

## 杂交鲟海豚链球菌分离鉴定及药物敏感性\*

王 静<sup>1</sup>, 邓玉婷<sup>2</sup>, 姜 兰<sup>2</sup>, 宋建宇<sup>1</sup>, 梁 祥<sup>1\*\*</sup>, 熊 燕<sup>1</sup>, 张正兴<sup>1</sup>, 张 涛<sup>3</sup>

(1. 云南省渔业科学研究院, 云南 昆明 650051; 2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所/农业农村部渔用药物创制重点实验室/广东省免疫技术重点实验室, 广东 广州 510380; 3. 景东盈利渔业有限公司, 云南 景东 676200)

**摘要:**【目的】确定导致云南省景东县鲟鱼养殖场杂交鲟[西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)(♀)×施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)(♂)]大量发病死亡的病原。【方法】从病鱼的内脏中分离获得病原菌,通过细菌的分离纯化、形态及分子生物学鉴定分离菌;以人工感染试验及药物敏感性测试验证分离菌株的感染性并筛选出敏感药物。【结果】分离菌为革兰氏阳性菌,16S rRNA 系统发育分析将该菌株鉴定为海豚链球菌(*Streptococcus iniae*)。人工感染杂交鲟能复制出类似症状,并能从感染鱼体内再次分离到该菌株,证实其病原性,且杂交鲟2周的半数致死剂量(LD<sub>50</sub>)为4.11×10<sup>2</sup> CFU/g。药敏结果显示:其对抗菌药物氟苯尼考和多西环素敏感,但对磺胺间甲氧嘧啶和磺胺甲噁唑/甲氧苄啶等多种药物耐药。【结论】海豚链球菌为引起景东县鲟鱼养殖场杂交鲟大量死亡的致病菌,为杂交鲟海豚链球菌病的控制和预防提供了理论依据,并揭示其在杂交鲟养殖过程中的潜在危险。

**关键词:** 杂交鲟; 海豚链球菌; 分离鉴定; 药物敏感

中图分类号: S 941.4

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X(2020)06-1010-06

## Isolation, Identification and Susceptibilities of Hybrid Sturgeon *Streptococcus iniae*

WANG Jing<sup>1</sup>, DENG Yuting<sup>2</sup>, JIANG Lan<sup>2</sup>, SONG Jianyu<sup>1</sup>, LIANG Xiang<sup>1</sup>,  
XIONG Yan<sup>1</sup>, ZHANG Zhengxing<sup>1</sup>, ZHANG Tao<sup>3</sup>

(1. Yunnan Institute of Fishery Sciences Research, Kunming 650051, China; 2. Pearl River Fisheries Research Institute of Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Fishery Drug Development of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Aquatic Animal Immune Technology, Guangzhou 510380, China; 3. Jingdong Profit Fisheries Co., Ltd., Jingdong 676200, China)

**Abstract:** [Purpose] To determine the pathogen that caused the massive death of hybrid sturgeon [*Acipenser baerii* (♀)×*Acipenser schrenckii* (♂)] in the sturgeon farm in Jingdong, Yunnan Province. [Method] The pathogen was isolated from the internal organs of diseased hybrid sturgeons and was identified by morphological identification and molecular identification. Experimental infection assay and antimicrobial susceptibility test were conducted to determine the pathogenicity of isolate and to screen out the susceptible antimicrobial agents. [Result] A Gram-positive pathogenic

收稿日期: 2020-02-21

修回日期: 2020-07-02

网络首发时间: 2020-11-11 14:20:56

\*基金项目: 云南省高层次科技人才及创新团队选拔专项-技术创新人才培养对象项目(2019HB067); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-46); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项(2017HY-ZD1004); 中国水产科学研究院珠江水产研究所基本科研业务费专项(2018SJ-YB04)。

作者简介: 王静(1990—), 女, 云南陆良人, 硕士, 助理研究员, 主要从事水生动物疾病防治研究。

E-mail: 18468237331@163.com

\*\*通信作者 Corresponding author: 梁祥(1986—), 男, 云南建水人, 硕士, 助理研究员, 主要从事渔业资源与生态研究。E-mail: kmlxiang@126.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20201111.1124.002.html>



bacterium was isolated and identified as *Streptococcus iniae*. Its pathogenicity was confirmed by experimental infection test and the half of lethal dose ( $LD_{50}$ ) to hybrid sturgeon in two weeks was  $4.11 \times 10^2$  CFU/g. The results of antimicrobial susceptibility test showed that the isolate was susceptible to florfenicol and doxycycline, but resistant to sulfamonomethoxine, sulfamethoxazole and other agents. [Conclusion] *S. iniae* was isolated from the infected hybrid sturgeon and was highly lethal to hybrid sturgeon, indicating that it might be the main pathogen that caused the death of the hybrid sturgeon in sturgeon farm. This study provides a theoretical basis for disease control and prevention and reveals its potential risk in the process of hybrid sturgeon breeding.

**Keywords:** hybrid sturgeon; *Streptococcus iniae*; isolation and identification; susceptibilities

鲟鱼 (Sturgeon) 生长快, 抗病能力强, 经济价值高, 适宜规模化养殖, 是冷水鱼的主要养殖品种之一<sup>[1]</sup>。近年来, 随着鲟鱼养殖规模及产量的提升, 各种疾病的暴发也越加频繁, 极大程度地制约了中国鲟鱼养殖业的发展<sup>[2]</sup>。目前, 危害鲟鱼养殖的疾病类型主要是细菌病, 已报道的致病菌主要有嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)<sup>[3]</sup>、类志贺邻单胞菌 (*Plesiomonas shigelloides*)<sup>[4]</sup>、豚鼠气单胞菌 (*Aeromonas carvia*)<sup>[5]</sup>、停乳链球菌 (*Streptococcus dysgalactiae*)<sup>[6]</sup>和海豚链球菌 (*Streptococcus iniae*)<sup>[7]</sup>等。

鱼类链球菌感染已呈全球性分布, 其中海豚链球菌宿主范围广, 对淡水、半咸水和海水的多种鱼类均具感染性, 严重危害水产养殖业的发展<sup>[2]</sup>。1976年, 海豚链球菌首次从患皮肤脓肿的亚马逊淡水海豚 (*Inia geoffrensis*) 中分离得到<sup>[8]</sup>, 随后国外有专家发现其能使红拟石首鱼 (*Sciaenops ocellatus*)、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)、斑点叉尾鲟 (*Ictalurus punctatus*)、罗非鱼 (*Oreochromis spp.*) 和银大麻哈鱼 (*O. kisutch*) 等多种鱼感染发病<sup>[9]</sup>。中国也有海豚链球菌感染红拟石首鱼<sup>[10]</sup>、斑点叉尾鲟<sup>[11-12]</sup>、罗非鱼<sup>[13]</sup>和鲟鱼<sup>[7, 14-15]</sup>等发病的相关报道。

2019年5月, 云南省景东县一鲟鱼养殖场出现杂交鲟[西伯利亚鲟 (*Acipenser baerii*)(♀)×施氏鲟 (*Acipenser schrenckii*)(♂)]大量发病死亡, 累计死亡率高达50%以上, 给养殖户造成了严重的经济损失。本研究首先从自然发病杂交鲟的内脏中分离并获得病原菌, 再对分离菌进行形态学观察及16S rRNA基因序列分析, 最后对该菌进行动物回归试验及药物敏感性测试, 为该病的准确诊断及防治提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验鱼

患病杂交鲟来自云南省景东县鲟鱼养殖场, 规格为20~30 cm, (64.3±2) g。健康杂交鲟来自云南省会泽县鲟鱼养殖场, 规格为20~30 cm, (58±2) g。

### 1.2 病原菌分离、纯化

利用接种环无菌操作从自然发病且出现典型症状的患病杂交鲟的血液、肝、脾和肠道分别取样接种于绵羊血平板, 28℃培养过夜, 随后挑取优势菌落于血平板上进行纯化。菌株编号为YN2019。

### 1.3 分离菌形态

将纯化菌株接种于血平板上, 28℃过夜培养后观察平板上菌落的形态。经纯化培养后的分离菌通过涂片、固定及革兰氏染色, 利用显微镜观察菌体的形态特征。

### 1.4 16S rRNA 基因序列分析

分离菌接种于脑心浸出液培养基, 28℃培养过夜, 取新鲜菌液离心收集菌体, 参照离心柱型细菌基因组DNA提取试剂盒说明书提取细菌基因组DNA, 然后用于PCR扩增。16S rRNA基因PCR扩增的引物为: F: 5'-AGAGTTTGATCA-TGGCTCAG-3'; R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。PCR扩增产物经纯化回收后, 送广州艾基生物技术有限公司进行测序。

对经测序后获得的扩增产物16S rRNA序列进行聚类分析, 利用NCBI的BLAST检索系统从GenBank数据库中选取同源性较高的同种菌株的16S rRNA序列及同属相关种的16S rRNA序列<sup>[16]</sup>, 运用MEGA 5.0中的Muscle算法对序列进行比对, 比对完成且经人工调整后采用邻位连接法 (neighbor-joining, NJ) 构建聚类树, 聚类树采用

Maximum Composite Likelihood 模型<sup>[17]</sup>。

### 1.5 药物敏感性测试

药物敏感性测试采用微量二倍稀释法, 参照美国国家临床实验室标准化 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 标准<sup>[18]</sup>判断受试菌株的药物敏感性, 并以大肠埃希菌 (*Escherichia coli* ATCC25922) 作为质控菌株。受试的药物选用中国水产批准的 10 种国标渔药, 包括磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶、磺胺二甲嘧啶/甲氧苄啶、恶喹酸、多西环素、氟甲喹、恩诺沙星、新霉素、甲砒霉素和氟苯尼考。同时设无药无菌的阴性对照和无药有菌的阳性对照。按照商品化药敏板的使用说明, 于药敏板每孔中加入用脑心浸出液稀释到  $1 \times 10^6$  CFU/mL 的菌液 100  $\mu$ L。置 28  $^{\circ}$ C 培养箱中静置培养 16~24 h, 取出观察结果。对照组细菌生长良好时, 以肉眼观察到能够抑制细菌生长的最低药物质量浓度作为该药物对受试菌的最小抑菌质量浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC)。

### 1.6 人工感染试验与 LD<sub>50</sub> 的测定

分离菌株接种于脑心浸出液培养基, 28  $^{\circ}$ C 震荡培养过夜, 用 0.85% 的无菌生理盐水将其制备成菌悬液, 稀释成  $3 \times 10^6$ 、 $3 \times 10^5$ 、 $3 \times 10^4$ 、 $3 \times 10^3$ 、 $3 \times 10^2$  CFU/mL 共 5 个梯度, 分别经胸鳍基部注射 5 组健康杂交鲟 (58 $\pm$ 2) g, 20 尾/组, 注射剂量根据预试验结果确定为 0.2 mL/尾, 对照组注射生理盐水。试验期间各组水池中连续充氧, 水温 (20 $\pm$ 1)  $^{\circ}$ C 正常饲养。每隔 4 h 需观察各组杂交鲟的发病死亡情况。根据各组试验杂交鲟的死亡情况运用寇氏法计算 LD<sub>50</sub>, 将感染后出现症状的杂交鲟进行细菌再分离, 并对再分离获得菌株与原致病菌进行比较<sup>[19]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 临床症状

患病杂交鲟来自云南景东水库网箱养殖, 水温 (19 $\pm$ 1)  $^{\circ}$ C, 发病初期表现为离群溜边或无方向性窜游, 5~10 d 内死亡, 主要临床症状为吻端嘴部四周出血、肛门周围充血出血, 解剖后发现肠道充血 (图 1)。

### 2.2 分离菌株的形态特征

分离菌株 YN2019 于绵羊血琼脂平板上 28  $^{\circ}$ C 培养过夜, 形成白色圆形光滑的菌落, 并出现  $\alpha$  溶血现象 (图 2)。革兰氏染色鉴定结果显示: 分离菌株 YN2019 为革兰氏阳性球菌, 成链条形排列 (图 3)。

### 2.3 16S rRNA 基因序列分析及系统发育树构建

PCR 扩增分离菌株 YN2019 的 16S rRNA 基因片段约 1 500 bp, 将序列提交至 NCBI 获得 GenBank 登录号为 MT197290。BLAST 同源性比对结果显示: YN2019 16S rRNA 序列与 GenBank 中 *S. iniae* 的同源性最高, 相似性均在 99.2% 以上; 与同属中停乳链球菌、无乳链球菌和副乳房链球菌的同源性分别为 95.4%、95.3% 和 96.4%。以分离菌株 YN2019 16S rRNA 序列与 GenBank 中其他链球菌属的细菌 16S rRNA 序列构建聚类树, 结果 (图 4) 显示: 分离菌株 YN2019 与 *S. iniae* 聚为一支。

### 2.4 药敏试验

药敏结果 (表 1) 显示: 分离菌株 YN2019 对多西环素、新霉素、甲砒霉素和氟苯尼考敏感, 对磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶和恩诺沙星等其他药物耐药。

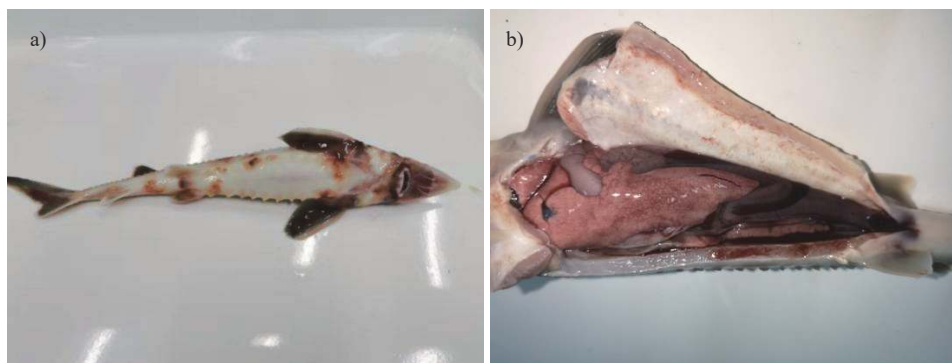


图 1 患病杂交鲟口、肛门周围充血出血 (a) 和肠道充血 (b)

Fig. 1 Bleeding around the mouth and anal (a) and intestinal congestion (b) of diseased hybrid sturgeons



图 2 血平板菌落形态

Fig. 2 Morphology of isolates



图 3 分离菌革兰氏染色形态

Fig. 3 Gram staining morphology of isolates

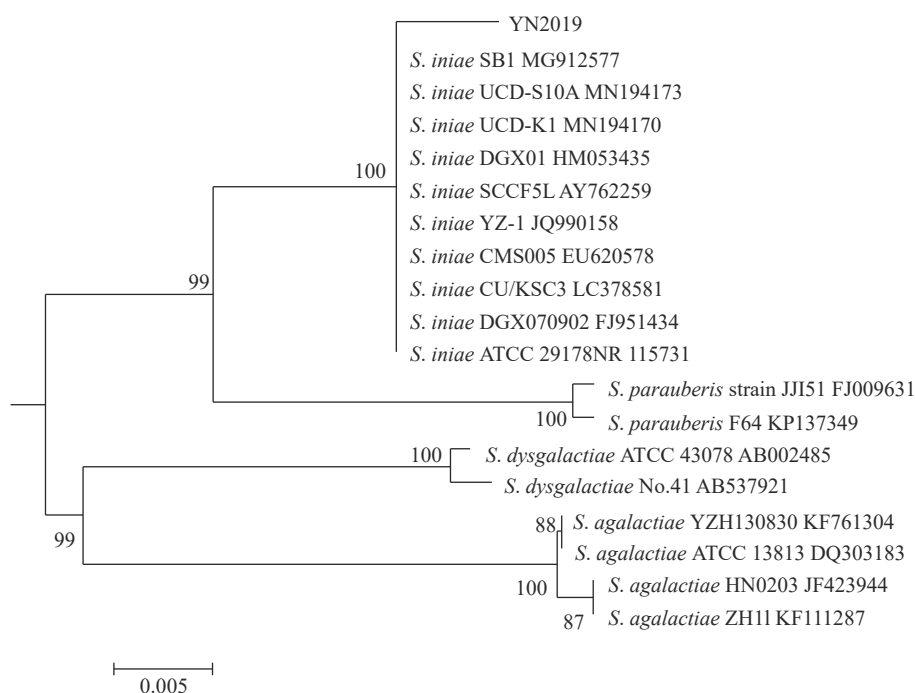


图 4 菌株 YN2019 的 16S rRNA 系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of the 16S rRNA gene sequences of strain YN2019

## 2.5 人工感染试验与 LD<sub>50</sub> 的测定

人工感染后的第 3 天, 试验组杂交鲟开始出现离群沿池边游动或无方向性窜游, 嘴部及肛门周围出现充血现象, 第 5 天高密度试验组杂交鲟开始出现死亡。试验杂交鲟发病症状同自然发病症状基本相似, 可见吻端嘴部四周、肛门充血出血, 剖检见其肠道远端充血, 对照组杂交鲟健康活泼, 未出现发病症状。从感染后发病杂交鲟的血液、肝和脾中再次分离出细菌, 经形态及 16S rRNA 鉴定, 确定其与原感染菌一致, 揭示该菌为引起杂交鲟大量死亡的致病菌。根据人工感染结果 (表 2), 运用寇氏法计算菌株 YN2019 对

杂交鲟 2 周的 LD<sub>50</sub> = 2.39 × 10<sup>4</sup> CFU/尾, 即 LD<sub>50</sub> = 4.11 × 10<sup>2</sup> CFU/g。

## 3 讨论

鲟鱼海豚链球菌感染已呈全球性分布, 国内外均有报道海豚链球菌感染鲟鱼并造成严重危害<sup>[14, 20-22]</sup>。云南首次发现海豚链球菌感染杂交鲟, 其主要临床症状为吻端嘴部四周及肛门周围充血出血、肠道充血, 这与国内外报道的海豚链球菌感染杂交鲟引起的主要临床症状<sup>[14, 20]</sup>相吻合, 但云南患病杂交鲟并未出现明显的内脏器官损伤, 如: 肝出血、脾肿大、肾糜烂等症状<sup>[2, 7-8, 20]</sup>,



表 1 分离株的药物敏感性

Tab. 1 Susceptibilities of the isolated strain YN2019

| 药物名称<br>antimicrobial agent                         | 药物稀释范围/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )<br>ranges of dilution | MIC/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | 敏感性判断<br>susceptibilities |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------|
| 磺胺间甲氧嘧啶<br>sulfamonomethoxine                       | 16~512                                                                | >512                                         | R                         |
| 磺胺甲噁唑/<br>甲氧苄啶<br>sulfamethoxazole/<br>trimethoprim | 9.5/0.5~76/4                                                          | >76/4                                        | R                         |
| 磺胺二甲嘧啶/<br>甲氧苄啶<br>sulfadimidine/<br>trimethoprim   | 2.5/0.5~20/4                                                          | >20/4                                        | R                         |
| 恶喹酸<br>oxolinic Acid                                | 0.125~4                                                               | >4                                           | R                         |
| 多西环素<br>doxycycline                                 | 0.5~16                                                                | $\leq 0.5$                                   | S                         |
| 新霉素<br>neomycin                                     | 1~32                                                                  | 4                                            | S                         |
| 甲砒霉素<br>thiamphenicol                               | 2~64                                                                  | $\leq 2$                                     | S                         |
| 氟苯尼考<br>florfenicol                                 | 1~32                                                                  | $\leq 1$                                     | S                         |
| 氟甲喹<br>flumequine                                   | 0.5~32                                                                | >32                                          | R                         |
| 恩诺沙星<br>enrofloxacin                                | 0.004~8                                                               | >8                                           | R                         |

注: R. 耐药; S. 敏感。  
Note: R. resistant; S. susceptible.

表 2 菌株人工感染试验结果

Tab. 2 Artificial infection test of the isolated strain YN2019

| 组别<br>group | 病原密度/<br>(CFU·mL <sup>-1</sup> )<br>concentration | 注射剂量/<br>(CFU·尾 <sup>-1</sup> )<br>injected dose | 2周累计<br>死亡数<br>accumulative<br>death number | 试验鱼<br>数量<br>fish<br>number | 死亡率/%<br>mortality |
|-------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------|--------------------|
| 1           | 3×10 <sup>6</sup>                                 | 6×10 <sup>5</sup>                                | 17                                          | 20                          | 85                 |
| 2           | 3×10 <sup>5</sup>                                 | 6×10 <sup>4</sup>                                | 10                                          | 20                          | 50                 |
| 3           | 3×10 <sup>4</sup>                                 | 6×10 <sup>3</sup>                                | 8                                           | 20                          | 40                 |
| 4           | 3×10 <sup>3</sup>                                 | 6×10 <sup>2</sup>                                | 3                                           | 20                          | 15                 |
| 5           | 3×10 <sup>2</sup>                                 | 6×10                                             | 0                                           | 20                          | 0                  |
| 对照control   | 0.85% NaCl                                        | 0                                                | 0                                           | 20                          | 0                  |

这是与分离菌株的毒力差异还是病程快慢有关还需进一步研究。对国内已报道引起杂交鲟发病且分离出的海豚链球菌16S rRNA 基因序列进行分析,发现云南景东分离株 YN2019 与四川雅安分离株 Ab130920<sup>[7]</sup>的同源性为 98.87%、与北京怀柔分离株 HRS12718K<sup>[14]</sup>的同源性为 98.30%、与四川彭州分离株 ZLP160615<sup>[15]</sup>的同源性为 98.99%。由此可知:国内不同地方分离菌株之间虽同源性较高,但均有特异性,其中云南分离株 YN2019 与四川分离株的同源性较北京分离株高,说明病原菌的生物学特性可能与地域和距离等因素有关。

云南景东县海豚链球菌感染杂交鲟的死亡率高达 50% 以上,分离菌株 YN2019 对健康杂交鲟的 LD<sub>50</sub> 为 2.39×10<sup>4</sup> CFU/尾。郑李平等<sup>[15]</sup>与邓梦玲等<sup>[7]</sup>曾报道四川彭州和雅安海豚链球菌感染杂交鲟的死亡率分别达 35% 和 40% 以上,各分离菌株对健康杂交鲟的 LD<sub>50</sub> 分别为 6.3×10<sup>5</sup> CFU/尾和 6.4×10<sup>5</sup> CFU/尾。由国内不同地方海豚链球菌感染杂交鲟所造成的高死亡率证实海豚链球菌已严重危害杂交鲟养殖业的发展。对比国内不同地方分离菌株对杂交鲟的 LD<sub>50</sub> 可知:云南分离菌株 YN2019 的细菌攻毒毒力较强,说明海豚链球菌不同菌株间的致病能力有所差异,可能与各分离菌的生物学特性有关,也可能与试验用健康杂交鲟的品种或大小有关,本试验所用健康杂交鲟较其他报道中的小,免疫力可能稍弱,导致细菌攻毒毒力强。

药物敏感性测试发现:本研究分离的海豚链球菌 YN2019 对氟苯尼考、多西环素、甲砒霉素和新霉素等抗菌药物敏感,对磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶和恩诺沙星等耐药。这与已报道的西伯利亚鲟源海豚链球菌对氟苯尼考高度敏感<sup>[7,15]</sup>、对新霉素高度不敏感<sup>[15]</sup>的结果有相同之处又存在些许差异,说明药物敏感性不同的海豚链球菌分离株之间存在一定的差异,可能与地域环境或养殖条件的不同有关。根据药敏测试结果,本次海豚链球菌感染杂交鲟使用氟苯尼考后病情得到了有效控制,因此,在治疗鱼类海豚链球菌病时应根据药敏结果科学、高效地用药。此外,长期使用或滥用抗生素会带来一系列负面影响,如耐药性、环境污染和药物残留等问题;因此,如何安全有效且环保的进行鱼病防控还有待进一步研究。

海豚链球菌是人鱼共患菌之一,对人或鱼类都具有较强的致病力,不仅危害鱼类养殖业的发展,而且威胁人类的健康<sup>[23]</sup>。目前,国内外已有学者开展了针对海豚链球菌的灭活菌苗、减毒活疫苗等研究<sup>[24-26]</sup>,防治鱼类海豚链球菌的中草药制剂也在进一步开发<sup>[27]</sup>。这些研究及其成果正在不断地深入与应用,会极大程度地降低鱼类海豚链球菌感染只能依赖抗菌药物防治所引起的负面影响,且能提高鱼类海豚链球菌病的免疫防控能力,减少其对水产养殖的危害。

#### 4 结论

本研究对云南景东县养殖的自然感染发病且出现典型临床症状的杂交鲟进行病原菌分离纯化, 获得分离菌株 YN2019, 通过形态学鉴定与 16S rRNA 系统发育鉴定其为海豚链球菌。人工感染健康杂交鲟, 出现与自然发病一致的症状, 再次分离得到此菌, 证实海豚链球菌为引起景东县鲟鱼养殖场杂交鲟大量死亡的致病菌, 为杂交鲟海豚链球菌病的防控提供了理论依据, 并揭示其在鲟鱼养殖过程中的潜在危险。

**致谢:** 感谢云南农业大学高宇博士在细菌培养分离工作中的指导协助。

#### [参考文献]

- [1] 贺艳辉, 袁永明, 张红燕, 等. 中国鲟鱼产业发展现状、机遇与对策建议[J]. 湖南农业科学, 2019(7): 118. DOI: 10.16498/j.cnki.hnnykx.2019.007.032.
- [2] 王静波, 贾丽, 曹欢, 等. 引起鲟鱼暴发性死亡病因分析[J]. 中国水产, 2016(12): 114.
- [3] 肖艳翼, 胡利静, 刘腾飞, 等. 鲟鱼嗜水气单胞菌败血症的研究[J]. 科学养鱼, 2014(12): 63. DOI: 10.14184/j.cnki.issn1004-843x.2014.12.038.
- [4] 王小亮, 徐立蒲, 曹欢, 等. 鲟致病性类志贺单胞菌的鉴定及药物敏感性[J]. 微生物学报, 2013, 53(7): 723. DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.2013.07.008.
- [5] 秦玉广, 陈秀丽, 王春生, 等. 鲟源豚鼠气单胞菌分离与强弱毒株病原生物学比较研究[J]. 井冈山大学学报(自然科学版), 2011, 32(6): 51. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8085.2011.06.0013.
- [6] 潘厚军, 刘晓勇, 常藕琴, 等. 西伯利亚鲟停乳链球菌的分离、鉴定与致病性[J]. 中国水产科学, 2009, 16(6): 891. DOI: 10.3321/j.issn:1005-8737.2009.06.010.
- [7] 邓梦玲, 耿毅, 刘丹, 等. 西伯利亚鲟海豚链球菌的分离鉴定及毒力基因检测[J]. 水产学报, 2015, 39(1): 127. DOI: 10.3724/SP.J.1231.2015.59399.
- [8] PIER G B, MADIN S H. *Streptococcus iniae* sp. nov., a beta-hemolytic streptococcus isolated from an Amazon freshwater dolphin, *Inia geoffrensis*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1976, 26(4): 545. DOI: 10.1099/00207713-26-4-545.
- [9] AGNEW W, BARNES A C. *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination[J]. Veterinary microbiology, 2007, 122(1/2): 1. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.03.002.
- [10] 沈智华, 钱冬, 许文军, 等. 红拟石首鱼海豚链球菌分离、鉴定及致病性研究[J]. 水生生物学报, 2005, 29(6): 678. DOI: 10.3321/j.issn:1000-3207.2005.06.013.
- [11] 余晓丽, 陈明, 李超, 等. 斑点叉尾鮰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. DOI: 10.16535/j.cnki.dlhyxb.2008.03.007.
- [12] CHEN D F, WANG K Y, GENG Y, et al. *Streptococcus iniae* isolated from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in China[J]. The Israeli Journal of Aquaculture-Bam-idgeh, 2011, 63(3): 593.
- [13] 陆英杰, 赖达光, 田鑫江, 等. 罗非鱼海豚链球菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 广东农业科学, 2014, 41(7): 110. DOI: 10.16768/j.issn.1004-874x.2014.07.045.
- [14] 王小亮, 徐立蒲, 王静波, 等. 杂交鲟海豚链球菌的分离、鉴定及药物敏感性[J]. 微生物学报, 2014, 54(4): 442. DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.04.011.
- [15] 郑李平, 耿毅, 雷雪平, 等. 鲟海豚链球菌的分离鉴定及其感染后的病理损伤[J]. 浙江农业学报, 2018, 30(2): 203. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1524.2018.02.04.
- [16] 李铁, 张雪梅. 如何利用 NCBI 的资源与工具检索基因/基因编码产物的功能[J]. 医学信息, 2014, 27(39): 2. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2014.39.003.
- [17] 钟志敏, 赖小平, 黄松, 等. 基于 ycf1 的姜科植物条形码鉴定及聚类分析[J]. 中华中医药杂志, 2018(9): 4089.
- [18] WAYNE P A. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: twenty-second Informational Supplement: M100-S22[S]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.
- [19] 张庆华, 马文元, 陈彪, 等. 嗜水气单胞菌引致的金钱鱼细菌性疾病[J]. 水产学报, 2016, 40(4): 634. DOI: 10.11964/jfc.20150709976.
- [20] PIEREZAN F, SHAHIN K, HECKMAN T I, et al. Outbreaks of severe myositis in cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus* L.) associated with *Streptococcus iniae*[J]. Journal of Fish Diseases, 2020, 43(4): 485. DOI: 10.1111/jfd.13145.
- [21] SOLTANI M, MAZANDARANI M, MIRZARGAR S S, et al. Pathogenicity of *Streptococcus iniae* in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fingerling[J]. Journal of Veterinary Research, 2014, 69(2): 119.
- [22] MUHAMMAD M, ZHANG T, GONG S Y, et al. *Streptococcus iniae*: a growing threat and causative agent of disease outbreak in farmed Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. Pakistan Journal of Zoology, 2020, 52(5): 1931. DOI: 10.17582/journal.pjz/20190209200236.
- [23] LAU S K P, WOO P C Y, TSE H, et al. Invasive *Streptococcus iniae* infections outside north america[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41(3): 1004. DOI: 10.1128/JCM.41.3.1004-1009.2003.
- [24] KLESIOUS P H, SHOEMAKER C A, EVANS J J. Efficacy of single and combined *Streptococcus iniae* isolate vaccine administered by intraperitoneal and intramuscular routes in tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Aquaculture, 2000, 188(3/4): 237. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00345-8.
- [25] 徐洋, 沈锦玉, 茹红顺, 等. 罗非鱼链球菌病及其疫苗研究进展[J]. 农业灾害研究, 2012, 2(5): 48. DOI: 10.19383/j.cnki.nyzhyj.2012.05.016.
- [26] 徐增辉, 陈汉忠, 陈明, 等. 海豚链球菌疫苗对罗非鱼免疫功能的影响[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(6): 413. DOI: 10.16535/j.cnki.dlhyxb.2008.06.011.
- [27] 张彬, 黄婷, 陈福艳, 等. 10种中草药及4种组方对罗非鱼致病性海豚链球菌体外抑菌试验[J]. 淡水渔业, 2011, 41(5): 35. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6907.2011.05.006.

责任编辑: 何馨成