



鱼类及其他水生动物细菌 实用鉴定指南

*Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals:
A Practical Identification Manual*

[澳] Nicky B. Buller 著

徐高蓉 常亚青 王诗欢 译

王 斌 牛 艳 校



海洋出版社

1509700

鱼类及其他水生动物细菌 实用鉴定指南



[澳] Nicky B. Buller 著

徐高蓉 常亚青 王诗欢 译

王 斌 牛 艳 校



淮阴师范学院图书馆 1509700

海洋出版社

2013年·北京

图书在版编目 (CIP) 数据

鱼类及其他水生动物细菌: 实用鉴定指南 / (澳) 布勒 (Buller, N. B.) 著; 徐高蓉, 常亚青, 王诗欢译. —北京: 海洋出版社, 2013. 1

书名原文: Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals: A Practical Identification Manual
ISBN 978 - 7 - 5027 - 8436 - 2

I. ①鱼… II. ①布… ②徐… ③常… ④王… III. ①水生动物 - 细菌 - 鉴定 - 指南
IV. ①S941.42 - 62

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 254510 号

图字: 01 - 2008 - 6149

© N. B. Buller 2004. All rights reserved. No part of this publication may be reproduced in any form or by any means, electronically, mechanically, by photo copying, recording or otherwise, without the prior permission of the copyright owners.

责任编辑: 郑珂

责任印制: 赵麟苏

海洋出版社 出版发行

<http://www.oceanpress.com.cn>

北京市海淀区大慧寺路 8 号 邮编: 100081

北京旺都印务有限公司印刷 新华书店北京发行所经销

2013 年 1 月第 1 版 2013 年 1 月第 1 次印刷

开本: 787 mm × 1092 mm 1/16 印张: 27.25

字数: 681 千字 定价: 128.00 元

发行部: 62132549 邮购部: 68038093 总编室: 62114335

海洋版图书印、装错误可随时退换

本书由 大连市人民政府
大连海洋大学
大连獐子岛渔业集团股份有限公司

联合资助出版

译者序

近 20 年来,水产养殖业已成为世界上发展最快的食品生产行业之一。随着水产养殖规模的不断增大和集约化程度的不断提高,养殖病害也在不断增多、扩大和多样化,给水产养殖业造成重大损失。在 2005 年的《中国水产养殖病害检测报告》中,中华人民共和国农业部渔业局、全国水产技术推广总站指出,我国水产养殖动物生物性疾病种类达 165 种之多,其中细菌为主要病原,每年造成的直接经济损失达 100 亿元人民币。这还不包括因病害威胁导致的生产萎缩和产品质量下降带来的间接经济损失。在国际贸易中,水产疫病问题和防治疫病带来的药物残留问题对水产贸易造成严重的不良影响。目前,水产养殖病害已成为水产养殖业持续健康发展的主要瓶颈。水产业发展对水产病害的准确诊断、科学治疗提出迫切要求,而能否快速、准确地确定病原就显得至关重要。正如 Nicky B. Buller 博士所说的,与人类疾病临床微生物学可以参考的浩如烟海的书籍相比,水生动物微生物学相关的书籍实在有限。我们在工作过程中发现,国内尚无一本全面的、专门介绍水生动物细菌鉴定的书籍。2004 年澳大利亚西澳大利亚州农业和食品部资深微生物学家 Nicky B. Buller 博士编写的 *Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual* 一书出版发行,这是一本难得的专门针对水生生物疾病诊断和细菌鉴定的专业书籍。现将其翻译并介绍给国内读者,望其有助于我国水产科研事业的发展。

Nicky B. Buller 博士在水生动物细菌学领域成绩卓著,书中不少内容是他本人的研究成果。本书具有涵盖面广、系统性强、信息量大、图文并茂,且强调实用性和可操作性的特点。全书共分为七章:内容涉及从细菌分离培养到培养基的选择,从传统的生化鉴定到分子技术的应用等方面,不仅对基本操作进行了详尽的介绍,更为可贵的是每一部分还介绍了大量的实践经验,把繁杂的内容以表格的形式呈现,使读者一目了然。此外,本书还展示了大量的彩色图片,使读者更能感性认识 and 了解细菌形态及一些反应的结果。

翻译的过程对于我们来说也是个学习的过程。如果本书能给我国水生动物细菌学及疾病研究工作者带来帮助,那将是我们莫大的荣幸。尽管我们不遗余力,付出艰辛才得以成稿,但是毕竟水平有限,译文中错漏之处,恳请前辈专家和读者批评指正。

另外,本书中有个别英文名称和少量物种的拉丁文名,我们查阅大量文献仍未找到对应的中文译名,请读者见谅。

本书历经艰辛得以出版,这里要感谢对本书出版给予资金赞助的单位,更要感谢在本书出版过程中给予帮助的老师、同学、同事们和本书的编辑郑珂以及海洋出版社为之付出辛苦劳动的工作人员。正是由于他们的鼓励和支持才使我们有了坚持下去的勇气和信心。更可喜的是,一个可爱的小生命(徐高蓉的女儿)也随着本书的出版过程降临,谨将此书作为礼物送给她。

译者

2011 年 9 月

中文版序

水产养殖业在全世界范围内持续扩展，在一些国家已成为提供本国消费或出口食品和产品的支柱产业。同所有的农业系统一样，疾病是水产动物养殖业成功的瓶颈。随着水产养殖知识的丰富及技术应用水平的提高，对水产病害的认识及其检测提出了更高的要求。科学家们持续探索和完善水产养殖的方法，并且使水产养殖种类更加多样化，从传统的有鳍鱼类、对虾，到更多的外来种，如鲍和海马。鱼类病理学家、微生物学家和研究者们需要利用有用的信息资源来帮助他们诊断疾病，这对于养殖者乃至整个产业都是有益的。

与浩如烟海的研究人类疾病的临床微生物学家可以参考的书籍和手册相比，微生物学家和其他科学家在鉴定水生动物细菌时可以参考的书籍相当有限。本书意在改善这种情形，并为诊断和研究水产动物细菌疾病的科学家们提供一个辅助的资源。本书在布局上将相似细菌的生化反应放在一起对比，并且包括被认为是不同水生动物正常菌群组成部分的那些细菌的生化反应。

我于 27 年前在西澳大利亚州农业和食品部 (Department of Agriculture and Food) 动物健康实验室的细菌实验室开始工作，并且从那时开始从各种不同的水生和陆生动物体上分离细菌。水生动物包括从热带到冷水的养殖水生种类，如有鳍鱼类（淡水及海水）、对虾、鲍、珠母贝及海马；野生水生动物通常是一些被冲刷到海岸上的种类；动物园动物，如企鹅、蛙、海豹等，还有一些是处在开展养殖研究阶段的种类。每一个种类都有自身独特的正常菌群和各自的细菌病原体范围。我从学术期刊中获得这些水生动物细菌的信息。因为从学术期刊获得的很多信息需要逐份打印集成一本易于查询的书，这样就唤起了撰写本书的念头，因此，本书是一本实用的手册。它提供了细菌，包括酵母菌和隐球菌的鉴定、初期培养、通用或选择培养基的使用、生化鉴定及详细的解释等各个方面的内容。本书包括一系列水生动物的病原体细菌，也包括正常菌群的一部分细菌，所以可以更精确地找到病原体细菌与非病原体细菌的区别，这给病原体细菌的成功鉴定更大的自信。采用分子生物学方法检测和鉴定细菌是一个飞跃。本书中的一个章节描述了分子方法，特别是聚合酶链式反应 (PCR) 在鉴定中的应用，并为要把这些方法引进到自身的诊断试验的实验室提供了基础的信息。

实验室使用的室内培养基类别迥异，最好的生化鉴定培养基是以鉴定海洋来源的细菌为目的而制作的那些培养基。本书包括大量已报道的适用于不同水生资源的不同细菌的培养基及其配方。同时本书也详述了文献所报道的可以直接购买的商业培养基和生化鉴定系统，如法国的生物梅里埃 (bioMérieux) 生产的 API 系统。很多生化实验方法都有限制条件，如果已知或者已报道，在正文中均有注明。

并非所有的实验室都能够涉及如此多的水生动物。本书意在包含更多的细菌正常菌群的一部分细菌，或者众多水生动物的病原体细菌。为了能与尽可能多的实验室相关，本书包括了不同国家的特有的或外来的细菌。

因为该领域的知识正在飞速发展，一本书不能涵盖最全面的趋势和日新月异的信息来源。本书列出了许多水生动物细菌疾病方面的权威学术期刊，所以本书的读者可以据此寻

找更多的信息。撰写本书共引用了超过 800 条参考文献。

我在鱼类细菌性疾病方面的知识和经验得益于多年来大家的帮助以及一些允许我参与其中研究鱼类疾病的成功的应用基金。此外，在我事业初期，有幸访问了澳大利亚塔斯马尼亚州初级产业、水利及环境部（Department of Primary Industries, Water and Environment）的鱼类健康实验室，并与首席微生物学家 Jeremy Carson 博士讨论，向他学习了分离和鉴定技术，这些年来仍然在应用他的特有的技术来确定一些特殊细菌的鉴定。同样的，我也访问了位于澳大利亚维多利亚州的澳大利亚动物健康实验室的鱼类健康小组，向 Nick Gudkovs 学习了有关澳洲以外的细菌知识。我曾与澳大利亚昆士兰州汤斯维尔市初级产业和渔业部（Department of Primary Industries and Fisheries）擅长研究热带水生动物细菌感染的首席微生物学家 Annette Thomas 博士进行多次讨论。非常感谢上述科学家多年来的帮助。我还要感谢共事多年的鱼类病理学家们，他们的巨大热情和鱼类疾病方面渊博的学识激发了我对鱼类病原菌研究的浓厚兴趣和好奇。其中，我要特别感谢西澳大利亚州渔业部动物健康实验室鱼类健康小组的鱼类病理学家 Brian Jones 博士和已故的 Jeremy Langdon 博士。

我非常有幸能够获得资助以参加 2000 年和 2001 年在季隆市的澳洲动物健康实验室举行的关于鱼类疾病的专题讨论会，并且在大会上发表论文，同时我要感谢西澳大利亚州渔业部鱼类健康小组、西澳大利亚州农业和食品部动物健康实验室以及渔业研究与发展公司（FRDC）。

这本手册涵盖了包括隐球菌在内的 31 种细菌的培养和微观形态及一些室内生化培养基的生化反应的 117 张彩色图片。如果没有以下组织的帮助，将不可能获取这些图片：由渔业研究与发展公司（主赞助人）资助的澳洲农业、渔业和林业部（AFFA）水生动物健康子项目；西澳大利亚州农业和食品部动物健康实验室；西澳大利亚州渔业部以及 Oxoid 公司（澳大利亚）。

非常有幸能够看到本书中文版的问世，感谢郑珂编辑、翻译者及海洋出版社的工作人员为此书出版所作的贡献。本书最初在 2004 年由国际农业和生物科学中心（Centre for Agriculture and Biosciences International, CABI）于英国以英文出版。感谢助理编辑 Meredith Carroll 女士为海洋出版社安排翻译所做的努力。

Nicky B. Buller

2011 年 4 月

原书序

水产动物疾病几个世纪以来已成为引起关注的事情，在过去的 75 年中由于全球大量海水、淡水养殖和环境事件的影响，使疾病的发生更为严重，尤其是细菌性疾病。由于水产养殖的集约化增强，并向新的领域扩展，鱼类的健康问题将具有更重要的意义。不管是来自海洋的还是淡水的，包括哺乳动物、鱼类、鸟类、软体动物、甲壳动物、爬行动物和两栖类在内的动物都不能避免细菌性疾病的影响。数百种细菌可能会是野生的和养殖的水生动物的病原菌，或在其有利的环境下成为潜在疾病威胁。此外，由于细菌性相关疾病的发生和防控，导致政府、私人水产业和公众付出巨大代价，每年水产资源损失达数百万美元。为了获得更大收益，有效控制产生疾病的细菌，迅速和准确地鉴定这些细菌就显得十分必要。

迄今为止，尚无一种单一可行的方法用于鉴定如此众多的来自海洋动物和淡水动物的细菌。然而，*Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual* 的出版解决了这一难题。本书是一本实用的、读者易于掌握的鉴定指南，对没有经验和富有经验的细菌学家、微生物学老师和学生，水生动物健康研究人员和诊断专家，公共健康机构工作人员以及从事海洋鱼类、淡水鱼类、鸟类、哺乳动物、软体动物、甲壳类、爬行动物、两栖类动物研究的医学实验室工作人员都有很大的价值。本书借助大量表格和图片，分别论述了常规细菌的鉴定程序，基于观察的商品化鉴定试剂盒以及基于分子生物学的 PCR 和 16S rDNA 序列，具有广阔的科学应用前景。本书中包含近 400 种水生细菌的生物化学、生物物理学和分子生物学特征，它们的培养基以及与其相关疾病的简短论述。汇编此书是一项艰巨的任务，由于这本书为水生微生物学研究带来了不可估量的贡献，它的作者 Nicky B. Buller 博士受到高度赞誉。

John A. Plumb

奥本大学渔业与联合水产养殖系

亚拉巴马州

美国

致 谢

我要感谢 Jeremy Carson 博士（初级产业、水利及环境部，塔斯马尼亚州）和 Nick Gudkovs 博士（澳大利亚动物健康实验室，季隆，维多利亚州）接受我访问他们各自的实验室，尤其在我事业初期，一起研讨鱼类细菌疾病和细菌分离技术。另外，感谢 Jeremy Carson 博士和他的实验室，在那里的几年时间，他们帮助鉴定了我们从病例中分离的一些弧菌属和黄杆菌属的菌株。尤其要感谢农业部动物健康实验室（AHLDA）为本书提供的经过鉴定的菌株[柱状黄杆菌（*Flavobacterium columnare*）、鳃利斯特氏菌（*Listonella anguillarum*）、*Vibrio agarivorans*、鲍鱼肠弧菌（*Vibrio haliotocoli*）和地中海弧菌（*Vibrio mediterranei*）]。感谢 Annette Thomas 博士（基础产业部，昆士兰州）赠送的溶藻弧菌（*Vibrio alginolyticus*）、哈佛氏弧菌 [*Vibrio (carchariae) harveyi*]、海豚链球菌（*Streptococcus iniae*）的菌株培养物和多年来所提供的大量关于兽医和鱼类病原菌的资料。感谢 Bruno Gomez-Gil 博士（CIAD/马萨特兰水产养殖和环境管理小组，墨西哥）提供的没有列在参考文献中的轮虫弧菌（*Vibrio rotiferianus*）的实验结果和在发表之前提供的包含在本书中的关于帕西尼氏弧菌（*Vibrio pacinii*）的论文，感谢 Fabiano Thompson 博士（微生物实验室，根特大学，比利时）提供的没有列进参考文献的详尽的海王弧菌（*Vibrio brasiliensis*）、巴西弧菌（*Vibrio neptunius*）、许氏弧菌（*Vibrio xuii*）API 20E 的进一步反应结果。感谢和我一起工作的鱼类病理学家，特别是 Brian Jones 博士和同一机构中的 Jeremy Langdon 博士，他们帮助我更好地理解鱼类疾病。我也非常感激澳大利亚渔业研究与发展公司（FRDC）提供资金使我于 1996 年在塔斯马尼亚大学拥有鱼类疾病实验车间和 2000—2001 年在季隆的澳大利亚动物健康实验室拥有鱼类细菌学家的实验车间。

鲑鱼肾杆菌（*Renibacterium salmoninarum*）的照片是从动物健康实验室（AHL）档案室获得，这张照片没有文献来源，因此我无法感谢创始人。其余照片由作者本人拍摄，来自动物健康实验室（AHL）提交诊断书的培养物、典型菌株或者来自 A. Thomas 博士。柱状黄杆菌（*Flavobacterium columnare*）黏附在鳃组织上的照片由 Brian Jones 博士馈赠。

许多微生物学家和其他学科科学家这些年来负责任地发展技术，精炼培养基，用以分离和鉴定细菌。本书从文献援引的培养基也提到了这些培养基的发明人和改进者。如果有遗漏，在这里表示歉意。

由于昂贵的制版费用，得到以下单位的资助才有幸付梓。对他们的资助表示由衷的感谢。

主要资助者：澳大利亚农业、渔业和林业部（AFFA）水产动物健康子项目，由澳大利亚渔业研究与发展公司资助。

其他资助者：西澳大利亚州渔业部；Oxoid 公司（澳大利亚）；西澳大利亚州农业部动物健康实验室。

我也非常感谢西澳大利亚州农业部动物健康实验室提供照片一节所用的数码照相设备、培养基和细菌培养物。

我还要感谢国际农业和生物科学中心（CABI）的 Tim Hardwick 先生，是他协助把此书手稿带给出版社出版。

前言

本书力图提供用于鉴定在水生生物体上可能发现的细菌资源。重点是鉴定养殖水生生物体携带的细菌。巴斯德有句名言“机会钟爱有准备的人”。因此，一个见识广博的微生物学家将会有更多的机会鉴定那些新发现的细菌。

由于水产业研究的不断发展，鱼类精养系统规模的日益扩大，国际上鲜活水生动物产品贸易的不断增加以及新疾病的不断发生，使我们分离并鉴定水生动物体及水生环境中细菌的知识得到迅速增长。每个月都有新的细菌被描述和报道，它们可能是病原菌、环境正常的菌群或者潜在的益生菌。分离和鉴定这些细菌，无论是在诊断还是研究能力方面对实验室来说都是个棘手问题。本书重点在于鉴定水产业的病原菌、正常菌群或可利用的潜在益生菌，还包括从其他生境分离的一些细菌。这本指南力图提供用现代尖端的分子技术和标准数据库的方法以及生化鉴定实验表格，来分离和鉴定来自水生环境中日益更新的细菌。分子诊断学已经在很多实验室变得常规化，本书中有一章专门介绍了利用分子生物学技术，如 PCR 和 16S rDNA 测序来鉴定细菌。

很多实验室不仅收到畜牧资源的样品，也收到动物园里动物的样品，如企鹅、海豹、海鸟以及圈养的和野生的水生哺乳动物。来自其他的水生环境用来分析的样品可能是鱼类，包括野生的和养殖的、淡水的和海水的、水族馆鱼类、热带鱼类，或养殖的水生动物，如鲍、珠母贝、海马、龙虾、小龙虾、雅比螯虾、麦龙螯虾及对虾。所有这些宿主都有各自的微生态菌群和潜在的细菌性病原，它们来自从热带到寒温带的生境。指南中包括的很多细菌都是在检测样品期间从不同范围的宿主和生境中发现的。不仅是样品中的病原菌，环境微生物和腐生菌，也有助于了解这些样品的微生物菌群。本书包含许多来自极端环境的细菌，随着世界水产业的生长，关于这些生境细菌群落的知识也不断增长，发现这些细菌的途径主要通过一些实验室提交的样品。因此，这些菌株在所推荐的培养基上可能有生长的能力，如本书中包含的 ZoBell 培养基或者海洋琼脂 2216 (Difco) 培养基。另外，还包含一些南极细菌，研究表明它们被当作海洋长须鲸的一种低成本的食物来源，它含有丰富的、在饮食上有重大意义的 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸 (Nicols 等, 1996)。因而，它可能被作为样品在实验室进行培养。

医学实验室也需要鉴定数量不断增多的来自水生生境的细菌样品，而且这些细菌可能与临床感染有关。这本书也可能协助鉴定商品化数据库，如 API (bioMérieux) 中未涉及的细菌。

一般来说，文献中表型实验结果可能比较混乱，文献中采用的实验方法才是最重要的。在本书中，大部分生化实验依据 West 和 Colwell (1984) 及 Cowan 和 Steel (1970) 的实验方法，这些方法列在了表中。生物梅里埃 (bioMérieux) 公司可买到的商品化鉴定试剂盒 API 20E、API 50CH 和 API-ZYM 也被收入本书，这些实验结果被列进恰当的表格中。表型实验在生化管理培养基和商品化鉴定试剂盒之间可能产生不同的结果，包括柠檬酸盐反应、脱羧酶、吲哚和一些糖类。文献中使用不同菌株，有不同的表型结果被报道，那么这些细菌的结果被分别列出。本书力图为细菌学家提供可能的、最好的鉴定分离于诊断样品

或研究样品中细菌的方法。

本书尽可能多地采用界定明确的生化测试组合，照此则水生资源中遇到的大部分病原性和非病原性细菌可能被鉴定到属的水平，很多常见的细菌能被鉴定到种的水平。采用详细界定的生化测试组合的目的，是在室内准备的培养基能够尽可能多地培养和鉴定细菌，避免常规实验室因没有准备，花费大量的时间测试培养基而错过培养细菌的时间。由于使用不同的方法进行生化试验，因此，在一些文献报道中，出现了生化反应可变的问题。本书为水生细菌提供了一套标准的生化鉴定方法，书中报道的反应都是基于这套明确界定的方法。

本书包括需要特殊培养基和鉴定实验的细菌，以便为实验室进行相关鉴定提供帮助。对于布鲁氏杆菌属 (*Brucella*)、支原体 (*Mycoplasma*) 和分枝杆菌 (*Mycobacterium*)，这些方法只能作为参考，它们应该送到专门实验室进行鉴定。也包括其他一些培养基，如检测黄杆菌属细菌糖发酵的替代方法。

发酵和利用的概念在文献中经常被混淆，在一些实例中通过所使用的方法进行评估是很困难的。区分发酵和利用是非常重要的，使用不同的方法，一种细菌糖发酵可能是阳性，然而当用唯一碳源测试时同一种糖利用却是阴性。通常说的“糖”的发酵是指一种碳水化合物化合物的发酵或分解。分解的产物通过培养基中 pH 指示剂颜色的变化而测试，通常为酚红。利用是测试此细菌能否在唯一碳源的培养基上生长，培养基没有其他的营养成分，通过肉眼观察测试培养基的混浊度来判断细菌是否生长，利用培养基中没有 pH 指示剂。除柠檬酸盐外，都用 Simmons 法。

隐球菌属 (酵母菌) 也被列入本书，尽管它不是细菌，但对鱼类病理学家、兽医病理学家、微生物学家和实验室其他成员及处理易感水生哺乳动物样品者来说都有被感染的危险。因此，它包含在警示工作人员注意的危险生物样品之列。其他人兽共患细菌包括布鲁氏杆菌属 (*Brucella*)、分枝杆菌 (*Mycobacterium*) 和诺卡氏菌 (*Nocardia*)。很多来自于水环境的细菌都有可能对人类感染，这些细菌在表 1-1 中列出。

本书结构设计

本书是根据分离和鉴定一株未知的细菌的步骤分成章节的。其中一些基础章节对于经验丰富的微生物学家来说可能比较浅显，但是为了方便一些学生或者没有细菌培养技术的初学者，上述章节，尤其是诊断实验室用到的那部分仍旧被包括在内。

这些章节围绕宿主和细菌、分离技术、表型 (生化) 鉴定技术、分子鉴定和培养基等内容展开。

在表型鉴定一章有一个流程图 (图 4-1)，它指引微生物学家采用进行生化鉴定所要求的最合适的表格，进行一株未知细菌的鉴定。生化鉴定表是根据属名命名，如气单胞菌和弧菌，或根据革兰氏染色和细菌的形状，或根据氧化酶试验来命名的。

在常规鉴定表中，在“病原的”或“环境的”标题之下，细菌按其拉丁文名的字母顺序排列 (弧菌属表格除外，即表 4-21 和表 4-22)。“病原的”或“环境的”的区分是根据对鱼类和水生动物的致病性来判定的，一般不能根据人或者陆地上的动物来判定。涵盖腐生菌和其他种类细菌的生化反应是为了有助于鉴定和确保具有相同结果的种类能够被正确鉴定。弧菌列表中的细菌是以 ODC、LDC 和 ADH 反应为基础来分组列表的。这样分

组的目的是以此作为鉴定的起始点，类似流程表。API 数据库中的细菌按其拉丁文名的字母顺序列表。

意 义

鱼类和其他水生动物（养殖的和野生的）同陆地上的动物一样易于感染细菌。尤其当它们受到胁迫时，疾病可能发生在全身系统或者被限定在外部表面，如皮肤或鳃。在很多病例中，致病菌在环境中是广泛存在的或者部分是水生动物内部正常的菌群。研究表明，可能有 28 种不同的弧菌存在于甲壳动物胰腺 (10^4 cfu/g) 或健康虾的肠道和胃中 (10^6 cfu/g)。这些弧菌经鉴定为溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*)、副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)、霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 和美人鱼发光杆菌 (*Photobacterium damsela*)。但是，它们在疾病状态下仅有一种或两种弧菌被发现 (Gomez-Gil 等, 1998)。诊断疾病时需要考虑很多因素，如临床症状表现、病理学、细菌数量、细菌种类、分离细菌的组织部位及样品收集的无菌操作 (Lightner 和 Redman, 1998)。

鱼类体表细菌群落根据它们生长环境的盐度而有所不同，嗜盐性细菌在连续培养后嗜盐性依然保留。由于上述原因，鱼的肠道可能附着一些特殊的嗜盐弧菌 (Liston, 1957; Simidu 和 Hasuo, 1968)。因此，当试图培养鱼类病原菌时，其嗜盐性一定要考虑进去，做生化鉴定试验也是如此。

感染水生动物的细菌性疾病在文献中有详细的介绍，如 Austin 和 Austin (1999)，Woo 和 Bruno (1999)（参见“深入阅读和其他信息来源”部分）。在本书中致病细菌和疾病作为快速参考资料仅以列表的形式呈现。

目 次

第 1 章 水生动物和细菌之间的关系	(1)
1.1 宿主种类、细菌和疾病之间的关系	(1)
1.2 细菌性疾病	(1)
1.3 细菌和宿主之间的关系	(41)
1.4 细菌分类及疾病症状	(82)
第 2 章 细菌培养技术：显微镜观察、培养和鉴定	(92)
2.1 样品收集和提交	(92)
2.2 培养和接种	(93)
2.3 培养平板观察	(94)
2.4 生化鉴定试验	(122)
2.5 生化鉴定管接种	(123)
2.6 API 鉴定系统	(124)
第 3 章 生化鉴定反应及生化组合介绍	(125)
3.1 常规培养基：生化鉴定组合	(125)
3.2 鉴定试验及其介绍	(125)
3.3 生化鉴定表的使用	(131)
3.4 属、种介绍及鉴定	(132)
3.5 抗血清的获得与利用	(146)
第 4 章 生化鉴定表	(148)
4.1 常规生化试验结果（试验设计）	(148)
4.2 API 试剂盒结果	(148)
第 5 章 技术方法	(270)
5.1 总细菌数（TBC）	(270)
5.2 显微镜使用方法	(272)
5.3 细菌保存	(272)
第 6 章 细菌分子鉴定技术	(274)
6.1 利用特异引物通过 PCR 进行分子鉴定	(274)
6.2 PCR 操作步骤	(283)
6.3 通过 16S rDNA 测序进行分子鉴定	(287)
6.4 荧光原位杂交（FISH）	(293)
第 7 章 培养和鉴定培养基制备	(295)
7.1 常规分离与选择培养基	(295)
7.2 生化测试培养基	(313)

深入阅读和其他信息来源	(331)
附录	(334)
术语表	(343)
参考文献	(349)
索引	(384)

第1章 水生动物和细菌之间的关系

1.1 宿主种类、细菌和疾病之间的关系

本章主要介绍宿主和细菌群落之间的关系，其中部分细菌可能既是宿主的正常菌群，又是病原菌。这部分内容分两种方式介绍。

第一种方式，表1-1按照水生动物宿主英文通用名的字母顺序排列，拉丁文学名在括号里。一些宿主是以它们隶属的科分组。例如，鳟鱼和大麻哈鱼都列为鲑鳟类；海豚、鼠海豚、海狮和鲸鱼都列为海生哺乳动物；水族箱的鱼都列为观赏鱼类。在列表中相邻的列中分别介绍：被报道的病原菌或正常菌群、感染或病原出现的组织部位及疾病状态。一些细菌被认为是条件致病菌，在宿主健康状态下可能为正常菌群的组成部分，动物在受胁迫状态下，这些细菌可能突破宿主的防御系统，导致动物发病或者感染。其中一些已经被分离鉴定但是至今它们的传染途径还是未知的，对其毒力的研究也尚未开展。

第二种方式，表1-2中的信息按照细菌拉丁文学名的字母顺序排列，相邻的列中分别介绍疾病名称和症状、所分离组织部位及疾病分布的地理位置。

1.2 细菌性疾病

在表1-1和表1-2之外，以下对一些普遍认识的鱼病细菌进行了简要介绍，如需更详细的介绍和进一步了解，请参见“深入阅读和其他信息来源”部分。

1.2.1 坏疽杆菌病

这是最近在泰国的淡水低头鲃 (*Pangasius hypophthalmus* Sauvage) 中发现的一种病。致病细菌已鉴定为叉尾鲷爱德华菌 (*Edwardsiella ictaluri*)，据美国报道，此菌可导致鲇鱼肠败血症。该疾病在这种鲇鱼上出现的症状为多发性、大小不规则的白色病灶，在内脏器官，主要出现在肾、肝和脾上。病灶在组织学上表现为坏疽和炎症性化脓肉芽。利用致病细菌生化特征鉴定为叉尾鲷爱德华菌 (*Edwardsiella ictaluri*)；然而，当利用显微观察时发现细菌细胞显示多态性，比常见的叉尾鲷爱德华菌其他菌株的长度和体积更大 (Crumlish 等, 2002)。

1.2.2 细菌性鳃病 (BGD)

细菌性鳃病是由产黄菌属嗜鳍黄杆菌 (*Flavobacterium branchiophilum*) 引起的，它是大的丝状体革兰氏阴性杆菌。这类细菌黏附在鱼鳃的上皮组织表面致病 (Snieszko, 1981; Ostland 等, 1994)。

1.2.3 细菌性肾病 (BKD)

病原是鲑鱼肾杆菌 (*Renibacterium salmoninarum*)，它感染鲑鱼。此疾病开始时有一个

表 1-1 宿主和细菌之间的关系

宿主	病原菌	正常菌群	组织部位	疾病状态	参考文献
鲍 abalone		假交替单胞菌 (<i>Pseudoalteromonas</i> spp.), 希瓦氏菌属 (<i>Shewanella</i> spp.), <i>Vibrio agariivorans</i> (致病性未确定), 地中海弧菌 (<i>Vibrio mediterranei</i>)	组织	大量死亡, 组织损伤	135
皱纹盘鲍 (<i>Haliotis discus hannai</i>)		鲍鱼肠弧菌 (<i>Vibrio haliotitici</i>)	肠	正常菌群	678
红鲍 red abalone (<i>Haliotis rufescens</i>)		溶藻弧菌 (<i>Vibrio alginolyticus</i>)	患病鲍不能活动, 在池底	幼虫死亡	30
疣鲍 (<i>Haliotis tuberculata</i>)		哈维氏弧菌 [<i>Vibrio (carchariae) harveyi</i>]	足上有红色小脓包	大量死亡	576
Japanese abalone (<i>Salculus diversicolor supertexta</i>)		哈维氏弧菌 (<i>Vibrio harveyi</i>) (菌株非发光, ODC 阴性, 尿素酶阴性)	足上有白色斑点, 组织有病灶, 肌肉纤维坏死严重	大量死亡, 失去附着能力	581
九孔鲍 small abalone (<i>Haliotis diversicolor supertexta</i>)		副溶血性弧菌 (<i>Vibrio parahaemolyticus</i>)	血淋巴组织	综合征, 大量死亡	499
藻类 alga					
石莼 marine alga (<i>Ulva lactuca</i>)		藻假交替单胞菌 (<i>Pseudoalteromonas ulvae</i>)		具有防污特性	231
红叶藻 red alga (<i>DelSSERTIA sanguinea</i>)		食半乳糖邹氏尔氏菌 (<i>Zobellia galactanovorans</i>)			61
鲟鱼 alligator					
密河鳄 (<i>Alligator mississippiensis</i>)	1. 迟钝爱德华菌 (<i>Edwardsiella tarda</i>) 2. <i>Mycoplasma alligatoris</i> 3. 多杀巴斯德菌 (<i>Pasteurella multocida</i>) 4. 葡萄球菌 (<i>Staphylococcus</i>)	5. 迟钝爱德华菌 (<i>Edwardsiella tarda</i>), 迈阿密沙门氏菌 (<i>Salmonella miami</i>), 爪哇型沙门氏菌 (<i>S. java</i>), 哈特福德沙门氏菌 (<i>S. hartford</i>)	1、3. 肠增大, 泄殖腔充血, 肾有坏死组织, 胃黏膜腐烂 2. 肺水肿, 形成空腔肺炎、心包炎、心肌炎、脑膜炎、关节炎 3、4. 肺脏	1、5. 肾炎致病性未确定 2. 急性多系统并发症 3、4. 肺炎	128 129 520 804 823
琥珀鱼 amberjack, 参见五条鲷 yellowtail					
凤尾鱼 anchovy (<i>Engraulis mordax</i>)	海洋屈挠杆菌 (<i>Tenacibaculum maritimum</i>)		吻、眼睛和腹部中央出血性损伤	传染	154
北极红点鲑 Arctic charr (<i>Salvelinus alpinus</i> Linnaeus) 参见鲑鱼类 SALMONIDS					

续表 1-1

宿主	病原菌	正常菌群	组织部位	疾病状态	参考文献
卤虫属 <i>Artemia</i> spp., 参见虾类 shrimp 中的卤虫 brine shrimp					
香鱼 <i>ayu</i> (<i>Plecoglossus altivelis</i> Temminck and Schlegel)	1. 嗜冷黄杆菌 (<i>Flavobacterium psychrophilum</i>) 2. 曼利斯特氏菌 (<i>Listonella anguillarum</i>) 01 和 02 (欧洲名称) 3. 鳃败血假单胞菌 (<i>Pseudomonas anguilliseptica</i>) 4. 变形假单胞菌 (<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>) 5. 鲑鱼肾杆菌 (<i>Renibacterium salmoninarum</i>) 6. 海豚链球菌 (<i>Streptococcus iniae</i>) 7. 非 O1 霍乱弧菌 (<i>Vibrio cholera non - 01</i>) (鸟氨酸脱羧酶阴性)		4. 出血性腹水 5. 肾白色结节, 腹部鼓胀腹水, 眼球凸出	1. 冷水疾病 2. 弧菌病 3. 疾病 4. 大量死亡, 细菌性出血性腹水 (BHA) 5. 细菌性肾疾病 (BKD) 6. 死亡, 链球菌 7. 大量死亡	434 442 561 564 568 582 712 722 757 803
黑头软口鲈 American baird fish (<i>Pimephales promelas Rafinesque</i>)	参见鲤科小鱼 minnow				
尖吻鲈 barramundi (<i>Lates calcarifer</i> Bloch)	参见鲈科鱼类 bass				
鲈科鱼类 bass					
舌齿鲈 European sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> Linnaeus)	1. 嗜水气单胞菌 (<i>Aeromonas hydrophila</i>) 2. 美人鱼发光杆菌杀鱼亚种 (<i>Photobacterium damsela</i> ssp. piscicida) 3. 鳃败血假单胞菌 (<i>Pseudomonas anguilliseptica</i>) 4. 海洋分枝杆菌 (<i>Mycobacterium marinum</i>) 和分枝杆菌属 (<i>Mycobacterium</i> spp.) 5. 海豚链球菌 (<i>Streptococcus iniae</i>) 6. 海洋屈挠杆菌 (<i>Tenacibaculum maritimum</i>)		1. 脾脏增大, 肛门有红斑并出水 2. 没有明显病理特征, 肾脏增大, 有白色结节 3. 细菌分离于头和脾脏 4. 眼睛蜕变, 眼球凸出, 皮肤溃烂, 鳃坏死 4、5. 细菌存在于心和脾脏, 脾脏极度肿大 6. 皮肤苍白区域具黄色边缘, 导致鱼体鳃、口腔、眼睛和鳃坏死	1. 大量死亡 2. 鱼巴斯德菌病 3. 出血性败血症 4. 分枝杆菌病 5. 渗出性脑膜炎和全眼炎 6. 皮肤坏死, 小鱼易感, 成鱼与环境胁迫有关	60 91 96 140 183 209 227