

九孔鲍鱼球状病毒病的 诊断和防治报告

黄印尧 陈信忠 厦门出入境检验检疫局
吴文忠 东山出入境检验检疫局
颜江华 倪子绵 厦门大学抗癌研究中心

摘要 1999~2000年冬春季节,福建省东山、漳浦养殖九孔鲍鱼暴发急性、毁灭性传染病流行。经过一系列实验室检验和病例复制试验,证实它是由一种大小50~80x120~150nm球状病毒侵袭鲍体所引起的。该病采取隔离消毒、净水养殖、药浴和饲喂药物饲料,可以起到很好的防制作用。

关键词 九孔鲍 病毒病 诊断 防制

1999年2月,述者曾报告过福建省东山县人工养殖九孔鲍(杂色鲍 *Haliotis diversicolor diversicolor* Reeve)发生急性、烈性、毁灭性球状病毒性传染病,疫情一直延续至4月5日清明节过后才逐渐平息。在短短的2个多月时间内,造成东山县30%的鲍鱼死亡,损失数千万元。而在当年的10月底11月初,在东山县人工养殖的九孔鲍又发生如同春季一样的传染非常迅速的烈性、毁灭性传染病。发病的区域有福建的东山县、漳浦县,广东省的饶平、汕头、汕尾和海南省部分地区。疫情一直流行至2000年清明节过后才逐渐消失。本次的大流行,几乎大部分养殖鲍鱼都难免遭此厄运。幸存者寥寥无几,经济损失难以估量,以至今年亲鲍和鲍苗奇缺,大量从台湾购买亲鲍和鲍苗。对这起鲍鱼传染病,述者深入疫区,开展了全面的流行病学调查,采集病料,进行系统的微生物学检验、水质分析和防制试验。现报告如下:

1 流行特点
1.1 易感动物 人工养殖的九孔鲍鱼,不管是亲鲍、成鲍、稚鲍、鲍苗都会发病死亡。同场中大鲍(亲鲍、成鲍)常先发病,而后小鲍(稚鲍、鲍苗)发病。值得注意的是个别场养殖的日本盘鲍(当地称黑鲍 *Haliotis discus hannai* Ino)一般不发病。

1.2 流行季节 通过对福建东山县1999和2000年暴发2次鲍鱼传染病的观察,可以说明本病仅流行于气温较低的冬春季节。在福建,即当年的10~11月至次年的4~5月份,水温低于24℃。

1.3 传染途径 本病水平传染,传染途径多样。可通过污染的水源、饲料、装运病鲍的车辆和饲养员传播。

1.4 发病特点 本病发病快,病程短,死亡率几乎100%。人工感染试验表明,本病的潜伏期约3d。一个养鲍场中的一口池鲍鱼被感染出现可视症状,一般3至9d,全场鲍鱼都可发病和全部死亡。一个场发病,很快波及周围其它鲍鱼场也发病和全场毁灭。如果该场

春季发过本病,传染的速度比较慢,病程也会稍长些,但死亡率也是100%。

2 症状和病变
2.1 临床症状 如果该场是首次发病,可见鲍鱼发病急、病程短,病鲍的临床特征很典型:鲍鱼发病前无明显减食,池水明显变浑,气泡很多,水面漂浮多量的似鲍鱼呕吐物;排干池水,可见病鲍足肌贴于地板(稚鲍)或在筐底(大鲍)(其它病的死鲍都是鲍壳在底面,足肌向上);足肌收缩,但颜色变化不明显。如果死亡时间长,颜色变白。有的死鲍的口器未能缩入口腔内,有的口器还含有饲草。如果该场春季发过本病,发病后传染速度较缓,病程较长,但死鲍的症状相同,死亡率也一样。

2.2 病变 由于病程短,死鲍的肉眼变化不明显,无腐败的异味;消化系统方面,口器未收缩入口腔,显微观察消化腺、肠道粘膜水肿变性。

3 诊断 本次调查收集了东山县和漳浦县各3个鲍鱼场的成鲍、鲍苗,并进行系统的实验室检查。

3.1 寄生虫检查 解剖病鲍,镜检未见寄生虫。

3.2 细菌学检查 取病鲍(成鲍)肠道、性腺、鲍苗整个研磨接种于含1% NaCl营养肉汤,并进行细菌分离鉴定,大部分病鲍分离不到细菌,少部份病鲍可分离到细菌,主要是副溶血弧菌和溶藻弧菌。

3.3 病毒学检查 选取东山县和漳浦县养殖场的发病频死的病鲍,除去足肌和肠胃,用灭菌PBS清洗,超速匀浆,经低温常温反复冻融。经低速离心和超速离心反复去沉渣,上清液用聚乙二醇浓集,沉淀物经2%磷钨酸负染电镜观察,可见到许多病毒颗粒,呈球形;同样取上述病料组织,经过2.5%戊二醇固定2h和1%锇酸固定1h,乙醇分级脱水,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,环氧树脂618处理后超薄切片,TEM-100CX2型透射电镜观察,在脏器中的性腺、肠道粘膜肌层组织中可观察到数量不等、散在分布或簇状聚集的病毒颗粒。大小50~80x120~150nm。大多数成熟程度不同的病毒颗粒聚集于扩张的内质网腔内,有明显的包囊。

3.4 水质分析 将疫区的海水送环保部门检验,认为水质与往年一样,无明显的差异。

3.5 复制试验 从同安某健康鲍鱼场取75粒健康鲍鱼(80粒/kg左右),分成5个试验组,即对照组、细菌1组(溶藻弧菌试验组)、细菌2组(副溶血弧菌试验组)、病毒1组(病鲍混养试验组)、病毒2组(纯病毒试验组),每组各15粒。各试验组的鲍鱼分别饲养在5个灰白色的塑料桶中,每桶装有4~5kg沙滤海水,每天换水1次,投喂经过高锰酸钾消毒处理过的切细海带,并不间断的冲气,整个试验期7d。细菌1组:每天换水后在水中加入溶藻弧菌菌液10ml(含活菌500

~ 600亿), 连续 3d; 细菌 2组: 每天换水后在水中加入副溶血弧菌菌液 10ml (含活菌 500~ 600亿), 连续 3d; 病毒 1组: 在健鲍中放入病鲍 4粒混养 3d, 每天在水中加入恩诺沙星灭菌; 病毒 2组: 取病鲍, 经过高速离心分离纯的病毒 (电镜负染确认), 分别将毒液滴入健鲍的口器内, 每天 1次, 连滴 3d, 每天在水中加入恩诺沙星灭菌。试验结果记录如下表 1

表 1 复制试验鲍鱼每天死亡数及全程死亡率 单位: 粒, %

组别	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	死亡率
对照组	0	0	0	0	1	0	0	6.6
细菌 1组	0	0	0	0	1	2	1	26
细菌 2组	0	0	0	0	1	3	1	33
病毒 1组	0	0	1	3	3	5	1	86
病毒 2组	0	0	0	2	2	4	4	80

对照组死亡率为 6.6%。细菌 1组死亡率为 26%, 细菌 2组死亡率为 33%, 可分别从死鲍脏器中分离到接种菌。死鲍的特点是足肌不收缩、颜色变白、水肿、背壳在下, 鲍鱼粘液多, 有腐败的臭味。这与本次病的自然病例不符。病毒 1组死亡率为 86%, 病毒 2组死亡率 80%, 2个病毒试验组死鲍的特点是足肌收缩, 足肌贴于桶底, 贝壳向上, 无明显的臭味, 这与自然病例相似。取濒死病鲍组织研磨、超滤、除菌、负染, 可见到球状样病毒颗粒。取病鲍的性腺, 通过固定、包埋、切片电镜观察, 在组织中可见到上述球状病毒。

通过上述检验和复制试验, 说明本病的致病原是上述球状病毒, 而上述分离的细菌是继发感染, 但真正致死性作用的病原是球状病毒。

4 防制试验 2000年 2月, 我们在东山和漳浦鲍鱼养殖重灾区选择 2个场进行防制试验, 周围的鲍鱼场大都发病, 有的全场覆灭。漳浦试验场, 有养殖池 100口, 水体面积 1000m², 饲养着 0.5~ 0.6cm 大小的鲍苗 150万粒。该场从 3月 10日开始试验。在东山试验场, 有中鲍 53口池 160万粒, 鲍苗 48口池 240万粒, 2月 11日开始试验。我们协助该场制定一整套防制措施, 即建立严格的隔离消毒制度, 使用沙滤水, 饲喂自配的药物饲料, 定期应用消毒灵 (福建农大实验兽药厂生产) 水体消毒和抗病毒中西合剂——鲍毒清进行浸泡。整个试验至 5月上旬结束。漳浦试验场鲍鱼生产正常, 无不正常的死亡, 成活率达 90% 以上。而东山县某场, 开始时鲍鱼养殖正常。3月 8日, 该场更换了未经检疫过的疫区海带饲养鲍鱼, 喂养后 3d, 成鲍先发病, 10d 后蔓延 10口成鲍、7口鲍苗发病。我们采取隔离、扑灭发病鲍鱼、加强消毒、药物浸泡等措施, 把病情扑灭。至试验结束, 成活率达 70% 左右。

5 小结和讨论 5.1 1999-2000年冬春季节, 福建省东山和漳浦县暴发的九孔鲍鱼大面积急性、毁灭性传染病, 经过系统的微生物学检验、水质分析、病例复制试验, 说明该病是由一种侵袭鲍鱼体内组织的球状病毒引起的。有的病死鲍鱼也会继发细菌感染。

5.2 本病有很明显的流行病学特征: 只发生在气温低的春冬季节; 不同日龄的九孔鲍鱼都易感; 本病可通过污染的水源、车辆、人员、饲料等行水平传染; 潜伏期短、发病急、病程短, 发病率和死亡率几乎 100%。

5.3 本病有特征性病变。发病初, 鲍鱼池水变浑浊, 气泡增多, 死鲍足肌收缩, 贝壳向上, 足肌贴于池底或筐底。这与鲍鱼在季节交替时常发的细菌病有明显的不同, 后者发病缓, 病程长, 死亡率低, 死鲍足肌不会收缩, 贝壳在下, 足肌向上。

5.4 本病是一种病毒病, 一旦鲍鱼受感染后就难以治疗。通过 2年 5个鲍鱼场的防制试验证实, 采取预防为主, 封锁疫区, 消灭病原, 隔离消毒, 净水养殖, 饲喂抗病毒饲料, 药浴等综合防制可以取得很好的效果。

5.5 通过对本病系统的流行病学调查、病原分离、病例复制和防制试验, 与述者 1999年春季报告的“一起毁灭性鲍鱼病毒病调查”是完全一致的。1998年李霞等报告的一种球状病毒引起皱纹盘鲍苗发生鲍壳裂痕的裂壳病, 但该病毒对大鲍无明显的致病性。虽然病毒大小相近, 但病毒侵袭的对象、病症、毒力、死亡率都明显不同。且本文前面也描述了本病毒对日本盘鲍无明显的致病性。对此有待进一步研究。

参考文献 1. 李霞等 皱纹盘鲍“裂壳病”的病原及组织病理研究 水产学报 1998 3: 61-66.

2. 黄印尧等 一起毁灭性鲍鱼病毒病的调查 福建畜牧兽医 1999 21 (3): 4-5.

3. 吴文忠等 九孔鲍鱼病毒病的防治试验 福建畜牧兽医 1999 21 (6): 51-52.

4. 王军等 1999年春季东山九孔鲍暴发性病害研究 厦门大学学报 1999 38 (5): 641-644.

Adiagnostic and Cure Report on the Viral Disease of *Halotis divericolor aquatilis*

Huang Yinyao Chen Xinzhong (Xiamen Entry-Exit Inspection and Quarantine Service)

Wu Wenzhong (Dongshan Entry-Exit Inspection and Quarantine Service)

Yan Jianguhua Ni Zmian (Cancer Research Center of Xiamen University)

Abstract A spherovirus around 50-80 x 120-150nm in infecting *Halotis divericolor aquatilis* is proved as a pathogen of a fatal infectious disease which (转下页)

绿孔雀痛风病的发生及防制

陈文明 莆田县埭头镇畜牧兽医站 351166

1 发病情况 1999年我县某养殖户自外地购回 2批绿孔雀种蛋,孵出 300多羽雏孔雀养在旧鳊鱼场。户主分别于 7~10日龄用新城疫 I 系疫苗滴鼻, 30~35日龄再次免疫。70~75日龄用新城疫 I 系苗给绿孔雀肌注。绿孔雀饲料配方如下(%) : 玉米 60 豆饼 22 麦皮 2 鱼粉 6 骨粉 1 贝壳粉 1 食盐 2 小麦 8 酵母 2 每 100kg 饲料另加微量元素 100g 和多种维生素 20g, 每栏关养 110羽。每栏每月 5~10日定期再添加甲硝唑 55片, 无味氯霉素 10g, 多酶片 100片。4月份起有少数孔雀出现精神差、食欲不振、随着贫血、冠苍白、脱毛、腹泻有时拉白色稀粪。接着腿脚发软、运动迟缓、常卧地不动。曾注射鸡新城疫卵黄抗体, 并试用多种抗生素和磺胺类药物, 均未显效。畜主又认为可能患组织滴虫病, 用甲硝唑、板兰根冲剂, 还投用亚砷酸钠 VE 粉、益生-100 氟哌酸胶囊、普杀平、鱼肝油等, 均未控制本病, 共死亡 47羽绿孔雀。

2 剖检 将 3羽病的绿孔雀解剖所见如下: 尸体消瘦严重脱水, 嗦囊充满带酸臭味的液和气体。心包、肝、脾、肠浆膜表面覆盖着白色的石灰样尿酸盐结晶, 触摸有粗糙感。肾肿大, 呈花斑状, 肾小管变粗, 输尿管扩张并有白色尿酸盐积聚。

3 实验室检测 **3.1** 取上述 3羽病绿孔雀解剖的心、肝、脾、肺、关节液触片、革兰氏染色, 镜检未见菌体。同时分别将病料接种于普通肉汤培养基、血液琼脂培养基, 经 37℃ 培养 24h, 均无细菌生长。

3.2 绿孔雀饲料送有关单位分析: 结果, 粗蛋白质 23.72%、粗纤维 4.78%。

3.3 取肾盂、输尿管内白色沉着物, 显微镜观察发现许多针状结晶。

4 治疗 1999年 10月起, 停喂原绿孔雀饲料, 改喂家鸡不含豆饼和鱼粉的饲料。并在家鸡饲料中添加维生素 A D 粉。按说明量饮用肾肿灵药水, 每日加葡萄糖饮水 3~4次, 定期在饲料中添加环丙沙星、益生-100 中旬停止死亡, 10月下旬孔雀群全部恢复正常。

5 讨论 **5.1** 根据症状、实验室检测, 改变饲料配方及药物对症治疗治愈, 确诊为绿孔雀痛风病。

5.2 该养殖户孔雀发病死亡与圈养的环境有关, 其栏舍潮湿, 而且离公路太近, 周围又有打石工地, 孔雀胆小易受惊吓, 放炮炸石的响声招致雀群惊叫、骚动乱串等应激反应, 诱发该病。

鸭“白点病”(暂定名)研究初报

黄瑜¹ 李文杨¹ 程龙飞¹ 苏敬良² 郭玉璞²

1 福建省农科院畜牧兽医研究所禽病室, 福州, 350013

2 中国农业大学动物医学院, 北京, 100094

1998年冬以来, 福建、浙江、广东等省发生了一种以高发病率、高病死率、软脚、摇头和肝脏、脾脏、胰脏、肠壁多量白色坏死点为特征的鸭传染病, 暂定名为鸭“白点病”。经调查发现番鸭、半番鸭和麻鸭等均可感染发病, 但以番鸭易感性最强, 发病率、病死率最高, 有的发病率高达 100%, 病死率达 95%。以现有的鸭用疫苗或高免蛋黄抗体或高免血清和抗菌药物未能治疗或预防该病。我们对 3个发病严重鸭场病死鸭开展了病原学研究, 细菌学检查均为阴性, 但均分离到病毒, 并对其中 1株进行了鉴定, 经负染及超薄切片电镜观察、理化特性及生物学特性测定、血清中和试验及核酸类型测定等确定该病毒为直径约 80~230nm 球形或椭圆形的有囊膜病毒, 其核酸类型为双股 DNA, 则将该毒划入疱疹病毒科, 但鉴于该病毒与鸭瘟病毒、鸭出血症病毒(暂定名为鸭疱疹病毒 II 型)无抗原相关性, 则暂定名为鸭疱疹病毒 III 型。通过人工感染试验已复制出与自然感染病死鸭相同的病变, 初步表明该病毒为鸭“白点病”病原, 此为国内外首次报道。目前已研制出鸭“白点病”疫苗和高免蛋黄抗体用于该病的防治, 在福建、浙江等省的临床应用证明效果令人满意。

(接上页) had occurred on many abalone feedlots in Dongshan and Zhanpu of Fujian province in recent years by using laboratory examination and case replication. This disease could be cured and control its pervasion by using isolation method, breeding in health water, bathing and feeding with some drugs.

Keywords viral disease, *Haliothis divericolor aquatilis*, diagnose, cure.

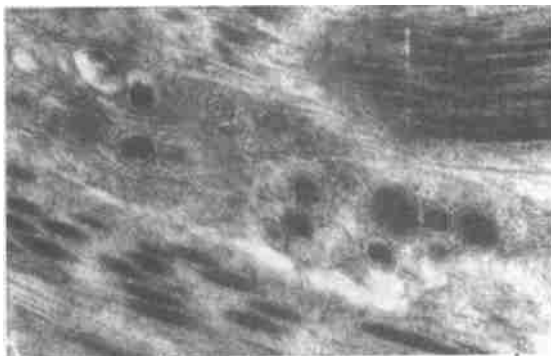


图 1 在鲍鱼肌肉组织中的球状病毒颗粒 (×4 10⁴)