

DOI:10.16378/j.cnki.1003-1111.2019.01.017

长丝裂腹鱼温和气单胞菌的分离鉴定及药敏检测

雷雪平¹, 耿毅¹, 邓龙君², 甘维熊², 黄小丽¹, 陈德芳¹, 欧阳萍¹

(1. 四川农业大学 动物医学院, 四川 成都 611130; 2. 雅砻江水电开发有限公司, 四川 西昌 615000)

摘 要: 2017 年 4 月, 四川省西昌某养殖场养殖的长丝裂腹鱼暴发一种以体表、内脏器官出血及角膜浑浊为特征的传染病。为探究此次疫病的病因, 自病鱼的肝、脾和肾组织中分离到 1 株病原菌 LXP170412, 在脑心浸液琼脂上 28 ℃ 培养 48 h, 形成白色、半透明、表面光滑的圆形菌落, 人工感染试验证实了其病原性; 通过表型特征特性测定、16S rDNA 和 *gyrB* 基因序列分析鉴定, 分离菌 LXP170412 为温和气单胞菌。药敏试验结果表明, 温和气单胞菌 LXP170412 对强力霉素、环丙沙星、氧氟沙星、诺氟沙星等敏感, 对头孢拉定、新霉素、阿莫西林、庆大霉素、丁胺卡那、恩诺沙星、青霉素、罗红霉素等耐药。试验证实, 温和气单胞菌为此次流行病的病原菌, 药敏试验结果将为临床用药提供参考依据。

关键词: 长丝裂腹鱼; 温和气单胞菌; 分离鉴定; 药物敏感性

中图分类号: S941.4

文献标识码: A

文章编号: 1003-1111(2019)01-0109-06

温和气单胞菌(*Aeromonas sobria*)广泛分布于自然界, 是一种常见的人—兽—鱼共患条件致病菌^[1-2], 可致人类急性胃肠道感染^[3]、创伤感染^[4]和脑膜炎^[5]等; 也可感染尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[6]、鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)^[7]、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[8]等多种淡水鱼类, 引起腹水病^[9]、皮肤溃疡^[10-11]和出血性败血症^[12]等; 同时也对中华鳖(*Trionyx sinensis*)^[13]、牛蛙(*Rana catesbiana*)^[14]、大鲵(*Andrias davidianus*)^[15]等两栖类和爬行类水生动物致病, 给人类与水产养殖都造成较大的威胁。

长丝裂腹鱼(*Schizothorax dolichonema*), 是长江上游的特有鱼类。近年来, 由于梯级水电站的建立, 破坏了河流的连续性, 阻碍了鱼类的分布与洄游, 加之人类大量的捕捞, 导致长丝裂腹鱼资源量急剧下降, 已被《中国物种红色名录》记录为濒危物种。2017 年 4 月, 西昌某养殖场养殖的长丝裂腹鱼暴发一种以出血和角膜发白为主要特征的疾病, 导致长丝裂腹鱼的死亡率达 20%。为探究此次发病之病因, 自发病鱼体内分离纯化病原菌, 获得病原菌优势菌株 LXP170412。通过表型特征测定、16S rDNA 与 *gyrB* 基因序列分析鉴定, 菌株 LXP170412 为温和气单胞菌(*Aeromonas sobria*)。

进一步进行病原菌的药敏试验, 以期有效防治该病提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

患病长丝裂腹鱼采自西昌某养殖场, 具有明显临床症状, 体质量 352.5~674.7 g; 健康长丝裂腹鱼购于四川攀西某养殖场, 体质量(246.2±15.3) g。脑心浸液琼脂(北京欣经科生物技术有限公司); MH 培养基(杭州微生物试剂有限公司); 细菌 DNA 提取试剂盒、Mix、DNA 分子 Marker[天根生化科技(北京)有限公司]; 药敏纸片(杭州天和微生物试剂有限公司); 细菌生化微量鉴定管(杭州微生物试剂有限公司)。

1.2 病原菌的分离纯化

无菌条件下, 自病鱼肝、脾、肾取样, 划线接种于脑心浸液琼脂平板, 28 ℃ 培养 24~48 h, 挑取形态、大小一致的单个优势菌落, 于脑心浸液琼脂平板上再次划线, 获得纯培养菌株, 4 ℃ 保存备用。

1.3 人工感染试验

将获得的优势培养菌株 LXP170412 接种到脑心浸液琼脂平板, 28 ℃ 恒温培养 24 h, 用无菌生理盐水洗下, 用麦氏比浊法调整细菌密度分别为 2.0

收稿日期: 2018-04-18; 修回日期: 2018-07-16.

基金项目: 四川省淡水鱼产业技术体系创新团队建设(2017SICAD003); 雅砻江水电开发有限公司鱼类疾病防控体系建设项目(JPDC-D2017050).

作者简介: 雷雪平(1993), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水生动物病原学与病理学. E-mail: leixpingsicau@163.com. 通讯作者: 耿毅(1974), 男, 教授; 研究方向: 水生动物疾病. E-mail: gengyisicau@126.com.

$\times 10^8$ 、 2.0×10^7 、 2.0×10^6 、 2.0×10^5 cfu/mL。健康长丝裂腹鱼暂养7 d后,腹腔注射0.5 mL不同密度的菌液进行人工感染,对照组鱼注射等量无菌生理盐水,试验期14 d。攻毒后每日观察试验鱼的症状和发病死亡情况,对死亡鱼及时进行剖检和致病菌的再次分离。

1.4 病原菌菌株表型特性测定

观察分离菌的菌落形态,革兰氏染色观察细菌形态。挑取单个菌落接种于微量生化反应管,28 °C培养48 h,根据生化鉴定管的说明书判定结果,并根据《常见细菌系统鉴定手册》^[16]对菌株进行初步鉴定。

1.5 病原菌16S rDNA与gyrB基因序列测定及系统发育分析

使用细菌基因组DNA抽提试剂盒提取新鲜细菌基因组DNA。采用一对扩增细菌16S rDNA基因的通用引物^[17](上游引物:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3';下游引物:5'-TACGGCTACCTGTGTTACGAC-3')和gyrB基因通用引物^[18][上游引物:5'-GAAGTCATCATGACCGTTCTGCA(TC)GC(TCAG)GG(TCAG)GG(TCAG)AA(AG)TT(TC)GA-3';下游引物:5'-AGCAGGGTACGGA TGTGCGAGCC(AG)TC(TCAG)AC(AG)TC(TCAG)GC(AG)TC(TCAG)GTCAT-3']分别扩增16S rDNA基因与gyrB基因,预期扩增片段大小分别约为1500 bp与1200 bp。其反应体系与条件参照文献^[19]。反应结束后,用1%的琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增产物的大小并回收纯化。纯化后产物送成都擎科有限公司测序。将分离菌株的16S rDNA基因序列和gyrB基因序列GenBank中已知核酸序列进行Blast比对分析,分别调出与其同源性较高的序列进行多序列比对,用Mega 6.0构建系统发育树。

1.6 病原菌药物敏感性检测

采用纸片扩散法进行药物敏感性检测,将分离菌株接种于脑心浸液液体培养基中,28 °C振荡培养24 h,麦氏比浊法调整菌液密度为 2.0×10^8 cfu/mL,将菌液均匀涂布于MH平板上,贴上药敏纸片,28 °C培养24 h,测量抑菌圈大小,并参照美国临床实验室标准化研究所抗菌药物敏感性试验执行标准(M100-S18)判定菌株对药物的敏感性。

2 结果

2.1 临床症状及剖解检查

患病裂腹鱼主要表现为食欲减退甚至绝食,体

色变淡,眼角膜混浊(图1a),体表、鳍条基部、下颌及鳃盖等出血(图1a、b)。解剖病鱼发现,肝肿大、淤血,边缘钝圆,呈紫红色;脾肿大,呈暗红色(图1c);肾肿大、出血(图1d);鳃壁明显充血、出血;部分病鱼胆囊肿大、脂肪充血、出血,腹腔内少量腹水。

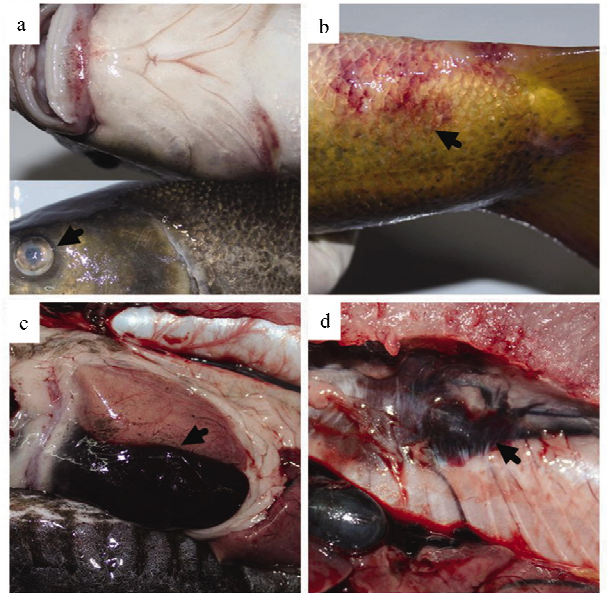


图1 长丝裂腹鱼感染温和气单胞菌的体征

a. 下颌出血,眼角膜混浊(箭头); b. 体表出血(箭头); c. 脾脏肿大(箭头),鳃壁充血、出血; d. 胆囊肿大,肾肿大,出血(箭头)。

2.2 病原菌的分离与形态特性观察

自病鱼的肝、脾和肾组织中分离获得一株优势菌LXP170412。28 °C培养24 h,分离菌株在脑心浸液琼脂平板上生长良好,形成圆形、表面光滑、半透明状、边缘整齐、略凸起、无水溶性色素的菌落(图2a)。经革兰氏染色镜检,菌体呈革兰氏阴性短杆状,两端钝圆,多数单个排列,无荚膜,无芽孢(图2b)。

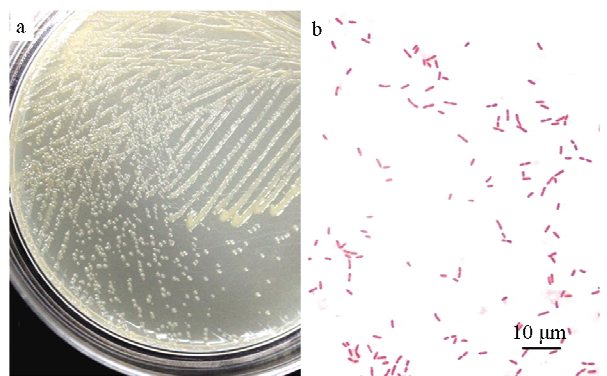


图2 菌株LXP170412菌落形态(a)及革兰氏染色(b)

2.3 人工感染试验

注射菌液, 2.0×10^8 、 2.0×10^7 、 2.0×10^6 、 2.0

×10⁵ cfu/mL 密度组在注射感染第 2 d 出现反应迟缓、游动异常、体表鳍基出血,并开始出现死亡,至试验结束时,各密度组死亡率分别为 90%、60%、20%与 10%,发病死亡鱼主要表现为体表与内脏器官的充血与出血,与自然发病鱼的临床特征相似,而对照组则在整个试验期内无任何异常。由人工感染发病死亡的长丝裂腹鱼体内再次分离细菌,获得与感染接种菌形态、理化特性与 16S rDNA 基因序列一致的菌株。采用寇氏法计算,分离菌对长丝裂腹鱼的半致死密度为 1.002×10⁷ cfu/mL。试验结果表明,该分离株是此次患病长丝裂腹鱼的病原菌。

表 1 菌株 LXP170412 人工感染试验结果

| 组别 | 菌悬液密度 cfu/mL | 注射剂量 mL | 试验鱼数 尾 | 14 d 累计 死亡数 尾 | 死亡率 % |
|-----|---------------------|------------|-----------|---------------------|----------|
| 对照组 | 0.8%NaCl | 0.5 | 10 | 0 | 0 |
| 感染组 | 2.0×10 ⁸ | 0.5 | 10 | 9 | 90 |
| | 2.0×10 ⁷ | 0.5 | 10 | 6 | 60 |
| | 2.0×10 ⁶ | 0.5 | 10 | 2 | 20 |
| | 2.0×10 ⁵ | 0.5 | 10 | 1 | 10 |

2.4 病原菌的理化特性

分离菌株 LXP170412 的主要生理生化特性见表 2,它与温和气单胞菌生理生化特性基本一致,初步判定为温和气单胞菌。

2.5 病原菌 16S rRNA 与 gyrB 基因序列测定及系统发育分析

采用扩增 16S rRNA 基因和 gyrB 基因的通用引物,扩增出分离株的 16S rRNA 基因和 gyrB 基因,分别得到预期大小的条带。纯化测序后分别得到长度为 1410 bp 和 1107 bp 的片段,GenBank 基因登陆号分别为 MG356656 与 MG356657,在 Gen-

Bank 中与已知核酸序列进行 Blast 比对,发现分离菌与温和气单胞菌的同源性最高,分别高达 100% 和 98%。在基于分离菌的 16S rRNA 和 gyrB 序列与 GenBank 中同源性较高的气单胞菌属细菌 16S rRNA 及 gyrB 基因序列建立的系统发育树上,该分离菌株与温和气单胞菌聚为一族(图 2、图 3)。结合生理生化特性分析,确定菌株 LXR170412 为温和气单胞菌。

2.6 药物敏感性检测

温和气单胞菌 LXP170412 对 18 种抗生素的敏感性见表 3。由表 3 可知,温和气单胞菌 LXP170412 仅对诺氟沙星、氧氟沙星、强力霉素、左氧氟沙星、环丙沙星、头孢噻肟 6 种药物敏感,对氟苯尼考、红霉素中度敏感,对新霉素、恩诺沙星、庆大霉素、罗红霉素、复方新诺明、四环素、丁胺卡那、青霉素、阿莫西林、头孢拉定 10 种药物耐药。

表 2 分离株 LXP170412 的生理生化特性

| 项目 | 菌株 | 温和气单胞菌 | 项目 | 菌株 | 温和气单胞菌 |
|---------|----|--------|-------|----|--------|
| 氧化酶 | + | + | 麦芽糖 | + | + |
| 触酶 | + | + | 木糖 | - | - |
| 脲酶 | - | - | 纤维素水解 | - | - |
| 赖氨酸脱羧酶 | + | + | 吡啶 | + | + |
| 鸟氨酸脱羧酶 | - | - | 甘露醇 | - | d |
| 苯丙氨酸脱羧酶 | + | + | 七叶苷 | - | - |
| 精氨酸双水解酶 | + | + | 甘油 | + | d |
| 淀粉酶 | + | + | 硝酸盐还原 | + | + |
| 蔗糖 | ⊕ | ⊕ | V-P | + | d |
| 乳糖 | - | - | 枸橼酸盐 | - | - |
| 半乳糖 | + | + | 硫化氢 | - | - |
| 葡萄糖 | ⊕ | ⊕ | 明胶液化 | + | + |
| 果糖 | + | + | 氰化钾 | - | - |
| 阿拉伯糖 | - | - | 山梨醇 | - | d |

注:“+”为阳性,“-”为阴性,“⊕”为产酸产气,“d”为种间不同反应。

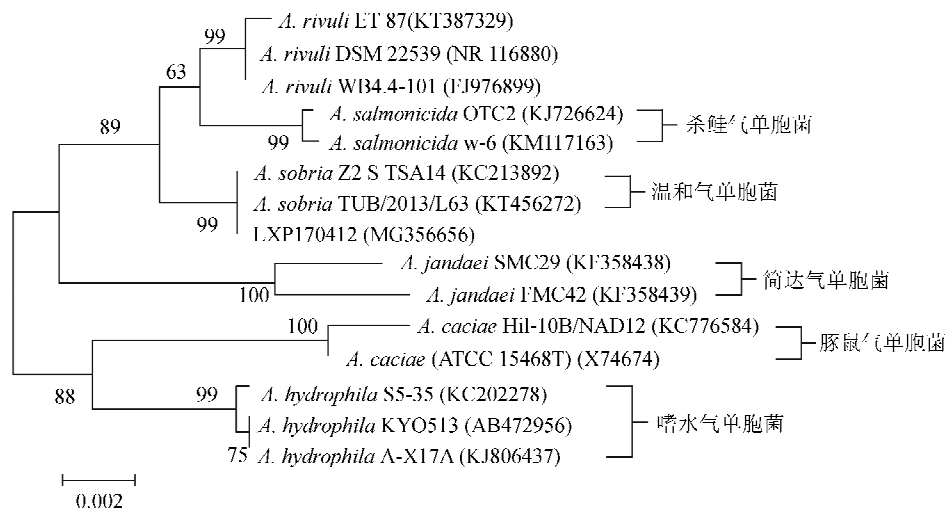


图 2 基于 16S rDNA 基因序列构建的分离菌株 LXP170412 与相关菌株的系统发育树

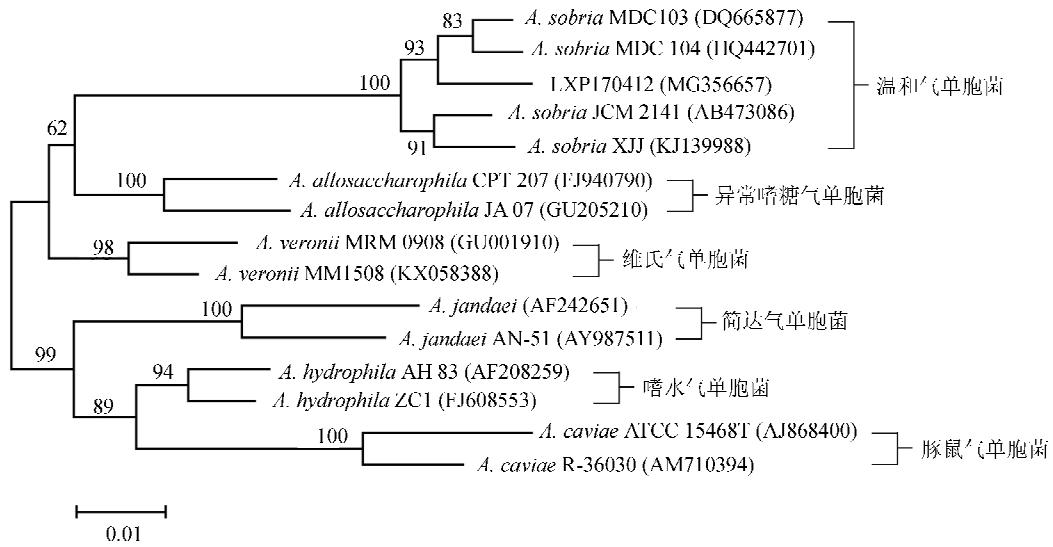
图 3 基于 *gyrB* 基因序列构建的分离菌株 LXP170412 与相关菌株的系统发育树

表 3 温和气单胞菌 LXP170412 的药物敏感性

| 药物 | 药物含量 μg/片 | 抑菌圈直径 mm | 敏感性 | 药物 | 药物含量 μg/片 | 抑菌圈直径 mm | 敏感性 |
|-------|--------------|-------------|-----|-------|--------------|-------------|-----|
| 新霉素 | 30 | 12 | R | 四环素 | 30 | 10 | R |
| 恩诺沙星 | 10 | 24 | R | 环丙沙星 | 5 | 22 | S |
| 诺氟沙星 | 10 | 23 | S | 红霉素 | 15 | 17 | I |
| 庆大霉素 | 10 | 12 | R | 丁胺卡那 | 30 | 13 | R |
| 氧氟沙星 | 5 | 28 | S | 青霉素 | 10 | 6 | R |
| 罗红霉素 | 15 | 12 | R | 阿莫西林 | 10 | 6 | R |
| 氟苯尼考 | 30 | 17 | I | 头孢拉定 | 30 | 10 | R |
| 强力霉素 | 30 | 16 | S | 头孢噻肟 | 30 | 41 | S |
| 左氧氟沙星 | 5 | 24 | S | 复方新诺明 | 23, 75 | 6 | R |

注：“R”为耐药，“S”为敏感，“I”为中度敏感。

3 讨论

温和气单胞菌广泛存在于水环境中,可引起鱼类及其他水产养殖动物多种疾病,是一种重要的条件致病菌^[10]。据报道,该菌可以感染黄颡鱼^[20]、大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)^[21]、河鲈(*Perca fluviatilis*)^[22]、西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)^[2]等多种养殖鱼类,并引起大量死亡,也能引起牛蛙溃疡症^[14]和鳖败血症^[23]。本研究自临床症状表现为体表出血与眼角膜浑浊的自然发病长丝裂腹鱼体内分离到一株革兰氏阴性杆菌,并通过其表型和分子生物学特性鉴定其即为温和气单胞菌,人工感染证实,温和气单胞菌自然情况下也可感染并致死长丝裂腹鱼。在长丝裂腹鱼的养殖中应重视温和气单胞菌所造成的危害。

近年来,就温和气单胞菌、维氏气单胞菌、嗜水

气单胞菌等条件性致病菌对水生动物具有强致病性不断见诸报道^[24-29],条件性致病菌感染已成为威胁我国水产养殖的重要疾病之一。对于这些条件致病菌感染的发生机制,尤其是水质环境因素在其感染与致病中的作用尚不完全清楚,在本次取样时发现,发病场池塘的底质较厚,水体有机质含量较高,这是否与本次温和气单胞菌感染致病有关值得进一步研究,以便为更好的防控这些条件性致病菌的危害提供依据。长丝裂腹鱼自然感染温和气单胞菌后,临床症状主要表现为反应迟钝、食欲减退,体表褪色,肌肉与鳍条充血、出血;内脏器官淤血、出血,呈明显的败血症状。与罗非鱼^[30]和金鱼(*Carassius auratus*)^[31]感染温和气单胞菌的症状相似,但也与嗜水气单胞菌^[32]与迟缓爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)^[33]等感染的临床表现较为相似,给临床诊断带来困难。因此,提高鱼类疾病诊

断的准确性应强化实验室诊断的作用。

温和气单胞菌 LXP170412 虽然对诺氟沙星、氧氟沙星、强力霉素、左氧氟沙星、环丙沙星等药物敏感,但我国相关法规已明令禁止诺氟沙星、氧氟沙星、左氧氟沙星与环丙沙星等喹诺酮类药物在食用动物养殖中的使用;同时该菌对动物专用的恩诺沙星、氟苯尼考等耐药或中度敏感。在本次病例中养殖者曾用恩诺沙星进行内服治疗,结果无效,改用强力霉素才有效控制了疫情。由此可见,临床用药应根据药敏试验结果选择用药,以提高用药的有效性,避免药物滥用。另外,温和气单胞菌是一种广泛分布于水环境中的条件致病菌,其感染往往与水温、水质、养殖密度、应激等有关^[34],因此,在养殖环境控制与饲养管理上也应进行相应的改善工作以降低该病的发生风险。

参考文献:

- [1] 钟有光. 气单胞菌及其感染流行状况[J]. 医学信息旬刊, 2011, 24(3): 1233-1234.
- [2] 肖艳翼, 王斌, 夏永涛, 等. 鲟病原性温和气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 南方农业学报, 2015, 46(10): 1909-1914.
- [3] 乔国平, 钱建华. 温和气单胞菌引起感染性腹泻暴发调查分析[J]. 河南医学高等专科学校学报, 2016, 28(6): 510-512.
- [4] 王根春, 耿际泉, 白庆燕, 等. 两种气单胞菌致创伤混合感染一例[J]. 检验医学, 1994, 9(4): 252.
- [5] Sarasqueta A O R, Garciairure A O J, Ortega A O M, et al. Meningitis by *Aeromonas sobria* following cranio-encephalic traumatism[J]. Infectious Diseases and Clinical Microbiology, 1998, 16(10): 491-492.
- [6] Li Y, Cai S H. Identification and pathogenicity of *Aeromonas sobria* on tail-rot disease in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. Current Microbiology, 2011, 62(2): 623-627.
- [7] Dar G H, Dar S A, Kamili A N, et al. Detection and characterization of potentially pathogenic *Aeromonas sobria* isolated from fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Cypriniformes: Cyprinidae)[J]. Microbial Pathogenesis, 2016(91): 136-140.
- [8] 汪沐, 周凤建, 张天虎, 等. 黄颡鱼温和气单胞菌的分离鉴定与中草药药敏试验[J]. 科学养鱼, 2017(6): 63-64.
- [9] 张晓君, 阎斌伦, 邢旭文, 等. 异育银鲫病原温和气单胞菌表型及分子鉴定与溶血素基因检测[J]. 水生态学杂志, 2010, 3(4): 102-107.
- [10] 张晓君, 邢旭文, 姚东瑞, 等. 泥鳅溃疡病及病原温和气单胞菌生物学及分子特征研究[J]. 水产科学, 2010, 29(12): 696-702.
- [11] 刘敏, 韩英. 鲤鱼温和气单胞菌的分离鉴定和药敏试验[J]. 东北农业大学学报, 2005, 36(4): 486-489.
- [12] 苏应兵, 邹桂伟, 袁科平, 等. 斑点叉尾鮰暴发性败血症病原的分离与鉴定[J]. 淡水渔业, 2006, 36(5): 37-41.
- [13] 马有智, 舒妙安. 中华鳖温和气单胞菌病的病原研究[J]. 浙江大学学报: 理学版, 2000, 27(3): 329-333.
- [14] 叶雪平, 顾金华. 牛蛙温和气单胞菌病病原及防治[J]. 上海海洋大学学报, 2000, 9(1): 78-80.
- [15] 白富瑾, 唐毅, 王舒正, 等. 大鲵温和气单胞菌的药物敏感性试验[J]. 水产科技情报, 2014, 41(6): 296-301.
- [16] 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: 106-119.
- [17] Jensen S, Bergh O, Enger O, et al. Use of PCR-RFLP for genotyping 16S rRNA and characterizing bacteria cultured from halibut fry[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2002, 48(5): 379-386.
- [18] Yamamoto S, Harayama S. PCR amplification and direct sequencing of *gyrB* genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *Pseudomonas putida* strains[J]. Appl Environ Microbiol, 1995, 61(3): 1104-1109.
- [19] 徐敬钧, 耿毅, 汪开毓, 等. 似鲶高原鳅温和气单胞菌的分离鉴定及其感染的病理损伤[J]. 四川动物, 2014, 33(5): 708-714.
- [20] 韩继卫, 罗文, 郑大恒. 黄颡鱼温和气单胞菌的分离鉴定与药敏试验[J]. 绍兴文理学院学报, 2011, 31(9): 19-21.
- [21] 巴翠玉, 张雅斌, 张培军, 等. 大麻哈鱼温和气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 中国兽医科学, 2016(6): 775-780.
- [22] Wahli T, Burr S E, Pugovkin D, et al. *Aeromonas sobria*, a causative agent of disease in farmed perch, *Perca fluviatilis* L. [J]. Journal of Fish Diseases, 2005, 28(3): 141-150.
- [23] 童桂香, 韦信贤, 黎小正, 等. 黄沙鳖温和气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 广东农业科学, 2010, 37(12): 124-126.
- [24] 马志宏, 杨慧, 李铁梁, 等. 西伯利亚鲟 (*Acipenser baeri*) 致病性维氏气单胞菌的分离鉴定[J]. 微生物学报, 2009, 49(10): 1289-1294.
- [25] 龚倩, 高淑琴, 单晓枫, 等. 框镜鲤致病性维氏气单胞菌的分离鉴定[J]. 中国预防兽医学报, 2010, 32(12): 981-983.
- [26] 黎炯, 叶星, 卢迈新, 等. 罗非鱼维氏气单胞菌的分离鉴定和药敏试验[J]. 水生态学杂志, 2011, 32(3): 132-136.
- [27] 郭闯, 朱国强, 王永坤, 等. 14 株患病水生动物气单胞菌属细菌的分离鉴定与最佳治疗药物筛选试验[J]. 水产科学, 2003, 22(4): 14-17.

- [28] 贺文旭,毛会丽,杨利敏,等. 豫北地区主要淡水鱼类感染嗜水气单胞菌的流行病学调查[J]. 水产科学, 2016,35(3):278-283.
- [29] 赵贤亮,陈鹤,杨潇,等. 黄河鲤鱼嗜水气单胞菌的分离、毒力及用药分析[J]. 水产科学,2017,36(5):642-646.
- [30] 蔡完其,孙佩芳. 罗非鱼温和气单胞菌病的病原研究和药敏试验[J]. 中国水产科学,2002,9(3):243-246.
- [31] 胡琳琳,房文红,梁思成,等. 金鱼温和气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 上海海洋大学学报,2008,17(3):285-290.
- [32] 杜宗君,黄小丽,汪开毓,等. 齐口裂腹鱼溃疡病原的分离鉴定[J]. 四川农业大学学报,2011,29(2):274-279.
- [33] 耿毅,余泽辉,邓龙君,等. 短须裂腹鱼感染迟缓爱德华氏菌的诊断与治疗[J]. 科学养鱼,2017(9):65.
- [34] Majtn J, Jaroslaverny, Ofkan A, et al. Mortality of therapeutic fish *Garra rufa* caused by *Aeromonas sobria*[J]. Asian Pac J Trop Biomed,2012,2(2):85-87.

Isolation, Identification and Antibiotic Susceptibility of Pathogenic Bacterium *Aeromonas sobria* from Fish *Schizothorax dolichonema*

LEI Xueping¹, GENG Yi¹, DENG Longjun², GAN Weixiong², HUANG Xiaoli¹,
CHEN Defang¹, OUYANG Ping¹

(1. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;
2. Yalong River Hydropower Development Company, Ltd., Xichang 615000, China)

Abstract: A serious infectious disease characterized by nubecula, hemorrhage in body surface and internal organs was found in *Schizothorax dolichonema* in a farm in Xichang, Sichuan Province in April 2017, and a pathogenic bacterium (LXP170412) was isolated from the liver, spleen and kidney tissues of the diseased fish to explore the causes of the epidemic. The phenotype of the colonies cultured at 28 °C for 24 h was white, translucent, smooth-surface and circular in brain heart infusion (BHI). Artificial infection proved that the isolate was the pathogen of the disease, and identified as *Aeromonas sobria* by physicochemical properties, and sequence analysis of the 16S rDNA and gyrB gene. The sensitivity test revealed that the strain was sensitive to doxycycline, ciprofloxacin, ofloxacin, norfloxacin and erythromycin, and resistance to cefazolin, florfenicol, amoxicillin, lincomycin, streptomycin, gentamicin, kanamycin and enrofloxacin. The findings confirmed that *A. sobria* was the cause of this epidemic, and provided reference data for rationally clinical application of these drugs.

Key words: *Schizothorax dolichonema*; *Aeromonas sobria*; identification; antibiotic susceptibility