

康振亚, 雷雪平, 陈梦竹, 等. 四川地区大口黑鲈源鳢诺卡菌耐药性与耐药基因分析[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(1): 194-201.  
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.01.019

# 四川地区大口黑鲈源鳢诺卡菌耐药性与耐药基因分析

康振亚<sup>1</sup>, 雷雪平<sup>1</sup>, 陈梦竹<sup>1</sup>, 郭向辉<sup>1</sup>, 耿毅<sup>1</sup>, 欧阳萍<sup>1</sup>, 陈德芳<sup>2</sup>, 黄小丽<sup>2</sup>

1. 四川农业大学动物医学院, 成都 611130; 2. 四川农业大学动物科技学院, 成都 611130

**摘要** 鳢诺卡菌(*Nocardia seriolae*)是严重危害大口黑鲈的病原菌, 为了解四川大口黑鲈主养区 *N. seriolae* 的耐药性与耐药基因流行情况, 从四川大口黑鲈主养区分离鉴定 *N. seriolae* 20 株。采用微量肉汤稀释法测定分离菌株的耐药表型, 发现 20 株 *N. seriola* 对多西环素、替米考星、庆大霉素等敏感率为 100%, 对青霉素、头孢噻唑、头孢西丁等药物的耐药率为 100%, 对恩诺沙星、磺胺异恶唑、氟苯尼考耐药率分别为 45%、40% 和 20%, 其中 10 株菌表现出多重耐药性, 且不同区域的分离株耐药表型存在差异。超高通量荧光定量 PCR 法检测分离菌中 6 类 78 种耐药基因分布情况, 结果显示, 6 类耐药基因均可在 20 株分离菌中检出, 其中 *tetA*、*tetG*、*tetS*、*aacC*、*blaTEM*、*floR*、*acrA*、*acrB* 的检出率达 100%, 其他耐药基因检出率介于 5%~95%, 且存在地区与菌株差异, 表明四川大口黑鲈 *N. seriolae* 具有进一步进化为多重耐药的潜在风险。

**关键词** 耐药性; 耐药表型; 耐药基因; 鳢诺卡菌; 大口黑鲈; 健康养殖

**中图分类号** S 941.41 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)01-0194-08

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)又称加州鲈, 属鲈形目(Perciformes)、太阳鱼科(Ceetrachidae)、黑鲈属(*Micropterus*), 具有适应性强、生长快、易起捕、养殖周期短等优点, 已成为我国淡水养殖的新兴重要品种<sup>[1]</sup>。鳢诺卡菌(*Nocardia seriolae*)是鱼类诺卡菌病的主要来源, 自 1968 年从患病鳢(*Seriola quinqueradiata*)中分离<sup>[2]</sup>以来, 该菌在全球多个国家与地区报道可感染大口黑鲈<sup>[3]</sup>、乌鳢<sup>[4]</sup>、鳊<sup>[5]</sup>等多种鱼类。随着我国大口黑鲈养殖产业的快速发展, *N. seriolae* 成为威胁产业发展的重要病原菌, 尽管目前已有针对该菌的疫苗被研发, 并有较好免疫效果<sup>[6]</sup>, 抗生素仍是防治 *N. seriolae* 感染的主要手段, 然而 *N. seriolae* 耐药性日益增强给有效用药带来巨大困难。四川是我国大口黑鲈养殖与消费大省, 但目前对于大口黑鲈 *N. seriolae* 的耐药性与耐药基因流行情况还不清楚。本研究从主养区采集疑似 *N. seriolae* 感染大口黑鲈分离鉴定 20 株 *N. seriolae* 并检测耐药性与耐药基因, 以明确四川大口黑鲈主养区的 *N. seriolae* 的耐药表型

与耐药基因的流行情况, 旨在为药物防控提供用药依据, 并为其耐药机理阐释提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 *N. seriolae* 分离与鉴定

2018 年在四川绵阳、德阳、蒲江、新津等大口黑鲈养殖区采集疑似 *N. seriolae* 感染、体质量 250~400 g 的患病大口黑鲈共 69 尾。无菌条件下, 从病鱼的肝、脾和肾取样接种于 BHI 平板, 28℃ 培养 5~7 d, 挑取白色或淡黄色、表面粗糙、干燥的疑似 *N. seriolae* 的菌落纯培养后, 参照文献<sup>[7-8]</sup>合成 16S rDNA 基因 (P1: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; P2: 5'-TACGGCTACCTTGTACGAC-3') 和 *hsp65* 基因 (P1: 5'-ACCAACGATGGTGTGTC-CAT-3'; P2: 5'-CTTGTCGAACCGCATACCCT-3') 的扩增引物, 对分离菌进行相应基因的 PCR 扩增与测序。测序后在 GenBank 中 BLAST 比对并采用 Neighbor-Joining 法构建系统发育树(MEGA 7.1)。鉴定的 *N. seriolae* 于-20℃ 保存备用。

收稿日期: 2021-07-09

基金项目: 四川省应用基础项目(2021YJ0272); 四川省重点研发项目(22ZDYF0108); 四川省淡水鱼产业技术体系创新团队建设项目(SC-CXTD-15)

康振亚, E-mail: 875997029@qq.com

通信作者: 耿毅, E-mail: gengyisicau@126.com

## 1.2 *N. seriolae* 耐药表型测定

使用上海星佰生物技术有限公司提供的动物源性细菌耐药性检测板,参照文献[9]推荐的微量肉汤稀释法测定青霉素、头孢噻唑、头孢西丁、奥格门汀、苯唑西林、恩诺沙星、氧氟沙星、磺胺异恶唑、复方新诺明、氟苯尼考、泰妙菌素、多西环素、红霉素、替米考星、庆大霉素、万古霉素、利奈唑胺和克林霉素等 18 种药物(上海星佰生物技术有限公司)对 *N. seriolae* 的 MIC,并根据文献[9]判定药物的敏感性。

## 1.3 *N. seriolae* 耐药基因检测

使用北京天根公司细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA,参照文献[10]采用 WaferGenSmart-Chip 超高通量荧光定量 PCR 法检测耐药基因,设计合成 6 类(四环素类、氯霉素类、氨基糖苷类、 $\beta$ -内酰胺类、MLSB、多重耐药类<sup>[11]</sup>)共 78 种耐药基因检测引物。反应程序为 95 ℃ 预变性 20 s; 95 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 40 个循环; 熔解曲线反应条件为 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 1 min, 95 ℃ 15 s。检测结果使用 SmartChip 超高通量荧光定量 PCR 系统分析软件进行分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 *N. seriolae* 形态特征与基于 16S rDNA 基因和 *hsp65* 基因的系统发育分析

2018 年从四川德阳、绵阳、新津、蒲江采集的患病大口黑鲈体内分离到 *N. seriolae* 疑似菌 20 株(表 1),其中新津 6 株,命名为 XJ01~XJ06;蒲江 4 株,命名为 PJ01~PJ04;德阳 6 株,命名为 DY01~DY06;绵阳 4 株,命名为 MY01~MY04。分离菌在 BHI 平板上 28 ℃ 培养 7~10 d 后呈白色或淡黄色、表面粗糙、易碎、干燥、边缘不整齐的菌落;在 BHI 液体培养基中易发生聚集,且生长缓慢。菌体呈革兰阳性,弱抗酸性,细长杆状或分枝状,无孢子。20 株分离菌的 16S rDNA 基因与 *hsp65* 基因经 PCR 扩增获得预期大小分别为 1 500 bp 与 400 bp 的片段, GenBank 登录号分别为 MKO45204-MKO45223 与 MH973626-973634。将 20 株分离菌的 16S rDNA 基因和 *hsp65* 基因测序与 GenBank 已知核酸序列进行 BLAST 比对,发现与 *N. seriolae* 的相似性最高,达 95% 以上。在以 16S rDNA 基因序列、*hsp65* 基因序列及 GenBank 中其他诺卡菌属菌株相应序列建立的系统发育树上(图 1),

表 1 分离菌基本信息

Table 1 Basic information of isolated bacteria

| 菌株<br>Strain | 日期<br>Date | 来源<br>Source            | 分离器官<br>Organ | 基因登录号 Accession number |              |
|--------------|------------|-------------------------|---------------|------------------------|--------------|
|              |            |                         |               | 16S rDNA               | <i>hsp65</i> |
| DY01         | 2018/06/10 | 德阳市罗江县 Luojiang, Deyang | 肝脏 Liver      | MK045204               | MH920599     |
| DY02         | 2018/06/20 | 德阳市罗江县 Luojiang, Deyang | 肾脏 Kidney     | MK045205               | MH920598     |
| DY03         | 2018/06/13 | 德阳市罗江县 Luojiang, Deyang | 肾脏 Kidney     | MK045223               | MH920597     |
| DY04         | 2018/07/11 | 德阳市罗江县 Luojiang, Deyang | 肝脏 Liver      | MK045206               | MH920596     |
| DY05         | 2018/07/15 | 德阳市罗江县 Luojiang, Deyang | 肝脏 Liver      | MK045207               | MH920600     |
| DY06         | 2018/07/08 | 德阳市罗江县 Luojiang, Deyang | 肝脏 Liver      | MK045208               | MH920595     |
| MY01         | 2018/07/10 | 绵阳市安州区 Anzhou, Mianyang | 肾脏 Kidney     | MK045213               | MH920594     |
| MY02         | 2018/07/20 | 绵阳市安州区 Anzhou, Mianyang | 脾脏 Spleen     | MK045214               | MH920593     |
| MY03         | 2018/07/16 | 绵阳市安州区 Anzhou, Mianyang | 肝脏 Liver      | MK045215               | MH920592     |
| MY04         | 2018/08/01 | 绵阳市安州区 Anzhou, Mianyang | 肾脏 Kidney     | MK045216               | MH920591     |
| XJ01         | 2018/08/10 | 成都市新津区 Xinjin, Chengdu  | 肝脏 Liver      | MK045217               | MH973629     |
| XJ02         | 2018/07/20 | 成都市新津区 Xinjin, Chengdu  | 肝脏 Liver      | MK045218               | MH973630     |
| XJ03         | 2018/07/15 | 成都市新津区 Xinjin, Chengdu  | 肾脏 Kidney     | MK045219               | MH973631     |
| XJ04         | 2018/06/15 | 成都市新津区 Xinjin, Chengdu  | 肝脏 Liver      | MK045220               | MH973632     |
| XJ05         | 2018/07/05 | 成都市新津区 Xinjin, Chengdu  | 肝脏 Liver      | MK045221               | MH973633     |
| XJ06         | 2018/07/08 | 成都市新津区 Xinjin, Chengdu  | 脾脏 Spleen     | MK045222               | MH973634     |
| PJ01         | 2018/06/25 | 成都市蒲江县 Pujiang, Chengdu | 肝脏 Liver      | MK045209               | MH973625     |
| PJ02         | 2018/06/30 | 成都市蒲江县 Pujiang, Chengdu | 脾脏 Spleen     | MK045210               | MH973626     |
| PJ03         | 2018/07/08 | 成都市蒲江县 Pujiang, Chengdu | 肝脏 Liver      | MK045211               | MH973627     |
| PJ04         | 2018/07/30 | 成都市蒲江县 Pujiang, Chengdu | 肝脏 Liver      | MK045212               | MH973628     |

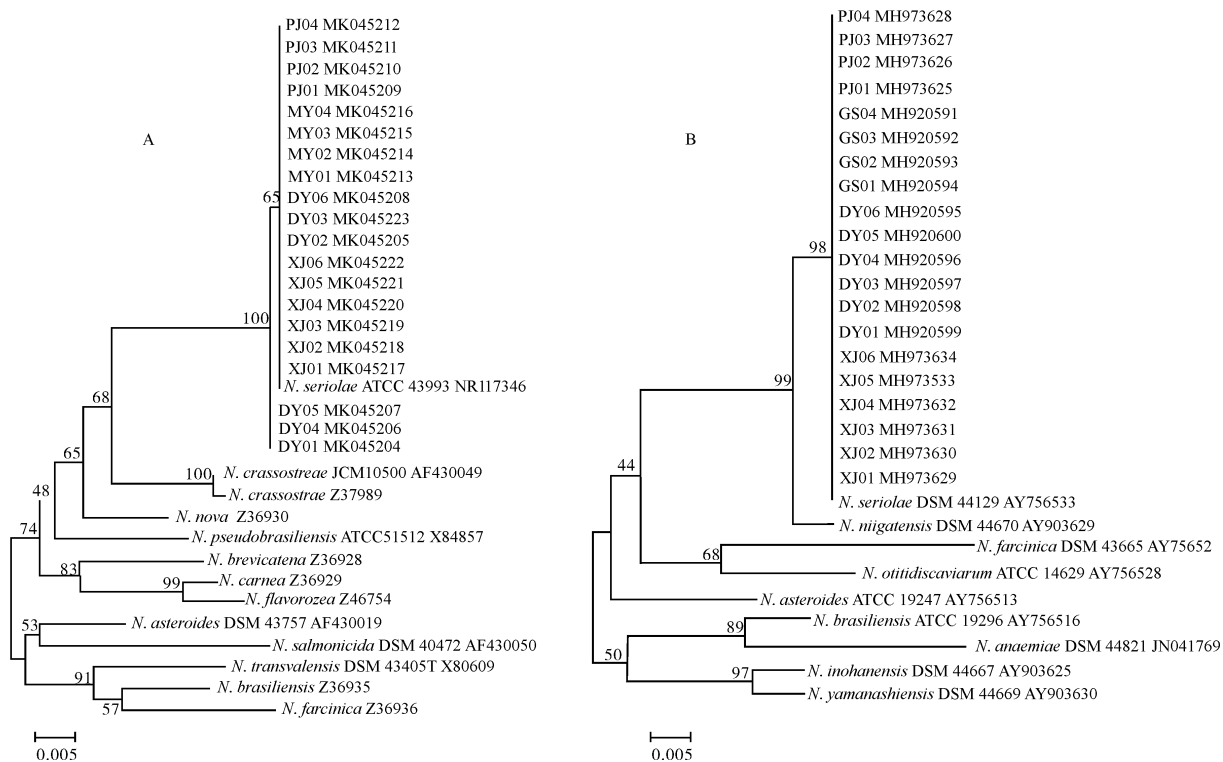


图 1 20 株分离菌与其他诺卡菌 16S rDNA(A)及 *hsp65*(B)的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree based of 16S rDNA gene sequence(A) and *hsp65* gene sequence(B)

20 株分离菌与 *N. seriolae* 聚为一族,结合分离菌的形态特性,鉴定 20 株分离菌为 *N. seriolae*。

## 2.2 分离菌株的耐药表型

20 株分离菌 *N. seriolae* 的药敏结果(图 2)显示,分离菌对  $\beta$ -内酰胺类、喹诺酮类和磺胺类药物的耐药性较高,对青霉素、头孢噻吩、头孢西丁、奥格门汀和苯唑西林 5 种药物耐药率均为 100%;对恩诺沙星耐药率为 45%,对氧氟沙星耐药率为 75%;对复方新诺明与磺胺异恶唑耐药率均为 40%;而对多西环素、红霉素和替米考星、庆大霉素、万古霉素、利奈唑胺和克林霉素等药物的药物敏感率为 100%。分离的 10 株 *N. seriolae* 表现出对 3~5 类药物的多重耐药性,其中耐 3 类药物的细菌有 5 株(DY03、DY04、MY02、PJ03、PJ04),耐 4 类药物的细菌有 4 株(DY02、MY03、XJ03、XJ04),耐 5 类药物的细菌有 1 株(XJ02)。

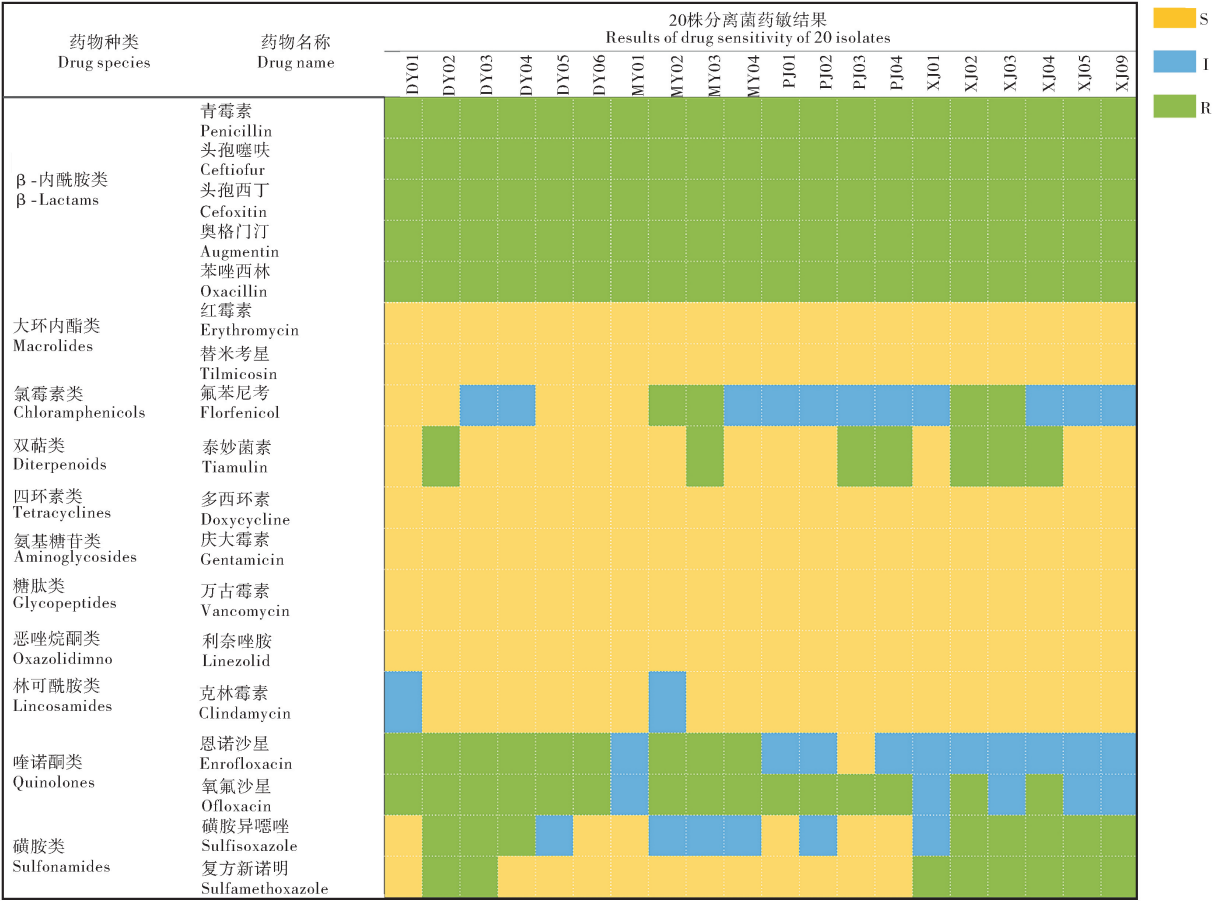
## 2.3 分离菌株耐药表型的地区性特征

对不同地区分离株药物敏感性分析(图 3)发现,德阳分离株耐药率最高,新津分离株耐药种类和多重耐药分离株最多。耐喹诺酮类药物的分离株主

要分布于德阳、绵阳、蒲江,新津分离株对喹诺酮类药物中度敏感;耐磺胺类药物的分离菌主要分布于新津与德阳。氟苯尼考在绵阳、蒲江、新津地区呈中度敏感至耐药。泰妙菌素在部分分离菌中表现为耐受,新津分离菌占比最大。

## 2.4 分离菌株的耐药基因分析

对 20 株 *N. seriolae* 的耐药基因检出率与丰度见图 4。四环素类基因 *tetA*、*tetG* 检出率 100%,*tetD*、*tetM* 检出率 85%;MLSB 类检出率较高的基因为 *mphA*、*mefA*,检出率分别为 75%、65%;氨基糖苷类检出率最高的是 *aacC*、*aac(6')*—II,检出率分别为 100%、89%; $\beta$ -内酰胺类检出率较高的基因为 *blaTEM*,检出率为 100%;氯霉素类检出率较高的是 *fioR*、*catB3*、*catB8*、*cmx* (A),检出率分别为 100%、95%、95%、95%;多重耐药基因检出率较高的是 *acrA*、*acrB*、*acrF*,检出率分别为 100%、100%、95%。所有分离菌中 *tetA*、*tetG*、*blaTEM*、*floR*、*cat*、*aacC*、*acrA*、*acrB*、*acrF* 基因检出率为 95%~100%,其中 *blaTEM*、*tetA* 基因整体丰度较高。



奥格门汀 = 阿莫西林/克拉维酸; 复方新诺明 = 甲氧苄啶/磺胺甲恶唑。Augmentin = Amoxicillin/Clavulanic acid; Compound sulfamethoxazole tablets = Methoxybiidine/Sulfamethoxazole.

图 2 20 株分离菌的耐药表型  
Fig.2 Drug resistance phenotype of 20 *N. seriolae* isolates

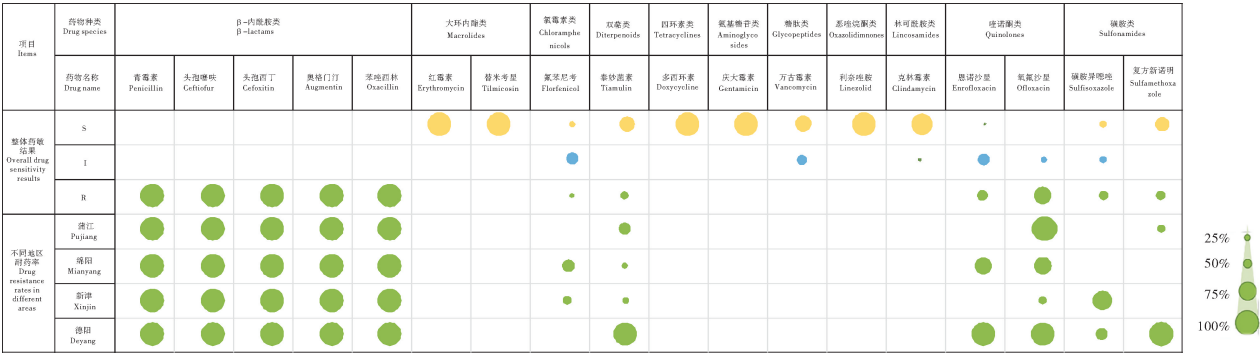
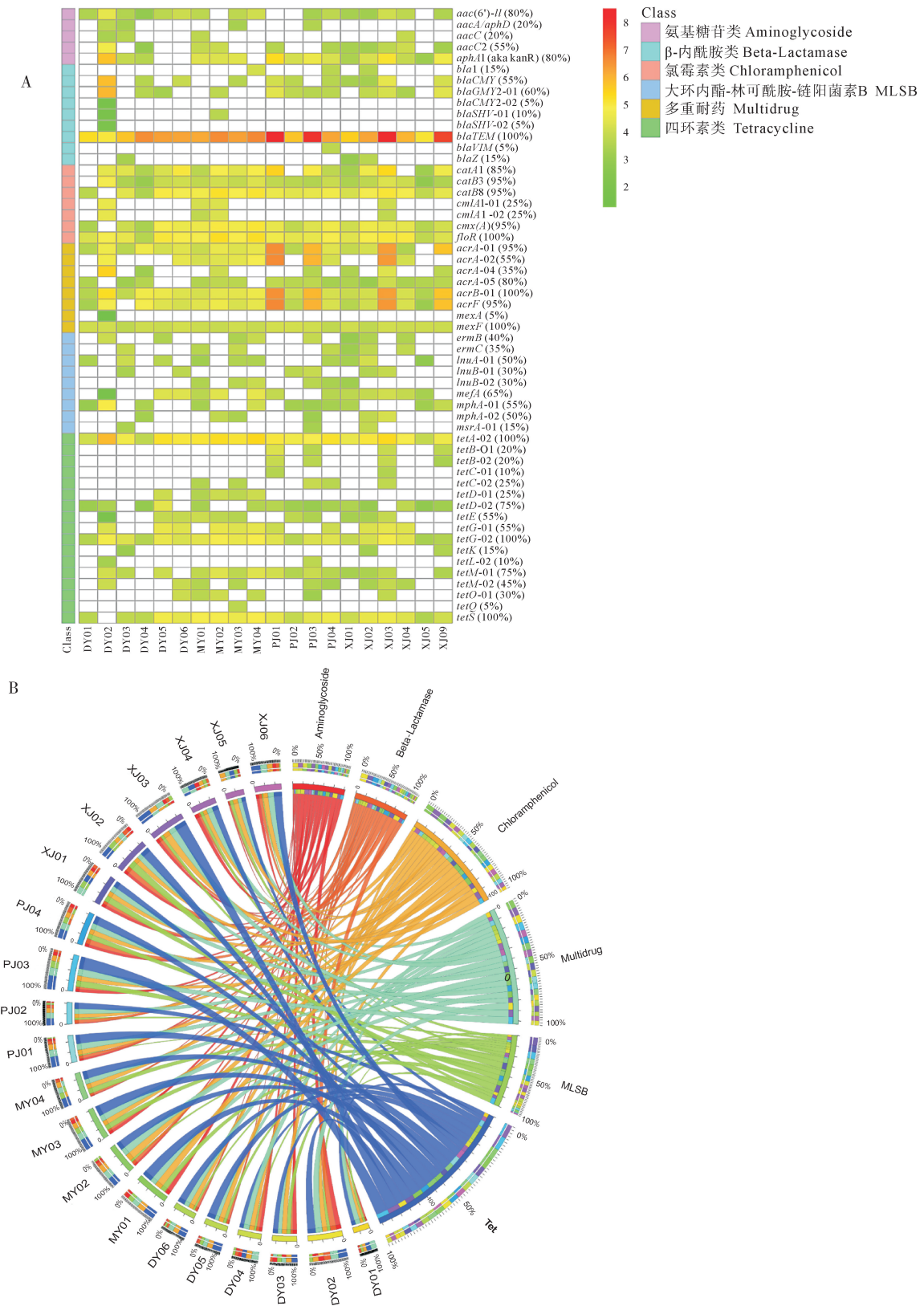


图 3 整体耐药统计与不同地区分离株耐药统计  
Fig.3 Overall resistance statistics and resistance statistics of 20 *N. seriolae* isolates in different regions



A. 分离菌耐药基因丰度 Abundance of drug-resistant genes in isolates; B. 分离菌耐药基因检测率 Rates of drug resistance gene detection of isolates.

图 4 分离菌耐药基因检测与丰度

Fig.4 Detection and abundance of drug-resistant genes in 20 *N. seriola*

## 2.5 不同地区分离菌株的耐药基因特征

对不同地区分离 *N. seriolae* 的耐药基因检测结果分析发现,各地分离菌耐药基因检出率与丰度存在差异(图 5),蒲江、新津分离菌  $\beta$ -内酰胺类耐药

基因检出率与丰度较高;蒲江、新津、绵阳分离菌氯霉素类耐药基因检出率与丰度较高;蒲江、新津、绵阳分离菌四环素类耐药基因检出率与丰度较高;绵阳、新津分离菌 MLSB 类耐药基因检出率与丰度较

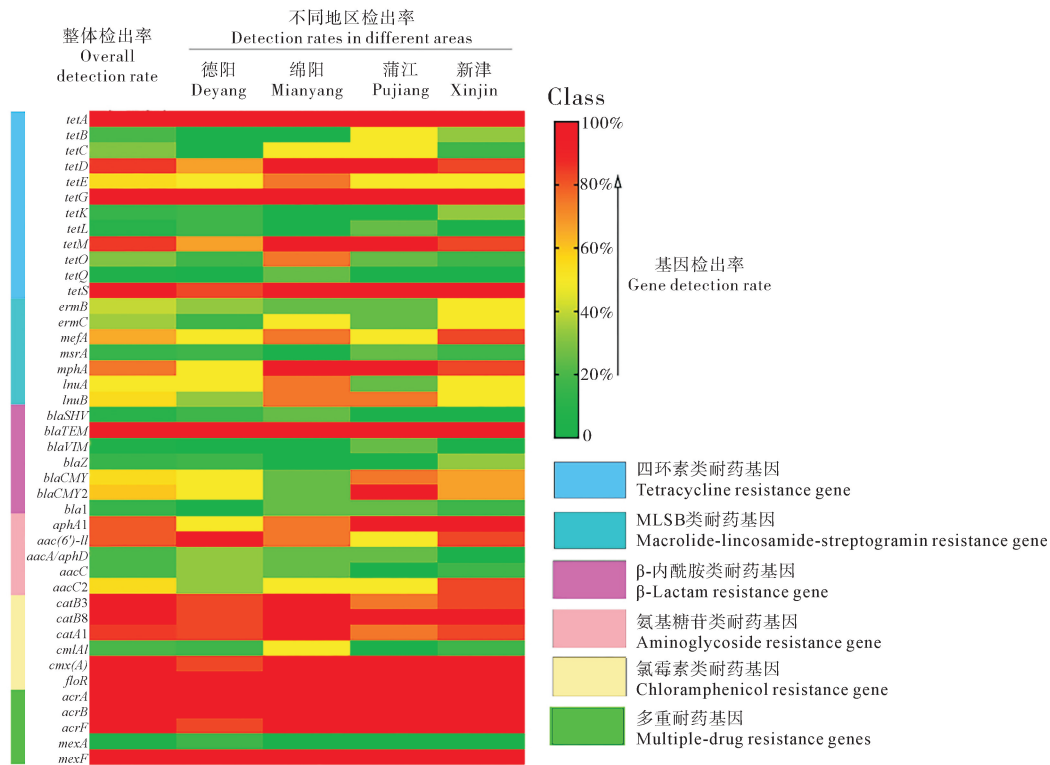


图 5 不同地区分离菌耐药基因检出率

Fig.5 Detection rate of drug resistance genes in isolates from different regions

高;德阳、绵阳、新津分离菌氨基糖苷类耐药基因检出率与丰度较高;多重耐药基因在每个地区检出率与丰度均很高。

## 3 讨论

本研究于 2018 年从四川主要大口黑鲈养殖区采集内脏器官出现白色结节疑似 *N. seriolae* 感染的病料,分离鉴定 20 株 *N. seriolae*,比较 16S rDNA 测序结果与 *hsp65* 基因测序结果可见,不同地区分离菌间无显著差异。药敏结果显示 20 株菌对  $\beta$ -内酰胺类完全耐药,对喹诺酮类药物和磺胺类药物耐药率也较高,对氟苯尼考中度敏感,对多西环素、替米考星等敏感,该结果与蒋依依等<sup>[12]</sup>、何晟毓等<sup>[13]</sup>研究结果存在一定差异,可能与不同分离株自身特性有关。

细菌耐药表型通常由耐药基因介导,本研究中

6 类耐药基因在 20 株 *N. seriolae* 中均能检出,但只有  $\beta$ -内酰胺类药物表现为全部耐药而其他类药物的耐药表型与耐药基因则未表现出完全的一致,这可能是耐药基因表达量低或不表达<sup>[14]</sup>,或者是细菌处于异质性耐药<sup>[15]</sup>所致,因此,对于耐药基因表达的调控机制需深入研究,以便能为细菌耐药表型的控制提供新的策略。对 20 株 *N. seriolae* 检出耐药基因介导的耐药机制分析发现主要为外排泵机制,这与四川地区维氏气单胞菌<sup>[16]</sup>、鲁氏耶尔森菌<sup>[17]</sup>等水产病原菌的主要耐药机制相似,外排泵机制会导致细菌多重耐药<sup>[18]</sup>,本研究中也发现 10 株菌表现为多重耐药,由此可见,四川大口黑鲈 *N. seriolae* 具有进一步进化为多重耐药菌的潜在风险,未来需加强基因监测与风险评估。

本研究中不同地区分离菌耐药基因检出率与丰度存在差异较小,可能是由于本次分离地区同处于

四川流域,不同地区的分离菌存在基因交流。基因交流有利于耐药基因扩散、积累<sup>[19]</sup>,耐药基因能以水环境为媒介,通过质粒介导进入其他细菌体内,这增加了超级细菌出现的风险。本研究发现,同一地区 *N. seriolae* 的耐药基因分布具有一定相似性,但不同区间分离株的耐药基因分布具有较大差异,因此,应在大口黑鲈苗种流通环节加强 *N. seriolae* 的产地检疫,降低菌株间发生基因交流的机会。

## 参考文献 References

- [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 中国渔业统计年鉴[M].北京:中国农业出版社,2020.Bureau of Fisheries,Ministry of Agriculture and Rural Affairs,National Fisheries Technology Extension Center,China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook[M]. Beijing:China Agriculture Press,2020(in Chinese).
- [2] KUDO T,HATAI K,SEINO A.*Nocardia seriolae* sp. nov. causing nocardiosis of cultured fish[J].International journal of systematic bacteriology,1988,38(2):173-178.
- [3] LEI X P,ZHAO R X,GENG Y,et al.*Nocardia seriolae*:a serious threat to the largemouth bass *Micropterus salmoides* in industry in Southwest China[J].Diseases of aquatic organisms,2020,142:13-21.
- [4] WANG G L,XU Y J,JIN S,et al.Nocardiosis in snakehead, *Ophiocephalus argus* Cantor[J].Aquaculture,2007,271(1/2/3/4):54-60.
- [5] KIM J D,LEE N S,DO J W,et al.*Nocardia seriolae* infection in the cultured eel *Anguilla japonica* in Korea[J].Journal of fish diseases,2018,41(11):1745-1750.
- [6] CHEN J L,CHEN Z W,WANG W J,et al.Development of DNA vaccines encoding ribosomal proteins (RplL and RpsA) against *Nocardia seriolae* infection in fish[J].Fish & shellfish immunology,2020,96:201-212.
- [7] WEI G H.*Rhizobium indigoferae* sp. nov. and *Sinorhizobium kummerowiae* sp.nov.,respectively isolated from *Indigofera* spp. and *Kummerowia stipulacea*[J].International journal of systematic and evolutionary microbiology,2002,52(6):2231-2239.
- [8] TELENTI A,MARCHESI F,BALZ M,et al.Rapid identification of *Mycobacteria* to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis[J].Journal of clinical microbiology,1993,31(2):175-178.
- [9] JAMES H J,KAREN C C,GUIDO F,et al. Manual of clinical microbiology[M]. Washington,DC,USA:ASM Press,2015:1356-1378.
- [10] WANG F H,QIAO M,SU J Q,et al.High throughput profiling of antibiotic resistance genes in urban park soils with reclaimed water irrigation [J]. Environmental science & technology,2014,48(16):9079-9085.
- [11] 马红霞,潘建民,邓旭明,等.大肠杆菌多重耐药基因 *AcrA*、*AcrB* 内标准 DNA 的构建[J].吉林农业大学学报,2002,24(6):68-71.MA H X,PAN J M,DENG X M,et al.Construction of internal standard DNA of multi-drug resistance gene *AcrA* and *AcrB* of *E. coli*[J].Journal of Jilin Agricultural University,2002,24(6):68-71 (in Chinese with English abstract).
- [12] 蒋依依,李言伟,周素明,等.加州鲈诺卡菌病原的分离与鉴定[J].中山大学学报(自然科学版),2012,51(1):76-81.JIANG Y Y,LI Y W,ZHOU S M,et al.Isolation and identification of *Nocardia*,a pathogen of nocardiosis in largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J].Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni,2012,51(1):76-81(in Chinese with English abstract).
- [13] 何晟毓,魏文燕,刘韬,等.大口黑鲈致死性结节病原的分离、鉴定及组织病理学观察[J].水产学报,2020,44(2):253-265.HE S Y,WEI W Y,LIU T,et al.Isolation,identification and histopathological study on lethal sarcoidosis of *Micropterus salmoides*[J].Journal of fisheries of China,2020,44(2):253-265(in Chinese with English abstract).
- [14] KOLÁR M,URBÁNEK K,LÁTAL T. Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance[J].International journal of antimicrobial agents,2001,17(5):357-363.
- [15] 柳清云,孙刚,高谦.结核分枝杆菌(MTB)异质性耐药研究进展[J].复旦学报(医学版),2013,40(1):1-4.LIU Q Y,SUN G,GAO Q.Research advances in hetero-resistance of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)[J].Fudan University journal of medical sciences,2013,40(1):1-4 (in Chinese with English abstract).
- [16] 赵敏,汪开毓,王均,等.斑点叉尾鲷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.ZHAO M,WANG K Y,WANG J,et al. Tetracycline antibiotics resistance and its genetic determinants in *Aeromonas veronii* isolated from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Acta hydrobiologica sinica,2014,38(2):386-392(in Chinese).
- [17] 曹师琪.16 株鲁氏耶尔森菌耐药性、耐药基因及分子分型研究[D].成都:四川农业大学,2019.CAO S Q.Study on antimicrobial resistance, resistance genes and molecular typing of 16 *Yersinia ruckeri* strains[D].Chengdu:Sichuan Agricultural University,2019(in Chinese with English abstract).
- [18] 王青松,崔淑芹,张舒.细菌外排泵介导耐药性研究进展[J].国外医药(抗生素分册),2005,26(3):97-100,110.WANG Q S,CUI S Q,ZHANG S.Research progress of bacterial efflux pump-mediated drug resistance [J].World notes on antibiotics,2005,26(3):97-100,110 (in Chinese).
- [19] LIVERMORE D M.Bacterial resistance:origins,epidemiology, and impact[J].Clinical infectious diseases,2003,36(Supplement 1):S11-S23.

## Analysis of drug resistance and drug resistance genes of *Nocardiae seriolae* from *Micropterus salmoides* in Sichuan

KANG Zhenya<sup>1</sup>, LEI Xueping<sup>1</sup>, CHEN Mengzhu<sup>1</sup>, GUO Xianghui<sup>1</sup>,  
GENG Yi<sup>1</sup>, OUYANG Ping<sup>1</sup>, CHEN Defang<sup>2</sup>, HUANG Xiaoli<sup>2</sup>

1.College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2.College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University,  
Chengdu 611130, China

**Abstract** *Nocardia seriolae* is a pathogen that seriously harms *Micropterus salmoides*. To understand the drug resistance and the prevalence of drug resistance genes in *N. seriolae* in the main breeding area for *Micropterus salmoides* of Sichuan, 20 strains of *N. seriolae* were isolated and identified from Sichuan from 2018 to 2019. Micro broth dilution method was used to determine the drug-resistant phenotype of the isolated strains. It was found that the sensitivity rates of *N. seriolae* to doxycycline, tilmicosin, gentamicin, etc. were 100%, the drug resistance rates to penicillin, ceftiofur, cefoxitin, etc. were 100%, and the resistance rates to enrofloxacin and florfenicol were 45% and 20%, respectively. Ten strains showed multi-drug resistance, and the drug-resistant phenotypes of the isolates are different. The distribution of 78 drug resistance genes in 6 classes was detected by the ultra-high-throughput fluorescence quantitative PCR method. The results showed that all 6 classes of resistant genes could be detected in 20 isolates, the detection rate of *tetA*, *tetG*, *tetS*, *aacC*, *acrA*, *acrB*, *floR* and *blaTEM* reached 100%, and the detection rate of other resistance genes ranged from 5% to 95%, with regional and bacterial differences, indicating that the Sichuan *N. seriolae* has the potential to evolve into multiple drug resistance.

**Keywords** drug resistance; resistant phenotype; resistance gene; *Nocardiae seriolae*; *Micropterus salmoides*; healthy aquaculture

(责任编辑:边书京)