



研究报告

一种中华鳖结节病的病原菌分离鉴定及病理研究

范宁宁¹ 胡鲲¹ 杨移斌² 陈小星³ 杨先乐^{*1}

1 上海海洋大学国家水生动物病原库 上海 201306

2 中国水产科学院长江水产研究所 湖北 武汉 430223

3 阳江市渔乡子水产物资供应有限公司 广东 阳江 529500

摘要:【背景】在山东聊城市一中华鳖(*Trionyx sinensis*)养殖场暴发了结节病(*Sarcoidosis*), 典型症状为内脏、四肢肌肉等部位出现结节; 感染后期引起多重感染, 所有内脏发臭腐烂。调查发现 2017 年该病传染率、死亡率较 2016 年均升高。目前国内尚未有中华鳖感染结节病的报道, 其感染途径、病原体及防治方法均属未知。【目的】分析中华鳖结节病的病原, 进行病理学研究, 并为防控该病寻找解决方案。【方法】按照病害诊断方法, 在排除寄生虫及病毒感染后, 进行病原菌的分离及鉴定。同时通过病原菌的体外药敏试验进行防控药物筛选, 并对该病的组织病理学进行研究。【结果】从病灶处分离到两种优势菌株 DM1 和 DM2, 体外回归感染试验表明 DM1 为中华鳖结节病病原菌。16S rRNA 基因序列测定及生理生化鉴定显示, DM1 为鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)。药敏试验显示, 该菌株对丁胺卡那、庆大霉素、头孢吡酮、环丙沙星等 14 种药物敏感, 对呋喃唑酮和头孢氨苄表现中敏, 对诺氟沙星、利福平、氨苄西林等 18 种药物表现耐药。病理切片显示结节最外层为纤维结缔组织形成的包膜, 内部豆渣样物质为嗜酸性凝固性坏死。【结论】中华鳖结节病的病原菌为鼠伤寒沙门氏菌, 养殖过程中可通过使用丁胺卡那、庆大霉素等药物进行疾病防控。

关键词: 中华鳖, 结节病, 鉴定, 鼠伤寒沙门氏菌, 药敏试验, 病理切片

Isolation, identification and pathological study of sarcoidosis in *Trionyx sinensis*

FAN Ning-Ning¹ HU Kun¹ YANG Yi-Bin² CHEN Xiao-Xing³ YANG Xian-Le^{*1}

1 National Pathogen Collection Center for Aquatic Animal, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2 Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan, Hubei 430223, China

3 Yangjiang Yuxiangzi Aquatic Products Supply Co. Ltd., Yangjiang, Guangdong 529500, China

Abstract: [**Background**] Sarcoidosis in *Trionyx sinensis* occurred in a *Trionyx sinensis* farm in Liaocheng, Shandong, causing nodules in the viscera organs and limb muscles. Multiple infections occurred at the late

Foundation items: Shanghai Project of Improving the Ability of Local Colleges and Universities (17050502100); Shanghai Construction Project of University Knowledge Service Platform (ZF1206); National Research and Development Infrastructure and Facility Development Program of China

***Corresponding author:** Tel: 86-21-61900451; E-mail: xlyang@shou.edu.cn

Received: 16-03-2018; **Accepted:** 14-05-2018; **Published online:** 27-06-2018

基金项目: 上海市地方高校能力提升项目(17050502100); 上海市高校知识服务平台建设项目(ZF1206); 国家科技基础条件平台建设运行项目

***通信作者:** Tel: 021-61900451; E-mail: xlyang@shou.edu.cn

收稿日期: 2018-03-16; **接受日期:** 2018-05-14; **网络首发日期:** 2018-06-27

stage of sarcoidosis and all viscera were stinky and rotten. According the survey, the infectious rate and mortality increased in 2017 compared with 2016. However, until now, no any report can be found on sarcoidosis in *Trionyx sinensis* in China. The route of infection, the pathogen, the method of prevention and control of sarcoidosis in *Trionyx sinensis* are unknown. **[Objective]** Our study aims to prevent sarcoidosis through analyzing the pathogeny of sarcoidosis in *Trionyx sinensis* and studying the pathematology. **[Methods]** According to disease diagnosis methods, separation and identification of pathogen were done after excluding parasites and virus infection. Meanwhile, *in vitro* sensitivity tests for pathogenic bacteria were used to screen sensitive drugs and to study the histopathology of the disease. **[Results]** Two dominant strains, DM1 and DM2, were isolated from the lesion and DM1 was the pathogenic bacterium of sarcoidosis in *Trionyx sinensis* according to regression infection tests. DM1 was *Salmonella typhimurium* through 16S rRNA gene sequencing and physiological-biochemical identification. The drug susceptibility analysis showed that pathogenic bacterium was sensitive to 14 antibiotics such as amikacin, gentamicin, cefoperazone, ciprofloxacin, and moderately sensitive to furazolidone and cephaloprim, but resistant to 18 antibiotics such as norfloxacin, rifampicin, ampicillin. Pathological section showed that the outer layer of the nodule was the capsule formed by fibrous connective tissues and the internal bean dregs like substance was eosinophilic coagulating necrosis. **[Conclusion]** *Salmonella typhimurium* was the pathogen of sarcoidosis in *Trionyx sinensis* and it can be prevented during the breeding process by feeding amikacin, gentamicin and similar antibiotics.

Keywords: *Trionyx sinensis*, Sarcoidosis, Identification, *Salmonella typhimurium*, Antibiotic sensitivity, Pathological section

中华鳖(*Trionyx sinensis*)又名甲鱼、团鱼等,因其营养丰富,为滋补佳品^[1];作为药用,在我国也有较长的历史^[2]。我国人工甲鱼养殖已有30多年的历史,经历了从捕捞野生中华鳖的零星暂养到人工集约化养殖的发展过程^[3]。由于养殖密度过高,加上中华鳖贪食好斗,体表创伤给致病菌带来了可乘之机,导致了多种疾病的发生^[4],如红脖子病(Red neck disease)、红底板病(Red-ventral shield disease)、白底板病(White abdominal shell disease)、穿孔病(Caverned disease)、腐皮病(Putrid skin disease)等,平均发病率高达60%,平均死亡率20%以上^[2]。在山东聊城某养殖场暴发了一种中华鳖结节病,病鳖常表现厌食、精神萎靡、身体浮肿等;解剖发现内脏、肌肉等处有白色结节,严重影响了鳖的健康、色泽、口感等,给当地中华鳖养殖带来严重危害。

鱼结节病在40科的151种鱼中均有记录,为世界分布^[5]。我国发现的鱼类内脏结节病主要危害乌鳢(*Snakehead*)、鲈(*Perch*)等经济鱼类^[6]。研究发现鱼类结节病致病因子多为细菌,如土拉弗朗西斯杆菌(*Tularaemia*)^[7]、鱼诺卡氏菌(*Shad ncardia*)^[8-9]、

美人鱼发光杆菌(*Photobacterium damsela*)^[10]、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)^[11]、分歧杆菌(*Mycobacterium*)^[12]等。结节病对水产动物肝脏、肾脏、脾脏、肌肉、皮肤、鳃等组织和器官造成伤害。结节病不仅对水产动物的组织器官危害大,而且致死率高,严重者致死率达90%以上。结节病已对水产养殖业造成了巨大危害。

中华鳖的结节病尚未见报道,本研究从中华鳖结节内分离出病原菌,采用人工回归感染的方法验证中华鳖结节病病原,通过16S rRNA基因和生理生化鉴定试验以确定病原菌种属,通过观察病理组织切片来研究病理变化。通过药敏试验,为中华鳖结节病的防控提供理论和参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

患病中华鳖取自山东省聊城市一中华鳖养殖场,患病甲鱼体重400–750 g;回归感染用健康鳖来自该养殖场,实验室条件下暂养7 d无异常。

1.2 主要试剂和仪器

营养琼脂培养基、营养肉汤培养基、WS琼脂

培养基、MH 培养基、MacC 培养基、DHL 琼脂培养基、药敏纸片, 杭州微生物试剂有限公司; SS 培养基, 杭州百思生物技术有限公司; 沙门氏菌生化试剂盒, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司; 细菌全基因组 DNA 提取试剂盒, 大连美仑生物技术有限公司; 胶回收试剂盒, Zymoclean 公司; 磷钨酸负染色液(2%), 上海铭博生物科技有限公司; 钼酸(1%), 上海榕柏生物技术有限公司; Epon 812 树脂, 生工生物工程(上海)股份有限公司; 琼脂糖, Lonza 公司。PCR 产物测序, 上海迈普生物科技有限公司。

超薄切片机, Leica 公司; 透射电镜, 日立公司; PCR 扩增仪, Thermo Fisher Scientific 公司; 冷冻离心机, Beckman coulter 公司; 组织匀浆机, IKA 公司。

1.3 寄生虫及真菌检测

取濒死的中华鳖结节病灶, 于无菌环境下取结节内豆渣样物质和脓液; 用同样方法取肺、肝、肌肉等病灶周围组织, 进行镜检, 观察是否有寄生虫或真菌存在。

1.4 病毒检测

取患肺、肝、腿部肌肉结节病鳖各 3 只, 共计 9 只。将病变组织刺破, 取定量内部积液和豆渣样混合物与等体积的生理盐水匀浆, 12 000 r/min 离心 20 min, 在无菌条件下上清液用孔径 0.22 μm 的滤膜过滤。滤液涂布营养琼脂培养基, 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24–48 h, 确保病毒无菌污染后, 将其作为鳖回归感染的病毒溶液。选取 5.5 \pm 0.5 g 的中华鳖作为实验对象, 共分为 4 个组, 3 个实验组和 1 个对照组, 每组 20 只, 公母对半; 将滤液注射到健康鳖的腹腔, 分别注射 0.1、0.2、0.3 mL, 对照组 20 只鳖腹腔注射无菌生理盐水。正常条件下养殖, 观察记录鳖的变化情况。

取病鳖的肺、肝、腿处的结节病灶, 用 2.5% 戊二醛溶液前固定处理, 后用 1% 钼酸固定, 用乙醇等将固定样品进行有机溶剂脱水, Epon 812 树脂包埋好后制备超薄切片, 通过电镜观察病灶内

是否有病毒颗粒或包涵体^[13]。

1.5 细菌检测

1.5.1 回归感染试验

取具有明显结节病症的濒死中华鳖, 无菌环境下取结节以及一定量腹水。将提取出的结节内容物以及腹水分别于营养琼脂培养板进行划线处理, 放于 30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱培养 24–48 h, 然后通过分离、纯化等步骤获得单菌株。

培养从中华鳖结节病灶分离纯化的细菌, 分离优势单菌落, 纯化后于营养肉汤中培养, 28 $^{\circ}\text{C}$ 、140 r/min 培养 24–48 h; 然后用无菌生理盐水对菌液进行稀释, 10 倍比稀释, 然后对菌悬液进行细菌计数。

回归感染设计为腹腔注射和浸泡感染两种方式。不同种优势菌分别进行独立的回归感染试验。取 5.5 \pm 0.5 g 的中华鳖作为实验对象, 共分为 6 个组, 5 个实验组和 1 个对照组, 每组 20 只, 公母对半。腹腔注射组试验设计: 每只注射 0.1 mL, 细菌浓度为 2.877 \times 10¹–2.877 \times 10⁵ CFU/mL, 空白对照组注射 0.1 mL 无菌生理盐水。浸泡组试验设计: 将中华鳖置于细菌浓度为 2.877 \times 10¹–2.877 \times 10⁵ CFU/mL 5 个浓度的塑料桶内, 空白对照组为中华鳖清水养殖。试验期间水温保持在 30 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$, 每日 6:30、12:00、18:00 进行投喂, 饲料投喂量占中华鳖体重 5%–7%, 9:00 将实验用水全部换为已曝气的养殖用水。腹腔注射组中华鳖每日 9:00 换水后腹腔注射菌液, 每只注射 0.1 mL。每日观察、统计发病情况。将濒死的中华鳖及时捞出, 并对其进行解剖, 观察记录病鳖内脏、四肢病变情况; 当确定有结节症状后, 对其病灶进行病原菌的分离、纯化及鉴定。

1.5.2 细菌鉴定

(1) 菌种扩增及 DNA 提取。将纯化的单菌落接种于营养肉汤培养基, 28 $^{\circ}\text{C}$ 、140 r/min 培养 24 h。取菌液 1 mL, 用细菌全基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 具体参照说明书。

(2) PCR 扩增。16S rRNA 基因通用引物为 27F (5'-AGAGTTTGATC(C/A)TGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3')。PCR 反应体系 (25 μ L): 10 \times Taq buffer 2.5 μ L, dNTP Mix (2 mmol/L) 1.5 μ L, MgCl₂ (25 mmol/L) 2.5 μ L, 正、反向引物 (10 μ mol/L) 各 1 μ L, Taq DNA 聚合酶 (5 U/ μ L) 0.25 μ L, DNA 模板 1 μ L, DEPC 处理水 15.25 μ L。PCR 引物以及扩增条件参考 Weisburg 等^[14]。

(3) PCR 产物的胶回收纯化、连接转化。16S rRNA 基因的 PCR 产物采用胶回收试剂盒进行回收纯化, 实验步骤按照试剂盒说明书进行; 实验所用载体为 pMD18-T, 具体操作步骤按试剂盒说明书进行。

(4) PCR 扩增产物通过 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测确定后, 将其送至上海迈普生物科技有限公司检测。将 16S rRNA 基因序列于 BioCloud 数据库中对比分析; 基因测序结果在 NCBI 中进行 BLAST 对比分析, 选取致病菌相关序列; 用 MEGA 5.0 软件制作 16S rRNA 基因的系统进化树, 同时设置 1 000 次 Bootstrap 重复检验。

生理生化鉴定。将致病菌分离纯化并接种于营养琼脂培养基上, 30 $^{\circ}$ C 培养 24–48 h, 观察菌落的形态、颜色、大小等形态学特征, 并进行菌种的扩增。根据 16S rRNA 基因鉴定结果, 确定致病菌种属, 设计生理生化试验, 然后购买相应沙门氏菌生理生化试剂盒确定致病菌种类。

1.6 药敏试验

使用药敏纸片来测定病原菌对不同药物的敏感性。参考李楠等^[15]关于草鱼细菌暴发病病原菌药敏试验的方法, 无菌条件下将药敏纸片轻放于涂布的平板上; 实验设置 3 个平行, 30 $^{\circ}$ C 培养 24–48 h 后对抑菌圈直径进行测量。选用青霉素类、四环素类、喹诺酮类等共计 34 种药物, 操作步骤参照说明书。

1.7 组织病理学观察

取濒死中华鳖的肺、肝、肌肉组织处的结节, Bouin 固定液固定 24 h。之后依次进行脱水、

透明、HE 染色, 做好切片后在光学显微镜下观察并拍照, 研究病理变化。

2 结果与分析

2.1 中华鳖结节病流行病学特征及临床症状

流行病学调查发现, 中华鳖结节病多发生于池塘养殖的 1–2 龄中华鳖, 全年都有发生, 多见于每年 5–10 月份; 高发期为 7–9 月份的高温季, 发病率为 10%–12%, 水温在 29–32 $^{\circ}$ C。多见病鳖趴在晒背台不动, 当周围有人为干扰才缓慢挪动; 体表外伤较严重, 多为穿孔和疥疮, 底板发白; 解剖多见腹水, 肺、肝、四肢、颈部部位有结节发现。结节最大直径为 50 mm, 一般为 1 mm–5 mm。结节呈白色球状, 分两层, 外面为一层包膜, 内部为淡黄色液体和干酪样坏死的豆渣样混合物, 有恶臭。肺结节最常见, 并常见多个结节; 病变肝脏常发黑、变硬; 肌肉组织结节常见于其关节处, 周围肌肉呈松散状。解剖发现, 完整和破裂结节均存在, 破裂结节周围组织常发生溃烂(图 1)。中华鳖结节病发病率不高, 但因其不易被发现、发病期长, 一旦发现已是结节病后期, 给中华鳖养殖业造成严重危害。

2.2 中华鳖结节病病原的筛查

寄生虫与真菌检测: 通过对濒死病鳖病灶部位进行镜检, 未发现寄生虫和真菌。

病毒检测: 3 个无菌滤液感染实验组的鳖均未发生结节病, 对照组鳖无异常; 电镜观察也未发现病毒颗粒和包涵体。由此可知中华鳖结节病的发生与病毒无关。

细菌检测: 通过对濒死病鳖肺、肝、肌肉结节病灶部位取样分离细菌, 分离出两种优势菌株。两种细菌通过营养琼脂培养分别形成白色、光滑菌落和黄色、光滑菌落, 分别命名为 DM1 和 DM2。

回归感染实验结果显示, DM1 菌导致中华鳖死亡, 解剖发现结节; DM2 菌各组均未发生死亡, 解剖未发现结节(表 1)。

DM1 试验组发现中华鳖 2 d 后出现游动缓慢、厌食等症状; 注射病原菌第 5 天出现死亡; 1–8 d 内 2.877×10^5 CFU/mL 组中华鳖全部死亡,



图 1 中华鳖结节病临床症状

Figure 1 Clinical symptoms of sarcoidosis in *Trionyx sinensis*

注: A: 肺结节; B: 肺结节内部图; C: 肝结节; D: 完整腿部肌肉结节; E: 破裂腿肌肉结节; F: 完整的结节. ①: 完整结节; ②: 包膜破裂; ③: 结节内部豆渣样物质.

Note: A: Pulmonary nodule; B: Internal diagram of pulmonary nodule; C: Hepatic nodule; D: Holonomic muscle nodule in the leg; E: Internal diagram of muscle nodule; F: Total graph of the nodule. ①: Holonomic nodule; ②: Ruptured capsule; ③: Internal bean dregs in nodules.

表 1 DM1 回归感染实验结果

Table 1 Results of regression infection of DM1

死亡情况 Obituary		浓度 Concentration (CFU/mL)					对照 Control
		2.877×10^5	2.877×10^4	2.877×10^3	2.877×10^2	2.877×10^1	
每天死亡数量 Number of deaths per day	1 d	0	0	0	0	0	0
	2 d	0	0	0	0	0	0
	3 d	0	0	0	0	0	0
	4 d	0	0	0	0	0	0
	5 d	3	0	0	0	0	0
	6 d	6	3	0	0	0	0
	7 d	7	4	4	0	0	0
	8 d	4	0	0	3	0	0
	9 d	0	5	0	2	0	0
	10 d	0	0	2	0	0	0
	11 d	0	2	2	0	0	0
	12 d	0	0	0	0	0	0
	13 d	0	0	0	0	0	0
	14 d	0	0	0	0	0	0
	15 d	0	0	0	0	0	0
	16 d	0	0	0	0	0	0
	17 d	0	0	0	0	0	0
	18 d	0	0	0	0	0	0
死亡率 Mortality (%)		100	70	40	25	0	0

死亡中华鳖未发现结节, 腹腔有积水, 其他组中华鳖活力明显降低; 第9天, 2.877×10^4 CFU/mL 组死亡中华鳖体内发现结节; 10 d 后, 存活中华鳖活力逐渐增强, 继续养殖一周后未发生死亡; 第18天解剖剩余存活中华鳖, 除空白对照组, 其他组中华鳖体内肺、肝脏处发现结节小白点, 腿部肌肉出现松散症状。

回归感染试验的患病中华鳖症状与病鳖发病情况基本一样, 从而确定病原菌为 DM1 菌。无菌条件下取结节病灶, 同时分离、纯化病原菌。

2.3 16S rRNA 基因序列分析

回归感染试验证明中华鳖结节病由细菌导致, 16S rRNA 基因检测结果经 BLAST 对比, 选取相似度在 99% 以上的几种菌; 并选取中华鳖常见

病原菌 16S rRNA 基因序列做进化树。由图 2 可见, DM1 (GenBank 登录号为 MH211122) 与鼠伤寒沙门氏菌、乙型副伤寒沙门氏菌 (*Salmonella paratyphi* B) 相似度达 100% (图 2)。

2.4 生理生化检测

将 DM1 菌在 SS、MacC、DHL 3 种沙门氏菌鉴别培养基上培养, 30 ± 2 °C 培养 24–48 h 后观察菌落形态。SS、MacC、DHL 3 种培养基上长出均匀菌落: SS 培养基上菌落特征为圆形黑色; MacC 培养基上菌落特征为粉红色菌落; DHL 培养基上菌落特征为不规则粉红色菌落, 菌落聚集区为黑色。

生理生化结果(表 2)显示, DM1 菌与鼠伤寒沙门氏菌的生理生化指标一致, 确定该致病菌沙门氏菌为鼠伤寒沙门氏菌。

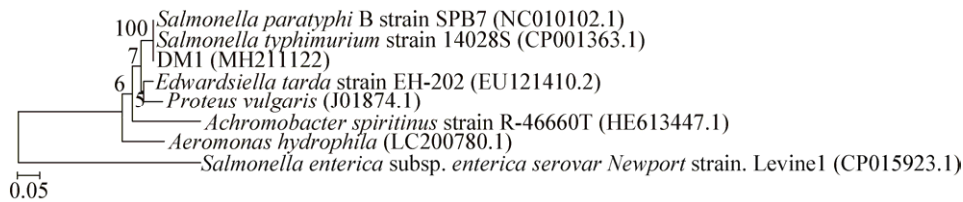


图 2 菌株 DM1 基于 16S rRNA 基因序列的系统进化树

Figure 2 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of strain DM1

注: 括号中的数字代表 GenBank 登录号; 每个分支点上的数字是软件输出的百分比; 标线代表 5% 的序列差别。

Note: Those in parentheses are GenBank accession number; Numbers at each branch points indicated the percentage of software output; Bar: Nucleotide divergence is 5%.

表 2 病原菌的生理生化鉴定

Table 2 Results of physiological and biochemical methods for DM1

检测项目 Test item	鉴定结果 Test results	检测项目 Test item	鉴定结果 Test results
三糖铁琼脂 Triple sugar iron agar	+	V-P	-
葡萄糖 Glucose	+	鸟氨酸 Ornithine	+
蔗糖 Sucrose	-	赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase	+
麦芽糖 Malt dust	+	氨基酸脱羧酶 Amino acid decarboxylase	-
棉子糖 Raffinose	-	尿素酶 Urease	-
乳糖 Lactose	-	氰化钾 Potassium cyanide	-
阿拉伯糖 Arabinose	+	山梨醇 Sorbitol	+
鼠李糖 Rhamnose	-	甘露醇 Mannitol	+
蕈糖 Alpha-D-Glucopyranoside	+	水杨苷 Salicin	-
海藻糖 Trehalose	+	丙二酸盐 Malonate	-
肌醇 Inositol	-	柠檬酸盐 Citrate	+
H ₂ S	+	卫矛醇半固体 Dulcitol semisolid	+
M.R	-	ONPG	+

注: +: 阳性; -: 阴性。

Note: +: Positive; -: Negative.

2.5 药敏试验

采用 K-B 纸片扩散法对病原菌 DM1 进行药敏纸片实验, 结果显示: 菌株 DM1 对丁胺卡那、庆大霉素、头孢哌酮、环丙沙星等 14 种药物敏感; 对呋喃唑酮、头孢氨苄表现中度敏感; 对诺氟沙星、

利福平、氨苄西林等 18 种药物表现耐药(表 3)。

2.6 病鳖病理组织观察

2.6.1 肺结节病理变化

肺结节及其周围组织均有病变发生。结节外部为结缔组织形成的包膜, 内部为豆渣样物质, 是

表 3 分离致病菌 DM1 对 34 种药物药敏性试验结果

Table 3 Analysis of 34 drug susceptibility test results of isolated pathogens DM1

药物 Antibiotic	纸片含药量 Dosage ($\mu\text{g}/\text{disc}$)	抑菌圈直径 Diameter of inhibition (mm)	标准抑菌圈直径 Standard of bacteriostatic circle diameter (mm)			敏感度 Sensitivity
			耐药 R	中度 I	敏感 S	
诺氟沙星 Norfloxacin	10	9	≤ 14	15-17	≥ 18	R
丁胺卡那 Amikacin	30	26	≤ 14	15-16	≥ 17	S
庆大霉素 Gentamicin	10	16	≤ 12	13-14	≥ 15	S
利福平 Rifampicin	5	0	≤ 16	17-19	≥ 20	R
多西环素 Doxycycline	30	8	≤ 10	11-15	≥ 15	R
复方新诺明 Compound sulfamethoxazole	23.75/1.25	0	≤ 12	13-17	≥ 18	R
头孢哌酮 Cefoperazone	75	35	≤ 15	16-20	≥ 21	S
头孢唑啉 Cefamezin	30	22	≤ 14	15-17	≥ 18	S
青霉素 Penicillin	10 U	0	≤ 19	20-27	≥ 28	R
苯唑西林 Oxacillin	1	0	≤ 10	11-12	≥ 13	R
氨苄西林 Ampicillin	10	0	≤ 13	14-16	≥ 17	R
头孢拉定 Cefradine	30	0	≤ 14	15-17	≥ 18	R
麦迪霉素 Midecamycinum	30	0	≤ 13	14-17	≥ 18	R
氟苯尼考 Florfenicol	30	0	≤ 12	13-17	≥ 18	R
万古霉素 Vancomycin	30	0	≤ 14	15-16	≥ 17	R
头孢噻吩 Cephalothin	30	0	≤ 14	15-17	≥ 18	R
四环素 Tetracycline	30	0	≤ 14	15-18	≥ 19	R
环丙沙星 Ciprofloxacin	5	27	≤ 15	16-20	≥ 21	S
哌拉西林 Piperacillin	100	32	≤ 17	18-20	≥ 21	S
新霉素 Neomycin	30	17	≤ 12	13-16	≥ 17	S
头孢曲松 Ceftriaxone	30	43	≤ 14	14-20	≥ 21	S
卡那霉素 Kanamycin	30	18	≤ 13	14-17	≥ 18	S
羧苄西林 Carbenicillin	100	17	≤ 19	20-22	≥ 23	R
氧氟沙星 Ofloxacin	5	25	≤ 12	13-15	≥ 16	S
米诺环素 Minocycline	30	16	≤ 12	13-15	≥ 16	S
呋喃唑酮 Furazolidone	100	15	≤ 14	15-16	≥ 17	I
头孢氨苄 Cephalexin	30	11	≤ 10	11-14	≥ 15	I
链霉素 Streptomycin	10	0	≤ 11	12-14	≥ 15	R
头孢呋辛 Cefuroxim	30	28	≤ 14	15-17	≥ 18	S
多粘菌素 B Polymyxin B	300 IU	17	≤ 8	9-11	≥ 12	S
头孢他啶 Ceftazidime	30	33	≤ 14	15-17	≥ 18	S
红霉素 Erythromycin	15	0	≤ 13	14-22	≥ 23	R
克林霉素 Clindamycin	2	0	≤ 14	15-20	≥ 21	R
氯霉素 Chloroamphenicol	30	0	≤ 10	11-14	≥ 15	R

注: R: 低度敏感或者不敏感; I: 中度敏感; S: 高度敏感. 参考标准取自药敏片官网数据.

Note: R: Low sensitivity or insensitivity; I: Moderately sensitive; S: Highly sensitive. Reference standard from drug sensitive film official network.

嗜酸性凝固性坏死和脓液。周围组织有大量细胞发生核固缩、核破裂,发现少量核溶解细胞,很少见到正常细胞;肺泡变形,肺泡壁结构模糊,毛细血管消失,结缔组织严重增生(图3)。

2.6.2 肝结节病理变化

肝结节直径较小,结缔组织形成的包膜没有肺结节明显;内部嗜酸性凝固性坏死明显。病灶周围组织细胞多发生核固缩、核破裂、核溶解,小叶间胆管萎缩,结缔组织增生。相比于正常肝脏切片,

发病肝脏染色较深,肝组织结构不清晰;细胞、结缔组织严重增生(图4)。

2.6.3 腿部肌肉结节病理变化

腿部肌肉的结节一般较大,包膜较厚,内部嗜酸性凝固性坏死较明显。在包膜与内部嗜酸性凝固性坏死交界处可见稀松发生核固缩、核破裂、核溶解的细胞。病灶外部为正常肌肉组织和坏死组织相互交织;在坏死部位有时可见初期结节形成;病灶周围正常肌肉组织常发生断裂(图5)。

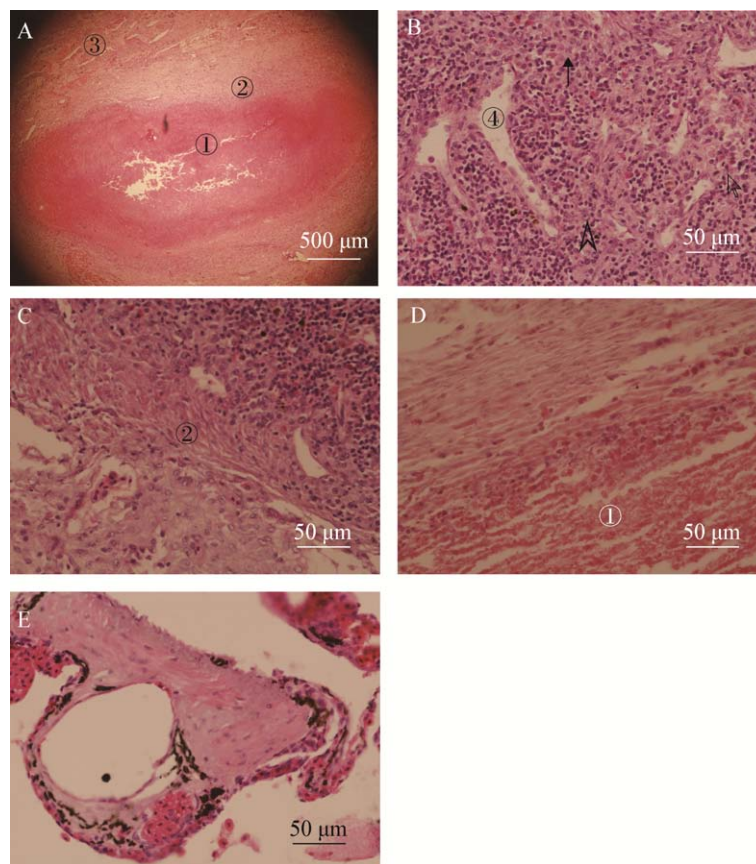


图3 肺部结节病的组织病理变化

Figure 3 Histopathological changes of sarcoidosis in lung

注: A: 肺结节整体图; B: 肺结节周围组织图; C: 肺结节包膜与周围组织交界部分图; D: 肺结节包膜与内部物质交接部分图; E: 正常肺泡结构图。①: 结节内部,嗜酸性凝固性坏死;②: 包膜,结缔组织;③: 肺部结节周围组织;④: 病变肺泡。➤: 核固缩细胞;➡: 核碎裂细胞;↘: 核溶解细胞。

Note: A: Tissue section diagram of the holonomic pulmonary nodule; B: Tissue section diagram of external tissue organization around pulmonary nodules; C: Tissue section diagram about the boundary organization of the pulmonary nodule capsule and the surrounding tissue; D: Tissue section diagram of pulmonary nodule capsule and internal substance; E: Normal alveoli. ①: The interior of the nodule is eosinophilic coagulation necrosis; ②: Envelope is formed connective tissue; ③: Peripheral tissue of pulmonary nodules; ④: Deformed alveoli. ➤: Pycnotic cell; ➡: Cell of karyorrhexis; ↘: Cell of karyolysis.

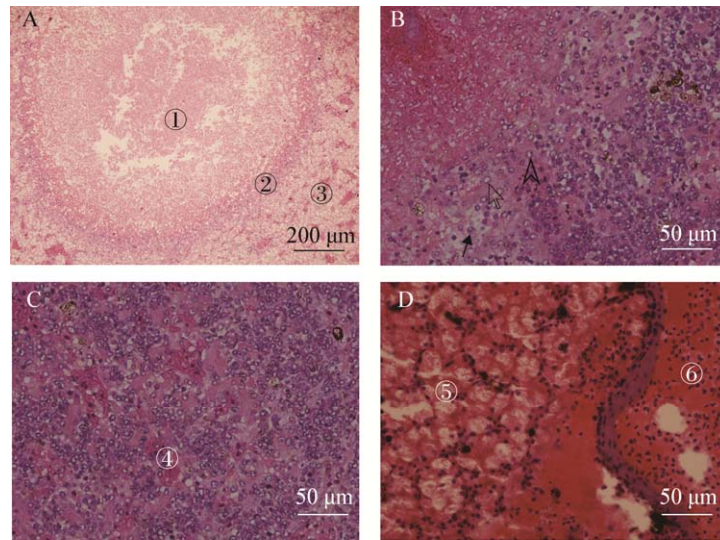


图4 肝部结节病的组织病理变化

Figure 4 Histopathological changes of sarcoidosis in liver

注：A：肝结节完整结构图；B：肝脏结节与外部组织交界图；C：肝脏结节周围组织图；D：正常肝脏图。①：嗜酸性凝固性坏死；②：结缔组织包膜；③：肝结节周围组织；④：萎缩的肝血窦；⑤：正常肝细胞索；⑥：正常肝血窦。➤：核固缩细胞；➡：核碎裂细胞；↗：核溶解细胞。

Note: A: Tissue section diagram of the holonomic hepatic nodule; B: Boundary diagram of hepatic nodules and external tissues; C: Tissue section diagram of external tissue organization around hepatic nodules; D: Normal tissue section diagram of liver. ①: Eosinophilic coagulation necrosis; ②: Connective tissue envelope; ③: Peripheral tissue of liver nodule; ④: Atrophic hepatic sinusoid; ⑤: Normal hepatic cell cord; ⑥: Normal hepatic sinusoid. ➤: Pycnotic cell; ➡: Cell of karyorrhexis; ↗: Cell of karyolysis.

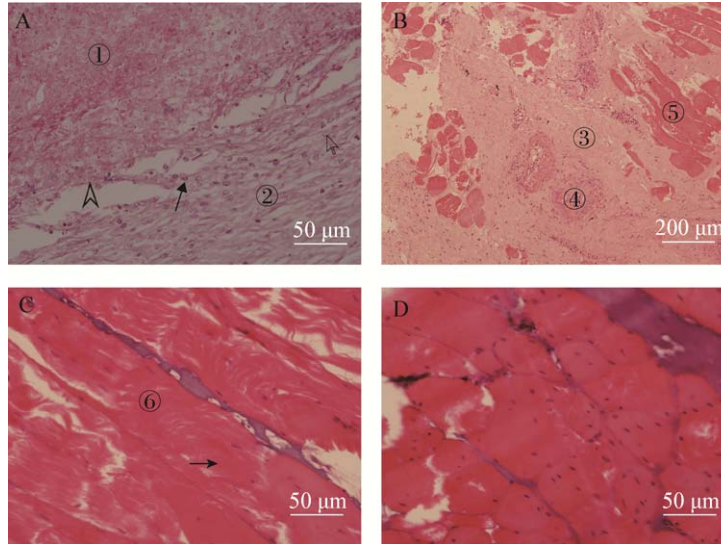


图5 腿部肌肉结节病的组织病理变化

Figure 5 Histopathological changes of sarcoidosis in leg muscles

注：A：腿部肌肉结节包膜与坏死部位交界部位；B：腿部肌肉结节周围组织病变图；C：正常肌肉纵切图；D：正常肌肉横切图。①：嗜酸性凝固性坏死；②：包膜结缔组织；③：坏死组织；④：结节病初期病症；⑤：正常肌肉组织；⑥：正常肌纤维。➤：核固缩细胞；➡：核碎裂细胞；↗：核溶解细胞；➡：肌细胞核。

Note: A: The junction about the muscle nodule of capsule of and the necrosis which happened in the leg; B: Pathological tissue section diagram around the leg muscle nodules; C: Normal muscle tissue longitudinal section diagram; D: Normal muscle tissue crosscutting section diagram. ①: Eosinophilic coagulation necrosis; ②: Connective tissue envelope; ③: Connective tissue in the peripheral tissue of leg nodule; ④: Early stage of nodules; ⑤: Normal muscle tissue; ⑥: muscle fibers. ➤: Pycnotic cell; ➡: Cell of karyorrhexis; ↗: Cell of karyolysis; ➡: Normal muscle nucleus.

3 讨论与结论

随着中华鳖养殖业规模的不断扩大, 集约化程度不断提高, 中华鳖疾病发生愈加频繁。鳖病大致分传染性、侵袭性、外界因素导致的 3 种疾病。鳖病具有多病齐发、病原微生物复杂等特点, 给其研究与防控带来很大困难。如陈永亮等^[16]研究的中华鳖肠道出血性坏死病, 周靓婧等^[17]研究的黄沙鳖红脖子病, Huang 等^[18]研究的黄沙鳖红底板病等, 这些疾病的病原均已确定。但很多疾病的病因仍不明确, 以腮腺炎病为例, 何建国等^[19]、张胜宇等^[20]、崔青曼等^[21]、曹茂奎^[22]认为病原是病毒, 黄斌等^[23]认为细菌为病原, Vivekanandhan 等^[24]和冷闯等^[25]认为先由病毒感染, 后由细菌感染导致。为尽量排除其他疾病对结节病研究的干扰, 本实验以症状典型、外伤轻、无其他病症的初期结节病鳖为材料。

流行病学调查发现, 鼠伤寒沙门氏菌对中华鳖危害较大。中华鳖结节病初期在肺、肝脏、肌肉中一个部位发生; 中期造成多个器官和组织发生多重感染; 后期导致整个腹腔积水、内脏腐烂发臭, 最终中华鳖死亡。中华鳖结节病高发期为每年 7-9 月份, 水温在 29-32 °C。通过统计 11 月份清塘数据, 发现 11-12 月份发病率与高发期一致, 均在 11% 左右。由此可知中华鳖结节病受气温条件影响较小, 全年均有发生, 为慢性病。

本研究经回归感染试验证实了中华鳖结节病原是一种细菌, 通过 16S rRNA 基因检测技术和生理生化实验确定了致病菌类型。16S rRNA 基因具有高度的保守性和特异性, 是种属鉴定的分子基础^[26], 该技术已成为病原菌检测鉴定的强有力工具, 应用该技术可以实现对病原菌进行快速、微量和准确的分类鉴定^[27], 但 16S rRNA 基因在细菌种间相似度达 99% 以上, 所以该技术的特异性和灵敏性一直存在争议^[28]; 而生理生化实验可以区分细菌种间差异。因此本研究通过 16S rRNA 基因检测技术和生理生化实验进行致病菌的鉴

定。通过 16S rRNA 基因检测技术确定该病原菌为一种沙门氏菌, 但与两种沙门氏菌相似度高达 100%; 因此补充沙门氏菌生理生化实验, 16S rRNA 基因检测技术和生理生化实验确定病原菌为鼠伤寒沙门氏菌。

沙门氏菌是一种无芽孢、无荚膜的短杆菌, 属于肠杆菌科细菌^[29]。目前沙门氏菌共发现 2 500 多种血清型, 鼠伤寒沙门氏菌是常见血清型之一, 具有宿主范围广的特性。鼠伤寒沙门氏菌病是人畜共患病, 感染动物的同时也可引起人类中毒^[30]。由鼠伤寒沙门氏菌在全球引起的肆虐感染事件也令人印象深刻^[31]。周雷等^[32]、邓显佑等^[33]研究发现鼠伤寒沙门氏菌可导致马与矮马食欲不振、腹泻、喜卧等症状; 王忠民^[34]发现鼠伤寒沙门氏菌性胃肠炎可引起结节性红斑。类似中华鳖这类严重性的结节病很少见, 本实验发现鼠伤寒沙门氏菌对中华鳖的致死率不高, 实际生产过程中发病率、传染率也不是很高。调查发现, 定期消毒和勤清饵料台等严格管理措施可能对鼠伤寒沙门氏菌具有一定抑制作用。通过对比 2017 年与 2016 年的发病情况, 发现该病的发病率上升而且危害愈发严重。统计观察发现, 相较于 2016 年的结节病症状, 2017 年只要中华鳖活力降低, 解剖便会发现结节病。因此关于中华鳖结节病的防治要早、杀菌要彻底, 以彻底杜绝结节病的发生。

随着抗生素在包括医疗、养殖内的广泛使用及不恰当的滥用, 细菌耐药性问题日趋严重, 沙门氏菌耐药性问题也越来越严重^[35]。本实验通过对鼠伤寒沙门氏菌进行药物敏感试验发现, 分离出的鼠伤寒沙门氏菌对丁胺卡那、庆大霉素、头孢哌酮、环丙沙星等 14 种药物敏感; 对呋喃唑酮、头孢氨苄表现中度敏感; 对诺氟沙星、利福平、氨苄西林等 18 种药物表现耐药, 耐药性达 52.9%。据曹敏瑾等^[36]报道, 早在 20 世纪 90 年代, 国内外研究发现 35%-38% 的鼠伤寒沙门氏菌对 6 种以上的抗生素产生耐药性; 王金艳^[31]调查发

现上海市鼠伤寒沙门氏菌菌株对传统抗生素均表现很高耐药性。张增峰^[37]通过研究分离于上海市腹泻患者和不同食品中鼠伤寒沙门氏菌的 17 种抗生素耐药水平,发现其耐药水平尤其是多重耐药水平非常高。本实验的耐药性结果与已报道数据对比可以看出,鼠伤寒沙门氏菌的耐药性仍呈现上升趋势。

本实验通过病理切片可以看出,结节病灶部外部是由纤维结缔组织组成的包膜组成,内部以凝固性坏死为主,很少见到细胞的存在。病理切片可看出结节是由鼠伤寒沙门氏菌感染后导致组织坏死,坏死部位的间质新生出的肉芽组织溶解、吸收异物并填补缺损,继之肉芽组织逐渐成熟形成纤维结缔组织^[38],最终形成由纤维结缔组织包裹凝固性坏死和脓液的结节。肺部和肝脏部位的结节周围组织结构不清晰,细胞核固缩、细胞核碎裂等病变严重;细胞和结缔组织严重增生,因此这两个发病器官的硬度变大。腿部肌肉结节周围组织表现出肌肉松散症状,切片显示病灶周围肌肉组织发生局部坏死,坏死和正常组织交织,因此形成此种病状。

综上所述,中华鳖结节由鼠伤寒沙门氏菌引起,使肺、肝脏、肌肉等组织发生局部坏死,初期 1-2 个器官发病;中期结节破裂,鼠伤寒沙门氏菌扩散到腹腔,引起其他组织和器官感染;后期中华鳖活动能力越来越差、内脏腐烂,最终导致中华鳖死亡。中华鳖结节病可用丁胺卡那、庆大霉素、头孢哌酮、环丙沙星等药物进行防控;但由于抗生素的滥用导致鼠伤寒沙门氏菌产生耐药性,因此在加强水质的严格管控和日常消毒的同时,采用交叉、联合使用抗生素,以延缓耐药性的产生,保障中华鳖的健康养殖。

REFERENCES

- [1] Ma WP, Zhang HM, Zhang YW. The nutritional value and medicinal value of *Trionyx sinensis*[J]. Meat Hygiene, 1999(1): 31 (in Chinese)
马卫平, 张海鸣, 张耀文. 甲鱼的营养价值和药用价值[J]. 肉品卫生, 1999(1): 31
- [2] Qian MM, Song J, Wu B, et al. The diagnosis and integrated prevention and treatment of common diseases in *Pelodiscus sinensis*[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2009, 30(4): 103-107 (in Chinese)
钱明明, 宋杰, 武斌, 等. 中华鳖常见疾病的诊断及综合防治[J]. 动物医学进展, 2009, 30(4): 103-107
- [3] Wang MH. The history and present situation of the development of *Trionyx sinensis* industry[J]. Fisheries Advance Magazine, 2016(5): 99-100 (in Chinese)
汪敏华. 甲鱼产业发展历史和现状[J]. 海洋与渔业·水产前沿, 2016(5): 99-100
- [4] Zhang CF. Common diseases and integrated control techniques of *Trionyx sinensis*[J]. Fishery Guide to be Rich, 2012(11): 52-53 (in Chinese)
张彩凤. 中华鳖常见疾病及其综合防治技术[J]. 渔业致富指南, 2012(11): 52-53
- [5] Ribelin WE, Migaki G. Fish Pathology[M]. Hua DK, Li YZ, Trans. Beijing: China Agricultural Press, 1981: 46 (in Chinese)
里贝林 WE, 三垣 G. 鱼类病理学[M]. 华鼎可, 李耀祖, 译. 北京: 农业出版社, 1981: 46
- [6] Zheng C, Pan LD. Advances in the pathogeny and histopathology of visceral sarcoidosis in cultured fishes[J]. Scientific Fish Farming, 2016(7): 54-55 (in Chinese)
郑串, 潘连德. 养殖鱼类内脏结节病病原及组织病理学研究进展[J]. 科学养鱼, 2016(7): 54-55
- [7] Liu LH, Lin Q, Li NQ, et al. The diagnosis and treatment of sarcoidosis of *Tilapia*[J]. Ocean and Fishery, 2013(5): 70 (in Chinese)
刘礼辉, 林强, 李宁求, 等. 罗非鱼类结节病的诊治[J]. 海洋与渔业, 2013(5): 70
- [8] Huang YC, Jian JC, Wu ZH, et al. Isolation and identification of the pathogen causing sarcoidosis of *Trachinotus ovatus*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2008, 28(4): 49-53 (in Chinese)
黄郁葱, 简纪常, 吴灶和, 等. 卵形鲳鲹结节病病原的分离与鉴定[J]. 广东海洋大学学报, 2008, 28(4): 49-53
- [9] Shi CB, Pan HJ, Chang OQ, et al. Pathogen analysis on the sarcoidosis in cultured *Ophiocephalus argus*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(16): 7384-7386, 7397 (in Chinese)
石存斌, 潘厚军, 常藕琴, 等. 养殖乌鳢结节病的病原分析[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(16): 7384-7386, 7397
- [10] Chang OQ, Shi CB, Ren Y, et al. Histopathological observations on pseudotuberculosis of *Seriola dumerili*[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(6): 936-943 (in Chinese)
常藕琴, 石存斌, 任燕, 等. 高体鲷类结节病的病理组织学观察[J]. 水产学报, 2013, 37(6): 936-943
- [11] Jin S, Wang GL, Zhao QS, et al. Pathogenic and hemopathological studies on the bacterial pseudotuberculosis of *Lateolabrax japonicus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2004, 28(6): 703-708 (in Chinese)

- 金珊, 王国良, 赵青松, 等. 鲈细菌性类结节病的病原及血液病理研究[J]. 水产学报, 2004, 28(6): 703-708
- [12] Zhang YJ. Histopathological studies on the tuberculosis of black bream, *Sparus latus* houttuyn[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1991, 22(6): 561-565 (in Chinese)
张永嘉. 黄鳍鲷结节病病理组织学研究[J]. 海洋与湖沼, 1991, 22(6): 561-565
- [13] Lu CP, Zhu S, Guo FS, et al. Electron microscopic observation on a non-occluded baculo-like virus in shrimps[J]. Archives of Virology, 1997, 142(10): 2073-2078
- [14] Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study[J]. Journal of Bacteriology, 1991, 173(2): 697-703
- [15] Li N, Guo HZ, Jiao R, et al. Identification and pathogenicity of bacterial pathogens isolated in an outbreak on bacterial disease of *Ctenopharyngodon idellus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2011, 35(6): 980-987 (in Chinese)
李楠, 郭慧芝, 焦冉, 等. 草鱼的一种急性细菌性传染病病原的分离鉴定及致病性研究[J]. 水生生物学报, 2011, 35(6): 980-987
- [16] Chen YL, Gao XH, Li Y, et al. Isolation, identification and antibiotic sensitivity test of *Morganella morganii* from *Trionyx sinensis*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2015, 46(11): 2046-2052 (in Chinese)
陈永亮, 高晓华, 李怡, 等. 鳖源摩根氏菌分离鉴定及药敏特性分析[J]. 南方农业学报, 2015, 46(11): 2046-2052
- [17] Zhou JJ, Tong GX, Li XZ, et al. Pathogenic bacterium identification, prevention and cure of "red neck disease" in *Truogx sinensis*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2011, 38(10): 106-108 (in Chinese)
周靓婧, 童桂香, 黎小正, 等. 一例黄沙鳖红脖子病的病原菌鉴定与防治[J]. 广东农业科学, 2011, 38(10): 106-108
- [18] Huang YH, Liu J, Hu DS, et al. Isolation, identification and drug sensitivity test of the pathogen of artificial breeding yellow sand turtle[J]. Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2014, 30(3): 118-121 (in Chinese)
黄艳华, 刘杰, 胡大胜, 等. 人工养殖黄沙鳖红底板病病原菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 广西畜牧兽医, 2014, 30(3): 118-121
- [19] He JG, Weng SP, Ye QZ, et al. Preliminary observation on histopathology of virus disease in *Trionyx sinensis*[J]. Supplement to the Journal of Sun Yatsen University, 1997(S1): 58-60 (in Chinese)
何建国, 翁少萍, 叶巧真, 等. 中华鳖病毒及组织病理简报[J]. 中山大学学报论丛, 1997(S1): 58-60
- [20] Zhang SY, Zhang XG. Diagnosis and control technique of common disease in *Trionyx sinensis*[J]. Freshwater Fisheries, 1996, 26(3): 39-41 (in Chinese)
张胜宇, 张晓刚. 甲鱼常见病的诊断及防治技术[J]. 淡水渔业, 1996, 26(3): 39-41
- [21] Cui QM, Yuan CY, Zhang YH. Histopathological study on the skin rot of *Trionyx sinensis*[J]. China Fisheries, 1999(4): 31 (in Chinese)
崔青曼, 袁春营, 张跃红. 中华鳖腐皮病的组织病理研究[J]. 中国水产, 1999(4): 31
- [22] Cao MK. Synthetic method of treating parititis in *Trionyx*[J]. Freshwater Fisheries, 1999, 29(6): 44-45 (in Chinese)
曹茂奎. 鳖腮腺炎的综合防治[J]. 淡水渔业, 1999, 29(6): 44-45
- [23] Huang B, Chen SF, Zhao WP. Research on the cause of typical neck swelling of soft-shelled turtles[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 1999, 25(8): 43-45 (in Chinese)
黄斌, 陈世锋, 赵万鹏. 鳖典型性肿脖子病的病因学研究[J]. 中国兽医杂志, 1999, 25(8): 43-45
- [24] Vivekanandhan G, Savithamani K, Hatha AAM, et al. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 76(1/2): 165-168
- [25] Leng C, Deng SZ, Zhang WB, et al. Isolation, identification and drug sensitivity test of pathogenic *Aeromonas hydrophila* from Chinese soft-shelled turtles[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2012, 33(2): 124-129 (in Chinese)
冷闯, 邓舜洲, 张文波, 等. 中华鳖致病性嗜水气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 动物医学进展, 2012, 33(2): 124-129
- [26] Janssen PH. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(3): 1719-1728
- [27] Liu Y, Cui XL, Li WJ, et al. Application of RNA secondary structure in phylogenetic analysis of microbiology[J]. Microbiology China, 2006, 33(2): 147-150 (in Chinese)
刘杨, 崔晓龙, 李文均, 等. RNA 二级结构在微生物系统发育分析上的应用[J]. 微生物学通报, 2006, 33(2): 147-150
- [28] Martinez-Murcia AJ, Benlloch S, Collins MD. Phylogenetic interrelationships of members of the genera *Aeromonas* and *Plesiomonas* as determined by 16S ribosomal DNA sequencing: lack of congruence with results of DNA-DNA hybridizations[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1992, 42(3): 412-421
- [29] Dunkley KD, Callaway TR, Chalova VI, et al. Foodborne *Salmonella* ecology in the avian gastrointestinal tract[J]. Anaerobe, 2009, 15(1/2): 26-35
- [30] Chen FY. Veterinary Lemology[M]. 5th ed. Beijing: China Agricultural Press, 2006: 126 (in Chinese)
陈溥言. 兽医传染病学[M]. 5 版. 北京: 中国农业出版社, 2006: 126
- [31] Wang JY. The analysis on antimicrobial resistance and resistance genes of *Salmonella enterica* serovar typhimurium in Shanghai, China[D]. Beijing: Master's Thesis of Academy of Military Medical Sciences, 2017 (in Chinese)
王金艳. 上海市鼠伤寒沙门氏菌的耐药性及耐药基因研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院硕士学位论文, 2017
- [32] Zhou L, Shen Y. Etiology and diagnosis of diarrhea in domestic animals[J]. Technical Advisor for Animal Husbandry, 2013(9): 128 (in Chinese)
周雷, 沈勇. 家畜腹泻的病因及诊断要点[J]. 养殖技术顾问, 2013(9): 128

- [33] Deng XY, Xue Y, Wang JF, et al. Isolation, identification and pathogenicity of *Salmonella typhimurium* from Guizhou Pony[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2016, 43(10): 2756-2761 (in Chinese)
邓显佑, 薛艳, 王嘉福, 等. 贵州矮马鼠伤寒沙门氏菌的分离鉴定及其致病力研究[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(10): 2756-2761
- [34] Wang ZM. Nodular erythema caused by *Salmonella enteritis* infection[J]. *Infectious Disease Information*, 1996(1): 31-32 (in Chinese)
王忠民. 肠炎沙门氏菌感染引起的结节性红斑[J]. *传染病信息*, 1996(1): 31-32
- [35] Liu F, Song XB, Ding SY, et al. Analysis of *Salmonella* tolerance[A]//Proceedings of the Fifth National Conference of the Chinese Toxicology Society, the Veterinary Toxicology Committee F, the Chinese Academy of Animal Husbandry and Veterinary Sciences and the Veterinary Toxicology Committee of the Chinese Toxicology Society[C]. Beijing: Chinese Animal Husbandry and Veterinary Association, 2017 (in Chinese)
- 刘飞, 宋祥彬, 丁双阳, 等. 沙门氏菌耐药性分析[A]//中国毒理学会兽医毒理学委员会与中国畜牧兽医学会兽医食品卫生学分会联合学术研讨会暨中国毒理学会兽医毒理学委员会第5次全国会员代表大会会议论文集[C]. 北京: 中国畜牧兽医学, 2017
- [36] Cao MJ, Song LM. *Salmonellosis of Salmonella typhimurium*[M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press, 1990: 13 (in Chinese)
曹敏瑾, 宋路明. 鼠伤寒沙门氏菌病[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1990: 13
- [37] Zhang ZF. Antibiotic resistance and food vehicle of *Salmonella typhimurium* in human infections in Shanghai, China[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2016 (in Chinese)
张增峰. 上海市临床鼠伤寒沙门氏菌耐药性和食品载体溯源研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2016
- [38] Zhang ZJ. *Pathobiology*[M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2011: 31 (in Chinese)
张子敬. 病理学[J]. 北京: 北京大学医学出版社, 2011: 31

征 稿 简 则

1 刊物简介与刊登内容

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。本刊为月刊, 中文核心期刊, 中国科技核心期刊, CSCD 核心期刊, 曾获国家优秀科技期刊三等奖, 中国科学院优秀科技期刊三等奖, 并在新闻出版署设立的“中国期刊方阵”中被列为“双效”期刊。从 2012 年至今, 本刊以国内“微生物、病毒学类期刊”综合评价总分第一而蝉联“百种中国杰出学术期刊奖”, 并入选 300 种“中国精品科技期刊”, 成为“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊。

本刊刊登内容包括: 工业、海洋、环境、基础、农业、食品、兽医、水生、药物、医学微生物学和微生物蛋白质组学、功能基因组、工程与药物等领域的最新研究成果、产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究改革等。设置的栏目有: 研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、专栏等。

2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>, 点击作者投稿区, 第一次投稿请先注册, 获得用户名和密码, 然后依照提示提交稿件, 详见主页“投稿须知”。

(下转 p.818)