

环渤海地区海水养殖鱼类耐药性及耐药基因分析

刘顺焱^{1,2*}, 王光涛^{3*}, 王会林², 高哲颖⁴, 李朋玉⁴, 田丽丽⁴, 刘珊⁴, 李杰², 夏苏东^{1#}

¹天津农学院水产学院, 天津市水产生态及养殖重点实验室, 天津

²中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛海洋科学与技术国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 农业农村部海水养殖病害防治重点实验室, 山东 青岛

³山东黄河三角洲国家级自然保护区黄河口管理站, 山东 东营

⁴天津市滨海新区农业农村发展服务中心, 天津

收稿日期: 2026年5月11日; 录用日期: 2026年6月3日; 发布日期: 2026年6月15日

摘要

本研究以环渤海海水鱼类养殖中具有代表性的山东、辽宁2地为取样地, 以海水鱼重点养殖品种大菱鲆、虹鳟和许氏平鲉为取样品种, 对鲑气单胞菌进行耐药基因携带情况分析。于2020年~2023年分离出103株杀鲑气单胞菌, 采用RT-PCR技术测定了氟苯尼考耐药基因*floR*、四环素类药物耐药基因*tetR* (含*tetR*家族5种基因型*tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE*)耐药性基因的携带情况, 并采用微孔板稀释法测定其耐药性。结果表明: (1) 本研究中携带耐药性基因的病原菌占比87.38%, *tetR*耐药性基因携带率显著高于*floR*, 耐四环素5种基因型中携带率最高的为*tetA*; 本研究所监测的2个地区辽宁省携带耐药性基因病原菌数最高; 来源于不同年份的病原菌耐药性基因携带率存在差异, 从2021年到2023年, 耐药性基因携带率呈先降低后上升的趋势。(2) 本研究分离的病原菌对四环素类表现耐药性的占比86.41%, 对氟苯尼考耐药的占比37.86%。综上所述, 水产养殖病原菌耐药性复杂多变, 在疾病发生时应及时进行耐药性检测, 选择药物敏感性高的抗菌药物种类, 以加快治疗速度和降低病害损失; 同时, 可以根据渔用抗菌药物配伍搭配要求, 采用多种药物联合使用的方式, 实现快速、彻底地消灭病原菌, 预防耐药性的产生。

关键词

杀鲑气单胞菌, 氟苯尼考, 四环素, 耐药性基因, 耐药性

Analysis of Drug Resistance and Resistance Genes in Marine Aquaculture Fish in the Bohai Sea Region

*共一作者。

#通讯作者。

文章引用: 刘顺焱, 王光涛, 王会林, 高哲颖, 李朋玉, 田丽丽, 刘珊, 李杰, 夏苏东. 环渤海地区海水养殖鱼类耐药性及耐药基因分析[J]. 水产研究, 2026, 13(2): 138-149. DOI: 10.12677/ojfr.2026.132017

Shunyan Liu^{1,2*}, Guangtao Wang^{3*}, Huilin Wang², Zheyang Gao⁴, Pengyu Li⁴, Lili Tian⁴,
Shan Liu⁴, Jie Li², Sudong Xia^{1#}

¹Tianjin Key Laboratory of Aquatic Ecology and Aquaculture, College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin

²Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, National Laboratory of Marine Fisheries Science and Food Production Process Function, Qingdao National Laboratory of Marine Science and Technology, Key Laboratory of Marine Aquaculture Disease Control, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Qingdao Shandong

³Huanghekou Management Station of Shandong Yellow River Delta National Nature Reserve, Dongying Shandong

⁴Tianjin Binhai New Area Rural Development Service Center, Tianjin

Received: May 11, 2026; accepted: June 3, 2026; published: June 15, 2026

Abstract

In this study, the resistance gene carrying of *Salmonella* was analyzed in the representative marine fish of Shandong and Liaoning, the key species of marine fish for intensive aquaculture, including the large flounder (*Sciaenops bivalentus*), rainbow trout (*Salmo salmon*), and Xu's flatfish (*Pseudosciaenops xu*), were selected as sampling species, 103 *Aeromonas salmonicida* were isolated to analysis the carriage of resistance genes. The carriage of *floR*, *tetR*, *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE* resistance genes were determined by RT-PCR technology, and its resistance was determined by microplate dilution method. The results showed that: (1) In this study strains carrying drug resistance genes accounted for 87.38%, the *tetR* resistance gene carriage rate is much higher than that of *floR*, and *tetA* had the highest carrier rate of the five tetracycline genotypes; Shandong province had the highest number of strains carrying drug resistance genes; While with the extension of drug time, the carrier rate of resistance gene decreased first and then increased. (2) 86.41% bacterial strain showed resistance to doxycycline and 37.86% of the isolates were resistant to florfenicol. In conclusion, the drug resistance of aquatic pathogenic bacteria is complex and variable. When diseases occur, drug resistance testing should be conducted promptly to select antibiotics with high sensitivity, thereby accelerating treatment and reducing disease losses. Additionally, based on the compatibility requirements of fishery antibiotics, a combination of multiple drugs can be employed to achieve rapid and thorough eradication of pathogens, preventing the emergence of drug resistance.

Keywords

Aeromonas salmonicida, Florfenicol, Tetracycline, Resistance Genes, Prevalence, Tolerance

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)隶属于 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)、气单胞菌目(Aeromonadales)、气单胞菌科(Aeromonadaceae)、气单胞菌属(*Aeromonas*), 是一种条件致病菌, 于 1894 年在患病的溪鱧鱼体内分离出来[1], 是导致鲑科鱼类“疔疮病”、“败血症”和皮肤溃烂病的主要病原菌。随着我国水产养殖业的发展, 杀鲑气单胞菌感染也在更多的养殖品种中发现, 目前已报道杀鲑气单胞菌

可以感染草鱼、鲢鱼[2]、宽体金线蛭[3]、绿鳍马面鲀、许氏平鲉[4]等多种养殖品种, 且该菌致死率高、传染性强, 可在 48 h 内破坏鱼类的免疫系统[5]。目前, 该病菌的宿主已经不局限于鱼类, 2017 年 Varshney A 等[6]对杀鲑气单胞菌导致白内障病人继发感染眼内膜炎进行了报道, 2019 年邓同炜等[7]从猪体内分离出杀鲑气单胞菌, 其宿主有从变温动物向恒温动物转变的趋势, 从这种转变可以看出杀鲑气单胞菌的传播力、适应外界环境的能力有所提升。一般认为, 杀鲑气单胞菌对氟苯尼考[3]、四环素类[8][9]抗菌药物高度敏感, 同时也由于这两类药物价格低廉, 目前是水产养殖过程中的常用药物。然而, 随着抗生素使用年限的增加, 病原菌的耐药性也可能随之产生。

本试验针对 2020~2023 年间采集至山东、辽宁 2 地发病养殖鱼类的杀鲑气单胞菌 103 株, 初步分析其对氟苯尼考和四环素类药物的耐药性表型, 并进行氟苯尼考(*floR*)和四环素类药物(*tetR* 及 5 种基因型 *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE*)耐药性基因检测, 在此基础上分析耐药基因携带率情况, 以期对疾病防治提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 菌株和培养基

本研究使用的杀鲑气单胞菌采集自山东、辽宁沿海的大菱鲆、虹鳟和许氏平鲉养殖品种的临床发病样本, 20℃培养于胰蛋白胨大豆肉汤或胰蛋白胨大豆琼脂培养基(见表 1)。

Table 1. Culture media composition table

表 1. 培养基成分表

培养基名称	药品名称	取样量(g)
TSA 固体培养基	胰蛋白胨大豆肉汤	3.00
	氯化钠	1.00
	琼脂	2.00
TSB 液体培养基	胰蛋白胨大豆肉汤	3.00
	氯化钠	1.00

注: 上述药品称重后定容至 100 mL 超纯水中, 用灭菌锅 121℃灭菌 20 min 后备用。

2.2. 细菌耐药性检测

细菌耐药性检测采用复星诊断科技(上海)有限公司生产的 96 孔药敏检测板进行, 测定过程中严格按照使用说明书进行操作, 具体步骤如下:

菌悬液的配置: 挑取培养复苏三代的菌落配置 0.5 麦氏单位菌悬液;

加阴性对照: 在阴性对照孔加入 100 μL 药敏接种培养液;

加样: 取 1 支培养液倒入加样槽中, 并加入 60 μL 菌悬液, 混匀, 用移液枪取 100 μL 菌悬液加入到测定孔中;

培养: 根据不同病原菌的适宜生长温度, 分别设置 22℃~28℃条件, 放入恒温培养箱培养 24 h;

判读: 通过统计各个菌株对应抗菌药物的阳性孔数量, 确定是否具有耐药性。

2.3. 氟苯尼考和四环素耐药基因检测

选取氟苯尼考耐药基因 *floR* 和 5 种四环素类药物 *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE* 作为检测对象, 使用表 2 引物[10][11], 通过 PCR 检测临床分离杀鲑气单胞菌种耐药基因的携带情况, 并对得到的 PCR 片段进行测序验证(见表 2)。

Table 2. Primer sequences used in the study
表 2. 引物序列

耐药基因	引物名称	引物序列	引物长度(bp)
<i>floR</i>	<i>floR A1</i>	CGCTCTCAGACAGAATCG	304
	<i>floR AS1</i>	GAATATCGCCTGCCATCC	
<i>tetA</i>	<i>tetA B</i>	CTGCCTGGACAACATTGCTT	973
	<i>tetA F</i>	GTAATTCTGAGCACTGTGCGC	
<i>tetB</i>	<i>tetB B</i>	CTAAGCACTTGTCTCCTGTT	416
	<i>tetB F</i>	CTCAGTATTCCAAGCCTTTG	
<i>tetC</i>	<i>tetC B</i>	GGTTGAAGGCTCTCAAGGGC	550
	<i>tetC F</i>	TCTAACAATGCGCTCATCGT	
<i>tetD</i>	<i>tetD B</i>	CTGATCAGCAGACAGATTGC	1084
	<i>tetD F</i>	ATTACACTGCTGGACGCGAT	
<i>tetE</i>	<i>tetE B</i>	CTCTGCTGTACATCGCTCTT	1160
	<i>tetE F</i>	GTGATGATGGCACTGGTCAT	
<i>tetR</i>	<i>tetR S3</i>	GCTGGCGGAGAATCATAAC	363
	<i>tetR AS2</i>	TTCGTCGAAGGCGTCTATC	

3. 试验结果与分析

3.1. 杀鲑气单胞菌耐药基因携带情况检测结果

本试验所分离出的 103 株有代表性的病原菌中, 90 株携带耐药性基因, 占比 87.38%。其中: *floR*、*tetR* 耐药性基因携带率分别为 68.93%、83.50%, 四环素类药物 5 种基因型耐药性基因携带率最高的为 *tetA*, 携带率大小顺序为 *tetA* (70.87%) > *tetE* (8.74%) > *tetD* (6.80%) > *tetB* (2.91%) = *tetC* (2.91%), (见图 1)。

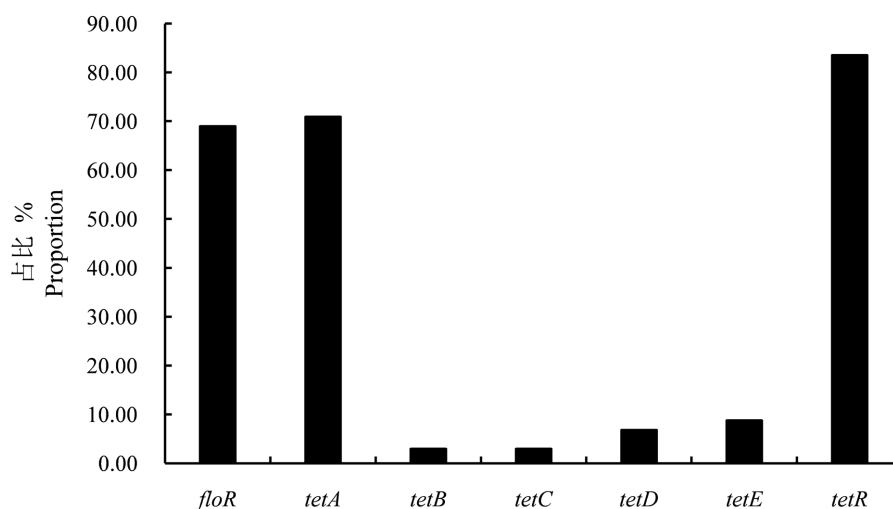


Figure 1. Carrying of antimicrobial resistance genes of *Aeromonas salmonicida*
图 1. 杀鲑气单胞菌耐药性基因携带情况图

3.2. 不同地区杀鲑气单胞菌耐药基因携带情况检测结果

本研究分离菌株 20 株源自辽宁省, 携带耐药性基因病原菌 19 株, 占比 95.00%; 83 株源自山东省, 携带耐药性基因的病原菌有 74 株, 占比 89.16%。

辽宁省分离病原菌 *floR*、*tetR* 耐药性基因携带率分别为 70.00%、85.00%, *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE* 耐药性基因携带率分别为 75.00%、10.00%、10.00%、20.00%、30.00%, 耐药性基因携带率大小顺序为 *tetA* > *tetE* > *tetD* > *tetB* = *tetC*。

山东省分离病原菌 *floR*、*tetR* 耐药性基因携带率分别为 68.67%、83.13%, *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE* 耐药性基因携带率分别为 69.88%、1.20%、1.20%、3.61%、3.61%, 耐药性基因携带率大小顺序为 *tetA* > *tetD* = *tetE* > *tetB* = *tetC*, (见图 2)。

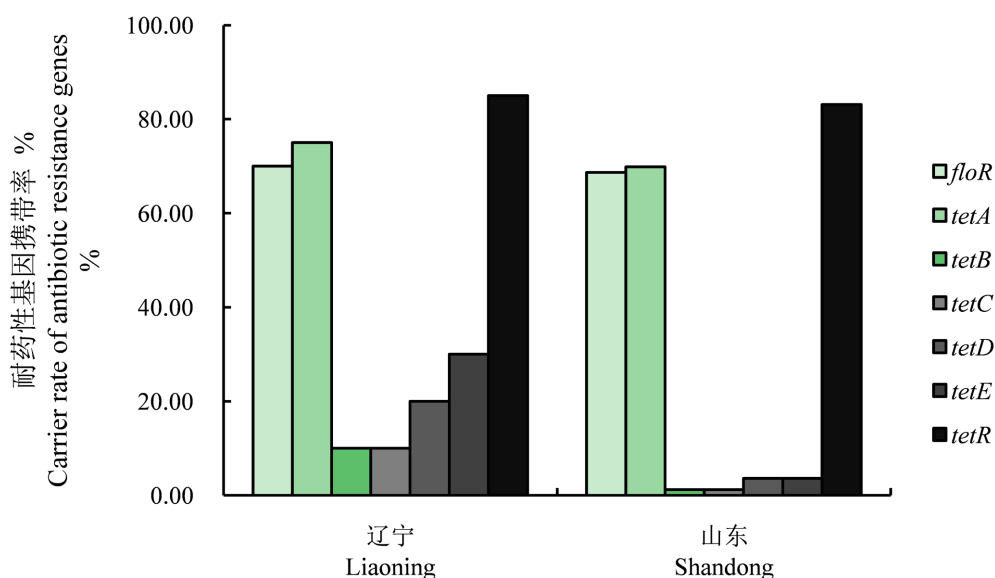


Figure 2. Carrying of antimicrobial resistance genes of *Aeromonas salmonicida* in different regions
图 2. 不同地区杀鲑气单胞菌耐药性基因携带情况图

3.3. 不同时期杀鲑气单胞菌耐药基因携带情况检测结果

本研究中 2020 年分离病原菌 15 株, 携带耐药性基因的病原菌占比 86.67%; 2021 年分离病原菌 25 株, 携带耐药性基因的病原菌占比 84.00%; 2022 年分离病原菌 25 株, 携带耐药性基因的病原菌占比 84.00%; 2023 年分离病原菌 38 株, 携带耐药性基因的病原菌占比 92.11%。

2020 年 *floR*、*tetR* 耐药性基因携带率分别为 60.00%、80.00%, *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE* 耐药性基因携带率分别为 66.67%、13.33%、13.33%、26.67%、26.67%, 耐药性基因携带率大小顺序为 *tetA* > *tetD* = *tetE* > *tetB* = *tetC*。

2021 年 *floR*、*tetR* 耐药性基因携带率分别为 64.00%、76.00%, *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE* 耐药性基因携带率分别为 64.00%、4.00%、4.00%、12.00%、20.00%, 耐药性基因携带率大小顺序为 *tetA* > *tetE* > *tetD* > *tetB* = *tetC*。

2022 年 *floR*、*tetR* 耐药性基因携带率分别为 76.00%、76.00%, *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE* 耐药性基因携带率分别为 68.00%、0.00%、0.00%、0.00%、0.00%, 耐药性基因携带率大小顺序为 *tetA* > *tetB* = *tetC* = *tetD* = *tetE*。

2023年 *floR*、*tetR* 耐药性基因携带率分别为 71.05%、92.11%，*tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE* 耐药性基因携带率分别为 78.95%、0.00%、0.00%、7.89%、0.00%，耐药性基因携带率大小顺序为 *tetA* > *tetD* > *tetB* = *tetC* = *tetE*，(见图 3)。

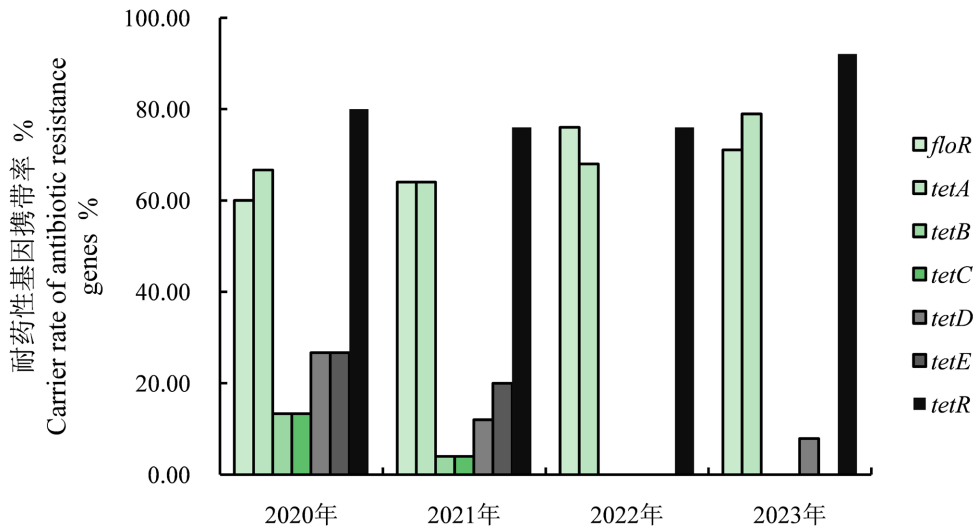


Figure 3. Carrying of antimicrobial resistance genes of *Aeromonas salmonicida* at different periods
图 3. 不同时期杀鲑气单胞菌耐药性基因携带情况图

3.4. 杀鲑气单胞菌耐药性测定结果

本研究所分离的 103 株杀鲑气单胞菌中有 64 株对氟苯尼考敏感，占比 62.14%；39 株耐药，占比 37.86%；14 株对四环素类敏感，占比 13.59%，89 株耐药，占比 86.41%，(见表 3)。

Table 3. Resistance to Florfenidol and Doxycycline of the strains (%)
表 3. 病原菌对氟苯尼考和盐酸多西环素的耐药率(%)

菌种编号	氟苯尼考	盐酸多西环素
RG001	26.67 ± 0.69	32.12 ± 0.83
RG002	29.11 ± 0.42	17.80 ± 0.32
RG003	26.67 ± 0.57	32.12 ± 0.58
RG004	0.00 ± 0.00	30.73 ± 0.81
RG005	0.00 ± 0.00	30.73 ± 1.37
RG006	26.83 ± 0.50	23.58 ± 0.59
RG007	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG008	0.00 ± 0.00	16.11 ± 0.13
RG009	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG010	15.31 ± 0.53	12.91 ± 0.17
RG011	0.00 ± 0.00	17.31 ± 1.14
RG012	33.82 ± 0.33	22.92 ± 0.92
RG013	15.31 ± 0.03	12.91 ± 0.20

续表

RG014	0.00 ± 0.00	17.31 ± 0.57
RG015	33.82 ± 1.56	22.92 ± 1.37
RG016	0.00 ± 0.00	17.31 ± 0.58
RG017	33.82 ± 0.31	22.92 ± 0.32
RG018	15.31 ± 0.59	12.91 ± 0.37
RG019	36.07 ± 1.32	14.22 ± 0.66
RG020	36.07 ± 1.88	14.22 ± 0.14
RG021	36.07 ± 0.41	14.22 ± 0.83
RG022	27.21 ± 0.65	21.69 ± 0.40
RG023	0.00 ± 0.00	29.91 ± 0.12
RG024	27.21 ± 1.24	21.69 ± 0.40
RG025	0.00 ± 0.00	18.62 ± 0.52
RG026	27.21 ± 0.10	21.69 ± 0.58
RG027	27.21 ± 0.65	21.69 ± 0.38
RG028	0.00 ± 0.00	29.91 ± 0.38
RG029	0.00 ± 0.00	27.33 ± 0.59
RG030	3.10 ± 0.17	29.95 ± 0.24
RG031	23.02 ± 0.77	22.44 ± 0.51
RG032	0.00 ± 0.00	27.33 ± 0.58
RG033	0.00 ± 0.00	27.33 ± 1.17
RG034	0.00 ± 0.00	27.33 ± 0.46
RG035	0.00 ± 0.00	27.33 ± 0.59
RG036	3.10 ± 0.23	29.95 ± 0.10
RG037	23.02 ± 0.06	22.44 ± 0.53
RG038	0.00 ± 0.00	27.33 ± 0.59
RG039	24.92 ± 0.62	20.31 ± 0.59
RG040	20.66 ± 0.39	15.26 ± 0.65
RG041	24.92 ± 0.62	20.31 ± 0.59
RG042	20.66 ± 0.58	15.26 ± 0.64
RG043	24.92 ± 0.81	20.31 ± 0.61
RG044	20.66 ± 0.39	15.26 ± 0.83
RG045	0.00 ± 0.00	14.01 ± 0.76
RG046	0.00 ± 0.00	14.01 ± 0.22
RG047	0.00 ± 0.00	14.01 ± 0.74
RG048	33.39 ± 0.68	20.04 ± 0.09
RG049	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

续表

RG050	0.00 ± 0.00	11.28 ± 0.61
RG051	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG052	0.00 ± 0.00	11.28 ± 0.24
RG053	0.00 ± 0.00	19.24 ± 0.65
RG054	0.00 ± 0.00	19.24 ± 0.63
RG055	27.25 ± 0.64	20.48 ± 0.49
RG056	27.25 ± 0.51	20.48 ± 0.35
RG057	27.25 ± 0.01	20.48 ± 0.49
RG058	0.00 ± 0.00	21.29 ± 0.55
RG059	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG060	0.00 ± 0.00	21.29 ± 0.62
RG061	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG062	0.00 ± 0.00	13.12 ± 0.66
RG063	0.00 ± 0.00	28.24 ± 0.63
RG064	0.00 ± 0.00	14.73 ± 0.35
RG065	0.00 ± 0.00	16.96 ± 0.16
RG066	29.41 ± 0.47	25.13 ± 0.81
RG067	25.42 ± 0.40	20.14 ± 0.45
RG068	0.00 ± 0.00	16.11 ± 0.72
RG069	0.00 ± 0.00	32.42 ± 1.70
RG070	30.66 ± 0.96	16.11 ± 0.65
RG071	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG072	0.00 ± 0.00	13.12 ± 0.59
RG073	0.00 ± 0.00	28.24 ± 0.65
RG074	0.00 ± 0.00	14.73 ± 0.36
RG075	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG076	0.00 ± 0.00	15.94 ± 0.23
RG077	0.00 ± 0.00	16.96 ± 0.75
RG078	29.41 ± 0.55	25.13 ± 0.52
RG079	25.42 ± 0.02	20.14 ± 0.47
RG080	0.00 ± 0.00	16.11 ± 0.43
RG081	0.00 ± 0.00	32.42 ± 0.83
RG082	30.66 ± 0.58	16.11 ± 0.65
RG083	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG084	0.00 ± 0.00	16.11 ± 0.13
RG085	0.00 ± 0.00	32.42 ± 0.54

续表

RG086	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG087	29.41 ± 0.53	25.13 ± 0.70
RG088	30.66 ± 1.00	16.11 ± 0.65
RG089	0.00 ± 0.00	13.12 ± 0.64
RG090	0.00 ± 0.00	28.24 ± 0.65
RG091	0.00 ± 0.00	14.73 ± 0.35
RG092	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG093	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG094	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
RG095	0.00 ± 0.00	14.67 ± 7.34
RG096	0.00 ± 0.00	15.65 ± 2.67
RG097	0.00 ± 0.00	17.29 ± 3.06
RG098	0.00 ± 0.00	21.24 ± 0.44
RG099	0.00 ± 0.00	17.79 ± 3.28
RG100	0.00 ± 0.00	21.43 ± 0.63
RG101	0.00 ± 0.00	15.52 ± 2.71
RG102	0.00 ± 0.00	17.89 ± 3.17
RG103	23.94 ± 11.97	25.32 ± 2.55

4. 讨论

4.1. 杀鲑气单胞菌耐药基因携带情况分析

tetA、*tetB*、*tetC*、*tetD* 和 *tetE* 基因是 *tetR* 家族中重要四环素耐药基因[12], 控制外输泵蛋白的表达, 可通过主动外排泵将药物排出细胞外[13] [14]。Nawaz 等[15]分析了 81 株鲢鱼源维氏气单胞菌的四环素耐药基因携带情况, 发现 *tetE* 为优势基因; 与上述结果不同的是 Kim 等[16]对杀鲑气单胞菌、赵敏等[12]对维氏气单胞菌的研究表明, *tetA* 基因检出率要高于其他四种基因, 这与本试验结果相同, 本试验所筛选的 103 株典型病原菌中 *tetR* 耐药基因携带率已达到 83.50%, 四环素类药物 5 种基因型中携带率最高的为 *tetA*, 携带率达 70.87%, 远高于其他 4 种基因型, 这表明 *tetA* 基因在控制四环素耐药性方面起关键作用, 同时用药习惯会定向的筛选出优势耐药基因。*floR* 是常见的氯霉素类耐药基因, 与氯霉素以及氟苯尼考等抗性有关, 是主动外排系统中的关键基因[17] [18]。马辰婕[19]分析了水产养殖源气单胞菌耐药基因的携带情况, 结果表明 *floR* 检出率为 46.90%; 本试验中携带氟苯尼考耐药基因的携带率达 68.93%, 较马辰婕检出结果要高, 说明本试验所采集样本在饲养过程中氟苯尼考用量较高, 使得携带 *floR* 的耐药菌株被不断地筛选富集, 造成检出率偏高的结果。

4.2. 不同地区杀鲑气单胞菌耐药基因携带情况分析

由杀鲑气单胞菌引发的鱼类疾病在全球范围内广泛传播, 我国学者周冬仁等于 2015 年[20]从浙江省乌鳢的肝脏和肾脏中检测到杀鲑气单胞菌的存在, 李博等[21]于 2018 年从北京市患病瓦氏雅罗鱼病灶处分离出该菌, 许晓牧等[22]于 2020 年在安徽省斑点叉尾鲴的肝脏和脾脏中分离出 3 株杀鲑气单胞菌, 并

观察到在 25℃ 的培养温度下, 该菌的世代时间较 15℃ 时更长, 王惠等[23]在江苏省盐城市患病草鱼体内分离出 1 株杀鲑气单胞菌, 这说明该菌已经在全国范围内分布。本研究在山东沿海、辽宁沿海采集的样本中均发现了杀鲑气单胞菌, 且检出率均较高, 分别为 89.16%、95.00%, 本次研究的采样区域均处于环渤海近海养殖区, 水体交换速度相对较慢, 养殖过程中残饵、粪便携带的耐药菌株和耐药基因容易在水体和底泥中持续蓄积, 反过来又会不断感染养殖水体中的鱼类, 使得不同地区的耐药基因携带率整体都处于较高水平。

4.3. 不同时期杀鲑气单胞菌耐药基因携带情况分析

本研究中, 2020 年携带耐药性基因病原菌比例达 86.67%, 2021 年、2022 年略有降低, 均为 84.00%, 至 2023 年达到 92.11%, 这可能与药物压力下的菌群演替及耐药基因的水平转移有关。携带耐药基因病原菌数量居高不下, 随时间推移甚至有上升趋势, 由此可见, 因药物的使用, 杀鲑气单胞菌对药物的抗性在逐步增强。在监测的 4 年间, *tetR* 携带率均要高于 *floR*, 分析原因可能是在疾病防治过程中, 四环素类药物使用量要大于氟苯尼考, 也有可能杀鲑气单胞菌对四环素类药物的抗性强于氟苯尼考, 其作用机理需进行更深入的研究。

4.4. 杀鲑气单胞菌耐药性情况分析

药物敏感性作为评估药物对病原菌杀灭效果的关键指标, 其高低直接关系到药物治疗的有效性。根据 Aoki 等[24]的研究成果, 来源于人工养殖鲑鱼的病原菌相较于野生鲑鱼表现出显著更高的耐药性, 在分析的 175 株杀鲑气单胞菌中, 有高达 96.00% 的病原菌显示出耐药性特征; 周冬仁等[20]对乌鳢源杀鲑气单胞菌的药物敏感性进行了测定, 研究发现, 在所测定的 21 种药物中, 该菌仅对氟苯尼考及氯霉素表现出敏感性; 而陈美群等[25]研究发现亚东鲑源杀鲑气单胞菌 B1 对头孢曲松、阿莫西林、氟苯尼考、环丙沙星、四环素、链霉素等 21 种药物均表现出敏感性, 对万古霉素有耐药性; 刘博等[26]研究发现, 虹鳟源杀鲑气单胞菌对复方新诺明、磺胺异恶唑、青霉素、阿莫西林、头孢唑林耐药, 对盐酸多西环素敏感。由此可见, 不同基因型以及不同分离来源的杀鲑气单胞菌展现出的药物敏感性存在差异性。本研究分离的 103 株杀鲑气单胞菌中有 64 株对氟苯尼考敏感, 14 株对四环素类敏感, 表明在养殖过程中有可能四环素类抗菌药物的应用频率要高于氟苯尼考。此外, 值得注意的是, 尽管四环素类的耐药率数值相对较低, 但随着其在养殖中的广泛应用, 其耐药性问题也不容忽视。

4.5. 杀鲑气单胞菌耐药情况和耐药基因综合分析

朱永肖等[27]研究发现, 发病与未发病水产养殖水源气单胞菌的 *floR* 基因携带率分别为 33.00%、36.00%, 对氟苯尼考耐药的仅有 5.30%, 而王小亮等[28]研究发现嗜水气单胞菌对氟苯尼考有较强的耐药性, 但却未检测出 *floR* 基因; 朱凝瑜等[29]研究表明, 乌鳢源气单胞菌对氟苯尼考的耐药率达 27.28%, 对四环素类的耐药率达 33.33%。本试验中, 携带 *floR* 耐药性基因的病原菌数量为 71 株, 而对氟苯尼考耐药的病原菌仅有 39 株, 该结果暗示 *floR* 基因可能仅参与氟苯尼考的外排过程, 而对氟苯尼考耐药性的形成可能涉及其他基因的共同作用[30], 也可能存在尚未发现的耐药机制。在本研究中, 四环素类携带耐药基因的病原菌数量和表现出耐药性的病原菌数量是一致的。

5. 结论

本试验共分离杀鲑气单胞菌 103 株, 并对其耐药性基因携带情况及耐药性进行了检测, 结果发现: (1) *tetR* 耐药性基因携带率显著高于 *floR*; *tetA* 为菌株产生四环素类药物耐药性的优势基因; 辽宁省所分离的杀鲑气单胞菌耐药性基因携带率高于山东省; 随着用药时间的延长, 耐药性基因携带率呈先下降后

上升趋势。(2) 37.86%的杀鲑气单胞菌对氟苯尼考耐药, 86.41%对四环素类耐药。(3) 氟苯尼考耐药病原菌占比要低于 *floR* 基因携带率, 表明氟苯尼考耐药性的形成可能涉及其它基因的参与, 四环素类耐药病原菌占比与 *tetR* 基因携带率相同。

基金项目

天津市科技计划项目(24YDTPJC00930); 天津市教委科研计划项目(2022ZD004)。

参考文献

- [1] Emmerich, R. and Weibel, E. (1894) Über eine durch Bacterien erzeugte Seuche unter den Forellen. *Archiv für Hygiene*, **21**, 1-21.
- [2] 王家祯, 耿昕颖, 董文龙, 等. 3株杀鲑气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(2): 78-80.
- [3] 唐毅, 袁渊, 王伟, 等. 宽体金线蛭杀鲑气单胞菌的药物敏感性试验[J]. 科学养鱼, 2020(4): 45-47.
- [4] 晋怀远, 刘耀宽, 高晔, 等. 绿鳍马面鲀与许氏平鲈杀鲑气单胞菌病原的分离和鉴定[J]. 渔业科学进展, 2023, 44(1): 191-200.
- [5] 雷宽宽, 周建设, 王万良, 等. 杀鲑气单胞菌对亚东鲑血液免疫指标的影响[J]. 西藏农业科技, 2024, 46(3): 5-10.
- [6] Varshney, A., Das, M., Chaudhary, P., Kumari, R. and Yadav, K. (2017) *Aeromonas salmonicida* as a Causative Agent for Postoperative Endophthalmitis. *Middle East African Journal of Ophthalmology*, **24**, 213-215. <https://doi.org/10.4103/meajo.meajo.238.17>
- [7] 邓同炜, 蒋增海, 霍元楠, 等. 猪源杀鲑气单胞菌分离鉴定及毒力因子检测[J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(5): 74-76+79+125.
- [8] 王海娟, 王利, 肖云. 鲤鱼杀鲑气单胞菌病的诊断和防治[J]. 科学养鱼, 2014(11): 64-65+30.
- [9] 王鹤, 王文豪, 黄华, 等. 一株大菱鲆源杀鲑气单胞菌非典型株的分离鉴定及毒力基因型[J]. 大连海洋大学学报, 2022, 37(4): 558-567.
- [10] Guardabassi, L., Dijkshoorn, L., Collard, J.-M., Olsen, J.E. and Dalsgaard, A. (2000) Distribution and *In-Vitro* Transfer of Tetracycline Resistance Determinants in Clinical and Aquatic Acinetobacter Strains. *Journal of Medical Microbiology*, **49**, 929-936. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-49-10-929>
- [11] Schmidt, A.S., Bruun, M.S., Larsen, J.L., et al. (2001) Characterization of Class 1 Integrons Associated with R-Plasmids in Clinical *Aeromonas salmonicida* Isolates from Various Geographical Areas. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **47**, 735-743. <https://doi.org/10.1093/jac/47.6.735>
- [12] 赵敏, 汪开毓, 王均, 等. 斑点叉尾鮰源维氏气单胞菌对四环素类抗生素的耐药性及耐药基因的检测[J]. 水生生物学报, 2014, 38(2): 386-392.
- [13] 陈琳琳, 刘维青, 刘静, 等. 水产养殖环境常见四环素类抗生素抗性基因 *tet(M)*的演化及传播的初步分析[J]. 海洋科学, 2011, 35(12): 75-81.
- [14] Barkovskii, A.L., Green, C. and Hurley, D. (2010) The Occurrence, Spatial and Temporal Distribution, and Environmental Routes of Tetracycline Resistance and Integrase Genes in Crassostrea Virginica Beds. *Marine Pollution Bulletin*, **60**, 2215-2224. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.08.016>
- [15] Nawaz, M., Sung, K., Khan, S.A., Khan, A.A. and Steele, R. (2006) Biochemical and Molecular Characterization of Tetracycline-Resistant *Aeromonas veronii* Isolates from Catfish. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**, 6461-6466. <https://doi.org/10.1128/aem.00271-06>
- [16] Kim, J.H., Choresca, C.H., Shin, S.P., Han, J.E., Jun, J.W. and Park, S.C. (2013) Biological Control of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* Infection in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Using *Aeromonas* Phage PAS-1. *Transboundary and Emerging Diseases*, **62**, 81-86. <https://doi.org/10.1111/tbed.12088>
- [17] 薛原, 陈建飞, 张秀英, 等. 猪源大肠杆菌中氯霉素类药物耐药基因的检测与分析[J]. 养猪, 2011(3): 71-72.
- [18] 羊云飞. 多重 PCR 检测沙门氏菌、大肠杆菌对磺胺类、氯霉素类药物耐药基因的研究[D]: [硕士学位论文]. 雅安: 四川农业大学, 2004.
- [19] 马辰婕. 水产养殖源气单胞菌耐药基因的分布特征和传播机制[D]: [硕士学位论文]. 厦门: 集美大学, 2017.
- [20] 周冬仁, 罗毅志, 杭小英, 等. 1株乌鳢源杀鲑气单胞菌杀鲑亚种的分离与鉴定[J]. 海洋湖沼通报, 2015(3): 66-72.
- [21] 李博, 何亚鹏, 刘宁. 瓦氏雅罗鱼杀鲑气单胞菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 江西农业, 2018(2): 98-99.

- [22] 许晓牧, 余锐萍, 朱若林, 等. 斑点叉尾溃烂症的病原鉴定和致病特性[J]. 淡水渔业, 2020, 50(1): 68-75.
- [23] 王惠, 鲍胜华, 任慧梅, 等. 一例草鱼源杀鲑气单胞菌的检测分析[J]. 科学养鱼, 2024(3): 61-62.
- [24] Aoki, T., Egusa, S., Kimura, T. and Watanabe, T. (1971) Detection of R Factors in Naturally Occurring *Aeromonas salmonicida* Strains. *Applied Microbiology*, **22**, 716-717. <https://doi.org/10.1128/am.22.4.716-717.1971>
- [25] 陈美群, 扎西拉姆, 孙帅杰, 等. 2 株亚东鲑源气单胞菌的鉴定及其致病性与药敏特性分析[J]. 中国水产科学, 2022, 29(6): 914-927.
- [26] 刘博, 张培, 彭嘉琪, 等. 虹鳟杀鲑气单胞菌耐药性研究与盐酸多西环素给药方案制定[J]. 淡水渔业, 2023, 53(6): 69-79.
- [27] 朱永肖. 河南沿黄渔区气单胞菌的毒力与耐药性研究[D]: [硕士学位论文]. 新乡: 河南师范大学, 2018.
- [28] 王小亮, 徐立蒲, 王静波, 等. 北京市主要养殖鱼类病原菌药物敏感性分析[J]. 北京农业, 2012(36): 79-81.
- [29] 朱凝瑜, 贝亦江, 郑晓叶, 等. 乌鳢源气单胞菌的耐药表型与耐药基因研究[J]. 水产科技情报, 2020, 47(3): 145~149.
- [30] 苟小兰, 王利, 刘港彪. 齐口裂腹鱼维氏气单胞菌的耐药性分析[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2013, 39(5): 674-678.