

葛明峰,徐胜威,王雯琼,等.2020—2022年宁波市大黄鱼病原菌耐药状况分析[J].渔业研究,2023,45(5):506-512.

2020—2022年宁波市大黄鱼病原菌耐药状况分析

葛明峰, 徐胜威*, 王雯琼, 付志明, 沈伟良

(宁波市海洋与渔业研究院, 浙江 宁波 315000)

摘要: 为掌握近几年宁波市大黄鱼主要病原菌的种类及其耐药趋势, 本研究于2020—2022年在宁波市大黄鱼主要养殖基地采集患病鱼体进行病原菌的分离鉴定, 并对分离的病原菌进行恩诺沙星、硫酸新霉素、甲砒霉素、氟苯尼考、盐酸多西环素、氟甲喹、磺胺间甲氧嘧啶钠、磺胺甲噁唑+甲氧苄啶8种抗菌渔药最低抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)的测定, 比较各病原菌对药物的感受性。结果表明, 近3年从大黄鱼体内共分离到7种、58株病原菌, 主要病原菌为杀香鱼假单胞菌、哈维氏弧菌和鳊鱼诺卡氏菌, 占总菌株数的74.1%, 其中哈维氏弧菌和鳊鱼诺卡氏菌每年都有被分离到。100%分离的菌株对盐酸多西环素敏感, 所有菌株对该药物的感受性均分布在 $MIC \leq 4.00$ mg/L, 耐药率为0%; 相较而言, 病原菌对氟苯尼考及磺胺类药物的耐受浓度较高, 尤其磺胺类药物MIC普遍为64.00~1 024.00 mg/L。另外, 从病原菌耐药性年度变化可知, 鳊鱼诺卡氏菌每年对药物的耐受性呈逐年递增的趋势。因此, 虽然病原菌普遍对盐酸多西环素、硫酸新霉素、恩诺沙星敏感, 其可作为防治大黄鱼多数病原菌的优选药物, 但必须严格按照药敏试验结果及结合药代学、药效学确定剂量和疗程, 才能尽可能避免耐药菌株的产生。

关键词: 大黄鱼; 病原菌; 药敏试验; 耐药性

中图分类号: S851.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-9848(2023)05-0506-07

2019—2021年中国大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)养殖产量年均达 24.5×10^4 t, 位居海水养殖鱼类第一^[1-3], 但因疾病造成的经济损失约6.2亿元/年^[4-6]。其中, 细菌病是影响大黄鱼养殖最为严重的一类病害, 主要包括内脏白点病、溃疡病、肠炎病、诺卡氏菌病等^[7-9]。抗菌药物是水产养殖中用来控制各种细菌性疾病必不可少的药物, 包括抗生素和人工合成抗菌药^[10]。近年来, 随着规范用药科普下乡活动的推进, 科学、精准用药的水平有所提升, 但仍存在较多养殖户滥用药的现象。这不仅会导致药物残留超标、影响水产品质量安全, 而且会导致致病菌耐

药性增强, 对生态和公共卫生安全造成严重影响^[11-12]。

为更好地落实农业部《水产养殖动物主要病原菌耐药性监测》, 持续推动水产养殖用药减量, 助力水产养殖业绿色健康发展, 本研究连续3年(2020—2022年)对宁波市主导养殖品种大黄鱼的主要病原菌进行了8种抗菌药物的耐药性分析。通过药物敏感性试验, 了解和掌握病原菌耐药性变化规律, 为指导水产养殖业者科学、规范地用药提供有力支撑, 提升病害防控能力和保障水产品质量安全。同时, 开展细菌耐药性监测, 也为动物和公共卫生的推

收稿日期: 2023-03-08

基金项目: 国家海水鱼产业技术体系专项基金(CARS-47); 宁波市公益类科技计划项目(2022S169)

作者简介: 葛明峰(1988—), 男, 工程师, 硕士, 从事水生物病害防治研究。E-mail:910342950@qq.com

通信作者: 徐胜威(1983—), 男, 工程师, 硕士, 从事水生物病害防治研究。E-mail:546207546@qq.com

荐性政策奠定基础, 为新药的研究和评估提供有价值的信息。

1 材料和方法

1.1 病原菌的分离鉴定

2020—2022年间每月在宁波市几个主要大黄鱼养殖基地开展一次流行病学调查工作, 每次现场采集已发病且出现明显症状或濒临死亡的大黄鱼5尾, 3年共计采集大黄鱼250尾。在无菌条件下, 取肝、脾、肾等组织或器官划线接种于BHI固体平板上, 28℃培养24~48 h (鲷鱼诺卡氏菌培养5~7 d), 挑取优势单菌落划线提纯培养。提取纯化培养后的细菌DNA, 根据16S rRNA序列设计引物, PCR产物测序由北京六合华大基金科技有限公司完成, 测序结果经GenBank Blast比对后进行细菌鉴定。同时, 挑选纯化好的单菌落用于后续的药敏试验。

1.2 测试药物

使用全国水产技术推广总站统一定制的药敏检测分析试剂盒、药敏检测分析试剂板。选用恩诺沙星、硫酸新霉素、甲砒霉素、氟苯尼考、盐酸多西环素、氟甲喹、磺胺间甲氧嘧啶钠、磺胺甲噁唑+甲氧苄啶8种国务院兽医主管部门批准的水产养殖用抗菌药物。

1.3 药敏试验

将培养纯化后的菌落加入到5 mL生理盐水中, 制成0.5麦氏单位浓度的菌悬液, 再用生理盐水将菌液浓度稀释为 5×10^5 cfu/mL, 分别加到含8种不同浓度梯度药物(以甲砒霉素为例, 药物浓度依次为0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、16.00、32.00、64.00、128.00、256.00、512.00 mg/L)的96孔药敏板中, 每孔加入0.2 mL。以不含抗菌药物、等量的生理盐水为阴性对照。将药敏分析试剂板置于28℃培养箱中, 培养24~48 h后观察菌落生长情况, 记录药物对菌株的最低抑菌浓度(MIC)^[13]。通过计算MIC₅₀(抑制50%受试菌生长所需的MIC), 比较分析病原菌对抗菌药物的感受性。

1.4 耐药性分析

因中国渔业渔政管理局发布的SC/T 7028—

2022《水产养殖动物细菌耐药性调查规范 通则》只列出细菌对氟苯尼考、盐酸多西环素、磺胺甲噁唑+甲氧苄啶、磺胺间甲氧嘧啶钠、恩诺沙星5种抗菌药物的耐药性判定参考值(S=敏感, I=中敏, R=耐药)^[14], 以及美国临床和实验室标准协会(CLSI)发布的药物敏感性及耐药性标准中也只有针对这5种药的数据, 因此本文作耐药性分析时, 不将硫酸新霉素、甲砒霉素、氟甲喹3种抗菌药物纳入统计。判别标准及菌株耐药率计算如下:

1) 氟苯尼考: S, MIC ≤ 2 mg/L; I, MIC = 4 mg/L; R, MIC ≥ 8 mg/L。

2) 盐酸多西环素: S, MIC ≤ 4 mg/L; I, MIC = 8 mg/L; R, MIC ≥ 16 mg/L。

3) 磺胺甲噁唑+甲氧苄啶: S, MIC ≤ (38/2) mg/L; R, MIC ≥ (76/4) mg/L。

4) 磺胺间甲氧嘧啶钠: S, MIC ≤ 256 mg/L; R, MIC ≥ 512 mg/L。

5) 恩诺沙星: S, MIC ≤ 0.5 mg/L; I, MIC = 1~2 mg/L; R, MIC ≥ 4 mg/L。

6) 菌株耐药率(R, %) = $(n/N) \times 100\%$ 。式中: n为耐药菌株数量, 个; N为菌株总数, 个。

2 结果与分析

2.1 病原菌种类和数量

2020—2022年采集的患病大黄鱼主要表现为体表溃疡、内脏有白色结节、皮下脂肪和肌肉形成脓疮等病症。从患病大黄鱼上分离到7种病原菌, 共计58株(表1、图1), 其中2021年、2022年分离到的菌株数较多, 分别为25株和21株, 共计占总菌株数的79.3%; 杀香鱼假单胞菌(*Pseudomonas plecoglossicida*)、哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)、鲷鱼诺卡氏菌(*Nocardia serioleae*)是这3年大黄鱼最主要的病原菌, 分别占总菌株数的27.6%、27.6%、19.0%; 溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)、海豚链球菌(*Streptococcus iniae*)和美人鱼发光杆菌(*Photobacterium damsela*)各分离到4株, 另外有3株副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*); 在病原菌中, 哈维氏弧菌和鲷鱼诺卡氏菌每年都有被分离到。

表1 2020—2022年分离到的病原菌种类和数量(株)

Tab.1 Kind and quantity (strain) of pathogenic bacteria isolated from 2020 to 2022

病原菌 Pathogenic bacteria	年份 Year		
	2020	2021	2022
杀香鱼假单胞菌 <i>P. plecoglossicida</i>	—	8	8
哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>	8	4	4
溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>	—	4	—
副溶血弧菌 <i>V. parahemolyticus</i>	—	2	1
美人鱼发光杆菌 <i>P. damsela</i>	2	2	—
鲷鱼诺卡氏菌 <i>N. serioleae</i>	2	5	4
海豚链球菌 <i>S. iniae</i>	—	—	4
总计 Total	12	25	21

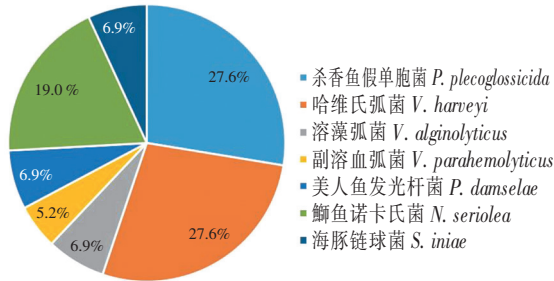


图1 2020—2022年大黄鱼病原菌的分离情况

Fig.1 The isolation of pathogenic bacteria from *P. crocea* from 2020 to 2022

2.2 病原菌耐药性分析

2.2.1 病原菌对药物感受性

8种抗菌药物对2020—2022年从大黄鱼上分离到的7种病原菌的 MIC_{50} 如表2所示。由表2可知,各种病原菌对抗菌药物的感受性表现不一。相较其他病原菌,杀香鱼假单胞菌对药物的耐受性更高,尤其是对甲砒霉素、氟苯尼考、磺胺间甲氧嘧啶钠、磺胺甲噁唑+甲氧苄啶这4种药物, MIC_{50} 分别为128.00、256.00、512.00、512.00/102.00 mg/L,远高于另外4种药物。除哈维氏弧菌对磺胺间甲氧嘧啶钠较敏感外,3种弧菌(哈维氏弧菌、溶藻弧菌、副溶血弧菌)对抗菌药物的感受性差异不大。美人鱼发光杆菌对恩诺沙星的耐药性较强, MIC_{50} 为1.56 mg/L,而该药对其他病原菌的 $MIC_{50} \leq 0.50$ mg/L。革兰氏染色阳性的鲷鱼诺卡氏菌和海豚链球菌感受敏感的药物均为盐酸多西环素和恩诺沙星($MIC_{50} \leq 0.25$ mg/L)。另外,海豚链球菌对磺胺类2种药物较为敏感,而对氟甲喹有较大的耐药性,该结果与其他致病菌对这3种渔药感受性有较明显的区别。

表2 8种抗菌药物对7种病原菌的 MIC_{50} Tab.2 MIC_{50} of 8 antibiotics on 7 kinds of pathogenic bacteria

mg/L

抗菌药物 Antibiotics	杀香鱼假单胞菌 <i>P. plecoglossicida</i>	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>	溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>	副溶血弧菌 <i>V. parahemolyticus</i>	美人鱼发光杆菌 <i>P. damsela</i>	鲷鱼诺卡氏菌 <i>N. serioleae</i>	海豚链球菌 <i>S. iniae</i>
恩诺沙星 Enrofloxacin	0.50	0.20	0.13	0.25	1.56	0.25	0.13
硫酸新霉素 Neomycin sulfate	0.25	0.78	0.50	0.50	0.50	1.00	0.50
甲砒霉素 Thiamphenicol	128.00	2.00	1.00	1.00	0.50	2.00	1.00
氟苯尼考 Florfenicol	256.00	2.00	2.00	2.00	1.00	4.00	2.00
盐酸多西环素 Doxycycline hydrochloride	2.00	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
氟甲喹 Flumequine	4.00	0.06	0.13	0.13	1.56	0.13	16.00
磺胺间甲氧嘧啶钠 Sodium sulfamethoxazole	512.00	64.00	1 024.00	1 024.00	64.00	1 024.00	2.00
磺胺甲噁唑+甲氧苄啶 Sulfamethoxazole + trimethoprim	512.00/102.00	32.00/6.40	64.00/12.80	64.00/12.80	32.00/6.40	32.00/6.40	2.40/0.12

2.2.2 病原菌耐药率

根据 58 株病原菌对 8 种抗菌药物的感受性分布 (表 3), 以 SC/T 7028—2022 《水产养殖动物细菌耐药性调查规范 通则》的标准为依据, 对病原菌耐药率进行分析统计, 结果如图 2 所示。58 株菌株对盐酸多西环素的感受性均分布在 MIC ≤ 4.00 mg/L, 耐药率为 0%, 100% 菌株对该药敏感; 分离的菌株对恩诺沙星的耐药率也较低, 仅为 7.41%; 分离的菌株对氟苯尼考的耐药率也较低, 仅为 7.41%; 分离的菌株对氟苯尼考则表现出较高的生物耐药率, 为 35.18%, 有 19 株菌对该药的感受性分布在 MIC ≥ 8.00 mg/L; 46 株菌株对磺胺间甲氧嘧啶钠、35 株菌株对磺

胺甲噁唑 + 甲氧苄啶的感受性均分布在 MIC ≥ 32.00 mg/L, 菌株对该 2 种药物的耐药率分别为 50.00%、32.76%。

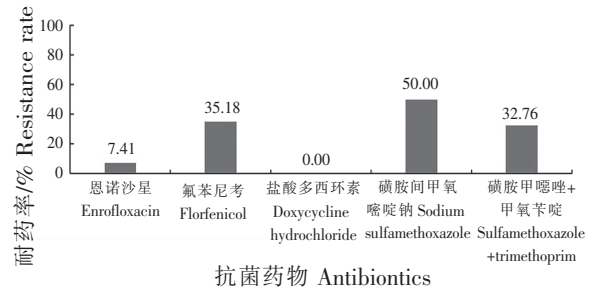


图 2 病原菌对抗菌药物的耐药性

表 3 58 株病原菌对 8 种抗菌药物的感受性分布

Tab. 3 Susceptibility distribution of 58 pathogenic bacteria to 8 antibiotics

抗菌药物 Antibiotics	在不同 MIC (mg/L) 下的菌株数量 Bacterias quantity under different MIC												
	≥512.00	256.00	128.00	64.00	32.00	16.00	8.00	4.00	2.00	1.00	0.50	≤0.25	
恩诺沙星 Enrofloxacin	—	—	—	—	—	—	—	4(R)	3(I)	10(I)	8(S)	33(S)	
硫酸新霉素 Neomycin sulfate	—	—	—	—	—	—	—	2	8	12	28	8	
甲砜霉素 Thiamphenicol	—	3	9	4	—	—	4	6	21	9	2	—	
氟苯尼考 Florfenicol	—	10(R)	3(R)	2(R)	—	—	4(R)	15(I)	20(S)	4(S)	—	—	
盐酸多西环素 Doxycycline hydrochloride	—	—	—	—	—	—	—	1(S)	10(S)	6(S)	2(S)	39(S)	
氟甲喹 Flumequine	—	—	—	—	2	1	—	8	6	2	6	33	
磺胺间甲氧嘧啶钠 Sodium sulfamethoxazole	29(R)	2(S)	4(S)	6(S)	5(S)	1(S)	—	—	4(S)	7(S)	—	—	
磺胺甲噁唑 + 甲氧苄啶 Sulfamethoxazole + trimethoprim	6(R)	8(R)	5(R)	8	8(S)	4(S)	4(S)	4(S)	3(S)	8(S)	—	—	

注: S = 敏感; I = 中敏; R = 耐药。未括号标注的无判别标准。

Notes: S = Susceptible; I = Intermediate; R = Resistance. No discrimination criteria without parentheses.

2.2.3 病原菌耐药性年度变化

在 7 种病原菌中, 仅哈维氏弧菌和鳊鱼诺卡氏菌每年都有被分离到。为比较这 2 种病原菌对抗菌药物的感受性的变化趋势, 按年份对 MIC₅₀ 进行了统计, 结果见表 4。由表 4 可知, 2 种病原菌每年对抗菌药物的感受性均有所差异。总体而言, 2021 年分离得到的哈维氏弧菌对甲砜霉素、磺胺间甲氧嘧啶钠表现出较高的耐药性, 而对硫酸新霉素较 2020 年、2022 年则更敏感。

2022 年分离得到的哈维氏弧菌除对磺胺甲噁唑 + 甲氧苄啶较敏感外, 对其他药物的 MIC₅₀ 与 2020—2021 年的相比变化不大。相比哈维氏弧菌, 鳊鱼诺卡氏菌随年度递增, 对药物表现出更明显的耐受性, 其中鳊鱼诺卡氏菌对恩诺沙星、硫酸新霉素、氟苯尼考的 MIC₅₀ 逐年提高, 该病原菌对甲砜霉素及 2 种磺胺类药物的耐药性也只增不减。可见, 病原菌耐药性问题依然存在, 应引起足够重视。

表4 2020—2022年8种抗菌药物对哈维氏弧菌和鳊鱼诺卡氏菌的MIC₅₀
 Tab. 4 MIC₅₀ of 8 antibiotics on *V. harveyi* and *N. seriolea* from 2020 to 2022 mg/L

抗菌药物 Antibiotics	哈维氏弧菌 <i>V. harveyi</i>			鳊鱼诺卡氏菌 <i>N. seriolea</i>		
	2020	2021	2022	2020	2021	2022
恩诺沙星 Enrofloxacin	0.20	0.25	0.13	0.20	0.25	0.50
硫酸新霉素 Neomycin sulfate	1.56	0.50	1.00	0.10	1.00	2.00
甲砜霉素 Thiamphenicol	1.56	4.00	2.00	2.00	2.00	4.00
氟苯尼考 Florfenicol	1.56	2.00	2.00	2.00	4.00	8.00
盐酸多西环素 Doxycycline hydrochloride	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
氟甲喹 Flumequine	0.06	0.13	0.25	0.13	0.13	0.13
磺胺间甲氧嘧啶钠 Sodium sulfamethoxazole	64.00	1 024.00	64.00	32.00	1 024.00	1 024.00
磺胺甲噁唑 + 甲氧苄啶 Sulfamethoxazole + trimethoprim	64.00	64.00	9.50	32.00	38.00	38.00

3 讨论

本研究结果表明, 大黄鱼体内分离得到的最主要病原菌为杀香鱼假单胞菌、哈维氏弧菌和鳊鱼诺卡氏菌。杀香鱼假单胞菌为引起大黄鱼近年来高发疾病之一的内脏白点病主要的病原菌^[15-16], 哈维氏弧菌、溶藻弧菌、副溶血弧菌会引起大黄鱼体表溃疡、肛门红肿、鳍条出血、内脏及肠道病变^[17-19]。鳊鱼诺卡氏菌最早由王国良等^[20]从浙江网箱养殖大黄鱼上分离得到, 患病鱼体表皮下脂肪和肌肉形成脓疮, 呈现大小不一的鼓起软包, 脾、肾肿大并有白色结节。美人鱼发光杆菌为条件致病菌, 一旦养殖水体环境恶化或鱼体免疫力下降, 便可感染大黄鱼而使其发病^[21]。另外, 2022年分离得到的海豚链球菌是近几年开展大黄鱼流行病学调查以来的首次发现, 患病鱼体上下颌充血、鳃盖软条骨间膜充血发红, 甚至能引起大黄鱼大量死亡。因此, 除对常规病原菌继续开展调查外, 还需更加关注新的致病菌对大黄鱼的致病性等相关研究。

从病原菌对抗菌药物感受性结果来看, 大黄鱼上分离得到的大部分病原菌对盐酸多西环素、硫酸新霉素、恩诺沙星敏感, 而对磺胺类及酰胺醇类的药物耐受浓度较高。这与游宇^[11]研究福建大黄鱼病原菌耐药性的结果类似。推测两地大黄鱼普遍对磺胺类耐药的产生与此类药物的频繁使用有关。磺胺甲噁唑 + 甲氧苄啶对病原菌的MIC₅₀又普遍小于磺胺间甲氧嘧啶, 这可能与甲

氧苄啶作为增效剂提高了联合用药的效果^[10]有关。而磺胺类药物对海豚链球菌的MIC₅₀明显低于其他病原菌, 推测与该菌第一次被分离得到且用磺胺药物治疗时未对其产生耐药性有关。

由病原菌耐药性年度变化可知, 2021年分离得到的鳊鱼诺卡氏菌对抗菌药物的耐受性较2020年更明显, 而2022年分离得到的该菌的耐受性又普遍比2021年更高。可见, 盐酸多西环素、硫酸新霉素、恩诺沙星可作为防治绝大多数大黄鱼病原菌的优选药物, 但也要做到药物的经常轮换, 严格按照药敏试验结果及结合药代动力学、药效学确定剂量和疗程, 才能尽可能地避免耐药菌株的产生^[22-23]。由于本研究采集的病原菌样本量有限, 因此后续还将继续加大对大黄鱼病原菌的鉴定及耐药性普查工作的力度。

通过大黄鱼病原菌耐药性的连续监测, 可掌握重要病原菌对抗菌药物的感受性及其变化规律, 丰富病原菌耐药性数据和耐药谱库。这将有利于在病害发生时为养殖户提供疾病早期诊断和科学精准用药方案, 从而降低病原微生物的耐药性, 对持续推动水产养殖用药减量、提高水产品质量安全水平、助力水产养殖业绿色健康发展具有十分重要的意义。

参考文献:

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2020中国渔业统计[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广

- 总站, 中国水产学会. 2021 中国渔业统计 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
- [3] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2022 中国渔业统计 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2022.
- [4] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站. 2020 我国水生动物重要疫病状况分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- [5] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站. 2021 我国水生动物重要疫病状况分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
- [6] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站. 2022 我国水生动物重要疫病状况分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2022.
- [7] 葛明峰, 金晗, 柳海, 等. 浙江省宁波市大黄鱼病原菌分离鉴定及其耐药性分析 [J]. 中国动物检疫, 2022, 39 (6): 57-61.
- [8] 梁倩蓉, 朱凝瑜, 郑晓叶, 等. 2019 年浙江省水生动物病原菌耐药情况分析 [J]. 安徽农业科学, 2021, 49 (3): 95-99.
- [9] 徐胜威, 葛明峰, 许昊川, 等. 2020 年宁波市主养海水鱼流行病学调查与药敏试验 [J]. 宁波大学学报 (理工版), 2021, 34 (2): 109-114.
- [10] 全国水产技术推广总站, 渔业行业职业技能鉴定指导站. 水生物病害防治员 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
- [11] 游宇. 2017—2019 年福建大黄鱼内脏白点病病原菌耐药性状况分析 [J]. 中国水产, 2021 (6): 69-73.
- [12] 田佳鑫. 如何控制水产养殖抗细菌药物耐药性风险 [J]. 黑龙江水产, 2020, 39 (6): 13-15.
- [13] 陈瑜, 李勇, 李晓丽. 泗阳县水生动物致病性病原菌对药物感受性试验及结果分析 [J]. 水产养殖, 2020, 41 (1): 54-57, 60.
- [14] 农业农村部渔业渔政管理局. 水产养殖动物细菌耐药性调查规范 通则: SC/T 7028—2022 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.
- [15] 饶秋华, 刘洋, 黎露, 等. 大黄鱼内脏白点病的病原分离鉴定及致病性 [J]. 福建农林大学学报 (自然科学版), 2022, 51 (6): 800-808.
- [16] 韩承义, 吴雄飞, 许斌福, 等. 2020 年中国大黄鱼产业现状分析及发展建议 [J]. 渔业研究, 2022, 44 (4): 395-406.
- [17] 吴立婷, 廖金轩, 庞茂达, 等. 大黄鱼中哈维氏弧菌毒力及耐药特性分析 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10 (8): 2111-2119.
- [18] 陈洪清. 一株大黄鱼致病性溶藻弧菌的分离鉴定与毒力相关基因分析 [J]. 渔业研究, 2019, 41 (6): 487-493.
- [19] 孙明洁, 张娜, 徐善良, 等. 两种弧菌感染大黄鱼免疫相关基因的 SNP 位点分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28 (5): 772-781.
- [20] 王国良, 袁思平, 金珊. 网箱养殖大黄鱼诺卡氏菌病的初步研究 [J]. 水产学报, 2006, 30 (1): 103-107.
- [21] 张飞, 苏永全, 王军, 等. 大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 源美人鱼发光杆菌 (*Photobacterium damsela*) 的分离鉴定及致病性研究 [J]. 海洋与湖沼, 2012, 43 (6): 1202-1208.
- [22] 吴亚锋, 王楠楠, 王晶晶, 等. 2017 年和 2018 年江苏省水生动物气单胞菌分离鉴定及耐药分析 [J]. 江苏农业科学, 2020, 48 (24): 156-162.
- [23] 陈颖, 杨雪冰. 2019 年河南省水生动物致病菌药敏试验分析报告 [J]. 河南水产, 2020 (3): 11-12, 20.

Analysis on the antibiotic resistance of pathogens separated from *Pseudosciaena crocea* in Ningbo City, Zhejiang Province from 2020 to 2022

GE Mingfeng, XU Shengwei^{*}, WANG Wenqiong,
FU Zhiming, SHEN Weiliang

(Ningbo Ocean and Fisheries Research Institute, Ningbo 315000, China)

Abstract: In order to master the types and antibiotic resistance trend of the main pathogen of *P. crocea* in Ningbo City, Zhejiang Province in recent years, the infected fishes were collected from the main breeding sites of *P. crocea* in Ningbo from 2020 to 2022 for isolation and identification of pathogens. In the meantime, the minimum inhibitory concentration (MIC) of antibiotics (enrofloxacin, neomycin sulfate, thiamphenicol, florfenicol, doxycycline hydrochloride, fluoroquinolone, sulfamethoxazole sodium, sulfamethoxazole + trimethoprim) were determined to compare the susceptibility of each pathogen to the drug. The results showed that 7 species and 58 strains of pathogens were isolated from *P. crocea* in recent three years. The main pathogens were *Pseudomonas plecoglossicida*, *Vibrio harveyi* and *Nocardia seriolae*, accounting for 74.1% of the total bacterial strains. *V. harveyi* and *N. seriolae* were isolated every year. The isolated strains were 100% sensitive to doxycycline hydrochloride. The susceptibility of all strains to this drug was distributed at $MIC \leq 4.00$ mg/L and the drug resistance rate was 0%. In comparison, the drug tolerance concentration of pathogens to florfenicol and sulfonamides was relatively high, especially the MIC of sulfonamides was generally between 64.00 – 1 024.00 mg/L. In addition, from the annual change in drug resistance of pathogen, it could be seen the drug resistance of *N. seriolae* was increasing year by year. Therefore, although the pathogens were generally sensitive to doxycycline hydrochloride, neomycin sulfate and enrofloxacin, which could be used as the preferred drug for controlling most pathogens in *P. crocea*, the dose and course must be determined strictly according to the results of drug sensitivity test and in combination with pharmacokinetics and pharmacodynamics, in order to avoid the emergence of drug – resistant strains as much as possible.

Key words: *Pseudosciaena crocea*; pathogens; drug susceptibility test; drug resistance