

寡糖分子水产疫苗在 预防中华鳖细菌性疾病中的作用

朱 权

颜汉坚

朱建中

(陆河县水产局)

(陆河县汕陆特种水产养殖有限公司)

中华鳖 (*Trionyx sinensis*), 也称甲鱼、水鱼, 因其有丰富的营养和较高的药用价值, 越来越受到人们的青睐。

本公司于1993年开始利用人工温泉养殖甲鱼, 取得较好的收成。值是, 随着时间的推移, 养殖密度的提高, 养殖环境的恶化, 发病率和死亡率也逐年增多, 特别在1996—1997年度, 其存活率低于60%。甲鱼病害的治疗, 还没有特效药物, 目前多以预防为主。用药物预防, 会造成药物残留甲鱼体内, 另外也可能污染环境。比较安全、有效的办法是免疫防病法。本试验(1997.5—1998.6)选用深圳旺业实业发展有限公司和香港旺胜生物工程有限公司生产的旺胜WS寡糖分子水产疫苗对幼鳖进行免疫接种, 对该疫苗免疫保护作用追踪观察。一年多来, 先后进行了多次大面积田间试用, 其效果相当显著。现将情况介绍如下。

材料与方法 Material and Methods

(一) 疫苗: 旺胜WS寡糖分子水产疫苗, 批号Aust-96-1、96-7、WS-97-9和97-11, 均由深圳旺业实业发展有限公司提供。

(二) 鳖苗: 从湖南省常德市鼎城鳖苗养殖公司购入, 体重3—5克/只。首先在幼鳖池饲养2—3个月, 此时大多数鳖的体重已增长至50—150克/只。试验前, 连续严密观察1周以上, 确认动物体健无病, 便可随机分组进行试验。

(三) 鳖池及水体处理: 在疫苗注射使用前1周, 每米²用生石灰75克对池底进行消毒, 而每米³水体则用漂白粉5克消毒, 工具与试验的甲鱼用20ppm高锰酸钾消毒5—10分钟。

(四) 试验条件: 每批试验介为4个鱼池, 表面积大约为80米², 密度为6—8只/米², 水深度为80厘米, 透明度为20厘米。试验用水来自专管供应的温泉, 水温28—30℃, pH7.0—7.5。

(五) 试验方法

1. 分组: 每批试验设4个池, 分别为试验一组(一次免疫注射组)、试验二组(二次免疫注射组)、试验对照组(注射无菌生理盐水组)和天然对照组(同批鳖苗, 来经何处理)。以上4组在消毒处理、投喂饲料以及更换池水等方面均条件相当。

2. 免疫注射: 旺胜WS寡糖分子水产疫苗250微克, 溶于100毫升无苗注射液, 混

和,完全溶解后,每只体重50—150克甲鱼,腹腔内注射0.1毫升,含0.25微克疫苗,二次免疫注射在第一次注射1个月重复一次;试验对照组用无菌生理盐水代替旺胜WS疫苗腹腔内注射同量溶液。密切注意注射后首48小时内鳖的活动、摄食状态,观察是否有因注射所致的伤亡情况。

结 果 Results

自免疫注射之日起,最初4个月内除2个对照组有零星甲鱼发病及少数死亡外,免疫注射的2个组均未发现有病或死鳖。其各组存活率与发病情况如下。

(一) 接受一次免疫注射组

经免疫后4个月,存活率为93%,5个月为91%,6个月为90%,7—8个月后仍为87%。

(二) 接受二次免疫注射组

经免疫后4个月,存活率为96%(见表1),5个月为94%,6个月为93%,7—8个月后仍为91%(见表2)。

(三) 对照组

1. 试验对照组:4个月后存活率为77%,5个月为52.5%,6个月为47%,7—8月后仅为42%。

2. 自然对照组:该组的发病情况与试验对照组个分相似,与往年本场发病情况相符。

(四) 体表病变观察

当第一次发病暴发时,我们对每个鱼池进行清理,病鳖主要表现为穿孔与溃烂。自然对照组存活的400只甲鱼中,有明显病变的为212只(占52%);试验对照组存活的421只中,191只(45%)有明显病变;单一次免疫注射组476只中仅有90只(19%)带有轻微病变;而二次免疫注射组的514只甲鱼只有103只(20%)有可见病变。

(五) 总体病情比较

尽管不论单一次或二次免疫接种的2组甲鱼,也有病死甲鱼可见,但就病情轻重程度来看,未接受免疫注射组的要比受免疫组严重得多,前者多在明显出血,溃烂的情况下,5—7天内死亡,而接受免疫注射组的病鳖,其病征比起未受免疫组要轻得多,相当部分均能生存下来。

(六) 病理解剖所见

病变之甲鱼除外观上可见脖子红肿、腐皮、溃疡、穿孔、出血、水肿、红底板外,解剖所见,未接受免疫注射组,其内脏出血严重,甚可见洗鱼水样血性腹水,肝、肾肿大,出血或米黄色斑点,肠胃出血,鳃腺有红色斑点、水肿,甚至病烂。

(七) 细菌学分离鉴定

自典型病死或濒死的甲鱼经无菌操作分别取腹水、肝组织和肾脏组织进行细菌分离培养,经35℃培养18小时后,可在TSA培养基上见到中等大小(1—2mm)棕色菌落水溶性棕色色素。经间接免疫荧光和EIA检法确认为嗜水性单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)。

(八) 动物试验 将分离到的嗜水性单胞菌,用无菌生理盐水进行10倍系列稀释,分别给小白鼠与金鱼注射,24小时后金鱼出现平衡失调、眼球充血、全身明显的出血、脱鳞等典型的单胞菌感染症状,48小时内死亡,而小白鼠出现竖毛、行动迟钝等状况。

讨 论 Discussion

过去一年多来,我们对大田实地试用旺胜WS寡糖分子水产疫苗进行了追踪观察。从存活率来看,接受免疫注射的甲鱼,半年以上至1年有91—96%得到保护;而来接受免疫注射的甲鱼,6个月内的死亡率近50%,6个月至1年死亡率高达60%。在发病方面,不论试验对照组或自然对照组,其发病情况与天然养殖的存活率或既往的发病率相符。我们从其它个别养殖场或养殖专业户了解到,他们所养殖的甲鱼存活率均在70%以下,有几个场甚至不足40%。病因多为腐皮、出血、红底板,活检所见红色腹水,肝、肾肿,肠道红肿等。

在发病症状方面的最大特点是,接受过该疫苗免疫注射的甲鱼病变轻,而且多数有逐渐恢复的倾向;而未接受免疫注射的甲鱼,病变极其严重,往往在5—7天内死亡。在出现体表穿孔、溃病上,后者比前者多而严重。据我们长期观察所见,那些接受过免疫注射但仍有病变的甲鱼,可在3—4周内康复,这可能与机体的抵抗力作用在感染过程中受疫苗抗原再次刺激而产生的回忆反应所起的作用有关。

其它来接受免疫注射的甲鱼,除死亡率较免疫注射组明显高外,多伴有多种病征,如颈部红肿、腐皮、溃瘍、穿孔和出血等,至少二至三种病征在同一甲鱼中出现,但免疫注射的甲鱼,即使出现病变,也比较单一或轻微。

为了查明发病的起因与病原学的联系,我们将典型出血致病的甲鱼或致死的甲鱼分别送检,先后由水科院南海水产研究所、江苏省微生物检验所、深圳市防疫站与旺胜生物工程公司作病原学检查,均分离到气单胞菌属,大多数为嗜水性单胞菌与温和单胞菌,其次为杀蛙性单胞菌,这方面的工作在国内外均有报导。本菌近年来在华南、华中多省的鳖场都发生过不同程度的突发性出血性败血症,通常可致50%的鳖死亡,如果合并其他病原体,如病毒、真菌或原虫的感染,其死亡率可达90%或更高,加之目前缺少有效的防治方法与药物,可见该病菌对养鳖带来的危害是何等的严重。旺胜寡糖分子水产疫苗经在我公司养殖场使用以来,可以清楚地看到,对接受该疫苗免疫注射的甲鱼,起到明显的保护作用,而且持续时间长,疫苗易贮存,使用方便,经反复多次使用,来发现由该疫苗所致的副作用。

总之,该疫苗可给予受免疫的鳖起到明显的保护作用,保护率可高达90%以上。以目前华南、华东、华中鳖的养殖成熟期,在常温情况下一年、恒温条件下8—10个月来考虑,免疫的鳖可直到作为商品上市后仍保持其免疫力。目前,在没有特效治病药物的情况下,通过一次性免疫注射,可获得长期间有效的保护作用,提高鳖的存活率,增加产品收获量。另一方面,这种冻干、粉状的旺胜寡糖分子水产疫苗,对于偏远、设备交通条件差的山区尤其实用,因为它不需要低温保存,也不需要特殊设备或工具。

表1 旺胜寡糖分子水产疫苗对存活率的影响

处 理	存活数	死亡数	合 计	存活率%
注射疫苗	924 (763.53)	34 (194.47)	958	96
未注射疫苗	1577 (1737.47)	603 (442.53)	2180	72
合 计	2501	637	3138	80

$\chi^2=239.15$, $P<0.005$, 两组有高度显著差异

表2 旺胜寡糖分子水产疫苗对存活率的影响

处 理	存活数	死亡数	合 计	存活率%
注射疫苗	1006 (893.33)	94 (200)	1100	91
未注射疫苗	334 (446.67)	216 (100)	550	60
合 计	1340	300	1650	81

$\chi^2=233.37$, $P<0.005$, 两组有高度显著差异

(上接第17页) 计数共有金钱鱼7913尾, 网箱养殖的成活率为71.3%。

(二) 金钱鱼栖息于近岸岩礁海区或海藻丛生的海域, 且为杂食性小型鱼类。但在人工养殖中, 金钱鱼对饵料的要求方面, 迄今未见报道。本试验所采取的技术措施也仅是一种尝试。这些措施的应用, 主要目的是在于增强肉糜的粘性、诱食性、适口性以及提高饵料的营养价值。在养殖过程中发生过腹部膨胀等症状的鱼病, 尽管我们采用于饵料中添加维生素添加剂等方法而取得了一定的效果, 但这病是否属于“营养缺乏症”仍有待进一步探讨。故此, 金钱鱼淡水网箱养殖所需的饵料还需进一步的研究。

(三) 金钱鱼幼鱼期具有集群习性, 若放养过密, 势必加剧个体间生长的差异, 不利于鱼体生长潜力的发挥; 反之, 放养过疏, 则造成物资器材的浪费。这些都将导致养殖产量及经济效益的降低。经过试验, 我们认为: 金钱鱼苗“标粗”阶段的密度以400—500尾/ m^2 为宜, 而在养成阶段则以150—200尾/ m^2 为宜。

(参考文献略)