

斑点叉尾 μ 急性流行性传染病的病原分离与病理学观察

汪开毓, 耿毅, 陈德芳, 黄小丽

(四川农业大学 水产系, 四川 雅安 625014)

摘要:对 2004~2005 年四川发生的斑点叉尾 μ (*Ictalunes punctatus*) 急性流行性传染病进行病原学和病理学研究, 从自然发病的斑点叉尾 μ 肝、肾分离到 1 株致病菌 (CCF00024)。经人工感染实验证实该菌为斑点叉尾 μ 急性流行性传染病的病原菌。根据其形态和生理生化特性鉴定其为嗜麦芽寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)。病鱼的眼观病变主要表现为体表 (特别是腹部和下巴) 充血、出血和褪色斑, 腹部膨大, 腹腔内充有淡黄色或带血的腹水, 胃肠道黏膜充血、出血, 肠道发生套叠, 甚至肠脱, 肠腔内充满淡黄色或含血的黏液。组织学病变主要表现为全身组织器官广泛性水肿, 出血、变性、坏死, 以及中性白细胞、巨噬细胞等炎症细胞浸润, 特别是骨骼肌、肝、脾、肾和胃肠道的损伤较为严重。细胞病理学表现为, 病鱼肝、脾、肾肠道等器官的细胞均有较为严重的损伤, 细胞肿胀, 超微结构被破坏, 特别是线粒体和细胞核的损伤明显。线粒体表现为肿胀, 嵴断裂或溶解消失, 呈空囊状; 细胞核变形, 染色质溶解或发生浓缩、裂解位移, 甚至形成类似凋亡小体的结构。[中国水产科学, 2007, 14(3): 457-465]

关键词:斑点叉尾 μ ; 急性流行性传染病; 嗜麦芽寡养单胞菌; 病理学

中图分类号: S941.49

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2007)03-0457-09

斑点叉尾 μ (*Ictalunes punctatus*) 亦称沟鲶, 是优良的淡水养殖品种, 原产于美洲, 中国于 1984 年引进, 并于 1987 年人工繁殖取得成功^[1]。目前, 已推广到 20 多个省市, 并形成了较大的养殖规模。但随着斑点叉尾 μ 养殖地域的扩展、养殖规模的扩大以及集约化程度的提高, 疾病的危害也越来越大。在中国, 目前危害斑点叉尾 μ 的主要疾病有斑点叉尾 μ 病毒病 (CCVD)、肠型败血症 (ESC)、柱形病 (Columnaris disease)、出血性败血症 (Hemorrhagic septicemia) 和小瓜虫病等。2004 年 3 月以来, 四川、重庆等地发生了一种新的斑点叉尾 μ 暴发性传染病^[2], 该病在症状与病变方面与以前报道的斑点叉尾 μ 疾病存在明显不同, 给当地的斑点叉尾 μ 养殖带来了严重的经济损失。该病具有发病突然、传染快、死亡率高等特点, 各种年龄的斑点叉尾 μ 都可能感染发病。本研究对该病的病原进行了分离鉴定, 同时对自然病例和人工感染发病的斑点叉尾 μ 进行系统的病理形态学研究, 旨在对该病的防治提供基础研究依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验鱼 患病斑点叉尾 μ 采于四川龙泉湖、三岔湖、鲁班湖和黑龙滩水库等地的养殖场, 为患病濒死或刚死的个体。健康斑点叉尾 μ 购自四川省斑点叉尾 μ 繁育基地, 体质量 (140 \pm 10.7)g。

1.1.2 培养基 普通营养琼脂、TSA、TSB 和兔血 TSA 营养琼脂按常规方法制备; 细菌生化微量鉴定管购自杭州天和生物试剂有限公司, 批号: 20040719。

1.2 方法

1.2.1 病原菌分离 无菌条件下从病鱼肝、肾取样划线接种于普通营养琼脂平板和兔血 TSA 营养琼脂平板置于 28 $^{\circ}$ C 培养 24 h, 挑取单个优势菌落在 TSA 平板上再次划线, 获得纯培养的菌株命名为 CCF00024, 转接到 TSA 斜面培养基于 4 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.2 人工感染试验 将分离菌株 CCF00024 接种 TSA, 28 $^{\circ}$ C 培养 18 h 后, 用无菌生理盐水洗下, 参照麦氏比浊管调整细菌浓度为 1.5 \times 10⁸ CFU/mL。

收稿日期: 2006-03-02; 修订日期: 2006-05-28.

基金项目: 四川省科技攻关项目 (JY029-040-2).

作者简介: 汪开毓 (1955-), 男, 博士, 教授, 主要从事水产动物病害学的研究. E-mail: kywang@sicau.edu.cn

健康斑点叉尾鮰 60 尾平均分成 3 组,其中 2 个组作为实验组,每尾鱼腹腔接种 0.5 mL 菌液;另外 1 组作为对照组每尾鱼腹腔注射 0.5 mL 无菌生理盐水。接种后观察鱼的发病死亡情况,并对死亡鱼及时剖检并将致病菌再次分离。

1.2.3 病原菌形态学观察 将菌株 CCF00024 接种普通琼脂平板、TSA 平板和兔血 TSA 营养琼脂平板,28 ℃ 培养 24 h 后观察菌落的大小,形态,同时革兰氏染色于光学显微镜以及磷钨酸染色于电子显微镜下观察细菌的形态特征。

1.2.4 病原菌生理、生化特性测定 各项生理生化指标的测定参照文献[3]进行。

1.2.5 临床症状及病理学观察 对自然发病鱼和人工感染病鱼的异常表现进行详细观察,并对症状明显的病鱼进行解剖,观察其眼观的病理变化。自然发病和人工感染鱼各取 10 尾,分别采取患病鱼的骨骼肌、鳃、心、肝、脾、肾、脑、胃和肠道等组织, Bouin's 液固定 48 h,石蜡包埋切片,HE 染色,光学显微镜观察;同时取病鱼的肝、脾、肾和肠等组织,2.5%的戊二醛固定 76 h,乙醇梯度系列脱水,环氧树脂(618)包埋,超薄切片,醋酸铀及柠檬酸铅染色,H-600 透射电镜观察。

2 结果与分析

2.1 临床症状与解剖观察

自然发病初期病鱼表现为游动缓慢,靠边或离群独游,食欲减退或丧失,并很快发展为各鳍条边缘发白,鳍条基部、下颌及腹部充血、出血。随病程的发展腹部膨大,部分病鱼体表出现大小不等的圆形、椭圆形或不规则的褪色斑(图版 I-1),褪色斑处发生糜烂或溃疡,并着生水霉;部分鱼出现头向上,尾向下,垂直悬挂于水体中的特殊姿势,最后病鱼沉入水底死亡。发病严重的池其发病率在 90% 左右,死亡率 80% 以上。病死鱼主要表现为腹部膨大,肛门红肿、外突,腹腔内充满大量淡黄色或血色腹水,胃内充满大量白色浓稠的黏液,胃底部和幽门部黏膜充血、出血;肠壁变薄,充血、出血,肠腔内充有大量含血的黏液,肠道发生痉挛,常于后肠可见 1~2 个肠套叠(图版 I-2),甚至出现肠道脱出肛门的现象(图版 I-3),肝肿大,呈灰黄色,质地变脆,部分鱼可见出血斑点;脾、肾肿大,淤血,呈紫黑色;鳃肿胀发白;部分病鱼可见鳃和脂肪充血和出血。

人工感染试验的斑点叉尾鮰 在接种感染后 8 h 出现游动无力,呼吸缓慢,并逐步出现头向上,尾向下悬垂于水体中的特殊姿势,12 h 后开始发生死亡,至 36 h 时,两感染组的死亡率都达到 100%。人工感染发病死亡鱼的症状、病变与自然发病斑点叉尾鮰 症状和病变相似,而对照组未见任何异常。从感染死亡鱼的肝、肾中分离到与 CCF00024 形态与生理生化特征一致的细菌,表明 CCF00024 是斑点叉尾鮰 急性流行性传染病的病原菌。

2.2 病原菌形态特征

CCF00024 为革兰氏阴性杆菌,无荚膜,无芽胞,极生端鞭毛,鞭毛数大于等于 2(图 1)。菌株 CCF00024 在普通营养琼脂上形成呈灰白色,圆形,表面光滑,边沿整齐的半透明菌落;在 TSA 平板上形成圆形,表面光滑,边缘整齐,直径 0.8~1.2 mm 的透明无色菌落;在兔血平板上出现明显的 β 溶血环。



图 1 菌株 CCF00024 的电镜负染照片,×17 000

Fig. 1 Negatively stained electron micrograph of strain CCF00024 cell with three polar flagella, ×17 000

2.3 病原菌生理生化特征

CCF00024 为非发酵型严格需氧、具有运动能力的革兰氏阴性杆菌,生长温度为 15~41 ℃,最适生长温度为 25~30 ℃,在含盐量 5% 以下的培养基上能生长,生长 pH 范围为 5.0~9.0,最适 pH 为 6.0~7.0,其他的生理生化特征见表 1。根据上述结果并参照文献[3],鉴定该病原菌为麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)。

2.4 组织病理学特征

皮肤肌肉:体表褪色斑处的表皮细胞变性、坏死,其下骨骼肌纤维变性肿胀,横纹模糊甚至消失,肌浆红染均质化,或发生不规则溶解,呈蜂窝状,严重者肌纤维发生坏死、断裂、崩解。肌间隙毛细血管扩张淤

血,并有巨噬细胞和中性白细胞浸润(图版I-4)。

鳃:鳃小片水肿,呼吸上皮与毛细血管分离,上皮细胞肿胀、变性、脱落,充滞于鳃小片间隙内及鳃丝间,同时有大量中性白细胞浸润(图版I-5)。

心脏:心外膜疏松,水肿,血管扩张充血,巨噬细胞和中性白细胞浸润;心肌纤维颗粒变性,肌横纹模糊不清或消失,肌间隙增宽;血管扩张充血,出血,巨

噬细胞、中性白细胞浸润(图版I-6)。

肝胰腺:肝水肿,狄氏间隙增宽,肝血窦受压缩小,甚至闭锁,肝细胞肿胀,颗粒变性和空泡变性,甚至发生坏死(图版I-7,8)。胰腺腺泡上皮变性,甚至细胞解体发生凝固性坏死,同时大量炎症细胞浸润(图版I-9)。

表1 CCF00024菌株的生理生化特征

Tab. 1 Biochemical and physiological characteristics of strain CCF00024

测定项目 Test item	CCF00024	<i>S. maltophilia</i>	测定项目 Test item	CCF00024	<i>S. maltophilia</i>
氧化/发酵 Oxidation/Fermentation	O	O	D-葡萄糖产气 D-glucose gas production	—	—
氧化酶 Oxidase	—	—	产酸 Acid production		
过氧化氢酶 Catalase	+	+	D-葡萄糖 D-glucose	W	+
DNA酶 DNase	+	+	乳糖 Lactose	—	+
脂酶(吐温80) Lipase(Tween 80)	+	+	麦芽糖 Maltose	+	+
蛋白酶 Protease	+	+	甘露糖 Mannose	—	+
脲酶 Urease	+	—	蔗糖 Sucrose	—	+
苯丙氨酸转氨酶 Phe deaminase	—	—	鼠李糖 Rhamnose	—	—
赖氨酸脱羧酶 Lys decarboxylase	+	+	阿拉伯糖 Arabitol	—	—
精氨酸双水解酶 Arginine dihydrolase	—	—	纤维二糖 Cellobiose	—	V
鸟氨酸脱羧酶 Ornithine decarboxylase	—	—	果糖 Fructose	W	+
硝酸盐还原作用 Nitrate reduction	+	V	海藻糖 Trehalose	—	—
枸橼酸盐 Citrate	+	V	甘露醇 Mannitol	—	—
丙二酸盐 Malonate	+	—	水杨苷 Salicin	—	—
MR Methyl red	—	—	肌醇 Inositol	—	—
吲哚 Indol	—	—	山梨糖醇 Sorbitol	—	—
H ₂ S Hydrogen sulfide	—	—	七叶苷 Esculin	+	+
明胶液化 Gelatine hydrolysis	+	+	牛奶酪化 Milk catabolize	+	+

注:“O”为氧化,“+”为阳性,“—”为阴性,“W”为弱阳性反应,“V”为16%~84%的菌株阳性;*S. maltophilia*理化特征参考文献[4-5]。

Note:“+”Positive;“—”Negative;“W”Weak reaction;“V”16%~84% strains are positive. Physiological and biochemical characteristics of *S. maltophilia* refer to references [4] and [5].

脾:白髓体积缩小,淋巴细胞数量减少,中央动脉四周出现大量红细胞(图版 I-10);红髓广泛性淤血,脾窦内充满大量红细胞、巨噬细胞和一定量的中性白细胞。

肾:肾小球肿大,肾小囊内有多少不等的红染炎症渗出液和炎症细胞(图版 I-11);肾小管上皮细胞变性、坏死,严重的病例肾小管结构崩解;肾间质水肿、出血,拟淋巴组织减少,大量中性白细胞和巨噬细胞浸润(图版 I-12)。

脑:脑膜血管扩张,充血,脑实质水肿,疏松多孔,呈海绵状;脑实质内血管周间隙增宽,神经细胞肿胀,体积增大,胞核淡染,靠边,有的发生固缩。

胃:黏膜上皮细胞变性、坏死、脱落,固有膜裸露,固有膜毛细血管扩张充血,大量中性白细胞、巨噬细胞浸润,胃腺上皮细胞肿胀,坏死(图版 II-1)。

肠道:肠上皮细胞变性、坏死、脱落,脱落的上皮细胞、单核细胞和黏液及大量中性白细胞和红细胞充滞于肠腔内,固有膜和黏膜下层毛细血管扩张淤血,同时有多量中性白细胞、巨噬细胞浸润,套叠处更明显(图版 II-2);病变严重的病例可见固有膜、黏膜下层坏死,甚至整个肠壁都发生坏死,组织结构破坏,细胞崩解、消失,只剩下组织轮廓(图版 II-3)。

2.5 细胞病理学

肝:肝细胞内糖原颗粒减少,胞浆内出现较多的水泡;线粒体肿胀,嵴断裂或溶解,整个线粒体呈囊泡状;内质网扩张;细胞核变形,染色质溶解,电子密度降低,一些细胞的染色质浓缩,边移于核膜下(图版 II-4)。

肾:肾小管上皮细胞刷状缘微绒毛肿胀,脱落,线粒体肿胀,内质网扩张(图版 II-5),溶酶体增多,核内染色质减少,电子密度降低,一些上皮细胞坏死,核溶解消失(图版 II-6);肾间造血组织淋巴样细胞线粒体肿胀,空泡化,核膜扩张,甚至核膜破裂,细胞坏死(图版 II-7、8)。

脾:淋巴细胞核膜扩张,染色质浓缩,电子密度增高,碎裂成大小不等的团块,边移于核膜下(图版 II-9、10)。

肠:肠上皮微绒毛脱落,上皮细胞间隙增宽,细胞内出现大小不等的水泡(图版 II-11),线粒体肿胀,内质网扩张,核糖体颗粒脱落,细胞核染色质浓缩,边移(图版 II-12);严重者上皮细胞坏死,脱落,固缩,正常结构完全消失。

3 讨论

2004年斑点叉尾鲴急性流行性传染病首次发生在四川龙泉湖,2005年4月相继在四川、重庆等地的斑点叉尾鲴主要养殖区大面积暴发。该病具有发病急、传播快、发病率和死亡率高,而且很难控制等特点。其在病理剖解上以下颌充血与出血、体表褪色斑、腹水、卡他性-出血性-坏死性肠炎和后肠的肠套叠为病变特征,尤其是体表的褪色斑和肠道的套叠具有特征性示病意义。本研究从病鱼的体内分离到1株革兰氏阴性短杆菌(CCF00024),通过人工接种试验证实其为该病的病原菌,根据该菌的形态特征和生理生化特性鉴定其为嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)。同时从其他自然发病的病鱼样本体内分离到的优势菌株的形态特征、生理生化特性与CCF00024相同,从而表明嗜麦芽寡养单胞菌是近年来发生在四川、重庆等地的斑点叉尾鲴急性流行性传染病的病原菌。

嗜麦芽寡养单胞菌由Hugh等^[6]于1960年发现并命名,1983年Swings等^[7]将其归为黄单胞菌属(*Xanthomonas*),并命名为嗜麦芽黄单胞菌(*X. maltophilia*),1993年Palleroni等^[8]根据该菌的基因及理化特征有别于其他黄单胞菌而将其从黄单胞菌属划出,另建一新属,为寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)^[6]。嗜麦芽寡养单胞菌属于非发酵型,专性需氧不形成芽孢的革兰氏阴性菌,广泛分布于自然界,是人类重要的条件致病菌和院内感染菌,可引起败血症、心内膜炎、肺炎、结膜炎、脑炎、尿道感染、消化道感染和伤口感染等^[9],也可使山羊^[10]和猪^[11]等陆生动物及一些水生动物感染而致病。Ben等^[12]报道嗜麦芽寡养单胞菌是欧洲和美国金枪鱼(*Teriocheir sinensis*)的一种严重致病菌,此外,该菌还可感染鳄鱼(*Osteolaemus tetraspis*)^[13]、黄缘闭壳龟(*Cistoclemmys flaciomarginata*)^[14]、卵型鲟(*Trachinotus ovatus*)^[15]和中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[16]等水产养殖动物。目前,未见该菌感染斑点叉尾鲴致病的报道,而本研究中从发生“急性流行性传染病”的斑点叉尾鲴体内分离到了该菌,并通过人工感染试验发现该菌对斑点叉尾鲴具有高度的致病性,并表现出与自然感染相似的临床症状与病理学特征,由此可见该菌是斑点叉尾鲴“急性流行性传染病”的病原菌。

组织病理学观察发现斑点叉尾鲴急性流行性传

染病的主要征状是全身广泛性水肿,细胞肿胀、变性、坏死和炎症细胞浸润,特别是肾、肝、胃肠道和骨骼肌的损伤较为严重,为其损伤的靶器官。由于肝、肾的损伤,导致体内水、钠代谢平衡失调,出现全身性水肿,在临床上表现为腹部膨大、腹水。脑的损伤导致病鱼出现痉挛式的游动或头向上,尾向下悬浮于水中的异常行为。病鱼体表褪色斑的组织病理学基础是表皮和骨骼肌变性、坏死和炎症细胞浸润,显示嗜麦芽寡养单胞菌对斑点叉尾鮰皮肤和骨骼肌具有明显的损害作用。在鱼类骨骼肌病理学上, V_E 或 S_e 缺乏,氧化油脂^[17-18]和大西洋鲑(*Salmo salar*)胰腺病^[19]都会造成骨骼肌的严重损害,但与这些疾病相比,本病更侧重于局灶性的急性坏死性炎症变化。

细胞病理学观察发现,病鱼主要器官的细胞均有不同程度的损伤,特别是线粒体和细胞核的损伤很明显。线粒体表现为肿胀,嵴断裂,溶解消失,呈空囊状等病变。线粒体是细胞内重要的能量代谢场所,线粒体受损影响能量供应,钠泵作用受到影响,导致细胞内外的 $Na^+ - K^+$ 平衡失调,造成细胞内 Na^+ 滞留,从而使细胞外的水分过多进入细胞,导致细胞的肿胀和水泡变性;能量供应不足还可引起心、鳃、肝、肾和脑等重要器官的功能障碍,并随病程的发展,细胞损伤进入不可恢复性阶段,发生广泛性坏死,从而造成全身多器官功能衰竭,最终导致鱼体死亡。细胞核的变化主要表现为变形、染色质溶解,或发生浓缩、裂解边移,特别是细胞核浓缩、裂解边移的病变很类似细胞凋亡。目前报道的斑节对虾(*Penaeus monodon*)^[20]、中华绒螯蟹^[21]、鲫(*Carassius auratus*)^[22]、鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[23]、鳊(*Siniperca chuatsi*)^[24]和大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)^[25-26]等水产动物细菌感染或细菌胞外产物、病毒性感染可观察到相似的细胞病变,这类病变的发生机理及在疾病的发生与发展过程中的意义有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 郭国民,陈慈,李恒颂,等.我国斑点叉尾鮰养殖的现状和前景展望[J].中山大学学报论丛,1998,4:75-79.
- [2] 耿毅,汪开毓.斑点叉尾鮰一种暴发性传染病的初报[J].科学养鱼,2005,16(3):51.
- [3] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001:364-398.
- [4] Denton M, Kerr K G. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. Clin Microb Rev, 1998, 11(1): 57-80.
- [5] Krieg N R, Holt J G. Bergey's manual of systematic bacteriology(9th)[M]. Baltimore: Williams & Wilkins Press, 1984.
- [6] Hugh R, Ryschenkow E. Pseudomonas maltophilia, an alcaligenes-like species[J]. J Gen Microbiol, 1961, 26: 123-132.
- [7] Swings J, De Vos P, Van der Mooter M. Transfer of pseudomonas maltophilia HUGH 1981 to the genus Xanthomonas as Xanthomonas maltophilia (HUGH 1981)[J]. Comb Nov Int J Syst Bacteriol, 1981, 33: 400-413.
- [8] Palleroni N J, Bradbury J F. Stenotrophomonas, a new bacterial genus for Xanthomonas maltophilia (Hugh 1980) Swings et al. 1983[J]. Int J Syst Bacteriol, 1993, 43(3): 606-609.
- [9] Denton M, Kerr K G. Microbiological and clinical aspects of infection associated with Stenotrophomonas maltophilia [J]. Clin Microb Rev, 1998, 11(1): 57-80.
- [10] Johnson E H, Busaidy R, Hameed M S. An outbreak of lymphadenitis associated with Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia in Omani goats [J]. J Vet Med Ser B, 2003, 50(2): 102-104.
- [11] 张浩吉,谢明权,张健.猪源嗜麦芽寡养单胞菌16S rRNA基因的克隆和序列分析[J].中国兽医科技,2004,34(6):3-5.
- [12] Ben G B, Vieites J M, Kim S H. Specific detection of Stenotrophomonas maltophilia strains in albacore tuna (Thunnus alalunga) by reverse dot-blot hybridization [J]. Food Control, 2002, 13(4): 293-299.
- [13] Harris N B, Rogers D G. Septicemia associated with Stenotrophomonas maltophilia in a West African dwarf crocodile (Osteoleaemus tetraspis subsp. tetraspis) [J]. J Vet Diagn Invest, 2001, 13(3) 255-258.
- [14] 周永灿,朱伟华,张本,等.卵形鲳鲹大规模死亡的病原及其防治[J].海洋科学,2001,25(4):40-44.
- [15] 黄斌,陈世锋,陈勇.黄缘闭壳龟囊肿病的研究[J].淡水渔业,2002,32(5):44-46.
- [16] 李耀年,江定丰,李琳.28株水产动物致病菌的编码鉴定[J].水利渔业,2004,24(2):62-64.
- [17] Muria T. Interactions of dietary α -tocopherol, oxidized menhaden oil and ethoxyquin on channel catfish (Ictalurus punctatus) [J]. J Nutr, 1974, 104: 1 416-1 431.
- [18] Wilson R P. Dietary vitamin E requirement of fingerling channel catfish [J]. J Nutr 1984, 114: 2 053-2 058.
- [19] Ferguson H W, Rice D A, Lynas J K. Clinical pathology of myodegeneration (pancreas disease) in Atlantic salmon (Salmo salar) [J]. Vet Rec, 1986, 119: 297-299.
- [20] 张朝霞,王军,苏永全,等.斑节对虾病原菌胞外产物的致病性研究[J].海洋学报,2000,22(5):94-99.
- [21] 陆宏达,范丽萍,薛美.中华绒螯蟹小核糖核酸病毒病及其组织病理学[J].水产学报,1999,23(1):60-66.
- [22] 袁莉民,李恕,丛宁.鲫鱼暴发性流行肝病组织的超微病理变化[J].江苏农学院学报,1994,15(3):70-73.
- [23] 郭琼林,陈燕,韩先朴.鳗鲡出血性开口病的病理学研究[J].水生生物学报,1997,21(4):327-333.

- [24] 张奇亚,李正秋. 鳊鱼病毒病原的检出及组织病理分析[J]. 水生生物学报,1999,23(2):151-154.
- [25] 金珊,郑天伦,王国良,等. 溶藻弧菌胞外产物对大黄鱼的致病性[J]. 中国兽医学报,2004,24(5):439-441.
- [26] 金珊,蔡完其,於宏,等. 大黄鱼溶藻弧菌病细胞病理变化的初步研究[J]. 海洋科学,2003,27(2):59-62.

Isolation of pathogen and observation on pathology of acute epidemic disease in channel catfish, *Ictalunes punctatus*

WANG Kai-yu, GENG Yi, CHEN De-fang, HUANG Xiao-li
(Fisheries Department, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China)

Abstract: In 2004 and 2005, an acute epidemic disease in channel catfish (*Ictalunes punctatus*) broke out in many farms of Sichuan Province. The pathogen and the pathology of diseased channel catfish were studied. A bacterial strain named CCF00024 was isolated from the kidney and liver of the channel catfish with the acute epidemic disease. The isolated bacterium was proved to be the pathogen of the disease by infection experiment. The pathogenic bacterium was identified as *Stenotrophomonas maltophilia* on the basis of their morphological features, physiological and biochemical characteristics. Examination on perceived changes showed congestion and hemorrhage in the body surface, especially in the abdomen and lower jaw, and many irregular, variably sized areas of depigmentation in the body surface, distension of abdomen, yellowish or flooded fluid in the peritoneal cavity, congestion and hemorrhage in mucosa of gastrointestinal tract and bloody mucus and fluid in the lumen, intussusception in rectum and even prolapse. Histopathological examination showed severe edema, hemorrhage, degeneration and necrotic changes in many organs including inflammatory cell infiltration; especially, serious lesions occurred in the kidney, liver, gastrointestinal tract, spleen and skeletal muscle. The kidney showed edema, degeneration and necrosis in renal tubular epithelia, and necrosis with macrophages and neutrophil infiltration in the hematopoietic tissue. The liver showed edema, vacuolar degeneration and necrosis. Epithelia mucosa of the gastrointestinal tract experienced degeneration and necrosis; the lamina propria and tunica submucosa showed edema and infiltration with lymphocytes, macrophages and neutrophils. The spleen showed congestion, hemorrhage, diminution in lymphoid tissue and infiltration with macrophages and neutrophils. Degeneration and necrosis with macrophages and neutrophil infiltration appeared in skeletal muscles. Cytopathological changes showed that swelling and ultrastructure breaking in visceral organ cells. The mitochondria swelled with disintegration and lyses of the cristae. The chromatin showed condensation and margination and the apoptotic-body like structures were observed in the cells of spleen and kidney. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(3): 457-465]

Key words: *Ictalunes punctatus*; acute epidemic disease; *Stenotrophomonas maltophilia*; pathology

图版说明

图版 I

1. 病鱼体表出现褪色斑;2. 后肠出现肠套叠;3. 病鱼腹部膨大,肠脱;4. 骨骼肌变性、坏死、出血和炎症细胞浸润,HE,×400;5. 鳃小片上皮细胞变性、坏死和中性白细胞浸润,HE,×400;6. 心肌变性,肌间隙有大量红细胞和炎症细胞浸润,HE,×400;7. 肝水肿,细胞变性,坏死,HE,×400;8. 肝细胞空泡变性,HE,×400;9. 胰腺坏死,炎症细胞浸润,HE,×400;10. 脾小体淋巴细胞减少,大量红细胞出现,HE,×400;11. 肾小球肾炎,肾小管上皮变性,坏死,HE,×400;12. 肾间造血组织坏死,炎症细胞浸润,HE,×1 000.

图版 II

1. 胃腺上皮坏死,HE,×400;2. 肠道套叠,肠上皮坏死,脱落,炎症细胞浸润,HE,×200;3. 肠上皮、固有膜和粘膜下层坏死,HE,×200;4. 肝细胞线粒体嵴断裂、溶解,细胞核染色质浓缩,裂解边移,×8 000;5. 肾小管上皮细胞线粒体肿胀,内质网扩张,×1 500;6. 肾小管上皮细胞内溶酶体增多,细胞核溶解,消失,×6 000;7. 肾间造血组织细胞核膜破裂,×8 000;8. 肾间造血组织细胞线粒体肿胀,空泡化,×8 000;9. 脾脏淋巴细胞核染色质浓缩,裂解边移,×8 000;10. 脾脏淋巴细胞核裂解成大小不等的小体,×10 000;11. 肠上皮细胞间隙增宽,细胞内出现水泡,×8 000;12. 肠上皮细胞线粒体肿胀,内质网扩张,细胞核染色质浓缩,裂解边移,×12 000.

Plate I

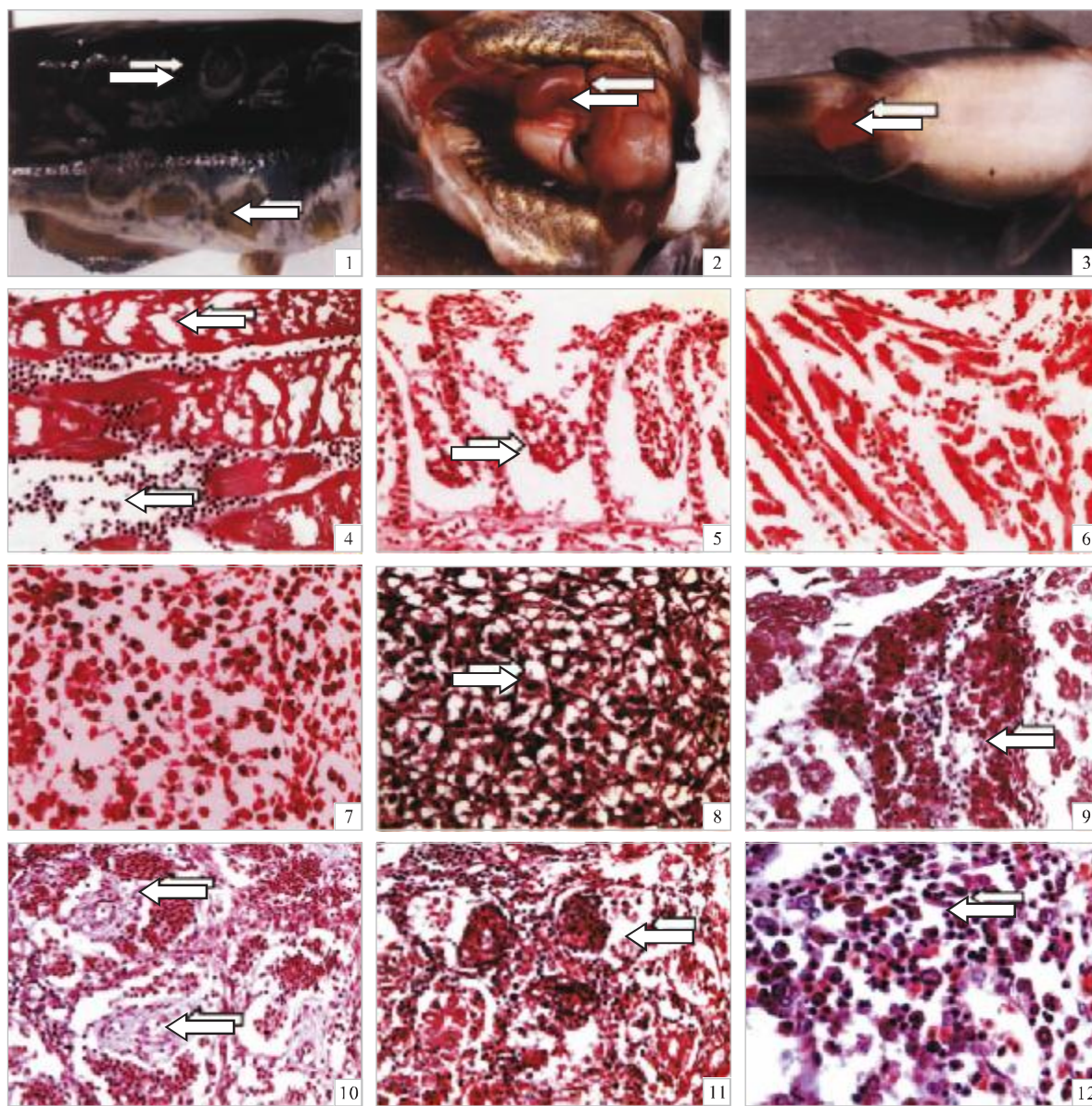
1, Irregular, variably sized areas of depigmentation in the body surface. 2, Intussusception in diseased fish. 3, Abdomen distension and rectum prolapse in diseased fish. 4, Degeneration, necrosis, hemorrhage and inflammatory cell infiltration in skeletal muscles, HE, ×400. 5, Degeneration, necrosis and neutrophilic, granulocyte infiltration in gill lamella epithelia, HE, ×400. 6, Degeneration, hemorrhage and inflammatory cell infiltration in cardiac muscles, HE, ×400. 7, Edema, degeneration and necrosis in liver cells, HE, ×400. 8, Vacuolar degeneration in liver cells, HE, ×400. 9, Coagulation necrosis and inflammatory cell infiltration in pancreas, HE, ×400. 10, Hemorrhage and lymphocytes decreasing in spleen, HE, ×400. 11, Acute glomerulonephritis, renal tubular epithelia degeneration and necrosis in kidney, HE, ×400. 12, Necrosis and inflammatory cell infiltration in kidney hematopoietic tissues, HE, ×1 000.

Plate II

1, Necrosis occurred in gastric gland epithelia, HE, ×400. 2, Degeneration, necrosis and inflammation cell infiltration in rectum with intussusception, HE, ×200. 3, Degeneration and necrosis in epithelia mucosa, lamina propria and tunica submucosa, HE, ×200. 4, Disintegration and lyses of the cristae in liver cells mitochondria, condensation and margination in chromatin, ×8 000. 5, The mitochondria swelling and endocyttoplasmic reticulum expanding in renal tubular epithelial cells, ×1 500. 6, Increasing lysosome and karyolysis in renal tubular epithelial cells, ×6 000. 7, The nuclear envelope rupturing in hematopoietic tissue cells of kidney, ×8 000. 8, The mitochondria swelling and vacuolization in hematopoietic tissue cells, ×8 000. 9, The chromatin condensation and margination in lymphocyte of spleen, ×8 000. 10, The structures like apoptotic-body in lymphocyte of spleen, ×10 000. 11, The intercellular space increased and the water vacuoles appeared in enterocyte, ×8 000. 12, The mitochondria swelling, the RER distension and the chromatin condensation and margination in enterocyte, ×12 000.

汪开毓等:斑点叉尾鮰急性流行性传染病的病原分离与病理学观察

Wang Kai-yu et al: Isolation of pathogen and observation on pathology of acute epidemic disease in channel catfish, *Ictalurus punctatus*

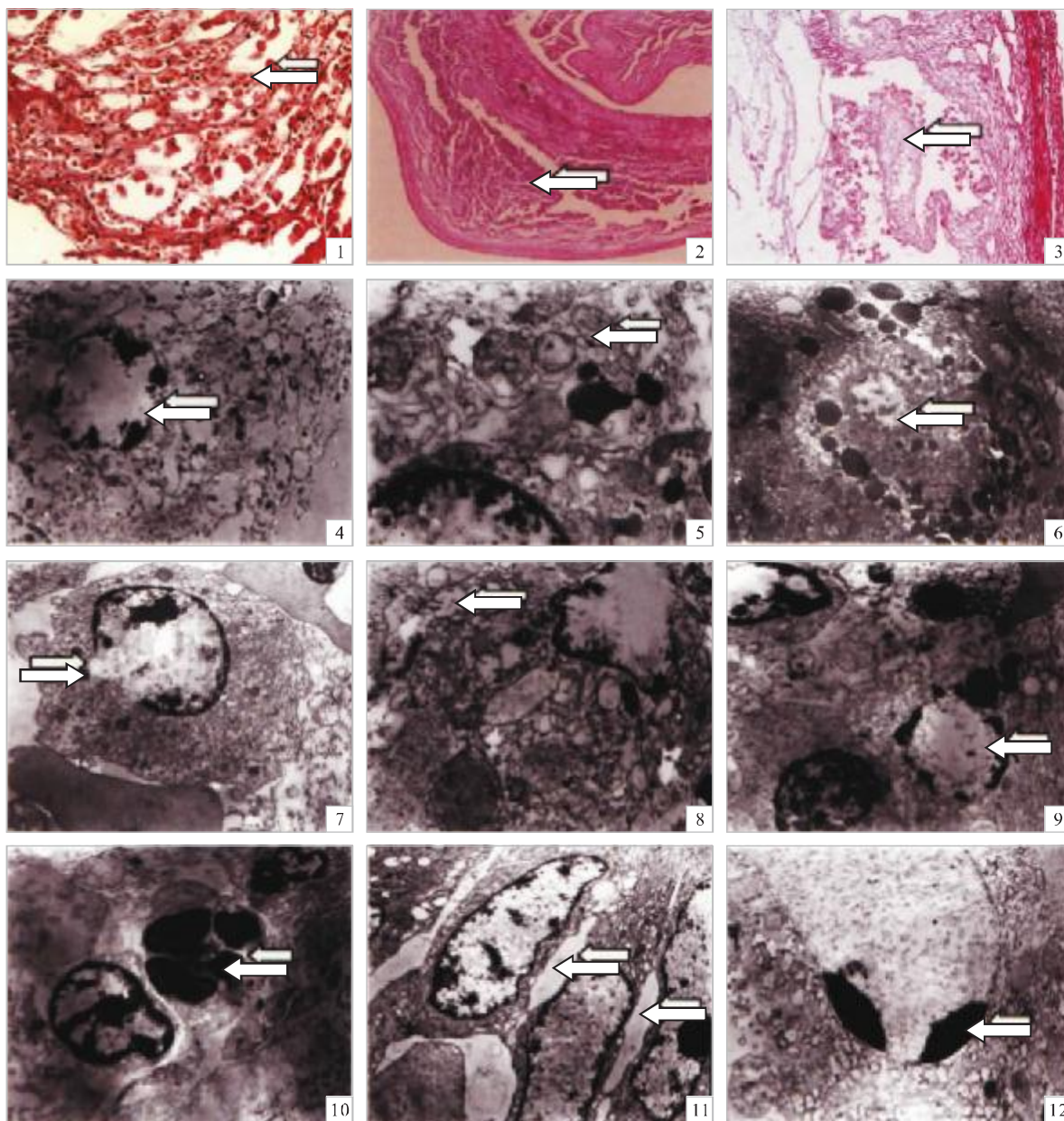


图版 I (图版说明见文末)

Plate I (Explanation at the end of text)

汪开毓等:斑点叉尾鮰急性流行性传染病的病原分离与病理学观察

Wang Kai-yu et al: Isolation of pathogen and observation on pathology of acute epidemic disease in channel catfish, *Ictalurus punctatus*



图版 II (图版说明见文末)

Plate II (Explanation at the end of text)