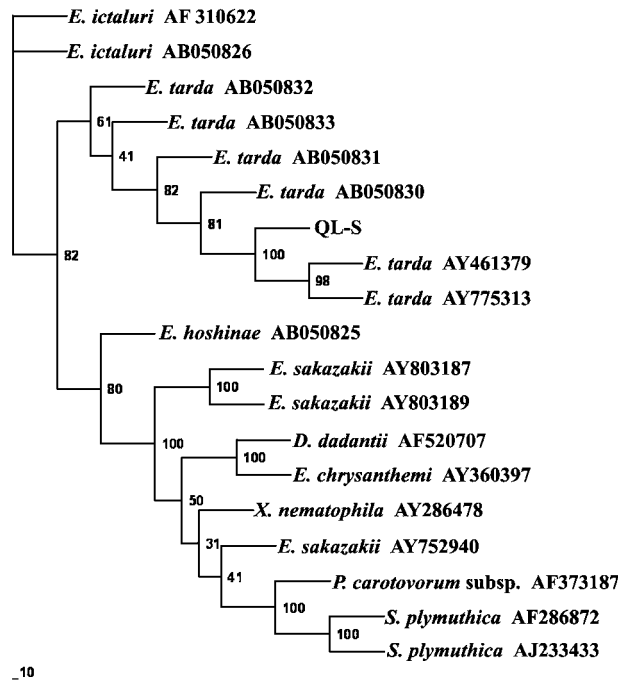


图 1 基于 16S rDNA 序列所构建的系统发育树, 每个 GenBank 存取号代表一株菌株的 16S rDNA 序列  
 Fig.1 Phylogenetic tree based on the result of the 16S rDNA sequence analysis, sequences are all indicated by GenBank accession numbers

### 3 讨论

**3.1 大菱鲆爱德华氏菌病的致病菌为迟钝爱德华氏菌** 利用所分离到的菌株对健康大菱鲆进行的人工感染试验表明,菌株 QL-R、QL-W、QL-

S, QL-2 和 QL-4 均能使健康大菱鲆致病死亡,且表现出与自然状态下急性感染相似的临床特征。因此,可确认这 5 株细菌均是大菱鲆爱德华氏菌病的病原菌。而注射菌株 QL-1 和 QL-3 的大菱鲆存活正常,证明这两株细菌在本次人工感染中无

致病能力。但是否为非致病菌或者是条件致病菌还有待进一步的试验加以证实。

根据生理生化的测试结果,参考伯杰氏细菌鉴定手册<sup>[6]</sup>并结合 API 鉴定,菌株 QL-R, QL-W 和 QL-S 均应属于爱德华氏菌属中的迟钝爱德华氏菌,且为野生型。以菌株 QL-S 为代表进行的 16S rDNA 序列分析和构建系统发育树,也显示出其与迟钝爱德华氏菌有着非常相近的亲缘关系。综合生理生化特征和 16S rDNA 序列分析的结果,将 QL-S 鉴定为迟钝爱德华氏菌。菌株 QL-R, QL-W, QL-2 以及 QL-4 表现出与 QL-S 非常相似的特性,应属于同一菌种。结合病鱼的临床表现及组织病理变化的特点,从而认为养殖场 B、C、D、E 和 F 的病鱼也是均由迟钝爱德华氏菌感染所致。

自 1962 年迟钝爱德华氏菌病首次在日本鳎中发现以来,世界许多国家和地区相继报道了其它鱼类发生此病的情况<sup>[7-11]</sup>。在我国,迟钝爱德华氏菌主要能引起鳎、牙鲆、罗非鱼、鲤、鳖等水产动物患病<sup>[2,3-4,12-13]</sup>。关于大菱鲆爱德华氏菌病,迄今国外只有很少的研究<sup>[14]</sup>。本文属国内首次报道爱德华氏菌感染养殖大菱鲆致病。

### 3.2 爱德华氏菌病的两种不同感染形式

流行病学特征分析发现,大菱鲆爱德华氏菌呈现出急性和慢性两种感染形式。急性感染的大菱鲆表现为体表皮下充血、脓样发炎、肾脏肿大、坏死等临床特征,这与迟钝爱德华氏菌感染其它鱼类的表现是一致的<sup>[2-3,10,15-18]</sup>。然而慢性感染的大菱鲆有其独特的临床表现,例如身体后半部变黑等症状在其它鱼类中没有发现。有研究表明,迟钝爱德华氏菌的最适生长温度是 28 ~ 37 °C<sup>[19]</sup>,当养殖温度升高到 20 和 25 °C 时,迟钝爱德华氏菌的毒性能得到较大提高<sup>[20]</sup>。而大菱鲆的养殖温度一般控制在 15 ~ 20 °C。由此初步推断,由于大菱鲆养殖水温相对较低,使得迟钝爱德华氏菌的繁殖与毒力受到影响,这可能是大菱鲆迟钝爱德华氏菌病更多地表现为慢性感染形式的原因之一。尽管如此,大菱鲆迟钝爱德华氏菌病的急性感染形式也时有发生,这种情况可能与养殖水温偏高、放养密度大、养殖环境有机物过多等因素有关,导致较严重的急性感染发生。所以在大菱鲆养殖过程中,优良的养殖条件和规范的管理对于预防迟钝爱德华氏菌感染尤为重要。

### 3.3 大菱鲆爱德华氏菌病的病理分型属肾脏型

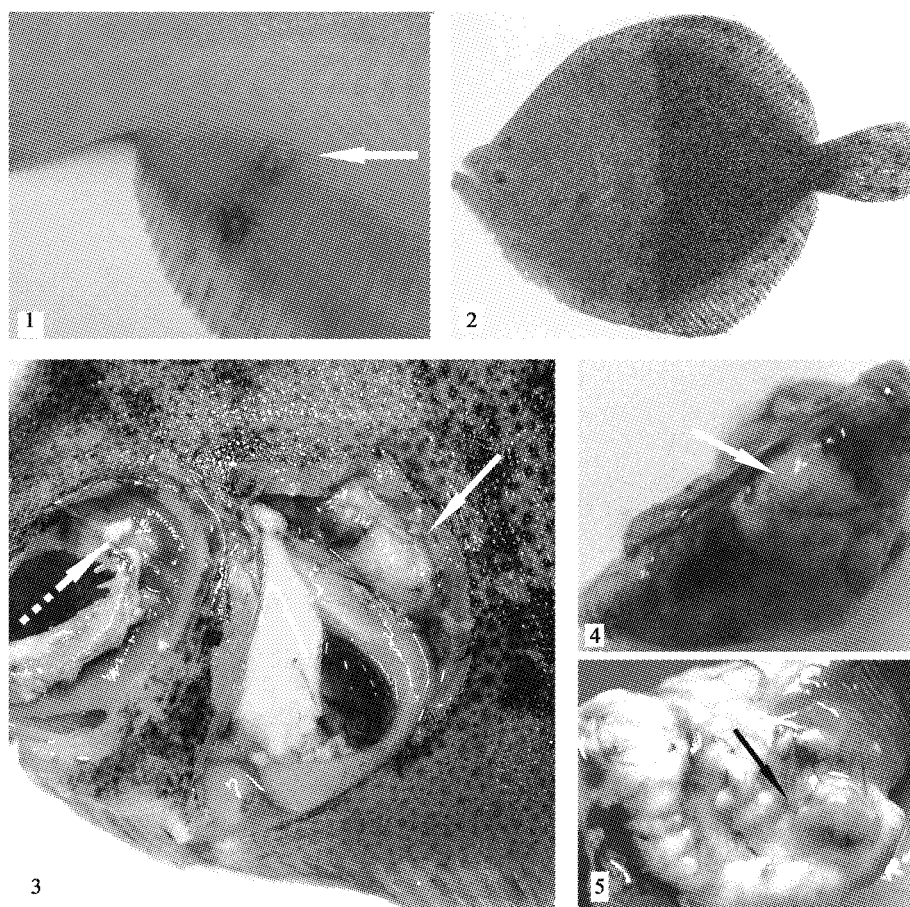
组织病理学研究发现,迟钝爱德华氏菌导致的病理变化广泛,受损组织不仅为肾脏而且涉及脾脏、肝脏、肠、鳃和皮肤等多种组织器官,属于全身性感染。感染早期,以渗出性炎症和单核巨噬细胞增生为特点;而中后期感染多以巨噬细胞极度增生和形成肉芽肿为病变特征。类似的组织病理变化特点在感染迟钝爱德华氏菌的大口黑鲈、牙鲆、罗非鱼、鲶鱼和斑马鱼的组织病理学研究中均有发现<sup>[9,21-24]</sup>。Miyazaki 等<sup>[25-26]</sup>报告在自然发病的日本鳎爱德华氏菌病中存在两种不同的类型。一种是主要病灶在肝脏,肾脏中仅是增生性浸润反应,即肝脏型;另一种是主要病灶在肾脏,即肾脏型。国内报道的水产动物爱德华氏菌病大都属于肝脏型<sup>[4,12-13,17]</sup>,而郭琼林等<sup>[16]</sup>发现鳎爱德华氏菌感染可分肝脏型和肝肾混合型,没有发现单纯的肾脏型。从调查研究结果来看,笔者所见到的感染迟钝爱德华氏菌的大菱鲆均表现出肾脏为易感器官,其病理变化较其他组织器官相比也最为显著的特点。因此,此次调查研究中的大菱鲆爱德华氏菌病应属于肾脏型。

在病理分析中发现,几乎所有病鱼的肾脏都明显肿大,这一现象与 Miyazaki 等<sup>[21]</sup>和 Darwish 等<sup>[23]</sup>报道的其它感染爱德华氏菌的鱼类表现是一致的。值得注意的两个问题是:(1)养殖场 A 病鱼的肾脏呈现典型的肿大、白色黍粒状结节,虽然从中未分离得到迟钝爱德华氏菌,但病鱼的临床症状却与迟钝爱德华氏菌感染的大菱鲆非常相似,即外观表现为身体后半部体色明显变黑,另外大部分肾脏组织被成熟的肉芽肿所取代。在我们的研究过程中,也有其它病鱼样品分析表明感染肾脏的成熟肉芽肿处较难分离得到细菌。Miyazaki 等<sup>[21]</sup>和 Darwish 等<sup>[23]</sup>在相关研究中认为巨噬细胞形成的肉芽肿与消灭迟钝爱德华氏菌有关。这可能是笔者从养殖场 A 的取样病鱼中无法分离到迟钝爱德华氏菌或分离菌量极少的原因所在。结合患病鱼的临床表现和组织病理学变化特点,我们认为养殖场 A 的大菱鲆患病也是由迟钝爱德华氏菌感染所致。(2)慢性感染的大菱鲆均表现出身体后半部变黑的独特症状,这一现象在其它鱼类中没有报道。在其人工感染试验中,有发现典型的肾脏肿大和变白现象,但由于均以高浓度的菌悬液( $9 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ )进行人工感染,所

得感染症状都与自然状态下急性感染的病鱼症状相似,而未产生身体后半部变黑的慢性病变特征。如何解释身体后半部变黑与迟钝爱德华氏菌慢性感染之间的相关性,今后需进行低浓度细菌的人工感染试验来证实,同时研究探讨健康和感染状态下大菱鲂皮肤色素的控制和病变机理。

#### 参考文献:

- [1] 王印庚,张正,秦蕾,等. 养殖大菱鲂主要疾病及防治技术[J]. 海洋水产研究, 2004, 25(6): 61 - 68.
- [2] 陈昌福,吴志新,高汉娇. 日本鳗鲡爱德华氏菌病原菌的分离和鉴定[J]. 华中农业大学学报, 1998, 17(4): 382 - 388.
- [3] 张晓君,战文斌,陈翠珍,等. 牙鲆迟钝爱德华氏菌感染症及其病原的研究[J]. 水生生物学报, 2005, 29(1): 31 - 37.
- [4] 蔡完其,孙佩芳,刘至治. 中华鳖爱德华氏菌病原和组织病理学研究[J]. 水产学报, 1997, 21(4): 428 - 433.
- [5] Michael P, Roy A H, John S M. Molecular characterization of the Japanese encephalitis serocomplex of the flavivirus genus [J]. Virology, 1996, 218(15): 417 - 421.
- [6] Holt J G, Krige N R, Senath P H A, et al. Bergey's manual of determinative bacteriology (ninth edition) [M]. Williams & Wilkins Press, 1994.
- [7] Amandi A, Hiu S F, Rohovec J S, et al. Isolation and characterization of *Edwardsiella tarda* from fall chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. Appl Environ Microbiol, 1982, 43(6): 1380 - 1384.
- [8] Nakatsugawa T. *Edwardsiella tarda* isolated from cultured young flounder [J]. Fish Pathol, 1983, 18: 99 - 101.
- [9] Francis-Floyd R, Reed P, Bolon B, et al. An epizootic of *Edwardsiella tarda* in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. J Wildl Dis, 1993, 29(2): 334 - 336.
- [10] Reddacliff G L, Hornitzky M, Whittington R J. *Edwardsiella tarda septicaemia* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aust Vet J, 1996, 73(1): 30.
- [11] Clavijo A M, Conroy G, Conroy D A, et al. First report of *Edwardsiella tarda* from tilapias in Venezuela [J]. Bull Eur Assoc Fish Pathol, 2002, 22(4): 280 - 282.
- [12] 孔繁德,陈琼,王生育,等. 福建家养淡水鱼爆发传染病的细菌分离鉴定与防治[J]. 福建农业学报, 2004, 19(4): 213 - 218.
- [13] 张超睿,王可之,杨新山,等. 鲤鱼爱德华氏菌败血症的诊断和防治[J]. 内陆水产, 2002, 8: 31.
- [14] Nougayrede P H, Vuillaume A, Vigneulle M, et al. First isolation of *Edwardsiella tarda* from diseased turbot (*Scophthalmus maximus*) reared in a sea farm in the bay of Biscay [J]. Bull Eur Assoc Fish Pathol, 1994, 14: 128 - 129.
- [15] Meyer F P, Bullock G L. *Edwardsiella tarda*, a new pathogen of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Appl Microbiol, 1973, 25(1): 155 - 156.
- [16] 郭琼林,卢全章. 鳗鲡爱德华氏菌病的组织病理学研究[J]. 水生生物学报, 1995, 19(1): 56 - 60.
- [17] 周凯,郑国兴,孙其焕. 欧洲鳗鲡红头病病原的研究[J]. 水生生物学报, 1999, 23(4): 304 - 310.
- [18] Ronald J R. Fish pathology (third edition) [M]. Churchill Livingstone: W. B. SAUNDERS, 2001.
- [19] 战文斌. 水产动物病害学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [20] Zheng D H, Mai K S, Liu Sh Q, et al. Effect of temperature and salinity on virulence of *Edwardsiella tarda* to Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Aquac Res, 2004, 35(5): 494.
- [21] Miyazaki T, Kaige N. Comparative histopathology of edwardsiellosis in fishes [J]. Fish Pathol, 1985, 20: 219 - 227.
- [22] Kaige N, Miyazaki T, Kubota S S. A histopathological study of edwardsiellosis in tilapia experimental infection [J]. Fish Pathol, 1986, 21: 95 - 99.
- [23] Darwish A, Plumb J A, Newton J C. Histopathology and pathogenesis of experimental infection with *Edwardsiella tarda* in channel catfish [J]. J Aquat Anim Health, 2000, 12: 255 - 266.
- [24] Meagan E P, Peter E P, Eckhard W, et al. Pathogenesis and inflammatory response to *Edwardsiella tarda* infection in the zebrafish [J]. Dev Comp Immunol, 2005, 29: 501 - 513.
- [25] Miyazaki T, Egusa S. Histopathology of studies of edwardsiellosis of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) I. Suppurative interstitial nephritis form [J]. Fish Pathol, 1976, 11: 33 - 43.
- [26] Miyazaki T, Egusa S. Histopathology of studies of edwardsiellosis of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) II. Suppurative hepatitis form [J]. Fish Pathol, 1976, 11: 67 - 76.



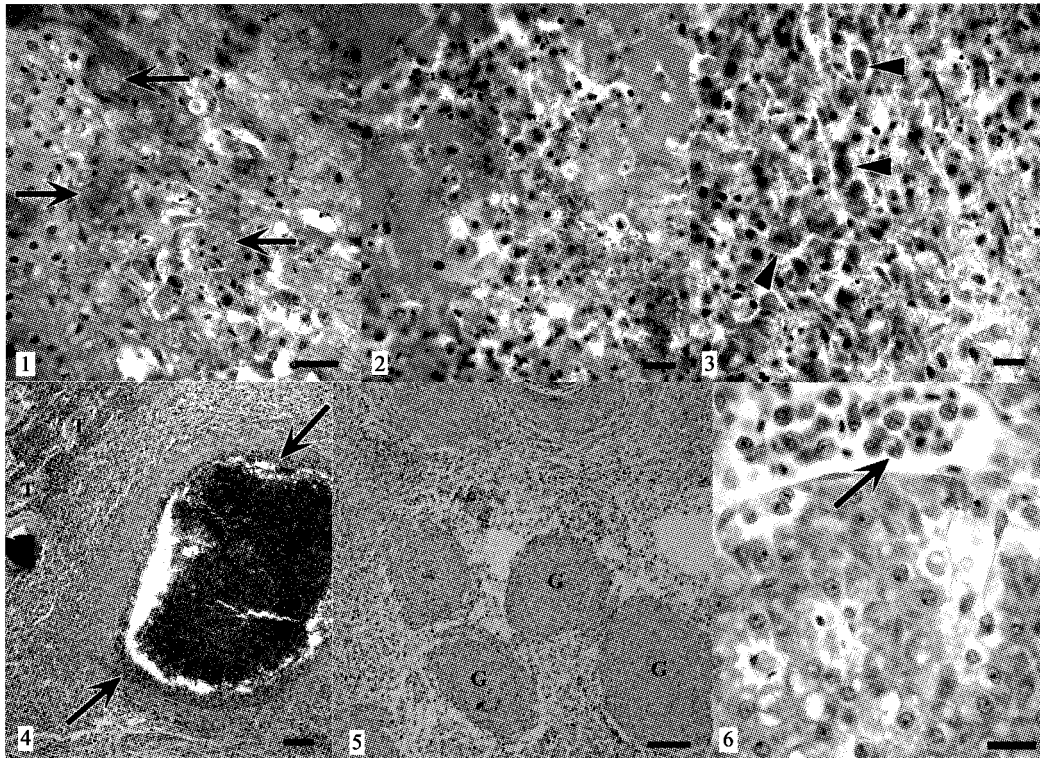
图版 I 患迟钝爱德华氏菌病的大菱鲆

Plate I Diseased turbot naturally infected by *E. tarda*

1. 急性感染的病鱼示脓状肿起(箭头); 2. 慢性感染的病鱼, 示身体后半部变黑; 3. 慢性感染病鱼解剖后内脏和鳃丝感染情况, 示溃疡、变白的鳃丝(虚线箭头)和肿大、变白的肾脏(箭头); 4. 肿大的肾脏具有数个白色黍粒状结节(箭头); 5. 感染鳃丝形成极度膨大、白色的结节(箭头)

1. Diseased turbot at the acute stage showing red cutaneous foci on the ventral side and fins base (arrow); 2. Diseased turbot with black darkening of the posterior portion of the body at the chronic stage; 3. A infected turbot in the chronic stage showing cankerous whitish gills (dashed arrow) and swollen whitish kidney (arrow); 4. Enlarged kidney with several whitish nodules (arrow); 5. Enlarged gills with whitish nodules (arrow)





图版 II 患迟钝爱德华氏菌病大菱鲆的组织病理变化

Plate II Histopathological changes of diseased turbot naturally infected by *E. tarda*

1. 慢性感染期的病鱼肾脏,箭头示巨噬细胞浸润灶内的细菌菌落,标尺 = 10  $\mu\text{m}$ ; 2. 大量的细菌引发肾脏发生坏死,发生纤维素样渗出性炎症反应,标尺 = 10  $\mu\text{m}$ ; 3. 巨噬细胞吞噬细菌(箭头),标尺 = 10  $\mu\text{m}$ ; 4. 早期肉芽肿结构,中央为坏死的细菌、吞噬细胞和造血组织(箭头)(T, 肾小管),标尺 = 50  $\mu\text{m}$ ; 5. 成熟的肉芽肿(G),标尺 = 50  $\mu\text{m}$ ; 6. 箭头示扩张的肝血窦内的巨噬细胞,标尺 = 10  $\mu\text{m}$

1. Bacteria present as small colonies (arrow) in the kidney of diseased fish at the chronic stage, bar = 10  $\mu\text{m}$ ; 2. Numerous bacteria causing severe necrosis with exudation of fibrin in the kidney, bar = 10  $\mu\text{m}$ ; 3. Microphages engulf many bacteria (arrowhead), bar = 10  $\mu\text{m}$ ; 4. One granuloma containing bacteria, necrotized macrophages and haematopoietic cells in the center (arrow) (T, tubule), bar = 50  $\mu\text{m}$ ; 5. Several mature granulomas (G) in the kidney (bar = 50  $\mu\text{m}$ ); 6. Microphages in the dilated sinusoids of the liver (arrow), bar = 10  $\mu\text{m}$