

曹师琪, 耿毅, 余泽辉, 等. 杂交鲟鲁氏耶尔森氏菌的分离鉴定及感染的病理损伤[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(4): 13-19.

杂交鲟鲁氏耶尔森氏菌的分离鉴定及感染的病理损伤

曹师琪¹, 耿毅¹, 余泽辉¹, 郑李平¹, 雷雪平¹, 陈德芳²,
欧阳萍¹, 黄小丽², 黄彦臻¹

(1 四川农业大学 动物医学院, 四川 温江 611130; 2 四川农业大学 动物科技学院, 四川 温江 611130)

摘要:【目的】探究四川省邛崃市某养殖场的杂交鲟 *Acipenser schrencki* ♀×*A.baeri* ♂暴发的传染病病因。【方法】从病鱼的肝、脾和肾组织中进行病原菌的分离, 结合理化特征和 16S rRNA 及 *gyrB* 基因序列分析对其进行鉴定, 同时进行药敏试验及病理损伤观察。【结果】分离到 1 株 G⁻优势菌 (YC160412), 通过理化特征分析, 16S rRNA 及 *gyrB* 基因序列分析鉴定分离菌为鲁氏耶尔森氏菌 *Yersinia ruckeri*; 药敏试验表明, 该病原菌对头孢唑啉、氨苄西林、氟苯尼考等抗生素敏感, 对阿莫西林、红霉素等耐药; 病理组织学观察发现, 鲁氏耶尔森氏菌感染杂交鲟对多组织器官都造成明显的损伤, 尤其是肝、脾、肾、肠和鳃, 表现为明显的变性、坏死、出血及炎症细胞的浸润, 同时在肝、脾和肾组织内有大量病菌分布。【结论】证实了鲁氏耶尔森氏菌是本次疫情的病因, 其感染引起杂交鲟多组织器官功能障碍而死亡。

关键词: 杂交鲟; 鲁氏耶尔森氏菌; 分离鉴定; 病理损伤
中图分类号: S941.42 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-411X(2018)04-0013-07

Isolation and identification of *Yersinia ruckeri* from hybrid sturgeon and pathological lesions of its infection

CAO Shiqi¹, GENG Yi¹, YU Zehui¹, ZHENG Liping¹, LEI Xueping¹, CHEN Defang²,
OUYANG Ping¹, HUANG Xiaoli², HUANG Yanzhen¹
(1 College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China;
2 College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China)

Abstract: 【Objective】To explore the etiology of a serious infectious disease occurred in hybrid sturgeon (*Acipenser schrencki* ♀ × *A. baeri* ♂) from a farm of Qionglai, Sichuan Province. 【Method】The pathogens were isolated from the liver, spleen and kidney tissues of diseased fish, and identified by physicochemical characteristics, 16S rRNA and *gyrB* gene sequences analyses, meanwhile the susceptibility test and histopathological observation were performed. 【Result】One gram-negative predominant bacteria strain (YC160412) was isolated and identified as *Yersinia ruckeri* by physicochemical characteristics, 16S rRNA and *gyrB* gene sequences analyses. The antibiotic susceptibility test showed that the pathogen was sensitive to cefazolin, ampicillin, florfenicol, and resistant to amoxicillin and erythromycin. Histopathological observation found that *Y. ruckeri* infection caused significant damages to hybrid sturgeon multiple organs, especially in

收稿日期:2017-10-11 网络首发时间:2018-06-12
网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20180611.1417.016.html>
作者简介:曹师琪 (1992—), 女, 硕士研究生, E-mail: caoshiqi777@163.com; 通信作者: 耿毅 (1974—), 男, 教授, 博士, E-mail: gengyisicau@126.com
基金项目:四川省淡水鱼产业技术体系创新团队建设项目 (2017SICAD002); 四川省重点研发项目 (18ZDYF)

liver, spleen, kidney, intestine and gill. The main pathologic lesions were obvious degeneration, necrosis, hemorrhage and infiltration of the inflammation cells. The pathogen was largely found in liver, spleen and kidney tissues. 【Conclusion】 This study confirms *Y. ruckeri* is the pathogen of the epidemic. Its infection can cause multiple organ dysfunctions and even death of hybrid sturgeon.

Key words: hybrid sturgeon; *Yersinia ruckeri*; isolation and identification; pathological lesion

鲁氏耶尔森氏菌 *Yersinia ruckeri* 属于肠杆菌科 Enterobacteriaceae 耶尔森氏菌属 *Yersinia*, 是鲢鳙鱼类的重要病原菌, 其感染引起鲢鳙鱼的肠炎红嘴病 (Enteric redmouth, ERM), 主要病变特点为体表 (尤其是嘴、鳍、泄殖孔) 及内脏器官充血、出血等^[1]。此外, 该细菌还可感染鲢 *Hypophthalmichthys molitrix*、鳙 *Aristichthys nobilis*^[2]、金鱼 *Carassius auratus*、鲟鱼 *Acipenser sturio*^[3]、鲤鱼 *Cyprinus carpio*、斑点叉尾鲟 *Ictalurus punctatus*^[4] 等鱼类, 引起败血症^[5]。自 1952 年在美国首次从发病的虹鳟 *Oncorhynchus mykiss* 中分离到鲁氏耶尔森氏菌以来^[6], 相继在德国、法国、英国等欧洲各国, 以及澳大利亚、中国均有所发现^[7], 其地理分布逐渐扩大, 危害的鱼类种类也不断增多, 给水产养殖造成了较为严重的威胁。

鲟鱼 (Sturgeon) 是地球上最古老的鱼种之一^[8], 因其具有极高的营养价值而成为一种重要的经济鱼类。我国自 1992 年引进该品种, 现已推广到除西藏以外所有省市, 至 2015 年, 我国鲟鱼养殖产量已达 90 828 t, 成为全球最大的养鲟国家。但随着养殖集约化程度提高, 养殖水体的内、外源污染加重, 各种疾病频发, 如维氏气单胞菌 *Aeromonas veronii*^[9]、嗜水气单胞菌 *Aeromonas hydrophila*^[10]、海豚链球菌 *Streptococcus iniae*^[11] 等细菌性疾病时有报道, 给我国鲟鱼养殖业造成严重损失。2016 年 4 月四川省邛崃市某鲟鱼养殖场暴发一种以口腔周围出血, 肛门红肿、外突和内脏器官不同程度出血为临床特征的传染病, 死亡率达 40%, 发病水温 16~20 ℃, 发病鱼体质量 100 g 左右。本研究对病鱼进行病原菌镜检、分离、纯化及鉴定, 同时进行了药敏试验、人工感染试验及病理损伤观察, 旨在为该病的诊断与防治提供依据与参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物与试剂

发病杂交鲟 *Acipenser schrencki* ♀×*A. baeri* ♂ 采自四川省邛崃市某养殖场, 体质量 (102.7±8.5) g, 健康杂交鲟体质量 (124.5±10.3) g, 购于彭州市某养殖场。

LB 浸液培养基 (北京欣经科生物技术有限公司)、细菌 DNA 提取试剂盒、DNA Marker 和蛋白酶 K[天根生化科技 (北京) 有限公司]、药敏试纸及细菌生化微量鉴定管 (杭州微生物试剂有限公司)。

1.2 病原菌镜检与分离纯化

取 10 尾濒死杂交鲟的鳃丝、消化道内含物、体表附着物等于载玻片上, 进行寄生虫压片镜检; 取肝、脾、肾等组织于载玻片上涂片, 革兰氏染色后油镜检查细菌; 无菌条件下, 从病鱼肝、脾、肾取样划线接种于 LB 平板, 28 ℃ 条件下恒温培养 24~48 h, 挑取形态大小一致的单个优势菌落在 LB 平板上, 再次划线培养, 获得纯培养菌株, 观察菌落与细菌形态特征, -80 ℃ 条件下保存备用。

1.3 人工感染试验

分离菌在 LB 平板上 28 ℃ 条件下培养 24 h, 无菌生理盐水洗下菌苔, 麦氏比浊法调节菌悬液浓度为 2.8×10⁵、2.8×10⁶、2.8×10⁷ 和 2.8×10⁸ cfu·mL⁻¹, 健康杂交鲟实验室暂养 7 d 后, 每尾腹腔注射 0.3 mL 菌液, 每组 10 尾, 对照组注射等量生理盐水。接种后观察鱼的临床症状及死亡情况, 连续观察 14 d, 并对死亡鱼及时剖检, 且再次分离鉴定致病菌。

1.4 分离菌理化特性及药敏试验

无菌挑取上述纯培养菌液于微量生化反应管, 28 ℃ 条件下培养 24 h, 各种理化指标参照文献^[12]进行测定。药敏试验采用标准 Kriby-Bauer 纸片扩散法, 参照 NCCLS 抗微生物药物敏感性试验执行标准^[13]进行。

1.5 分离菌 *gyrB* 基因与 16S rRNA 基因 PCR 扩增与测序分析

将纯化菌株接种至 LB 肉汤中, 28 ℃ 条件下培养 24 h, 使用细菌 DNA 提取试剂盒提取分离菌株的 DNA 作为模板, 分别进行 *gyrB* 基因和 16S rRNA 基因的 PCR 扩增。*gyrB* 基因扩增引物 (F: 5'-GAAGTCATCATGACCGTTCTGCA(TC)GC(TCAG)GG(TCAG)GG(TCAG)AA(AG)TT(TC)GA-3'; R: 5'-AGCAGGGTACGGATGTGCGAGCC(AG)TC(TCAG)AC(AG)TC(TCAG)GC(AG)TC(TCAG)GTCAT-3')^[14], 预期扩增片段大小约为 1 200 bp; 16S rRNA 基因扩增引物 (F: 5'-AGAGTTTGATCCT

GGCTCAG-3'; R: 5'-TACGGCTACCTTGTTACGAC-3')^[15], 预期扩增片段大小约为 1 500 bp。PCR 反应体系: PCR Master Mix(2x)12.5 μL、10 μmol·L⁻¹ 的上下游引物各 1 μL, 2 μL 模板 DNA, 加 ddH₂O 至 25 μL。PCR 反应程序: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 1 min, 54 ℃ 退火 1 min, 72 ℃ 延伸 1 min 45 s, 共 30 个循环; 最后, 72 ℃ 延伸 5 min。PCR 扩增产物经 10 g·L⁻¹ 的琼脂糖凝胶电泳检测。PCR 产物经 DNA 纯化试剂盒纯化后, 送成都擎科梓熙生物技术有限公司测序。

1.6 组织病理学观察

取患病鱼心、肝、脾、肾、鳃、肠和肌肉等组织, 用体积分数为 10% 的中性甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 常规切片, 苏木精-伊红染色 (HE 染色), 中性树脂胶封片, 光学显微镜下观察并照相记录。

2 结果与分析

2.1 临床症状与剖检

病鱼临床症状表现为体色变暗, 食欲下降或丧失, 嘴部红肿、出血 (图 1A), 肛门红肿, 外突; 剖检见肝肿大, 色白质脆, 表面斑点状出血; 肠壁变薄 (图 1B), 肠腔内没有食物, 充满大量淡黄色黏液; 肾、脾肿大; 鳃肿胀, 黏液分泌增多, 甚至发生坏死; 部分病鱼腹腔内见一定量淡黄色腹水 (图 1C)。

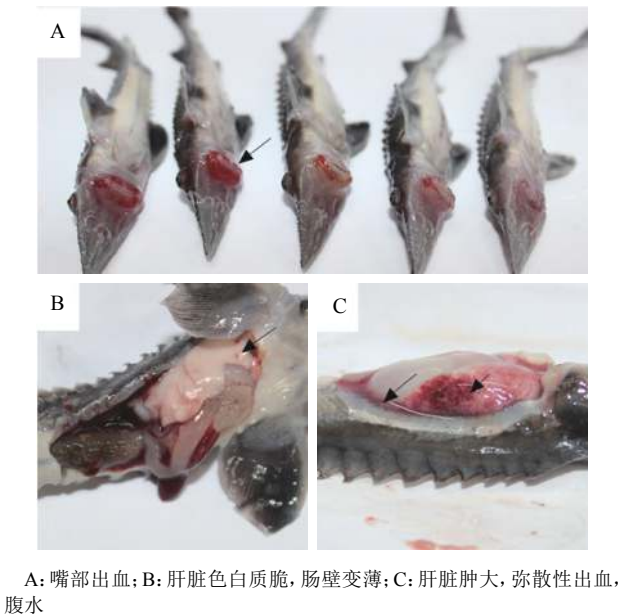


图 1 患病杂交鲟鱼的临床特征

2.2 病原菌分离与镜检

鳃与内脏压片镜检未观察到寄生虫; 内脏器官涂片, 革兰氏染色镜检见组织内有单个或成对排列的革兰阴性短杆菌。无菌条件下从肝、肾、脾取

样, 划线接种于 LB 平板, 28 ℃ 条件下培养 24 h, 获得表面光滑、隆起、边缘整齐、直径约为 2 mm 的乳白色圆形小菌落的优势菌 (图 2A), 革兰氏染色后光学显微镜下观察分离菌为 G⁻短杆菌, 单个排列 (图 2B)。

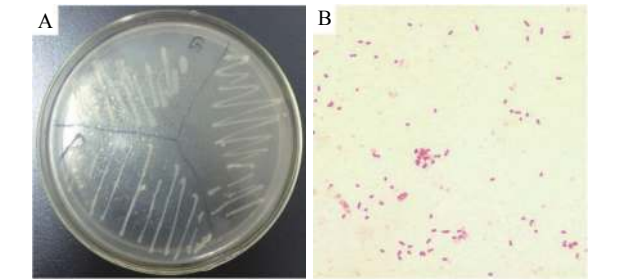


图 2 纯化后的分离菌 (A) 及菌株 YC160412 的革兰染色形态 (B)

Fig. 2 Purified bacteria (A) and gram staining micrograph (B) of strain YC160412

2.3 人工感染试验

分离菌腹腔注射感染健康杂交鲟, 攻毒 12 h 后, 试验鱼安静, 反应迟钝; 2.8×10⁸ cfu·mL⁻¹ 浓度组在 24 h 后开始出现死亡, 2.8×10⁷、2.8×10⁶ 与 2.8×10⁵ cfu·mL⁻¹ 浓度组相继在 32 h 后开始死亡; 发病鱼的临床表现和病理变化与自然发病鱼相似, 感染 5 d 后各试验组鱼未再发生死亡; 而对照组无任何异常, 各组的死亡情况见表 1。采用寇氏法得出分离菌对杂交鲟的半数致死量 (LD₅₀) 为 5.3×10⁶ cfu·尾⁻¹。从人工感染发病死亡的鱼体内再次分离细菌, 获得与分离株形态、生化特性一致的细菌。

2.4 理化特性结果

常规理化分析表明, 分离菌株 YC160412 为革兰氏染色阴性, 最适生长温度为 22~28 ℃, 最适 pH 为 7.0, 氧化酶反应阴性, 氧化发酵阳性, 具有运动性, 其他生化特性见表 2。

2.5 gyrB 基因、16S rRNA 基因序列测定及系统发育分析

以分离菌株的 DNA 为模板, 分别扩增的 gyrB 和 16S rRNA 基因条带均与预期相符, 测序结果在 GenBank(gyrB 基因的序列登录号为 MG017541, 16S rRNA 基因的序列登录号为 KY848832) 进行 Blast 分析, 结果显示序列与 Y. ruckeri 的 gyrB 和 16S rRNA 基因相似性最高, 分别为 99.0% 和 99.8%。进一步利用 MEGA 5.02 软件对分离菌株的 16S rRNA 和 gyrB 基因序列构建系统发育树 (图 3, 图 4), 在系统发育树上分离株 YC160412 与 Y. ruckeri 均聚为同一个分支。

表 1 菌株 YC160412 人工感染杂交鲟的试验结果

Table 1 Experimental results of hybrid sturgeon artificially infected by strain YC160412

注射浓度/ (cfu·mL ⁻¹)	试验鱼数量/尾	累积死亡数/尾							死亡率/%
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7~14 d	
对照组	10	0	0	0	0	0	0	0	0
2.8×10 ⁵	10	0	0	0	1	1	1	1	10
2.8×10 ⁶	10	0	1	2	3	3	3	3	30
2.8×10 ⁷	10	0	2	5	7	8	8	8	80
2.8×10 ⁸	10	0	3	6	8	10	10	10	100

表 2 菌株 YC160412 与鲁氏耶尔森氏菌的理化特性比较¹⁾

Table 2 Comparisons of physicochemical characteristics of strain YC160412 with *Yersinia ruckeri*

项目	YC160412	<i>Y. ruckeri</i> ^[12]	项目	YC160412	<i>Y. ruckeri</i> ^[12]
氧化/发酵	+	+/-	赖氨酸	+	+
氧化酶	-	-	精氨酸	-	-
脲酶	-	-	鸟氨酸	+	+
麦芽糖	+	+	蔗糖	-	-
吡啶试验	-	-	棉籽糖	-	-
枸橼酸盐	+	+	蜜二糖	-	-
甲基红	+	+	肌醇	-	-
H ₂ S	-	-	山梨醇	+	-
明胶液化	+	+	V-P试验	-	-
KCN生长	-	-	海藻糖	+	+
水杨苷	-	-	纤维二糖	-	-
D-葡萄糖产气	-	-	木糖	-	-
D-葡萄糖产酸	+	+	鼠李糖	-	-
尿素	-	-			

1)“+”表示阳性反应,“-”表示阴性反应

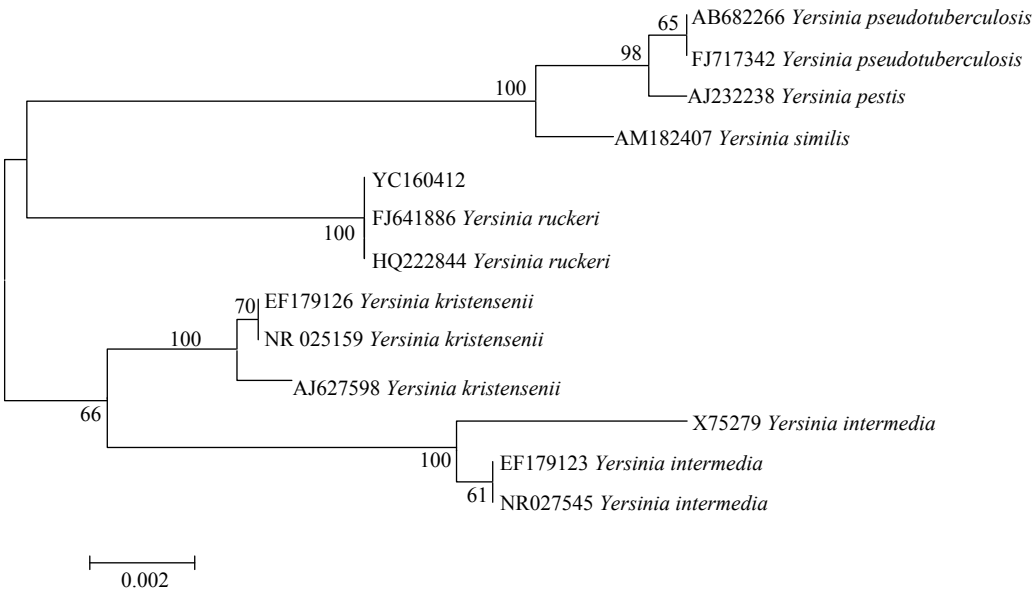


图 3 基于菌株 YC160412 及耶尔森氏菌属相关菌株 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of strain YC160412 and related species of *Yersinia* genus based on 16S rRNA sequence

<http://xuebao.scau.edu.cn>

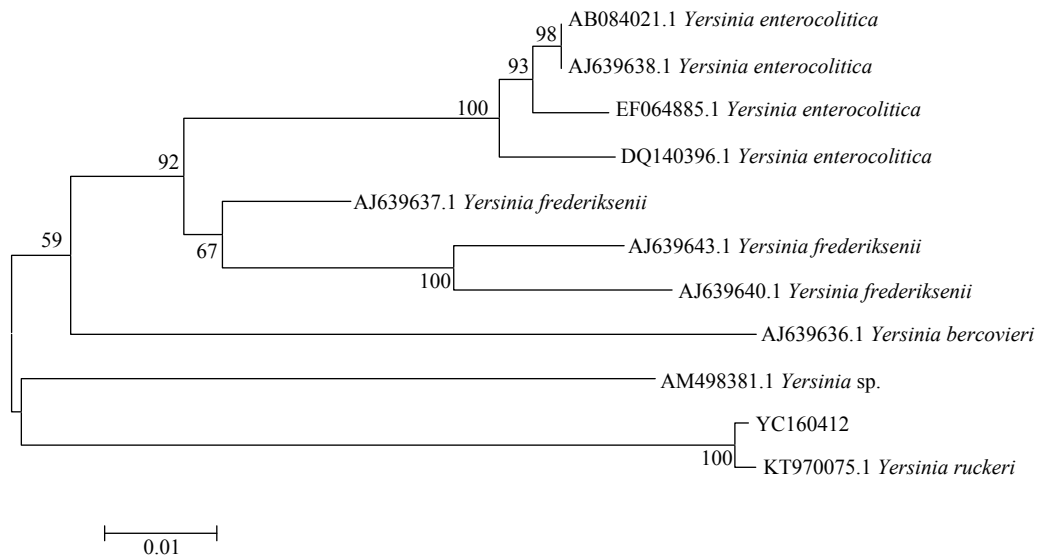


图 4 基于菌株 YC160412 及耶尔森氏菌属相关菌株 *gyrB* 基因序列构建的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of strain YC160412 and related species of *Yersinia* genus based on *gyrB* gene sequence

2.6 药敏试验

对菌株 YC160412 进行 23 种抗生素药物的敏感性试验, 结果显示, 该分离株对头孢噻肟、头孢唑啉、氨苄西林、氧氟沙星、大观霉素和氟苯尼考等抗生素高度敏感, 对阿莫西林、林可霉素、克林霉素、红霉素、青霉素等耐药, 对四环素和新霉素表现为中度敏感, 具体见表 3。

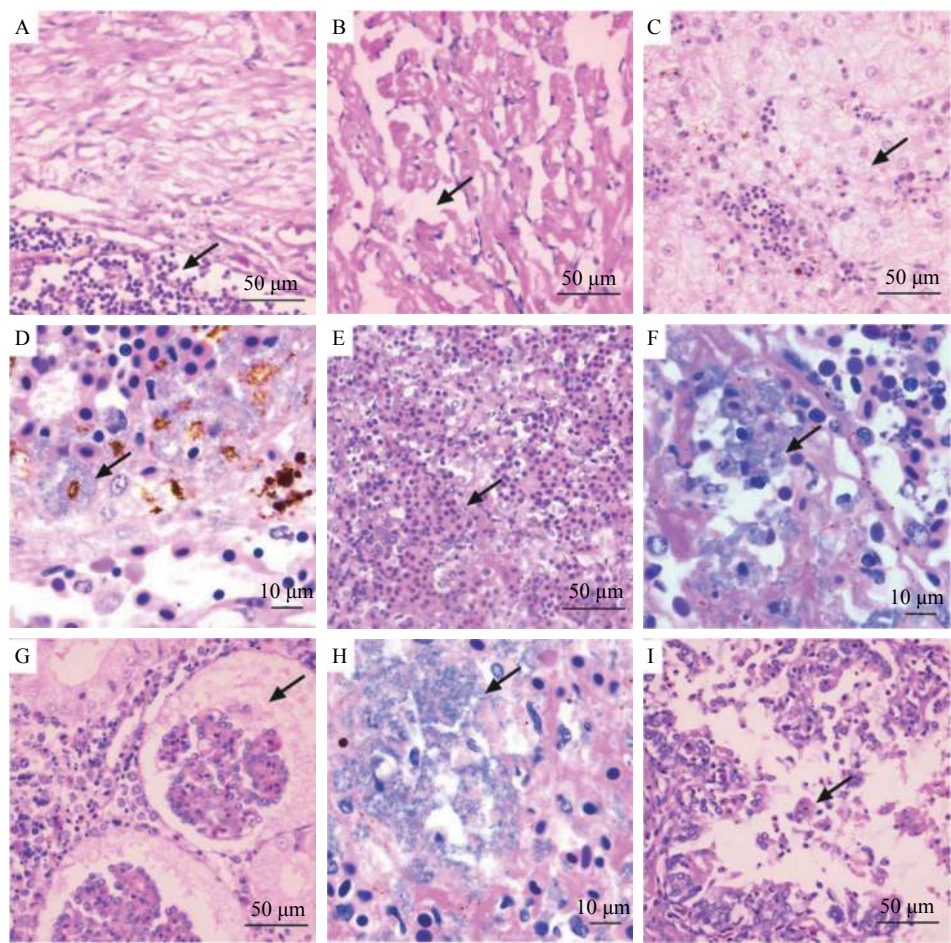
2.7 组织病理观察

通过解剖及光学显微镜对患病鱼的心、肝、脾、肾、鳃、肠和肌肉等组织切片进行观察, 结果发现: 病鱼心外膜与心包膜水肿增厚, 心包腔内大量淋巴细胞浸润 (图 5A); 心肌纤维颗粒变性或空泡变性, 甚至发生断裂、溶解, 其间有少量淋巴细胞浸润 (图 5B); 肝血窦淤血, 肝细胞肿胀, 出现广泛性空泡变性 (图 5C), 严重的发生坏死, 并在肝组织内见杆状的细菌团块 (图 5D); 脾髓淤血、出血, 淋巴细胞坏死, 数量明显减少, 巨噬细胞、中性白细胞浸润, 网状内皮细胞增生 (图 5E), 并在一些坏死区可见细菌团块 (图 5F); 肾小管发生颗粒变性、坏死, 肾小球毛细血管扩张, 充血, 肾小囊内可见大量染成淡红色的渗出物, 肾间造血组织细胞坏死, 细胞核裂解, 中性粒细胞、嗜酸性粒细胞与巨噬细胞等炎症细胞浸润 (图 5G), 同时在一些坏死区域可见细菌团块 (图 5H); 肠绒毛上皮变性、坏死, 脱落的上皮细胞与黏液充滞肠腔内, 固有膜与黏膜下层淋巴细胞、中性粒细胞与巨噬细胞等炎症细胞浸润 (图 5I)。

表 3 菌株 YC160412 抗生素药敏试验结果

Table 3 Antibiotic susceptibility test results of strain YC160412

药物名称	抑菌圈直径/mm		敏感性
	实测值	标准值	
阿莫西林	6.0	14~17	不敏感
四环素	16.0	15~18	中度敏感
诺氟沙星	13.0	16~20	不敏感
恩诺沙星	19.5	22~28	不敏感
氟苯尼考	22.0	13~17	高度敏感
强力霉素	17.0	13~15	高度敏感
庆大霉素	15.0	13~14	高度敏感
红霉素	6.0	16~20	不敏感
新霉素	15.5	13~16	中度敏感
氨苄西林	26.0	14~16	高度敏感
头孢氨苄	14.0	15~17	不敏感
头孢噻肟	40.0	15~22	高度敏感
头孢唑林	25.0	15~17	高度敏感
环丙沙星	15.0	16~20	不敏感
青霉素	6.0	20~27	不敏感
氧氟沙星	23.4	13~15	高度敏感
林可霉素	6.0	24~30	不敏感
链霉素	16.0	12~14	高度敏感
卡那霉素	11.0	14~17	不敏感
克林霉素	6.0	15~20	不敏感
大观霉素	22.0	15~17	高度敏感
多黏菌素B	14.0	8~11	高度敏感
丁胺卡那	17.0	15~16	高度敏感



A: 心包腔内大量淋巴细胞浸润; B: 心肌断裂、溶解, 淋巴细胞浸润; C: 肝细胞空泡变性; D: 肝中的细菌团块; E: 脾髓窦淤血, 淋巴细胞坏死; F: 脾中的细菌团块; G: 肾小球内大量渗出物, 肾间造血组织坏死, 炎症细胞浸润; H: 肾中的细菌团块; I: 肠绒毛上皮变性、坏死脱落

图 5 感染鲁氏耶尔森氏菌杂交鲟的病理组织学损伤

Fig. 5 Pathohistological lesions of hybrid sturgeon infected by *Yersinia ruckeri*

3 讨论与结论

自 1952 年首次从发病虹鳟中分离 *Y. ruckeri* 以来, 其感染所致的“肠炎红嘴病”一直被认为是危害鲑鳟鱼类养殖的疾病, 但也相继有鲢^[2]、金鱼、施氏鲟 *Acipenser schrenckii*^[16]、鲤和斑点叉尾鲟^[4]等鱼类感染引起败血症的报道^[5], 表明其感染的宿主范围在逐步扩大。本研究从发生肠炎与口唇红肿的杂交鲟体内分离到 1 株革兰阴性细菌, 经人工感染试验证实了其病原性, 根据分离细菌的形态学特征和生理生化特性初步确定为 *Y. ruckeri*; 基于其 16S rRNA 和 *gyrB* 基因序列的系统发育分析表明, 其与 *Y. ruckeri* 进化关系密切, 相似性达到 99% 以上, 结合形态学和理化特征鉴定该菌为 *Y. ruckeri*。杂交鲟在感染 *Y. ruckeri* 后表现出了虹鳟、斑点叉尾鲟等相似的临床表现, 即肠炎与口唇充血、出血而发红, 由此可见, 该临床特征可作为临床上初步诊断该病的重要依据。但本研究也发现, 有部分感染杂交鲟未出现明显的临床病变、死亡, 因此, 临床

上对该病的确切诊断还需要借助于 PCR 与 Elisa 等特异性更强的方法。

本研究中, 鲟鱼感染 *Y. ruckeri* 后主要表现为全身性多组织器官坏死、变性、出血等败血症, 与 *Y. ruckeri* 感染其他宿主所引起的临床症状不尽相同, 该菌感染虹鳟时表现为心脏充血、出血, 细胞肿胀; 肝脂肪变性, 血窦消失; 肾小管无明显病变, 肾小球系膜细胞增生, 淋巴细胞显著减少, 单核细胞增生^[17]。但本研究发现, 杂交鲟感染 *Y. ruckeri* 后, 其肝脏、肾脏的损伤尤其明显, 肝血窦淤血, 细胞肿胀, 出现广泛性空泡变性, 甚至发生坏死; 肾小管发生颗粒变性、坏死, 肾小囊内有大量渗出液, 肾间造血组织坏死, 大量炎症细胞浸润, 出现这种差异的原因可能与感染宿主的种属差异以及与病原的相互作用效应不同有关。另外, 本研究发现在染病鲟的肝、脾和肾组织中存在大量细菌团块, 表明这些器官可能是 *Y. ruckeri* 感染鲟的主要亲嗜器官。

药敏试验结果表明, 该菌对头孢噻肟、头孢唑啉、氨苄西林、氧氟沙星、大观霉素和氟苯尼考等抗

生素敏感, 对阿莫西林、林可霉素、克林霉素、红霉素等耐药, 且实际处理中采用敏感药物氟苯尼考内服较为有效地控制了疫情。分离菌的药物敏感性与杨移斌等^[18]及王荻等^[19]报道从西伯利亚鲟分离到 *Y. ruckeri* 对丁胺卡那、庆大霉素、氟苯尼考敏感, 对克林霉素耐药具有相似性; 但与范方玲等^[20]报道从斑点叉尾鲟分离到的 *Y. ruckeri* 对环丙沙星、卡那霉素等药物敏感特性存在差异。由此可见, 来源于不同动物源或区域的同种细菌, 在药物敏感性上可能存在差异。因此, 为避免药物滥用, 在鱼类细菌性疾病的治疗中应根据药敏试验结果选择敏感抗菌药物, 本试验结果可为指导养殖生产中杂交鲟鲁氏耶尔森氏菌病的有效治疗及安全用药提供一定的参考。

参考文献:

[1] TOBBACK E, DECOSTERE A, HERMANS K, et al. *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish[J]. J Fish Dis, 2007, 30(5): 257.

[2] 徐伯亥, 殷战, 陈燕桑, 等. 鲢、鳙鱼一种新的传染病: *Yersinia ruckeri*, 一种新的鲢、鳙鱼病原菌[J]. 科学通报, 1991, 36(8): 620.

[3] 李绍戊, 王荻, 冯娟, 等. 养殖鲟鱼出血症病原鲁氏耶尔森菌的分离鉴定和致病性研究[J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(3): 561-567.

[4] DANLEY M L, GOODWIN A E, KILLIAN H S. Epizootics in farm-raised channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), caused by the enteric redmouth bacterium *Yersinia ruckeri*[J]. J Fish Dis, 1999, 22(6): 451-456.

[5] ISPIR U, GOKHAN H B, OZCAN M, et al. Immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to selected antigens of *Yersinia ruckeri*[J]. Acta Vet Brno, 2009, 78(1): 145-150.

[6] ROSS A J, RUCKER R R, EWING W H. Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. Can J Microbiol, 1966, 12(4): 763-770.

[7] 张晓君. 鲁氏耶尔森氏菌及鱼类相应感染症[J]. 河北科技师范学院学报, 2004, 18(3): 77-80.

[8] RUBAN G I. Species structure, contemporary distribution and status of the Siberian sturgeon, *Acipenser*

baerii[J]. Environ Biol Fish, 1997, 48: 221-230.

[9] 马志宏, 杨慧, 李铁梁, 等. 西伯利亚鲟 (*Acipenser baerii*) 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.

[10] 杨治国. 鲟鱼嗜水气单胞菌的分离鉴定[J]. 淡水渔业, 2001, 31(5): 40-41.

[11] DENG M L, YU Z H, GENG Y, et al. Outbreaks of streptococcosis associated with *Streptococcus iniae* in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) in China[J]. Aquac Res, 2017, 48(3): 909-919.

[12] ETAL E J H. Bergey's manual of determinative bacteriology [M]. 9th ed. Philadelphia, Lippincott: Williams & Wilkins, 1994: 520-521.

[13] WIKLER M A. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Eighteenth informational supplement[M]. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.

[14] 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.

[15] JENSEN S, BERGH O, ENGER O, et al. Use of PCR-RFLP for genotyping 16S rRNA and characterizing bacteria cultured from halibut fry[J]. Can J Microbiol, 2002, 48(5): 379-386.

[16] 孟彦, 肖汉兵, 张林, 等. 施氏鲟出血性败血症病原菌的分离和鉴定[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(6): 822-826.

[17] AVCI H, BIRİNCİOĞLU S S. Pathological findings in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) experimentally infected with *Yersinia ruckeri*[J]. Turk J Vet Anim Sci, 2005, 29(6): 1321-1328.

[18] 杨移斌, 夏永涛, 郑卫东, 等. 鲟源鲁氏耶尔森氏菌的分离鉴定及药敏特性研究[J]. 水生生物学报, 2013, 37(2): 393-398.

[19] 王荻, 李绍戊, 冯娟, 等. 氟苯尼考在感染鲁氏耶尔森氏菌的西伯利亚鲟体内的药效学[J]. 水产学杂志, 2012, 25(2): 11-14.

[20] 范方玲, 汪开毓, 耿毅, 等. 斑点叉尾 (*Ictalurus punctatus*) 源鲁氏耶尔森氏菌的分离鉴定及系统发育分析[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(6): 862-868.

【责任编辑 李晓卉】