

ICES Identification Leaflets for Diseases and Parasites of Fish and Shellfish

Prepared under the guidance of the ICES Working Group on Pathology and Diseases of Marine Organisms

Fiches d'Identification des Maladies et Parasites des Poissons, Crustacés et Mollusques

Prepartes sous les auspices du Groupe de Travail CIEM sur la Pathologie et Maladies des Organismes marins

LEAFLET NO. 56

Streptococcosis of marine fish

FICHE N° 56

Streptococcoses des poissons marins

by / par

JESUS L. ROMALDE and ALICIA E. TORANZO

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología
Universidad de Santiago de Compostela
Santiago de Compostela 15706, Spain

Edited by / Éditées par

GILLES OLIVIER

during his association with / pendant son association avec

Fisheries and Oceans Canada
Halifax, Nova Scotia, Canada B3J 2S7

INTERNATIONAL COUNCIL FOR THE EXPLORATION OF THE SEA

CONSEIL INTERNATIONAL POUR L'EXPLORATION DE LA MER

Palægade 2-4, DK-1261 Copenhagen K, Denmark / Copenhague K, Danemark

1999

ISSN 0109-2510

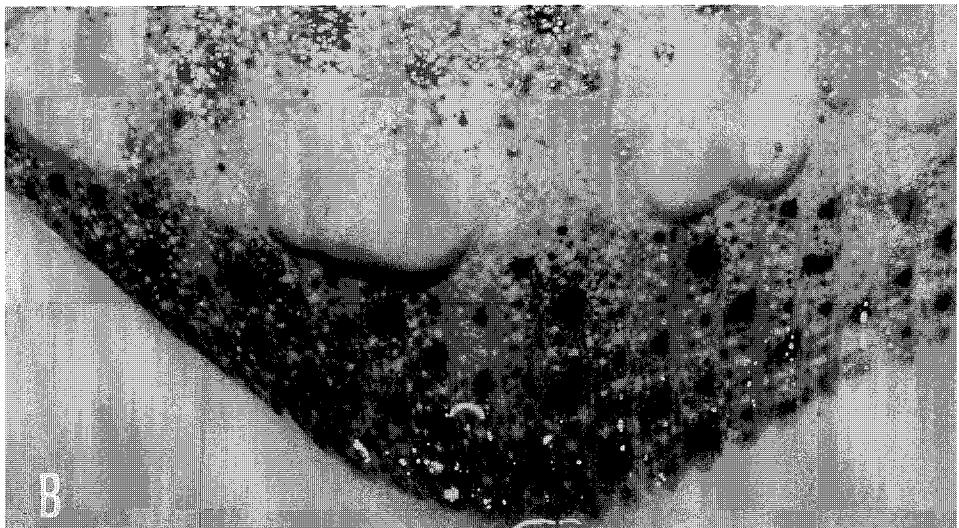


Figure 1. Main clinical signs of streptococcosis in turbot: (A) severe exophthalmia with abscesses in the periorbital tissues; (B) accumulation of purulent fluid at the base of the fins.

Figure 1. Principaux signes cliniques de streptococcose chez le turbot: (A) exophthalmie prononcée avec abcès dans les tissus péri-orbitaux; (B) accumulation de fluide purulent à la base des nageoires.

Streptococcosis of marine fish

Host species

Streptococcosis was initially reported in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Japan. Since then, the disease has been described in a wide variety of economically important marine fish species, mainly in Japan and the USA, and including yellowtail (*Seriola quinqueradiata*), ayu (*Plecoglossus altivelis*), Japanese eel (*Anguilla japonica*), menhaden (*Brevoortia patronus*), striped mullet (*Mugil cephalus*), bluefish (*Pomatomus saltatrix*), striped bass (*Morone saxatilis*), and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Recently, an outbreak of streptococcosis was described in turbot (*Scophthalmus maximus*) cultured in Spain, which represents the first epizootic of the disease in marine fish in Europe.

Disease name

Streptococcosis or enterococcosis are different designations used to describe this bacterial septicaemia and names are based on the characterization and classification of the causative agent. The disease is also known as "pop-eye", since one of the most characteristic symptoms is the accumulation of mucopurulent exudate around the eyes.

Etiology

Three groups of streptococci have been associated with diseased marine fish: alpha-haemolytic, beta-haemolytic, and non-haemolytic. The majority of economically important epizootics are due to streptococci of the alpha-haemolytic group and, less often, to beta-haemolytic streptococci.

The majority of isolates from yellowtail and eel in Japan and from turbot in Spain are from the alpha-haemolytic group. These strains are very similar to those of the *Enterococcus* group, such as *Enterococcus faecalis*. In fact, the Japanese isolates have been classified as a new species named *E. seriolicida*. However, recently it has been demonstrated by DNA-DNA hybridization that *E. seriolicida* is identical to *Lactococcus garvieae*. On the other hand, the Spanish isolates from turbot have been included within the species *Streptococcus parauberis* on the basis of their 16S rRNA sequences.

It has been reported that the beta-haemolytic strains are antigenically identical to *Streptococcus iniae*, and therefore these isolates should be classified as a subspecies of *S. iniae*.

It is clear that further work is needed in order to clarify the exact taxonomic position of all fish pathogenic streptococci.

Streptococcoses des poissons marins

Espèces hôtes

Une streptococcose des poissons a signalée pour la première fois au Japon chez la truite arc-en-ciel d'élevage (*Oncorhynchus mykiss*). Depuis, la maladie a aussi été décrite chez de nombreuses espèces de poissons économiquement importantes principalement au Japon et aux États-Unis, en particulier chez la seriole (*Seriola quinqueradiata*), l'ayu (*Plecoglossus altivelis*), l'anguille du Japon (*Anguilla japonica*), le menhaden (*Brevoortia patronus*), le mullet (*Mugil cephalus*), le tassergal (*Pomatomus saltatrix*), le bar d'Amérique (*Morone saxatilis*) et la plie japonaise (*Paralichthys olivaceus*). Récemment, une épizootie de streptococcose a été décrite en Espagne dans un élevage de turbot (*Scophthalmus maximus*), ce qui constitue la première épizootie de cette maladie en Europe.

Nom de la maladie

La streptococcose ou l'enterococcose sont deux nominations différentes de cette septicémie bactérienne dépendant de la classification de l'agent étiologique. La maladie est également connue sous le nom de maladie de "pop-eye" puisque un des symptômes les plus caractéristiques est l'accumulation d'exsudat mucopurulent autour des yeux.

Étiologie

Trois groupes de streptocoques ont été caractérisés à partir de poissons marins malades: alpha-hémolitique, bêta-hémolitique et non-hémolitique. La majorité des épizooties, et donc la plupart des pertes, sont causées par les streptocoques alpha-hémolitique et, de façon moins importante, par les beta-hémolitiques.

La majorité des souches pathogènes du groupe alpha-hémolitique isolées à ce jour proviennent de la seriole et de l'anguille au Japon et du turbot en Espagne. Ces souches sont très similaires à celles du groupe *Enterococcus*, et en particulier à *Enterococcus faecalis*. En fait, les souches japonaises ont été classifiées comme une nouvelle espèce nommée *Enterococcus seriolicida*. Toutefois, on a récemment démontré par hybridation ADN-ADN que *E. seriolicida* est similaire à *Lactococcus garvieae*. Les souches espagnoles isolées du turbot ont été classées dans l'espèce *Streptococcus parauberis* sur la base de leurs séquences 16S ARNr.

Quant aux souches beta-hémolitiques, elles ont été décrites comme antigéniquement identiques aux souches de *Streptococcus iniae*, et donc que ces souches devraient être classifiées comme sous-espèce de *S. iniae*.

De ce qui précède, il est clair que des études supplémen-

Fish streptococci are routinely isolated from internal organs (spleen, kidney, and brain) using media such as brain heart infusion agar (BHIA), tryptone soya agar (TSA) supplemented with 1% yeast extract or 0.5% glucose, and blood agar. The incubation period is 2–4 days at 25–30°C. The isolates are then characterized either biochemically or serologically. The pathogenic streptococci of marine fish show considerable variation in the biochemical properties between isolates (Table 1). Common features are their spherical or ovoid morphology and the formation of pairs or chains. All strains are Gram-positive, oxidase- and catalase-negative, non-motile, and non-sporulating. Slide agglutination and immunofluorescent techniques are widely used for diagnostic purposes.

Associated environmental conditions

Streptococcosis infections have an increased prevalence and severity during summer months. In addition to the high water temperature, a variety of environmental stressors and host-related factors can also influence the outcome of the disease.

Different species, groups, or even strains of streptococci usually exhibit host specificity for the marine fish species from which they were isolated.

Geographical distribution

The disease is a problem in both farmed and wild marine fish stocks and has been reported from several continents: North America (USA), Asia (Japan), and Europe (Spain).

Significance

Streptococcal septicemia was first described in the 1960s. Since then, the disease has increased in importance, causing serious economic losses in the marine finfish industry. Today, it is the major limiting factor in the culture of yellowtail in Japan and turbot in Spain.

Streptococcosis affects fish of any size or age, and therefore caution has to be taken during all stages of the production cycle. The main reservoirs of the bacteria are sea water and sediments around the farms where the *Streptococcus* species can be isolated throughout the year. In addition, a source of infection can be frozen fish used for consumption. It has been reported that *Streptococcus* can survive for at least 6 months in frozen products.

Horizontal transmission has been demonstrated and can occur through the water, especially if the fish possess small abrasions, or by the fecal-oral route. Moreover, the carrier state has been described in both susceptible and non-susceptible fish species, which can also be important in spreading the disease.

taires sont nécessaires pour clarifier la position taxonomique exacte de tous ces streptocoques pathogènes des poissons.

Le diagnostic des streptococcoses est effectué sur des prélèvements réalisés au niveau organes internes (rate, rein et cerveau) par des techniques bactériologiques. Plusieurs milieux de culture sont utilisés pour isoler ces bactéries comme la gélose cerveau-cœur (BHIA), la gélose trypticase-soja (TSA) additionné d'1% d'extrait de levures ou de 0.5% de glucose et la gélose au sang. L'incubation se fait pendant 2–4 jours à 25–30°C. Les souches sont ensuite caractérisées soit biochimiquement, soit sérologiquement. Les streptocoques pathogènes des poissons marins ont des propriétés biochimiques qui varient considérablement d'une souche à l'autre (Table 1). Leur morphologie sphérique ou ovoïde et la formation de paires ou de chaînettes sont des caractéristiques communes de ces souches. Toutes sont Gram-positives, oxydase- et catalase-négatives, non-motiles et non-sporulantes. L'agglutination sur lame et les techniques d'immunofluorescence sont des procédures sérologiques largement utilisées.

Effets de l'environnement

La fréquence et la sévérité des streptococcoses augmentent pendant les mois d'été. En plus de la température de l'eau élevée, de facteurs de stress liés à l'environnement et d'autres facteurs relatifs à l'hôte peuvent aussi influencer l'issue de la maladie.

De plus, les différentes espèces, groupes et même souches de streptocoques montrent généralement une spécificité vis-à-vis des espèces de poissons marins dont ils sont isolés.

Distribution géographique

La maladie sévit sur les stocks de poissons marins cultivés et sauvages. Elle a été signalée sur plusieurs continents, en Amérique du Nord (États-Unis), en Asie (Japon) et en Europe (Espagne).

Importance

Les septicémies streptococciques ont été décrites pour la première fois dans les années 1960. Depuis, leur importance s'est accrue, causant des pertes économiques graves pour l'industrie de la culture des poissons marins. Aujourd'hui, c'est le principal facteur limitant de la culture de la sériole au Japon et du turbot en Espagne.

La streptococcose affecte les poissons de toute taille ou âge et, de ce fait, des précautions doivent être prises à chaque étape du cycle de production. Les réservoirs principaux de la bactérie sont l'eau de mer et les sédiments autour des sites marins, ou l'espèce *Streptococcus* peut être isolée tout au long de l'année. De plus,

Table 1. Comparative results of the biochemical and serological properties of the main marine fish pathogenic streptococci

Table 1. Résultats comparatifs des propriétés biochimiques et sérologiques des principaux streptocoques pathogènes des poissons.

Test	<i>Lactococcus garvieae</i> (yellowtail isolates) (isolats de sérieole)	<i>Streptococcus parauberis</i> (turbot isolates) (isolats de turbot)	<i>Streptococcus iniae</i> (different hosts) (hôtes varies)
Gram stain (Coloration de Gram)	+		+
Oxidase	—		—
Catalase	—		—
Haemolysis (Hemolyse)	α		β
Growth (Croissance)			
0% NaCl	+	+	+
3% NaCl	+	+	+
6.5% NaCl	+	+	—
4°C	+	+	+
10°C	+	+	+
45°C	—	—	—
pH 9.6	(+)	(+)	ND
Hydrolysis of (Hydrolyse de)			
Arginine	+	+	ND
Hippurate	—	+	—
Esculin	+	+	+
Starch	—		+
Gelatin	—		—
Casein	—		ND
Lecithin			ND
Decarboxylation			
Lysine			ND
Ornithine			ND
Acid from (Acidification)			
Arabinose			
Glycerol			
Inulin	—	—	—
Lactose	(+)	(+)	—
Trehalose	+	+	+
Sorbitol	(+)	(+)	
Lancefield type (Groupe lancefield)	NT	NT	NT
Serological reaction with (Reaction serologique avec)			
anti- <i>L. garvieae</i> serum		—	—
anti- <i>S. parauberis</i> serum		+	—
anti- <i>S. iniae</i> serum		—	+

ND, Not determined; (+), weak and delayed positive reaction; NT, not typable.

(ND, Non determine; (+), reaction faible et lente.)

Serological reaction determined by slide agglutination assay.

(Les tests serologiques ont été effectués par agglutination sur lame.)

Control

Apart from the usual preventive measures, such as the reduction of overcrowding, overfeeding, unnecessary handling, and the prompt removal of diseased or dead animals, control of streptococcosis includes vaccination, chemotherapy, and the use of non-specific immunostimulants.

The majority of streptococci isolated from marine fish are sensitive *in vitro* to a variety of drugs, including erythromycin, tetracycline, ampicillin, doxycycline, and josamycin. However, the effectiveness of these antimicrobial compounds *in vivo* is dependent on the target fish species. It has been reported that erythromycin, doxycycline, and josamycin can be used successfully against streptococcosis in yellowtail, but no drug has been effective in controlling this infection in turbot. Strains resistant to these antibiotics have recently been isolated in Japan and other countries.

Vaccination with a formalin-killed bacterin has been successful, with a relative percentage survival (RPS) higher than 80% being achieved and lasting for at least 2 years; the whole production cycle of most fish species is therefore covered. The route of administration of the vaccine depends on the fish species. In yellowtail, vaccination is effective by immersion and by intraperitoneal injection, while in turbot, although a high protection is obtained by injection, no protection was achieved by the immersion route.

The immunostimulatory effects of β -1-3-glucans are variable too, depending on the fish species, the route of administration, and dose. No protection was achieved in turbot with glucans administered by the oral route. However, enhancement of the resistance to streptococcosis was observed in yellowtail when the immunostimulant was administered by intraperitoneal injection.

Gross clinical signs

The external clinical signs vary among different species of affected fish. The most common symptoms are exophthalmia and distended abdomen, haemorrhagia in the eyes, opercula, and, at the base of the fins, ulceration of the body surface and darkening of the skin. In addition, in some cases accumulation of purulent exudate in the periorbital tissues and at the base of the fins was also observed (Fig. 1).

Internally, the abdominal cavity usually contains variable amounts of purulent exudate and/or blood. A yellowish exudate often covers the peritoneum and the epicardium, and is also found in the cranial cavity. In addition, haemorrhages are observed in muscle, spleen, liver, and kidney.

le poisson congelé utilisé comme aliment peut être une source d'infection. Le *Streptococcus* peut survivre plus de 6 mois dans les produits congelés.

On a montré qu'il existe une transmission horizontale qui peut se réaliser par deux moyens: à travers l'eau, surtout si les poissons présentent des microlesions sur le corps, ou par la voie fécale-orale. De plus, on a décrit l'existence de porteurs asymptomatiques à la fois chez des espèces de poissons sensibles et non-sensibles, ce qui peut être un facteur important dans la propagation de la maladie.

Prophylaxie et traitement

Mises à part les mesures de préventions usuelles, comme la réduction de la surpopulation, de la suralimentation, des manipulations inutiles et le retrait immédiat des poissons malades ou morts, le contrôle de la streptococcose inclut la vaccination, l'utilisation d'antibiotiques ainsi que l'utilisation d'immunostimulants non-spécifiques.

La majorité des streptocoques identifiés chez les poissons marins sont sensibles *in vitro* à de nombreux antibiotiques comme l'érythromycine, la tetracycline, l'ampicilline, la doxycycline et la josamycine. Toutefois, l'efficacité de ces composés antimicrobiens *in vivo* dépend de l'espèce de poisson ciblée. Ainsi, on a rapporté que l'érythromycine, la doxycycline et la josamycine peuvent être utilisées avec succès contre la streptococcose chez la seriole, mais aucun antibiotique efficace n'est disponible pour contrôler cette infection chez le turbot. Des souches résistantes à ces antibiotiques ont récemment été isolées au Japon et dans d'autres pays.

Un vaccin préparé avec des bactéries inactivées par le formol s'est montré très efficace (donnant un pourcentage de survie relatif (PSR) de plus de 80%) et la protection a été maintenue pendant deux ans, ce qui couvre la période d'élevage de la plupart des poissons. Le moyen d'administration du vaccin dépend de l'espèce de poisson. La vaccination est efficace chez la seriole à la fois par balnéation et par injection intrapéritonéale alors que chez le turbot, bien qu'on obtienne une bonne protection par injection, il n'y a aucune protection lorsque les vaccins sont administrés par balnéation.

Les effets immunostimulants des β -1-3-glucans sont également variables suivant l'espèce de poissons, le moyen d'administration et la dose. Ainsi, chez le turbot, aucune protection n'a pu être obtenue avec les glucans administrés par voie orale. Par contre, chez la seriole, il y a une amélioration de la résistance à la streptococcose lorsque l'immunostimulant est administré par injection intrapéritonéale.

Histopathology

Histological examination of internal organs reveals that, in the majority of tissues, bacteria are present free or inside macrophages, causing foci of haemorrhages, necrosis, or abscesses. The major histological changes are suppurative inflammation of meninges and brain, desquamative enteritis, and necrosis of the spleen and kidney.

Key references

Références bibliographiques

- Austin, B., and Austin, D. A. 1993. Gram positive bacteria: the lactic acid bacteria. In *Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish*, pp. 23–42. Ed. by B. Austin and D. A. Austin. Ellis Horwood, Chichester, England, UK.
- Domenech, A., Fernandez-Garayzabal, J. F., Pascual, C., Garcia, J. A., Cutuli, M. T., Moreno, M. A., Collins, M. D., and Domínguez, L. 1996. Streptococcosis in cultured turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), associated with *Streptococcus parauberis*. *J. Fish Dis.*, 19: 33–38.
- Eldar, A., Ghittino, C., Asanta, L., Bozzetta, E., Gorla, M., Prearo, M., and Bercovier, H. 1996. *Enterococcus seriolicida* is a junior synonym of *Lactococcus garvieae*, a causative agent of septicemia and meningoencephalitis in fish. *Curr. Microbiol.*, 32: 85–88.
- Kitao, T. 1982. The methods for detection of *Streptococcus* sp. causative bacteria of streptococcal disease of cultured yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, especially their cultural, biochemical and serological properties. *Fish Pathol.*, 17: 17–26.
- Kitao, T. 1993. Streptococcal infection. In *Bacterial Diseases of Fish*, pp. 196–210. Ed. by V. Inglis, R. J. Roberts, and N. R. Bromage. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, UK.
- Kusuda, T., Kawai, K., Salati, F., Banner, C. R., and Fryer, J. L. 1991. *Enterococcus seriolicida* sp. nov., a fish pathogen. *Int. J. System. Bacteriol.*, 41: 406–409.
- Kusuda, R., and Salati, F. 1993. Major bacterial diseases affecting mariculture in Japan. *Ann. Rev. Fish Dis.*, 3: 69–85.
- Matsuyama, H., Mangindaan, R. E. P., and Yano, T. 1992. Protective effect of schizophyllan and scleroglucan against *Streptococcus* sp. infection in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, 101: 197–203.
- Nieto, J. M., Devesa, S., Quiroga, I., and Toranzo, A. E. 1995. Pathology of *Enterococcus* sp. infection in farmed turbot, *Scophthalmus maximus* L. *J. Fish Dis.*, 18: 21–30.
- Ohnishi, K., and Jo, Y. 1981. Studies of streptococcal infection in pond-cultured fishes. I. Characteristics of a β -hemolytic *Streptococcus* isolated from cultured ayu and amago in 1977–1978. *Fish Pathol.*, 16: 63–67.
- Romalde, J. L., Magariños, B., Nuñez, S., Barja, J. L., and Toranzo, A. E. 1996. Host range susceptibility of *Enterococcus* sp. strains isolated from diseased

Signes cliniques macroscopiques

Les signes cliniques macroscopiques varient selon les différentes espèces de poissons affectées. Les symptômes les plus communs sont l'exophthalmie et la distension de l'abdomen, des hémorragies au niveau des yeux, des opercules et à la base des nageoires, l'ulcération de la surface du corps et le noircissement de la peau. De plus, on a observé dans certains cas l'accumulation d'exsudat purulent dans les tissus périorbitaux et à la base des nageoires (Fig. 1).

La cavité abdominale contient d'habitude des quantités variables d'exsudats purulents et/ou de sang. On observe un exsudat jaunâtre recouvrant le péritoine et l'épicardium et aussi dans la cavité crânienne. De plus, on observe des hémorragies dans les muscles, la rate, le foie et le rein.

Histopathologie

Sur sections histologiques les bactéries sont observées dans la majorité des organes internes, soit libres, soit situées à l'intérieur de macrophages, occasionnant des foyers hémorragiques, nécroses ou abcès. Une inflammation suppurative des meninges et du cerveau, une entérite desquamative et des nécroses au niveau de la rate et du rein constituent les principaux changements histologiques.

Key laboratories

Laboratoires de référence

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Miyazaki University (attn: Dr T. Kitao), Miyazaki 889-21, Japan

Fish Diseases Laboratory, Faculty of Agriculture, Kochi University (attn: Dr R. Kusuda), Nankoku-Shi, 783, Japan

Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Biology, University of Santiago de Compostela (attn: Dr A. E. Toranzo), Compostela 15706, Spain

turbot: possible routes of infection. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 607–611.

Romalde, J. L., Silva, R., Riaza, A., and Toranzo, A. E. 1996. Long-lasting protection against turbot streptococcosis obtained with a toxoid-enriched bacterin. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 16: 169–171.

Toranzo, A. E., Cutrín, J. M., Nuñez, S., Romalde, J. L., and Barja, J. L. 1995. Antigenic characterization of *Enterococcus* strains pathogenic for turbot and their relationship with other Gram-positive bacteria. *Dis. Aquat. Org.*, 21: 187–191.

Toranzo, A. E., Devesa, S., Romalde, J. L., Lamas, J., Riaza, A., Leiro, J., and Barja, J. L. 1995. Efficacy of intraperitoneal and immersion vaccination against *Enterococcus* sp. infection in turbot. *Aquaculture*, 134: 17–27.

This series is edited by / Cette série sera éditée par:

Dr Sharon E. **McGladdery**
Fisheries and Oceans Canada
Gulf Fisheries Centre
PO Box 5030
Moncton, N.B., Canada E1C 9B6 (E1C 5K4)