

养殖黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)鮰爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)的分离鉴定与生物学特性研究*

耿毅 汪开毓 范方玲 陈德芳 黄锦炉

(动物疫病与人类健康四川省重点实验室 四川农业大学 雅安 625014)

摘要 从四川眉山与新津两地患红头病的养殖黄颡鱼体内分离到 2 株优势菌(CHNYC001 与 CHNYC002), 以腹腔注射与浸泡的方式进行人工感染试验, 证实其为养殖黄颡鱼红头病的病原菌。根据分离菌株的形态、生理生化特性, 结合 16S rDNA 序列测定(GenBank 登录号分别为 FJ766524、FJ766525)与系统发育分析, 将其鉴定为鮰爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)。分离菌株最适生长温度为 20—30℃, 最适生长 pH 为 7.0, 在含盐量 2% 以上的培养基上不生长, 对氟苯尼考、强力霉素、洛美沙星等敏感, 对乙酰螺旋霉素、磺胺甲基异噁唑和麦迪霉素等不敏感。临床病理特征分析发现, 养殖黄颡鱼感染鮰爱德华氏菌临床上分为急性与慢性两种类型, 急性型主要表现为败血症的病变特征, 慢性型表现为头顶出血, 发红与溃疡的病变特征。

关键词 黄颡鱼, 红头病, 鮰爱德华氏菌, 分离鉴定, 生物学特性

中图分类号 S941.42

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*), 俗称“黄腊丁”, 属于鲶形目(Siluriformes)、鲶科(Bagridae)、黄颡鱼属(*Pelteobagrus*) (丁瑞华, 1994), 具有肉质细嫩, 味道鲜美, 无肌间刺, 营养丰富, 低脂肪高蛋白特点, 深受消费者青睐。黄颡鱼养殖近年来在全国各地悄然兴起, 但随着养殖规模扩大和养殖密度提高, 疾病的危害也越来越大, 特别近年来在各黄颡鱼养殖区发生的一种被称为“红头病”的传染性疾病, 具有传染性强、发病率和死亡率高等特点, 给广大养殖户造成严重的经济损失(叶仕根, 2008), 已引起广大养殖户与科研人员的关注。叶仕根(2008)根据症状、病变与斑点叉尾鮰的肠型败血症(Enteric Septicemia of Catfish, ESC)相似的特性, 认为该病的病原可能与斑点叉尾鮰ESC 具有相同为鮰爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*), 但缺乏进一步的研究证实; 邓先余等(2008)报

道流行在湖南一些区域的黄颡鱼“红头病”的病原为迟钝爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)。2008年7—9月在四川眉山与新津两地的黄颡鱼养殖场相继发生黄颡鱼红头病, 其发病率达 40%—50%, 死亡率高达 90%以上。本研究从患病养殖黄颡鱼内脏器官分离出 2 株优势致病菌(CHNYC001 与 CHNYC002), 在常规生理生化鉴定的基础上, 采用 16S rDNA 序列测定和系统发育分析的方法对两株菌进行了分类鉴定, 确定其为鮰爱德华氏菌, 并对其一些生物学特性和药物敏感性进行了测定, 旨在为养殖生产中有效防治该病提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验鱼 自然发病黄颡鱼(*Pelteobagrus*

* 教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目资助, IRT0848号; 四川省教育厅重点项目资助, 08ZA082号。耿毅, 博士, 副教授, E-mail: gengyisicau@126.com

通讯作者: 汪开毓, 教授, E-mail: kywang@sicau.edu.cn

收稿日期: 2008-12-27, 收修改稿日期: 2009-03-10

fulvidraco)采自四川眉山和新津,具有“红头病”典型症状与病变;健康黄颡鱼购自四川彭山某养殖场,体重 (21.4 ± 2.5) g。

1.1.2 主要试剂 脑心浸液培养基(BHI)购自北京欣经科生物技术有限公司,普通营养琼脂、TSA和兔血 BHI 营养琼脂按常规方法自制;细菌生化微量鉴定管与药敏纸片购自杭州天和生物试剂有限公司;细菌 DNA 提取试剂盒与 PCR 产物纯化试剂盒购自大连 Takara 公司。

1.2 方法

1.2.1 自然发病病例的检查 对自然发病病例进行流行情况、症状与主要病理变化的观察,并取材进行病原菌的分离鉴定。

1.2.2 病原菌分离 从患病黄颡鱼脑、肝脏和肾脏组织中取样,在 BHI 平板上划线,28℃ 恒温培养 24—48h,挑取形态一致的优势菌落,进一步划线纯化,获得纯培养菌株,再转接到斜面培养基上,4℃ 保存备用。

1.2.3 人工感染试验 参考 Morrison 等(1994)与王印庚等(2007)的方法,将分离纯化细菌接种于 BHI 平板 28℃ 培养 48h 后,用无菌生理盐水洗下,参照 McFarland 比浊法配制成 0.5 麦氏单位为供试菌液。健康黄颡鱼饲养于玻璃水族箱内,每组 20 尾,试验期间连续充气,水温 23—25℃。采用腹腔注射和浸泡两种方式感染,观察鱼的发病、死亡情况,并对死亡鱼及时剖检和致病菌的再次分离。

腹腔注射,将菌液浓度配制成 2.5×10^6 CFU/ml,每尾 0.1ml 菌液,同时以等量无菌生理盐水对照,试验观察期 14 天。

浸泡感染,将菌液浓度配制成 2.5×10^7 CFU/ml 浸泡 1h 后,将试验鱼转入清水中,试验观察期 21 天。

1.2.4 形态学观察 将分离纯化细菌接种 BHI、TSA、普通营养琼脂和兔血 BHI 琼脂平板,28℃ 培养 24—48h,观察菌的生长特性与菌落形态,同时对菌体革兰氏染色与磷酸钼染色,光学显微镜与电子显微镜观察形态特征。

1.2.5 生理生化特性测定 各项生理生化指标的测定参照有关文献进行(东秀珠等,2001)。

1.2.6 16S rDNA 序列测定与系统发育分析

(1) PCR 模板 DNA 的制备:将细菌接种 BHI 肉汤中,28℃ 震荡培养 36h,取菌液 4ml,10000r/min 离心 2min 收集菌体,按照细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取细菌总 DNA 作为 PCR 模板。

(2) 16S rDNA 序列扩增与测序:采用 1 对扩增细菌 16S rDNA 的通用引物(耿毅等,2006),其上、下游引物的序列分别为:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'和 5'-TACGGCTACCTTGTTACGAC-3'。PCR 反应条件为:94℃ 5min;94℃ 1min,54℃ 1min,72℃ 2min,30 个循环;72℃ 10min。扩增产物经 PCR 产物纯化试剂盒纯化后,大连 Takara 公司进行序列测定。

(3) 系统发育树的构建:将分离菌株的 16S rDNA 序列与 GenBank 中已知核酸序列进行 Blast 分析,调出与该序列相关性较高的核酸序列,参照杨嘉龙等(2007)的方法,采用 ClustalX 1.8 软件进行多序列匹配排列,用 MEGA 4.1 软件包中的 Neighbor-Joining 法构建系统进化树,重复抽样 1000 次分析系统树各分枝的置信度。

1.2.7 药物敏感性测定 采用纸片扩散法,病原菌接种 BIH 肉汤,28℃ 震荡培养 24h,参照麦氏比浊管调整菌液浓度为 1.0×10^8 CFU/ml 将菌液均匀涂布 BIH 平板,帖上药敏纸片,28℃ 培养 24h,测量抑菌圈大小并判定结果。

2 结果

2.1 自然发病病例临床特征

2008 年 7—9 月,在四川眉山和新津两地对自然发病的黄颡鱼进行临床特征观察,发现在临床上主要表现为急性型与慢性型两种类型。急性型发病急,病程短,死亡率高,从开始出现症状到大量鱼发病死亡只需 3—5 天。病鱼主要表现为突发性食欲减退或废绝,离群独游和阵发性螺旋状游动,腹部膨大,鳍条基部、下颌、鳃盖、腹部等充血、出血,肛门及生殖孔红肿,外突,腹腔内大量含血的或清亮的液体,肝肿大,出血,脾脏肿大呈紫黑色,肠道扩张,充血,肠腔内充满气体和淡黄色水样液体。慢性型病程较长,发病相对缓慢,主要表现为头顶部充血、出血、发红,并随病程的发展皮肤、肌肉,甚至颅骨溃烂,穿孔,露出脑组织,其“红头病或烂头病”也因此而得名。

2.2 病原菌分离

从来自四川眉山与新津两地具有典型“红头病”症状与病变的 12 尾病黄颡鱼脑、肝与肾取材 BHIA 平板划线,经 28℃ 恒温培养 48h 获得两株优势细菌,分别编号为 CHNYC001 与 CHNYC002。两株菌在 BHIA 培养基生长缓慢,28℃ 恒温培养 48h 形成针尖大小,直径 0.1—0.3mm,表面光滑,边缘整齐,无色透明的圆形菌落。

2.3 人工感染

CHNYC001 与 CHNYC002 菌株腹腔注射健康黄颡鱼后主要在 3—5 天内发病死亡, 死亡率分别为 95.0%(19/20)与 100.0%(20/20), 其症状与病变与自然病例的急性型相同, 生理盐水对照组鱼正常存活。CHNYC001 与 CHNYC002 菌株浸泡感染的黄颡鱼在 3 天后逐步出现食欲下降等症状, 5 天后开始出现死亡, 死亡主要集中在 7—12 天, 死亡率达 65%(13/20), 其中前期死亡鱼症状与病变与自然病例的急性型相同, 占死亡总数的 84.6%(11/13), 15 天后死亡鱼症状与病变与自然病例的慢性型相同, 占死亡总数的 15.4%(2/13), 对照组鱼未见任何异常。对两株菌经不同途径感染死亡的黄颡鱼用 BHI 琼脂进行细菌分离, 结果均能分离回收到大量纯一感染菌, 用再次分离

菌对健康黄颡鱼进行重复感染, 也得到同自然病例样的病变, 证实此两株菌为黄颡鱼“红头病”的病原菌。

2.4 形态学观察

CHNYC001 与 CHNYC002 均为 G-短杆菌, 无荚膜, 无芽孢, 单个, 有时成对, 大小(0.45—0.62) μm ×(1.04—1.62) μm , 未见鞭毛。两株菌在普通营养琼脂与 TSA 培养基上生长不良, 生长速度非常缓慢, 经 48h 培养仅形成直径 0.1mm 左右针尖大小, 表面光滑, 边缘整齐, 无色透明的圆形菌落。在兔血 BHI 琼脂培养基上出现溶血特性。

2.5 生理生化特征

CHNYC001 与 CHNYC002 两株菌的生理生化特性相似(表 1), 生长温度范围为 15—40 $^{\circ}\text{C}$, 最适生长

表 1 菌株 CHNYC001 与 CHNYC002 的理化特性
Tab.1 Biochemical and physiological characteristics of CHNYC001 and CHNYC002

测定项目	CHNYC001	CHNYC002	测定项目	CHNYC001	CHNYC002
运动性	-	-	精氨酸双水解酶	-	-
生长 4	-	-	鸟氨酸脱羧酶	+	+
15	+	+	硝酸盐还原	+	+
20	+	+	枸橼酸盐	-	-
30	+	+	丙二酸盐	-	-
37	+	+	甲基红	+	+
40	-	-	V-P	-	-
45	-	-	吲哚	-	-
NaCl 0%	+	+	H ₂ S	-	-
0.5%	+	+	明胶液化	-	-
1.0%	+	+	邻-硝基苯- β -D-半乳糖苷	-	-
1.5%	+	+	D-葡萄糖	+	+
2.0%	-	-	乳糖	-	-
pH 4.0	-	-	麦芽糖	+	+
5.0	+	+	D-甘露糖	+	+
6.0	+	+	蔗糖	-	-
7.0	+	+	L-鼠李糖	-	-
8.0	+	+	L-阿拉伯糖	-	-
9.0	-	-	棉子糖	-	-
溶血性	+	+	纤维二糖	-	-
氧化/发酵(O/F)	F	F	卫矛醇	-	-
产色素	-	-	D-木糖	-	-
氧化酶	-	-	果糖	+	+
过氧化氢酶	+	+	海藻糖	-	-
DNA 酶	-	-	甘露醇	-	-
脂酶	-	-	水杨苷	-	-
脲酶	+	+	肌醇	-	-
蛋白酶	-	-	山梨醇	-	-
苯丙氨酸转氨酶	-	-	七叶灵	-	-
赖氨酸脱羧酶	+	+	侧金盏花醇	-	-

注: “+”为阳性, “-”为阴性, “F”为发酵, “O”为氧化

温度为 20—30 ℃，在含盐量 2% 以上的培养基上不生长，生长的 pH 范围为 5.0—8.0，最适 pH 为 7.0；对大多数糖都不能利用产酸，仅利用葡萄糖、麦芽糖、D-甘露糖产酸和果糖等。过氧化氢酶、脲酶、鸟氨酸脱羧酶、甲基红与硝酸盐还原阳性，细胞色素氧化酶、DNA 酶、脂酶、吲哚与 V-P 实验阴性，不能利用丙二酸盐，H₂S 阴性。

2.6 16S rDNA 的 PCR 扩增结果与系统发育分析

PCR 扩增出 CHNYC001 与 CHNYC002 两株菌的 16S rDNA 片段约 1500bp，测序结果表明其片段长度分别为 1506bp 和 1513bp，在 GenBank 中的登陆序号分别为 FJ766524 与 FJ766525。将获得的序列 GenBank 数据中已报道的细菌基因序列进行 Blast 分析，调出相关性最高的细菌 16S rDNA 序列用 MEGA 4.1 构建系统发育树(图 1)，结果发现 CHNYC001 与 CHNYC002 两株菌与鲶爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)自然聚合，其同源率在 99.6%—100.0% 之间，结合形态学和理化特征鉴定两株分离菌为鲶爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)。

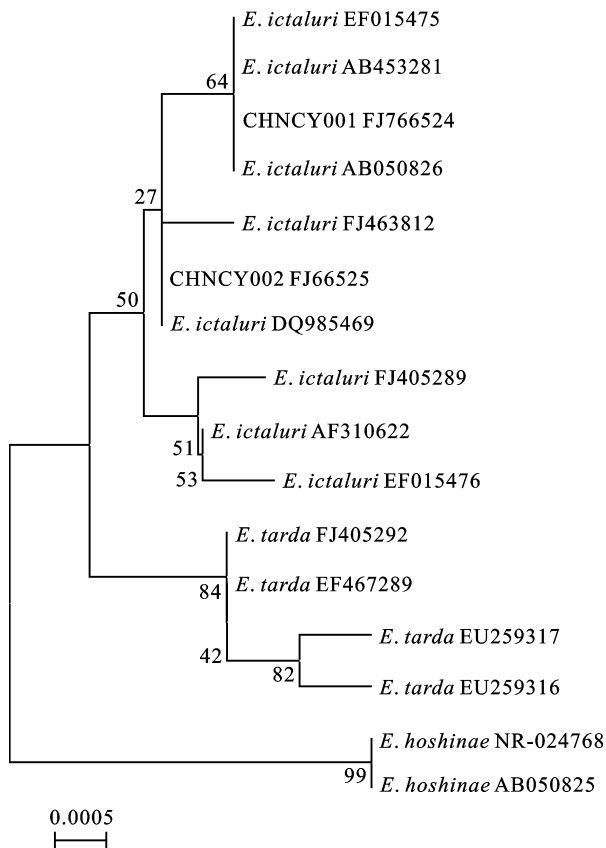


图 1 基于 16S rDNA 序列分析构建的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree in the alignment of the 16S rDNA sequence
注: 菌株后括号内的数字为其 16S rDNA 序列在 GenBank 的登录号

2.7 药物敏感性

结果见表 2。由表 2 可知，CHNYC001 与 CHNYC002 对环丙沙星、洛美沙星、强力霉素和氟苯尼考等高度敏感，对青霉素 G、氨苄西林、磺胺甲基异噁唑、麦迪霉素和乙酰螺旋霉素等不敏感；另外，CHNYC001 对氟哌酸和链霉素敏感，但 CHNYC002 对其则具有抗性，CHNYC001 对妥布霉素和阿莫西林具有抗性，而 CHNYC002 对其则敏感。

3 讨论

3.1 养殖黄颡鱼红头病的病原

养殖黄颡鱼红头病是近年来发生在我国各黄颡鱼养殖区的一种新型流行性传染病，每年给黄颡鱼养殖造成数百万的经济损失，现已引起广大养殖户与科研人员的重视。对于该病的病原目前还不确定，邓先余等(2008)报道流行在湖南的黄颡鱼“红头病”的病原为迟钝爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)；叶仕根(2008)根据该病症状、病变与斑点叉尾鲶的肠型败血症(Enteric Septicemia of Catfish, ESC)相似性，认为该病的病原可能是鲶爱德华氏菌，但缺乏进一步的研究证实。本研究从四川眉山与新津两地自然感染发生红头病黄颡鱼体内分离出 2 株优势菌株 CHNYC001 与 CHNYC002，经人工感染试验表明其对黄颡鱼具有明显的致病性，且表现出与自然状态下感染发病相似的临床特征。因此，可确定这两株菌是养殖黄颡鱼红头病的病原菌。根据形态、培养与生理生化特性，结合 16S rDNA 序列测定和系统发育分析，将 CHNYC001 与 CHNYC002 鉴定为鲶爱德华氏菌。

自 1979 年首次在美国从发病的斑点叉尾鲶体内分离发现鲶爱德华氏菌，并证实其是斑点叉尾鲶的重要致病菌以来(Hawke, 1979; Hawke *et al*, 1981)，在澳大利亚、泰国、越南、中国部分地区(包括中国台湾)相继有鲶爱德华氏菌感染鱼类致病的报道(Crumlish *et al*, 2002; Woo, 1999; 邓显文等, 2008)，其感染对象除了斑点叉尾鲶还包括犀目鲶(white catfish)(Plumb *et al*, 1983)、海鲈(sea bass)(Blanch *et al*, 1990)、蟾胡子鲶(walking catfish)(Kasornchandra *et al*, 1987)和云斑鲶(brown bullhead)(Plumb *et al*, 1983)、日本鳗鲡(Japanese eel)(Chung *et al*, 1983)、斑马鱼(Bengal danio)(Waltman *et al*, 1985)、蓝色弓背鱼(green knife fish)(Waltman *et al*, 1985)、云斑鲶(brown bullhead)(Iwanowicz *et al*, 2006)、鳊鲶(striped catfish)(Yuasa *et al*, 2003)、苏氏鲶(Tra catfish)(Crumlish

表 2 菌株 CHNYC001 与 CHNYC002 的药物敏感性
Tab.2 The sensitivity of CHNYC001 and CHNYC002 to antibiotics

抗菌素	药物含量 ($\mu\text{g}/\text{片}$)	抑菌圈直径(mm)		敏感度	
		CHNYC001	CHNYC002	CHNYC001	CHNYC002
青霉素 G Penicilin	10	0	0	R	R
氨苄西林 Ampicillin	10	8	0	R	R
阿莫西林 Amoxicillin	30	0	20	R	S
头孢氨苄 Cefalexin	30	15	12	MS	MS
头孢唑啉 Cefazolin	30	18	16	MS	MS
氟哌酸 Norfloxacin	10	35	0	S	R
环丙沙星 Ciprofloxacin	5	36	28	S	S
恩诺沙星 Enrofloxacin	5	28	17	S	MS
洛美沙星 Lomefloxacin	10	36	42	S	S
链霉素 Norfloxacin	10	19	10	S	R
庆大霉素 Cidomycin	10	16	28	MS	S
卡那霉素 Kanamycin	30	12	16	R	MS
丁胺卡那 Amikacin	30	15	24	MS	S
妥布霉素 Tenemycin	10	8	28	R	S
新霉素 Fradiomycin	30	18	21	S	S
新生霉素 Tenemycin	30	10	8	R	R
四环素 Ambramycin	30	19	17	S	S
强力霉素 Deoxycycline	30	22	28	S	S
美满霉素 Minocycline	30	18	15	MS	MS
氟苯尼考 Florfenicol	30	32	39	S	S
磺胺甲基异噁唑 Sulfamethoxazole	300	0	0	R	R
阿齐霉素 Azithromycin	15	12	14	R	R
麦迪霉素 Medecamycin	30	0	0	R	R
乙酰螺旋霉素 Acetylspiramycin	30	0	0	R	R

注: “R”表示不敏感, “S”表示敏感, “MS”表示中度敏感

et al, 2002)和虹鳟(rainbow trout)(Oktay, 2004)等,但在国内外目前还未见鮡爱德华氏菌感染黄颡鱼致病的报道。本研究从四川自然发病的黄颡鱼体内分离到鮡爱德华氏菌,并通过人工感染试验证实其是黄颡鱼红头病的病原菌,表明鮡爱德华氏菌自然状态下也能感染黄颡鱼致病。

3.2 养殖黄颡鱼鮡爱德华氏菌病的临床病理分型

流行病学与病理特征分析发现,黄颡鱼鮡爱德华氏菌感染在临床上分为急性和慢性两种类型。急性型临床病理变化主要表现为腹部膨大,体表明显充血、出血,腹腔内大量含血的或淡黄色的液体,肾脾显著肿大,呈暗红色,肝肿大呈苍白色或由于充血与出血呈斑驳状,脂肪、腹膜、肠道表现为明显的出血性炎,呈现典型的败血症表现。而慢性型临床病理变化主要表现为早期头顶部充血、出血、发红,后期皮肤及颅骨溃烂,形成开放性溃疡,其“红头病”也因

此而得名,由此可见,“红头病”的病名并未包括黄颡鱼鮡爱德华氏菌感染的两种临床类型,应将其称为“黄颡鱼鮡爱德华氏菌病”更为确切。对于鮡爱德华氏菌感染黄颡鱼在临床上出现急性与慢性两种类型的原因,可能与细菌的感染途径不同有关。目前的研究发现鮡爱德华氏菌感染鱼类主要是通过消化道、鳃和鼻腔三条途径,当其经消化道或鳃感染时,细菌进入血液后,并迅速分布于机体各组织器官,从而引起败血症,即急性型(Newton *et al*, 1989; Nusbaum *et al*, 1996, 2002);但当其经鼻腔侵入嗅球,再经嗅球移行到脑,则表现为慢性型(Morrison *et al*, 1994; Newton *et al*, 1989)。这一结论也在本研究人工感染试验中得以证实,腹腔注射时病原菌迅速进入血液循,导致发病死亡鱼均表现为急性败血型,而浸泡感染中病原菌存在消化道、鳃与鼻腔三条感染途径,因此,发病死亡鱼中同时具有急性型与慢性型两种临床病

理类型。

3.3 养殖黄颡鱼鮰爱德华氏菌病的防治

由于黄颡鱼鮰爱德华氏菌病严重的危害性,在养殖生产中应贯彻健康养殖、合理用药的理念开展综合防治。(1) 加强饲养管理:保持良好的水环境、适宜的养殖密度、减少应激、科学饲喂,特别是饲料中添加适当量的维生素 E 与 Zn 能明显降低鮰爱德华氏菌感染后的发病率与死亡率(Paripatanant et al, 1995; Wise et al, 1993); 另外,也有研究发现在鮰爱德华氏菌感染期间降低饲料投喂率有明显降低死亡率的作用(Wise et al, 2008),因此,在发病期间应适当降低饲料投喂率。(2) 及时的药物治疗:当发病后应尽快进行药敏试验,选择敏感药物进行治疗。土霉素与磺胺二甲氧嘧啶曾被认为是鮰爱德华氏菌感染的首选药物(Noga, 1995),但由于耐药性的产生其治疗效果明显降低(Crumlish et al, 2002; Haesebrouck et al, 2008),本研究中发现两株分离菌对氟苯尼考、强力霉素和洛美沙星等敏感,与国内外相关研究结果(Anissa et al, 2003; Gaunt et al, 2006; Haesebrouck et al, 2008; 徐盛玉等, 2007)基本一致,在实际临床治疗中可参考使用。药物敏感性试验结果发现两株菌在氟哌酸、链霉素和阿莫西林等药物的敏感性上存在差异,可能是由于两地药物使用状况的不同,导致不同耐药性的结果,这也提示在药物防治过程中应通过药物敏感性试验选用敏感药物进行防治,以保证防治的有效性。

参 考 文 献

- 丁瑞华, 1994. 四川鱼类志. 成都: 四川人民出版社, 448—455
- 王印庚, 秦 蕾, 张 正等, 2007. 养殖大菱鲂的爱德华氏菌病. 水产学报, 31(4): 883—894
- 邓先余, 罗 文, 谭树华等, 2008. 黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)“红头病”病原菌迟钝爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)的分离及鉴定. 海洋与湖沼, 39(5): 511—516
- 邓显文, 谢芝勋, 刘加波等, 2008. 广西斑点叉尾细爱德华氏菌的分离鉴定. 广西农业科学, 39(2): 231—235
- 东秀珠, 蔡妙英, 2001. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 364—398
- 叶仕根, 2008. 黄颡鱼“红头病”一种新的细菌性传染病. 科学养鱼, 1: 56—57
- 杨嘉龙, 周 丽, 绳秀珍等, 2007. 养殖刺参溃疡病病原菌 RH2 的鉴定及其生物学特性分析. 水产学报, 31(4): 504—511
- 耿 毅, 汪开毓, 陈德芳等, 2006. 斑点叉尾鮰一株致病菌的分离鉴定及系统发育分析. 微生物学报, 46(4): 649—652
- 徐盛玉, 耿 毅, 唐 洪, 2007. 洛美沙星治疗斑点叉尾触肠道败血症的初步研究. 水利渔业, 27(4): 86—87
- Anissa M P, Gaunt T, Santucci R et al, 2003. *In vitro* evaluation of the susceptibility of *Edwardsiella ictaluri*, etiological agent of enteric septicemia in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to florfenicol. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 15(5): 579—584
- Blanch A R, Pinto R M, Jofre J T et al, 1990. Isolation and characterization of an *Edwardsiella* sp. strain, causative agent of mortalities in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture, 88(3—4): 213—222
- Chung H J, Kou G H, 1983. *Edwardsiella ictaluri* isolated from cultured eel in Taiwan Fish Disease Research, 5(1): 69—70
- Crumlish M, Dung T T, Turnbull J F et al, 2002. Identification of *Edwardsiella ictaluri* from diseased freshwater catfish, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage), cultured in the Mekong Delta, Vietnam. Journal of Fish Diseases, 25(12): 733—736
- Gaunt P S, McGinnis A L, Santucci T D et al, 2006. Field efficacy of florfenicol for control of mortality in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), caused by infection with *Edwardsiella ictaluri*. Journal of the World Aquaculture Society, 37(1): 1—19
- Haesebrouck T D, Sorgeloos F N A, Baele P et al, 2008. Antimicrobial susceptibility pattern of *Edwardsiella ictaluri* isolates from natural outbreaks of bacillary necrosis of *Pangasianodon hypophthalmus* in Vietnam. Microbial Drug Resistance, 14(4): 311—316
- Hawke J P, 1979. A bacterium associated with disease of pond cultured channel catfish. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 36(12): 1508—1512
- Hawke J P, McWhorter A C, Steigerwalt A C et al, 1981. *Edwardsiella ictaluri* sp. nov. the causative agent of enteric septicemia of catfish. International Journal of Systematic Bacteriology, 31(4): 396—400
- Iwanowicz L R, Griffin A R, Cartwright D D et al, 2006. Mortality and pathology in brown bullheads *Amieurus nebulosus* associated with a spontaneous *Edwardsiella ictaluri* outbreak under tank culture conditions. Diseases of Aquatic Organisms, 70(3): 219—225
- Kasornchandra J, Rogers W A, Plumb J A et al, 1987. *Edwardsiella ictaluri* from walking catfish. Thailand: Journal of Fish Diseases, 10(2): 137—138
- Morrison E E, Plumb J A, 1994. Olfactory organ of channel catfish as a site of experimental *Edwardsiella ictaluri* infection. Journal of Aquatic Animal Health, 6(2): 101—109
- Newton J C, Wolfe L G, Grizzle J M et al, 1989. Pathology of experimental enteric septicemia in channel catfish *Ictalurus punctatus* following immersion exposure to *Edwardsiella ictaluri*. Journal of Fish Diseases, 12(5): 335—348
- Noga E J, 1995. Fish Disease Diagnosis and Treatment. Mosby-Year Book, Inc, 147—148
- Nusbaum K E, Morrison E E, 1996. Entry of 35S-labeled *Ed-*

- wardsiella ictaluri* into channel catfish. Journal of Aquatic Animal Health, 8(2): 146—149
- Nusbaum K E, Morrison E E, 2002. *Edwardsiella ictaluri* bacteraemia elicits shedding of *Aeromonas hydrophila* complex in latently infected channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). Journal of Fish Diseases, 25(6): 343—350
- Oktya K, 2004. *Edwardsiella ictaluri* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 28(6): 649—653
- Paripatananont T, Lovell R T, 1995. Responses of channel catfish fed organic and inorganic sources of zinc to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Journal of Aquatic Animal Health, 7(2): 147—154
- Plumb J A, Sanchez D J, 1983. Susceptibility of five species of fish to *Edwardsiella ictaluri*. Journal of Fish Diseases, 6(3): 261—266
- Waltman W D, Shotts E B, Blazer V S, 1985. Recovery of *Edwardsiella ictaluri* from *Danio* (*Danio devario*). Aquaculture, 46(11): 63—66
- Wise D J, Greenway T, Li M H *et al*, 2008. Effects of variable periods of food deprivation on the development of enteric septicemia in channel catfish. Journal of Aquatic Animal Health, 20(1): 39—44
- Wise D J, Tomasso J R, Schwedler T E *et al*, 1993. Effect of vitamin E on immune response of channel catfish to *Edwardsiella ictaluri*. Journal of Aquatic Animal Health, 5(3): 188—193
- Woo P T K, 1999. Fish diseases and disorders (volume 3 Viral, Bacterial and fungal infections). CABI publishing, New York, 493—511
- Yuasa K, Edy Barkat Kholidin Panigoro N, Hatai K *et al*, 2003. First isolation of *Edwardsiella ictaluri* from cultured striped catfish *Pangasius hypophthalmus* in Indonesia. Fish Pathology, 38(4): 181—183

ISOLATION, IDENTIFICATION AND BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF *EDWARDSIELLA ICTALURI* FROM CULTURED YELLOW CATFISH *PELTEOBAGRUS FULVIDRACO*

GENG Yi, WANG Kai-Yu, FAN Fang-Ling, CHEN De-Fang, HUANG Jin-Lu

(Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Sichuan Agricultural University, Ya'an, 625014)

Abstract Bacterial strains CHNYC001 and CHNYC002 were isolated from cultured yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* with red-head disease in Meishan and Xinjin counties, Sichuan Province. The strains were proved to be the pathogens of the disease in our challenging experiments by immersion and intraperitoneal injection. The isolated strains were identified as *Edwardsiella ictaluri* in morphology, physiology and biochemistry, as well as 16S rDNA sequence (Accessible Number in GenBank: FJ766524, FJ766525). The optimum temperature and pH for the strains growth was 20—30 °C and 7.0. The strains grew normally at <2% in salinity of the culture medium. The results also show that the strains were sensitive to florfenicol, doxycycline, and lomefloxacin, but to acetylspiramycin, sulfamethoxazole, and medemycin. Clinical and pathological study revealed two types of the *Edwardsiella ictaluri*-induced disease in yellow catfish: acute and chronic. The acute type featured mainly septicemia, necrosis, haemorrhage, and inflammatory reaction in multi-organs and tissues, while the chronic one showed hemorrhage and ulcer on head, instead.

Key words *Pelteobagrus fulvidraco*, Red-head disease, *Edwardsiella ictaluri*, Isolation, Identification, Biological characteristics