

doi: 10.3969/j.issn.1673-2227.2010.01.013

· 综述 ·

罗非鱼链球菌病研究进展

卢迈新

(中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 501380)

摘要: 链球菌 (*Streptococcus* spp.) 是一种广泛分布于自然界的革兰氏阳性菌, 是人类的重要病原之一, 也是其他多种脊椎动物包括猪、牛、鱼等的重要病原菌。目前已有多个国家报道了鱼类链球菌病的暴发与流行, 受感染的鱼类包括多种海水和淡水鱼类, 以温水性鱼类最为严重。近年中国罗非鱼链球菌感染的报道也呈现增加趋势, 尤其在2009年, 广东、海南、福建和广西地区养殖罗非鱼的链球菌病发病率为20%~50%, 死亡率达50%~70%, 甚至更高。链球菌病已严重危害着中国罗非鱼养殖业的健康发展。文章对罗非鱼链球菌病的病原、流行及防治方法作一综述, 以期今后开展罗非鱼链球菌病防控研究提供参考。

关键词: 罗非鱼; 链球菌; 链球菌病

中图分类号: S 941.42

文献标志码: A

文章编号: 1673-2227-(2010)01-0075-05

Review of research on streptococcosis in tilapia

LU Maixin

(Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Science, Guangzhou 510380, China)

Abstract: *Streptococcus* spp. is gram-positive and one of the major bacterial pathogens causing infectious diseases in human as well as in many vertebrates including swine, cattle and fish. Currently, the outbreak and prevalence of streptococcosis in fish, often occurring in various species of marine and freshwater fishes and mostly occurring in fishes of warm waters, have already been reported by many countries. There are more and more reports of tilapia infected with streptococcosis in China. In 2009, the outbreaks of streptococcosis were found in tilapia farms in southern China, including Guangdong, Guangxi, Fujian and Hainan provinces; the rates of streptococcal infectivity and mortality were 20%~50% and 50%~70%, respectively. Thus, streptococcosis has seriously hindered the development of tilapia aquaculture. This review summarized the reports on pathogeny, epidemiology, control and prevention of streptococcosis in tilapia, which would provide references for the prevention and control of streptococcosis in tilapia in the future.

Key words: tilapia; *Streptococcus* spp.; streptococcosis

链球菌 (*Streptococcus* spp.) 是一种广泛分布于自然界的革兰氏阳性菌, 是人类的重要病原之一, 可引起败血症、肺炎及脑膜炎等疾病, 同时也是其他多种脊椎动物包括猪、牛、鱼等的重要病原菌。目前已有多个国家报道了鱼类链球菌病的暴发与流行。1957年日本在虹鳟 (*Oncorhynchus mikiss*) 养殖中发现了链球菌病, 这是最早发现的鱼类链球菌感染性疾病^[1]。20世纪80年代以后, 世界范围内出现了

较广泛的鱼类链球菌感染。受感染的鱼类包括多种海水和淡水鱼类, 温水性鱼类受链球菌的危害尤其严重^[2]。鱼类链球菌病已成为造成世界水产养殖业巨大经济损失的主要疾病, 每年因海豚链球菌病造成的经济损失超过1.5亿美元^[3]。链球菌不仅对渔业生产造成巨大危害, 而且对食品安全和人类健康构成了严重威胁^[4-5]。近年中国罗非鱼链球菌感染的报道也呈现增加趋势^[6-7], 主要危害亲鱼及100

收稿日期: 2009-11-24; 修回日期: 2009-12-03

资助项目: 广东省农业重点项目 (2009B020201003); 公益性行业 (农业) 科研专项 (3-49); 现代农业产业技术体系建设专项资金 (nycytx-48-4); 广东省海洋渔业科技推广专项 (A200899B02)

作者简介: 卢迈新 (1962-), 男, 研究员, 从事水产健康养殖技术研究。E-mail: mx-lu@163.com

g 以上的幼鱼和成鱼, 传染性强, 发病率达 10% ~ 30%, 死亡率达 25% ~ 80%^[8]。

罗非鱼因具有适应性强、生长快、繁殖力高和食性广等优点, 作为联合国粮农组织推荐的养殖品种, 已被世界各地广泛引种与养殖。中国为罗非鱼养殖的主要国家, 罗非鱼养殖产量占世界罗非鱼总产量的近 50%^[9]。罗非鱼产业对于中国乃至世界粮食供应、增加就业机会以及促进国际贸易等均具有十分重要的意义。2009 年广东、海南、福建和广西地区养殖罗非鱼的链球菌病发病率为 20% ~ 50%, 死亡率达 50% ~ 70%, 甚至更高。链球菌病已严重危害着中国罗非鱼养殖业的健康发展。

1 病原

在罗非鱼上分离到的链球菌主要有海豚链球菌 *Streptococcus iniae* 和无乳链球菌 *S. agalactiae* 2 种。

1.1 海豚链球菌

1976 年, PIER 和 MADIN^[10] 从捕获的皮肤溃疡的亚马逊淡水豚 (*Inia geoffrensis*) 体上分离到世界首例海豚链球菌。海豚链球菌呈革兰氏阳性 (G⁺)、单个或成对呈链状排列、有荚膜、不产气、兼性厌氧、过氧化氢酶呈阴性, 在绵羊血琼脂板上呈 β 溶血^[11]。海豚链球菌是目前危害罗非鱼的重要病原菌^[12-15]。PERERA 等^[16] 及 ELDAR 等^[17-18] 分别报道了海豚链球菌引起美国和以色列养殖奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 的死亡。1995 年从台湾地区养殖的罗非鱼体内也分离到海豚链球菌^[18]。柴家前等^[6] 从山东省多个罗非鱼养殖场发病罗非鱼样品中分离到致病的海豚链球菌。李波等^[19] 从来自广西南宁、北海等地的十几个暴发疾病的罗非鱼养殖场发病罗非鱼样品中, 分离得到了 8 株链球菌, 通过生化鉴定及人工感染试验, 证实有 6 株为海豚链球菌, 且具有较强的致病性。

1.2 无乳链球菌

无乳链球菌被认为是唯一拥有 B 群特异性抗原的链球菌^[20], 因而也称为 GBS (group B Streptococcus)。ELDAR 等^[17] 从以色列患病或濒死的罗非鱼样品中分离出难辨链球菌 (*S. difficile*), 并且确认 1984 年引起以色列一养殖场感染鱼池中 30% 的罗非鱼死亡的病原菌为难辨链球菌, 后来的研究确定 *S. difficile* 为无乳链球菌的同物异名^[21]。张新艳等^[8] 也从患病的罗非鱼体内分离到无乳链球菌。AMAL 等^[22] 从马来西亚包括灌渠、池塘、河流和水库等不同水体网箱养殖的罗非鱼样品中也分离到无乳链球菌, 5 ~ 10 月份罗非鱼的死亡率为 5% ~ 45%。笔者实验室从广东、海南 2 省多家罗非鱼养殖场的发病罗非鱼样品中, 分离到链球菌 7 株, 经生理生化鉴定及分子生物学方法鉴定为无乳链球菌,

引发 2009 年夏季广东与海南 2 省罗非鱼暴发病的病原主要是无乳链球菌^①。

2 症状与组织病理学

罗非鱼链球菌病是一种暴发性流行病, 主要病理特征为眼球突出或混浊发白、眼眶充血、腹部膨大、肛门红肿、采食减少或绝食、游姿平衡失调、翻滚和转圈, 解剖病鱼可见胆囊肿大、胆汁稀薄、色浅, 肠腔充满淡黄色液体, 肝脏增大^{[6]①}。罗非鱼链球菌病可分为急性型和慢性型, 急性型死亡前鱼体未表现明显的症状; 慢性型部分发病鱼可出现典型症状及病变, 主要表现为浮头、转圈、狂游及发病后期单侧或双侧眼睛浑浊、突出及全身大面积弥漫性出血, 肠道出血, 腹腔充满腹水, 肾脏严重肿大, 肝脏苍白等^[19]。对患链球菌病的罗非鱼进行了组织病理学研究, 发现其主要的组织病理变化为鳃充血, 鳃上皮增生、融合, 结构崩解; 心肌纤维变性, 肌间白细胞浸润; 肝脏颗粒变性和脂肪变性; 肠道粘膜上皮变性、坏死、脱落、固有膜炎症性白细胞浸润; 肾脏受损严重, 白细胞浸润, 肾小管上皮细胞坏死、解体, 小动脉血管壁玻璃样变性; 眼睛脉络膜和眶骨膜组织炎症性坏死, 晶状体纤维断裂和脱离^[23-24]。

3 流行病学

对广西近年罗非鱼暴发链球菌病的情况调查显示, 该病 3 ~ 11 月均可暴发, 发病水温范围在 26 ~ 34 °C, 传播速度较快, 7 d 左右可波及全场^[19]。张新艳等^[8] 也认为罗非鱼链球菌病流行于春、夏和秋季, 流行高峰为 5 ~ 9 月, 流行水温 25 ~ 37 °C。笔者实验室 2009 年夏季从广东、海南等罗非鱼主养区的多个养殖场调研的结果显示, 罗非鱼链球菌病流行高峰为 5 ~ 10 月, 水温 32 °C 以上高发。AMAL 等^[22] 对马来西亚网箱养殖罗非鱼链球菌发病情况的调查也显示该病流行季节为 5 ~ 10 月, 水温为 31 °C 以上。MIAN 等^[25] 对巴西罗非鱼养殖场进行的研究表明, 链球菌病的暴发通常发生在水温 ≥ 27 °C、高密度养殖模式, 高强度的操作也容易引起发病。NARAID 等^[23] 调查了泰国罗非鱼发生链球菌病时的水质情况, 发病时的水温 25 ~ 32 °C, pH 7.08 ~ 8.15, 碱度 61 ~ 200 mg · L⁻¹, 硬度 200 ~ 600 mg · L⁻¹, 氨态氮 0 ~ 0.2 mg · L⁻¹, 硝酸盐氮 0 ~ 0.1 mg · L⁻¹。NARAID 等^[23] 认为罗非鱼链球菌病的发生与养殖密度过大、水质理化因子变化等引起鱼体应激反应有关。水生动物链球菌病是由链球菌感染所引起的致死率高的传染病, 多发于水质差、养殖密度大的水域, 且水温越高病情越重, 长期使用低质饲料也是诱因之一, 此外, 与水体中存在大量的链球菌也有直接的联系^[8]。王琼秋^[7] 对发生罗非鱼链球

① 卢迈新, 黎炯, 叶星, 等. 广东与海南罗非鱼主养区无乳链球菌的分离、鉴定与特性分析 (待刊)

菌病的某鱼场所用鱼饲料进行了致病菌检测,发现饲料中存在与患病鱼一致的链球菌。HERNÁNDEZ 等^[26]也发现哥伦比亚养殖的红罗非鱼 (*Oreochromis* sp.) 感染无乳链球菌与高密度养殖有较大的关系。KITAO^[27]认为链球菌是通过鱼体之间进行水平传播的,病死鱼将病原释放到水体是主要的感染源。MIAN 等^[25]通过将健康的罗非鱼与患链球菌病的罗非鱼同池饲养,或通过分离得到的无乳链球菌菌株进行浸泡或鳃部接种健康鱼的实验,均发现实验鱼出现链球菌病的临床症状,受感染的罗非鱼也可以分离到链球菌。由此可见,罗非鱼链球菌病的发生主要是鱼体、病原体和环境三者之间相互复杂作用的结果。罗非鱼链球菌病的暴发除了病原本身致病力的因素外,一些其他因素也起了重要的作用,如水温高、池水溶氧低、养殖密度偏高、投饲量大都容易引发罗非鱼链球菌病暴发。链球菌既可以通过鱼体间的直接接触传播,也可以通过水体和饲料传播。

4 致病机理

EVANS 等^[20]认为,链球菌的感染可能是通过鱼体间的直接接触或养殖环境受链球菌的污染所致。链球菌感染鱼体头部,破坏鱼脑神经,通过血液循环破坏肝、肾、脾等器官引发全身性出血病的细菌性疾病,传染性强,死亡率高,治疗困难。有学者提出血溶性路线是链球菌感染传播的主要途径^[24,28]。海豚链球菌对上皮细胞有直接的细胞毒作用,可以破坏上皮细胞层,进入血管,并向其他组织扩散,而且能进一步突破血脑屏障,导致脑膜炎,使病鱼出现神经症状^[29-31]。因此,罗非鱼感染链球菌后表现出的游姿平衡失调、翻滚、转圈和眼球突出等症状与鱼的神经系统受到破坏有关。

5 防控措施

5.1 常规措施

鉴于链球菌病发生与放养密度偏高、水质差、饲料质量差、投饲量偏大等因素密切相关,作为预防措施,在改善饲养管理方面,减少鱼体应激是首先应考虑的一步,在罗非鱼养殖过程中应尽可能保持良好的水质状况和合理的放养密度,在高温季节应适当提高池塘水位,减少投饲。平常用生石灰、含氯消毒剂进行水体的消毒也能起到防病的作用。

罗非鱼发生了链球菌病,最直接的治疗方法是使用抗生素,如土霉素、阿莫西林或其他抗生素^[32-34]。在使用抗生素的同时,添加维生素 C 可增加治疗链球菌病的疗效^[35]。但 ZIMMERMAN 等^[36]发现海豚链球菌可以利用宿主巨噬细胞逃避抗生素对其的杀灭作用。另一方面,在巨噬细胞内繁衍的链球菌释放到血液中,受感染鱼就成了最主要的链球菌传染源。因此,使用抗生素治疗罗非鱼链球

菌病的效果并不太理想,而且容易引起药物残留。PRA-SATPORN 等^[35]用泰国当地的 2 种植物通过酒精萃提物和水浸出液对罗非鱼无乳链球菌进行抑菌和杀菌试验,发现其中一种植物的酒精萃提物的效果显著。国内也有研究机构开展了中草药防治罗非鱼链球菌病的研究。

5.2 疫苗防治

张生等^[37]用野外分离的海豚链球菌海水菌株和淡水菌株制备成含 1×10^{10} cfu·mL⁻¹ 的灭活疫苗(加佐剂),对尼罗罗非鱼 (*O. niloticus*) 进行腹腔注射,免疫 2 次。结果显示免疫鱼血清中抗体凝集效价在免疫后第 3 和第 5 周呈显著性升高,且 2 种疫苗免疫血清存在明显的交叉凝集反应,说明 HD-1 和 TBY-1 抗原具有交叉免疫原性。在免疫后第 4 周,利用 8 倍 LD₅₀ 的海豚链球菌强毒菌株进行攻毒试验,结果海水菌株和淡水菌株制备的灭活疫苗的相对保护率分别为 93.8% 和 100%。余晓丽等^[38]利用筛选到的海豚链球菌临床分离菌株制备疫苗(不加佐剂)腹腔注射 1 次免疫罗非鱼,50 倍和 0.5 倍 LD₅₀ 的疫苗菌株攻毒获得最佳相对保护率,分别为 90.5% 和 100%;另外,浸泡和口服 2 次免疫罗非鱼也获得一定的相对保护率,但与腹腔注射免疫相比,其效果相差很远。徐增辉等^[39]以海豚链球菌灭活菌苗为免疫原,通过注射、口服和浸泡等不同的途径及剂量对罗非鱼进行免疫,结果显示免疫组的罗非鱼均产生了很好的免疫保护,注射组的效果最为理想,高剂量注射组的相对保护率高达 93.8%,口服组相对较低,但相对保护率也达到了 43.8%。

国外 KLESIOUS^[40]等利用异源海豚链球菌菌株(包括海水菌株与淡水菌株)按一定比例混合制备成多价疫苗对罗非鱼进行免疫,并利用其制备疫苗的菌株进行攻毒,获得 63.1% (淡水菌株攻毒) 和 87.3% (海水菌株攻毒) 的相对保护率。KLESIOUS 等^[41]对于疫苗防治温水鱼类链球菌病进行了详细阐述。PASNIK 等^[42]曾利用无乳链球菌的胞外产物(ECP)进行罗非鱼的免疫试验,发现免疫保护时间最高可达 180 d。EVANS 等^[43]利用从罗非鱼体内分离到的无乳链球菌制备全细胞疫苗和细胞外产物(ECP)进行腹腔注射和浸泡免疫试验,发现不同的免疫方法对不同规格罗非鱼的免疫保护率不同。目前,高效的无乳链球菌和海豚链球菌及其细胞外蛋白产物(ECP)疫苗已经研制成功并获得专利(US patent # 0208077 A1 和 # 6379677 B1)。以无乳链球菌制备的全细胞和培养的无乳链球菌浓缩提取物混合疫苗也获得美国专利(US patent 7204993)(<http://www.patentstorm.us/patents/7204993.html>)。防治罗非鱼链球菌病的浸泡疫苗和口服疫苗(AquaVacTM; GarvetilTM)也已获得生产许可(<http://www.spaquaculture.com>)。

从目前的疫苗研制现状来看,腹腔注射免疫可以获得相对高的保护效果,但由于罗非鱼鳍条具有硬棘,实际操作上有一定的困难,也容易造成鱼体相互间刺伤。因此,

研制口服或浸泡疫苗应是今后重点考虑的方向。罗非鱼链球菌全菌苗或胞外产物均可产生较好的免疫保护效果,链球菌疫苗的研制与应用将成为罗非鱼养殖业持续健康发展的有力保障。

6 小结

罗非鱼链球菌病的发生与水温高、养殖密度大、水质差的养殖环境、饲料质量差及投喂量大有较大的关系。因此,在养殖管理中应尽量减少鱼体的应激,做到保持合理的养殖密度、保持良好的水质状况、保持池水溶氧充足;合理投喂饲料。药物防治罗非鱼链球菌病是最为直接和简便的控制手段,开展中草药防治罗非鱼链球菌病的研究是药物防治的一个有效途径。使用疫苗可有效刺激罗非鱼产生免疫力,以抵抗链球菌的感染,因此疫苗免疫是一条重要的途径。准确鉴定致病菌株,研制开发特异性疫苗,综合免疫防治技术与科学养殖管理措施,是今后控制罗非鱼链球菌病的关键。

参考文献:

- [1] HOSHINA T, SANO T, MORIMOTO Y. A *Streptococcus* pathogenic to fish [J]. J Tokyo Univ Fish, 1958, 44: 57-58.
- [2] MATA A I, GIBELLO A, CASAMAYOR A, et al. Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water streptococcosis in fish [J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70 (5): 3183-3187.
- [3] SHOEMAKER C, KLESIOUS P H. Streptococcal disease problems and control - a review [M] //FITZSIMMONS K. Tilapia Aquaculture vol. 2 Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Ithaca, NY, 1997: 671-682.
- [4] ELDAR A, HORVITZ A, BERCOVIER H. Development and efficacy of a vaccine against *Streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout [J]. Vet Immunol Immunopathol, 1997, 56 (1/2): 175-183.
- [5] HURVITZ A, BERCOVIER H, VAN RIJN J. Effect of ammonia on the survival and the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*, Walbaum) vaccinated against *Streptococcus iniae* [J]. Fish & Shellfish Immunol, 1997, 7 (1): 45-53.
- [6] 柴家前, 丁巧玲, 王振龙, 等. 罗非鱼链球菌的分离鉴定 [J]. 中国预防兽医学报, 2002, 24 (1): 18-20.
- [7] 王琼秋. 罗非鱼链球菌性皮炎的分离鉴定 [J]. 中国预防兽医学报, 2001, 23 (2): 150-152.
- [8] 张新艳, 樊海平, 钟全福, 等. 罗非鱼无乳链球菌的分离、鉴定及致病性研究 [J]. 水产学报, 2008, 32 (5): 772-779.
- [9] 卢迈新, 黄樟翰. 罗非鱼遗传育种研究 [J]. 上海水产大学学报, 2005, 14 (2): 186-191.
- [10] PIER G, MADIN S. *Streptococcus iniae* sp nov, a beta-hemolytic *Streptococcus* isolated from an Amazon freshwater dolphin, *Inia geoffrensis* [J]. Int J Syst Bacteriol, 1976, 26 (4): 545-553.
- [11] SAKAI M, ATSUTA S, KOBAYASHI M. Protective immune response in rainbow trout, *Oncorhynchus mikiss*, vaccinated with β -haemolytic streptococcal bacterin [J]. Fish Pathol, 1989, 24 (3): 169-173.
- [12] ELDAR A, PERL S, FRELIER P F, et al. Red drum *Sciaenops ocellatus* mortalities associated with *Streptococcus iniae* infection [J]. Dis Aquat Org, 1999, 36 (2): 121-127.
- [13] BOWSER P R, WOOSTER G A, Gatchell, et al. *Streptococcus iniae* infection of tilapia *Oreochromis niloticus* in a recirculation production facility [J]. J World Aquac Soc, 1998, 29 (3): 335-339.
- [14] ELDAR A, FRELIER P F, ASANTA L, et al. *Streptococcus shiloi*, the name for an agent causing septicemic infection in fish, is a junior synonym of *Streptococcus iniae* [J]. Int J Syst Bacteriol, 1995, 45 (4): 840-842.
- [15] COLORNI A, DIAMANT A, ELDAR A, et al. *Streptococcus iniae* infection in Red Sea cage-cultured and wild fishes [J]. Dis Aquat Org, 2002, 49 (3): 165-170.
- [16] PERERA R P, COLLINS M D, JOHNSON S K, et al. *Streptococcus iniae* associated with mortality of *Tilapia nilotica* \times *T. aurea* [J]. J Aquat Anim Health, 1994, 6 (4): 335-340.
- [17] ELDAR A, BEJERANO Y, BERCOVIER H. *Streptococcus shiloi* and *Streptococcus difficile*: two new streptococcal species causing a meningoencephalitis in fish [J]. Curr Microbiol, 1994, 28: 139-143.
- [18] ELDAR A, BEJERANO Y, LIVOFF A, et al. Experimental streptococcal meningo-encephalitis in cultured fish [J]. Vet Microbiol, 1995, 43 (1): 33-40.
- [19] 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, 35 (10): 93-95.
- [20] EVANS J J, KLESIOUS P H, GILBERT P M, et al. Characterization of beta-haemolytic group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L. and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day) in Kuwait [J]. J Fish Dis, 2002, 25 (9): 505-513.
- [21] KAWAMURA Y, ITOH Y, MISHIMA N, et al. High genetic homogeneity of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus difficilis*: reclassification of *S. difficilis*, Eldar et al 1995 as a junior synonym of *S. agalactiae*, Lehmann and Neumann 1896 [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2005, 55: 961-965.
- [22] AMAL M N A, ZAMET-SAAD M, SITI-ZAHRAH A, et al. *Streptococcus agalactiae* isolation patterns from cage cultured tilapia; 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Cairo, October 12-14, 2008 [C] // Cairo, Egypt: Ministry of Agriculture & Land Reclamation, 2008: 1253-1256.
- [23] NARAID S, FANRONG K, DANNY K, et al. Occurrence of rare genotypes of *Streptococcus agalactiae* in cultured red tilapia *Oreochromis* sp. and Nile tilapia *O. niloticus* in Thailand - Relationship

- to human isolates? [J]. *Aquac*, 2008, 284 (1/4): 35-40.
- [24] 卓玉琛. 罗非鱼暴发性流行病组织病理的研究 [J]. 福建水产, 2008 (3): 27-30.
- [25] MIAN G F, GODOYD T, LEAL C A, et al. Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia [J]. *Vet Microbiol*, 2009, 136 (1/2): 180-183.
- [26] HERNÁNDEZ E, FIGUEROA J, IREGUI C. Streptococcosis on a red tilapia, *Oreochromis* sp., farm: a case study [J]. *J Fish Dis*, 2009, 32 (3): 247-252.
- [27] KITAO T. Streptococcal infections. *Bacterial diseases of fish* [M] // INGLIS V, ROBERTS R J, BROMAGE N R. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993: 196-210.
- [28] 邱军强, 杨先乐, 李怡, 等. 高体革鲷链球菌出血性败血症病原与组织病理的初步研究 [J]. 上海水产大学学报, 2004, 13 (2): 115-119.
- [29] WANG G T, KIM J H, SAMESHIMA M, et al. Detection against the monogenean *Meterobothrium okamotoi* ELISA [J]. *Fish Pathol*, 1997, 32: 179-180.
- [30] AMEMJYA C T, LITMEN G W. Complete nucleotide sequence of an immunoglobulin heavy-chain gene and analysis of immunoglobulin gene organization in a primitive teleost species [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87 (2): 811-815.
- [31] HARDING F A, COHEN N, LITMAN G W. Immunoglobulin heavy-chain gene organization and complexity in the skate *Raji erinacea* [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18 (4): 1015-1020.
- [32] 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 (1/2): 1-15.
- [33] STOFFREGEN D A. Initial disease report of *Streptococcus iniae* infection in hybrid striped (sunshine) bass and successful therapeutic intervention with the fluoroquinolone antibacterial enrofloxacin [J]. *J World Aquac Soc*, 1996, 27 (4): 420-434.
- [34] LAU S K, WOO P C, TSE H, et al. Invasive *Streptococcus iniae* infections outside North America [J]. *J Clin Microbiol*, 2003, 41 (3): 1004-1009.
- [35] PRASATPORN B, PITHAI K, SOMPOTH W, et al. Anti-bacterial activity of Thai medicinal plant extracts on *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus agalactiae* isolated from diseased tilapia (*Oreochromis niloticus*): 31st Congress on Science and Technology of Thailand, October 18-20, 2005 [C]. Nakhon Ratchasima, Thailand: Suranaree University of Technology, 2005.
- [36] ZIMMERMAN, R A, KLESIOUS P H, KRUSHAK D H, et al. Effect of antibiotic treatment on the immune response following group A streptococcal pharyngitis [J]. *Can J Int Med*, 1975, 39: 227-230.
- [37] 张生, 曾忠良, 王凡, 等. 海豚链球菌灭活疫苗对罗非鱼免疫效果的研究 [J]. 西南师范大学学报, 2007, 32 (5): 65-70.
- [38] 余晓丽, 陈明, 李莉萍, 等. 罗非鱼海豚链球菌疫苗及其免疫效果的研究 [J]. 淡水渔业, 2008, 38 (6): 31-37.
- [39] 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): 413-417.
- [40] 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 [J]. *Aquac*, 2000, 188 (3/4): 237-246.
- [41] KLESIOUS P H, EVANS J J, SHOEMAKER C A, et al. Vaccines to prevent *Streptococcus iniae* and *S. agalactiae* disease in tilapia, *Oreochromis niloticus*: 7th International Symposium of Tilapia in Aquaculture - ISTA7, Veracruz, Mexico, September 6-8, 2006 [C]. Veracruz: [s. n.], 2006: 15-24.
- [42] PASNIK D J, EVANS J J, KLESIOUS P H. Duration of protective antibodies and correlation with survival in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* following *Streptococcus agalactiae* vaccination [J]. *Dis Aquat Org*, 2005, 66 (2): 129-134.
- [43] EVANS J J, KLESIOUS P H, SHOEMAKER C A. Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration [J]. *Vaccine*, 2004, 22 (27/28): 3769-3773.