

DOI: 10.3969/j.issn.2096-8248.2025.01.001

引用格式: 李娜, 唐怀庆, 丘金珠, 等. 乌鳢源鳊鱼诺卡氏菌分离、鉴定及致病性分析[J]. 江苏海洋大学学报(自然科学版), 2025, 34(1): 1-7.

乌鳢源鳊鱼诺卡氏菌分离、鉴定及致病性分析

李娜^{1,2}, 唐怀庆³, 丘金珠³, 宋长江³, 夏立群^{1,2}, 鲁义善^{1,2},
夏洪丽^{1,2,4}, 喻大鹏^{1,2,4}

(1. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东海洋大学深圳研究院, 广东 深圳 518116;
3. 中山市农产品质量安全检验所, 广东 中山 528400; 4. 深圳义海生物科技有限公司, 广东 深圳 518116)

摘要: 为了解中山市某水产养殖基地乌鳢爆发性死亡病因, 从患病乌鳢脾脏、肝脏、体肾等病灶组织分离得到一株优势菌株, 命名为 ZS0721。对分离菌株进行人工感染实验, 确认引起乌鳢爆发性死亡致病菌为 ZS0721。最后对分离菌株进行形态学特征观察、生理生化特性鉴定、药敏分析与组织病理切片分析。结果显示, 菌株 ZS0721 具有较强致病性, 对乌鳢的半致死浓度 LD₅₀ 为 2.87×10⁶ CFU/mL; 其 16S rDNA 序列和 NCBI 数据库中鳊鱼诺卡氏菌 (*Nocardia seriolae*) MT773631.1 具有 99.38% 同源性; 且该菌株的生理生化特性与鳊鱼诺卡氏菌也相一致。综合上述结果, 确定该菌株为鳊鱼诺卡氏菌 (*N. seriolae*)。组织病理学分析表明, 菌株 ZS0721 感染引起了鱼体免疫组织脾脏、肝脏和体肾出现肉芽肿病变。药敏实验结果显示, 该菌株对头孢哌酮、链霉素、卡那霉素、庆大霉素、大观霉素、四环素等 13 种抗生素敏感。该研究为乌鳢鳊鱼诺卡氏菌感染防控提供一定参考依据。

关键词: 乌鳢; 鳊鱼诺卡氏菌; 药敏; 组织病理

中图分类号: S941.42 文献标志码: A 文章编号: 2096-8248 (2025) 01-0001-07

Isolation, identification and pathogenicity analysis of *Nocardia seriolae* from *Channa argus*

LI Na^{1,2}, TANG Huaiqing³, QIU Jinzhu³, SONG Changjiang³, XIA Liqun^{1,2}, LU Yishan^{1,2},
XIA Hongli^{1,2,4}, YU Dapeng^{1,2,4}

(1. School of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;
2. Shenzhen Research Institute of Guangdong Ocean University, Shenzhen 518116, China;
3. Zhongshan Institute for Quality and Safety Inspection of Agricultural Products, Zhongshan 528400, China;
4. Shenzhen Yihai Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen 518116, China)

Abstract: In order to understand the cause of the explosive death of *Channa argus* in an aquaculture base in Zhongshan city, a dominant strain was isolated from diseased *Channa argus* spleen, liver, kidney, named ZS0721. Subsequently, the artificial infection experiment caused the explosive death of *Channa argus* was confirmed as ZS0721. Finally, the morphological characteristics observation, physiological and biochemical characterization, drug sensitivity analysis and histopathological sections were analyzed. The results showed that strain ZS0721 was highly pathogenic, with a semi-lethal concentration of LD₅₀ of 2.87×10⁶ CFU/mL;

收稿日期: 2024-05-20; 修订日期: 2024-08-04

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2020YFD0900201); 中山市第二批社会公益与基础研究项目 (2021B2058)

作者简介: 李娜 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水生动物病害防控, (E-mail) cutelina115@163.com。

通信作者: 喻大鹏 (1992—), 男, 工程师, 博士, 研究方向为水生动物病害防控, (E-mail) yudapeng@gdou.edu.cn。

the 16S rDNA sequence was similar with the strain *Nocardia seriolae* MT773631.1 with 99.38% homology in the NCBI database; and the physiological and biochemical characteristics of this strain were consistent with those of *N. seriolae*. Based on the above results, the strain was identified as *N. seriolae*. Histopathological analysis indicated that strain ZS0721 infection caused granulomatous lesions in the spleen, liver, and kidney of fish immune tissues. The results of the drug susceptibility experiment showed that the strain was sensitive to thirteen antibiotics including cefoperazone, streptomycin, kanamycin, gentamycin, spectinomycin, and tetracycline. This study provides a reference for the control of *N. seriolae* infection in *Channa argus*.

Key words: *Channa argus*; *Nocardia seriolae*; drug sensitivity; histopathology

0 引言

鳊鱼诺卡氏菌(*Nocardia seriolae*, *N. seriolae*), 隶属于放线菌目(Actinomycetales), 诺卡氏菌科(Nocardiaceae), 诺卡氏菌属(*Nocardia*), 是一种革兰氏阳性菌, 广泛分布于自然界中。该菌株由日本学者 Kariya 等 1967 年首次从患病鳊鱼体内分离鉴定, 因此命名为鳊鱼诺卡氏菌(*N. seriolae*)^[1]。迄今为止, 在鱼类中发现的诺卡氏菌除 *N. seriolae* 还有星形诺卡氏菌(*N. asteroides*) 和杀鲑诺卡氏菌(*N. salmonicida*)^[2]。但目前研究表明, *N. seriolae* 是鱼类诺卡氏菌病的主要致病菌, 已感染 40 余种淡、海水鱼类, 其中包括: 乌鳢(*Channa argus*)、小黄鱼(*Larimichthys polyactis*)、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)、五条鳊(*Seriloa quinqueradiata*)、卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) 和暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*) 等^[3-5]。研究发现 *N. seriolae* 感染范围广泛, 感染后, 鱼体免疫器官将会出现白色结节^[6]。在部分鱼类感染 *N. seriolae* 后期, 肌肉、心脏以及性腺等组织中也能发现白色结节^[7]。由于该菌株广泛分布于自然界中, 是一种条件致病菌, 在机体免疫力较低时, 易被其感染, 且研究表明该菌株自然感染率最低为 20%, 最高为 60%; 一旦感染, 其死亡率高达 100%, 给水产养殖业造成极大经济损失^[3]。

乌鳢(*Channa argus*), 又名生鱼、黑鱼、财鱼等, 隶属于鲈形目鳢科鳢属。因其含肉率高, 软骨刺较少, 蛋白质含量丰富, 同时具有极高的药用价值, 乌鳢作为除四大家鱼外, 我国另一重要淡水养殖品种。近年来在我国广东、福建、安徽、浙江等地广泛养殖^[8]。相比其他鱼类, 乌鳢具有耐低氧、适应性强等特点, 但其性格凶猛, 体表易受伤, 消毒处理不

及时, 易发病, 严重影响乌鳢养殖业发展。目前在乌鳢养殖过程中常见的病原包括病毒(弹状病毒)、细菌(舒伯特气单胞菌)、真菌(鳊鱼诺卡氏菌)以及寄生虫(锚头蚤)^[9-10]。其中, *N. seriolae* 感染尤为严重, 主要症状为反应迟钝, 食欲下降, 体表出现溃疡, 鳃丝或内脏组织中有白色结节, 一旦爆发, 会导致乌鳢大量死亡^[11]。

2023 年 7 月, 在中山市某乌鳢养殖基地出现乌鳢突发性死亡, 其主要出现反应迟钝、食欲下降、体表损伤、肛门肿胀、肠炎、肝脏充血等症状。为查明原因, 本研究从该养殖基地自然患病且症状明显的乌鳢中分离纯化得到一株致病菌, 通过形态学观察、生理生化和分子生物学鉴定; 再由 16S rDNA 测序和系统发育树分析确定该菌株为鳊鱼诺卡氏菌(*N. seriolae*), 人工感染实验确定该菌株是引起本次乌鳢突发死亡的主要致病菌株, 后对该分离菌株进行耐药性分析, 以期对乌鳢致病性 *N. seriolae* 的细菌性疾病诊断和感染防控提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验试剂、仪器和材料

实验所用试剂: BHI 培养基与新型微生物微量生化鉴定管购自广东环凯生物科技有限公司; 细菌药敏试纸盒购自杭州滨和微生物试剂有限公司; 无菌 PBS 购自武汉赛维尔生物科技有限公司; DL2000 DNA Marker 与 2×Premix Ex DNA Taq 酶购自 TaKaRa 宝生物工程(大连)有限公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自北京全式基因公司。

实验所用仪器: 德国耶拿 PCR 仪、一恒凝胶电泳仪、BIO-RAD 凝胶成像仪、超净工作台等设备。

回归感染所用健康乌鳢购自中山某乌鳢养殖场, 体长(10.0±1.0) cm, 体质量 200 g 左右, 于实验暂养

室淡水循环系统中暂养, 期间每日早晚各投喂一次, 水温 (20±2) °C, 两周后随机选取体表无任何损伤、健康且活动力正常的乌鳢为回归感染实验备用。

1.2 菌株分离

从乌鳢养殖场取回的病鱼, 参考时少坤等^[12]方法, 在超净工作台中进行无菌操作, 分离组织后于 BHI 平板划线接种, 28 °C 培养 72 h 后, 筛选出优势菌株并连续纯化两代, 挑取单菌落扩大培养, 取部分菌液加入 1/2 体积菌液量的 50% 灭菌甘油, 充分混匀后, -80 °C 保种备用。

1.3 回归感染

将健康有活力乌鳢养于暂养室淡水循环系统中, 早晚各投喂一次饲料, 每天观察并记录乌鳢健康状况, 暂养两周后, 随机分为 6 组, 其中一组是对照组, 另外 5 组为实验组, 每组设置 12 尾鱼。参照时少坤等^[12]方法, 将此前放于超低温冰箱保存的菌株进行活化处理, 随后配置浓度梯度为 1.0×10^9 , 1.0×10^8 , 1.0×10^7 , 1.0×10^6 , 1.0×10^5 CFU/mL 的菌悬液浓度, 采用腹腔注射 200 μL/尾, 对照组注射相同剂量的无菌 PBS, 连续观察 7 d, 每天记录乌鳢死亡情况并记录, 根据改良寇氏法计算 LD₅₀。后续再按此前操作, 将回归感染乌鳢病灶部位进行致病菌的分离鉴定。

1.4 菌株鉴定

采用细菌微量生化鉴定管对本次分离菌株与本实验室此前分离鉴定准确菌株 ZJ0503 进行生化鉴定, 同时进行专项生化指标检测鉴定。将分离菌株于 BHI 固体培养基划线 28 °C 培养 72 h, 然后将单菌落挑取接种于各类生化反应管中, 置于 28 °C 培养箱内培养 24 h, 读取反应结果, 最后根据《伯杰氏细菌学鉴定手册》和《常见细菌系统鉴定手册》对分离株与实验室保存菌株 ZJ0503 生理生化结果进行比较。

分子鉴定根据艾基生物科技有限公司 DNA 提取试剂盒说明书提取分离菌株和实验室保存菌株 ZJ0503^[6] 的 DNA。使用细菌核糖体 16S rDNA 通用引物鉴定分离菌株, 上游引物为 27F: 5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3'; 下游引物为 1492R: 5'-TACG-GCTACCTTGTTACGACTT-3'。使用 50 μL PCR 反应体系进行扩增, 吸取 5 μL PCR 产物进行 1.5% 凝胶电泳检测, 将剩余 45 μL PCR 产物送至广州生工有限公司测序。测序结果使用 DNAMAN 软件拼接, 将拼接序列在 NCBI 网站进行 BLAST 比对, 选取 NCBI 上已公布其他相似菌株 16S rDNA 序列, 根据 N-J 法构建系统进化树。

1.5 组织病理分析

使用无菌解剖工具, 对健康乌鳢和从养殖带回濒死乌鳢的肝脏、脾脏、体肾组织进行取样, 放入通用型组织固定液 (中性) (武汉赛维尔生物科技有限公司) 中, 于室温固定 24 h 后, 再转移到冰箱 4 °C 进行保存。随后将组织送至武汉塞尔维生物有限公司进行普通包埋和石蜡切片, 并对结果进行分析。

1.6 药敏分析

参考时少坤等^[12]方法, 利用 K-B 纸片扩散法对分离菌进行耐药敏感性分析, 总共选取 20 种抗生素耐药纸片, 以涂布法将分离菌均匀接种在 BHI 培养基中, 生化培养箱 28 °C 培养 72 h 后, 使用游标卡尺读取结果。根据其抑菌圈大小, 判断菌株对不同抗生素耐药性, 判断标准为《抗菌药物敏感性试验的技术要求》(WS/T 639—2018)^[13] 抗菌药物敏感性试验的技术要求。本次试验使用抗生素主要包括 β-内酰胺类、氨基糖苷类、四环素类、喹诺酮类和硝基呋喃类等。

2 结果

2.1 致病菌株分离

在超净工作台上进行无菌操作, 将患病乌鳢的肝脏、脾、体肾以及明显病灶组织分离取出, 随后用无菌接种环划线接种于 BHI 固体培养基上, 28 °C 培养 72 h 后, 发现单菌落为淡黄色粗颗粒样, 边缘陷入培养基中, 表面干燥, 白色或淡黄色 (见图 1a)。选取表观形态相似的单菌落进行革兰氏染色并用显微镜观察, 确定该菌株是革兰氏阳性菌 (见图 1b)。继续在超净台中挑取相同形态单菌落, 用无菌 BHI 平板进行重复划线接种, 经 2 次分离纯化后随机挑取单菌落进行培养, 并以此为模板扩增 16S rDNA 保守序列, 随后送由广州生工测序。测序结果显示本次分离单菌落的 16S rDNA 序列完全一致, 为同一菌株, 命名为 ZS0721。

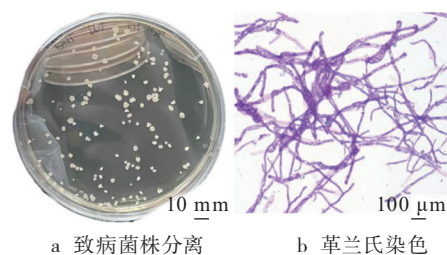


图 1 致病菌株分离及革兰氏染色
Fig. 1 Isolation of pathogenic strains and Gram staining

2.2 致病菌株回归感染

选取暂养活力较好乌鳢,分别腹腔注射 200 μL 不同浓度倍比稀释菌液和无菌 PBS,连续记录数据。致病菌株回归感染如表 1 所示,实验组和对照组第一天均无死亡。第二天高浓度实验组开始出现死亡,随后几天死亡尾数呈现上升趋势,对照组一

直未出现死亡。感染 7 d 后,高浓度组死亡率高达 83.30%,低浓度组死亡率为 33.33%。统计数据计算 ZS0721 半致死浓度 LD_{50} 为 2.87×10^6 CFU/mL。实验期间对所有死亡乌鳢进行解剖,并进行致病菌分离鉴定。结果发现分离致病菌与 ZS0721 属于同一菌株。

表 1 乌鳢人工感染菌株 ZS0721 实验结果

Table 1 Experimental results of artificial infection strain ZS0721 in *Channa argus*

组别	菌液浓度 / (CFU·mL ⁻¹)	尾数	死亡数目 / 尾							合计	死亡率 / %
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d		
对照组	无菌 PBS	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1.0×10^9	12	0	1	3	2	1	1	2	10	83.30
2	1.0×10^8	12	0	1	2	2	1	2	1	9	75.00
3	1.0×10^7	12	0	1	1	1	2	1	0	6	50.00
4	1.0×10^6	12	0	0	1	1	1	1	1	5	41.67
5	1.0×10^5	12	0	0	1	1	1	0	1	4	33.33

2.3 致病菌株生理生化鉴定

分离菌株 ZS0721 生化鉴定结果显示(见表 2),该菌株可以水解明胶,蔗糖、氧化酶、苯丙氨酸、甘露醇、精氨酸双水解酶、吡啶、葡萄糖产酸、木糖和阿拉伯糖反应呈阳性,侧金盏花醇、硫化氢、西蒙氏枸橼酸盐、山梨醇、V-P 试验、鼠李糖、鸟氨酸脱羧酶和丙二酸盐反应呈阴性,同时结果显示该菌株在无盐胨水能够存活。结合上述生化鉴定结果,经与《伯杰氏细菌学鉴定手册》和《常见细菌系统鉴定手册》提供的鳊鱼诺卡氏菌(*N. seriolae*)各项反应标准,初步确定为鳊鱼诺卡氏菌(*N. seriolae*)。

表 2 生理生化鉴定结果

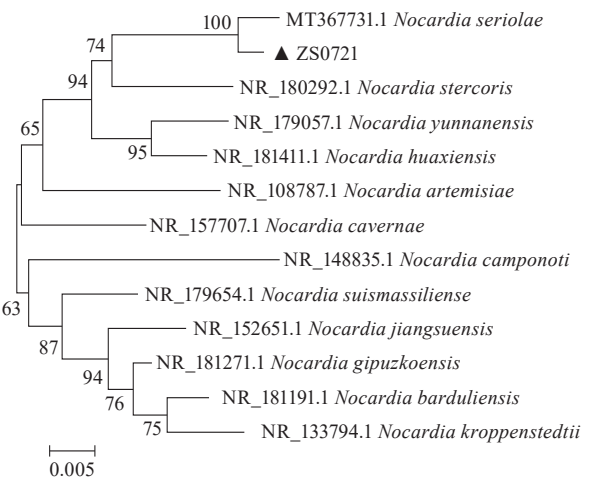
Table 2 Results of physiological and biochemical identification

检测项目	ZS0721	<i>N. seriolae</i>	检测项目	ZS0721	<i>N. seriolae</i>
侧金盏花醇	-	-	甘露醇	+	+
蔗糖	+	+	无盐胨水	+	+
明胶水解	+	+	3%NaCl 胨水	-	-
硫化氢	-	-	赖氨酸脱羧酶	-	-
棉籽糖	+	+	精氨酸双水解酶	+	+
肌醇	-	-	鸟氨酸脱羧酶	-	-
氧化酶	+	+	吡啶	+	+
西蒙氏枸橼酸盐	-	-	葡萄糖产酸	+	+
山梨醇	-	-	木糖	+	+
苯丙氨酸	+	+	尿素	+	+
V-P 试验	-	-	丙二酸盐	-	-
鼠李糖	-	-	阿拉伯糖	+	+

注：“+”表示阳性；“-”表示阴性。

2.4 致病菌株系统发育树分析

将菌株 ZS0721 的 16S rDNA 保守序列在 NCBI 网站进行比对。Blast 序列比对结果显示该菌株与鳊鱼诺卡氏菌(*N. seriolae*) MT367731.1 具有极高相似度,两者同源性达 99%。随后用生物信息软件构建系统发育进化树,结果表明(见图 2)菌株 ZS0721 与鳊鱼诺卡氏菌(*N. seriolae*)聚为一支。综合该分离菌株 16S rDNA 测序对比结果、生理生化检测结果和系统进化树分析结果,判断该菌株 ZS0721 为鳊鱼诺卡氏菌(*N. seriolae*)。



注：“▲”为本次实验菌株。

图 2 菌株系统发育树分析

Fig. 2 Phylogenetic tree analysis of the strains

2.5 组织病理分析

现场眼观乌鳢体表有明显损伤,腹部肿胀濒死

病鱼。将乌鳢放置超净工作台上进行解剖, 发现其体肾、内脏团、肝脏和脾脏出现大量白色结节(见图 3)。根据本实验室此前分离诺卡氏菌解剖经验, 初步判断其疑似为诺卡氏菌感染。将患病乌鳢病变组织

(脾脏、肝脏和体肾) 制作病理切片, 进一步观察其病理变化。从图 4 可以看出, 与健康鱼相比, 感染 *N. seriolae* 乌鳢脾脏, 体肾和肝脏均出现典型的肉芽肿结节。

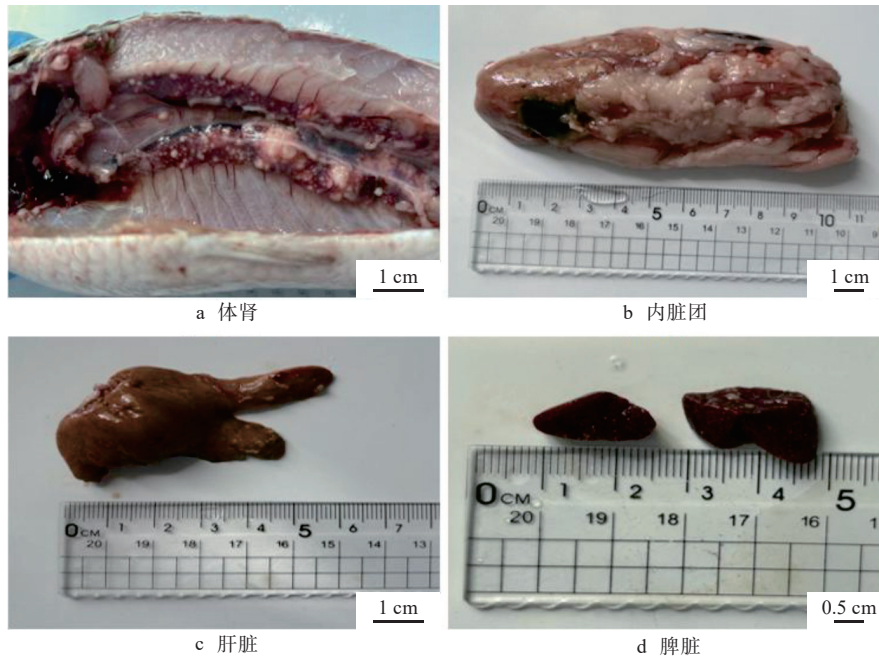
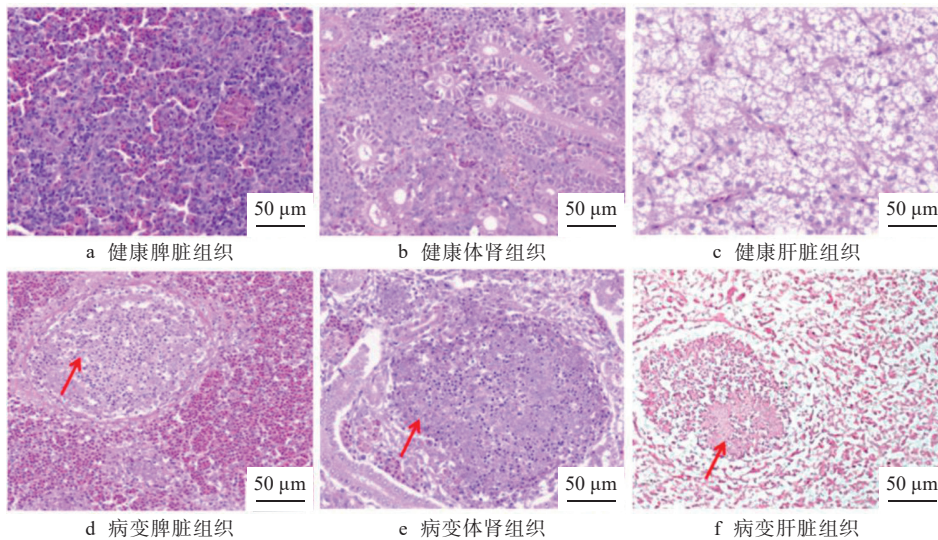


图 3 患病乌鳢临床症状
Fig. 3 Clinical symptoms of diseased *Channa argus*



注: 红色箭头所指位置为肉芽肿结节。

图 4 健康和患病乌鳢标本组织学观察
Fig. 4 Histopathological observations of tissue from healthy and diseased *Channa argus*

2.6 致病菌株药敏性

分析致病菌 *N. seriolae* 对抗生素药物的敏感性, 检测该菌株对 18 种抗生素敏感性。结果表明

(见表 3), 该菌株对氨苄西林、头孢曲松、左氟沙星、红霉素以及克林霉素这 5 种抗生素耐药; 对头孢哌酮、链霉素、卡那霉素、庆大霉素、大观霉素、四环

素等 13 种抗生素敏感。

表 3 ZS0721 菌株药物敏感性试验结果

Table 3 Drug sensitivity test results of the strain ZS0721

药物种类	抗生素	ZS0721	
		抑菌圈直径/mm	药物敏感性
β-内酰胺类	氨苄西林	0	R
	头孢哌酮	40	S
	头孢曲松	0	R
氨基糖苷类	链霉素	35	S
	卡那霉素	25	S
	庆大霉素	60	S
	妥布霉素	20	S
	大观霉素	65	S
	阿米卡星	35	S
四环素类	四环素	35	S
	米诺环素	60	S
喹诺酮类	左氟沙星	13	R
硝基咪唑类	呋喃妥因	35	S
	红霉素	0	R
大环内酯类	克拉霉素	36	S
	麦迪霉素	65	S
糖肽类	多粘菌素 B	30	S
林可酰胺类	克林霉素	0	R

注：“R”表示耐药；“S”表示敏感。

3 讨论

近年来,有关 *N.asteroides* 感染哺乳动物的报道逐渐增多,日益引起学者们的关注^[3, 5-7]。随后研究发现,诺卡氏菌属中鳊鱼诺卡氏菌(*N. seriolae*)仅感染鱼类,致死率高。本次分离 *N. seriolae* 的 LD₅₀ 为 2.87×10⁶ CFU/mL,属于强毒株,具有较高的致病性。但与本实验室此前分离 *N. seriolae* 菌株 ZJ0503 毒力不同。出现这种现象的原因可能是由于各物种间抵抗细菌的能力有差异。而且在疫苗研发过程中,菌株毒力强弱是用于筛选和培育减毒株疫苗必要手段。本研究分离菌株可以为后续疫苗研发提供一定数据支撑。

诺卡氏菌广泛分布于自然界中,是一种人畜共患菌。近年来,有关诺卡氏菌感染人类的报道逐渐增多,调查发现主要流行毒株为星形诺卡氏菌(*N.asteroides*),主要感染人群为免疫力较低的老年人或病人,且一旦感染易引发其他并发症,极度危险^[14]。本实验感染乌鳢出现的症状与前人^[7]报道相符,内脏(脾脏和肝脏)器官肿大,以及体肾内部布满白色结节。通过对病变器官进行组织病理切片后发现,患病乌鳢被感染组织均出现典型的肉芽肿结节,进一步证明引起乌鳢突发性死亡的致病菌是 *N. seriolae*。王文基等^[7]发现 *N. seriolae* 通过体

表损伤、鳃部气体交换以及肠道炎症等感染鱼类。其中,鳃作为鱼类呼吸器官,从水中过滤氧气进入体内,长期接触水体,有较高感染风险。研究表明,白细胞可以将致病菌吞入内部然后杀伤或降解,而 *N. seriolae* 可以寄生在白细胞内不被消灭,并将其作为宿主,在其内部大量增殖^[15]。且在 *N. seriolae* 寄生白细胞后,可以随着血液循环到达各个组织,而肝脏、脾脏和肾脏作为机体主要造血以及免疫器官,白细胞极易在这 3 个组织上集合,导致巨噬细胞增生,组织内部出现大量肉芽肿白色结节。根据 *N. seriolae* 寄生白细胞这一特性,未来诺卡氏菌病药物和疫苗可以以巨噬细胞作为靶标进行研发。

传统治疗细菌性疾病的方法主要是大量使用抗生素,直接消灭细菌,但是相比陆生动物,水生生物生活环境不同,抗生素在水中流动性较强,且水中微生物更为丰富,长期使用一种或多种抗生素,极易污染水体,同时会导致细菌产生耐药性。本研究分离的菌株与前人分离的诺卡氏菌相似,对氨苄西林、头孢曲松、左氟沙星、红霉素以及克林霉素这 5 种抗生素表现一定程度的耐药性。现场调查发现,该厂预防诺卡氏菌感染一直使用的是氟苯尼考、盐酸多西环素等抗生素^[16-17],但本次使用抗生素后,结果并不理想。出现这一现象的原因可能是该地区长期使用这几类抗生素,使得菌株经过长期抗生素药物刺激筛选下,在不断分裂繁殖后,针对药物不断进化,最终对这几类抗生素产生耐药性^[18-19],使得药物失效。由于体内、外的差异,在体外实验中,细菌对某些抗生素可以表现为敏感,但体内常常无效,这主要是由于抗生素可以直接接触细菌,抑制其生长繁殖,但在实际生产中,鱼类被鳊鱼诺卡氏菌感染后,该菌株会以胞内寄生方式聚集在鱼体各个器官组织中^[20],药物通过泼洒鱼塘或浸泡鱼体等方式使用,进入鱼体后药物使用浓度相比杀灭浓度较低,无法达到预期效果。此外,结合前人研究发现,分离的 *N. seriolae* 均出现多重耐药性,单一用药效果收效欠佳,需要结合多种抗生素进行治疗,但这对公共卫生安全会造成一定威胁^[5]。本次分离 *N. seriolae* 的患病乌鳢体表出现溃疡糜烂,其次在病鱼肝脏、脾脏以及肾脏发现结节,主要是由于 *N. seriolae* 在鱼体内潜伏期长,不易发现,一旦体表出现感染症状,已经进入感染后期,即使使用抗生素也无法有效消灭 *N. seriolae*,降低乌鳢死亡率。因此,在乌鳢养殖期间,工作人员应加强前期预防管理,发现乌鳢出现游动

异常、食欲下降等症状,需要及时解剖,在感染初期选择合适药物治疗。

本研究通过生理生化和分子鉴定从患病乌鳢体内中分离出一株 *N. seriolae* ZS0721。该菌株对四环素和 β -内酰胺类抗生素具有耐药性。以上结果对了解 *N. seriolae* ZS0721 在水生生物的致病性、流行病学特征和临床用药具有重要的指导意义。

4 结论

综上所述,本研究从突发性死亡乌鳢体内分离到一株致病菌 *N. seriolae* ZS0721,经形态学观察、生理生化分析和 16S rDNA 基因片段序列比对鉴定为鳊鱼诺卡氏菌。回归感染试验显示该菌株会引起乌鳢肝、肾和脾脏发生病理变化,并确定其对乌鳢的半致死浓度为 LD_{50} 为 2.87×10^6 CFU/mL。药敏试验显示对头孢哌酮、链霉素、卡那霉素、庆大霉素、大观霉素、四环素等 13 种抗生素敏感,为乌鳢养殖过程中应对诺卡氏菌病的早期预防和治疗提供数据依据。

参考文献:

- [1] LIU Yansheng, CHEN Guoquan, XIA Liqun, et al. A review on the pathogenic bacterium *Nocardia seriolae*: aetiology, pathogenesis, diagnosis and vaccine development [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2023, 15 (1): 14-34.
- [2] LIU Zhigang, DONG Junjian, KE Xiaoli, et al. Isolation, identification, and pathogenic characteristics of *Nocardia seriolae* in largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2022, 149: 33-45.
- [3] 杨娜, 黄雷, 蔺凌云, 等. 大口黑鲈鳊鱼诺卡氏菌传代弱毒株特性及免疫效果评价 [J]. *水生生物学报*, 2024, 48 (7): 1120-1129.
- [4] 郑杰民. 生鱼诺卡氏菌病和舒伯特气单胞菌病的鉴别与防控 [J]. *科学养鱼*, 2022 (1): 47-49.
- [5] 吴迪, 阮泽超, 王跃斌, 等. 小黄鱼 (*Larimichthys polyactis*) 鳊鱼诺卡氏菌的分离及鉴定 [J]. *海洋与湖沼*, 2023, 54 (4): 1182-1190.
- [6] 夏立群, 汪美, 赖杰彬, 等. 鳊鱼诺卡氏菌感染斑马鱼模型的建立与组织病理学研究 [J]. *热带生物学报*, 2016, 7 (4): 409-416.
- [7] 王文基, 陈建林, 侯素莹, 等. 鳊鱼诺卡氏菌感染乌斑杂交鳢的组织病理学研究 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38 (10): 4439-4446.
- [8] 朱恒刚, 沈恒建. 高密度黑鱼养殖池塘水质调控技术 [J]. *渔业致富指南*, 2023 (12): 57-60.
- [9] 朱林, 李应森, 冯晓宇, 等. 乌鳢主要病害的诊断和防治 [J]. *湖北农业科学*, 2011, 50 (10): 2074-2077.
- [10] GUL Y, GAO Zexia, WANG Weimin, et al. Haematological and serum biochemical characterization and comparison of wild and cultured northern snakehead (*Channa argus* Cantor, 1842) [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2011, 27 (1): 122-128.
- [11] 师玉环. 乌鳢常见病预防和治疗 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2004 (6): 52-53.
- [12] 时少坤, 喻大鹏, 雷美华, 等. 深圳黄喉拟水龟致病嗜水气单胞菌的分离、鉴定及药敏分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39 (10): 4523-4530.
- [13] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 抗菌药物敏感性试验的技术要求: WS/T 639—2018 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- [14] 张明洋, 韩晓庆, 吴妍, 等. 星形诺卡菌合并烟曲霉菌感染 1 例 [J]. *解放军医学院学报*, 2019, 40 (1): 86-87.
- [15] XU Hongsen, XU Ruiping, WANG Xiaoni, et al. Co-infections of *Aeromonas veronii* and *Nocardia seriolae* in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2022, 173: 105815.
- [16] 王友娟, 徐祥, 尹怀磊, 等. 一株诺卡氏菌的分离鉴定、药敏试验及治疗方案探讨 [J]. *科学养鱼*, 2021 (6): 54-56.
- [17] 孟思好, 孟长明, 陈昌福. 养殖鱼类诺卡氏菌病及其防治 [J]. *科学养鱼*, 2017 (5): 88.
- [18] 雷宁, 郝贵杰, 黄爱霞, 等. 大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 致病性维氏气单胞菌的分离鉴定及其特性分析 [J]. *海洋与湖沼*, 2022, 53 (5): 1180-1188.
- [19] 李忠琴, 张坤, 林茂, 等. 大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 致病性维氏气单胞菌的分离鉴定与药敏特性研究 [J]. *海洋与湖沼*, 2017, 48 (1): 139-147.
- [20] 刘文文, 邓玉婷, 朱雪晴, 等. 鳊鱼诺卡氏菌对大口黑鲈头肾巨噬细胞的侵染过程 [J]. *微生物学通报*, 2023, 50 (6): 2602-2623.

(责任编辑: 李琴)