

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00161

## 广东省养殖罗非鱼、海鲈、尖吻鲈海豚链球菌感染调查

张俊<sup>1</sup>, 周素明<sup>1,2</sup>, 李安兴<sup>1</sup>

1. 中山大学 生命科学学院 教育部水产品安全重点实验室/生物防治国家重点实验室, 广东 广州 510275;

2. 华南农业大学 兽医学院 新兽药创制重点实验室, 广东 广州 510642

**摘要:** 利用细菌分离培养方法结合特异 PCR 技术, 对广东省珠三角地区养殖罗非鱼(*Oreochromis* spp.)、海鲈(*Lateolabrax japonicus*)及尖吻鲈(*Lates calcarifer*)的海豚链球菌(*Streptococcus iniae*)感染情况进行了周年调查。每月固定时间在特定养殖区域采集目标鱼的脑、肝、脾、肾和肌肉等组织, 并对其进行海豚链球菌的细菌分离培养鉴定。仅从已经患病的尖吻鲈中分离到 3 株链球菌, 经生理生化鉴定和 16S rDNA 测序确定为海豚链球菌。利用海豚链球菌特异 PCR 技术对上述养殖鱼类不同组织进行检测, 发现罗非鱼、海鲈、尖吻鲈的海豚链球菌感染率分别为 30.21%、23.53%、14.55%, 其中罗非鱼脑和肌肉的感染率明显较其他组织高( $P<0.05$ ), 分别为 20.65% 和 23.75%; 海鲈的脑部和肌肉感染率也较其他组织高( $P<0.05$ ), 分别为 12.1% 和 10%; 而尖吻鲈各组织感染率没有较大差异( $P>0.05$ )。另外, 研究结果还表明采集样本的海豚链球菌感染率随着其体长的增加而呈现下降趋势。

**关键词:** 海豚链球菌; 特异 PCR; 条件致病菌

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)01-0161-06

海豚链球菌(*Streptococcus iniae*)是危害世界养殖业的重要病原菌之一, 可感染多种养殖鱼类, 如罗非鱼(*Oreochromis* spp.)、尖吻鲈(*Lates calcarifer*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)等<sup>[1]</sup>。美国罗非鱼养殖协会现已将其定为对罗非鱼养殖业危害最严重的病原细菌<sup>[2]</sup>。近年来, 由于中国养殖罗非鱼链球菌病频发, 给中国特别是南方罗非鱼养殖业造成重创, 目前已经证实海豚链球菌是罗非鱼链球菌病的主要病原菌之一。

国外有关尖吻鲈感染海豚链球菌的报道较多<sup>[3-5]</sup>, 国内尚无报道。张生<sup>[6]</sup>在筛选海豚链球菌毒力研究模型的研究中发现, 海鲈对海豚链球菌的敏感程度远远高于石斑鱼(*Epinephelus coioides*)、卵圆鲳鲆(*Trachinotus ovatus*)和美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*), 因此推测, 国内养殖海鲈感染海豚链球菌情况也不容乐观, 只是目前未引起重视, 未见相关报道。

鉴于上述情况, 本研究采用普通的细菌分离培养方法<sup>[7]</sup>及本实验室建立的海豚链球菌特异快速检测方法<sup>[8]</sup>, 对广东省常见的养殖罗非鱼、尖吻鲈及海鲈进行海豚链球菌感染的全年跟踪检测, 期望该研究结果可为该病的预防和治疗提供可靠的参考数据, 为健康养殖奠定基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

**1.1.1 实验动物** 养殖罗非鱼(吉富品系), 采自广东番禺海鸥岛新一代渔业公司, 样本均采自编号分别为 B3、A9 的两块鱼池; 养殖海鲈、尖吻鲈采自广东珠海斗门白藤头某渔场, 其中海鲈组织样本采自编号为 H1 和 H2 的两块鱼池, 尖吻鲈组织样本采自编号为 T2 的鱼池。样本每月采集 1 次, 持续 1 年。罗非鱼采样时间为 2009 年 7 月至 2010 年 6 月, 共计采样 96 尾, 其中 2009 年 12 月

收稿日期: 2011-06-20; 修订日期: 2011-10-09.

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD29B05).

作者简介: 张俊(1985-), 男, 硕士研究生. 研究方向为水生经济动物病原分子生物学. E-mail: zhang.jun.1985@yahoo.com.cn

通信作者: 李安兴, 教授. E-mail: lianxing@mail.sysu.edu.cn

至 2010 年 4 月未采样。海鲈、尖吻鲈采样时间为 2009 年 6 月至 2010 年 5 月, 分别共计采样 289、110 尾。

**1.1.2 实验菌株** 作为阳性对照菌株的海豚链球菌 TBV-1 株采自广东省白云区养殖的患病罗非鱼, 经生理生化鉴定和 16S rDNA 序列鉴定的野毒菌株, 由本实验室保存。

**1.1.3 试剂耗材** 脑心浸出液(brain heart infusion, BHI)、革兰氏染色液、琼脂糖、蛋白酶 K、Tris、EDTA·Na<sub>2</sub>、NaCl、SDS、无水乙醇、一次性无菌接种环均购自中国广东环凯微生物科技公司; 酚-氯仿-异戊醇购自上海生工生物工程技术有限公司; PCR 试剂购自 Fermentas 公司, DL2000Marker 购自 Takara 公司。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 病原菌的分离、纯化与鉴定** 取罗非鱼、海鲈、尖吻鲈, 解剖后用一次性接种环从脑、肝、脾、肾接取少量组织, 划线接种于 BHI 固体培养基, 于 28℃ 恒温培养 36 h, 观察有无细菌生长。若平板有细菌生长, 则从平板中挑取疑似链球菌单菌落(乳白色、针尖状)进行纯培养, 28℃ 恒温培养 36 h。挑选纯培养的单菌落进行革兰氏染色和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 检验, 镜检观察若为链球菌, 进行生理生化鉴定和 16S rDNA 测序, 方法参照周素明等<sup>[7]</sup>的报道。

**1.2.2 鱼组织总 DNA 和海豚链球菌基因组 DNA 的提取** 解剖时, 用无菌剪刀剪取约 0.2 g 的脑、肝、脾、肾、肌肉组织块, 加入 200 μL 组织裂解液(20 mmol/L Tris-HCl, 5 mmol/L EDTA·Na<sub>2</sub>, 400 mmol/L NaCl, 1% SDS, pH 8.0), 并加入 2 μL 质量浓度为 20 μg/mL 的蛋白酶 K, 55℃ 水浴裂解 2 h。裂解过程中, 间断对其摇动, 使其充分裂解。裂解完毕后, 向裂解组织液中加入 200 μL 酚-氯仿-异戊醇(25 : 24 : 1), 震荡混匀, 12 000 r/min 离心 5 min 后取上清液, 加入 2 倍体积的无水乙醇, 冰浴 15 min, 12 000 r/min 离心 5 min 后留沉淀, 70% 乙醇洗涤沉淀 2 次, 每次 12 000 r/min 离心 2 min 后弃上清液, 置于超净台中, 让乙醇彻底挥发。将沉淀溶于 20 μL 无菌水中, 即为鱼各组织总 DNA 提

取液, 4℃ 冰箱保存中备用。

取 1 mL 的纯培养海豚链球菌 TBV-1 菌液, 12 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液留沉淀。用 100 μL 的细菌裂解液(75 mmol/L NaCl, 25 mmol/L EDTA, 20 mmol/L Tris, pH=7.5)重悬沉淀, 加入 10 μL 溶菌酶(10 mg/mL)置于 37℃ 水浴 1 h。再加入 2 μL 浓度为 20 μg/mL 的蛋白酶 K, 55℃ 裂解 2 h。后续操作同鱼组织总 DNA 提取。

**1.2.3 采用特异性 PCR 法扩增海豚链球菌的 ITS 序列** 参考文献<sup>[8]</sup>, 正向引物 P<sub>1</sub>: 5'-GAAAATAGGAAAGAGACGCAGTGTC-3'(5'137-161 bp), 反向引物 P<sub>2</sub>: 5'-CCTTATTTCAGTCTTTCGACCTTC-3'(3'513-489 bp), 扩增片段长度为 377 bp。

PCR 反应体系: Taq 酶 1 U, 10×buffer 2.5 μL, MgCl<sub>2</sub> 2 μL, dNTP 1 μL, P<sub>1</sub> 1 μL, P<sub>2</sub> 1 μL, 模板 DNA 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 15.5 μL。

PCR 反应条件: 94℃ 变性 5 min; 94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 1 min, 35 个循环; 72℃ 延伸 5 min。PCR 反应同时做阳性和阴性对照, 阳性模板为海豚链球菌 TBV-1 株的基因组 DNA, 阴性模板为无菌水。

取 5 μL 扩增后的样品, 在含 EB 的 1% 琼脂糖凝胶中进行电泳和染色, 在透射紫外灯下观察, 如样品孔有 377 bp 的核酸条带, 说明样品中有海豚链球菌感染, 反之则没有。为防止非特异性扩增干扰结果, 每批检测样本中均设置阳性对照和阴性对照, 并随机挑至少 2 个阳性条带送去测序, 以确保检测样本的准确性。

## 2 结果与分析

### 2.1 特异性 PCR 技术检测结果

**2.1.1 养殖罗非鱼、海鲈、尖吻鲈海豚链球菌的感染率** 罗非鱼共检测了 96 尾, 其中 29 尾检测到海豚链球菌感染, 感染率为 30.21%; 海鲈共检测了 289 尾, 其中 68 尾检测到海豚链球菌感染, 感染率为 23.53%; 尖吻鲈的感染率相对罗非鱼、海鲈的较低, 为 14.55%(16/110)。结果如图 1 所示。

**2.1.2 养殖罗非鱼、海鲈、尖吻鲈各组织的海豚链球菌感染率** 罗非鱼的脑、肝、脾、肾、肌肉组织的海豚链球菌感染率分别为 20.65% (19/92)、

1.20% (1/83)、1.16% (1/84)、1.11% (10/90)、23.75% (19/80), 脑、肌肉的感染率相对肝、脾、肾的感染率较高( $P<0.05$ )。海鲈的各组织感染率呈现出与罗非鱼相同的特点, 即脑、肌肉的感染率相对肝、脾、肾的感染率较高( $P<0.05$ ), 各组织感染率分别为脑 12.1% (34/281)、肝 7.5% (21/280)、脾 6.64% (16/241)、肾 8.26% (19/230)、肌肉 10% (26/260)。尖吻鲈的各组织感染率未呈现出与罗非鱼、海鲈相同的特点, 其各组织感染率较为接近, 分别为脑 4.63% (5/108)、肝 5.61% (6/107)、脾 6.74% (6/89)、肾 5.05% (5/99)、肌肉 4.44% (4/90)。结果如图 2 所示。

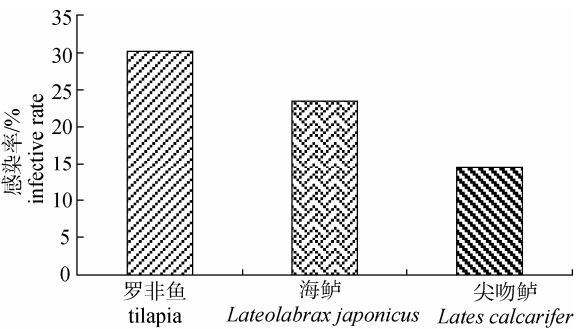


图 1 养殖罗非鱼、海鲈、尖吻鲈的海豚链球菌感染结果  
Fig. 1 Result of *Streptococcus iniae* infection in cultured tilapia, *Lateolabrax japonicus* and *Lates calcarifer*

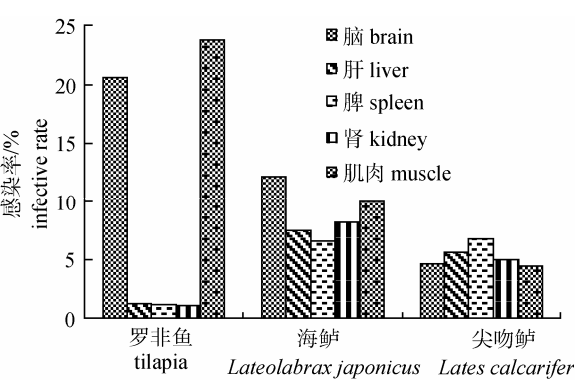


图 2 养殖罗非鱼、海鲈、尖吻鲈的各组织海豚链球菌感染结果  
Fig. 2 Result of *Streptococcus iniae* infection in tissues of cultured tilapia, *Lateolabrax japonicus* and *Lates calcarifer*

**2.1.3 养殖罗非鱼、海鲈、尖吻鲈的体长与海豚链球菌感染率的关系** 罗非鱼中, 体长<20 cm 的海豚链球菌感染率为 35% (7/20), 20 cm≤体长<30 cm 组、体长≥30 cm 的感染率依次降低, 分别为 29.63% (16/54)、27.27% (6/22); 海鲈各体长组的感

染率显现相同的特点, 3 个体长组的感染率分别为 44.87% (35/78)、22.92% (22/96)、9.57% (11/115); 尖吻鲈共采样 110 尾, 未采到体长≥30 cm 的样品, 所有样本只分布于体长<20 cm 组和 20 cm≤体长<30 cm 组, 感染率分别为 21.43% (15/70)、2.5% (1/40)。结果如图 3 所示。

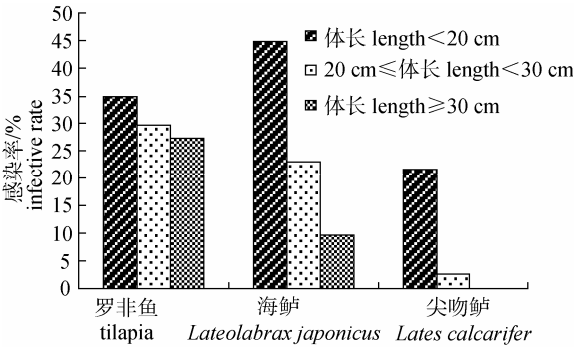


图 3 鱼体长与海豚链球菌感染率的关系  
Fig. 3 Relationship between length of fish and infective rate of *Streptococcus iniae*

**2.1.4 不同采样月份的海豚链球菌感染率** 罗非鱼的采样月份为 2009 年 7 月至 11 月, 2010 年 5 月、6 月, 各月份的海豚链球菌感染率分别为 65% (13/20)、7.14% (1/14)、0 (0/15)、20% (4/20)、0 (0/3)、100% (10/10)、7.14% (1/14)。结果如表 1 所示。

| 表 1 罗非鱼不同采样月份的海豚链球菌感染结果                                                                      |                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Tab.1 Result of <i>Streptococcus iniae</i> infection in cultured tilapia in different months |                      |
| 时间 time                                                                                      | 感染率/% infective rate |
| 7 月 July                                                                                     | 65                   |
| 8 月 August                                                                                   | 7.14                 |
| 9 月 September                                                                                | 0                    |
| 10 月 October                                                                                 | 20                   |
| 11 月 November                                                                                | 0                    |
| 5 月 May                                                                                      | 100                  |
| 6 月 June                                                                                     | 7.14                 |

海鲈和尖吻鲈的采样月份均为 2009 年 6 月至 12 月, 2010 年 1 月至 5 月。海鲈各月份的海豚链球菌感染率分别为 61.36% (27/44)、56.25% (18/32)、0 (0/30)、0 (0/30)、3.45% (1/29)、12% (3/25)、42.31% (11/26)、0 (0/12)、0 (0/17)、0 (0/15)、40% (8/20)、

0(0/9)。尖吻鲈各月份的海豚链球菌感染率分别为 70%(7/10)、20%(2/10)、0(0/9)、0(0/10)、10%(1/10)、0(0/7)、62.5%(5/8)、0(0/12)、0(0/9)、10%(1/10)、0(0/8)、0(0/10)。结果如表 2 所示。

表 2 海鲈和尖吻鲈不同采样月份的海豚链球菌感染情况  
Tab. 2 Result of *Streptococcus iniae* infection in cultured *Lateolabrax japonicus* and *Lates calcarifer* in different months

| 时间 time       | 感染率/% infective rate               |                                |
|---------------|------------------------------------|--------------------------------|
|               | 海鲈<br><i>Lateolabrax japonicus</i> | 尖吻鲈<br><i>Lates calcarifer</i> |
| 6 月 June      | 61.36                              | 70                             |
| 7 月 July      | 56.25                              | 20                             |
| 8 月 August    | 0                                  | 0                              |
| 9 月 September | 0                                  | 0                              |
| 10 月 October  | 3.45                               | 10                             |
| 11 月 November | 12                                 | 0                              |
| 12 月 December | 42.31                              | 62.5                           |
| 1 月 January   | 0                                  | 0                              |
| 2 月 February  | 0                                  | 0                              |
| 3 月 March     | 0                                  | 10                             |
| 4 月 April     | 40                                 | 0                              |
| 5 月 May       | 0                                  | 0                              |

## 2.2 细菌分离培养结果

番禺海鸥岛共检测 96 尾罗非鱼, 皆未分离得到海豚链球菌。珠海斗门海鲈共检测 289 尾, 皆未分离得到海豚链球菌。尖吻鲈共检测 110 尾, 从 3 尾鱼中分离得到链球菌, 经生理生化及 16S rDNA 测序鉴定为海豚链球菌。细菌分离培养为阳性的样品, 特异 PCR 技术检测也均为阳性。

## 3 讨论

Shoemaker 等<sup>[9]</sup>使用普通的细菌分离培养方法对美国养殖罗非鱼、杂交条纹鲈(*Morone chrysops* × *M. saxatilis*)及斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)的海豚链球菌全年感染情况进行调查, 结果显示养殖罗非鱼和杂交条纹鲈的感染率分别为 3.81%(37/970)、7.23%(30/415), 而在斑点叉尾鲷中则没有分离到海豚链球菌。但根据目前的报道, 海豚链球菌同样是引起养殖斑点叉尾鲷死亡的重要病原菌之一<sup>[10-11]</sup>。Shoemaker 在该报道中也指出, 传统的细菌分离培养方法灵敏度非常有限, 极有可

能存在漏检的现象, 导致检出的感染率偏低, 因此有必要发展更为灵敏的分子快速检测方法, 可以对海豚链球菌的感染做到早期诊断, 以便更快地更好地防控该病的发生。

目前特异 PCR 技术因具有特异好、灵敏度高、快速而成为细菌诊断的一个主流分子检测手段, 特别是在样本量较大的流行病学调查中发挥了巨大的作用。本实验室建立了海豚链球菌 PCR 检测技术, 实验证明其具有较好的特异性及较高的灵敏度, 并反复验证了其作为诊断方法的可靠性和重复性<sup>[8]</sup>。本研究分别利用细菌分离培养方法和已建立的特异 PCR 技术, 对养殖罗非鱼、海鲈和尖吻鲈的海豚链球菌感染情况进行周年监控。利用细菌分离培养的方法, 仅从患病的尖吻鲈中分离到 3 株海豚链球菌, 而从罗非鱼和海鲈中均未分离到该病原菌。利用特异 PCR 的方法, 在养殖罗非鱼、海鲈和尖吻鲈均能检测到较高的阳性率。究其原因, 极有可能是传统的细菌分离培养方法灵敏度较低, 分离培养结果同时会受到鱼体和水体中其他非病原细菌的干扰, 因此只能在鱼体内存在大量病原细菌即鱼发病时才能检出阳性结果, 又由于本研究采集的样本绝大部分为健康鱼体, 因此用传统细菌分离培养的方法检出率较低。相比而言, 特异 PCR 技术灵敏度远远高于分离培养方法, 且检测不受其他病原体的干扰。另外, 我们还通过设置阴性阳性样本对照, 并将扩增产物测序等方法排除了特异 PCR 方法所产生的假阳性, 因此, 特异 PCR 检测结果更能体现鱼体实际感染海豚链球菌的情况。

利用特异 PCR 技术对鱼体不同组织进行海豚链球菌感染的检测时发现, 罗非鱼、海鲈各组织感染呈现出相同的特点, 即脑、肌肉的感染率较高, 肝、脾、肾的感染率较低。由此推测, 海豚链球菌进入鱼体后, 通过机体免疫应答, 肝、脾、肾组织的细菌部分被清除, 但由于血脑屏障的存在, 抗体无法进入脑, 而抗体在鱼类抵抗海豚链球菌侵袭中扮演重要角色<sup>[12-13]</sup>, 这可能是脑组织的海豚链球菌感染率高于肝、脾、肾组织的原因。Bromage 等<sup>[3]</sup>发现, 海豚链球菌攻毒 10 d 后, 在存活健康鱼的肾、脾、肝和眼组织分离不到病原

菌,但在脑组织还能轻易地分离得到。由于饲养周期问题,本研究未采集到体长 $\geq 30$  cm 的成年尖吻鲈,数据不够完整,这也可能是尖吻鲈各组织器官海豚链球菌感染率未呈现出和罗非鱼、海鲈相同特点的原因之一。另外,结果表明肌肉组织的海豚链球菌感染率也较高,目前尚不清楚导致这种情况的原因。

罗非鱼海豚链球菌的感染率随体长(体质量)的增加而降低,体长 $<20$  cm 组为 35%, $20 \leq$  体长 $<30$  cm 组降至 29.63%,体长 $\geq 30$  cm 组最低,为 27.27%。在海鲈和尖吻鲈中也发现相同的特点。Shoemaker 等<sup>[9]</sup>研究发现,达到上市规格(体长 $>454$  g)的养殖罗非鱼、杂交条纹鲈的海豚链球菌感染率要低于未达上市规格鱼(体长 $<454$  g),与本研究结果相似。随鱼体的生长发育,肾、脾等鱼类重要器官不断发育成熟的同时,鱼体对病原菌的免疫应答能力相应得到提高<sup>[14-15]</sup>,因此就表现为感染率的降低。

在水温较高的 8、9 月,养殖海鲈和尖吻鲈中均未检测到海豚链球菌感染,而养殖罗非鱼只在 8 月检测到 7.14%(1/14)的感染率,9 月份同样也未检测到感染。在水温较低的 12 月,养殖海鲈和尖吻鲈分别检测到 42.31%(11/26)和 62.5%(5/8)的感染率;但在水温同样较低的 1 月,养殖海鲈和尖吻鲈则均未检测到海豚链球菌感染。从总的结果来看,养殖罗非鱼、海鲈、尖吻鲈的海豚链球菌感染率并没有呈现出随月份变化的特点,即全年均有可能感染,与采样月份(水温)并无明显的相关性。但根据已有文献报道,鱼类海豚链球菌病的发病率及死亡率与水温有着明显的关系。李波等<sup>[16]</sup>通过对广西罗非鱼暴发链球菌病的情况调查,认为该病 3-11 月均可暴发,发病时水温在 26~34℃。卢迈新等<sup>[17]</sup>2009 年在广东、海南等地的调研结果显示,罗非鱼链球菌病流行的高峰期为 5-10 月,水温 32℃ 以上高发。Bromage 等<sup>[18]</sup>研究发现,尖吻鲈感染海豚链球菌后的死亡率与温度有显著性的关系,即 25~28℃ 之间死亡率最高,该温度范围之外死亡率便下降。综上所述,养殖鱼类整个饲养周期都有可能感染海豚链球菌,水

温虽然与感染率的高低无关,但却可能是导致海豚链球菌病暴发的一个重要因素,影响其发病率和死亡率。

在 1 年的监测过程中,采样的 5 个鱼池均没有暴发海豚链球菌病,但特异性 PCR 却检测到鱼体中存在较高的海豚链球菌感染率,因此可以推断海豚链球菌作为一种条件致病菌,可以在鱼体内无症状携带,该结果与 Bromage 等<sup>[3]</sup>的结论相同。Zlotkin 等<sup>[19]</sup>研究发现,海豚链球菌能够在巨噬细胞中存活并诱导细胞凋亡以利于其繁殖。此外由于抗生素的使用,可能会抑制海豚链球菌病的临床症状,发展出病原菌携带鱼<sup>[20]</sup>,因此一旦条件适合,如养殖密度过大、水质恶化、温度变化时,海豚链球菌病就可能暴发<sup>[4,18,21-22]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] Agnew W, Barnes A C. *Streptococcus iniae*: An aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination[J]. Vet Microbiol, 2007, 122: 1-15.
- [2] Bowser P R, Wooster G A, Getchell R G. *Streptococcus iniae* infection of tilapia *Oreochromis niloticus* in a recirculation production facility[J]. J World Aquat Soc, 1998, 29(3): 335-339.
- [3] Bromage E S, Thomas A, Owens L. *Streptococcus iniae*, a bacterial infection in barramundi *Lates calcarifer*[J]. Dis Aquat Org, 1999, 36: 177-181.
- [4] Bromage E S, Owens L. Infection of barramundi *lates calcarifer* with *Streptococcus iniae*: effects of different routes of exposure[J]. Dis Aquat Org, 2002, 52: 199-205.
- [5] Creeper J H, Buller N B. An outbreak of *Streptococcus iniae* in barramundi (*Lates calcarifera*) in freshwater cage culture[J]. Aust Vet J, 2006, 84(11): 408-411.
- [6] 张生. 海豚链球菌(*Streptococcus iniae*)疫苗对淡、海水养殖鱼类的保护性实验[D]. 重庆: 西南大学, 2007: 1-90.
- [7] 周素明, 李安兴, 马跃, 等. 养殖鱼类链球菌病原的分离鉴定及其 16SrDNA 分析[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2007, 46(2): 68-71.
- [8] Zhou S M, Fan Y, Zhu X Q, et al. Rapid identification of *Streptococcus iniae* by specific PCR assay utilizing genetic markers in ITS rDNA[J]. J Fish Dis, 2011, 34(4): 265-271.
- [9] Shoemaker C, Klesius P H, Evans J J. Prevalance of *Streptococcus iniae* in tilapia, hybrid striped bass, and channel cat-

- fish on commercial fish farms in the United States[J]. Am J Vet Res, 2001, 62: 174–177.
- [10] Evan J J, Klesius P H, Pasnik D J, et al. Influence of natural *Trichodina* sp. parasitism on experimental *Streptococcus iniae* or *Streptococcus agalactiae* infection and survival of young channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque)[J]. Aquat Res, 2007, 38: 664–667.
- [11] 余晓丽, 陈明, 李超, 等. 斑点叉尾鲷暴发性海豚链球菌病的研究[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(3): 185–191.
- [12] Eldar A, Horovitz A, Bercovier H. Development and efficacy of a vaccine against *Streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout[J]. Vet Immunol Immunopathol, 1997, 56: 175–183.
- [13] Shelby R A, Klesius P H, Shoemaker C A, et al. Passive immunization of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) with anti-*Streptococcus iniae* whole sera[J]. J Fish Dis, 2002, 25: 1–6.
- [14] Magnadottir B, Lange S, Gudmundsdottir S, et al. Ontogeny of humoral immune parameters in fish[J]. Fish Shellfish Immunol, 2005, 19: 429–439.
- [15] 王俊相, 李玉萍, 孔令富, 等. 鱼类免疫系统研究进展[J]. 四川畜牧兽医, 2010(7): 29–31.
- [16] 李波, 陈明, 李莉萍, 等. 广西罗非鱼链球菌病原的生化鉴定及药敏试验[J]. 中国畜牧兽医, 2008(10): 93–95.
- [17] 卢迈新. 罗非鱼链球菌病研究进展[J]. 南方水产, 2010, 6(1): 75–79.
- [18] Bromage E, Owens L. Environmental factors affecting the susceptibility of barramundi to *Streptococcus iniae*[J]. Aquaculture, 2009, 290: 224–228.
- [19] Zlotkin A, Chilmoneczyk S, Eyngor M, et al. Trojan horse effect: phagocyte-mediated *Streptococcus iniae* infection of fish[J]. Infect Immun, 2003, 71: 2318–2325.
- [20] Stoffregen D A, Backman S C, Perham R E, et al. Initial disease report of *Streptococcus iniae* infection in hybrid striped (sunshine) bass and successful therapeutic intervention with the fluoroquinolone antibacterial enrofloxacin[J]. J World Aquacult Soc, 1996: 420–434.
- [21] Shoemaker C A, Evans J J, Klesius P H. Density and dose: factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Aquaculture, 2000, 188 (3–4): 229–235.
- [22] Ndong D, Chen Y Y, Lin Y H, et al. The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures[J]. Fish Shellfish Immunol, 2007, 22: 686–694.

## *Streptococcus iniae* infection in cultured tilapia, sea bass, and barramundi in Guangdong

ZHANG Jun<sup>1</sup>, ZHOU Suming<sup>1,2</sup>, LI Anxing<sup>1</sup>

1. Key Lab of Aquatic Product Safety, Ministry of Education/State Key Lab Biocontrol, School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou, 510275;

2. College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou, 510642

**Abstract:** *Streptococcus iniae* infects a number of cultured fish species, causing heavy economic loss in Guangdong province. We evaluated the prevalence of infection with *S. iniae* in tilapia (*Oreochromis* spp.), sea bass (*Lateolabrax japonicus*), and barramundi (*Lates calcarifer*) using a standard microbiological assay and specific PCR. Using PCR, we detected *S. iniae* in all three species (30.21%, 23.53%, and 14.55% of individuals, respectively). However, *S. iniae* was only isolated from three barramundi using the traditional microbiological assay. *S. iniae* was detected in all tissues, including brain, liver, spleen, kidney, and muscle. The brain and muscle were more susceptible to *S. iniae* than the other tissues in tilapia (infection rate: 20.65% and 23.75%, respectively) and sea bass (infection rate: 12.1% and 10%, respectively). There was no difference in the susceptibility of the tissues in barramundi. Moreover, our results suggested that body length was inversely correlated with the infection rate by *S. iniae*.

**Key words:** *Streptococcus iniae*; specific PCR assay; conditional pathogenic bacteria

**Corresponding author:** LI Anxing. E-mail: lianxing@mail.sysu.edu.cn