

文章编号: 1005-3832(2026)02-0037-07

# 尼罗罗非鱼“突眼病”病原菌的分离鉴定及耐药性分析

曹瑞暘, 丁雪飞, 王文卓, 季相山, 姚智磊

(山东农业大学农业农村部非粮饲料资源高效利用重点实验室(部省共建), 山东 泰安 271018)

**摘要:** 为查明尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)“突眼病”的病原, 从患病的尼罗罗非鱼体内分离并纯化出了一株致病菌。通过形态学观察、16S rRNA 序列测定以及系统发育分析等方法, 鉴定该菌株为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*), 命名为 NT01。通过分析 9 种气单胞菌常见毒力基因, 结果表明该菌株携带 *hly*、*aer*、*alt*、*ast*、*ahyB*、*eprCAI* 和 *gcaT* 等 7 种毒力基因。溶血性分析结果显示, 该菌属于  $\alpha$  型溶血菌。嗜水气单胞菌 NT01 对尼罗罗非鱼具有较强的致死性, 感染 24 h 的半数致死浓度  $LD_{50}$  为  $3.16 \times 10^6$  CFU/mL。动物回归感染试验结果显示, 感染该菌株的尼罗罗非鱼均出现厌食、运动力下降、眼球突出等症状, 这与“突眼病”病鱼的症状一致。药敏实验结果显示, 菌株 NT01 对头孢唑啉、头孢氨苄、头孢曲松等 14 种药物敏感, 对链霉素中度敏感, 对氨苄西林、青霉素、林可霉素、红霉素及万古霉素等 5 种药物耐药。本研究结果对防治嗜水气单胞菌引起的罗非鱼“突眼病”具有重要的实际指导意义。

**关键词:** 尼罗罗非鱼; 嗜水气单胞菌; 毒力基因; 溶血; 耐药性

中图分类号: S943

文献标识码: A

## Isolation, Identification and Drug Resistance Analysis of Pathogenic Bacteria of "exophthalmos" in Nile tilapia

CAO Ruiyang, DING Xuefei, WANG Wenzhuo, JI Xiangshan, YAO Zhilei

(Key Laboratory of Efficient Utilization of Non-Grain Feed Resources (Co-construction by Ministry and Province) of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

**Abstract:** To identify the pathogen causing "exophthalmos" in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), a pathogenic strain was isolated and purified from diseased Nile tilapia. *A. hydrophila* (named as NT01) was identified by morphological observation, 16S rRNA sequencing, and phylogenetic tree analysis. By analyzing the common virulence genes of 9 *Aeromonas* species, the results showed that the strain carried 7 virulence genes of *hly*, *aer*, *alt*, *ast*, *ahyB*, *eprCAI*, and *gcaT*. Besides, the strain displayed  $\alpha$ -hemolysis. *A. hydrophila* NT01 was highly lethal to healthy Nile tilapia, with median lethal concentration ( $LD_{50}$ ) of  $3.16 \times 10^6$  CFU/mL at 24 h post-infection. Animal regression experiments were carried out using the isolated strain. The results showed that all infected Nile tilapia displayed symptoms including anorexia, reduced motor ability, and exophthalmos. These findings were consistent with the clinical manifestations observed in fish with exophthalmos. In addition, the results of the drug sensitivity test demonstrated that strain NT01 was sensitive to 14 types of drugs, including cefazolin, cefalexin, ceftriaxone, etc. The strain demonstrated moderate susceptibility to streptomycin and resistance to five antibiotics, including ampicillin, penicillin, lincomycin, erythromycin, and vancomycin. These findings can provide significant practical guidance for the prevention and treatment of "exophthalmos" in tilapia caused by *A. hydrophila*.

**Key words:** Nile tilapia; *Aeromonas hydrophila*; virulence gene; hemolysis; drug resistance

罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)具有生长迅速、抗逆性强和营养价值高等特点, 是联合国粮农组织(FAO)在世界范围内积极推广的养殖鱼类。近年来, 罗非鱼养殖产量大幅增加, 年产量超过  $4.41 \times 10^6$  t<sup>[1]</sup>。然而, 随着罗非鱼集约化养殖规模的扩大,

养殖病害日益频发<sup>[2]</sup>, 其中, “突眼病”是罗非鱼养殖中最为普遍、高发的病害之一, 病鱼表现出眼球突出、角膜浑浊、皮下充血等典型症状, 死亡率高达 30%~50%, 造成严重的经济损失<sup>[3]</sup>。

“突眼病”由细菌、真菌、寄生虫、肿瘤等多种因

收稿日期: 2025-06-03

基金项目: 山东省重点研发计划(2021LZGC027); 山东省自然科学基金青年项目(ZR2022QC147)。

作者简介: 曹瑞暘(2004-), 男, 本科生, 研究方向为水产动物遗传育种与繁育。E-mail: 15222657090@163.com

通信作者: 姚智磊, 博士后。E-mail: zlyao@sdau.edu.cn

素诱发。研究表明,哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)<sup>[4]</sup>、维罗氏气单胞菌(*A. veronii*)<sup>[5]</sup>、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)<sup>[6]</sup>、海豚链球菌(*Streptococcus iniae*)<sup>[7]</sup>、无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)<sup>[8]</sup>及迟钝爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)<sup>[9]</sup>等均为诱发“突眼病”的常见病原菌。在罗非鱼“突眼病”的致病机制研究中,无乳链球菌感染会通过分泌 $\beta$ -溶血素/溶细胞素( $\beta$ -H/C),破坏宿主细胞膜,促进细菌侵入宿主细胞内部,从而引发眼部炎症和组织坏死<sup>[10]</sup>;爱德华氏菌感染则是通过多种毒力因子共同作用,如溶血素(*hlyA*)破坏红细胞,释放血红蛋白,*tox A* 编码外毒素 A 刺激宿主细胞合成促炎细胞因子,膜蛋白 *yccA* 影响细胞膜完整性、运动性,综合导致眼部组织的严重损伤和炎症反应<sup>[11]</sup>,最终引发罗非鱼“突眼病”。由此可见,“突眼病”病原菌种类多,致病机制复杂。

本研究从“突眼病”尼罗罗非鱼中分离出一株嗜水气单胞菌 NT01,通过革兰氏染色分析及分子鉴定,分析其溶血性、携带毒力基因种类,探究其致病机制,明确嗜水气单胞菌对尼罗罗非鱼的半致死剂量(LD<sub>50</sub>),并通过药敏试验筛选出最佳抗菌药物,旨在为罗非鱼“突眼病”防控提供了理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

本试验所用尼罗罗非鱼养殖在山东农业大学实验站。水循环养殖系统温度保持在(26±1)℃,每日分别在 08:00、11:00 和 17:00 投喂 3 次,日投喂量为鱼体质量的 3%~5%。试验期间每 3 d 换水 1 次,每次换水约 1/3。每日及时记录采食情况、罗非鱼死亡情况,若有死鱼及时捞出。

### 1.2 样品采集

收集病鱼,使用无菌注射器从病鱼眼部脓包处吸取脓液,加入 50 mL 无菌离心管中,送至实验室进行细菌分离。

### 1.3 病原菌的分离和纯化

吸取少量采集的脓液样本采用平板划线的方法接种于 LB 固体培养基上。置于 37℃ 恒温培养箱中培养 12 h,然后挑取单菌落加入到 LB 液体培养基中,37℃,3 000 r/min,培养 24 h<sup>[12]</sup>。

### 1.4 菌种鉴定

#### 1.4.1 质谱鉴定

挑取培养 24 h 的单个菌落,均匀涂抹于 MALDI-TOF MS 专用靶板(Bruker MSP 96 靶板)的靶点上,覆盖 1  $\mu$ L 基质溶液,避光干燥,用质谱仪(Bruker 公司,德国)进行测定。

#### 1.4.2 16S rRNA 鉴定

使用细菌 DNA 提取试剂盒(TIANGEN, A0516A)提取样品 DNA,使用 16S rRNA 通用引物 27 F:AGAGTTTGATCCTGGCTCGA 和 1492R:GGT-TACCTTGTACGACTT 进行 PCR 扩增。回收 PCR 产物,送至华大基因公司进行测序分析。测序结果经 GenBank 核酸序列同源性比对分析,选择与其相似性较高的序列,通过 MAGE 11.0 软件采用邻接法(neighbor joining)构建系统发育树。

### 1.5 溶血试验

用接种环挑取纯化的菌落,点涂接种于胰酪胨大豆羊血琼脂平板上,28℃ 培养 24 h 后,观察菌落周围溶血环。

### 1.6 革兰氏染色

吸取 3  $\mu$ L 的菌液于载玻片的中央,涂成薄层,经自然干燥、火焰固定后,利用革兰氏染色试剂盒进行染色,于油镜下进行镜检。

### 1.7 毒力基因的检测

选择嗜水气单胞菌 9 个常见毒力相关基因:溶血素(*hly*)、气溶素(*aer*)、黏附素(*aha*)、分泌性弹性蛋白酶(*ahyB*)、温敏蛋白酶(*eprCAI*)、胆固醇酰基转移酶(*gcaT*)、细胞毒性肠毒素(*ast*)、细胞肠兴奋性肠毒素(*act*)和热不稳定性肠毒素(*alt*),合成特异性检测引物<sup>[13]</sup>(表 1)。以提取的细菌 DNA 为模板,按照 2 × Accurate Taq Master Mix 试剂盒进行菌液 PCR,然后进行琼脂糖凝胶电泳检测。

### 1.8 半数致死浓度测定

将分离纯化的菌株接种到 LB 液体培养基中,37℃ 200 r/min 培养 24 h。参照 Rodríguez 等<sup>[14]</sup>的方法,将细菌培养物 3 000 r/min 离心 15 min,沉淀加入 5 mL 无菌 PBS(磷酸盐缓冲液)悬浮,用分光光度计(Thermo Fisher Scientific, USA)在 625 nm 波长下测量吸光值,并将菌液稀释到不同倍数(3.63 × 10<sup>8</sup>、3.63 × 10<sup>7</sup>、3.63 × 10<sup>6</sup>、3.63 × 10<sup>5</sup>、3.63 × 10<sup>4</sup>)。通过腹腔注射菌液感染尼罗罗非鱼,统计 24 h 死亡数量,用 Reed-muench 法计算半数致死浓度(LD<sub>50</sub>)。

### 1.9 病原菌药敏试验

以 K-B 纸片扩散法进行菌株药敏试验。选用

表 1 毒力基因引物信息

Tab. 1 Virulence gene primer information

引物 primer	引物序列(5'-3') primer sequences (5'-3')	片段大小 /bp fragment size
<i>hly</i> -F	TGACAGGCAAGTAGAATAACGC	1 815
<i>hly</i> -R	TGTCCGCTTTCCACTCCC	
<i>aer</i> -F	CCTATGGCCTGAGCGAGAAG	431
<i>aer</i> -R	CCAGTTCCAGTCCCACCACT	
<i>alt</i> -F	ATCGTCAGCGACAGCTTCTT	250
<i>alt</i> -R	CTCATCCCTTGGCTTGTGTTGT	
<i>ast</i> -F	TCGTCAGCGACAGCTTCTT	504
<i>ast</i> -R	CTCATCCCTTGGCTTGTGTTGT	
<i>act</i> -F	GAGAAGGTGACCACCAAGAACA	232
<i>act</i> -R	AACTGACATCGGCCTTGAATC	
<i>ahyB</i> -F	ACACGGTCAAGGAGATCAAC	513
<i>ahyB</i> -R	CGCTGGTGTGGCCAGCAGG	
<i>eprCAI</i> -F	GCTCGACGCCAGCTCACC	389
<i>eprCAI</i> -R	GGCTCACCGCATTTGGATTCCG	
<i>aha</i> -F	GGCTTCAAAGGCCAAACTGTC	281
<i>aha</i> -R	ACACCAGCGAAGTAGAAACC	
<i>gcaT</i> -F	CTCCTGGAATCCCAAGTATCAG	237
<i>gcaT</i> -R	GGCAGGTTGAACAGCAGTATCT	

20 种抗菌药物药敏纸片(BKMAM), 操作步骤及检验标准按照说明书进行。

### 1.10 回归感染

将尼罗罗非鱼随机分为 2 组, 每组 30 条鱼。回归感染组腹腔注射 100  $\mu$ L 半数致死浓度剂量的菌液, 对照组注射相同剂量的生理盐水, 持续观察感染病鱼的临床症状。

## 2 结果与分析

### 2.1 致病菌的分离和纯化

尼罗罗非鱼病鱼眼球突出, 眼部浑浊伴随眼周充血(图 1A)。从眼球脓液中分离致病菌并接种于 LB 固体培养基上, 形成圆形、边缘光滑、肉色有光泽的统一形态的菌落(图 1B)。挑选出单菌落进行下一步鉴定。

### 2.2 致病菌的鉴定

#### 2.2.1 质谱鉴定及革兰氏染色

从 LB 固体培养基上随机选取 3 个单菌落进行质谱仪检测, 鉴定结果显示, 最佳匹配结果(best match)和次佳匹配结果(second-best match)均为嗜水气单胞菌, 且置信区间均在 1.73~2.20 之间, 结果可信(图 2A), 与 16S rRNA 鉴定结果一致。挑选 H2

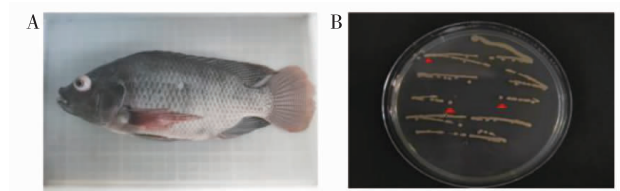


图 1 尼罗罗非鱼病症临床表现及致病菌的分离纯化

Fig. 1 The symptoms of Nile tilapia disease and isolation of pathogenic strains

注: 图 1 B 中箭头所指菌落为挑取的单菌落。

Notes: The colony indicated by the arrow in Fig. 1B corresponded to the single colony selected.

菌株进行后续实验。

经过革兰氏染色处理后, 该致病菌在光学显微镜下呈现出红色、两端钝圆的短杆状形态, 证明该致病菌为革兰氏阴性菌(图 2B)。

#### 2.2.2 16S rRNA 鉴定及系统进化树

PCR 扩增获得大小为 1 500 bp 左右的条带(图 2C), 测序结果比对发现, 所测菌株与 *Aeromonas hydrophila* strain CCM7232 的基因重合度较高, 重合率为 99.60%。系统发育树结果显示, 分离菌株与嗜水气单胞菌聚为一支, 相似性达 99%(图 2D), 进一步确定分离菌为嗜水气单胞菌, 命名为 NT01 (*Aeromonas hydrophila* NT01)。

### 2.3 致病性检测

#### 2.3.1 毒力基因检测

通过 PCR 技术检测嗜水气单胞菌 NT01 的毒力基因。结果显示: 该致病菌携带 7 种毒力基因(*hly*、*aer*、*alt*、*ast*、*ahyB*、*eprCAI* 和 *gcaT*, 图 3A)。

#### 2.3.2 溶血性检测

将菌株接种在胰酪胨大豆羊血琼脂平板上培养 24 h 后, 长出圆润完整的菌落, 在菌落周围有明显的透明溶血环, 这说明该菌具有溶血性, 且属于  $\alpha$  型溶血(图 3B)。

#### 2.4 半数致死浓度(LD<sub>50</sub>)

腹腔注射不同浓度的嗜水气单胞菌 NT01 菌液感染尼罗罗非鱼, 结果显示, 注射  $1 \times 10^5$  CFU/mL 菌液, 开始出现死亡; 当注射  $1 \times 10^8$  CFU/mL 菌液时, 死亡率为 100%。经计算, 该致病菌对尼罗罗非鱼的 LD<sub>50</sub> 为  $3.16 \times 10^6$  CFU/mL(表 2)。

### 2.5 回归感染

腹腔注射半数致死浓度( $3.16 \times 10^6$  CFU/mL)的菌液感染尼罗罗非鱼, 结果显示: 对照组尼罗罗非

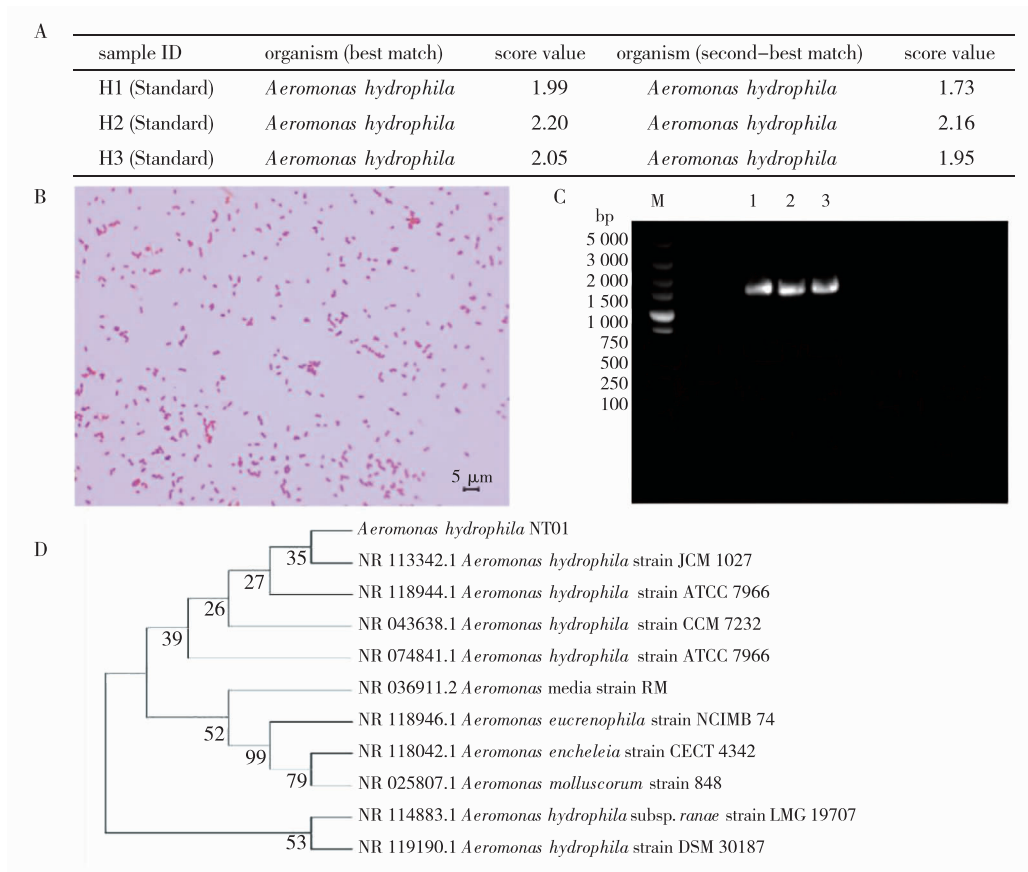


图 2 致病菌株的鉴定

Fig. 2 Identification of isolated strains

注: (A)分离菌株质谱鉴定结果;(B)分离菌株的革兰氏染色;(C)分离菌株 16S rRNA PCR 扩增结果电泳图;1、2、3 为挑出的 3 株菌株;(D)基于分离菌株 16S rRNA 序列的聚类分析图。

Notes: (A) The results of mass spectrometry identification of isolated strains; (B) gram staining microscopy of the isolated strain; (C) electrophoretogram displaying the PCR amplification results of the 16S rRNA gene for the isolated strains; lanes 1, 2, and 3 represent the three selected strains; (D) phylogenetic dendrogram based on the 16S rRNA sequences of the isolated strains.

鱼活动正常,摄食活跃,无死亡现象;而感染组尼罗罗非鱼出现厌食现象,运动力下降,虽然内脏器官没有发生显著病变,但感染组鱼均出现眼球突出症状(图 4),证明菌株 *Aeromonas hydrophila* NT01 是引起尼罗罗非鱼“突眼病”的致病菌。

### 2.6 体外药敏试验

药敏试验结果显示,不同种类的抗生素对 *A. hydrophila* NT01 的抑制效果存在显著性差异 ( $P < 0.01$ )。 *A. hydrophila* NT01 对  $\beta$ -内酰胺类(氨苄西林、青霉素)、林可胺类(林可霉素)、大环内酯类(红

表 2 致病菌株 NT01 对尼罗罗非鱼的 LD<sub>50</sub> 测定

Tab. 2 Determination of LD<sub>50</sub> of isolated strain NT01 on Nile tilapia

菌液浓度 / (CFU/mL)	注射量 / $\mu$ L	攻毒尾数 / ind.	死亡数 / ind.	死亡率 / %	半数致死浓度 / (CFU/mL)
bacterial concentration	injection volume	challenge fish	number of deaths	mortality rate	LD <sub>50</sub>
$1 \times 10^8$	100	10	10	100	
$1 \times 10^7$	100	10	6	60	
$1 \times 10^6$	100	10	4	40	$3.16 \times 10^6$
$1 \times 10^5$	100	10	1	10	
$1 \times 10^4$	100	10	0	0	

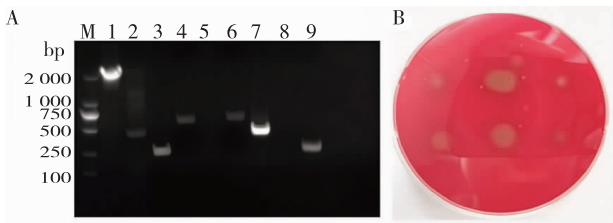


图3 菌株 NT01 毒力基因及溶血性检测

Fig. 3 Amplification results of virulence genes and hemolytic activity of strain NT01

注: (A)菌株 NT01 毒力基因检测结果;M. DL2000 DNA Marker;1~9 分别代表不同的基因 *hly*、*aer*、*alt*、*ast*、*act*、*ahyB*、*eprCAI*、*aha* 和 *gcaT*; (B)菌株 NT01 的溶血性。

Notes: (A) The amplification results of virulence genes of isolated strain NT01; M. DL2000 DNA Marker; the numbers 1 to 9 represent different genes *hly*, *aer*, *alt*, *ast*, *act*, *ahyB*, *eprCAI*, *aha*, and *gcaT* respectively; (B) hemolytic activity of strain NT01.

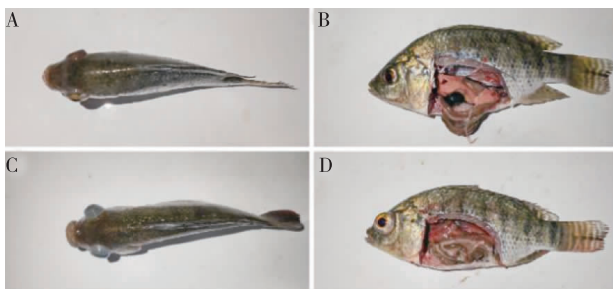


图4 回归感染实验临床症状

Fig. 4 Clinical symptoms of artificial regression infection

注: A、B.对照组尼罗罗非鱼;C、D.感染组尼罗罗非鱼。

Notes: A and B represent the control group of Nile tilapia; C and D correspond to the infected group of Nile tilapia.

霉素)及万古霉素这5类药物具有耐药性;对链霉素中度敏感;对头孢类(头孢唑啉、头孢氨苄、头孢曲松等),及氨基糖苷类(卡那霉素、庆大霉素)等14种药物敏感,其中对头孢曲松(CTR)的敏感性显著高于其他药物(表3)。

### 3 讨论

本研究从“突眼病”罗非鱼患病组织中分离、鉴定到菌株 *A. hydrophila* NT01,确定该菌株对尼罗罗非鱼半数致死浓度  $LD_{50}$  为  $3.16 \times 10^6$  CFU/mL。回归感染后,引起尼罗罗非鱼眼球突出、角膜浑浊、皮下充血,这与“突眼病”病鱼的症状一致。根据其他细菌感染导致“突眼病”的相关研究报道,病鱼均表现为体色变深,眼球凸出、混浊发白等症状<sup>[15,16]</sup>,这充分证明菌株 *A. hydrophila* NT01 是一种尼罗罗非鱼“突眼

病”的致病菌。

在水产养殖过程中,嗜水气单胞菌是最常见的致病菌之一。嗜水气单胞菌的致病力是由多种毒力因子相互协作而形成的,这与它携带的毒力基因的种类和数量有着极为密切的关系<sup>[17]</sup>。研究表明,致病型气单胞菌所携带的 *hly*、*ast*、*alt* 和 *act* 等毒力基因是决定鳗鲡(*Anguilla japonica*)致死的重要因子,其中,含 *hly* 基因的菌株感染致死率高达 100%<sup>[18]</sup>。从黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)中分离出的嗜水气单胞菌携带 *aer*、*act*、*fla*、*lip*、*gcaT*、*exu*、*ast*、*alt* 和 *ahyB* 等9种毒力基因,其毒力基因表达与其所展现出的病性表型之间高度一致<sup>[19]</sup>。本研究中分离出的嗜水气单胞菌 NT01 携带7种毒力基因(*hly*、*aer*、*alt*、*ast*、*ahyB*、*eprCAI* 和 *gcaT*),其中,气溶素(*aer*)具有溶血性和细胞毒性,能够破坏细胞膜,导致宿主细胞坏死;肠毒素(*ast*、*alt*)可裂解细胞并破坏组织<sup>[20]</sup>; *hly6* 基因编码的溶血素在嗜水气单胞菌引起的“突眼病”中发挥重要作用<sup>[21]</sup>; *ahyB* 基因编码的弹性蛋白酶在嗜水气单胞菌引起的“突眼病”中发挥重要作用,弹性蛋白酶能够水解宿主组织中的弹性蛋白和其他基质成分,从而破坏眼部组织的完整性和功能<sup>[22]</sup>; *gcaT* 是一种高度保守的脂肪酶基因,几乎存在于所有气单胞菌菌株中,参与细菌的脂质代谢过程,有助于细菌在宿主体内的生存和增殖<sup>[23]</sup>。因此,这7种毒力基因可能是嗜水气单胞菌 NT01 感染尼罗罗非鱼,导致“突眼病”的关键因子,其分子机制需进一步研究。

嗜水气单胞菌的致病性与菌株溶血活性高度相关。罗志飞等<sup>[24]</sup>的研究表明,嗜水气单胞菌强毒株具备溶血活性与蛋白酶活性,而弱毒株则不具有这些活性。这一发现与王玲玲等<sup>[25]</sup>在青鱼上开展的研究结果相契合,分离得到的菌株 QAB5 呈现出溶血活性、蛋白酶活性以及脂肪酶活性,展现出强毒株的典型特征。本研究中分离到的嗜水气单胞菌 NT01 菌株在体外培养也表现出较高的溶血性,且为  $\alpha$ -溶血,溶血性稳定,这可能是引发尼罗罗非鱼“突眼病”的关键因素。

抗生素药物依然是水产领域防治细菌性疾病最主要的手段。本研究药敏试验结果显示,致病菌株 NT01 对红霉素、万古霉素、林可霉素及青霉素等5种抗生素耐药,但对头孢曲松、多黏菌素  $\beta$  和四环素等14种药物敏感。然而,孙浩然等<sup>[26]</sup>在湖北荆

表 3 菌株 NT01 的抗菌药物敏感性  
Tab. 3 Antimicrobial susceptibility test for strain NT01

药物种类 type of medicine	抑菌圈直径 ± 标准误差 /mm diameter of antibacterial circle	判断标准 /mm judging criteria			敏感性 sensitivity
		R	I	S	
红霉素(E)	11.47 ± 0.01	≤15	16~20	≥21	R
万古霉素(VAN)	8.60 ± 0.00	≤14	15~16	≥17	R
林可霉素(MY)	0.00 ± 0.00	≤14	15~20	≥21	R
强力霉素(DO)	27.63 ± 0.01	≤12	13~15	≥16	S
多黏菌素 β (PB)	15.63 ± 0.04	≤8	9~11	≥12	S
青霉素(PEN)	0.00 ± 0.00	≤14	14~15	≥15	R
氨苄西林(AMP)	7.97 ± 0.01	≤10	11~14	≥15	R
哌拉西林(PIP)	25.07 ± 0.02	≤17	17~18	≥18	S
头孢唑啉(CZ)	21.00 ± 0.00	≤14	15~17	≥18	S
头孢氨苄(CN)	22.53 ± 0.01	≤10	11~14	≥15	S
庆大霉素(GEN)	20.53 ± 0.01	≤12	13~14	≥15	S
链霉素(S)	14.40 ± 0.00	≤11	12~14	≥15	I
卡那霉素(KAN)	22.50 ± 0.02	≤13	14~17	≥18	S
米诺环素(MI)	20.47 ± 0.01	≤11	12~14	≥15	S
四环素(TET)	27.57 ± 0.01	≤14	15~18	≥19	S
阿米卡星(AMK)	23.03 ± 0.00	≤14	15~16	≥17	S
头孢哌酮(CPZ)	28.53 ± 0.01	≤10	11~14	≥15	S
头孢曲松(CTR)	35.06 ± 0.02	≤13	14~20	≥21	S
头孢他啶(CAZ)	29.50 ± 0.02	≤11	12~14	≥15	S
头孢呋辛钠(CXM)	28.97 ± 0.01	≤11	12~14	≥15	S

注：“R”表示耐药；“I”表示中敏；“S”表示敏感。

Notes: “R” indicates drug resistance; “I” indicates intermediately susceptible; “S” indicates susceptible.

州太湖某养殖场黄颡鱼分离出的嗜水气单胞菌仅对恩诺沙星、头孢曲松和四环素药物敏感；赵林辉等<sup>[27]</sup>研究发现在乌鳢中分离出的嗜水气单胞菌 W12 对头孢氨苄、头孢呋辛、头孢噻吩、呋喃妥因、诺氟沙星、氨苄西林、多西环素和青霉素有高度敏感性但对头孢曲松、头孢唑啉及头孢他啶等耐药。嗜水气单胞菌的抗药性可能与菌株的地域分布、宿主来源以及抗生素使用情况等因素有关<sup>[28]</sup>。因此，合理的药敏试验可作为养殖中正确高效用药的理论参考，选择抗菌药物时必须依据具体致病菌株的药敏特性，精准选用符合国家标准的渔药来进行疾病防治。

结论

本研究从患病尼罗罗非鱼体内分离到 1 株嗜水气单胞菌，命名为 NT01，该菌株携带多种毒力因子，具有强致病性，通过药敏试验为临床用药提供可选择的药物，为罗非鱼“突眼病”的防治提供理论依据和技术支撑。

参考文献

[1] VISHNUPRIYA V, SWAMINATHAN T R, DHARMARATHNAM A, et al. Virulent and multi-drug-resistant *Edwardsiella tarda* infection in Oscar fish: unveiling the threat of mass mortality and AMR dissemination [J]. Current Microbiology, 2024, 81(2): 174.

[2] KAYANSAMRUJ P, PIRARAT N, KATAGIRI T, et al. Molecular characterization and virulence gene profiling of pathogenic *Streptococcus agalactiae* populations from tilapia (*Oreochromis* sp.) farms in Thailand [J]. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2014, 26(4): 488–495.

[3] 张季, 潘连德. 观赏鱼的常见眼病及其发病机制研究进展 [J]. 水产科技情报, 2015, 42(1): 54–56.

[4] 陈建国. 美洲黑石斑鱼 (*Centropristis striata*) “突眼”症的病原菌分离鉴定和组织病理学研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.

[5] 郭睿. 鱼源嗜水气单胞菌和维氏气单胞菌 PCR-RFLP 鉴别方法的建立 [J]. 动物医学进展, 2018, 39(1): 41–46.

- [6] 王岚,李妍,孙子雯,等.铜绿假单胞菌性角膜炎发病机制的研究进展[J].国际眼科杂志,2020,20(11):1916-1919.
- [7] ALZHRANI O M, ELUMALAI P, NADA H S, et al. *Pseudomonas putida*: sensitivity to various antibiotics, genetic diversity, virulence, and role of formic acid to modulate the immune-antioxidant status of the challenged Nile tilapia compared to carvacrol oil[J]. *Fishes*, 2023, 8(1): 6-18.
- [8] CHEN B P, XU M, LI F L, et al. Pathological and molecular characteristics of a new infectious *Streptococcus agalactiae* from farmed *Schizopygopsis pylzovi* in southern China[J]. *Aquaculture*, 2025, 594: 741407.
- [9] PARK S B, AOKI T, JUNG T S, et al. Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish [J]. *Veterinary Research*, 2012, 43: 67-82.
- [10] RAJAGOPAL L. Understanding the regulation of group B streptococcal virulence factors [J]. *Future Microbiology*, 2009, 4(2): 201-221.
- [11] 林昌毅,江飏,张育明,等.鱼源杀鱼爱德华氏菌的研究进展[J].水产学报,2025,49(2):22-51.
- [12] 秦莉,殷建国,张薇,等.白斑狗鱼(*Esox lucius*)致病性嗜水气单胞菌的分离与鉴定[J].渔业科学进展,2014, 35(5):40-45.
- [13] 张凯凯,于明,刘怡宁,等.嗜水气单胞菌 SY01 毒力检测分析[J].山东畜牧兽医,2025,46(1):8-10.
- [14] RODRÍGUEZ I, NOVOA B, FIGUERAS A. Immune response of zebrafish (*Danio rerio*) against a newly isolated bacterial pathogen *Aeromonas hydrophila* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, 25(3): 239-249.
- [15] 苏友禄,刘婵,邓益琴,等.罗非鱼无乳链球菌病的研究进展[J].大连海洋大学学报,2019,34(5):757-766.
- [16] LIU G J, ZHU J L, CHEN K M, et al. Development of *Streptococcus agalactiae* vaccines for tilapia [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2016, 122(2): 163-170.
- [17] 郭睿,刘年锋,江小斌,等.6 株鱼源嗜水气单胞菌的分子鉴定与毒力基因分析检测[J].福建水产,2014,36(2):87-95.
- [18] 熊静,赖晓健,余钦,等.7 株鳗鲡致病性气单胞菌毒力基因胞外产物及其活性比较[J].华中农业大学学报, 2017,36(1):76-85.
- [19] 高玮,邵玲.黄颡鱼源致病性嗜水气单胞菌 A01 的分离鉴定、全基因组特征及比较基因分析[J].广东农业科学,2025,52(2):82-94.
- [20] MARTINO M E, FASOLATO L, CARDAZZO B, et al. *Aeromonas* [C]//Encyclopedia of Food and Health. Oxford: Elsevier, 2016: 61-67.
- [21] EL-HOSSARY D, MAHDY A, ELARINY EYT, et al. Antibiotic resistance, virulence gene detection, and biofilm formation in *Aeromonas* spp. isolated from fish and humans in Egypt [J]. *Biology*, 2023, 12(3): 421.
- [22] CASCÓN A, YUGUEROS J, TEMPRANO A, et al. A major secreted elastase is essential for pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* [J]. *Infection and Immunity*, 2000, 68(6): 3233-3241.
- [23] KHOR W C, PUAH S M, TAN J A M, et al. Phenotypic and genetic diversity of *Aeromonas* species isolated from fresh water lakes in Malaysia [J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0145933.
- [24] 罗志飞,胡萌,陆承平,等.3 株嗜水气单胞菌弱毒株的毒力相关特性分析[J].中国兽医学报,2012,32(1):48-51.
- [25] 王玲玲,侯天牧,李华明,等.青鱼 ST251 型高致病性嗜水气单胞菌的毒力及药物敏感性[J].大连海洋大学学报,2023,38(4):573-583.
- [26] 孙浩然,王丽,杨洋,等.患腹水病黄颡鱼嗜水气单胞菌的分离、鉴定及特性分析[J].武汉轻工大学学报, 2021,40(5):1-8,39.
- [27] 赵林辉,田佳鑫,孔伟頔,等.乌鳢致病嗜水气单胞菌的分离与毒力基因检测及耐药分析[J].经济动物学报,2022,26(1):52-61.
- [28] 芦运超,邱军强,胡鲲.药敏试验与比较基因组揭示嗜水气单胞菌耐药潜力[J].上海海洋大学学报,2023,32(6):1216-1223.