

罗非鱼弗朗西斯菌病治疗实例

DOI:10.14184/j.cnki.issn1004-843x.2016.09.039

广州市番禺区农业科学研究所罗非鱼良种场从事罗非鱼杂交育种的科研和生产已整整30年。每年40万尾罗非鱼亲本大部分在15米宽、50米长、面积750米²的越冬钢棚里越冬,过去从没有发生过罗非鱼弗朗西斯菌病。2012年2月初,在部分越冬池里发现了亲本异常情况,罗非鱼亲鱼食欲减少,游动迟缓,随后几天部分越冬池出现了死鱼的现象,死鱼有逐步增加的趋势,最严重的一个3龄父本奥利亚罗非鱼越冬池,每天死鱼20多尾,情况危急。我们对发病越冬池罗非鱼亲本进行检查,选取游动缓慢、外观异常的个体进行解剖和诊断。

一、临床症状

病鱼外观特征:病鱼体表完好,鳃丝完整、颜色鲜红,经镜检鳃部未见寄生虫。病鱼肚子明显膨大,手摸感觉柔软;病鱼体侧部分鳞片有竖起现象,仔细观察是由于鳞片根部囊肿积水造成;胸鳍、背鳍基部有粉红色的瘤状物生成,大小不等,小的如绿豆大小,大的如花生米一样大,瘤状物以胸鳍基部较多。

病鱼解剖所见:解剖病鱼腹腔有较多腹水流出,腹水呈淡黄色,遇空气不久即成凝固状态;病鱼脾脏、胆囊肿大,脾脏肿大特别明显,是健康常态的几倍至10倍大。脾脏、肝脏、肾脏、肠道上可见有许多大小不等的白色结节,结节直径在1~4毫米,其中以脾脏和肾脏最多。结节表面光滑、柔软,生长在器官内部。病鱼亲本性腺萎缩、坏死。精巢溶解缩小、卵巢组织溶解退化(图见彩中插2)。

二、病原检测

1. 病原菌分离

方法:分别用LB、TSA、TCBS、血平板、Thayer Martin Agar,加了3%牛胎血清、1%葡萄糖、0.1%胱氨酸的MH培养基,改良的马丁培养基在室温(20℃)和培养箱(28℃)中分离细菌。持续培养时间7天以上。挑取长出的菌落进行纯化,纯化后分别用生化试剂条检测,进行分子生物学鉴定。

结果:所有培养基在前3天均未长出菌落。3天后开始在部分培养基上长出单个菌落,7天后除了1个菌形成优势菌群,其他未形成优势菌群。经鉴定形成的优势菌群为金黄色葡萄球菌,为非致病性菌。

2. 分子生物学鉴定

方法见图1。

结果:分别检测了正常鱼和发病鱼的肝、脾、肾,结果在发病鱼的肝、脾、肾中都扩增到了细菌16S RNA条带。将扩增到的片段测序,结果表明,这些条带都是弗朗西斯菌。

虽然没有分离培养到致病菌,但通过直接PCR扩增结节样品,检测到较纯的细菌序列,BLAST结果显示,

为弗朗西斯属菌;并通过组织切片,可以看到组织发生严重病变,在组织中可以看到细菌。说明该鱼病为弗朗西斯菌感染所致。

三、治疗用药

外用:对全部罗非鱼亲本鱼塘进行水体消毒:全塘泼洒聚维酮碘,浓度0.8克/米³;内服:对全部罗非鱼亲本投喂药物,每千克饲料加入下列药物:氟苯尼考(98.5%)3克,多种维生素5克,维生素C 1克,黏合剂5克。连喂5天。

四、治疗效果

病鱼通过体外消毒和连续5天投喂药物饲料,病情逐步好转,具体表现为:死鱼减少,病鱼游动逐步变得活跃,食量逐日增加,胸鳍、背鳍基本的肿瘤逐步缩小、消失。抽样解剖可见原来异常肿大的脾脏慢慢缩小,脾脏、肝脏、肾脏、肠道上的结节也逐步变小、消失。治疗一个疗程后,间隔一个星期,再进行一个疗程的恢复巩固后,整个番禺农科所罗非鱼良种场罗非鱼亲本的弗朗西斯菌病全部治好,当年的奥尼罗非鱼苗生产不受影响,治疗效果很好。

五、结语

1. 弗朗西斯菌(*Francisella*)是一种需氧、革兰氏阴性菌,单个细菌大小为0.5~1.5微米。罗非鱼弗朗西斯菌病在我国极少发生,但一旦发生如不及时发现并采取措施,将造成严重的死鱼后果,给水产养殖业带来严重危害。

2. 氟苯尼考对该病有较好疗效,国外药敏实验研究表明此菌对头孢他啶、庆大霉素、四环素也敏感。

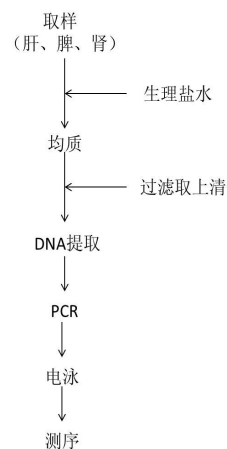


图1 分子生物学鉴定方法

斑点叉尾鲷鱼塘发病诊治实例

河南地区一口18亩鱼池,主养斑点叉尾鲷,目前存塘2万多千克斑点叉尾鲷成鱼、1000多千克鲫鱼,花白鲢少量。塘中架有4台叶轮增氧机和1台涌浪机。

2016年4月27日清晨,养殖户看到有2尾鲷鱼漂在塘边、下午又见4尾死鱼;28日死亡10尾;29日死亡53尾。于是向我们寻求帮助。

技术服务人员随即赶往鱼塘,到塘边看到池水老化,水色浓绿、浑浊。自塘边取水样测量,结果发现溶氧量低,镜检藻类数量较少,有死藻及枝角类。

养殖户在塘边多次撒网都网到鱼,不仅网到活鱼也有死鱼,死鱼口半张开,病鱼头背部颜色深,有褪色斑,被覆黄色异物,鳍基发红,鳃盖微红、鳃丝大量泥污附着,吻下颌充血、皮肤有划痕,肛门红肿外凸。镜检鳃丝贫血、血管末端膨大充血。解剖可见大量腹水,肠严重充血、肿胀、肠内白色豆花样异物、肠壁薄,胆囊红色、透明,肝发红,脾脏肿大,肾脏出血、可见凝结的血块(图见彩中插2)。

同时也看到工人将死掉的鱼抛于塘边水沟。据调查发现该发病鲷鱼塘在4月22日投喂了冻鸡肠600千克;23日喂了冻鸡肠675千克;26日没有继续投喂鸡肠;27日早上发现开始有死鱼,便用了中草药和葡萄糖全池泼洒,并拌氟苯尼考饲喂,全天死亡6尾;28日用了葡萄糖、维生素C全池泼洒、氟苯尼考拌料投喂,全天死亡10尾;29日全天死亡53尾。

初步建议养殖户先多开增氧机,用聚维酮碘按量消毒。请其从鱼塘捞取病鱼,带到公司在郑州的服务中心通过药敏实验服务平台来提供支持。实验人员自病鱼的肝、脾、肾、腹水、肠内容物、肌肉、脑分别在营养琼脂培养基平板上划线接菌,28℃恒温培养;后观察到病鱼的肝、腹水、脑、肠内容物、肌肉均分离到大量淡黄色不透明的菌落(图见彩中插2);将自病样体内分离到的菌均匀涂布于培养基表面,采用药敏纸片法测试。

测量药敏纸片直径后参照抑菌范围解释标准表来

判断各药物对该菌的敏感程度。

药敏测试结果表明:本次从发病鲷鱼体内分离到的菌对庆大霉素敏感,对强力霉素、恩诺沙星中度敏感,对头孢唑林、氟苯尼考、罗红霉素、美罗培南均不敏感。

于是,我们建议该养殖户使用庆大霉素20毫克/千克鱼体重(按有效成分计)、外加三黄散0.25克/千克鱼体重和肝胆舒灵0.1克/千克鱼体重内服拌料,连用3~5天观察效果;外用二氧化氯130克/亩消毒,隔日用1次,连消两次。同时建议将塘中死鱼及时捞出并撒生石灰后掩埋,对各鱼塘的网具用高浓度二氧化氯杀菌消毒、一塘一网避免病菌传染其他鱼塘。

5月6日电话回访得知该养殖户的发病鱼情况好转、死亡量逐渐减少,其再次解剖看到腹水减少、肠炎减轻、吃料正常。建议继续用药物拌料投喂2天,并在晴天施肥培养有益藻类,来进一步提高塘水溶氧,补充有益菌、促进鱼体恢复。

通过这例治疗过程不难发现:

1. 本地鲷鱼养殖塘四五月份存塘大鱼仍较多,高密度养殖的现状下却并未增设更适宜的池塘设施,针对此类池塘,建议一般开春后价格好时可以出一部分鱼或使用更高效的底部增氧设施增加池塘水体溶氧。

2. 养殖户从池塘捞出的死鱼在塘边乱丢弃易造成病菌传播,建议集中到一处撒生石灰消毒掩埋做肥料。

3. 部分鱼塘养殖中后期大量投喂冻鸡肠等,在塘底残饵粪便等坏水压力下又带来大量耐药的病原菌。建议养殖户最好选择适口的专用优质品牌饲料,若需要投喂冰鲜鱼时应严格将饵料消毒后再适量投喂。

通过本次鱼塘疾病诊治,我们也看到养殖户尤其是养殖新手们对于一线技术服务的需求。借助企业药敏服务平台及信息平台,帮助养殖户加强日常池塘管理、防病工作,诊治鱼病更加及时、准确。

通威股份有限公司 范小敏

邮编 610000

河南通威饲料有限公司 刘荣军 盛晓洒 梁焕珠

四川农业大学动科院 黄小丽

3. 初步推测罗非鱼弗朗西斯菌病可通过水源传播。番禺农科所罗非鱼亲本发生该病时,有两个越冬池的亲本没有染病,调查发现,这两个越冬池在整个越冬期间都没有从外来水源进水,而其他越冬池都有从外来水源进过水的记录,这些进过外源水的越冬池

的亲本都不同程度地感染了弗朗西斯菌病。

广东广州市番禺区农业科学研究所 刘忠强

伞桂宝 吴志洪

邮编 511450

中国水产科学研究院珠江水产研究所 林 强