

# 嗜水气单胞菌防控技术研究进展

周宇<sup>1</sup>, 周秋白<sup>2\*</sup>

(1. 广西水产研究所, 广西 南宁 530021; 2. 江西农业大学 动物科学技术学院, 江西 南昌 330045)

**摘要:** 嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*, Ah) 是我国流行最广泛的一种人、畜及水生动物共患的条件致病菌, 该菌对水产养殖动物的危害尤为严重, 能导致水产养殖动物细菌性败血症并引起大量死亡。本文总结了嗜水气单胞菌的毒力因子、防治方法的研究进展。其中包括毒力因子、抗生素、中草药、疫苗和益生菌防控等情况。

**关键词:** 嗜水气单胞菌; 毒力因子; 抗生素; 益生菌; 疫苗; 中草药

中图分类号: S943

文献标志码: A

文章编号: 2095-3704 (2012) 02-0126-09

## A Review of the Method in Prevent and Control the Harm of *Aeromonas hydrophila*

ZHOU Yu<sup>1</sup>, ZHOU Qiu-bai<sup>2\*</sup>

(1. Guanxi institute of fisheries, Nanning, 530021, China;

2. College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** *Aeromonas hydrophila*, Ah is the widely popular conditioned pathogen to people, livestock and aquatic animal. Especially it can result in bacterial septicemia and others serious damage and numerous deaths to aquatic animal. This paper summarizes the research progress of *Aeromonas* virulence factors, sensitivity to antibiotics, and prevention and control method with antibiotics, probiotics vaccine and Chinese herbal medicine.

**Key words:** *Aeromonas hydrophila*; virulence factor; probiotic; Antibiotics; probiotics; Vaccine; Chinese herbal medicine

嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*, Ah) 隶属气单胞菌科 (*Aeromonadaceae*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*)，该菌呈世界性分布，存在于水、土壤和水生动物体中。嗜水气单胞菌引起鱼类急性出血性败血症。这种疾病，也称爆发性流行病、出血病、出血性腹水病、腹水病等，能感染淡水主要养殖品种，如草鱼、鲢、鳙、鲤、鲫、鳊、青鱼、罗非鱼、鳊鲂、白鲫、黄尾鲮、鳊、金鱼、黄鳝等淡水养殖鱼类，还可以感染节肢类、贝类、两栖类、爬行类、鸟类、哺乳类及人类，是我国流行最广泛的一种人、畜及水生动物共患的条件致病菌，能导

致水产养殖动物细菌性败血症并引起大量死亡，也可以引起人的败血症、脑膜炎和肠炎腹泻等<sup>[1-15]</sup>。该菌为革兰阴性短杆菌，极端单鞭毛，无芽孢，无荚膜，散在排列，在0~41℃均能生长，生长的最适pH值范围为5.5~9.0。早在1891年就有因嗜水气单胞菌的感染引致蛙“红腿病”的报道，但由于该菌在自然界尤其是水中广泛分布，一般为正常共栖菌，因此长期以来对其致病性并未重视<sup>[1]</sup>。近年来在我国南方各省淡水养殖鱼类流行爆发性传染病，很多报道系为该菌所致败血症，嗜水气单胞菌是淡水养殖鱼类爆发性传染病的主要病原菌之一<sup>[3]</sup>。人类因

收稿日期: 2012-06-30

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2012BAD25B06, 2012BAD25B07)

作者简介: 周宇, 工程师, 主要从事健康养殖技术研究。\* 通信作者: 周秋白, 教授, 博士, E-mail: zhouqiubai@163.com

之而发生胃肠炎及伤口感染的病例也日渐增多<sup>[12]</sup>。嗜水气单胞菌在免疫力低下并患有基础疾病(肝炎、恶性肿瘤、有侵袭性手术伤)患者,易引起败血症、弥漫性血管内凝固症(disseminated intravascular coagulopathies, DIC)、休克导致死亡,还可引起败血症、脑膜炎、肺炎、腹膜炎、蜂窝组织炎及伤口感染等<sup>[13-15]</sup>。嗜水气单胞菌致病问题已跃然成为当代公共卫生瞩目的对象,为人们提出了人一畜一鱼共患病的研究新课题。

## 1 嗜水气单胞菌毒力因子

毒力因子既是引发动物疾病的重要因素,也往往是疫苗的主要组成成分,因此对病原体毒力相关因子的了解是研究嗜水气单胞菌的重要内容。大部分学者认可的嗜水气单胞菌毒力因子主要有:(1)外毒素(exotoxin),包括气溶素/溶血素(aerolysin/hemolysin, Aer/Hly)、溶血毒素(hemolytic toxin)和细胞毒性肠毒素(cytolytic enterotoxin)等;(2)胞外蛋白酶(extracellular protease),包括丝氨酸蛋白酶(serine protease, Ser)、磷脂酶(phospholipase)和核酶(nuclease)等;(3)结构蛋白,包括S层蛋白(S-layer protein)、菌毛(fimbriae)、外膜蛋白(outer membrane proteins, OMPs)和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)等;(4)信号相关蛋白,包括II型、III型分泌系统蛋白和孔蛋白等<sup>[16-19]</sup>。溶血素、气溶素具有溶血性、细胞毒性、肠毒性,被认为是嗜水气单胞菌的主要毒力因子;细胞毒性肠毒素可溶血、致腹泻;胞外蛋白酶能够直接引起宿主组织损伤,有利于细菌的入侵和营养供给;嗜水气单胞菌的粘附因子包括菌毛、S层蛋白、脂多糖(LPS)和外膜蛋白(OMP)影响细菌在机体内定植、增殖并产生毒性<sup>[20-24]</sup>。外毒素相关基因有气溶素(aerA),与溶血素(hlyA),外膜蛋白OMP相关的毒力蛋白有prim和ompA,信号相关基因簇有III型分泌系统和IV型分泌系统<sup>[25-28]</sup>。嗜水气单胞菌的毒力因子不仅多,而且复杂,它们对机体发挥毒性作用时也不是单个因子的作用,而是相互协同作用。水源嗜水气单胞菌感染过程可归纳如下:致病菌依靠菌毛或S层蛋白粘附宿主后,在部分OMP和孔蛋白作用下侵入宿主,依靠丝氨酸蛋白酶、LPS及其他胞外蛋白酶牢牢定植于宿主破坏的

皮肤、肠道或鳃上,定植成功后依靠II型和III型分泌系统相关蛋白不断合成和分泌外毒素(如气溶素/溶血素、细胞毒性肠毒素)以降低宿主的免疫反应,进一步增殖,利用群体感应、分泌系统和、或基因调节系统摄取鱼类等宿主养分、养料等,最终导致宿主溶血和出血,以至引起鱼类等宿主死亡<sup>[29]</sup>。

## 2 防治方法

### 2.1 抗生素防治

在过去的60年,对于细菌性水产疾病来说属于抗生素时代,抗生素是用来治疗细菌性传染病的首选药物,抗生素对病原菌具有显著的抑制或杀灭作用。一般根据其化学结构和作用特点可分为 $\beta$ -内酰胺类、大环内脂类、氨基糖苷类、四环素类、磺胺类、喹诺酮类等<sup>[30]</sup>。其中,部分由于其毒副作用被限制或禁止使用。

无论国外学者还是国内学者都研究证实喹诺酮类药物对嗜水气单胞菌具有较强的抑菌效果。国外学者以嗜水气单胞菌为供试菌株,进行体外抑菌试验,结果证实环丙沙星有较好的抑菌、杀菌作用<sup>[31-32]</sup>。杨雨辉等(2003)分别采用5种喹诺酮类药物和21种其他抗菌药物测定嗜水气单胞菌对其敏感性,结果均显示嗜水气单胞菌对喹诺酮类药物高度敏感,其中盐酸环丙沙星和乳酸环丙沙星的效果最佳<sup>[33]</sup>。童国忠等(2004)利用从患病甲鱼上分离的6株嗜水气单胞菌进行药物敏感试验,结果6株嗜水气单胞菌对氟哌酸、氧氟沙星、环丙沙星等抗菌药物100%敏感<sup>[34]</sup>。李圆圆等(2008)从患病西伯利亚鲟体内分离到一株强致病性的嗜水气单胞菌进行药物敏感性试验发现此菌株对左氧氟沙星高度敏感<sup>[35]</sup>。邹金虎等(2007)在试管内测定16种抗菌药物对从患病斑点叉尾鲷上分离的嗜水气单胞菌效果,结果烟酸诺氟沙星最好MBC为1.56~3.13  $\mu\text{g/mL}$ ;盐酸土霉素其次MBC为3.13~6.25  $\mu\text{g/mL}$ ;先锋霉素IV和诺氟沙星也有比较好的杀菌效果,MBC均为3.13~12.5  $\mu\text{g/mL}$ ,选择盐酸土霉素和烟酸诺氟沙星作为野外治疗用药物,在饵料中添加15.0 mg/kg的盐酸土霉素或者烟酸诺氟沙星,每天投喂1次,连续投喂5 d,有效率分别为46.86%~66.24%,对斑点叉尾鲷的细菌病有较好的治疗效果<sup>[36]</sup>。

国内学者认为某些氨基糖苷类药物对嗜水气

单胞菌具有较好的抑菌效果：杨其升（1995）介绍嗜水气单胞菌对庆大霉素、卡那霉素、链霉素等药物敏感<sup>[37]</sup>。储卫华（2000）从患细菌性败血症的异育银鲫中分离到病原菌嗜水气单胞菌为供试菌，对其进行药敏试验结果表明：嗜水气单胞菌对链霉素、庆大霉素、丁胺卡那霉素等药物敏感<sup>[38]</sup>。李焕荣（2001）采用纸片扩散法对5株嗜水气单胞菌进行药敏试验，结果对庆大霉素、卡那霉素、新霉素等10种药物全部敏感<sup>[39]</sup>。蔡丽娟等（2011）研究15株自甲鱼、草鱼、鲫鱼、石蛙、团头鲂和三角鲂分离的嗜水气单胞菌，对18种抗生素进行药敏试验，结果嗜水气单胞菌菌株对庆大霉素、丁胺卡那和头孢他啶敏感性很高，耐药率为0。氨基糖苷类药物中，链霉素耐药性最高，庆大霉素、丁胺卡那霉素和妥布霉素对嗜水气单胞菌均很敏感，因此除链霉素以外的氨基糖苷类抗生素对嗜水气单胞菌所引起的爆发性鱼病均有较好的疗效<sup>[40]</sup>。

嗜水气单胞菌对青霉素类药似有固有耐药性：陈怀青等（1991）分离嗜水气单胞菌即对青霉素、氨苄青霉素、羧苄青霉素、苯唑青霉素均不敏感，对新生霉素也不敏感；而对氯霉素、四环素、复方磺胺甲异恶唑极敏感，对妥布霉素、新霉素、丁胺卡那霉素、多粘菌素B、庆大霉素、洁霉素、麦迪霉素、先锋霉素、卡那霉素、链霉素、先锋霉素5号、痢特灵和红霉素敏感<sup>[41]</sup>；同样陈苏芳等（2012）分离嗜水气单胞菌对青霉素类、亚胺培南（泰能）耐药；对头孢类、大环内酯类、喹诺酮类、磺胺类敏感<sup>[13]</sup>。

国内外学者研究结果均表明嗜水气单胞菌对氯霉素的效果显著：印度与日本学者测定抗菌药物对55株嗜水气单胞菌的敏感性，结果证实氯霉素有较好的抑菌效果<sup>[32]</sup>。荷兰学者以从荷兰南部的鲷鱼和鳊鱼养殖场分离到79株气单胞菌为供试菌，对其进行药敏试验，结果显示79个菌株对氯霉素100%敏感<sup>[42]</sup>。但氯霉素存在严重的副作用，能引起人的再生障碍性贫血、粒状白细胞缺乏症等疾病，国际上相继禁止或严格限制使用氯霉素。作为氯霉素替代品使用的主要还是甲砒霉素。甲砒霉素血液系统毒性不及氯霉素，抑制红细胞、白细胞和血小板程度比氯霉素轻，但免疫抑制作用比氯霉素强，欧共体和美国均禁用于食品动物。

然而，近年来不同地区由于用药种类和方法不

同，产生了大量的耐药菌株，抗菌药物敏感性差异很大。田甜（2010）测定了不同来源地区的嗜水气单胞菌对喹诺酮类抗菌药物的疗效，使用左氧氟沙星，除江苏地区外，其他3个地区的44个菌株中绝大部分MIC在0.39~1.56  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内，只有个别菌株为3.13  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，表明左氧氟沙星对嗜水气单胞菌具有较好的抗菌效果。其后依次为新霉素、庆大霉素、氟哌酸、氟苯尼考、卡拉霉素、四环素、强力霉素、链霉素和新生霉素<sup>[8]</sup>。

童照威（2008）调查湖州市中心医院嗜水气单胞菌感染现状和耐药情况发现多重耐药菌株，建议怀疑多重耐药嗜水气单胞菌感染的人，可选择青霉素加酶抑制剂（阿莫西林/克拉维酸除外）、左氧氟沙星、头孢哌酮/舒巴坦、4代头孢菌素、多粘菌素E、阿米卡星以及碳青霉烯类抗生素等治疗<sup>[11]</sup>。

肖根辉等（2011）对中华鳖致病性嗜水气单胞菌研究结果：嗜水气单胞菌对头孢克肟、头孢孟多、氨曲南、卡那霉素、奈替米星、氯霉素、左氧氟沙星、强力霉素等药物高度敏感；通过9种抗菌药物对该菌的最低抑菌浓度（MIC）试验表明，该菌对其中5种头孢类药物、加替沙星和恶喹酸等药物表现高度敏感，对磷霉素和氟甲喹中度敏感，头孢类药物优于喹诺酮类药物，头孢唑肟钠抗菌效果最好，而对氨苄青霉素、大观霉素、阿米卡星、四环素、红霉素、阿奇霉素、克林霉素耐药<sup>[43]</sup>。蔡丽娟等（2011）研究表明嗜水气单胞菌对一代头孢的耐药率较高，但对二代尤其是三代头孢却比较敏感<sup>[40]</sup>。冷闯等（2012）对鳖源嗜水气单胞菌研究结果：体外药敏试验结果显示，3株菌对头孢曲松都高度敏感，对利福平、甲氧苄啶、氨苄青霉素都不敏感<sup>[44]</sup>。艾晓辉等（2011）采用体内药动学和体外药效学相结合的方法，研究了斑点叉尾鲷血清中强力霉素抗嗜水气单胞菌的活性。得出治疗斑点叉尾鲷细菌性败血症时的给药间隔可设置为24h。斑点叉尾鲷细菌性败血症时的最佳给药方案建议为：对出现临床病状的斑点叉尾鲷以41.42 mg/kg体重的剂量进行拌饲投喂进行治疗，1次/d。临床上预防斑点叉尾鲷细菌性败血症时以10.68 mg/kg体重的剂量进行拌饲投喂，1次/d，可取到较好的结果<sup>[45]</sup>。利用抗生素防治嗜水气单胞菌异常复杂，临床使用必须根据不同时间地点及用药历史等调整<sup>[46]</sup>。

## 2.2 中草药防治

中草药无抗药性,无残留,无环境污染,不会引发药源性疾病且抑菌杀菌效果明显,已越来越引起人们的关注。

单方使用:研究普遍表明单方使用五倍子、大黄能够有效抑杀细菌(程志斌等2002、高汉娇等1996、张海宾等2006、曹红峰等2007、李茜等2007、肖辉等2009、杨向江等1997、周飞等2008、喻运珍1999)<sup>[47-56]</sup>。也有研究结果表明:地榆(陈霞等2011)<sup>[53]</sup>、辣蓼和乌梅(高汉娇等1996、张海宾等2006、张文青等2012)<sup>[48-49,63]</sup>、诃子(喻运珍1995、曹红峰等2007、李春涛等2012)<sup>[50,56-57]</sup>、石榴皮、丁香、大蒜(曹红峰等2007)<sup>[50]</sup>、秦皮(李春涛等2012)<sup>[57]</sup>、冰片(罗新等2009)<sup>[58]</sup>、儿茶、威灵仙(张文青等2012)<sup>[63]</sup>具有很强的抑杀菌能力。

陈霞等(2011)测定了地榆等50种中草药对嗜水气单胞菌的抑制作用。结果表明地榆对嗜水气单胞菌的体外抑制效果最好, MIC为3.91 mg/mL, MBC为7.81 mg/mL;黄连等24种中草药有一定的抑菌和杀菌效果,巴戟天等25种中草药无抑菌作用<sup>[53]</sup>。周飞等(2008)对12种中药水提物对嗜水气单胞菌的抑菌效果由强到弱依次为:五倍子、大黄、黄芩、黄连、金银花、石榴皮、虎杖、杜仲、钩藤、板蓝根;最弱的为黄柏和穿心莲。中草药水提物对嗜水气单胞菌的抑菌效果以五倍子、大黄、黄芩、黄连、金银花为最佳<sup>[54]</sup>。高汉娇等(1996)测定了21种中草药对8株嗜水气单胞菌的体外抑菌作用,结果表明大黄、黄芩、五倍子、辣蓼和乌梅的抑菌作用最强<sup>[48]</sup>。杨向江等(1997)以从患白点病的稚鳖上分离的嗜水气单胞菌为供试菌株,研究了18种中草药对其抑菌、杀菌作用,实验证明:大黄、黄芩、五倍子、连翘这几种中草药对分离到的嗜水气单胞菌具有较强的抗菌能力<sup>[55]</sup>。喻运珍(1995)报道大黄、诃子和连翘3种中草药对从患病白鲍和病鳖上分离的SH-92-02和G950501这2株嗜水气单胞菌具有较好的抑制作用,且不易产生耐药性<sup>[56]</sup>。张海宾等(2006)结果显示:五倍子、黄连、大黄、乌梅对嗜水气单胞菌的抑菌作用最明显, MIC<50 μg/mL。在治疗由嗜水气单胞菌引起的鳖的白点病等时选用五倍子、黄连、黄芩等与其他中药组成复方剂取得了显著的防治效果<sup>[49]</sup>。曹红峰等(2007)测定101种中草药对嗜水气单胞菌ST-3-3的敏感性,结果表明:诃子、五倍子、丁香、大蒜等中草药对 ST-3

一3有强抑菌作用,五倍子、石榴皮等对嗜水气单胞菌的抑菌作用极强<sup>[50]</sup>。李春涛等(2012)测定了诃子等100种中草药对嗜水气单胞菌的抑制作用和抑菌效果,结果显示:大部分中草药对嗜水气单胞菌有抑制作用,诃子和秦皮的抑杀效果最好,其抑菌圈直径达20mm以上, MIC和MBC相同,都为3.91 mg/mL(诃子)和7.81 mg/mL(秦皮);艾叶、仙鹤草、香薷、金樱子、覆盆子、升麻、红藤、大黄、苦地丁、青蒿、紫花地丁、草叩和细辛13种中草药有中等强度的抑菌和杀菌效果;雷公藤等33种中草药抑菌作用弱<sup>[57]</sup>。罗新,张其中(2009)测定了42种中草药对嗜水气单胞菌的抑菌效果和测定了6种中草药在调节pH值至中性后对嗜水气单胞菌的MIC和MBC,结果表明:从抑菌圈的直径大小来看,冰片、五倍子、乌梅、石榴皮、诃子、黄连和艾叶7种中草药水提原始药液能够有效抑杀嗜水气单胞菌,其中以冰片的抑菌作用最强,五倍子、乌梅、石榴皮和诃子等4种中草药次之,黄连和艾叶2种中草药相对较弱。将原始药液pH值调节至中性后,只有五倍子、诃子和黄连表现出较好的抑菌作用,冰片、乌梅、石榴皮和艾叶等4种中草药的抑菌圈明显减小。五倍子、诃子和黄连3种中草药表现出较好的抑杀嗜水气单胞菌作用。五倍子的MIC和MBC都为7.8 mg/mL,诃子的MIC和MBC均为15.6 mg/mL,黄连的MIC和MBC均为62.5mg/mL;石榴皮和艾叶的MIC和MBC均为250 mg/mL;乌梅的MIC和MBC均为1000 mg/mL<sup>[58]</sup>。陈晓利(2010)研究结果,嗜水气单胞菌对五倍子、黄芪、连翘、杨树花、大黄较为敏感,其中五倍子的抑菌效果较显著。黄芪多糖和左旋咪唑能更好地增强嗜水气单胞菌和温和气单胞菌的免疫原性和免疫保护力<sup>[59]</sup>。

配伍使用:彭金菊等(2009)测定中药复方时嗜水气单胞菌的体外抑制效果。五倍子、诃子、夏枯草、花椒对嗜水气单胞菌有较强的抑菌活性(MIC≤6.25 mg/mL),选取7种主药与清热凉血、清热燥湿、清热解毒药分别组成复方,其中五倍子、诃子与其他多种中药组成的复方抗菌作用增强;而花椒、五味子、乌梅与其他药物组成复方后,均出现抗菌能力不变或降低的现象。表明诃子、五倍子等与清热燥湿药、清热凉血药、清热解毒药之间有协同作用,在实践中有较大的应用价值<sup>[60]</sup>。李忠琴等(2012)针对病鳗内脏中分离的致病性嗜水气单

胞菌,采用琼脂稀释法测定五倍子、石榴皮、大黄、虎杖、黄芩及黄连的抑抗菌效果;五倍子的抑菌作用最强,其次是大黄和石榴皮,而黄连的抑菌效果最差,五倍子>虎杖>大黄>石榴皮>黄芩=黄连,虎杖与黄芩配合使用出现负面效应<sup>[61]</sup>。张文青等(2012)研究了86种中草药对嗜水气单胞菌的效果。结果表明,五倍子、五味子、乌梅、儿茶、威灵仙等对嗜水气单胞菌抑制作用最强,最小抑菌浓度均为12.5 mg/mL,五倍子、五味子和乌梅对嗜水气单胞菌的杀菌效果最强,其最小杀菌浓度均为12.5 mg/mL,威灵仙等杀菌作用较强,其MBC均为25 mg/mL。而诃子肉等杀菌作用较弱,MBC均为50 mg/mL。综合MIC和MBC浓度,五倍子、五味子、乌梅、儿茶和威灵仙等作为防治嗜水气单胞菌病的首选抑菌药物单方;五倍子和五味子可作为防治嗜水气单胞菌病的首选杀菌药物单方。正交试验结果表明,儿茶、五倍子、五味子和乌梅4种药分别以4:2:4:1和1:2:2:4的比例配伍时对嗜水气单胞菌具有最佳抑菌和杀菌作用。儿茶、五倍子、五味子和乌梅的浓度分别为12.5、6.25、12.5、3.125 mg/mL混合起来组成的中药配伍对嗜水气单胞菌具有最强的抑菌作用<sup>[62]</sup>。苏振霞等(2011)试验结果表明,对嗜水气单胞菌五倍子、黄连、诃子、大黄的水提物的抑菌效果最好。五倍子作为主药,分别与诃子、黄连、大黄按一定比例组成的复方的MIC分别为3.9 mg/mL、7.8 mg/mL、15.6 mg/mL<sup>[63]</sup>,合理运用不同中药的联用配伍,不仅可提高单味中药的抗菌疗效,而且大大减少了单一中药在实际养殖生产中的给药浓度。

中药对嗜水气单胞菌的抑菌效果和杀菌效果,可能与各种药物中所含的活性成分如多糖类、黄酮类等能激活机体的溶菌酶活性和吞噬细胞的吞噬活性有关。五倍子含有鞣质成分,该成分对蛋白质有沉淀作用和收敛作用;同时五倍子具有强大广谱抗菌作用。诃子含有大量鞣质和多种酶,具收敛、止泻作用,对病原微生物具有抑制作用。在动物体内,药物有效成分被食用的程度、被吸收的程度以及作用的浓度都需要通过大量实验验证。中草药抑菌的具体作用机理还有待于进一步研究。在实际生产中,将具有抑菌作用的中草药组合成复方,适当利用不同中草药相互协同作用来防治嗜水气单胞菌引起的疾病,这样可以更好地发挥中草药的抑菌作用。

同时一些学者研究发现不同的中草药提取加工方法对病原菌的抑菌作用存在影响。肖辉等(2009)以嗜水气单胞菌作为供试菌株,采取不同提取方法进行中草药的体外抑菌试验,实验结果表明不同的提取方法对抑菌结果有影响,五倍子、大黄、诃子的醇提取抑菌效果强于水提取,而板蓝根、白头翁、黄芪的醇提取抑菌效果差于水提取物<sup>[52]</sup>。田甜(2010)推测不同的提取方法间存在差异可能是某些方法能够富集更多的有效成分,除去无效成分,从而提高了药物的疗效水平。刘宏伟等(2009)测定16株鳃鳃致病菌对3种加工处理方法的6种中草药的敏感性,结果表明:不同加工处理方法的抑菌效果存在差异,超微粉碎法抑菌效果最好,粗粉碎法次之,煎煮法效果最差<sup>[64]</sup>。因此在研究中草药抑菌效果的同时,也要研究中草药的加工工艺,以便提高中草药的利用效率,达到最好的抑杀菌效果。

### 2.3 疫苗的使用

水产养殖上使用的疫苗主要分为2类:一类是弱毒疫苗,另一类是死的或灭活的疫苗。弱毒疫苗含有减毒的活病原,能诱导特异性抗体,并与自然感染相似。灭活的疫苗是由死的病原或病原的一些成分如细菌脂多糖或灭活的毒素组成的,能刺激动物的免疫系统。而前者由于存在病原恢复毒力的风险而限制使用。我国目前使用最多的是灭活疫苗,在疫苗中使用的抗原主要是热灭活或福尔马林灭活的细菌<sup>[65]</sup>。陶家发等(2010)从患溃疡病的鳊鱼肾脏中分离得到嗜水气单胞菌GYK1,证明用0.30%甲醛(37℃,24h)可完全灭活菌液,制备的疫苗安全性良好,效力合格,并建立了鳊鱼致病性嗜水气单胞菌灭活疫苗原液的生产工艺<sup>[66]</sup>。李圆等(2007)用0.30%福尔马林灭活西伯利亚鲟嗜水气单胞菌株X1,将其制成灭活全菌苗,对西伯利亚鲟进行注射免疫。结果表明,在嗜水气单胞菌X1全菌苗中加入弗氏不完全佐剂(Freund's incomplected adjuvant, FIA)后,X1全菌苗对西伯利亚鲟的免疫保护率由50%提升到70%<sup>[67]</sup>。孟小亮等(2009)用嗜水气单胞菌分别制备了FAh、LPS和OMP3种疫苗,并且采用比较其免疫原性的方法证明了3种疫苗具有相同的免疫原性,并且测得细胞吞噬活性、细胞内杀菌活性、体液抗体水平均显著高于对照组<sup>[68]</sup>。尽管目前可应用嗜水气单胞菌疫苗预防鱼类发生该病,但因该菌血清型众多机体免疫应答水平较低等原因

而导致免疫保护效果差或不稳定。

20世纪90年代又出现了亚单位疫苗、DNA疫苗、合成肽疫苗等新型鱼用疫苗,孙建和等研制了嗜水气单胞菌亚单位疫苗,但是仅处于实验室阶段。DNA疫苗易于构建和大量生产,具有高效的免疫效果<sup>[69]</sup>,但是也有人认为鱼用DNA疫苗对环境会产生一定负面影响,而且操作费时费力,在实际生产中难以应用<sup>[70]</sup>。疫苗进入鱼体的机制和方式仍然有待进一步研究,如何改进接种方式也是新型鱼用疫苗推广应用的一道难题<sup>[71]</sup>。目前,鱼嗜水气单胞菌败血症灭活疫苗获得生产批准文号,这是国内第一个水产细菌性疫苗生产批文,也是继草鱼出血病活疫苗获得批文后第二个水产疫苗生产批文<sup>[72]</sup>。

#### 2.4 益生菌防控

随着耐药性问题的出现和环境的恶化使抗生素的使用受到越来越多的考验。与药物控制相比益生菌(probiotic)凭借其无毒高效的优点,通过改善养殖体系的水体环境,在宿主体内分泌营养物质和消化酶,提高宿主的抗病性,改善其免疫系统,降低疾病的发病率,进而提高水产养殖产量和经济效益,正受到国内外学者越来越多的关注<sup>[73~75]</sup>。目前,在水产病害控制上使用较多的益生菌为乳酸菌、芽孢杆菌、酵母菌和由光合细菌、乳酸菌等多种有益菌种组成的复合活性益生菌。

单晓枫等(2007)从养殖水体和水产动物胃肠道的细菌中筛选得到对嗜水气单胞菌有抑制作用的粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)<sup>[76]</sup>。蒋启欢等(2012)从养殖的银鲫(*Carassius auratus gibelio*)肠道中分离纯化得到60株具有不同特征的菌株,以嗜水气单胞菌为指示菌,点种法初筛得到12株菌株,再通过牛津杯实验筛选出4株对嗜水气单胞菌有明显抑制作用的益生菌疑似株。动物保护实验证明菌株YJ-9(确定为芽孢杆菌属(*Bacillus*))能有效增强银鲫对嗜水气单胞菌的免疫抵抗力,相对保护率达到80%,表明菌株YJ-9可以作为一个新的饲用微生态制剂候选菌种<sup>[77]</sup>。

曹海鹏、杨先乐(2009)从异育银鲫肠道中分离到一株具有噬菌特性的细菌BDF-H16,通过对其噬菌斑和细菌形态观察、寄生性以及噬菌范围的研究,证实菌株BDF-H16为噬菌蛭弧菌;并进一步研究了噬菌蛭弧菌BDF-H16在不同条件(pH、温度、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>)下对嗜水气单胞菌的裂解活性,表明

噬菌蛭弧菌BDF-16在28℃和pH7.0~7.5条件下对嗜水气单胞菌具有良好的裂解效果<sup>[78]</sup>。但是针对宿主体内微生物之间的相互作用即益生菌的免疫和定植的机理等问题,尚处在初级探索阶段。

嗜水气单胞菌的致病过程一般可以分为粘附、入侵、定植、增殖和分泌毒素或摄取宿主养分、养料等过程。每一过程中不同的毒力因子通过对自身毒力基因的调节来适应其功能要求。Chu等(2009)研究发现,鳃和破坏的皮肤很可能是该病原菌进入宿主的主要途径<sup>[79]</sup>。

### 3 结语

嗜水气单胞菌是一种条件致病菌,其危害性也随环境恶化而加剧,就动物养殖生产而言首先是要实行生态健康养殖。因地制宜应用健康养殖模式,合理放养和品种搭配,提高机体的抗病力,防止养殖种内、种间恶性竞争和机体损伤;保证饲料营养和安全,规范养殖水体日常管理,切断传播途径,改善养殖的水体环境不失为重要的防治措施;其次,加强疫苗的研制,提高动物免疫能力;最后才是药物防治。加强消毒剂的合理使用研究,有效使用消毒剂,同时进一步研究提高中草药的作用,合理使用中草药,应重视药敏检查,合理选用抗生素,减少抗生素的使用。

#### 参考文献:

- [1] 陆承平. 致病性嗜水气单胞菌及其所致鱼病综述[J]. 水产学报, 1992, 16(3): 281-288.
- [2] 李爱华. 我国鱼类病原菌耐药性、耐药质粒及几种药物抗菌作用的研究[D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 1998.
- [3] 沈锦玉, 陈月英. 浙江养殖鱼类暴发性流行病病原的研究: I. 嗜水气单胞菌(*Aeromonas (Aeromonas hydrophila)*)的分离、致病性及生理生化特性[J]. 科技通报, 1993, 9(6): 397-401.
- [4] 王增福, 谢红梅, 张静. 水产动物嗜水气单胞菌病研究进展[J]. 水利渔业, 2002, 22(2): 18-19.
- [5] 邹金虎, 汪成竹, 陈昌福. 防治斑点叉尾鲴细菌病的药物筛选及野外治疗效果[J]. 水利渔业, 2007, 39(3): 35-38.
- [6] 田甜. 鱼源嗜水气单胞菌的分离鉴定和耐药性研究[D].

- 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [7] 于学辉, 王远微, 汤承等. 嗜水气单胞菌的研究进展[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2007, 33(3): 507-514.
- [8] 沈锦玉. 嗜水气单胞菌的研究进展[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2008, 27(1): 78-86
- [9] Vivas J, Carracedo B, Riano J, et al. Behavior of an *Aeromonas hydrophila* aroA live vaccine in water microcosms[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(5): 2702-2708.
- [10] 杨成亮, 董济海, 杨广智. 浙江省淡水养殖鱼类暴发性鱼病的流行病学调查[J]. 淡水渔业, 1991, (6):3-5.
- [11] 张晓君, 陈翠珍, 房海草鱼肠炎嗜水气单胞菌分离株的主要特性及系统发育学分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(4): 334-337.
- [12] 童照威, 张龙琪, 王伟洪, 等. 嗜水气单胞菌感染现状及耐药分析[J]. 中国微生态学杂志, 2008, 20(1): 75-76.
- [13] 陈苏芳, 王凤平, 赵静. 嗜水气单胞菌内源性感染菌株的分离与药敏分析[J]. 抗感染药学, 2012, 9(2): 137-139.
- [14] 游忠岚, 陈嵩, 王字明. 慢性重型肝炎并发嗜水气单胞菌败血症1例[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(3): 206.
- [15] 朱红, 牛红喜, 伺春涂. 嗜水气单胞菌性面部蜂窝织炎死亡1例[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2006, 2(8): 703-704.
- [16] CHOPRA A K, HOUSTON C W, PETERSON J W, et al. Cloning, expression, and sequence analysis of a cytolytic enterotoxin gene from *Aeromonas hydrophila*[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1993, 39(5):513-523.
- [17] 朱大玲, 李爱华, 钱冬, 等. 嗜水气单胞菌毒力基因的研究进展[J]. 水生生物学报, 2004, 28(1):80-84 .
- [18] 邱军强, 杨先乐, 程训佳. 嗜水气单胞菌毒力因子特性及作用机理研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2009, 4(8) :616-619
- [19] 陈怀春, 陆承平, 袁世山, 等. 嗜水气单胞菌H EC 毒素基因的克隆及酶谱分析[J]. 中国兽医学报, 1997, 17(4) : 339- 343.
- [20] 朱大玲, 李爱华, 汪建国, 等. 嗜水气单胞菌毒力与毒力基因分布的相关性[J]. 中山大学学报, 2006, 45(1) : 82- 85.
- [21] 蒋启欢, 叶应旺, 胡王, 等. 嗜水气单胞菌毒力因子及病害控制技术研究进展[J], 现代农业科技2012 ,(6) : 324-237.
- [22] 许冬青, 陆承平, 陈怀青. 嗜水气单胞菌S蛋白的生化特性[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(4):69-72.
- [23] 储卫华, 陆承平. 嗜水气单胞菌胞外蛋白酶对鲫鱼的致病性[J]. 南京农业大学学报, 2000,(2):80-84 .
- [24] 李焕荣, 陈怀青, 陆承平. 嗜水气单胞菌胞外蛋白酶ECPase54的纯化及特性分析[J]. 南京农业大学学报, 1996, 19(3): 88-94 .
- [25] 付乔芳, 邱军强, 胡鲲等. 嗜水气单胞菌国内分离株的毒力因子分布与致病性相关性分析[J]. 生物学杂志, 2011, 28(6):53-57 .
- [26] 中国科学技术协会. 水产学科发展报告[M]. 中国科学技术出版社, 北京, 2012, 75.
- [27] 田甜, 胡火庚, 陈昌福. 团头鲂细菌性败血症病原菌分离鉴定及致病力研究[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(3) : 341-345.
- [28] 庄培德. 嗜水气单胞菌主要粘附素基因克隆表达及其产物特性分析[D]. 福建农林大学, 2007 .
- [29] 邱军强, 杨先乐, 程训佳. 嗜水气单胞菌毒力因子特性及作用机理研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2009, 4(8):616-619.
- [30] 杨先乐. 新编渔药手册[M]. 北京: 中国农业出版社. 2005, 215.
- [31] Chang B J, Bolton S M. Plasmids and resistance to antimicrobial agents in *Aeromonas sobria* and *Aeromonas hydrophila* clinical isolates[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1987, 31:1281-1282.
- [32] Mohamed Hatha A A, Vivekanandhan G, Julie Joice, et al. Antibiotic resistance Pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. *International Journal of Food Microbiology*. 2005, 98: 131-134.
- [33] 杨雨辉, 佟恒敏, 卢彤颜, 等. 几种氟喹诺酮类药物对嗜水气单胞菌体外药效学研究[J]. 东北农业大学学报. 2003, 34(4):368-371.
- [34] 童国忠, 石亚素, 斯国静. 甲鱼嗜水气单胞菌分离鉴定与药敏试验[J]. 浙江预防医学. 2004, 16(8):80-81.
- [35] 李圆圆, 曹海鹏, 何珊, 等. 鱼源致病性嗜水气单胞菌X1的分离鉴定与药敏特性研究. *微生物学通报*. 2008, 35(8):1186-1191.
- [36] 邹金虎, 汪成竹, 陈昌福. 防治斑点叉尾鲷细菌病的药物筛选及野外治疗效果[J]. 水利渔业, 2007, 27(4):88-90.
- [37] 杨其升. 动物微生物学[M]. 长春: 吉林科学技术出版社.

- 1995, 677-684.
- [38] 储卫华. 异育银鲫细菌性败血症病原及防治研究. 水利渔业. 2000, 20(1): 40.
- [39] 李焕荣, 田丽英, 崔德凤, 等. 致病性嗜水气单胞菌对31种抗菌药物的敏感试验[J]. 北京农学院学报. 2001, 16(3): 34-37.
- [40] 蔡丽娟, 许宝青, 林启存. 水产致病性嗜水气单胞菌耐药性比较与分析[J]. 水产科学, 2011, 30(1): 42-45.
- [41] 陈怀青, 陆承平. 嗜水气单胞菌: 黄鳊出血性败血症的病原[J]. 中国人兽共患病杂志, 1991, 7(4): 21-23.
- [42] Penders J, Stobberingh E E. Antibiotic resistance of motile aeromonads in indoor eel farms in the southern Part of The Netherlands[J]. International Journal of Antimicrobial Agents. 2008, 31: 261-265.
- [43] 肖根辉, 王萍, 刘明超, 等. 中华鳖致病性嗜水气单胞菌分离鉴定与药敏试验[J]. 经济动物学报, 2011, 15(1): 56-60.
- [44] 冷闯, 邓舜洲, 张文波, 等. 中华鳖致病性嗜水气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 动物医学进展, 2012, 33(2): 124-129.
- [45] 艾晓辉, 丁运敏, 汪开毓, 等. 在斑点叉尾鲴血清中强力霉素对嗜水气单胞菌药动. 药效模型研究[J]. 水生生物学报, 2011, 35(6): 894-901.
- [46] 陈昌福, 王敏. 嗜水气单胞菌对各类抗生素的敏感性测定[J]. 淡水渔业, 1996, 26(6): 3-6.
- [47] 程志斌, 葛长荣, 韩剑众. 中草药有效成分对动物免疫功能的影响及其应用. 动物科学与动物医学, 2002, 19(1): 1-3
- [48] 高汉娇, 林永泰, 陈昌福, 等. 21种中草药对嗜水气单胞菌的试管内抑菌作用. 水利渔业, 1996, (4): 16-17.
- [49] 张海宾, 杨桂芳. 12种中草药对嗜水气单胞菌杀伤能力的研究[J]. 水产科学, 2006, 25(1): 16-18.
- [50] 曹红峰, 宋靖芳, 李国庆, 等. 中草药对嗜水气单胞菌ST-3-3抑菌作用的研究[J]. 中医药导报, 2007, 13(5): 86-88.
- [51] 李茜, 张懿瑾, 华汝泉, 等. 23种中草药及复方对鲫肠道3种细菌的体外抑菌试验[J]. 淡水渔业, 2007, 37(4): 7-11.
- [52] 肖辉, 苏振霞, 单娟娟, 等. 16种中草药提取物对嗜水气单胞菌的体外抑菌实验[J]. 水生态学杂志, 2009, 3(2): 53-56.
- [53] 陈霞, 张其中, 李春涛. 50种中草药体外抑杀嗜水气单胞菌的药效研究[J]. 中国预防兽医学报, 2011, 33(11): 862-866.
- [54] 周飞, 刘娟, 黎德兵. 黄鳊嗜水气单胞菌的分离鉴定及中药体外抑菌效果研究[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(2): 135-137.
- [55] 杨向江. 中草药对嗜水气单胞菌的抗菌作用[J]. 内陆水产, 1997(9): 9-10.
- [56] 喻运珍, 艾桃山, 张萍香, 等. 嗜水气单胞菌对4种中草药和4种抗生素耐药性的比较研究[J]. 内陆水产, 1995, (5): 5-6.
- [57] 李春涛, 陈霞, 张其中, 等. 100种中草药体外抑杀嗜水气单胞菌的药效研究[J]. 淡水渔业, 2012, 42(2): 27-34.
- [58] 罗新, 张其中. 42种中草药对嗜水气单胞菌的体外抑菌试验[J]. 淡水渔业, 2011, 41(3): 58-62.
- [59] 陈晓利. 黄鳊嗜水气单胞菌病和温和气单胞菌病防治研究[D]. 重庆: 西南农业大学, 2010
- [60] 彭金菊, 马驿, 梁淑莹, 等. 抗菌中药及复方对嗜水气单胞菌的体外抑制效果[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(28): 13623-13625.
- [61] 李忠琴, 关瑞章, 汪黎虹, 等. 六种中药及其复方对鳊鲷致病性气单胞菌的体外抑制作用[J]. 水生生物学报, 2012, 36(1): 85-92.
- [62] 张文青, 龚一富, 金思, 等. 中草药及其配伍对嗜水气单胞菌的抑菌作用[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(1): 115-121.
- [63] 苏振霞, 肖辉, 陈列欢, 等. 中药单味药及复方对嗜水气单胞菌的体外抑菌作用[J]. 中国兽医杂志, 2011, 47(11): 52-54.
- [64] 刘宏伟, 关瑞章, 黄文树. 不同加工处理中草药对鳊鲷主要致病菌抑制作用的比较. 集美大学学报, 2009, 14(3): 229-233.
- [65] 沈锦玉. 嗜水气单胞菌的研究进展[J]. 浙江海洋学院学报(自然版), 2008, 27(1): 78-86.
- [66] 陶家发, 赖迎迢, 任燕, 等. 鳊鲷致病性嗜水气单胞菌灭活疫苗原液生产工艺的建立[J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 11(23): 1222-1225.
- [67] 李圆圆, 曹海鹏, 邓璐, 等. 西伯利亚鲟源嗜水气单胞菌致病菌的分离及其全菌苗的免疫效果[J]. 动物学杂志, 2008, 43(6): 1-9.
- [68] 孟小亮, 陈昌福, 吴志新, 等. 嗜水气单胞菌3种疫苗对斑点叉尾鲴免疫原性比较研究[J]. 淡水渔业, 2009, 39(4): 49-53.

(下接第141页)



