

# 中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)摩氏摩根菌(*Morganella morganii*)的鉴定及致病性研究\*

孔 蕾<sup>1,2</sup> 朱凝瑜<sup>2</sup> 贝亦江<sup>2</sup> 丁雪燕<sup>2</sup> 陈健舜<sup>2</sup>

(1. 浙江大学动物预防医学研究所 杭州 310058; 2. 浙江省水产技术推广总站 杭州 310012)

**提要** 从3只患有头面部疔疮中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)的肝脏、肾脏、头面部病灶干酪样组织,分离得到12株细菌。综合菌落形态观察、16S rRNA序列分析与生化特性分析方法,所有分离株均为摩氏摩根菌(*Morganella morganii*)。稚鳖和小鼠感染试验提示该菌具有较强的致病力,其对小鼠的半数致死量( $LD_{50}$ )为 $10^{7.24}$ 。同时采用常规琼脂扩散(K-B)法进行8类14种常用药物的抗菌敏感性测定,结果表明,分离株对氨基糖苷类、 $\beta$ -内酰胺类、四环素类、林可酰胺类、多肽类、喹诺酮类、磺胺类等中的8种药物耐药,对氨曲南、氟苯尼考、头孢哌酮则较为敏感。本研究为中华鳖以头面部疔疮为主要临床特征的摩氏摩根菌病的首例报道,旨在为该病的确诊与防治提供科学依据和参考。

**关键词** 中华鳖; 摩氏摩根菌; 鉴定; 致病力; 耐药性

**中图分类号** S912

中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)在浙江省各地广泛养殖,在全省水产养殖业中占有非常重要的地位,已形成从原良种场建设、苗种繁育、养殖生产、饲料研发到产品加工出口的产业链。

虽然中华鳖养殖产业蓬勃发展,然而随着养殖规模的扩大,以及集约化程度的提高,病害频繁发生,对产业发展造成了严重影响。细菌性病原是引起中华鳖疾病最常见的病原,造成的经济损失也最大。中华鳖细菌性病原种类繁多,目前已经报道的主要有嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)(陆宏达等,1996; 吴惠仙,2004)、温和气单胞菌(*Aeromonas sobria*)(马有智等,2000b; 吴惠仙,2004)、豚鼠气单胞菌(*Aeromonas caviae*)(余旭平等,1997; 吴惠仙,2004)、迟缓爱德华菌(*Edwardsiella tarda*)(蔡完其等,1997; 潘晓艺等,2010),此外还有弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)(林启存等,2008; 胡广洲等,2010)、格氏乳球菌(*Lactococcus garvieae*)(陈泽祥等,2008; 胡广洲等,2010)等的报道。

2012年7月,浙江省某规模化中华鳖养殖场暴发流行性疾病。发病鳖于2011年9月起饲养于温室,2012年6月12日移养至外塘,规格为350—650g/只,2012年7月初开始发病。从发病鳖体内分离到12株优势菌,中华鳖与小鼠感染试验证实该菌具有较强的毒力;采用16S rRNA序列分析、Vitek生化鉴定等方法,对该菌进行了种别鉴定;同时通过药敏试验对该致病菌进行敏感药物筛选,以期为该病的确诊与防治提供科学依据和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 细菌分离

3只中华鳖于发病高峰期采自浙江萧山某规模化养殖场,编号分别为t28、t29、t30,均具有典型的临床症状。其主要症状为头面部出现畸形,病灶向外明显突出,类似疔疮样(图1a);剖开病灶可见干酪样组织(图1b),并有一股腥恶奇臭味;但未发现内脏器官有明显病变。无菌剖取肝脏、肾脏与头面部病灶内的

\* 浙江省重大科技专项,2012C12907-1号;浙江省水产技术推广总站站长基金资助项目,TGZ201101号。孔蕾,工程师, E-mail: xmxz@163.com

通讯作者: 陈健舜,副研究员, E-mail: allan\_523@163.com

收稿日期: 2012-11-17, 收修改稿日期: 2013-02-25

干酪样组织,在脑心浸液(BHI)平板培养基上划线分离。37℃培养 24h 后,挑取优势生长的单菌落进行纯化培养。

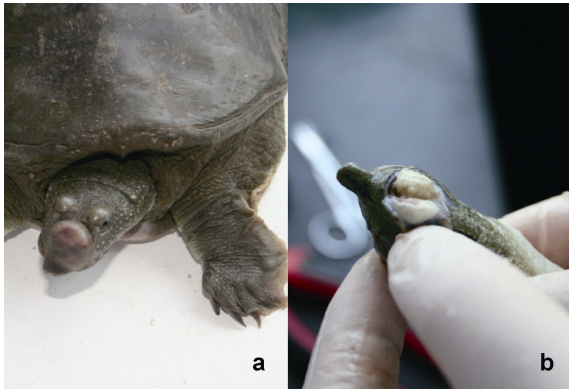


图 1 发病中华鳖体表症状

Fig.1 Gross signs of diseased *P. sinensis*

## 1.2 Vitek 生化鉴定

纯培养细菌进行革兰氏染色,在油镜下判定其为革兰氏阳性或阴性,并经氧化酶试验测定其反应性,据此选择相应的生化测定卡(Biomerieux, France)。应用 VITEK32 全自动微生物分析仪测定细菌的 30 个生化指标。

## 1.3 16S rRNA 序列分析

**1.3.1 基因组 DNA 的制备** 采用 Ezup 柱式基因组 DNA 抽提试剂盒(上海生工有限公司)提取细菌基因组 DNA,保存于-20℃备用。

**1.3.2 PCR 及其产物测序** 采用 25μL 反应体系: 10×Taq Buffer (含 Mg<sup>2+</sup>) 3μL, 10mmol/L dNTP Mix 0.6μL, 50μmol/L 上下游引物各 0.5μL, DNA 模板 2μL, Taq DNA polymerase 0.3μL, 加双蒸水补足体积。反应条件为: 94℃ 预变性 3min; 94℃ 变性 30s, 57℃ 退火 30s, 72℃ 延伸时间按 1000bp/min 计算, 30 个循环; 72℃ 5min。采用 16S rRNA 通用引物[引物序列(5'—3'): (F) AGAGTTTGATCCTGGCTCAG, (R) CCGTCAATTCCTTTRAGTTT], 扩增得到 16S rRNA 片段。PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶中电泳,经 Goldview 染色后用凝胶成像系统分析。产物回收纯化后送至上海英骏生物技术有限公司测序。

**1.3.3 16S rRNA 基因序列系统进化树构建** 将测序所得菌株 16S rDNA 序列通过 NCBI 的 Blast 检索系统进行序列同源性分析。检索出相似较高的序列采用 Clustal X (1.83) (Thompson *et al*, 1997)进行多序列匹配排列(Multiple Alignments)。参照 Saitou 等

(1987)的方法使用 MEGA4.0 软件,采用邻接法(Neighbor-joining method)构建系统发育树,并通过 1000 次的自举分析(boos trap)进行置信度检测。

## 1.4 动物感染试验

**1.4.1 中华鳖感染试验** 随机挑选头面部分离株 t28-h-m1, 接种于 BHI 培养基, 37℃ 培养 16—18h, 用无菌 BHI 培养基稀释成 10<sup>8</sup> CFU/mL 的细菌悬液备用。取 6 日龄、4—6g/只的稚鳖进行腹腔注射, 每组 15 只, 剂量为 0.1mL/只。对照组中华鳖注射等体积的无菌生理盐水, 数量同试验组。连续观察 7d, 记录其发病及死亡情况; 同时对濒死中华鳖的肝、肾进行细菌分离和鉴定, 观察再分离菌株与原菌株的形态和生化特性是否一致。

**1.4.2 小鼠感染试验** 将头面部分离株 t28-h-mL 接种于 BHI 培养基, 37℃ 培养 16—18h, 无菌生理盐水稀释成 10<sup>5</sup>—10<sup>8</sup> CFU/mL 的细菌悬液备用。取 ICR 系雄性小鼠(浙江省医学科学院, 体重为 16—18g/只), 分为 4 组(10<sup>5</sup>—10<sup>8</sup> CFU/mL), 每组 5 只, 进行腹腔注射攻毒, 注射剂量为 0.1mL/只。对照组注射等体积的无菌生理盐水, 数量同试验组。连续观察 7d, 记录其发病及死亡情况, 并按改良寇氏法计算半数致死量(LD<sub>50</sub>)。

## 1.5 药物敏感性试验

采用常规琼脂扩散(K-B)法进行 8 类 14 种常用抗菌药物的抗菌敏感性测定, 培养 24h 后测量各药物的抑菌圈直径大小。每种药物对各菌株均设 3 个平行试验组, 根据其抑菌圈直径大小的平均值, 以判定各药物对细菌的作用。

## 2 结果

### 2.1 细菌分离及菌落形态观察

从 3 只患病中华鳖的肝脏、肾脏以及头面部病灶内的干酪样组织, 分离与纯化得到 12 株细菌, 包括 7 株头面部分离株(t28-h-m1、t28-h-m2、t29-h-m1、t29-h-m2、t29-h-s1、t30-h-1、t30-h-3)、4 株肝脏分离株(t28-g-1、t28-g-2、t29-g-1、t29-g-2)、1 株肾脏分离株(t29-s-1)(表 1)。菌株在 BHI 培养基上生长良好, 菌落圆形凸起, 乳白色半透明, 表面光滑、湿润, 且边缘整齐。菌株革兰氏染色均为阴性, 镜检形态为短杆状。

### 2.2 生化鉴定

基于 30 个生化反应的 Vitek 分析提示, 12 株分离株均为摩氏摩根菌(*Morganella morganii*), 并具有一

致的生化特性: DP-30、葡萄糖、色氨酸肉汤、尿素、多粘菌素 B、鸟氨酸等 7 个反应为阳性, 其余均为阴性(表 2)。

表 1 发病中华鳖分离菌株 16S rRNA 序列分析结果  
Tab.1 16S rRNA sequence analysis of isolates from diseased *P. sinensis*

菌株编号	分离部位	16S rRNA 置信度
t28-g-1	肝	<i>Morganella morganii</i> (97%/99%)
t28-g-2	肝	<i>Morganella morganii</i> (97%/99%)
t28-h-m1	头面部病灶	<i>Morganella morganii</i> (99%/99%)
t28-h-m2	头面部病灶	<i>Morganella morganii</i> (99%/99%)
t29-g-1	肝	<i>Morganella morganii</i> (98%/99%)
t29-g-2	肝	<i>Morganella morganii</i> (99%/99%)
t29-h-m1	头面部病灶	<i>Morganella morganii</i> (99%/99%)
t29-h-m2	头面部病灶	<i>Morganella morganii</i> (99%/99%)
t29-h-s1	头面部病灶	<i>Morganella morganii</i> (98%/99%)
t29-s-1	肾	<i>Morganella morganii</i> (99%/99%)
t30-h-1	头面部病灶	<i>Morganella morganii</i> (99%/99%)
t30-h-3	头面部病灶	<i>Morganella morganii</i> (98%/99%)

表 2 发病中华鳖分离菌株 Vitek 生化分析结果  
Tab.2 Biochemical analysis of isolates from diseased *P. sinensis* by Vitek

鉴定项目	结果	鉴定项目	结果
DP-30DP3	+	棉子糖 RAF	-
葡萄糖 OFG	+	山梨醇 SOR	-
生长对照 GC	+	蔗糖 SUC	-
乙酰胺 ACE	-	肌醇 INO	-
七叶灵 ESC	-	侧金盏花醇 ADO	-
植物尿蓝母 PLI	-	香豆酸 COU	-
尿素 URE	+	硫化氢 H <sub>2</sub> S	-
枸橼酸盐 CIT	-	β-半乳糖苷酶 ONP	-
丙二酸盐 MAL	-	鼠李糖 RHA	-
苯丙氨酸 TDA	-	阿拉伯糖 ARA	-
多粘菌素 BPXB	+	葡萄糖 GLU	+
乳糖 LAC	-	精氨酸 ARG	-
麦芽糖 MLT	-	赖氨酸 LYS	-
甘露醇 MAN	-	鸟氨酸 ORN	+
木糖 XYL	-	氧化酶 OXI	-

### 2.3 16S rRNA 序列分析

16S rRNA 序列分析结果提示, 12 株发病鳖分离株均为摩氏摩根菌, 且置信度均在 97%以上(表 1)。用 MegAlign 软件排列 12 株分离株的 16S rRNA 序列, 仅有 4 个位点的碱基存在差异。从 NCBI 基因序列数据库下载 3 株摩氏摩根菌, 以及其它 12 株肠杆菌

科的菌株, 包括沙门氏菌属(*Salmonella*)、耶尔森菌属(*Yersinia*)、克雷伯菌属(*Klebsiella*)、变形杆菌属(*Proteus*)、普罗非登斯菌属(*Providencia*)等 5 个菌属, 构建系统进化树(图 2)。进化树分为两个主要分支, 一支包括 12 株分离株、3 株摩氏摩根菌、2 株耶尔森菌、2 株沙门氏菌、2 株变形杆菌; 另一支包括 2 株克雷伯菌、4 株普罗非登斯菌。进化树的分支与各菌属的已知进化地位一致。

12 株发病鳖分离株的同源性较高, 达 99.5%—100%, 与已经报道的摩氏摩根菌菌株 ALK312、ATCC25830 与 MM0817 亲缘关系最近, 同源性达 99.0%—99.5%; 而与其它细菌的同源性为 92.7%—94.9%。综上所述, 12 株发病鳖分离株均为摩氏摩根菌。

### 2.4 致病力测定

**2.4.1 中华鳖致病力测定** 试验组中华鳖从 24h 开始死亡, 到第 6 天全部死亡, 并从肝脏、肾脏中分离到与注射菌形态及生化特性完全相同的细菌。对照组则未出现死亡。

**2.4.2 小鼠致病力测定** 分为 4 个不同的攻毒剂量组感染 ICR 小鼠, 其中  $2.2 \times 10^8$  CFU 剂量组小鼠 24h 内全部死亡,  $2.2 \times 10^7$  剂量组 48h 死亡 3 只,  $2.2 \times 10^6$  CFU 与  $2.2 \times 10^5$  CFU 组小鼠以及对对照组小鼠均未见死亡(表 4)。根据上述结果, t28-h-m1 对小鼠的  $LD_{50}$  为  $10^{7.24}$ 。

### 2.5 药物敏感性试验

基于 8 类 14 种药物, 测定 t28-g1 与 t28-h-m1 的耐药谱。两者的耐药情况基本一致: 对庆大霉素、青霉素 G、四环素、多西环素、林可霉素、万古霉素、恩诺沙星、复方新诺明耐药, 对阿米卡星、新霉素、诺氟沙星中度敏感, 对氨基糖苷类高度敏感; 唯一的差异在于, t28-g1 株对头孢哌酮中度敏感, 而 t28-h-m1 株对头孢哌酮高度敏感。

## 3 讨论与结论

本研究从 3 只患病鳖的肝脏、肾脏以及头面部病灶内的干酪样组织, 得到 12 株细菌。经菌落形态观察、16S rRNA 序列分析、生化特性分析等, 病原均鉴定为摩氏摩根菌。稚鳖和小鼠感染试验提示该菌具有一定的毒力, 小鼠  $LD_{50}$  达  $10^{7.24}$ 。经比较分析, 该分离株的毒力与马有智等(2000a)在穿孔病中华鳖中得到的分离株一致; 虽然其它分离株(黄尚彪等, 2004; 陈永林等, 2007; 黎小正等, 2010)也进行了小鼠感染试验, 但因未指明菌悬液浓度, 故无法进行比较。

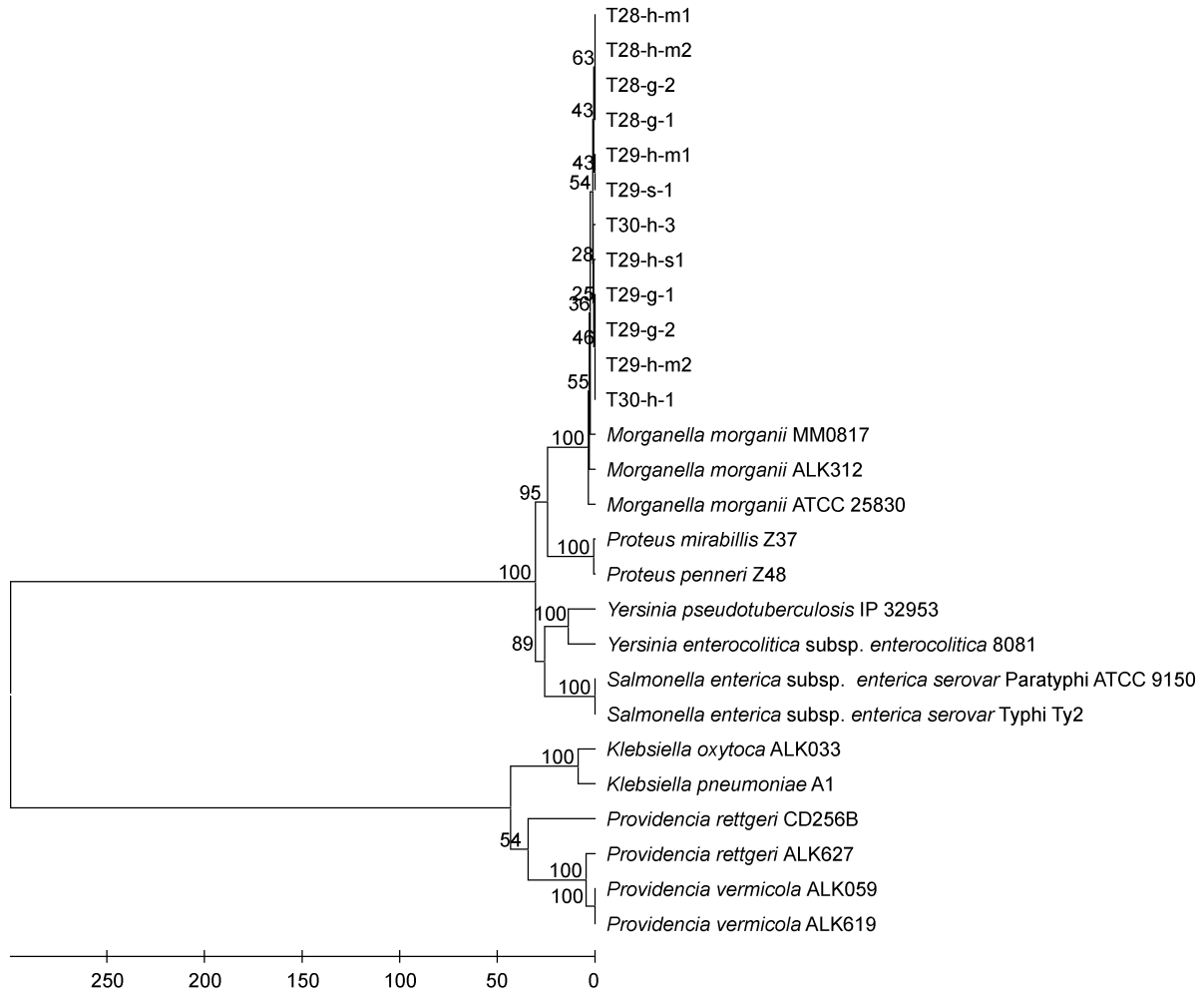


图 2 发病中华鳖分离菌株系统进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of isolates from diseased *P. sinensis*

表 3 摩氏摩根菌分离株 t28-h-m1 对中华鳖的致病力测定  
Tab.3 Virulence evaluation of *M. morganii* isolate t28-h-m1 in *P. sinensis*

组别	攻毒剂量 (CFU)	数量	死亡数				死亡率 (%)
			24h	48h	72h	6d	
试验组	10 <sup>8</sup>	15	2	11	1	1	100
对照组	—	15	0	0	0	0	0

表 4 摩氏摩根菌分离株 t28-h-m1 对小鼠的致病力测定  
Tab.4 Virulence evaluation of *M. morganii* isolate t28-h-m1 in mouse

组别	攻毒剂量 (CFU)	数量	死亡数		
			24h	48h	总计
试验组	2.2 × 10 <sup>8</sup>	5	5	/	5
	2.2 × 10 <sup>7</sup>	5	0	3	3
	2.2 × 10 <sup>6</sup>	5	0	0	0
	2.2 × 10 <sup>5</sup>	5	0	0	0
对照组	—	5	0	0	0

在人工感染试验中, 稚鳖没有复制出与天然发病鳖相似的症状, 可能的原因有: 人工感染途径为腹腔注射, 与自然感染不同; 人工感染方式为急性感染, 与自然发病鳖的持续感染不同; 人工感染稚鳖与自然发病鳖的养殖环境与营养条件也存在较大差异。因此, 为解明摩氏摩根菌对中华鳖的致病机理, 亟需建立可更好模拟自然感染的实验模型。

摩氏摩根菌属于肠杆菌科摩根菌属, 是人肠道中的正常菌群, 通常存在于污水、土壤和动物粪便中, 是引起严重感染的条件致病菌, 常引起尿路和术后伤口的医院感染, 还能引起败血症、肺炎、肌炎、脑炎、心包炎、绒毛膜羊膜炎、眼内炎、特发性细菌性腹膜炎等(Mandell *et al*, 1994; Golubic-Cepulic *et al*, 2004)。该菌也对海狸鼠、鳖、蛇、锦鲤、袋鼠、龟、鼯、仔猪、鸡等多种养殖动物(陈永林等, 1995; 郑曙明等, 1999; 马有智等, 2000a; Ono *et al*, 2001; 黄尚

表 5 中华鳖摩氏摩根菌分离株的药物敏感性  
Tab.5 Antimicrobial susceptibility of *M. organii* isolates from disease *P. sinensis*

药物类别	药物名称	含药量( $\mu\text{g}$ )	抑菌圈直径(mm) (药物敏感性)	
			t28-g1	t28-h-m1
氨基糖苷类	庆大霉素	10	12(R)	10(R)
	阿米卡星	30	16(I)	15(I)
	新霉素	30	15(I)	15(I)
$\beta$ -内酰胺类	青霉素 G	10	0(R)	0(R)
	头孢哌酮	75	19(I)	23(S)
	氨曲南	30	23(S)	23(S)
氯霉素类	氟本尼考	30	21(S)	23(S)
四环素类	四环素	30	0(R)	0(R)
	多西环素	30	9(R)	0(R)
林可酰胺类	林可霉素	2	0(R)	0(R)
多肽类	万古霉素	30	0(R)	0(R)
喹诺酮类	诺氟沙星	10	16(I)	16(I)
	恩诺沙星	10	10(R)	10(R)
磺胺类	复方新诺明	25 <sup>a</sup>	0(R)	0(R)

注: S: 敏感; I: 中敏; R: 耐药。上标 a 表示 23.75 SMZ + 1.25 TMP

彪等, 2004; 陆小茜等, 2005; 赵耘等, 2010; 黎小正等, 2010; 许赞焕等, 2012; Zhao *et al.*, 2012)有致病性, 可引起体表皮、肌肉溃烂, 以及肺淤血、脓肿、肾出血等内脏器官的病变, 并具有致死性。本研究的患病中华鳖主要症状为头面部出现畸形, 病灶向外明显突出, 类似疔疮样, 剖开病灶可见干酪样组织, 并有一股腥恶奇臭味, 与已报道的中华鳖颈部、腿部溃烂(郑曙明等, 1999)和背、腹甲疔疮(马有智等, 2000a)等均有所不同, 代表中华鳖以头面部疔疮为主要临床特征的摩氏摩根菌病的首例报道。

摩氏摩根菌是条件致病菌, 广泛存在于中华鳖的养殖环境(水、底质)中, 对中华鳖有致死性威胁(马有智等, 2000a), 并对氨基西林、阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、第一代头孢菌素、头孢呋辛、多黏菌素 E、呋喃妥因具有天然耐药性(马越等, 2005), 其对养殖的潜在危害值得重视。本研究分离得到的摩氏摩根菌对氨基糖苷类、 $\beta$ -内酰胺类、四环素类、林可酰胺类、多肽类、喹诺酮类、磺胺类等 7 个大类中的 8 种药物耐药, 对氨曲南、氟苯尼考、头孢哌酮较敏感。这与曾报道的摩氏摩根菌对庆大霉素、复方新诺明耐药率较高, 对三代头孢(头孢哌酮)、氨曲南、阿米卡星敏感等结果一致(宗志勇等, 2002; 冯丽, 2006)。药物敏感性试验结果表明, 摩氏摩根菌分离株耐药程度

较高, 这与已报道的摩氏摩根菌具有较高的耐药性, 且存在多重耐药菌株(Stock *et al.*, 1998)一致。因此, 在生产过程中要加强养殖管理, 放养前做好环境消毒工作, 在中华鳖分段法养殖过程中要注意操作, 避免机体损伤, 尽可能减少病原入侵的机会。

中华鳖的疾病通常以症状命名, 如白底板病、红底板病、腐皮病、疥疮病、穿孔病、红脖子病等。不同症状可能是同一病原在不同阶段的不同表现, 而不同病原也有可能引起相同的症状, 因此以症状命名既不科学, 又不准确。该病例提示, 在中华鳖疾病诊断中, 不能仅凭肉眼观察, 而需要进行病原分离与鉴定试验, 以免误诊, 并根据药敏试验结果合理选择用药, 提高治疗效果, 避免药物滥用、乱用造成的药物残留超标和环境污染等问题; 此外, 还有必要进行养殖鳖细菌耐药性监测, 以便了解本地区细菌耐药性现状和发展趋势, 为指导临床合理使用抗生素提供科学依据。

## 参 考 文 献

- 马 越, 李景云, 金少鸿等, 2005. 细菌耐药性监测分析中应注意的问题. 中国抗生素杂志, 30(12): 762—769
- 马有智, 舒妙安, 2000a. 一种中华鳖穿孔病原菌的分离和特性研究. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 26(4): 414—416
- 马有智, 舒妙安, 2000b. 中华鳖温和气单胞菌病的病原研究. 浙江大学学报(理学版), 27(3): 329—333
- 冯 丽, 2006. 68 株摩氏摩根菌对 16 种抗生素的耐药性分析. 实用医技杂志, 13(22): 3985—3986
- 许赞焕, 罗 琳, 姜 娜等, 2012. 霍乱弧菌的鉴定及致病性. 四川农业大学学报, 30(1): 87—91
- 吴惠仙, 2004. 中华鳖六株病原菌的分类鉴定及其中草药拮抗研究. 中国预防兽医学报, 26(5): 372—375
- 余旭平, 马有智, 1997. 甲鱼病原性豚鼠气单胞菌的分离鉴定. 中国兽医学报, 17(5): 460—462
- 陆小茜, 邹为民, 谭爱萍等, 2005. 锦鲤摩氏摩根氏菌的鉴定及致病性研究. 淡水渔业, 35(2): 3—5
- 陆宏达, 金丽华, 1996. 鳖嗜水气单胞菌败血症的研究. 水产学报, 20(3): 223—234
- 陈永林, 关孚时, 李庆珍, 1995. 海狸鼠摩氏摩根氏菌病原鉴定. 中国兽医杂志, 21(8): 24
- 陈永林, 张成林, 刘 燕等, 2007. 袋鼠摩氏摩根氏菌病原鉴定. 中国兽医杂志, 41(8): 49—50
- 陈泽祥, 褐雄标, 许力干等, 2008. 鳖源格氏乳球菌的分离及鉴定. 现代农业科技, (10): 151—154
- 林启存, 朱丽敏, 李忠全等, 2008. 中华鳖弗氏柠檬酸杆菌败血症病原分离鉴定与药敏试验. 水产科学, 27(1): 42—43
- 郑曙明, 陈章宝, 贺 蓉, 1999. 中华鳖皮肤溃烂病的病原研究. 四川畜牧兽医学院学报, 13(2): 1—5
- 宗志勇, 吕晓菊, 过孝静等, 2002. 临床分离 87 株摩氏摩根菌

- 的体外抗菌药物敏感性研究. 中国抗感染化疗杂志, 2(4): 237—239
- 赵 耘, 李伟杰, 杜昕波等, 2010. 袋鼠摩根氏菌生物特性鉴定及系统发育分析. 中国畜牧兽医, 37(3): 48—51
- 胡广洲, 李登峰, 苏秀榕等, 2010. 患暴发性败血症中华鳖体内细菌的分离与鉴定. 中国水产科学, 17(4): 859—868
- 黄尚彪, 罗廷荣, 吴文德, 2004. 蛇口腔炎病原菌的分离与鉴定. 广西农业生物科学, 23(1): 31—34
- 蔡完其, 孙佩芳, 1997. 中华鳖爱德华氏菌病原和组织病理研究. 水产学报, 21(4): 428—433
- 黎小正, 韦信贤, 童桂香等, 2010. 黄喉拟水龟摩氏摩根菌的分离鉴定及系统发育分析. 上海海洋大学学报, 19(3): 358—363
- 潘晓艺, 郝贵杰, 姚嘉贇等, 2010. 中华鳖爱德华氏菌病原菌的分离鉴定及致病因子研究. 淡水渔业, 40(6): 40—45
- Golubic-Cepulic B, Budimir A, Plecko V *et al*, 2004. *Morganella morganii* causing fatal sepsis in a platelet recipient and also isolated from a donor's stool. *Transfus Med*, 14(3): 237
- Mandell G L, Bennett J E, Dolin R, 1994. Principles and practice of infectious diseases (4<sup>th</sup> edition). New York: Churchill Livingstone Inc, 1748
- Ono M, Namimatsu T, Ohsumi T *et al*, 2001. Immunohistopathologic demonstration of pleuropneumonia associated with *Morganella morganii* in a piglet. *Veterinary Pathology*, 38(3): 336—339
- Saitou N, Nei M, 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molec Biol Evol*, 4(4): 406—425
- Stock I, Wiedemann B, 1998. Identification and natural antibiotic susceptibility of *Morganella morganii*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 30: 153—165
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F *et al*, 1997. The CLUSTAL-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25: 4876—4882
- Zhao C G, Tang N, Wu Y P *et al*, 2012. First reported fatal *Morganella morganii* infections in chickens. *Veterinary Microbiology*, 156(3—4): 452—455

## ISOLATION AND IDENTIFICATION OF PATHOGENIC *MORGANELLA MORGANII* ISOLATES FROM CHINESE SOFT-SHELLED TURTLE *PELODISCUS SINENSIS*

KONG Lei<sup>1,2</sup>, ZHU Ning-Yu<sup>2</sup>, BEI Yi-Jiang<sup>2</sup>, DING Xue-Yan<sup>2</sup>, CHEN Jian-Shun<sup>2</sup>

(1. Zhejiang University, Institute of Preventive Veterinary Medicine, Hangzhou, 310058;

2. Zhejiang Fisheries Technical Extension Center, Hangzhou, 310012)

**Abstract** An outbreak of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) disease with typical symptoms of head and facial furuncle sore happened in a large-scale breeding farm in Zhejiang Province, 2012. A total of 12 isolates were collected from livers, kidneys and facial loci of these diseased turtles. Based on the colony morphology, biochemical reactions and the sequence analysis of 16S rRNA gene, these isolates were identified as *Morganella morganii*. These isolates demonstrated virulence potential both in Chinese soft-shelled turtle and mouse models, with the median lethal dose ( $LD_{50}$ ) in mice at  $10^{7.24}$ . The susceptibility test to antibiotics using Kirby-Bauer Sagar diffusion method showed these *M. morganii* isolates were resistant to aminoglycosides, beta-lactams, tetracyclines, lincomycin amides, polypeptides, quinolones, sulfonamides, and sensitive to aztreonam, florfenicol, cefoperazone. This study represents the first report of *M. morganii*-mediated disease with the typical signs of head and facial furuncle sore in Chinese soft-shelled turtles, and paves the way for the prevention and treatment program of this disease.

**Key words** Chinese soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis*; *Morganella morganii*; identification; pathogenicity; antimicrobial sensitivity