

鱼源葡萄球菌对金鱼和斑马鱼致病性的研究

葛丽婷,刘 青,王一帆,李亚楠,闫旭峰,康 琳,赵恒寿

(山西农业大学 山西省生态畜牧与环境兽医重点实验室,山西 太谷 030801)

摘要:为进一步研究葡萄球菌对水产动物的病害,研究了分离自患病热带鱼类的葡萄球菌,对斑马鱼和金鱼的致病性。结果表明:葡萄球菌对金鱼和斑马鱼均具有致病性,但致病力不强,能够引起与原发病例类似的症状。当葡萄球菌浓度相同时,其对金鱼的致死率明显大于斑马鱼。在环境水温 24℃条件下,葡萄球菌对斑马鱼和金鱼 96 h 的半数致死浓度分别为 4.653×10^{11} 和 1.834×10^{10} cfu·mL⁻¹。

关键词:葡萄球菌;金鱼;斑马鱼;致病性;LC50

中图分类号:S965

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)08-0069-02

随着水产养殖产量的提高,产生更高经济利益的同时也带来高密度效应,即产量越高病害发生几率也越大。鱼类病害的发生逐渐成为我国水产养殖业发展的主要制约因素,养殖品种的增加也使得当前水产养殖病原种类日益增加。细菌引起的鱼类疾病具有发病快、传播快,发病率和死亡率高等特点,在微生物引起的鱼类疾病中危害最大,因而一直受到国内外鱼病研究工作者的关注^[1]。近年来,关于细菌对鱼类影响的报告已有很多,但大多数是研究链球菌等其它细菌对鱼类的影响^[2-4],对葡萄球菌等革兰氏阳性球菌在鱼类病害中的研究相对较少。国内外关于葡萄球菌对哺乳动物及人类致病方面的研究较多^[5-7],但在水产动物病害方面研究很少。因此试验研究了分离自患病热带鱼的葡萄球菌对金鱼和斑马鱼的致病性,以期在水产动物疾病诊断与防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试鱼为斑马鱼和金鱼,购自太原市建南路花鸟鱼虫市场,斑马鱼平均体重 0.33 g,平均体长 0.32 cm。金鱼平均体重为 7.5 g,平均体长为 6.1 cm。

供试病原菌分离自患病热带观赏鱼血鹦鹉,

病原葡萄球菌为山西省生态畜牧与环境兽医重点实验室保存。

1.2 方法

1.2.1 菌悬液的制备 将过夜 LB 平板培养基培养的菌体刮下洗于灭菌离心管中,并用 0.85% 灭菌生理盐水,按 10 倍稀释于无菌离心管中。

1.2.2 试验设计 将试验用鱼暂养于充分曝气自来水中 7 d 以上,水温逐渐升至 24℃,以使其适应实验环境,并确认为健康个体。试验共设 6 个处理,即处理 1~处理 6,注射菌悬液浓度分别为 6×10^{11} 、 6×10^{10} 、 6×10^9 、 6×10^8 、 6×10^7 cfu·mL⁻¹;对照组注射无菌生理盐水,每组随机投放健康金鱼 10 条,斑马鱼 20 条,各设置一个平行组,各组每天换水约 1/2,不投喂饵料。分别对各试验组鱼进行腹腔注射菌悬液,每条斑马鱼注射量为 0.002 mL;每条金鱼注射量为 0.2 mL。

2 结果与分析

2.1 不同浓度葡萄球菌对斑马鱼的致病性

由表 1 可知,注射葡萄球菌悬液后,除处理 5 外,试验组斑马鱼出现不同程度死亡,对照组无死亡现象。其中处理 1 在注射 48 h 后,斑马鱼死亡率达 40%,注射 72 h 后,死亡率高达 60%。处理 2 和处理 3 部分斑马鱼于注射 48 h 后开始发病,并出现眼球浑浊,在水面翻转打转等症状。处理 4 部分斑马鱼于注射 96 h 后开始发病,但发病率较低,仅为 10%。斑马鱼半数致死浓度回归方程为: $y(\text{Probit}) = -1.9562 + 0.5962 \log(D)$,在环境水温 24℃条件下,葡萄球菌对斑马鱼 96 h 的半数致死浓度为 4.653×10^{11} cfu·mL⁻¹,换算为对每尾斑马鱼 96 h 半数致死菌量为 9.306×10^8 个

收稿日期:2014-04-24

基金项目:山西省高等学校大学生创新创业训练资助项目(2013083;2013081)

第一作者简介:葛丽婷(1992-),女,黑龙江省塔河县人,学士,从事水产动物健康养殖研究。E-mail: blackcarp@126.com。

通讯作者:赵恒寿(1955-),男,硕士,教授,博士生导师,从事动物保健与动物药品研究。

菌·尾⁻¹。

表1 不同浓度葡萄球菌对斑马鱼的致死率

Table 1 Mortality rate of *Brachydanio rerio* in different concentrations of *Staphylococcus* sp.

处理 Treatments	死亡率/% Mortality rate			
	24 h	48 h	72 h	96 h
1	20	40	60	60
2	0	10	20	20
3	0	0	10	10
4	0	0	0	10
5	0	0	0	0
CK	0	0	0	0

2.2 葡萄球菌对金鱼的致病性

由表2可知,对照组金鱼生活状态良好,无异常现象。当葡萄球菌液浓度达到 6×10^7 cfu·mL⁻¹(处理5)时,金鱼开始出现死亡。随着葡萄球菌浓度的增大,死亡率上升。当菌液浓度增大到 6×10^{10} cfu·mL⁻¹(处理2)时,72 h后金鱼的死亡率达到60%。金鱼半数致死量回归方程为 $y(\text{Probit}) = -0.51043 + 0.5369 \text{Log}(D)$,在环境水温为24℃条件下,葡萄球菌对金鱼96 h的半数致死浓度为 1.834×10^{10} cfu·mL⁻¹,即 3.668×10^9 个菌·尾⁻¹。

表2 鱼源葡萄球菌对金鱼的致死率

Table 2 Mortality rate of *Carassius auratus* in different concentrations of *Staphylococcus* sp.

处理 Treatments	死亡率/% Mortality rate			
	24 h	48 h	72 h	96 h
1	40	60	60	80
2	20	40	60	60
3	0	20	20	40
4	20	20	20	20
5	0	0	0	10
CK	0	0	0	0

3 结论与讨论

葡萄球菌是一种革兰氏阳性球菌,常见于人和动物的皮肤和粘膜,具有多种致病因子,其中一些致病菌和条件致病菌对人类和动物危害都比较大^[8],在水产动物上也有个别感染报道。周煜华

等从广西凭祥市浦寨边贸点入境的38批次的黄鳝中,检出2批次的致病性松鼠葡萄球菌,患病黄鳝鱼主要症状为头部肿、伤口化浓及肛门红肿等,解剖濒死或患病的黄鳝鱼,可见肝淤血、出血,肾出血,胆囊肿胀,心脏淤血、出血,肠充血,检查未见寄生虫^[9]。钱冬等从患肌肉白浊病的罗氏沼虾中分离得到木糖葡萄球菌^[10]。姜娜等从患病热带观赏鱼红龙体内分离到中间葡萄球菌^[11]。

试验结果表明,该葡萄球菌对金鱼和斑马鱼均具有致病性,但致病力不强,能够引起与原发病例类似的症状。当葡萄球菌浓度相同时,其对金鱼的致死率明显大于斑马鱼,且金鱼的每尾鱼死亡半数致死菌数大于斑马鱼,这可能是由于个体体重不同,加之种属差异所导致的。

参考文献:

- [1] 杨兴丽. 鱼类细菌性疾病的研究进展[J]. 河南水产, 2011(4):75-77.
- [2] 张新艳,樊海平,钟全福,等. 罗非鱼无乳链球菌的分离、鉴定及致病性研究[J]. 水产学报, 2008,32(5):773-780.
- [3] 卢迈新. 罗非鱼链球菌病研究进展[J]. 南方水产, 2010, 6(7):75-79.
- [4] 潘厚军,刘晓勇,常藕琴,等. 西伯利亚鲟停乳链球菌的分离、鉴定与致病性[J]. 中国水产科学, 2009,16(6):1-14.
- [5] Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, et al. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2010, 65(6):1145-1154.
- [6] Nienhoff U, Ladlec K, Chaberny I F, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs admitted to a small animal hospital[J]. Vet Microbiol, 2011, 150:191-197.
- [7] Cui S H, Li J Y, Hui C Q, et al. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from swine and workers in China[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2009, 64:680-683.
- [8] 李一经. 兽医微生物学[M]. 北京:高等教育出版社, 2011.
- [9] 周煜华. 黄鳝的松鼠葡萄球菌的分离与鉴定[J]. 广西畜牧兽医, 2000,16(1):15-17.
- [10] 钱冬,杨国梁,刘问,等. 罗氏沼虾肌肉白浊病原的初步研究[J]. 水生生物学报, 2002,26(5):477-482.
- [11] 姜娜,罗琳,李铁梁,等. 红龙鱼中间葡萄球菌病的诊治实例[J]. 科学养鱼, 2010(7):59.