

中华鳖穿孔病感染途径与防治技术的研究

王高学

王英珍

(西北农业大学动物科学与动物医学学院, 陕西杨凌 712100)

(天津市畜牧兽医研究所, 天津 300112)

摘要 进行了中华鳖穿孔病病原菌嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 和普通变形菌 (*Proteus vulgaris*) 的人工感染、药敏和治疗试验。结果表明, 两种菌经肌注、体表划痕法感染, 均能使鳖表现出与自然病鳖相一致病症, 两种菌均对庆大霉素、卡那霉素、诺氟沙星高度敏感。人工感染后第 4 天分别用硫酸庆大霉素、硫酸丁胺卡那霉素和复方诺氟沙星腹腔注射治疗, 每 100 g 体重剂量分别为 1, 2, 4, 16 mg/d, 连续 4 d 均能完全治愈。

关键词 中华鳖, 穿孔病, 人工感染, 药敏试验, 防治技术

分类号 S947.12

中华鳖穿孔病是养殖中常见病害之一, 具有发病率高、传染性强、死亡率大等特点, 一旦发生, 往往造成巨大经济损失。因此, 研究穿孔病感染途径与防治技术对发展养鳖业至关重要。据报道, 穿孔病的病原菌为嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)^[1-4]、某种产碱菌 (*Alcaligenes* sp.)^[3] 和普通变形菌 (*Proteus vulgaris*)^[4]。但是, 有关穿孔病的感染途径和防治技术方面的研究尚未见到系统报道。1994 年 8 月~ 1995 年 10 月, 对发生在陕西咸阳市养鳖场内穿孔病所分离的普通变形菌和嗜水气单胞菌菌株进行了感染致病、药敏和治疗试验, 旨在探讨病菌感染致病性、感染途径, 以及利用高敏感药物硫酸庆大霉素、硫酸丁胺卡那霉素和复方诺氟沙星治疗效果试验情况。

1 材料和方法

受试病原菌 穿孔病病原菌普通变形菌和嗜水气单胞菌两菌株均由养鳖场同一病鳖经分离、纯化、鉴定获得。两菌株 4℃ 冰箱保存。试验时重新培养试用。

试验用鳖 人工感染、药敏与治疗试验所用幼鳖, 体重为 102~ 110 g, 经严格挑选, 均活泼健康无病害。试验幼鳖来源于咸阳神宝集团养鳖场内自然养鳖池。在试验前, 首先按每 3 只为一组, 在控温 28℃ 的水族箱中暂养 3 d 以适应环境, 并每天投喂鲜鱼肉。

药敏试验 采用纸片扩散法。抗菌药纸片购于北京天坛生物技术开发部, 纸片药物含量为 10 mg/L。两菌株分别用 M-H (Mueller-Hinton) 培养基培养, 温箱温度为 28℃。

人工感染试验 将普通变形菌和嗜水气单胞菌两种菌分别接种于营养琼脂斜面上, 置 28℃ 培养箱中培养 16 h 左右, 再用无菌生理盐水洗下菌苔, 制成菌悬液, 并对其计数, 使每毫升中含 14~ 16 亿个细菌。人工感染试验分两菌株单独接种和混合接种两种方式。采用肌注、体表划痕法感染。体表划痕法采用吸有菌悬液的注射器针头将幼鳖背、腹皮肤刺破划线, 同时推注菌液, 将刚接完种的幼鳖在无水盆中暂置 1 h 左右, 再入水族箱中。

收稿日期 1998-02-16

作者简介 王高学, 男, 1965 年生, 讲师

设置对照组用无菌生理盐水接种,接种剂量 0.3 mL。对混合接种,每菌株用量分别为 0.15 mL。人工感染试验分 2 次进行。首先是致病性试验,一般在感染后养殖 14 d,并进行病理解剖研究;第二次人工感染试验主要为治疗试验设置。

治疗试验 采用体表划痕法使两种菌混合感染,第 4 天进行腹腔注射抗菌药治疗试验。主要利用硫酸庆大霉素(主要含量 2 mL: 0.04,山西晋新制药总厂)或硫酸丁胺卡那霉素(主要含量 2 mL: 0.2,上海旭东海普药业有限公司)或复方诺氟沙星注射液(主要含量 2 mL: 0.01,西北农大动物科学与动物医学学院药理组研制),每天注射 2 次,早晚各 1 次,间隔 6 h 左右,4 d 为一疗程。另外,还需每天用 $10\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的富氯药浴 0.5 h,连续 4 d。上述综合治疗一个疗程(4 d)后,再将幼鳖养殖 7 d,观察治疗效果。

2 结 果

药敏试验 试验结果见表 1。普通变形菌对卡那霉素、庆大霉素抑菌圈直径大于 15 mm,为高度敏感;诺氟沙星抑菌圈为 10~15 mm 属中度敏感;链霉素、四环素、土霉素、螺旋霉素、呋喃唑酮、多粘菌素 B 抑菌圈小于 10 mm,为低敏感;青霉素 G 磺胺嘧啶不敏感。嗜水气单胞菌对卡那霉素、庆大霉素、诺氟沙星高度敏感;链霉素、四环素、土霉素、螺旋霉素中度敏感;多粘菌素 B 磺胺嘧啶低度敏感;青霉素 G 和呋喃唑酮不敏感。

表 1 两种菌对抗菌药物的敏感性

| 药物 | 菌株 | | 药物 | 菌株 | |
|---------|-------|--------|--------|-------|--------|
| | 普通变形菌 | 嗜水气单胞菌 | | 普通变形菌 | 嗜水气单胞菌 |
| 青霉素 G 钾 | — | — | 螺旋霉素 | + | ++ |
| 链霉素 | + | ++ | 呋喃唑酮 | + | — |
| 卡那霉素 | +++ | +++ | 多粘菌素 B | + | + |
| 庆大霉素 | +++ | +++ | 诺氟沙星 | ++ | +++ |
| 四环素 | + | ++ | 磺胺嘧啶 | — | + |
| 土霉素 | + | ++ | | | |

注:“+++”表示高度敏感;“++”表示中度敏感;“+”表示低度敏感;“—”表示不敏感。

细菌的致病性 由表 2 可以看出,两菌株单独或混合均有较强的致病性,普通变形菌感染分别在第 25, 31, 34 小时各死亡 1 只;嗜水气单胞菌感染 10 h 死亡 1 只,第 20~24 小时全部死亡。混合两菌感染,在第 6 小时死亡 2 只,第 24 小时死亡 1 只,对照组养殖 3 d 均正常。采用划痕法感染,从发病到死亡时间较长。在接种第 3 天,幼鳖表现反应迟钝、停食,背部接种处出现米粒般黄色疣粒,再经 3~4 d 逐渐长成疮痂状,揭去后可见较深的洞穴,与自然发病症状完全相同。由表 3 知,无论单独感染还是两菌株混合感染,均在第 3 天表现发病症状,12 d 内全部死亡。

表 2 两种菌单独或混合肌注感染试验

| 菌名 | 菌液浓度 / (个 $\cdot \text{mL}^{-1}$) | 剂量 / mL | 死亡数 / 试验数 | 感染后结果 |
|----------------------|------------------------------------|-----------|-----------|--------------|
| <i>P. vulgaris</i> | 1.6×10^6 | 0.3 | 3/3 | 25~34 h 全部死亡 |
| <i>A. hydrophila</i> | 1.7×10^6 | 0.3 | 3/3 | 10~24 h 全部死亡 |
| 两者混合 | 1.6×10^6 | 0.15+0.15 | 3/3 | 6~24 h 全部死亡 |
| 对照 | 生理盐水 | 0.3 | 0/3 | 3 d 内正常 |

表 3 两种菌单独或混合体表划痕感染试验

| 菌名 | 菌液浓度 / (个 · mL ⁻¹) | 病出现时间 | 发病数 / 试验数 | 死亡时间 | 死亡数 / 试验数 |
|----------------------|--------------------------------|--------|-----------|--------|-----------|
| <i>P. vulgaris</i> | 1.6 × 10 ⁹ | 第 3 天 | 3/3 | 7~12 d | 3/3 |
| <i>A. hydrophila</i> | 1.7 × 10 ⁹ | 第 3 天 | 3/3 | 5~9 d | 3/3 |
| 两者混合 | 1.6 × 10 ⁹ | 第 3 天 | 3/3 | 4~9 d | 3/3 |
| 对照 | 生理盐水 | 3 d 正常 | 0/3 | 7 d 正常 | 0/3 |

病理学观察 对两菌株单独或混合感染的病鳖解剖发现,肠充血,肝灰褐色且肿大,肺褐色,脾肿大变紫,腹腔内体液增多,具腥臭味,同时,肝肺脏器充血严重,肾脏组织学观察表现严重衰竭。混合感染者病理学表现出与自然病鳖更为一致。

治疗试验 由于幼鳖来源不易,仅采取两菌株混合体表划痕法接种进行治疗试验。试验中,混合感染第 3 天表现出穿孔病症状,第 4 天按组进行治疗试验(见表 4)。A2, B2, C2 三组治疗后,养殖 14 d, 无菌操作下解剖,取血液和组织在营养琼脂平板上划线分离,置 28℃ 恒温培养 24 h, 结果没有致病菌落生长,说明该组已完全治愈。而 A1, B1, C1 这三组,在治疗后,经养殖 14 d, 将复发病的幼鳖在无菌下取材,进行划线分离,获得两菌株,经鉴定为普通变形菌和嗜水气单胞菌,与感染致病菌相同;将 A1, B1, C1 三组中没有复发病者在无菌下取材,进行细菌分离,结果没有致病菌存在。说明 A1, B1, C1 三组试用抗生素剂量不够或疗程短,未完全治愈。

表 4 人工感染治疗效果试验

| 组别 | 注射抗生素 | 剂量 / (mg · kg ⁻¹ · d ⁻¹) | 每日注射次数 | 治病疗程 / d | 14 d 治疗效果 | 痊愈数 / 病鳖数 |
|----|----------|---|--------|----------|-----------|-----------|
| A1 | 硫酸庆大霉素 | 6 | 2 | 2 | 全部发病 | 0/3 |
| A2 | 硫酸庆大霉素 | 12 | 2 | 4 | 正常 | 3/3 |
| B1 | 硫酸丁胺卡那霉素 | 20 | 2 | 2 | 一只发病 | 2/3 |
| B2 | 硫酸丁胺卡那霉素 | 40 | 2 | 4 | 正常 | 3/3 |
| C1 | 复方诺氟沙星 | 80 | 2 | 2 | 一只发病 | 2/3 |
| C2 | 复方诺氟沙星 | 160 | 2 | 4 | 正常 | 3/3 |
| 对照 | 生理盐水 | 0.3 mL | 2 | 1 | 全部死亡 | 0/3 |

3 讨 论

病原菌的传播途径 本研究通过人工感染试验,表明穿孔病两种病原菌主要通过受损的皮肤入侵鳖体内感染。试验证明,只有皮肤受损感染穿孔病病原菌,才会表现出穿孔病自然发病症状相同的结果。病菌经其他方式入侵感染,虽然发病,但与穿孔病症状有所不同。这说明,相同病菌由于感染方式的差异,往往表现出不同的症状。病理学研究获知,普通变形菌和嗜水气单胞菌单独感染,其发病程度比两菌株混合感染要轻,两菌株因为来源同一发病鳖,故混合感染所表现肠充血,肝、肾、脾等内脏器官败血症状与自然发病完全一致。由于嗜水气单胞菌和普通变形菌是条件致病菌,通过陕西地区发病池塘分析,发生穿孔病的池塘环境条件较差,水质恶化,池底污物较多,长期不能注入新水和排污,池水透明度在 20 cm 以下,又因池底沙粒太粗不光滑,鳖体易损伤,有时发生轻度腐皮病,这时,继发性发生穿孔病。往往腐皮病发生时,技术人员通过药浴很快治愈,但是不久,又相继发生了穿孔病。这说明,穿孔病的病原菌已经侵入鳖体内,即使治愈了腐皮病,也能引起穿孔

病发生。由此看出, 鳖的体表创伤受损和水质恶化, 病原菌大量繁殖是穿孔病发生的主要原因。

穿孔病防治技术 结合参考治疗试验的研究, 对发生在陕西省部分养殖场鳖穿孔病的治疗方法是: 每天用 $10\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的富氯和 $25\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的高锰酸钾分别药浴 30 min, 连续 4 d, 同时, 每天用硫酸庆大霉素腹腔注射 2 次, 每天鳖用量为 12 mg/kg, 连续 4 d 为一个疗程, 可完全治愈; 日常生产管理中, 定期换注新水, 定期排污, 每 20 d 左右用 $2\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 漂白粉遍洒消毒, 清池时用 $25\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 高锰酸钾药浴可有效防治该病的发生。对穿孔病的治疗, 建议选用硫酸庆大霉素、硫酸丁胺卡那霉素、复方诺氟沙星注射液等药物进行腹腔注射治疗为好。

参 考 文 献

- 1 川崎义一. 甲鱼的习性和新的养殖法. 蔡兆贵译. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1986
- 2 蔡完其. 鳖病防治. 淡水渔业, 1985(3): 30-31
- 3 齐彩霞, 罗远忠, 吴佩链, 等. 鳖穿孔病的病原菌及其防治的研究. 淡水渔业, 1995, 25(4): 17-19
- 4 孙佩芳, 蔡完其, 吴建农, 等. 鳖穿孔病的病原研究. 水产学报, 1996, 20(2): 120-124

Infection and Treatment of the Caverned Disease in Soft-shelled Turtle (*Trionyx sinensis*)

Wang Gaoxue¹ Wang Yingzhen²

(¹ College of Animal Science and Veterinary Medicine, Northwestern
Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

(² Tianjin Institute of Animal Science and Veterinary Medicine, Tianjin 300112)

Abstract This paper reports the results of artificial infection, drug sensitivity and cure tests of the caverned disease of *Trionyx sinensis* challenged with pathogen-*A. hydrophila* and *P. vulgaris*. The *Trionyx sinensis* in this test can be infected and died by inoculating the two strains of bacteria into intramuscular and streak wound on body surface, respectively. The artificial disease shows no difference from the natural ones. After four days of inoculation with the bacteria, the *Trionyx sinensis* is separated into three groups for treatment with different antibiotics. Group A, B, C are treated with injection of *Gentamycin* 1.2 mg, *Kanamycin* 4 mg, *Norfloracin* 16 mg for per 100 g body weight. The results show that the disease is cured effectively with the three antibiotics.

Key words *Trionyx sinensis*, caverned disease, artificial infection, drug sensitivity, prevention and treatment