

牛蛙爱德华氏菌病病原菌的 鉴定和致病因素的研究

肖克宇 黄志坚 金燮理 舒新华 陈可毅 江为民

(湖南农业大学水产系,长沙 410128)

摘 要 从患爱德华氏菌病的牛蛙肌肉、肝、肾、血液和腹水中分离到 8 株细菌,根据其形态和生理生化特性鉴定为野生型迟钝爱德华氏菌。人工感染实验均为该病的病原菌,毒素检测试验表明,致病因素主要是内毒素而不是外毒素。分离菌株的主要特性为杆状、革兰氏阴性、周生鞭毛、兼性厌氧。接触酶、甲基红试验和硝酸盐还原均为阳性。在三糖铁琼脂上产 H_2S 。氧化酶、丙二酸盐利用、V.P 试验、明胶液化、尿素酶。苯丙氨酸脱氨酶为阴性。分解葡萄糖、甘露糖、麦芽糖,产酸产气,不利用甘露醇、蔗糖和阿拉伯糖。

关键词 牛蛙,爱德华氏菌病,迟钝爱德华氏菌,致病性,生物学特性

牛蛙在人工养殖过程中,细菌性疾病对其危害最为严重,国内已先后报道了由嗜水气单胞菌引起的红腿病[严爱莲等 1989]、腹水病[贺路等 1995]以及脑膜炎脓毒性黄杆菌引起的疾病[陈耀明 1994]。近几年内,湖南省一些牛蛙养殖场流行一种新的传染病,患病蛙大量死亡,造成了较大的经济损失。1993 年 9 月~1994 年 1 月,长沙市郊区某牛蛙养殖场流行该病,病蛙主要表现为腹部膨胀,皮肤充血或点状出血,肝、肾肿大、充血或出血、坏死。我们对其进行了较系统的研究,确诊为爱德华氏菌病。本文主要报道该病原菌的分离、致病力和生物学特性等结果。

1 材料和方法

1.1 病原菌检定

1.1.1 病原菌分离

先后 2 次从病蛙场各取病蛙 5 只,以无菌法从肝、肾、心血、腹水和红皮下肌肉取材,在营养琼脂平板上划线接种,于 $28^{\circ}C$ 恒温箱中培养 36 小时,选取单个菌落进行纯化,用于鉴定和人工感染等试验。

1.1.2 病原菌鉴定

按中国科学院微生物研究所细菌分类组[1978]、林万明[1985 年中译本]和韩文瑜等[1992]所述方法进行,根据伯杰氏细菌鉴定手册第九版的分类方法鉴定到种和型。

1.1.3 致病力检测

试验牛蛙来源于湖南农业大学实验农场牛蛙养殖专业户,部分购于市场。供试蛙在水族

箱中饲养 2 天无异常后分组进行感染试验,试验期间水温控制在要求范围之内。将分离菌接种于营养琼脂培养基,28℃培养 18 小时后用无菌生理盐水配制成各感染组所需菌悬液,并测定其浓度,按下述方法作感染试验。

注射感染:将一定浓度的菌液经腹腔注射、皮下注射和肌肉注射途径分别接种试验牛蛙,并按 Reed Muench 法计算皮下注射和肌肉注射的半致死量。

浸浴感染:将供试牛蛙用两种方式浸浴。一种是在牛蛙后肢皮肤上人为创伤后放入菌液浸浴;另一种是将未损伤皮肤的牛蛙作同样浸浴。浸浴的菌液浓度均为 1×10^8 个/mL,浸浴时间为 24h,然后移入清水中饲养。

口服感染:采用两种方式进行。一种是将膨化饵料浸沾菌液后人工喂入口腔;另一种是用接磨口针头的注射器将菌液注入口腔。

病原菌回收与重复感染:将注射感染致死牛蛙重新分离病原菌,再将其接种健康牛蛙,以证实病原性。

1.2 致病因素检测

1.2.1 实验感染病蛙血清中内毒素检测

从人工感染后有典型症状的濒危蛙心脏采血分离血清,然后将血清经酸化法预处理[韩文瑜 1992]后,测定内毒素,鲎试剂和标准内毒素由湛江中美生物有限公司出品,鲎试剂的灵敏度为 0.25EU/ml。测定是采用单次试验管在 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴中进行。

1.2.2 菌体破碎物的致病性检测

按孙其焕等[1991]方法进行。将供试分离菌在普通营养琼脂平板上培养 24h,用无菌生理盐水洗下,制成浓菌液,加入经清洗后干热灭菌的铝钮土(A103),在研钵中用力研磨 35min 离心处理两次(每次 15min,转速为 3 500 r/min),取其上清液皮下注射健康牛蛙(体重 30 ~ 50g,每只 0.5mL),放入水族箱中饲养观察,水温 24 ~ 26℃。

1.2.3 病原菌产外毒素的检测

将 EC935 菌株接种在普通肉汤中培养 24h,用细菌滤器除去菌体,取滤液作无菌检验,并将其皮下注射健康牛蛙(体重 30 ~ 50g),每只 0.2 ~ 1mL,接种蛙饲养于 24 ~ 26℃水族箱中,及时观察和记录发病和死亡情况。

2 结果

2.1 病原菌检定

2.1.1 病原菌分离

用 10 只病蛙的肝、腹水、心血、肌肉和肾等组织接种的平板上均长有较多细菌,其菌落形态特征基本一致,纯化后从中选取 8 株细菌用于鉴定和致病力测定等试验。

2.1.2 病原菌鉴定

从长沙市郊区病牛蛙分离到的 8 株细菌和自人工感染致死蛙回收的菌株,其形态和生理生化特性完全一致,均为革兰氏阴性、有周鞭毛的杆菌,菌体大小为 $(0.5 \sim 1) \mu\text{m} \times (1 \sim 2) \mu\text{m}$,无荚膜和芽胞。在普通营养琼脂平板上 28℃恒温培养 24h,形成圆形、凸起、边缘整齐、灰白色、湿润、表面光滑、半透明的菌落,菌落大小为 $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$ 。所有菌株都是兼性厌氧菌,生长

pH 范围为 5.5~9.0, 在 4~10℃ 能生长, 最适生长温度为 25~32℃, 42℃ 不生长, 在无 NaCl 和 0.5% NaCl 的胨水中生长良好, NaCl 含量达 5% 以上时就不能生长, 在三糖铁培养基上生长, 产生 H₂S, 能在麦康克琼脂和 S.S 琼脂上生长。接触酶、硝酸盐还原、M.R 试验为阳性。氧化酶、苯丙氨酸脱氨酶、尿酶、脂酶、石蕊牛奶、V.P 试验均为阴性。不分解尿素和淀粉, 不液化明胶, 不能利用酒石酸盐和丙二酸盐。分解葡萄糖、果糖、半乳糖、甘露糖、麦芽糖, 产酸产气, 对多数糖类不利用, 符合野生型迟钝爱德华氏菌的性状。

2.1.3 致病力检测

用 8 株分离菌经腹腔注射感染, 均能使健康牛蛙发病并全部死亡(表 1)。用 EC935 菌株再经肌肉注射、皮下注射、口服和浸浴途径感染的牛蛙也都不同程度地发病和死亡, 见表 2~5, 测得肌肉注射和皮下注射的 LD₅₀ 分别为 1.6 × 10⁵ 和 2 × 10⁵。从各种感染途径致死蛙的体内均再分离到原接种菌。将 EC947 菌株致死蛙体内分离到的 EC947 菌再经肌肉注射和皮下注射作重复感染试验, 试验蛙的死亡率达 100%, 具有爱德华氏菌病的典型症状(表 6)。

表 1 分离菌腹腔注射感染试验

Table 1 Experiments of infection with isolated strains by intraperitoneal injection

| 菌株 | 菌液浓度 | 剂量 (mL) | 蛙体重 (g) | 水温 (℃) | 病蛙经过天数、死亡数及病症表现 | | | | | | | 死亡数 试验数 | 死亡率 (%) |
|-------|------|------------|------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---|---|-----|------------|------------|
| | | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| EC931 | MCF3 | 0.4 | 40~60 | 24~26 | 1 ^{##} | 2 ⁺⁺ | 1 ^{##} | 1 ⁺⁺ | 0 | 0 | 0 | 5/5 | 100 |
| EC932 | MCF3 | 0.4 | 40~60 | 24~26 | 2 ⁺⁺ | 1 ⁺⁺ | 1 ⁺⁺ | 0 | 0 | 0 | 4/4 | 100 | |
| EC933 | MCF3 | 0.4 | 40~60 | 24~26 | 1 ⁺⁺ | 3 ^{##} | 1 ⁺⁺ | 0 | 0 | 0 | 5/5 | 100 | |
| EC934 | MCF3 | 0.4 | 40~60 | 24~26 | 1 ^{##} | 1 ⁺⁺ | 1 ⁺⁺ | 1 ⁺⁺ | 0 | 0 | 4/4 | 100 | |
| EC935 | MCF3 | 0.4 | 40~60 | 24~26 | 2 ^{##} | 1 ⁺⁺ | 1 ^{##} | 0 | 0 | 0 | 4/4 | 100 | |
| EC946 | MCF3 | 0.4 | 40~60 | 24~26 | 2 ^{##} | 1 ⁺⁺ | 1 ^{##} | 1 ⁺⁺ | 0 | 0 | 5/5 | 100 | |
| EC947 | MCF3 | 0.4 | 40~60 | 24~26 | 2 ^{##} | 1 ^{##} | 1 ⁺⁺ | 1 ⁺ | 0 | 0 | 5/5 | 100 | |
| EC948 | MCF3 | 0.4 | 40~60 | 24~26 | 2 ^{##} | 1 ⁺⁺ | 1 ⁺⁺ | 0 | 0 | 0 | 4/4 | 100 | |
| 对照 | 生理盐水 | 0.4 | 40~60 | 24~26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/5 | | |

注: 栏目下阿拉伯数字代表当天的死亡蛙数。“#”: 蛙腹部严重腹胀, 口腔内有粘液, 腹部、腿部充血或出血, 肝肿大, 出血或有坏死灶, 肾充血、出血, 胃肠充血或出血, 有粘液; “##”: 腹部腹胀, 体表或肢部有轻度发红, 肝、肾肿大充血或出血, 胃肠有粘液充血或出血; “++”: 腹部腹胀, 肝、肾、胃和肠轻度充血或出血; “+”: 腹部轻度腹胀, 胃肠内有粘液

表 2 EC935 菌株肌肉注射感染试验

Table 2 The experiment of infection by intramuscular injection with the strain EC935

| 菌株 | 菌液浓度 (个/mL) | 剂量 (mL) | 蛙体重 (g) | 水温 (℃) | 病蛙经过天数、死亡数及病症表现 | | | | | | | 死亡数 试验数 | 死亡率 (%) |
|-------|---------------------|------------|------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---|------------|------------|
| | | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| | 2 × 10 ⁹ | 0.2 | 20~40 | 22~24 | 0 | 1 ^{##} | 2 ⁺⁺ | 2 ⁺⁺ | 0 | 0 | 0 | 5/5 | 100 |
| | 1 × 10 ⁹ | 0.2 | 20~40 | 22~24 | 0 | 0 | 1 ^{##} | 2 ⁺⁺ | 1 ⁺⁺ | 1 ^{##} | 0 | 5/5 | 100 |
| | 5 × 10 ⁸ | 0.2 | 20~40 | 22~24 | 0 | 0 | 2 [#] | 1 [#] | 2 ⁺⁺ | 0 | 0 | 5/5 | 100 |
| EC935 | 5 × 10 ⁷ | 0.2 | 20~40 | 22~24 | 0 | 0 | 1 ^{##} | 1 ⁺⁺ | 2 ^{##} | 1 ⁺ | 0 | 5/5 | 100 |
| | 5 × 10 ⁶ | 0.2 | 20~40 | 22~24 | 0 | 1 ⁺ | 0 | 1 ⁺⁺ | 1 ^{##} | 0 | 0 | 3/5 | 80 |
| | 5 × 10 ⁵ | 0.2 | 20~40 | 22~24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 ⁺⁺ | 1 ⁺ | 0 | 2/5 | 40 |
| 对照 | 生理盐水 | 0.5 | 20~40 | 22~24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/5 | 0 |

实验感染病蛙血清中内毒素检测: 4 只病蛙中有 2 只的血清为阳性, 而另 2 只为阴性。

菌体破碎物的致病性检测: 用 EC935 菌株破碎物注射 5 只健康牛蛙, 55 小时内全部死亡,

症状表现和活菌感染的基本相同。

病菌产外毒素的检测:用液体培养物的除菌滤液注射的5只试验蛙,经14天观察,未发生死亡。

表3 EC935菌株皮下注射感染试验

Table 3 The experiment of infection by subcutaneous injection with the strain EC935

| 菌株 | 菌液浓度 (个/mL) | 剂量 (mL) | 蛙体重 (g) | 水温 (°C) | 病蛙经过天数、死亡数及病症表现 | | | | | | | 死亡数 试验数 | 死亡率 (%) |
|-------|-----------------|------------|------------|------------|-----------------|---|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|------------|------------|
| | | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| EC935 | 1×10^9 | 0.3 | 40~55 | 22~25 | 0 | 0 | 1 ^{III} | 2 [*] | 2 ^{III} | 0 | 0 | 5/5 | 100 |
| | 5×10^8 | 0.3 | 40~55 | 22~25 | 0 | 0 | 2 [*] | 1 ^{III} | 1 ^{III} | 1 [*] | 0 | 5/5 | 100 |
| | 5×10^7 | 0.3 | 40~55 | 22~25 | 0 | 0 | 0 | 1 ⁺ | 1 [*] | 2 ^{III} | 0 | 4/5 | 80 |
| | 5×10^6 | 0.3 | 40~55 | 22~25 | 0 | 0 | 0 | 1 [*] | 0 | 1 [*] | 1 ⁺ | 3/5 | 60 |
| | 5×10^5 | 0.3 | 40~55 | 22~25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 ⁺ | 1 ⁺ | 0 | 2/5 | 40 |
| 对照 | 生理盐水 | 0.5 | 40~55 | 22~25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/5 | 0 |

表4 EC935菌株口服感染试验

Table 4 The experiment of infection by feeding with the strain EC935

| 口服方法 | 感染菌液 (个/只) | 蛙体重 (g) | 水温 (°C) | 病蛙经过天数、死亡数及病症表现 | | | | | | | 死亡数 试验数 | 死亡率 (%) |
|------------|-------------------|------------|------------|-----------------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---|------------|------------|
| | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| 菌液 入口腔 | 1.5×10^9 | 40~55 | 18~22 | 0 | 0 | 0 | 1 ^{III} | 0 | 2 ^{III} | 0 | 3/5 | 60 |
| | 3.0×10^8 | 40~55 | 18~22 | 0 | 0 | 0 | 2 [*] | 1 ^{III} | 1 ⁺ | 0 | 4/5 | 80 |
| 喂入 浸菌饵料 | 1.5×10^9 | 40~55 | 18~22 | 0 | 0 | 1 ⁺ | 2 ^{III} | 1 [*] | 0 | 0 | 4/5 | 80 |
| | 3.0×10^9 | 40~55 | 18~22 | 0 | 1 ⁺ | 1 ^{III} | 0 | 2 [*] | 1 ^{III} | 0 | 5/5 | 100 |
| 对照 | 生理盐水 | 40~55 | 18~22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/5 | 0 |

表5 EC935菌株浸泡感染试验

Table 5 The experiment of infection by the strain EC935

| 分组 | 菌液浓度 (个/mL) | 蛙体重 (g) | 水温 (°C) | 病蛙经过天数、死亡数及病症表现 | | | | | | | 死亡数 试验数 | 死亡率 (%) |
|-------|-----------------|------------|------------|-----------------|---|------------------|----------------|----------------|------------------|----------------|------------|------------|
| | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| 创伤皮肤 | 1×10^8 | 15~20 | 18~22 | 0 | 0 | 1 ^{III} | 1 ⁺ | 1 [*] | 2 ^{III} | 0 | 5/5 | 100 |
| | 1×10^9 | 40~55 | 18~22 | 0 | 0 | 0 | 2 [*] | 1 [*] | 1 [*] | 0 | 5/5 | 100 |
| 未创伤皮肤 | 1×10^8 | 15~20 | 18~22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 [*] | 1 [*] | 1 ⁺ | 4/5 | 80 |
| | 1×10^9 | 40~55 | 18~22 | 0 | 0 | 0 | 1 ⁺ | 1 [*] | 2 ^{III} | 0 | 4/5 | 80 |
| 对照 | 0 | 15~55 | 18~22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/8 | 0 |

表6 EC9471菌株重复感染试验

Table 6 The experiment of re-infection with the strain EC9471

| 感染途径 | 菌液浓度 | 剂量 (mL) | 蛙体重 (g) | 水温 (°C) | 病蛙经过天数、死亡数及病症表现 | | | | | | | 死亡数 试验数 |
|------|------|------------|------------|------------|-----------------|------------------|----------------|------------------|---|---|---|------------|
| | | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| 腹腔注射 | MCF3 | 0.3 | 40~50 | 20~24 | 2 ⁺ | 2 ^{III} | 1 [*] | 0 | 0 | 0 | 0 | 5/5 |
| 皮下注射 | MCF3 | 0.3 | 40~50 | 20~24 | 0 | 1 [*] | 1 | 3 ^{III} | 0 | 0 | 0 | 5/5 |
| 对照 | 生理盐水 | 0.3 | 40~50 | 20~24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/5 |

3 小结与讨论

本研究从病蛙分离到的所有供试菌株的形态、生理生化特性完全一致,按伯杰氏细菌鉴定手册[Farmer等1984]方法分类,它们均属爱德华氏菌属(*Edwardsiella*)的迟钝爱德华氏菌野生

型(*E. tarda* wild type)。人工感染试验证实该菌是牛蛙爱德华氏菌病的致病菌。

大量资料表明,迟钝爱德华氏菌是很多水产动物的致病菌,Wakabayshi和Egusa[1973]报道*E. tarda*是鳗鲡肝肾病的病原菌,Kitao等[1980]、Yasanaga等[1982]和Saeoui等[1984]分别证实该菌能引起非鲫(*Sarotherodon niloticus*)、黄尾鲷(*Seriola Quin Queradiata*)和锦鲤(*Cyprinus carpio*)的爱德华氏菌病。我国韩先朴等[1989]研究了鳗鲡爱德华氏病菌,所分离的致病菌能利用蔗糖、迅速利用纤维二糖,鸟氨酸脱羧酶阴性等,不同于爱德华氏菌属已有的三个种,而定名为福建爱德华氏菌(*Edwardsiella fujianensis*)新种。王国良等[1993]从该病分离的病菌鉴定为浙江爱德华氏菌新种(*Edwardsiella zhejiangensis* SP. nov)。卢全章等[1994]鉴定广东潮洲鳗鲡肝肾病的致病菌主要是迟钝爱德华氏菌,部分病例是由该菌和运动性嗜水气单胞菌引起的并发症。迄今,国内外无牛蛙爱德华氏菌病及其病原的记载。本研究的分离菌与迟钝爱德华氏菌野生型的性状符合,虽然在KCN肉汤中能生长而略有差异,但Kusuda等[1977]从梨齿鲷(*Crims sea Bream*)分离的*E. tarda*与我们的结果一致。此外,Ullah等[1983]认为迟钝爱德华氏菌能产生外毒素,但本试验未检出这种毒素。这是否是实验误差还是菌株不同所致,有待进一步研究。不过,构成牛蛙爱德华氏菌致病力的主要因素可能不是外毒素而是内毒素,因为菌体破碎液的致死率达100%,实验病蛙血清中内毒素阳性检出率也达50%,虽然另有部分蛙未检出该毒素,但这可能是酸化处理时未彻底破坏血清中的抑制物或选用鲎试剂的灵敏度过低所致。

关于本病致病菌的来源及感染途径,Farmer等[1984]认为迟钝爱德华氏菌是一种条件性致病菌,White等[1973]证实该菌在很多水产动物的肠道内和饲养水体中均正常存在,并从蛙的肠道内分离到。对于鱼类,该病原菌主要是经肠道或皮肤病灶侵入引起疾病[陈奖励等1993]。我们认为牛蛙爱德华氏菌病的发生也莫不与此相关。在发病蛙场,我们了解到养殖户经常在饵料中添加抗菌药物,并每隔几天用与养殖水温差很大的井水冲洗牛蛙,这势必扰乱蛙肠道及体表的正常菌群,导致蛙体不适和受伤,为爱德华氏菌的侵入创造了条件。本次人工感染试验也表明,用高浓度菌液经口服和浸浴都能使健康牛蛙发生较典型的爱德华氏菌病,因此,皮肤和消化道可能是该菌的主要感染途径,在预防本病时,应防止爱德华氏菌在肠道和水体内的过度增殖,提高蛙体抵抗力和保护体表的完整性。

参 考 文 献

- 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 1978. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社. 85 ~ 198.
- 王国良等. 1993. 鳗鲡爱德华氏病病原菌及一新种. 水产学报, 17(3): 224 ~ 228.
- 孙其焕等. 1991. 异育银鲫溶血腹水病病原的研究. 水产学报, 5(2): 130 ~ 139.
- 卢全章等. 1994. 鳗鲡肝肾病病原菌的研究. 水生生物学报, 18(4): 360 ~ 367.
- 严爱莲等. 1989. 嗜水气单胞菌引起牛蛙红腿病的诊断. 动物检疫, (1): 21 ~ 22.
- 陈耀明. 1994. 牛蛙脑膜炎脓毒性黄杆菌病. 水产科技情报, (1): 11 ~ 12.
- 陈奖励等. 1993. 水产微生物学. 北京: 农业出版社. 377 ~ 381.
- 林万明译. 1985. 医学细菌生化试验鉴定手册. 北京: 人民卫生出版社. 31 ~ 370.
- 贺路等. 1995. 牛蛙腹水病病原研究. 淡水渔业, 25(3): 16 ~ 18.
- 韩文瑜等. 1992. 病原细菌检验技术. 长春: 吉林科学技术出版社. 179 ~ 184.
- 韩先朴等. 1989. 鳗鲡爱德华氏菌病的研究. 水生生物学报, 13(3): 259 ~ 264.
- Farmer J J, Mcwchorter A C. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 9th ed. Williams Wilkins, Baltimore. 486 ~ 491.

- Kitao T T, et al. 1980. On an edwardsiellosis in tilapia. Ann Meef Jap soc sci Fish.
- Kusuda R T, et al. 1977. Characteristics of *Edwardsiella* sp. from an epizootic of cultured crimson sea breams. Bull Jap soc sci Fish, 43(2): 129 ~ 134.
- Saeout D K, et al. 1984. A case of *Edwardsiella tarda* infection in cultured colored Carp. *Cyprinus carpio*. Fish pathol, 19(3): 197 ~ 199.
- Ullah M, et al. 1983. Exotoxic substances produced by *Edwardsiella tarda*. Fish pathol, 18(2): 71 ~ 75.
- Wakabayashi H, et al. 1973. *Edwardsiella tarda* associated with pond-cultured eel disease. Bull Jap soc sci Fish, 39(9): 931 ~ 936.
- White F H, et al. 1973. Isolation of *Edwardsiella tarda* from aquatic animal species and surface waters in Florida. J Wildlife Dis, (9): 204 ~ 208.
- Yasunga N, et al. 1982. Charateristics of the fish pathogen *Edwardsiella* isolated from several species of cultured marine fish Bul. Nagasaki pref Inst Fish, (8): 57 ~ 65.

STUDIES ON THE PATHOGENCITIES AND BIOLOGIC CHARACTERISTICS OF THE PATHOGENS CAUSING THE *EDWARDSIELLOSIS* OF THE BULLFROG

XIAO Ke-Yu, HUANG Zhi-Jian, JIN Xie-Li, SHU Xin-Hua, CHEN Ke-Yi, JIANG Wei-Ming
(Department of Fishery, Hunan Agricultural University, Changsha 410128)

ABSTRACT This paper first describes *Edwardsiellosis* of the bullfrog. Eight bacterial strains were isolated from muscle, liver, kidney, blood and ascites of the diseased bullfrog. Infection experiments ascertained that the bacterial isolates were the cause of the disease, the toxin test showed the bacterium produced endotoxin instead of exotoxin. All of the isolates were Gram - negative rods with peritrichous flagella, and were characteristic of facultative anaerobiosis, catalase and methyl red positive, and reduce nitrate to nitrite. They produced abundant hydrogen sulfide on TSI agar. Voges - proskauer, gelatin, urease and phenylalanine deaminase were negative. Acid and gas were produced by them from D - glucose, D - mannose and maltose. D - mannitol, Sucrose and L - Arabinose were not utilized. The strains were identified as *Edwardsiella tarde* wild type.

KEYWORDS Bullfrog, *Edwardsiellosis*, *Edwardsiella tarda*, Pathogenicity, Biologic characteristics

《远洋渔业》1998 年征订启事

《远洋渔业》创刊于 1987 年,主要报道国内外远洋渔业实践与经验,世界各海域的渔业资源、环境综论与评述,国际渔业贸易和国际渔业法规,并及时刊载国家重要渔业政策、渔业活动以及国际渔业最新信息。读者可以从本刊中广泛了解国内外远洋渔业发展动态,并欢迎在上述专业范围内提供有关文章。

本刊为季刊,16 开本,每期工本费 7 元,另加邮费及材料费 1.50 元,全年四期共 34 元,由本刊编辑部发行(限国内)。欲订者,请将订单和订款寄到上海市军工路 300 号东海水产研究所《远洋渔业》编辑部,邮政编码:200090,联系人:邱卫华,电话:(021)65434690 × 56。