Dr. ir. Olga Haenen
Dr. ir. Marc Engelsma
Drs. Steven van Beurden

Ziekten van vissen, schaal-, en schelpdieren

van belang voor de Nederlandse aquacultuur

Ziekten van vissen, schaal- en schelpdieren, van belang voor de Nederlandse aquacultuur

Omslag voorkant:
Dubbeldiertje (*Diplozoon paradoxum*) uit de kieuw van een karper. Een monogene platworm met een unieke levenscyclus: juveniele dubbeldiertjes kunnen zich alleen verder ontwikkelen als ze een partner ontmoeten. De twee partners hechten zich aan elkaar met hun zuigschijf en vergroeien vervolgens geheel met elkaar.

Omslag achterkant (van boven naar beneden):
Sporocyst van *Gymnophallus choledochus* uit kokkel; *Tracheliastes maculatus* op een schub van een brasem; SVC virus onder de EM; *Tetrahymena* sp. van de huid van een goudvis; histologisch preparaat van *Myxidium* sp. in het zijlijnkanaal van een paling; sporen van *Haplosporidium armoricanum* onder scanning EM; *Trichodina* sp. in de mantel van een kokkel.

Ziekten van vissen, schaal- en schelpdieren, van belang voor de Nederlandse aquacultuur

Dr. ir. Olga Haenen
Dr. ir. Marc Engelsma
Drs. Steven van Beurden

Auteurs
Dr. ir. Olga Haenen
Dr. ir. Marc Engelsma
Drs. Steven van Beurden

Met medewerking van
Drs. ing. Peter Werkman (hoofdstukken 1.4, 1.5 en 3)

Titel
Ziekten van vissen, schaal- en schelpdieren, van belang voor de Nederlandse aquacultuur

Centraal Veterinair Instituut van Wageningen UR
Lelystad, juli 2011

ISBN 978-94-6190-101-9

Drukkerij CABRI BV, Lelystad

© 2011, Centraal Veterinair Instituut van Wageningen UR (olga.haenen@wur.nl)
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand en/of openbaar gemaakt in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of op enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van het Centraal Veterinair Instituut.

De aquarellen zijn gemaakt door Stein Mortensen. © 2011, Stein Mortensen (stein.mortensen@imr.no)

CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR

Inhoud

	Lijst van afkortingen	8
1.	**Inleiding**	**9**
1.1.	Achtergrond en doelstelling	10
1.2.	Aquacultuur in Nederland	11
1.2.1.	Visteelt	11
1.2.2.	Schaaldierhouderij	11
1.2.3.	Schelpdierkweek	11
1.3.	Ziektesituatie in de Nederlandse aquacultuur	12
1.3.1.	Visziekten	12
1.3.2.	Schaaldierziekten	14
1.3.3.	Schelpdierziekten	14
1.4.	Houderij en diergezondheid	16
1.4.1.	Waterkwaliteit	16
1.4.2.	Voeding	17
1.4.3.	Pootvis	17
1.4.4.	Transport en sorteren	17
1.5.	Preventie	18
1.5.1.	Dierenarts	18
1.5.2.	Hygiëne en desinfectie op het bedrijf	18
1.5.3.	Vaccins	19
2.	**Ziekte en ziekteverwekkers**	**21**
2.1.	Algemeen	22
2.2.	Virussen	23
2.3.	Bacteriën	23
2.4.	Parasieten	24
2.5.	Schimmels	24
3.	**Signaleren van ziekteproblemen**	**27**
3.1.	Kenmerken gezonde aquacultuurdieren	28
3.2.	Stress	28
3.3.	Ziekteverschijnselen	29
3.3.1.	Herkennen van visziekten	29
3.3.2.	Herkennen van schelpdierziekten	29
3.4.	Het onderzoeken van zieke vis	30
3.5.	Anatomie	31
3.6.	Sedatie, anesthesie en euthanasie	32
3.7.	Therapie	33
3.7.1.	Logboek	34
3.7.2.	Behandeling van visziekten door de dierenarts	35
4.	**Visziekten**	**39**
4.1.	Virale ziekteverwekkers van vissen	40
4.1.1.	VER/VNN	40
4.1.2.	ISAV	41
4.1.3.	VHSV	42
4.1.4.	IHNV	44
4.1.5.	SVCV en PFRV	45
4.1.6.	EVEX	47
4.1.7.	IPNV	48
4.1.8.	EVE	50

4.1.9. KHV (CyHV-3) 51
4.1.10. HVA (AngHV-1) 53
4.1.11. EHNV 54
4.2. Bacteriële ziekteverwekkers van vissen 56
4.2.1. *Aeromonas* species 56
4.2.2. *Aeromonas salmonicida salmonicida* (furunculose) 57
4.2.3. *Aeromonas salmonicida achromogenes* (erythrodermatitis, gatenziekte) 58
4.2.4. *Vibrio* species (vibriosis) 59
4.2.5. *Pseudomonas anguilliseptica* 61
4.2.6. *Yersinia ruckeri* (enteric redmouth disease) 62
4.2.7. *Edwardsiella tarda* (edwardsiellosis) 63
4.2.8. *Francisella noatensis* en *Francisella noatensis orientalis* 64
4.2.9. *Streptococcus iniae* en *Streptococcus agalactiae* 65
4.2.10. *Flavobacterium columnare* (columnaris ziekte) 67
4.2.11. *Mycobacterium marinum* 68
4.3. Parasitaire ziekteverwekkers van vissen 70
4.3.1. *Trichodina* species 70
4.3.2. *Chilodonella* species 71
4.3.3. *Ichthyophthirius multifiliis* (witte stip) 72
4.3.4. *Aphanomyces invadans* (EUS) 73
4.3.5. *Hexamita* species 74
4.3.6. *Ichthyobodo necator* (syn. *Costia necatrix*) 75
4.3.7. *Trypanosoma* species (slaapziekte) 76
4.3.8. *Myxobolus cerebralis* 77
4.3.9. *Pseudodactylogyrus*, *Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* species 78
4.3.10. *Diphyllobothrium* species en *Ligula intestinalis* (lintwormen) 80
4.3.11. *Anguillicoloides crassus* (zwemblaasworm) 82
4.3.12. *Argulus* species (visluis) 83
4.3.13. *Ergasilus* en *Lernaea* species (copepoden) 84
5. Schaaldierziekten 87
5.1. Virale ziekteverwekkers van schaaldieren 88
5.1.1. Taura syndroom virus (TSV) 88
5.1.2. Yellowhead virus (YHV) 89
5.1.3. White spot syndroom virus (WSSV) 90
5.2. Bacteriële ziekteverwekkers van schaaldieren 92
5.2.1. *Aerococcus viridans* (gaffkemia) 92
5.3. Parasitaire ziekteverwekkers van schaaldieren 94
5.3.1. *Aphanomyces astaci* (kreeftenpest) 94
6. Schelpdierziekten 97
6.1. Virale ziekteverwekkers van schelpdieren 98
6.1.1. Oesterherpesvirus (OsHV-1) 98
6.2. Bacteriële ziekteverwekkers van schelpdieren 100
6.2.1. *Vibrio*-species 100
6.2.2. *Nocardia crassostreae* 100
6.3. Parasitaire aandoeningen van schelpdieren 102
6.3.1. *Bonamia ostreae* 102
6.3.2. *Bonamia exitiosa* 103
6.3.3. *Haplosporidium armoricanum* 105
6.3.4. *Marteilia refringens* 106
6.3.5. *Perkinsus marinus* 108

6.3.6. *Mikrocytos mackini* 109
6.3.7. Digene trematode infecties 110
6.3.8. *Polydora*-species 112
6.3.9. *Mytilicola*-species 113
6.4. Schimmelziekten van schelpdieren 115
6.4.1. *Ostracoblabe implexa* (schelpziekte) 115
7. Zoönosen 117
7.1. Algemeen 118
7.2. Bacteriële contactzoönosen 118
7.3. Parasitaire voedsel gerelateerde zoönosen 119
8. Regelgeving aquacultuur 121
8.1. Aquacultuurrichtlijn 2006/88/EG en andere regelgevingen 122
8.2. Wat te doen bij ziekte uitbraak 123
9. Diagnostiek bij het CVI 125
9.1. Algemeen 126
9.2. Monstername voor diagnostiek 126
9.3. Parasitologie 127
9.4. Bacteriologie 128
9.4.1. Bacterie isolatie 128
9.4.2. Bacterie typering 128
9.4.3. Antibiogram bepaling 129
9.5. Virologie 130
9.5.1. Virus isolatie 130
9.5.2. Virus typering 130
9.6. Moleculaire diagnostiek 132
10. Dankwoord 135
11. Literatuur 139
12. Bijlagen 147
12.1. Tabel gevoelige soorten en ziekten 148
12.2. Instanties en adressen 150
12.3. Logboek 152
12.4. Inzendformulier diagnostiek CVI Lelystad 154
12.5. Sectieformulier CVI Lelystad 158
12.6. Gebruikte bronnen blad Aquacultuur 162

Lijst van afkortingen

AngHV-1	Anguillid herpesvirus 1	
CVI	Centraal Veterinair Instituut	
cpe	Cytopathogeen effect	
CyHV-3	Cyprinid herpesvirus 3	
DNA	Desoxyribonucleïnezuur	
EHN	Epizoötische hematopoïetische necrose	(epizootic haematopoietic necrosis)
ELISA	Enzyme linked immuno sorbent assay	
EM	Elektronenmicroscoop	
ERM	Enteric redmouth	
EU	Europese Unie	
EURL	EU referentie laboratorium	
EUS	Epizoötisch ulceratief syndroom	(epizootic ulcerative syndrome)
EVA	Eel virus American	
EVE	Eel virus European	
EVEX	Eel virus European X	
H&E	Hematoxyline en eosine	
HVA	Herpesvirus Anguilla	
IFAT	Indirecte fluorescente antilichaam test	
IHN	Infectieuze hematopoïetische necrose	(infectious haematopoietic necrosis)
IPMA	Indirecte peroxidase monolayer assay	
IPN	Infectieuze pancreatische necrose	(infectious pancreatic necrosis)
ISA	Infectieuze zalmanemie	(infectious salmon anaemia)
ISH	*In situ* hybridisatie	
KHV	Koi herpesvirus	
NL	Nederland	
NRL	Nationaal referentie laboratorium	
OIE	Office International des Epizooties	
OsHV-1	Ostreid herpesvirus 1	
PCR	Polymerase chain reaction	
PCR-RFLP	PCR restriction fragment length polymorphism	
PFRD	Pike fry rhabdovirus ziekte	
PFRV	Pike fry rhabdovirus	
qPCR	Kwantitatieve PCR	(quantitative PCR)
RNA	Ribonucleïnezuur	
RT-PCR	Reverse transcriptase PCR	
sp	Species	
subsp	Subspecies	
SVC	Voorjaarsviremie van de karper	(spring viraemia of carp)
syn	Synoniem	
TEM	Transmissie elektronen microscopie	
TSV	Taura syndroom virus	
VER	Virale encephalopathie en retinopathie	(viral encephalopathy and retinopathy)
VHS	Virale hemorragische septikemie	(viral haemorrhagic septicaemia)
VNN	Virale nerveuze necrose	(viral nervous necrosis)
WSD	White spot ziekte	
WSSV	White spot syndroom virus	
YHD	Yellowhead ziekte	
YHV	Yellowhead virus	

Inleiding 1

1.1. Achtergrond en doelstelling

In de Nederlandse aquacultuur wordt een groot aantal vis- en schelpdiersoorten gekweekt en geteeld, daarnaast is er een zeer beperkte houderij van schaaldieren. Net als in andere dierlijke productiesectoren komen in de aquacultuursector verschillende ziekten voor die een belemmering kunnen vormen voor de productie. Dit boek geeft een overzicht van de belangrijkste vis-, schaaldier- en schelpdierziekten in Nederland. Het is geschreven in opdracht van, en bekostigd door Directie Agroketens en Visserij (AKV) van het Ministerie van Economische Zaken, Landbouw & Innovatie (EL&I) en is bedoeld als steun en naslagwerk voor kwekers, dierenartsen en beleidsmakers in de aquacultuursector.

In dit boek wordt in de hoofdstukken 1, 2 en 3 een beknopt overzicht gegeven over ziekten en ziekteproblemen in de aquacultuur en behandelingen daarvan. Hoofdstuk 4 geeft een overzicht van ziekteverwekkers van vissen, hoofdstuk 5 geeft een overzicht van ziekteverwekkers van schaaldieren (kreeften, garnalen, etc) en hoofdstuk 6 geeft een overzicht van ziekteverwekkers van schelpdieren (oesters, mosselen, etc) die van belang zijn voor de Nederlandse aquacultuur. Ook diverse andere ziekteverwekkers komen aan bod: hetzij voorkomend in Nederland in het open water, meldingsplichtig in internationale regelgeving (EU, OIE), of als ze een potentieel risico vormen voor de kweek in Nederland. Als basis voor deze hoofdstukken werd een reeks artikelen gebruikt die vanaf 1997 zijn verschenen in het vaktijdschrift *Aquacultuur* onder de kop “de ziekenboeg”. Voor dit boek zijn de ziektebeschrijvingen bijgewerkt met de huidige kennis over de ziekten en aangevuld met nog niet in *Aquacultuur* beschreven ziekteverwekkers.

In de hoofdstukken 4, 5 en 6 wordt per ziekteverwekker de volgende informatie gegeven:

- *Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding* geeft de Nederlandse en wetenschappelijke naam van de ziekteverwekker, de (taxonomische) verwantschap met andere ziekteverwekkers, de vis-, schaaldier- of schelpdiersoorten die gevoelig zijn voor de ziekteverwekker, welke levensstadia van de gastheer gevoelig zijn, en de geografische verspreiding.
- *Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer* geeft informatie over de prevalentie, predisponerende omgevingsfactoren, klinische verschijnselen, pathologie, doelorganen, persistentie en mortaliteit.
- *Diagnostische methoden* om de betreffende ziekteverwekker aan te tonen worden in het kort genoemd. De technieken zijn verder uitgewerkt in hoofdstuk 9.
- *Overdracht van de infectie en preventie* geeft informatie over de levenscyclus, transmissie zowel direct tussen aquacultuurdieren (horizontaal) als van ouderdieren naar nakomelingen (verticaal), eventuele vectoren, overleving en stabiliteit van de ziekteverwekker buiten de gastheer (desinfectie), en controle en preventie (vaccinatie, genetische selectie).
- In de kantlijn wordt vermeld of de ziekteverwekker op de lijst van meldplichtige dierziekten van de wereldorganisatie voor diergezondheid staat (OIE), EU meldplichtig is (EU), en of de ziekteverwekker in Nederland voorkomt (NL). Daarnaast zijn in de kantlijn de gevoelige diersoorten voor de betreffende ziekte weergegeven.

In bijlage 12.1 is een lijst opgenomen met per aquacultuur soort de in dit boek behandelde ziekten. Tot slot wordt in de hoofdstukken 7, 8 en 9 ingegaan op respectievelijk zoönosen, regelgeving en de diagnostiek van ziekten in de aquacultuur.

1.2. Aquacultuur in Nederland

1.2.1. Visteelt

De visteeltsector in Nederland is relatief jong en veelal gebaseerd op intensieve kweek in recirculatie systemen. De sector bestaat onder andere uit kwekerijen voor Europese paling (*Anguilla anguilla*), Afrikaanse meerval (*Clarias gariepinus*), forel (*Oncorhynchus mykiss*) en enkele zeevissoorten als tarbot (*Scophthalmus maximus*) en tong (*Solea solea*). De kweek van paling is qua volume en aantal bedrijven de belangrijkste. Voor de kweek van paling is de aanvoer van glasaal nodig aangezien de cyclus van paling in de kweek niet gesloten is. In recirculatiesystemen in broedhuizen van viskwekerijen wordt het verwarmde water constant gefilterd en gezuiverd, waardoor weinig waterverversing nodig is. Naast de visteelt binnenshuis zijn er ook vijverbedrijven, waaronder enkele karperbedrijven en meerdere forellenbedrijven. Deze laatste groep bevat zowel kweekforel, als de zogenaamde hengelsport visvijvers voor de recreatie. Deze visvijvers importeren veelal maatse forel uit de ons omringende landen. Ongeveer de helft van de viskweekbedrijven is aangesloten bij de belangenvereniging: de Nederlandse Vereniging van Viskwekers (NEVEVI) van het Productschap Vis.

1.2.2. Schaaldierhouderij

In Nederland is er een redelijk grote bedrijfstak die zich bezighoudt met de visserij op de grijze garnaal (*Crangon crangon*). Aquacultuurproductie van schaaldieren als kreeften en garnalen is in Nederland echter niet aanwezig, omdat een rendabele bedrijfsvoering in ons land nagenoeg onmogelijk is. Wel zijn er enkele ondernemingen die levende Europese zeekreeften (*Homares gammarus*) en Amerikaanse zeekreeften (*Homares americanus*) importeren en tijdelijk houden in opslagbassins. Aangezien de kreeften veelal bij zeer lage temperatuur worden gehouden zonder bij te voeren valt dit strikt genomen niet onder de aquacultuur.

1.2.3. Schelpdierkweek

Aanvankelijk vond alleen bevissing plaats van wilde schelpdierbanken, maar in de tweede helft van de 19e eeuw werd begonnen met het opkweken van mosselen en oesters op ‘onderwaterakkers’. Heden ten dage is er een uitgebreide op kweek gebaseerde productie van mosselen en oesters in Nederland, en is er een beperkte handmatige visserij op kokkels (*Cerastoderma edule*). In de productiegebieden en bassins, en tijdens verdere verwerking vinden strenge controles op sanitaire kwaliteit van de producten plaats.

Sinds 1870 vindt er kweek van mosselen (*Mytilus edulis*) plaats op gepachte bodempercelen in de Zeeuwse wateren (Grevelingenmeer en Oosterschelde) en later ook in de Waddenzee. De basis voor de kweek van mosselen is mosselzaad, dat in de Waddenzee wordt ingevangen. Onder druk van de overheid en natuurorganisaties wordt nu veel energie gestoken in alternatieven voor de visserij op mosselzaad, zoals invang van mosselzaad met behulp van mosselzaadinvanginstallaties. Op kweekpercelen in de Waddenzee en Oosterschelde wordt dit zaad opgekweekt tot halfwasmosselen. De halfwasmosselen worden vervolgens verplaatst naar meer beschutte percelen waar zij kunnen uitgroeien tot consumptiemosselen. Naast deze bodemcultuur wordt in de Oosterschelde door een beperkt aantal bedrijven geteeld met hangcultuur.

De teelt van inheemse platte oesters (*Ostrea edulis*) en Japanse oesters of creuzes (*Crassostrea gigas*) vindt plaats op kweekpercelen in de Oosterschelde en in het Grevelingenmeer. Oesterlarven worden ingevangen door het plaatsen van lege mosselschelpen als collectoren op de percelen van de oesterkweker. De oesterlarven hechten zich hieraan en groeien op verschillende kweekpercelen uit tot consumptieoesters. Consumptieoesters worden na het opvissen naar oesterputten of bassins overgebracht, waarin zij zichzelf door filtratie zuiveren van zand en slib.

1.3. Ziektesituatie in de Nederlandse aquacultuur

1.3.1. Visziekten

Paling

Drie ziekteverwekkende virussen voor de Europese paling (*Anguilla anguilla*) worden met regelmaat in kweekpaling aangetroffen, namelijk: *Eel virus European* (EVE), *Eel virus European X* (EVEX) en *Anguillid herpesvirus 1* (AngHV-1). Dubbelinfecties van twee virussen, soms met ook een pathogene bacterie, komen af en toe voor in kweekpaling. Ook in wilde aal is AngHV-1 regelmatig aangetroffen (Haenen et al. 2010), EVEX een enkele maal (van Ginneken et al. 2004, van Ginneken et al. 2005), en EVE nog nooit.

Vispathogene bacteriën van paling zijn onder andere: *Vibrio vulnificus*, *Vibrio fluvialis* in brak of zout water, en in het zoete water *Aeromonas hydrophila* en *Aeromonas sobria, Pseudomonas anguilliseptica,* myxobacteriën, *Edwardsiella tarda*, en a-typische *Aeromonas salmonicida.* Enkele van deze bacteriën zijn zoönotisch (zie hoofdstuk 7 *Zoönosen*).

In de tachtiger jaren werd wilde paling uit onder andere het IJsselmeer als pootgoed voor de visteelt gebruikt. Deze wilde paling bleek in hoge mate geïnfecteerd met de zwemblaasworm *Anguillicoloides crassus,* die de zwemblaas sterk aantast (van Banning & Haenen 1990). Tegenwoordig is *A. crassus* nog steeds in wilde paling aanwezig, maar in kleinere aantallen met minder ernstige effecten. Voor de palingkweek wordt sinds de negentiger jaren uitsluitend nog *A. crassus*-vrije glasaal gebruikt, waardoor het probleem in de palingkweek is verdwenen.

In de palingkweek komen eencellige ectoparasieten en meercellige kieuwwormen voor. De belangrijkste eencellige parasieten zijn *Ichthyobodo* (voorheen *Costia*), *Trichodina* soorten, *Chilodonella* soorten en witte stip (*Ichthyophthirius multifiliis*). De kieuwwormen (*Pseudodactylogyrus*, *Dactylogyrus* en soms ook *Gyrodactylus*) veroorzaken irritatie waardoor de paling stopt met eten. Grote aantallen kieuwwormen kunnen de kieuwen beschadigen, wat secundaire bacteriële infecties tot gevolg kan hebben. In wilde paling zijn naast deze parasieten ook slaapziekteverwekkende bloedflagellaten (*Trypanosoma* soorten) aangetroffen.

Forel

Eens in de paar jaar komt in een hengelvijver met forel in Nederland een uitbraak van het *viraal hemorragisch septikemie virus* (VHSV) of *infectieus pancreatisch necrose virus* (IPNV) voor. In 2008 werd voor het eerst het *infectieus hematopoïetisch necrose virus* (IHNV) aangetroffen in Nederland, gevolgd door nog vier uitbraken. De ziekten VHS en IHN veroorzaken doorgaans een hoge sterfte en zijn meldplichtig voor de EU en de OIE.

Bacterieel komen furunculose door *Aeromonas salmonicida salmonicida* en enteric redmouth disease door *Yersinia ruckeri* voor. Daarnaast spelen huidinfecties door myxobacteriën, zoals *Flavobacterium columnare,* en systemische *Vibrio* infecties.

Af en toe worden parasieten aangetroffen op forel, zoals *Hexamita* soorten, *Trichodina* soorten, *Chilodonella* soorten, witte stip (*Ichthyophthirius multifiliis*), oogstaar (*Diplostomum spathaceum*) en huidworm (*Gyrodactylus* soorten).

Meerval
Afrikaanse meerval *(Clarias gariepinus)* is een zeer robuuste kweekvissoort, waarbij ziektes nauwelijks een probleem vormen. Een enkele maal worden parasitaire en secundaire bacteriële infecties gevonden, waarbij het dan met name gaat om niet specifieke vispathogenen, zoals *Aeromonas hydrophila*.

Karper en koi
Virologisch speelt bij de karper (*Cyprinus carpio*) al vele decennia eens in de paar jaar het *voorjaarsviremie virus van de karper* (SVCV) op, vooral in karpers in open water, maar ook in vijverkoi. Daarnaast wordt sinds 2001 het virulente *koi herpesvirus* (KHV) frequent aangetroffen in gehouden karper en koi. In Nederland is KHV voor het eerst in wilde karper gedetecteerd in 2009. KHV ziekte is meldplichtig voor de EU en de OIE.
Bij de karper wordt bacterieel karper erythrodermatitis, veroorzaakt door atypische *Aeromonas salmonicida,* frequent aangetroffen. Deze bacterie veroorzaakt ook de zogenoemde gatenziekte van de koi. *Flavobacterium columnare*, een myxobacterie die columnaris ziekte veroorzaakt in koi, wordt ook regelmatig gevonden, met name in het voorjaar. Daarnaast wordt bij koi in tuinvijvers veel secundaire bacteriële infecties aangetoond, door bijvoorbeeld *Aeromonas hydrophila*. Dergelijke infecties worden veelal veroorzaakt door een stressfactor, zoals een slechte waterkwaliteit.
Bij karper en koi in vijvers zien we vaak de gangbare ecto- en endoparasieten, waarbij de infecties bij koi meestal ernstiger zijn dan bij karper. Niet infectieuze voer-gerelateerde ziekten komen vooral bij koi voor: lipoïde leveraantasting (fatty liver syndrome) door overvoeren.

Nieuwe kweekvissoorten
In Nederland zijn de afgelopen jaren verschillende bacteriën uit nieuwe kweekvissoorten als tong (*Solea solea*), tarbot (*Scophthalmus maximus*), zeebaars (*Dicentrarchus labrax*) en tilapia (*Oreochromis niloticus*) geïsoleerd. Omdat de intensieve kweek van dergelijke vissoorten nog relatief jong is, is alertheid op andere, nieuwe aandoeningen geboden.
Gekweekte tarbot vertoonde enkele uitbraken van *Vibrio anguillarum* en uit enkele partijen zieke tarbot werd *Vibrio scophthalmi* geïsoleerd. Uit tong werd *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida*, *Tenacibaculum maritimum* en *Vibrio ichthyoenteri* geïsoleerd. Uit zeebaars *Aeromonas salmonicida* en *Vibrio* soorten. Bij tilapia werd enkele malen *Mycobacterium marinum* aangetoond en bij gezond ogende tilapia werd een enkele keer *Streptococcus agalactiae* en *Mycobacterium fortuitum* gevonden, alle drie zoönotische bacteriën. Daarnaast in tilapia een enkele keer een *Francisella*-achtige laesies. In juveniele tilapia uit een recirculatie systeem is in het verleden ook een *Goussia* soort (parasiet) aangetroffen.
Managementtechnisch werd bij tarbot lipoïde leveraantasting ten gevolge van voederproblematiek gezien. Tilapia bleek extra gevoelig voor oververzadiging met perslucht, die tot gas bubble disease aanleiding gaf.

Overige wilde vis
In de jaren tachtig trad in jonge snoekjes (*Esox lucius*) regelmatig ziekte op veroorzaakt door *pike fry rhabdovirus* (PFRV; Bootsma 1971, Bootsma & van Vorstenbosch 1973). Eind tachtiger jaren werd dit snoekvirus ook uit blankvoorn (*Rutilus rutilus*) geïsoleerd (Haenen & Davidse 1993). De geïsoleerde stam bleek geattenueerd en ziekteverwekkend voor blankvoorn èn andere karperachtigen, en niet meer voor snoek. In winde (*Leuciscus idus*) wordt regelmatig de lintworm *Ligula intestinalis* aangetroffen, welke door uitputting kan leiden tot sterfte. Daarnaast speelt de atypische *Aeromonas salmonicida* af en toe een rol bij zweren van met name wilde karperachtigen.

Overige siervis
Ectoparasieten van siervis komen overeen met die van andere vissoorten, zie boven. Allerlei facultatief pathogene bacteriën worden regelmtaig aangetoond na een stressfactor als aanleiding voor ziekte. Bij warmwatersiervis in zowel zoet, brak als zoutwater worden frequent atypische mycobacteriën aangetoond, meestal veroorzaakt door *Mycobacterium marinum*, maar soms ook door *Mycobacterium fortuitum*. Beide bacteriën zijn zoönotisch, wat dus vraagt om een goede hygiëne.
In zoutwateraquaria worden met regelmaat *Vibrio*-infecties aangetoond. Verder is in het verleden uit een zieke malawicichlide *Edwardsiella tarda* geïsoleerd, uit een snotolf (*Cyclopterus lumpus*) *Pseudomonas anguilliseptica*, en uit sidderaal (*Electrophorus electricus*) *Photobacterium damselae* en *Edwardsiella tarda.*

1.3.2. Schaaldierziekten

De laatste decennia is de garnalenkweek wereldwijd exponentieel gegroeid van een kleinschalige traditionele polycultuur naar een miljoenenindustrie. Niet geheel verrassend heeft deze expansie geleid tot de verschijning en verspreiding van ziekten. Bij de kweek van schaaldieren kunnen de meeste bacteriële- en schimmelinfecties onder controle gehouden worden met verbeteringen in de houderij en hygiënemaatregelen. Voor de virale ziekteverwekkers ligt dit anders. Virale ziekten zijn veel moeilijker te managen en zijn de oorzaak geweest van de meest kostbare uitbraken.

Gezien de beperkte houderij van schaaldieren in Nederland is de kennis over de aanwezigheid van ziekten in schaaldieren in Nederland ook beperkt. De neergang van de inheemse Europese rivierkreeft (*Astacus astacus*) wordt toegeschreven aan de kreeftenpest veroorzaakt door *Aphanomyces astaci*. Sinds 1900 wordt de Europese rivierkreeft nog maar sporadisch waargenomen. Amerikaanse rivierkreeftsoorten, die in Europa vanaf 1860 zijn geïntroduceerd, hebben de ziekte meegenomen. De Amerikaanse rivierkreeften kunnen drager zijn zonder zelf last van de ziekte te hebben, terwijl de Europese rivierkreeften zeer gevoelig zijn voor de ziekte. *Aphanomyces astaci* is in Nederland echter nog nooit officieel aangetoond.

1.3.3. Schelpdierziekten

De in parasitaire levenswijze gespecialiseerde eencellige organismen zijn in het verleden de voornaamste oorzaak geweest van massale sterfte in volwassen schelpdieren. Daarbij was het wereldwijde transport van schelpdieren voor kweek in het verleden veelal de oorzaak voor de verspreiding en introductie van deze schelpdierziekten. Kweek van schelpdieren is over het algemeen extensief en vindt plaats in het open water in de nabijheid van wilde populaties. Dit bemoeilijkt management van ziekten: als een ziekte eenmaal aanwezig is in een bepaald gebied, dan is bestrijding nagenoeg onmogelijk. Preventie van schelpdierziekten is dan ook noodzakelijk.

Oesters
De Europese platte oester (*Ostrea edulis*) is de inheemse oestersoort in Noordwest Europa en was een zeer waardevolle soort in de schelpdierproductie. Echter, de strenge winter van 1962/1963 en de daarop volgende uitbraak van de eencellige parasiet *Bonamia ostreae* heeft ervoor gezorgd dat de huidige kweek van de platte oester in Nederland nagenoeg verwaarloosbaar is. De kweek van platte oesters is vrijwel geheel overgenomen door kweek

van de geïntroduceerde Japanse oester (*Crassostrea gigas*), welke ongevoelig is voor de eencellige parasieten *Bonamia ostreae* en *Marteilia refringens*.
Recentelijk is met name de verspreiding van oesterherpesvirus (Ostreid herpesvirus 1; OsHV-1) een probleem voor de kweek van Japanse oesters in Europa, inclusief Nederland. Sinds 2008 is een nieuwe variant van dit oesterherpesvirus, OsHV-1 µvar, geassocieerd met massale sterfte van larven en juvenile Japanse oesters in de belangrijkste kweekgebieden in Europa. In 2010 is de aanwezigheid van OsHV-1 µvar ook vastgesteld in juveniele Japanse oesters in de Oosterschelde.

Mosselen
In tegenstelling tot de meeste andere schelpdieren zijn er in het algemeen maar weinig ziekteverwekkers beschreven die een grote impact kunnen hebben op de mosselpopulatie.
In het verleden is de massale sterfte van mosselen (*Mytilus edulis*) van 1949 tot 1951 toegeschreven aan de parasitaire copepode *Mytilicola instestinalis*. Dit is echter later in twijfel getrokken en nu wordt gedacht dat *Mytilicola intestinalis* alleen secundair betrokken was bij de sterfte die primair werd veroorzaakt door de slechte conditie van de mossel. Daarnaast is de mossel een gevoelige soort voor de parasiet *Marteilia refringens*. Echter, de impact van *Marteilia refringens* op de mossel populatie lijkt kleiner te zijn dan de impact van dezelfde parasiet op de platte oesterpopulatie.
Verstoringen van de mosselen door te hoge dichtheden of gebrek aan voeding kunnen aanleiding geven tot granuloma's (bol-vormige ontstekingshaarden) in de mossel. Ook neoplasieën (ongebreidelde groei van cellen) kunnen aangetroffen worden in mosselen en voornamelijk in dieren in slechte conditie, maar dit betreft over het algemeen een beperkt aantal individuen in de populatie.

Kokkels
Van nature is er een divers scala aan parasieten aanwezig in kokkelpopulaties (*Cerastoderma edule*), waarvan digene trematoden een belangrijk deel uitmaken. Het is niet ongebruikelijk om meerdere soorten parasieten in één enkel individu aan te treffen. De intensiteit van de parasitaire infectie zegt dan ook vaak meer over het probleem, dan de aanwezigheid van de parasiet op zich. De parasieten vormen geen enkel gevaar voor de humane consumptie van kokkels.
In 2010 is uitgebreide sterfte gemeld van kokkels van verschillende locaties in de Oosterschelde en de Waddenzee. Op de locaties waar sterfte was gemeld bleek zowel de frequentie als de intensiteit van verschillende trematodesoorten in kokkels significant hoger te liggen dan van locaties zonder verhoogde sterfte. Desondanks bleek uit bestandsbepalingen aan het einde van het jaar dat de waargenomen sterfte binnen de grenzen van de normale jaarlijkse sterfte lag (pers. com. K. Troost).

1.4. Houderij en diergezondheid

1.4.1. Waterkwaliteit

Veel ziekteproblemen beginnen met een slechte waterkwaliteit. De waterkwaliteit dient onder controle te staan van de kweker, en minimaal eens in de paar dagen getest en indien nodig aangepast te worden. Bij een slechte waterkwaliteit is vaak het gedrag van de vis anders. Bij zuurstofgebrek bijvoorbeeld hangen de vissen lucht te happen aan het wateroppervlak.

Bij gebruik van biologische filters is het van belang dat de tussen- en eindproducten van verschillende stoffen niet tot te hoge concentraties oplopen, omdat deze giftig zijn voor de vissen. Door de vis wordt giftig ammoniak als afvalproduct van eiwit uitgescheiden via de kieuwen. In het water verandert dit bij een lagere pH in het minder schadelijke ammonium. In het biologische filter wordt door *Nitrosomas* bacteriën ammoniak/ammonium met behulp van zuurstof omgezet in nitriet. Dit is in lage hoeveelheid ook giftig voor vissen. *Nitrobacter* bacteriën zetten vervolgens met behulp van zuurstof nitriet om in het minder schadelijke nitraat. Daar heeft de vis een grotere tolerantie voor. Algemene richtlijnen met betrekking tot een goede waterkwaliteit zijn weergegeven in tabel 1.4.1.

Tabel 1.4.1. algemene richtlijn met betrekking tot de gewenste waterkwaliteit.

Parameter	**Zoetwater**	**Zoutwater**
Temperatuur	15-19 °C (salmoniden) 18-28°C (paling, meerval, siervis)	afhankelijk van de soort
pH	6,5 – 7,5	8,1 – 8,3
zuurstof (O_2)	> 6 ppm	6 – 7 ppm
koolzuur (H_2CO_3)	< 25 ppm	onbekend
stikstofgas (N_2)	pas op voor over-beluchting met perslucht: er ontstaat dan gas bubble disease	
ammoniak (NH_3)	< 0,04-0,1 ppm (bij voorkeur 0)	0 ppm
nitriet (NO_2-)	< 0,05 ppm (forel) (bij voorkeur 0)	0 ppm
nitraat (NO_3-)	< 75 ppm (bij voorkeur <20)	<10 ppm
koper	< 0,002 ppm	0 ppm
zink	< 0,015 ppm	0 ppm
calcium		350 – 450 ppm
fosfaat (PO_4)		0 ppm
Redoxpotentiaal		350 mV
Alkaliniteit		600 micro-equivalent
Carbonaathardheid		7°dH
Saliniteit (soorteliijk gewicht)		1,021 – 1,024

1.4.2. Voeding

Naast de waterkwaliteit vormt voeding de basis voor de gezondheid van aquacultuurdieren. Goede voeding is uitgebalanceerd, recent geproduceerd en bevat voldoende hoeveelheden vitamines en mineralen. Is het voer niet optimaal, dan kan ziekte ontstaan. Voorbeelden hiervan zijn:

- Fatty liver syndrome: voer dat te lang en niet gekoeld bewaard is, kan door omzetting van oververzadigde vetzuren ranzige vetten bevatten. De ranzige vetten veroorzaken vervetting van de vis, waarbij het vet niet goed kan worden omgezet in visvlees. Er ontstaat veel vet tussen de organen en de organen zelf vervetten ook, waarbij de vaten dichtslibben. Hierdoor wordt de vis meer vatbaar voor ziekteverwekkers.
- Vitamine deficiëntie: bij te oud voer lopen de door de fabrikant gegarandeerde vitaminehoeveelheden terug. Vitamine C deficiëntie kan bij jonge vis tot irreversibele kraakbeenmisvormingen leiden, gekenmerkt door verkromming van staarten en ruggen in de hele groep.
- Voer niet geschikt voor de betreffende vissoort: vissoorten stellen elk hun specifieke eisen aan hun voer, en wanneer niet aan deze eisen wordt voldaan kan dit tot ziekte leiden. Bijvoorbeeld graskarpers die van nature veel plantaardig voedsel eten, kunnen niet enkel paling- of karpervoer gevoerd worden, omdat daar relatief teveel vetten inzitten.

Voer dient op een koele, droge plaats bewaard te worden en het is raadzaam niet teveel voer te bestellen in verband met het teruglopen van vitaminegehalten. Het is zinvol om van iedere partij voer een klein monster koel te bewaren voor het geval het voer later in verband gebracht wordt met ziekte bij de vissen.

1.4.3. Pootvis

In sommige sectoren in de visteelt is men afhankelijk van pootgoed als startdieren van de productie, zoals in de palingteelt. Wilde glasaal wordt aangekocht uit bijvoorbeeld Verenigd Koninkrijk, Zuid Frankrijk of Noord Portugal, zonder gezondheidscertificaat. Voor forellenhengelvijvers wordt maatse gekweekte forel geïmporteerd uit bijvoorbeeld Denemarken, meestal met gezondheidscertificaat. Ook zijn er viskweekbedrijven, die puur pootvis produceren voor de verkoop.

De kwaliteit van pootvis is cruciaal voor het welslagen van de visteelt. Het is dan ook belangrijk pootvis met gezondheidscertificaat aan te kopen. Als dit certificaat ontbreekt is het verstandig een meerweekse quarantaine met diagnostiek van visziekten te beachten, zodat eventueel meegenomen ziekteverwekkers zich kunnen laten zien voordat de vis in het eigenlijke visteeltsysteem wordt gebracht. Het kiezen van vaste, qua visziekten betrouwbare toeleveranciers is van belang. Dit is deel van de integrale ketenbewaking, die een visteeltbedrijf hanteert.

1.4.4. Transport en sorteren

Het transporteren en sorteren van levende vis, schaal- en schelpdieren is een kwetsbaar moment voor de dieren. Er zijn internationaal richtlijnen voor de juiste wijze van transporteren van aquacultuurdieren. De handel in levende aquacultuurdieren is geregeld in Europese (EU)

en nationale wetgeving en mondiale adviezen (OIE) (zie hoofdstuk 8 *Regelgeving aquacultuur*). Via transportvoertuigen kunnen ziekten worden overgedragen van bedrijf naar bedrijf. Daar zijn diverse voorbeelden van bekend, speciaal met infectieuze virussen. Het is daarom belangrijk te kiezen voor transporteurs die hun hygiëne op orde hebben en op een veilige wijze aquacultuurdieren ontladen van de vrachtwagens.

In sommige viskweeksectoren worden vissen af en toe op grootte gesorteerd. Dit gebeurt vaak op lopende banden. Tijdens sorteren ondervindt de vis zware stress. Tevens wordt de slijmlaag van de vis, die gewoonlijk gaaf is en de vis bescherming geeft tegen infecties, tijdens het sorteren aangetast. Dit betekent dat de vis na sorteren makkelijk een secundaire bacteriële- of schimmelinfectie kan oplopen. Het is dus belangrijk de vis na sorteren niet in biologisch te zwaar belast water te brengen en de vis te observeren om vroegtijdig ziekte te traceren.

1.5. Preventie

1.5.1. Dierenarts

Volgens de Europese wetgeving 2006/88/EC dient elk aquacultuurbedrijf een dierenarts aangewezen te hebben, die ziektekundig als bedrijfsbegeleider op kan treden en eventueel medicijnen en/of vaccins kan voorschrijven en toedienen.

1.5.2. Hygiëne en desinfectie op het bedrijf

Hygiëne op de viskwekerij is van groot belang om insleep en overdracht van ziekten te voorkomen. Er kan onderscheid gemaakt worden tussen het voorkomen van de insleep van ziekten door bezoekers of door introductie van nieuwe vissen, en het voorkomen van overdracht van reeds aanwezige ziekten tussen verschillende systemen en tussen de vissen en mensen. Bewustwording van hygiëne is een basis voor goed management.

Hygiëne begint al bij het betreden van de kwekerij: de kwekerij dient niet vrij toegankelijk te zijn en bezoekers moeten hier met duidelijke borden op gewezen worden (bijvoorbeeld: “GEEN VRIJE TOEGANG”, respectievelijk “HIER MELDEN”). Er dient een hygiënesluis aanwezig te zijn, waar voor bezoekers bedrijfskleding en laarzen beschikbaar zijn. Er moet een wasbak aanwezig zijn waar de handen met desinfecterende zeep en alcohol gewassen en ontsmet kunnen worden. Bij de ingang dient een bak met een desinfecterende vloeistof zoals jodiumoplossing, natronloog of Chloramine-T te staan, waarin de laarzen bij het betreden worden ontsmet.

Voor het voorkomen van insleep van nieuwe ziekten door middel van introductie van nieuwe vissen is een quarantaine unit essentieel. Nieuwgekomen aquacultuurdieren dienen te worden opgevangen in deze quarantaine unit en gedurende meerdere weken te worden geobserveerd, bij een watertemperatuur die uitbraak van te verwachten ziekten toelaat.

Eén besmette druppel water kan ziekten al overbrengen van het ene naar het andere systeem. Daarom worden op viskwekerijen in broedhuizen vaak meerdere goed gescheiden recirculatiesystemen gebruikt. Het is belangrijk per systeem bij iedere ingang een desinfectiebak voor schoeisel te hebben staan, en per systeem een eigen set materialen te

gebruiken: emmers, netjes, borstels, etc. Handen dienen met desinfecterende zeep gewassen te worden voor men naar het volgende systeem gaat. Zieke vis dient afgevoerd te worden zonder risico van ziekteoverdracht naar andere systemen.

De viskweker en visverwerker dient ook hygiëne te betrachten ter voorkoming van besmetting met zoönosen: ziekten die van dier naar mens kunnen worden overgedragen (zie hoofstuk 7 *Zoönosen*). Wat betreft contactzoönosen gaat dit bij vissen alleen om bacteriële aandoeningen. Bij contact met en verwerking van vis dienen wondjes te worden afgeplakt, handschoenen en eventueel beschermende kleding te worden gedragen. Na contact met vis is goed handen wassen met desinfecterende zeep en alcohol van groot belang.

Desinfectie is per bedrijfsvorm verschillend. In recirculatiesystemen dient apparatuur (netten, buizen, pompen, bassinwanden en bodem) na gebruik eerst grondig mechanisch te worden gereinigd met zeep en een borstel, of met een hogedrukspuit. Vervolgens wordt gespoeld met water en daarna gedesinfecteerd. Betonnen of kunststof bassins kunnen worden gedesinfecteerd met natronloog (50 mg/l). Netten en ander materiaal kunnen met Chloramine-T (10 mg/l) of met Natriumhypochloriet (200 mg/l) worden gedesinfecteerd, met een minimale inwerking van 20 minuten. *Virkon S®* wordt ook uitgebreid gebruikt voor desinfectie van materialen (dosering zie bijsluiter). Voor het werken met deze desinfectiemiddelen dienen gepaste beschermingsmaatregelen (zie bijsluiters) getroffen te worden door de uitvoerenden. Na chemisch behandelen goed naspoelen met water en laten drogen.

In vijverbedrijven is desinfectie veel lastiger. Na een ziekte uitbraak dient de vijver te worden geleegd en de vis afgevoerd. De nog natte bodem dient te worden doorgeploegd met ongebluste kalk en de vijver moet vervolgens enkele maanden droog staan. Daarna kan de vijver weer worden aangestuwd en gespoeld, waarna nieuwe vis kan worden uitgezet.

1.5.3. Vaccins

Vooral tegen bacteriële aandoeningen zijn commercieel vaccins verkrijgbaar, onder andere voor *Aeromonas salmonicida salmonicida* (furunculose), atypische *Aeromonas salmonicida* (erythrodermatitis van de karper), *Yersinia ruckeri* (enteric redmouth), *Vibrio anguillarum* en *Vibrio salmonicida* (vibriose). Soms worden er voor individuele bedrijven autovaccins geproduceerd. Van de bacteriestam die de visziekte problemen op het bedrijf geeft wordt dan bijvoorbeeld een dood vaccin gemaakt, zodat nieuwe vis na vaccinatie bescherming opbouwt tegen de bacterie.

Inmiddels zijn er internationaal ook diverse vaccins tegen virale aandoeningen toegelaten, waaronder *infectieus zalm anaemie virus* (ISAV), *infectieus pancreatisch necrose virus* (IPNV) en *koi herpesvirus* (KHV), echter in Nederland is nog geen enkele daarvan toegelaten.

Ziekte en ziekteverwekkers 2

2.1. Algemeen

Ziekte wordt gedefinieerd als het proces in een organisme dat, ten gevolge van schadelijke invloeden de normale structuur en functie verstoort. Zowel in wilde populaties als in elke vorm van dierhouderij kunnen ziekten optreden. Praktisch gezien is het resultaat van ziekte verminderde conditie, groei, reproductie en/of sterfte. Drie factoren zijn van belang voor het ontstaan van ziekte bij aquacultuur dieren (figuur 2.1.): de gastheer, de ziekteverwekker en omgevingsfactoren.

Figuur 2.1. Schematische weergave van interactie tussen gastheer, omgeving en ziekteverwekker (naar Snieszko 1974).

De eerste factor de **gastheer** is de betreffende soort. De gevoeligheid van de gastheer voor een bepaalde ziekte kan variëren met de genetische achtergrond van de soort, de leeftijd en het seizoen.

De tweede factor, de **ziekteverwekker** of pathogeen, kan een primaire ziekteverwekker zijn maar ook een opportunist die, afhankelijk van andere factoren, de ene keer wel en de andere keer geen ziekte veroorzaakt. Dit kan een virus, bacterie, eencellige (protozoa) of meercellige (metazoa) parasiet, of schimmel zijn. Maar ook abiotische factoren zoals vervuilende stoffen kunnen ziekte veroorzaken. Ziekteverwekkers kunnen variëren in virulentie en verspreiding. In de hoofdstukken 5 tot en met 7 wordt een overzicht gegeven van de meest voorkomende ziekten in de Nederlandse aquacultuur. In de praktijk treden bij veel aquacultuur soorten ook dubbelinfecties met verschillende ziekteverwekkers op. Om ziekten te bestrijden is het dan ook van belang om eerst de primaire oorzaak uit te zoeken, en deze vervolgens effectief aan te pakken.

De derde factor van belang bij het ontstaan van ziekte is de **omgeving**. Omgevingsfactoren als temperatuur, waterkwaliteit, dichtheid en voeding kunnen gunstig zijn voor de ziekteverwekker en/of nadelig zijn voor de gastheer. Veel ziekten zijn het gevolg van een stressor zoals sortering, verplaatsing, plotselinge voedingsveranderingen, temperatuursveranderingen etc. Bij een goede kweekvishouderij zijn de dieren doorgaans niet vatbaar voor ziekte. Vaak bepalen de (vorm van) stress samen met de conditie van een dier de vatbaarheid voor een aandoening.

Kennis over de drie factoren gastheer, ziekteverwekker en omgeving en hun interactie zijn van primair belang voor een effectief management van diergezondheid.

2.2. Virussen

Virussen zijn zeer kleine infectieuze deeltjes van 20-300 nanometer (nm) bestaande uit genetisch materiaal (DNA of RNA) met daaromheen een eiwitkapsel. Virussen zijn niet in staat zichzelf te repliceren (vermenigvuldigen), maar zijn hiervoor afhankelijk van een gastheercel. Zonder gastheer is dit niet mogelijk. Na binnendringen van de cel gebruikt het virus de machinerie van de gastheercel om het eigen erfelijk materiaal te kopiëren. Wanneer er een zeer groot aantal kopieën zijn gemaakt vormen zich nieuwe virusdeeltjes welke uit de vernietigde cel vrijkomen. Het is sterk afhankelijk van het type virus hoe lang een virusdeeltje het zonder gastheer kan stellen en hoe persistent het is tegen de verschillende invloeden van buitenaf (pH, chemicaliën, droogte, UV). De watertemperatuur is één van de belangrijkste factoren in de overleving van virussen van aquacultuurdieren. Buiten de gastheer om geven lage temperaturen een betere overleving van het virusdeeltje.

Verdenking op een virus gaat aan de hand van ziekteverschijnselen. Bij veel virusgerelateerde ziekten is de sterfte vrij acuut en hoog. Vervolgens kunnen monsters van vis getest worden op de aanwezigheid van virus. Dit gebeurt door virus in levende vissencellen (celkweek) aan te kweken en celdood aan te tonen in de met het monster (orgaansuspensie) geïnoculeerde celkweek. Indien er celdood ten gevolge van een virus optreed, kan het virus met specifieke immuno- of neutralisatietesten of moleculaire testen getypeerd worden (zie hoofdstuk 9 *Diagnostiek bij het CVI*). Geen enkel virus welke ziekte geeft bij vissen, schaaldieren of schelpdieren is schadelijk voor de mens.

2.3. Bacteriën

Bacteriën zijn eencellige micro-organismen zonder celkern (prokaryoot). Bacteriën zijn klein en enkel met een microscoop te zien. De celgrootte varieert tussen de 0,5 en 5 micrometer (µm). Wonden, bloedingen en een opgezette buik van de vis zijn vaak een teken van een bacteriële infectie. Een natuurlijke bescherming van de vis is de slijmlaag. Raakt die beschadigd, dan is de kans op een bacteriële infectie groot.

Bij bacteriële infecties is de sterfte vaak minder hoog en chronischer dan bij virusinfecties. Aantallen bacteriën kunnen gezien worden onder de lichtmicroscoop. Na aankweek op kweekmedia gebeurt determinatie van de bacterie op een laboratorium, door het testen op specifieke eigenschappen. Ook kan getest worden voor welke antibiotica een bacterie gevoelig (niet resistent) is. Met dat antibioticum kan men eventueel een bacteriële infectie bestrijden. Voorzichtigheid is geboden, door frequent verkeerd gebruik van antibiotica kan resistentie van de bacterie ontstaan tegen antibiotica. Bovendien duurt het lang voor residuen (resten) van antibiotica verdwijnen uit de vis, gedurende welke periode het visvlees niet verkocht mag worden.

2.4. Parasieten

Parasieten zijn ééncellige (protozoa) of meercellige (metazoa) organismen die leven ten koste van een gastheer. Veel meercellige parasieten zijn relatief groot waardoor ze met het blote oog te zien zijn. Parasieten kunnen zich bevinden op de buitenkant van het lichaam (ectoparasieten) op de huid, de kieuwen, in de darm, of juist in het lichaam (endoparasieten) als in de buikholte of in organen. De locatie is vaak specifiek per soort. Onderzoek kan door monsters van huidslijm, kieuwen, mest (direct uit de darm) onder de microscoop te bekijken, of de buikholte en organen te bekijken. Soms zijn histologische preparaten nodig voor een diagnose (bijvoorbeeld van kraakbeen voor *Myxosoma cerebralis* welke draaiziekte van de forel veroorzaakt of van een ooglens bij wormstaar door *Diplostomum spathaceum*). Bedenk dat parasieten in de natuur vaak in beperkte mate aanwezig zijn zonder problemen te veroorzaken. Relevant is niet de aanwezigheid van de parasiet maar de intensiteit van de infectie.

2.5. Schimmels

Slechts een beperkt aantal echte schimmels (Fungi) kan problemen geven in de aquacultuur. Meestal zijn het secundaire infecties, op een huidbeschadiging of diepe bacteriële wond, met als primaire oorzaak van de problemen een andere ziekteverwekker. De enige echte schimmel die in dit boek wordt behandeld is *Ostracoblabe implexa*, een schimmel in de schelp van oesters. Een aantal organismen zoals *Saprolegnia* en *Aphanomyces* soorten, beide waterschimmels (Oomyceten), hebben veel karakteristieken gemeen met de echte schimmels en werden vroeger dan ook bij de Fungi ondergebracht. Echter, waterschimmels zijn nauwer verwant aan bruinwieren en diatomen (Stramenopiles) dan aan de echte schimmels.

3 Signaleren van ziekteproblemen

3.1. Kenmerken gezonde aquacultuurdieren

Om ziekte te kunnen herkennen is het noodzakelijk het gezonde beeld te kennen: hoe zien gezonde vis, schaal- en schelpdieren eruit? Het beste kunnen vissen in hun eigen omgeving worden geobserveerd. Vissen hebben een goed doorvoede vorm, een gave slijmhuid, verkleuren naar bleek in een bleke emmer en naar donker in een donkere emmer, hebben gave vinnen en ogen, een rustige ademhaling, en vertonen actief zwem- en eetgedrag. Bij schelpdieren is dit het krachtig sluiten en dichthouden van de schelp bij verstoring.

3.2. Stress

Bij vissen is het optreden van stress de meest aangewezen oorzaak voor het ontstaan van ziekte. Het zorgvuldig bijhouden van een logboek kan een grote steun zijn bij het opsporen van de oorzaak van een ziekteprobleem bij vissen, bijvoorbeeld een stressvolle gebeurtenis. Korte hevige stress, maar ook langer durende minder heftige stress kunnen resulteren in een grotere vatbaarheid voor ziekten en parasieten, omdat de afweer afneemt. Over het algemeen kan stress bij vissen optreden als gevolg van een reeks verschillende oorzaken. Die oorzaken kunnen onder andere zijn:

Fysische stressoren:
- Snelle temperatuurwisselingen van het water
- Vibraties, harde geluiden
- Plotseling licht aan, licht uit
- Vangen, hanteren, sorteren
- Tekort aan schuilplaatsen
- Te weinig voer (vechten)

Chemische stressoren:
- Watervervuiling door zware metalen: koper, ijzer
- Watervervuiling door pesticiden of herbiciden
- Overmaat aan koolzuurgas binnen de kwekerij
- Organische vervuiling van het water: ammoniak, nitriet, nitraat
- Zuurstoftekort in het water
- Vergiftiging door foute dosering geneesmiddelen

Biologische stressoren:
- Introductie van nieuwe vissen (ook bij voorbeeld na sorteren)
- Teveel vissen
- Afwijkende grootte verschillen tussen de vissen (agressiviteit)
- Aanwezigheid predatoren: vogels, kat, mens

3.3. Ziekteverschijnselen

3.3.1. Herkennen van visziekten

Vissen kunnen onder andere de volgende ziekteverschijnselen tonen:

Afwijkend gedrag:
- Te sloom, hangen bij de waterafvoer
- Luchthappen aan de oppervlakte of bij de waterinstroom
- Abnormaal zwemmen, tollen, wegschieten of springen
- Schuren over de bodem
- Drijven aan de oppervlakte
- Liggen op de bodem
- Zich verstoppen

Afwijkende kleur:
- Donkerkleuring van de rug
- Blekere kleur
- Wittige waas op de huid of witte plekken
- Bloedingen in de vin, vinbasis of staart
- Vertroebeling van de ogen
- Rode, ontstoken anus
- Rode wonden

Afwijkende vorm:
- Opgezette buik
- Vermagering
- Gezwellen op of onder de huid
- Uitpuilende ogen
- Ingevallen ogen
- Kromme wervelkolom

Beschadigingen of afwijkingen:
- Wonden, abcessen
- Gerafelde vinnen
- Watachtige aanhangsels
- Missende lichaamsdelen: kieuwdeksel, deel van een vin, oog
- Zichtbare parasieten op de huid of hangend uit de anus

Niet alle verschijnselen worden tegelijk gevonden. Sommige zijn specifiek voor een bepaalde aandoening, andere komen bijvoorbeeld zowel bij bacteriële als virale infecties. Alle afwijkingen dienen te worden bijgehouden in een logboek.

3.3.2. Herkennen van schelpdierziekten

Ziekten bij schelpdieren geven over het algemeen geen uiterlijke symptomen die met het blote oog waarneembaar zijn. Uitzonderingen zijn infecties met de bacterie *Nocardia crassostreae* en de parasiet *Mikrocytos mackini* die zich uiten door groenige wratten op het vlees. Verder

geeft *Perkinsus marinus* een zeer sterke vermagering van de gastheer. De meeste andere ziekteverwekkers in een populatie schelpdieren uiten zich alleen door een verhoogde sterfte in het bestand. Echter, dit is geen specifiek kenmerk, aangezien milieuomstandigheden zoals ijsgang, zuurstofloosheid, lage saliniteit, etc. ook zonder de betrokkenheid van een ziekteverwekker sterfte kunnen veroorzaken.

De sterfte in een bestand wordt berekend aan de hand van het aantal “verse peulen”, dat wil zeggen: lege schelpen zonder aangroei aan de binnenkant. Als de sterfte in korte tijd meer dan 15% bedraagt spreekt men van een abnormale of verhoogde sterfte. Als er een verhoogde sterfte wordt waargenomen, zonder dat er een direct verband gelegd kan worden met omgevingsfactoren, wordt een onderzoek gestart om betrokkenheid van ziekteverwekkers uit te sluiten of aan te tonen. Problemen met een verhoogde sterfte spelen zich voornamelijk af in de zomermaanden. De Japanse oester is wereldwijd de meest gekweekte oestersoort en bekend is de “zomersterfte” van de Japanse oester in vele gebieden. De oorzaken bestaan vaak uit een complexe combinatie van factoren. Langdurig hoge watertemperatuur, algenbloei, lage zuurstof gehaltes, lozingen van afvalwater en ziekteverwekkers zijn allemaal factoren die in combinatie potentieel schelpdiersterfte kunnen veroorzaken.

3.4. Het onderzoeken van zieke vis

Afhankelijk van de symptomen worden de zieke vissen nader onderzocht. Allereerst wordt een onderzoek van het water gestart. Een monster direct uit het biofilter en een monster uit het bassin worden tenminste getest op de pH, het ammoniak- en het nitriet-gehalte. Mochten hier afwijkingen worden gevonden, dan is het zinvol hiervoor eerst een correctie uit te voeren (bijvoorbeeld door water te verversen) alvorens met een behandeling te beginnen.

Mocht er verdenking op de aanwezigheid van ectoparasieten zijn, dan kunnen – soms zonder sedatie – voorzichtig enkele afstrijkjes van de huid, vinnen en staart worden gemaakt met een dekglaasje. Het monster wordt met een druppel water op een voorwerpglaasje gelegd en bij lage vergroting (20-100x) onder de microscoop bekeken. Bij grotere vis is het mogelijk een klein kieuwmonster te nemen door een afstrijkje te maken of enkele kieuwstalen te verwijderen en microscopsich te onderzoeken. Daarnaast kan men iets van de darminhoud op een objectglas brengen, afdekken met een dekglaasje (zonder water) en bekijken onder de microscoop.

Praktisch alle parasieten zijn bewegelijk, zodat herkenning redelijk gemakkelijk is. Sommige parasieten zijn echter erg klein, zodat bij het microscopisch onderzoek ook bij grote vergroting (100x) dient te worden gekeken. Bij een slijmpreparaat zijn de randen van het slijm de plaatsen met de grootste kans om parasieten te vinden. Bij een sterkere vergroting (200-400x) kan worden beoordeeld of de aantallen bacteriën sterk verhoogd zijn.

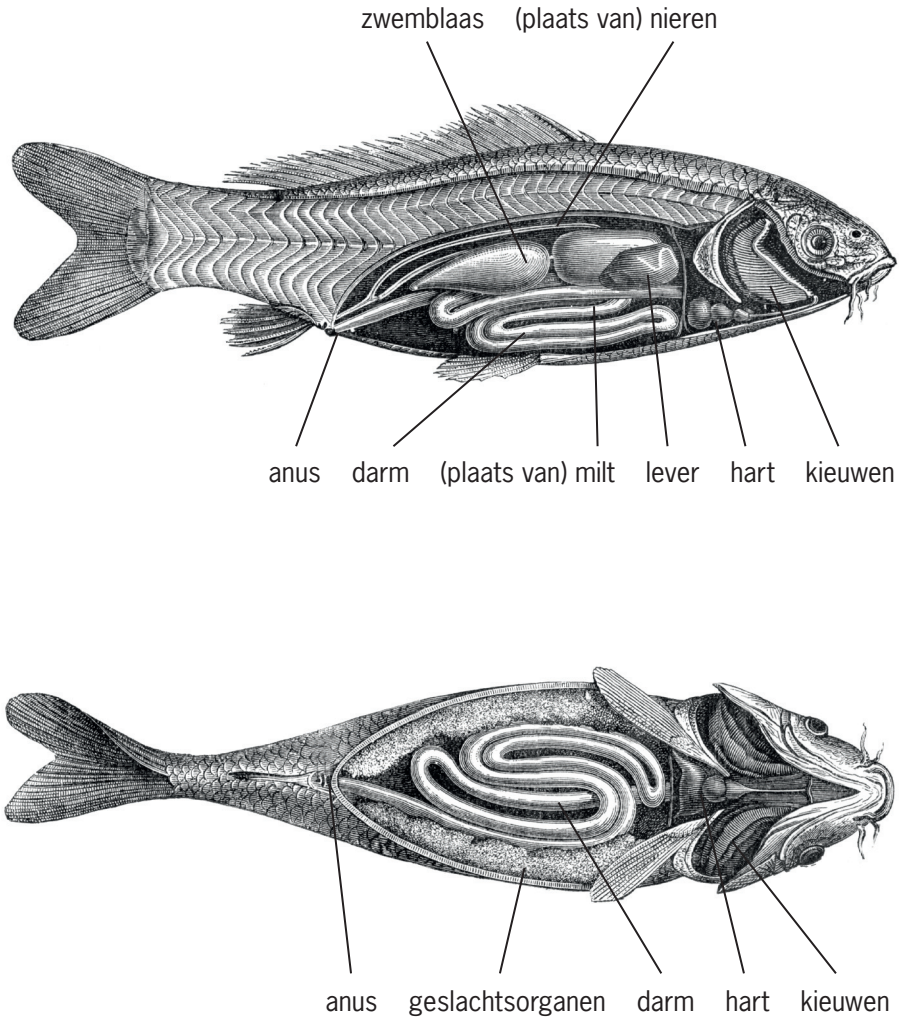
Ook een schimmelplek is te onderzoeken door middel van een huidafkrabsel. Microscopisch zien schimmels er uit als een kluwen lange dunne draden, te zien vanaf 20x vergroting.

Voor bacteriologisch onderzoek van een wond wordt de rand van de wond eerst geflambeerd of met iets 97% alcohol gedept. Vervolgens wordt met een steriele öse een monster genomen en geënt op bijvoorbeeld een bloedagarplaat. De beënte platen wordt opgestuurd naar een laboratorium dat bekend is met de kweek en identificatie van bacteriën van vissen. Ook uit de inwendige organen kan na het doden van de vis door de dierenarts, na afflamberen of

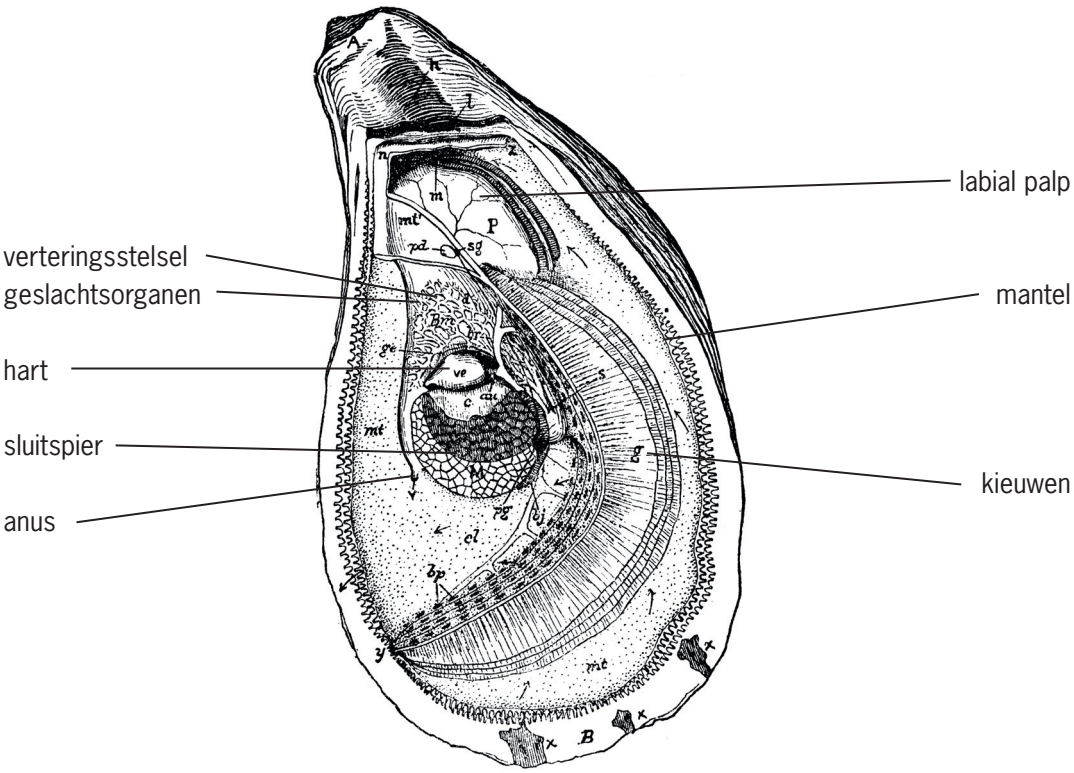
afdeppen, worden afgeënt vanuit een steriel sneetje.
Voor onderzoek op virussen met behulp van een PCR test worden orgaanmonsters in >70% alcohol gedaan en opgestuurd naar een laboratorium dat de specifieke PCR testen kan verrichten (voor KHV PCR bijvoorbeeld kieuw en nier). Voor virusisolatie dient contact opgenomen te worden met het visziektelaboratorium, omdat daarvoor zeer vers materiaal nodig is, bij voorkeur levende vis (zie ook hoofdstuk 9 *Diagnostiek bij het CVI*).

3.5. Anatomie

Figuur 3.4. (A) geeft de inwendige anatomie weer van de karper. Anders dan bij Afrikaanse meerval, forel en de paling, soorten met een duidelijk losliggende lever, ligt de lever van de karper ingebed tussen de darmen. De darmlengte van de verschillende soorten varieert en hangt met name af van het dieet. Karper eet plantaardig materiaal en bodemdiertjes en heeft een veel langere darm dan roofvissen als de forel en de paling. De forel heeft vingervormige maagzakken. In figuur 3.4. (B) is de anatomie van de Japanse oester weergegeven.



Figuur 3.4. (A) Schematische weergave van de inwendige organen van de karper.



Figuur 3.4. (B) Schematische weergave van de anatomie van de Japanse oester (mantel deels verwijderd).

3.6. Sedatie, anesthesie en euthanasie

Voor het sederen en anestheseren van vissen kunnen diverse middelen gebruikt worden. Als niet chemische middelen worden onder andere elektrische stroom en hypothermie gebruikt. Elektrische stroom geeft echter een risico voor de behandelaar en hypothermie werkt onvoldoende. Daarom worden veelal chemische middelen gebruikt, zoals Benzocaïne, 2-Phenoxyethanol of kruidnagelolie. Deze stoffen worden in het water gebracht, waarna het effect op de vissen na enige tijd optreedt. Behalve kruidnagelolie mogen de chemische middelen uitsluitend door een dierenarts worden toegepast. Palingen hebben de mogelijkheid om bij contact met een irriterende stof in het water de kieuwdeksels lang gesloten te houden, denk hieraan bij het verdoven van deze vissoort.

Wees terughoudend met de dosering bij grote, actieve, zieke, oude en magere vissen en bij water met een hoge temperatuur. Na anesthesie kunnen de vissen weer worden bijgebracht in schoon water met een luchtsteen.

Definitie en gebruik van sedatie, anesthesie en euthanasie:

- *Sedatie*: Het kalmeren of rustiger maken van vissen om bepaalde handelingen gemakkelijk en veilig te kunnen uitvoeren. De vissen zwemmen wel, maar verzetten zich niet tegen het hanteren. Gebruikt bij sorteren, selecteren, afstrijken of strippen, merken, vaccineren of injecteren en transport van vissen. Ook voor het toepassen van kleine diagnostische ingrepen zoals het nemen van huid- en kieuwafstrijkjes of bloedmonsters. Ook voor de veiligheid van de hanteerder, omdat sommige vissen (giftige) stekels, of scherpe tanden hebben.

- *Anesthesie*: Het reversibel verdoven en pijnloos maken van vissen. Gebruikt bij het uitvoeren van operatieve ingrepen en het nemen van biopten.
- *Euthanasie*: Het irreversibel verdoven en doden van vissen. Gebruikt bij het uitvoeren van sectie voor het vaststellen van een ziekteoorzaak, of het beëindigen van het leven van niet te genezen of overtollige vis.

3.7. Therapie

Uiteindelijk komt de dierenarts tot een diagnose en kan een adequate behandeling worden ingesteld. Alvorens met de behandeling te beginnen moet allereerst getracht worden om de waterkwaliteit optimaal voor de vissoort te laten zijn.

Het behandelen van kweekvissen brengt veel problemen met zich mee. Om deze problemen te vermijden is het verstandiger een ziekteprobleem proberen te voorkomen, door te zorgen voor optimale leefomstandigheden voor de gehouden kweekvissen. Bij een ziekteprobleem is het dan ook zinvol om in het logboek te kijken of een abnormale situatie is voorgevallen, net voordat een probleem zich voordeed. Het behandelen van zieke vissen kan nodig zijn, maar het opsporen van de oorzaak is minstens zo belangrijk om hiermee in de toekomst eenzelfde probleem te voorkomen.

Soms is het mogelijk om met zoötechnische maatregelen een ziekte uitbraak in de dammen, zonder het gebruik van geneesmiddelen. Bijvoorbeeld water verversen, verminderen of stoppen met voeren, verhogen of verlagen van de watertemperatuur, licht verhogen of verlagen van de pH en minder vissen per bassin houden. Soms kan een zoutbad van 5 g/l NaCl (jodium-vrij) vermindering van de bacterie- en parasietenlast geven.

Omdat bij de meeste viskwekerijen vissen in meerdere gewichtsklassen in verschillende bassins tezamen zijn aangesloten op één biofilter systeem, is het vaak onmogelijk om één of twee bassins apart met een medicijn te behandelen. Sommige anti-bacteriële en anti-parasitaire middelen kunnen ook de bacteriën in het biofilter doden. Bij gebruik hiervan moet het biofilter daarom worden losgekoppeld van het bassin. Het biofilter kan niet worden stopgezet, maar moet tijdelijk op zichzelf draaien.

Het verschil in groeisnelheid van vissen maakt dat een all-in/all-out systeem niet werkt. Dit betekent dat eventueel behandelde vissen in verschillende bassins terecht kunnen komen en als zodanig niet meer te herkennen zijn. De enige mogelijkheid die dan rest om te kunnen garanderen dat geen medicijnresten meer in de te slachten vissen aanwezig zijn, is het laten uitvoeren van een residutest. Afhankelijk van de af te leveren hoeveelheid vissen moet hiervoor een relatief groot aantal dieren worden getest. Het is een kostbaar onderzoek dat niet routinematig wordt gedaan. Informatie is via het CVI te verkrijgen.

Een behandeling dient altijd gericht tegen een bepaalde pathogeen te zijn, en niet tegen symptomen. Bij het behandelen van een parasitaire aandoening dient de parasiet daarom te zijn getypeerd, zodat een specifieke behandeling kan worden ingezet. Bij verdenking op een bacteriële aandoening dient de bacteriesoort te worden geïsoleerd en getypeerd. Een antibiogram is nodig om de gevoeligheid van de bacteriestam voor verschillende soorten antibiotica te bepalen. Aan de hand van het antibiogram kan gericht en effectief behandeld worden. Dit verkleint ook de kans op de vorming van antibioticum-resistente bij de bacteriën. Bij virale aandoeningen kunnen vaak houderijtechnische maatregelen worden genomen als het

betreffende virus geïdentificeerd is. Virussen hebben vaak een beperkte watertemperatuur range waarin ze ziekte kunnen veroorzaken. Verhogen of verlagen van de watertemperatuur naar buiten deze range kan de sterfte doen verminderen.

De Europese richtlijn 2004/28/EG heeft als doel het waarborgen van de volksgezondheid en het welzijn van de dieren (zie voor 2004/28/EG de link http://eur-lex.europa.eu). Ieder EU lidstaat dient zelf de richtlijn in de nationale wetgeving in te passen. Er is door het Productschap Vis met het Ministerie van EL&I afgesproken om tot de inpassing van de richtlijn in de Nederlandse wetgeving, een protocol voor het gebruik van diergeneesmiddelen op te nemen in de gedragscode voor viskwekers in Nederland. Deze gedragscode richt zich onder andere op het voorkomen en adequaat bestrijden van visziekten. Daarnaast geeft de code maatregelen, die genomen dienen te worden ter voorkoming van residuen in de vis en ter minimalisatie van schadelijke effecten op het ecosysteem. Het protocol gaat over hoe viskwekers om dienen te gaan met het gebruik van diergeneesmiddelen in de viskweek.

Indien bijvoorbeeld het verversen van water niet afdoende is om de ziekte te bestrijden, moet een (gespecialiseerde) dierenarts geraadpleegd worden. Als de dierenarts een behandeling noodzakelijk acht, mag hij/zij diergeneesmiddelen voorschrijven. Bij voorkeur zijn dit geneesmiddelen die zijn beschreven in de 2e bijlage van de gedragscode. In het geval van gebruik van antibiotica wordt een effectieve behandeling bij voorkeur gekozen op basis van een antibiogram tegen de geïsoleerde ziekmakende bacterie. Antibiogram en bacterietypering kunnen door het CVI worden uitgevoerd.

Tot nu toe zijn voor consumptievissen in Nederland geen geneesmiddelen geregistreerd. Gezien de geringe omvang van de aquacultuursector in Nederland wordt hier geen verandering in verwacht op korte termijn. In de visteelt beperkt men het gebruik van geneesmiddelen daarbij zo veel mogelijk, in verband met het voorkomen van residuen in visvlees en vanwege de kosten.

3.7.1. Logboek

Een logboek dient bij gebruik van enig middel, zowel bij de dierenartsenpraktijk, als bij de viskweker nauwkeurig te worden bijgehouden. De *viskweker* noteert in zijn logboek per datum alle gegevens van metingen van de waterkwaliteit, inclusief de watertemperatuur. Daarnaast moet worden genoteerd welk voer, de hoeveelheid voer en voor welke vissen dit voer wordt gebruikt. Het noteren van bijzonderheden zoals storingen in het filtersysteem of reiniging, uitval van stroom of water, het toevoegen van nieuwe vissen en ziekte of sterfte kan veel nut hebben bij het achterhalen van een ziekte uitbraak. Alle middelen (geneesmiddelen en desinfectantia) die worden gebruikt of worden toegediend moeten worden genoteerd in het logboek met gebruikte dosering.
Door de *dierenarts* dienen bij een behandeling de volgende gegevens te worden genoteerd in het logboek van de viskweker èn dat van de dierenarts (zie bijlage 12.3):

- Naam van het middel, reg.NL en batchnummer
- Datum van toediening
- Gebruikte hoeveelheid
- Afdeling en bassin nummers van de behandelde dieren
- Aantal of kilogrammen behandelde dieren
- Einde wachttijd na laatste toediening

- Naam van de behandelend dierenarts
- Leverancier van het geneesmiddel

Bij gebruik van een medicament moet een wachttermijn van minimaal 500 graaddagen worden aangehouden, tenzij voor dezelfde vissoort in een andere Europese lidstaat een andere wachttermijn is vastgesteld. Graaddagen is het product van de watertemperatuur en het aantal dagen dat niet mag worden geleverd. Dus bij een temperatuur van 25°C moet minimaal een wachttermijn van 20 dagen worden aangehouden. Bij een temperatuur van 10°C minimaal 50 dagen.

Van paling is bekend dat geneesmiddelen veel langer worden vast gehouden dan door andere vissoorten; hierbij is dan ook een langere wachttermijn nodig. Als algemene regel wordt aangehouden alleen vis van minder dan 5 gram te behandelen met antibiotica.

3.7.2. Behandeling van visziekten door de dierenarts

Vissen
Onderzoek van te behandelen vissen altijd de kieuwen vóór de behandeling. Helder roze zonder veel slijm is goed. Is er veel slijm, gebruik dan een minder toxisch preparaat. Geef vissen zo mogelijk 24 uur voor een behandeling geen eten. Van bepaalde antibiotica, bijvoorbeeld tetracyclines, is bekend dat zij immunosuppressief kunnen werken. Dit betekent dat gevoelige vissen (bijvoorbeeld paairijpe vrouwelijke vissen met kuit of vissen die in water van minder goede kwaliteit leven) een verminderde afweer hebben. Het is sterk aan te raden om een behandeling eerst uit te proberen bij een klein aantal vissen. Observeer ze goed en let op ademnood, uit de bak springen, etc. Gaat alles goed, dan de rest behandelen na 12 tot 24 uur. Zo mogelijk behandelen in een aparte bak.

Geneesmiddelen
Voor zover mogelijk wordt gebruik gemaakt van pure stoffen, omdat bij- of vulstoffen het water vervuilen. Meestal wordt een behandeling van het water ingesteld voor een bepaalde duur. Controleer tijdens en na de behandeling of het gewenste effect is bereikt. Soms zijn de kosten van diergeneesmiddel en arbeid hoger dan de verwachte schade of de waarde van de vissen.

Veelal zijn ongewervelde dieren in aquaria (anemonen, garnalen, etc.) veel gevoeliger voor allerlei chemische stoffen in het water dan de vissen. Behandel dan de vissen in een apart bassin. Sommige middelen (malachiet groen, formaline) zijn toxisch of gevaarlijk voor de gebruiker bij contact. Bij gebruik van dergelijke middelen dient beschermende kleding gedragen te worden. Bij het gebruik van bacterieremmende of bacterie dodende stoffen mogen deze stoffen niet door het biologisch filter gaan, omdat dan de bacteriën in het filter doodgaan en hun giftige afbraakproducten in het bassin komen. Tijdens een dergelijke behandeling dient het filter dan ook te worden kortgesloten.

Water
Laat bij een behandeling via het water het waterniveau zakken, dan is minder geneesmiddel nodig. Verminder de stroomsnelheid van het water bij een “flush” behandeling. Zorg voor extra beluchting of zuurstof bij een behandeling via het water. Onopgeloste vaste stoffen in water kunnen chemische stoffen binden en minder werkzaam maken, hierdoor is een juiste dosering moeilijk. Behandel daarom geen vissen in vuil water, maar ververs het water eerst.

Bij hogere temperaturen zijn veel chemische stoffen meer toxisch dan bij lagere temperatuur. Behandel vissen in buitenvijvers daarom bij voorkeur 's morgens vroeg. In zacht water met een lage pH zijn de meeste chemische stoffen meer toxisch, maar ook beter werkzaam. In hard water met een hoge pH is meer chemische stof nodig om een zelfde effect te bereiken (dan is echter ook een hoger ammoniakgehalte aanwezig met een kans op kieuwbeschadiging). Sommige stoffen zijn minder goed werkzaam in zout water, bijvoorbeeld oxytetracycline. Sulfonamiden zijn toxisch voor zoutwater vis door kristalvorming in de nieren.

Residuen en afvalwater
Veel stoffen geven schadelijke residuen in vis, water en milieu. Zowel de viskweker als de toezichthoudende dierenarts hebben elk hun eigen verantwoordelijkheid met betrekking tot het afleveren van een voedselveilig product. De viskweker moet zorgen voor residuvrije vis, terwijl de dierenarts een voldoende lange wachttermijn voor consumptie moet adviseren.

Als de behandelduur voorbij is moet het water gereinigd worden. Dit kan door water verversen en/of filtreren over actieve kool. Afvalwater behoort vrij te zijn van meststoffen en resten van geneesmiddelen, voordat het mag worden geloosd op het riool. Meerdere viskweekbedrijven willen in aanmerking komen voor een milieu keurmerk, waaruit blijkt dat men op duurzame wijze vis kweekt en het milieu spaart.

Methoden van behandelen
Kleine wonden of ontstekingen kunnen lokaal met een chemische stof wordt gedept, bijvoorbeeld 3% waterstof peroxide, waarna plaatselijk zalf kan worden aangebracht. Lokale behandeling is alleen zinvol bij een enkele siervis.

Voor een badbehandeling worden vissen of eieren kunnen korte tijd (seconden of minuten) in een hoge concentratie van een chemische stof gehouden (dip), of langere tijd in een lagere concentratie. Een permanente vorm van badbehandeling is het eenmalig toevoegen van een chemische stof aan het water (meestal in vijvers). Na verloop van tijd verdwijnt de stof of wordt omgezet. Bij een stromend bad wordt een chemische stof voor een bepaalde duur aan een bassin toegevoegd en daarna wordt snel het water ververst. Ook kan aan stromend water gedurende een bepaalde tijd een gegeven hoeveelheid chemische stof worden toegevoegd (raceways).

Via voedsel kunnen diverse stoffen (meestal antibiotica) in de vis gebracht worden. Orale toediening wordt vooral gebruikt bij systemische bacteriële aandoeningen, bijvoorbeeld een septicaemie. De duur van zo'n behandeling is vaak 7-14 dagen en de dosering wordt opgegeven in mg medicijn per kg vis per dag. Het totale gewicht van de vissen moet daarbij berekend worden en de normale voederopname per dag moet bekend zijn (dit kan variëren van 0,5 - 5% van het lichaamsgewicht). Het geneesmiddel wordt gemengd voor een voeropname van 1% omdat zieke vissen meestal minder of niet eten. Zo krijgen zij een voldoende hoge dosering geneesmiddel binnen. Een nadeel van medicatie gemengd door het voer is dat de minst of niet zieke vissen het meeste geneesmiddel opnemen.

Vis kan ook individueel worden geïnjecteerd. Dit gebeurt bij kleine aantallen grotere vissen voor vaccinaties of een antibioticum intramusculair net achter de borstvin of intra-peritoneaal net boven en voor de anus. In grotere aantallen vissen gaat dit geautomatiseerd (bijvoorbeeld in de zalmsector in Noorwegen).

Noteer altijd de datum van de laatste toediening en houdt een wachttermijn voor slachten aan van minimaal 500 daggraden.

Anti-bacteriële middelen
Gebruik van anti-bacteriele middelen gaat uitsluitend op voorschrift van een dierenarts (doseringen voor pure stof):

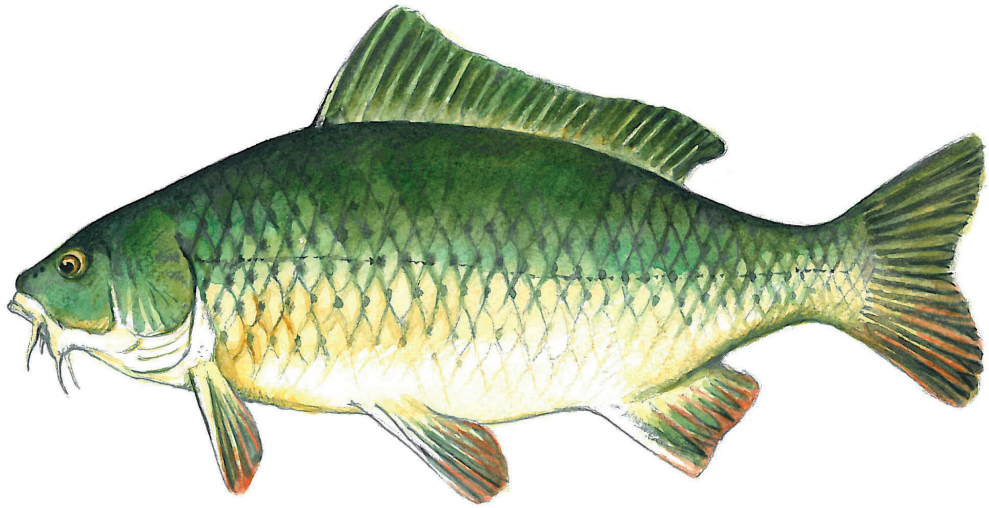
- Oxytetracycline
  In water: alleen tegen uitwendige bacteriële infecties; 20 mg/l voor 24 uur
  In voer: 50-80 mg/kg vis/dag voor 7-10 dagen
- Flumequine
  In water: 10-25 mg/l voor 3 uur
  In voer: 6-10 mg/kg vis/dag voor 7-10 dagen
- Trimethoprim + sulfadiazine (80:400)
  In water: 20 mg/l voor 12 uur
  In voer: 30-75 mg/kg vis/dag voor 5-7 dagen

Vrije middelen
Een vrij te gebruiken middel in zoet water is *jodiumvrij zout* (werkzame concentratie 1-5 gram per liter). Zout remt de groei van parasieten, schimmels en bacteriën. Ook wordt het gebruikt om het effect van een te hoog nitrietgehalte te verminderen. Het is echter onverstandig om permanent zout aan het systeem toe te voegen. Gebruik zout als goed en goedkoop geneesmiddel zonder residu vorming.

Een ander vrij toe te passen middel is *formaline* of *formaldehyde oplossing 36%* (10-20 ml op 1000 liter water gedurende 48 uur). Formaline wordt gebruikt tegen ééncellige parasieten en huid- en kieuwwormen. Voorzichtigheid is geboden bij vissen met kieuwproblemen, omdat formaline zuurstof onttrekt aan het water. Controleer daarom altijd de kieuwen voordat een behandeling wordt ingesteld. Bij zacht water met een hoge temperatuur en een lage pH is formaline meer toxisch. Niet gebruiken onder 10°C en boven 26°C en niet samen met zout. Bij gebruik altijd extra beluchten. Gebruik huid- en gezichtsbescherming indien met formaline wordt gewerkt en voorkom inhaleren. Op EU niveau zal formaline op korte termijn worden verboden in verband met de cytotoxische, mutagene en carcinogene effecten op mens en dier.

Dit hoofdstuk is gebaseerd op gegevens uit onderstaande werken. Meer en gedetaileerdere informatie over behandelingen is dan ook te vinden in deze boeken.

- Andrews C, Exell A, Carington N (2008) Medisch handboek vissen voor aquarium en vijver. Veltman Uitgevers. 208 pp. ISBN 978-90-5920-837-7
- Branson EJ (2008) Fish welfare. Blackwell. 300 pp. ISBN 978-14-0514-629-6
- Brown L (1993) Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine. Pergamon press, Oxford, UK. 447 pp. ISBN 0-08040-835-4
- Haenen O, Werkman P (2010). Aquacultuur in Nederland en België. Diergeneeskundig Memorandum 57, 44 pp. ISSN 04174631
- Noga EJ (1995) Fish disease, diagnosis and treatment. Mosby, St.Louis, USA. 367 pp. ISBN 1-55664-374-8
- Post GW (1983) Textbook of fish health. T.F.H. Publications, Neptune City, USA. 256 pp. ISBN 0-87666-599-7
- Stoskopf M (1993) Fish medicine. Saunders, Philadelphia, USA. 882 pp. ISBN 0-7216-2629-7
- Treves-Brown KM (2001) Applied fish pharmacology. Springer-Verlag, New York, USA. 324 pp. ISBN 0-4126-2180-0.



Visziekten 4

4.1. Virale ziekteverwekkers van vissen

4.1.1. VER/VNN

Zeebaars, zeebrasem, barramundi, heilbot, tarbot en andere zeevis

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

Virale encephalopathie en retinopathie (VER) of Virale nerveuze necrose (VNN) zijn namen voor dezelfde ziekte die veroorzaakt wordt door een nodavirus, een enkelstrengs (+)RNA virus van 25-30 nm in diameter uit de familie Nodaviridae, genus Betanodavirus. Qua gastheer is het virus aspecifiek: de ziekte is bekend bij minstens 20 marine vis soorten over de hele wereld, met uitzondering van Amerika en Afrika (Munday et al. 2002). De grootste schade is tot nu toe geleden bij kwekerijen van zeebaars (*Dicentrarchus labrax*), zeebrasem (*Sparus aurata*), barramundi (*Lates, calcarifer*), en platvissoorten, zoals heilbot (*Hippoglossus hippoglossus* en *Paralichthys olivaceus*) en tarbot (*Scophthalmus maximus*). In Europa zijn er vele meldingen van het virus uit zeebaars en zeebrasem uit onder ander Frankrijk, Italië en Griekenland. In Nederland is het virus nog niet gedetecteerd.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

Ziekte door het nodavirus karakteriseert zich door allerlei nerveuze afwijkingen: de vis zwemt op de kop, draait spiraalvormig in het water, vertoont evenwichtsverlies, hyperactiviteit, en wil uit het water schieten. Dit gedrag wordt veroorzaakt door holten die ontstaan in de hersenen van de vis. Bij jongere vis zijn de verschijnselen erger, oudere vis vertoont vaak alleen aantasting van de ogen. Soms ontstaat gebrek aan eetlust, waardoor de vis uitput, bijvoorbeeld bij heilbot.

De ziekte treedt op bij een watertemperatuur van 18-25°C. De sterfte kan bij broed soms 100% bedragen in enkele dagen, maar kan ook erg laag zijn. Bij zeebaars van 2-200 gram verloopt de sterfte langzaam met 0,5% per dag, maar kan uiteindelijk oplopen tot totaal 50% van de partij. De incubatietijd van het virus is minimaal 4-9 dagen.

Diagnostische methoden

Als de bovenvermelde verschijnselen te zien zijn kan de ziekte al vermoed worden. Er is een cellijn van Striped Snakehead (*Ophiocephalus striatus*) beschikbaar (SSN-1) waar het virus op geïsoleerd kan worden. Na virusisolatie wordt een specifieke kleuring gedaan, bijvoorbeeld een immunofluorescentie-test (IFAT) met specifieke antilichamen tegen het nodavirus om het virus te typeren. Ook zijn er PCR-testen in gebruik die in korte tijd uitsluitsel kunnen geven over de aanwezigheid van genetisch materiaal van een nodavirus in de vis.

Overdracht van de infectie en preventie

Tot nu toe is alleen horizontale transmissie bekend, dat wil zeggen, ziekte-overdracht direct tussen vissen of via water, netten, emmers, etc. van de ene naar de andere vis. Verticale transmissie van de ziekte (van ouderdier op nakomeling) wordt niet uitgesloten. Zoals bij de meeste visziekten slaat de ziekte eerder toe onder invloed van stress.

In het open water is desinfectie niet praktisch toepasbaar. Hatcheries worden preventief beschermd tegen het virus door desinfectie van het inkomende water. Zonering van kustgebieden, al dan niet vrij van de ziekte vindt ook plaats in Zuid-Europa, zodat alleen handel plaatsvindt tussen bedrijven uit gebieden met dezelfde gezondheidsstatus. De ziekte is echter een opkomende ziekte, die zich steeds meer uitbreid in het Middellandse Zee gebied. Er is nog geen commercieel vaccin beschikbaar.

4.1.2. ISAV

ISAV staat op de lijst van niet-exotische visziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU
Atlantische zalm

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Een uitbraak met Infectieuze zalm anaemie (ISA) werd voor het eerst beschreven in 1984 bij gekweekte Atlantische zalm *(Salmo salar)* in Noorwegen (Thorud & Djupvik 1988). De ziekteverwekker, het ISA virus (ISAV), is pas 10 jaar later geïsoleerd en beschreven (Dannevig et al. 1995). ISAV is een enkelstrengs (-)RNA-virus met een diameter van 100x130 nm uit de familie Orthomyxoviridae genus Isavirus. Het influenza virus behoort ook tot deze familie. De gevoelige soort voor ISA is de Atlantische zalm. Het virus kan echter ook worden overgedragen naar en overleven in andere zalm-achtigen, zoals de beekforel (*Salmo trutta fario*), zeeforel (*Salmo trutta trutta*), regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*) en de Coho zalm (*Oncorhynchus kitsutch*; EFSA 2008). Er zijn circa 28 verschillende stammen beschreven die afstammen van een niet-virulente en niet kweekbare stam HPR0 (Mjaaland et al. 2002, Nylund et al. 2003). Na Noorwegen werd ISA in 1996 voor het eerst in Canada gediagnosticeerd en later in Schotland, de Verenigde Staten, Chili en de Faeröer Eilanden. In Nederland komt de ziekte niet voor.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
ISAV geeft bij Atlantische zalm karakeristieke klinische verschijnselen: de vis hangt sloom aan het wateroppervlak, heeft uitpuilende ogen met bloedingen, zeer bleke kieuwen, en een opgezette buik, gevuld met buikvocht tussen de organen. De lever wordt opvallend donker van kleur, van bruin tot tegen het zwarte aan. Verder worden puntbloedingen in de huid, in en tussen de organen en in het vet gezien. In tegenstelling tot veel andere virusinfecties bij vis is de milt donker en sterk opgezet. De darm verstopt en is aan de kopzijde erg donker door bloedingen. De vis lijdt aan zeer zware bloedarmoede. De sterfte varieert, maar kan oplopen tot 90%.

Figuur 4.1.2. Atlantische zalm met klinische verschijnselen van Infectieuze zalm anaemie (ISA): donkere lever, puntbloedingen en donkere, opgezette milt (foto ter beschikking gesteld door National Veterinary Institute, Oslo, Noorwegen).

Diagnostische methoden
Waarneming van de bovenvermelde klinische verschijnselen in Atlantische zalm geeft al een verdenking op de aanwezigheid van het ISA virus. Dit kan ondersteunend worden bij waarneming van een lage hematocriet-waarde: meestal onder de 10%, maar soms zelfs slechts 1-5% (gezonde vis heeft meer dan 30%), zware bloedarmoede dus. De pathogene stammen van het virus zijn te isoleren op een zalmcellijn (SHK-1 of ASK-II). Het geïsoleerde virus kan getypeerd worden met behulp van een immunofluorescentie-test, met specifiek antilichamen tegen ISAV. PCR-testen worden toegepast voor snelle en gevoelige detectie van (subklinisch) geïnfecteerde vissen bij verdenkingen en voor typering van de ISAV-stam.

Overdracht van de infectie en preventie
Tot nu toe is alleen horizontale transmissie bekend, dat wil zeggen, ziekte-overdracht direct tussen vissen of via water, netten, emmers, etc. van de ene naar de andere vis. De kans op overdracht via de zalmluis, ontlasting en plankton is minder groot. Omdat de ziekte in open water voorkomt is strikte desinfectie onmogelijk. In landen met zalmkweek wordt dan ook een zonering van de kust aangehouden, met gebieden van verschillende status: ziektevrij, bewakingsprogramma en besmet. De belangrijkste besmettingsbronnen bij zalmkwekerijen zijn de voederboten, zalmslachterijen en hun afvalproducten en afvalwater. Daar zijn dan ook inmiddels tal van maatregelen van kracht geworden, ter preventie van verspreiding van het virus en de ziekte.

4.1.3. VHSV

VHSV staat op de lijst van niet-exotische visziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU, NL
Forel, tarbot en vele andere soorten

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Virale haemorrhagische septicaemie (VHS) is sinds 1965 (Jensen) een zeer belangrijke virusziekte van gekweekte regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*) in Europa, en sinds 1988 ook aanwezig in regenboogforel in de Verenigde Staten. De ziekte wordt ook wel 'Egtved disease' genoemd naar de eerste vindplaats. Het VHS virus (VHSV) is een enkelstrengs (-)RNA virus van het genus Novirhabdovirus binnen de familie Rhabdoviridae. Naast regenboogforel is het virus ook geïsoleerd uit gekweekte tarbot (*Scophthalmus maximus*), haring (*Clupea harengus*), kabeljauw (*Gadus morhua*) en tientallen andere vissoorten, zowel zeevis als zoetwatervis (EFSA 2008). Recentelijk heeft VHSV zich verspreid over het Grote Meren gebied in de Verenigde Staten, waarbij een groot aantal uitbraken zijn geweest met sterfte bij meer dan 28 vissoorten (Ammayappan & Vakharia 2009). Er zijn 4 genotypen van VHSV beschreven, waarvan type I voornamelijk in regenboogforel voorkomt, type II uit niet-zieke Baltische zeevis is geïsoleerd, type III in zieke tarbot - onder andere uit het Verenigd Koninkrijk - is gevonden, en type IV in de VS en in Japan voorkomt. In Nederland komt het virus sporadisch voor bij forel; met slechts eens in de ongeveer 7 jaar een melding van een ziekte-uitbraak.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
VHSV veroorzaakt met name in het voorjaar en soms in de herfst bij 7-11°C ziekte bij alle levensstadia van de vis. Boven de 16°C wordt het virus geremd. De klinische verschijnselen van de ziekte zijn op te delen in 3 fasen:

- Acute fase: sloom worden van de vis, in de hoek van de vijver zwemmen, hoge sterfte, iets donkerkleuring van de huid, uitpuilende ogen, bloedingen in het oog en aan de vinbases, bleke kieuwen met puntbloedingen, inwendige puntbloedingen in organen, vet en spieren, en buikvocht.

- Subacute fase: draaierig zwemmen rond de lichaamsas, sterfte neemt af, sterkere donkerkleuring van de huid, uitpuilende ogen, grijs-witte kieuwen zonder duidelijke bloedingen, algehele bloedarmoede, bleke organen en bloedingen in de lever.
- Nerveuze of eindfase: nog steeds abnormaal zwemgedrag, lagere sterfte, minder buikvocht, en normalere kieuwkleur.

De sterfte is afhankelijk van het VHSV type en stressfactoren en kan oplopen tot 80%.

Figuur 4.1.3. Regenboogforel met Virale haemorrhagische septicaemie (VHS), veroorzaakt door het VHS-virus. De vis vertoont donkerkleuring, een aangetaste rugvin, uitpuilende ogen met bloedingen en een opgezette buik.

Diagnostische methoden

VHSV is te isoleren op cellijnen zoals, de regenboogforel-gonaden cellijn RTG-2. Na virusisolatie zijn onder de electronenmicroscoop de kogelvormige rhabdovirus-deeltjes te zien. Het virus kan worden getypeerd met specifieke antilichamen tegen VHSV in een indirecte immunofluorescentie-test. Verder zijn er snelle en specifieke PCR-testen beschreven, waarmee genetisch materiaal van het virus kan worden aangetoond (Matejusova et al. 2008).

Overdracht van de infectie en preventie

De overdracht verloopt horizontaal, dat wil zeggen, direct tussen vissen of via water, netten, emmers, etc. van de ene naar de andere vis, maar ook via bijvoorbeeld bloedzuigende visparasieten. Om binnen een bedrijf het virus dus niet van de ene naar de andere unit over te brengen, dient er dus steeds een goede hygiëne te worden betracht. Koop VHSV-vrije pootvis aan, met een gezondheidscertificaat. Desinfecteren van viseieren kan bijvoorbeeld met Wescodyne^{R}.

De ziekte zal vooral onder invloed van stress optreden, bijvoorbeeld na overvoedering, transport, te hoge visdichtheden etc. Tijdens een uitbraak kunnen er houderijtechnische maatregelen worden getroffen: aangezien de ziekteverschijnselen verdwijnen boven een watertemperatuur van 16°C is het verhogen van de watertemperatuur dus een maatregel om de sterfte te verminderen. Het virus blijft dan echter op het bedrijf aanwezig, en vissen die een uitbraak overleven blijven de rest van hun leven drager van het virus. Na een uitbraak is het dan ook zaak het bedrijf geheel te ruimen, de vijvers te desinfecteren met ongebluste kalk en deze daarna enkele maanden droog te laten liggen om nieuwe uitbraken te voorkomen. Internationaal zijn experimenteel DNA-vaccins ontwikkeld, die in Nederland echter niet zijn toegelaten.

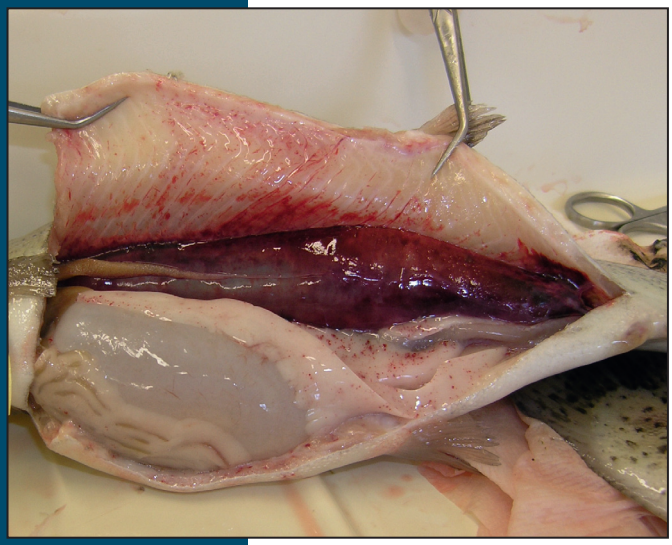
OIE, EU, NL
Forel en andere salmoniden

4.1.4. IHNV

IHNV staat op de lijst van niet-exotische visziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Infectieuze haematopietische necrose (IHN) is van oudsher een zeer belangrijke virus ziekte van gekweekte salmoniden in de Verenigde Staten en Canada. In 1987 is het IHN virus (IHNV) voor het eerst in Europa gevonden, waar het sindsdien diverse ziekte-uitbraken heeft veroorzaakt in Frankrijk, Italië, België en Duitsland. Ook in Nederland is de ziekte verschillende malen gedetecteerd. De gevoelige soorten voor het virus zijn regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*), andere *Oncorhynchus*-soorten en diverse zalmsoorten (EFSA 2008). Jonge vis tot 100 gram is het meest gevoelig. IHNV is een enkelstrengs (-)RNA virus van het genus Novirhabdovirus binnen de familie Rhabdoviridae. Tot nu toe zijn de isolaten gegroepeerd tot één serogroep, verwant aan VHSV.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
IHNV veroorzaakt rond 10 tot maximaal 15°C ziekte verschijnselen bij forel en zalm: soms spiraalvormig zwemmen, bloedingen in de buikholte en in het oog rond de pupil, donkerkleuring van de huid, uitpuilende ogen, bleke kieuwen, opgezette buik door buikvocht, bloedingen aan de vinbases, bloedarmoede (te zien aan de bleke organen), en puntbloedingen in het inwendige vet en in de spieren. Er bevindt zich vaak een gelatineuze inhoud in de darmen. Bij dooierzak-broedstadium zijn bloedingen in de dooierzak zichtbaar. De genoemde afwijkingen kunnen bij een acute IHN-uitbraak voor een deel uitblijven. Ziekte en sterfte treden op bij 8-15°C. Bij net gehatched broed loopt de sterfte in 8-15 dagen op tot 80-100%. Bij oudere vis van meer dan 1 jaar is de sterfte chronischer en meestal niet hoger dan 10%.



Figuur 4.1.4 Regenboogforel met Infectieuze haematopietische necrose (IHN) veroorzaakt door IHN virus: bleke organen en bloeding in de verschillende weefsels.

Diagnostische methoden
IHNV is goed te isoleren op bijvoorbeeld de regenboogforel-gonaden cellijn RTG-2. Typering is analoog aan die van VHSV, zie boven.

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht verloopt horizontaal, dat wil zeggen, direct tussen vissen of via water, netten, emmers, etc. van de ene naar de andere vis, maar ook via bijvoorbeeld bloedzuigende visparasieten. Om binnen een bedrijf het virus dus niet van de ene naar de andere unit over te brengen dient er dus steeds een goede hygiëne te worden betracht. Koop IHNV-vrije pootvis aan met een gezondheidscertificaat. Van IHN zijn ook enkele gevallen bekend van overdracht van infectie via virus aan de buitenkant van viseieren. Desinfecteren van viseieren kan met bijvoorbeeld Wescodyne^{R}. Net als bij VHS treedt ook IHN vooral op onder invloed van stress. Bij een uitbraak van IHN houderijtechnische maatregelen worden getroffen. De aanbevelingen zijn analoog aan die van VHS, maar met een watertemperatuur van 15°C in plaats van 16°C.

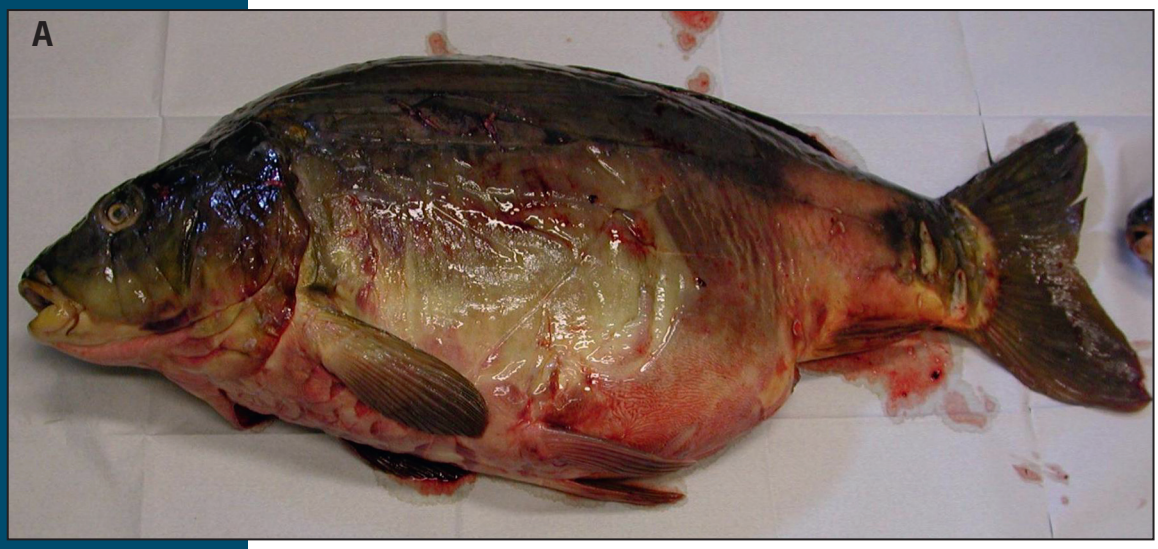
4.1.5. SVCV en PFRV

Ziekteverwekkers, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De virussen die de oorzaak zijn van Voorjaarsviraemie van de karper (SVC) en Pike fry rhabdovirus ziekte (PFRD) zijn sterk verwant aan elkaar. Beide zijn enkelstrengse (-)RNA virussen van het genus Vesiculovirus uit de familie Rhabdoviridae (Betts et al. 2003). Wereldwijd zijn de virusisolaten in 4 genogroepen verdeeld, waarbij het SVC virus (SVCV) tot genogroep I behoort, genogroep II een enkele graskarperisolaat bevat, genogroup III het referentie PFR virus (PFRV) isolaat bevat en genogroep IV vele andere verwante isolaten bevat, onder andere PFRV van zeelt (*Tinca tinca*) en winde (*Leuciscus idus*) (Betts et al. 2003, Stone et al. 2003). SVC (Fijan et al. 1971) veroorzaakt door SVC virus is een ziekte van voornamelijk karperachtigen (OIE 2009): karper en koi (*Cyprinus carpio*), zilverkarper (*Aristichthys nobilis*), kroeskarper (*Carassius carassius*), bighead karper (hybride van zilverkarper), graskarper (*Ctenopharyngodon idella*), en Europese meerval (*Silurus glanis*). Karpers tot 1 à 2 jaar zijn het meest vatbaar zijn. In Nederland is eens in de paar jaar een SVCV uitbraak aangetoond in het buitenwater, gepaard met hoge karpersterfte. SVC komt ook in Midden- en Oost-Europa voor. Het Verenigd Koninkrijk heeft een vrije status voor SVC gebaseerd op art. 43 in de EU-regelgeving 2006/88/EC om hun land, dat vele levende karperachtigen importeert, te beschermen tegen SVC.
PFRV geeft hoge sterfte onder jonge snoek (*Esox lucius*; Bootsma 1971, Bootsma & van Vorstenbosch 1973). PFRD is in Nederland meermalen vastgesteld. In Nederland is ook een verwant PFRV isolaat gevonden in jonge zieke blankvoorn (*Rutilus rutilus*; Haenen & Davidse 1993). Dit virus bleek ziekteverwekkend voor jonge vissen van enkele karpersoorten, maar niet voor jonge snoek.

NL
SVCV: karper, koi
PFRV: snoek, blankvoorn

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
SVCV veroorzaakt met name in het vroege voorjaar ziekte in buitenvijvers of open water, als de karpers na een koude winter flink zijn ingeteerd op hun reserves en een verminderde weerstand hebben. Bij watertemperaturen onder de 15-17°C kan het virus toeslaan en, afhankelijk van de omgevingsfactoren en de conditie van de vis, een geleidelijk oplopende sterfte veroorzaken tot circa 30%. Boven de 20°C komen geen uitbraken van SVC voor. Sterfte in een partij kan dan ook geremd worden door de watertemperatuur te verhogen tot boven de 20°C. De ziekte uit zich met de volgende verschijnselen: de karper zondert zich af, vertoont donkerkleuring en wordt steeds slomer. Er ontstaat exophthalmus (uitpuilende ogen), een opgezette buik door veel buikvocht, puntbloedingen in de huid, kieuwen, spieren, inwendig vet, zwemblaas en andere inwendige organen, bloedarmoede, en een wittige slijmdraad uit de anus. Door de opgezette buik werd de ziekte vroeger ook wel ‘infectieuze buikwaterzucht’ van de karper genoemd.

PFRV geeft twee klinische manifestaties in jonge snoek, elk met hoge sterfte (Bootsma 1971, Bootsma & van Vorstenbosch 1973): bij zeer jonge snoek door een waterhoofd (hydrocephalus), en bij iets oudere snoek (4 à 6 cm) als roodziekte met spierbloedingen, ascites en uitpuilende ogen.



Figuur 4.1.5. (A) Karper met Voorjaarsviraemie van karper (SVC) door SVC virus: donkerkleuring, uitpuilende ogen, opgezette buik en puntbloedingen (foto CEFAS, UK).

Figuur 4.1.5. Klinische manifistatie van *pike fry rhabdovirus* (PFR) bij jong snoek met (B) waterhoofd (foto ter beschikking gesteld door Dr. R. Bootsma) en als (C) roodziekte (foto gemaakt door Directie Visserijen, ter beschikking gesteld door Dr. R. Bootsma).

Diagnostische methoden

SVCV en PFRV zijn te isoleren op onder ander de karperpapilloom epitheel (EPC) cellijn, Fat Head Minnow (FHM) cellijn en de Rainbow Trout Gonad (RTG-2) cellijn bij 15°C. Na virusisolatie wordt het virus getypeerd met antilichamen tegen SVCV en PFRV in bijvoorbeeld een virusneutralisatie-test of een immunoflurescentie-test (IFAT). Voor SVCV zijn ook PCR-testen beschikbaar voor detectie en typering van het virus in organen van de zieke vis.

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht van SVCV verloopt horizontaal, dat wil zeggen, direct tussen vissen of via water, netten, emmers, etc. van de ene naar de andere karper. Daarnaast kan, in zeldzame gevallen, verticale overdracht plaatsvinden, dat wil zeggen van moedervis naar broed via besmette eitjes. De incubatietijd bedraagd circa 10-15 dagen bij 16-17°C. Er dient steeds een goede hygiëne te worden betracht tussen units van kwekerijen of buitenvijvers, om het virus niet van de ene naar de andere unit over te dragen.
Bij een uitbraak kunnen houderijtechnische maatregelen worden genomen: om de sterfte te stoppen dient de watertemperatuur verhoogd te worden tot circa 20°C. Uitroeiing van de ziekte door middel van ruiming, drooglegging en desinfectie van de vijvers is een mogelijkheid. De overlevende karper van een SVC uitbraak heeft wel afweer tegen het virus opgebouwd. Het advies is om SVCV-vrije pootvis met gezondheidscertificaat aan te kopen.
Overdracht van PFRV van jonge snoek gaat via verticale transmissie van oudervis op snoekeieren, maar de ziekte openbaart zich pas als de snoekjes circa 4 cm lang zijn. Preventief kunnen afgestreken bevruchte snoekeieren worden gedesinfecteerd met een jodiumoplossing, waardoor het virus wordt gedood (Bootsma et al. 1975).

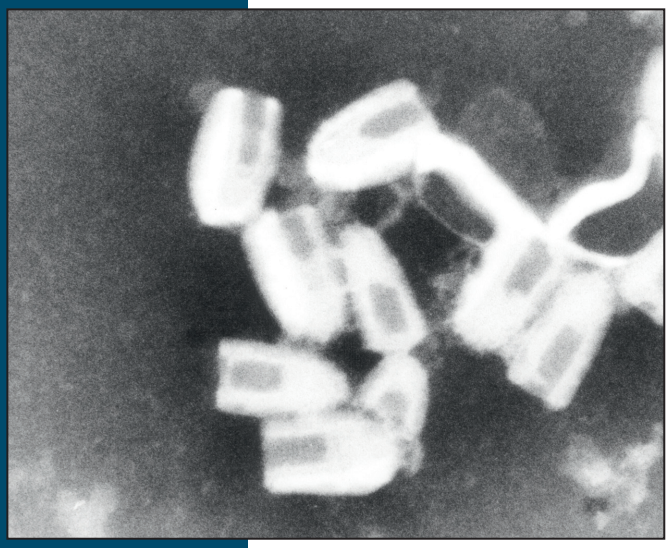
4.1.6. EVEX

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Eel virus European X (EVEX) is een enkelstrengs (-)RNA virus van het genus Vesiculovirus uit de familie Rhabdoviridae van Europese paling, *Anguilla anguilla*. Het werd in 1977 ontdekt in Japan, toen uit Europa geïmporteerde Europese paling van 0,25-0,6 gram het virus bleken te bevatten bij importcontrole, zonder dat de palingen ziek waren (Sano 1976). Palingen uit die groep bleken bij hogere leeftijd antilichamen te hebben opgebouwd tegen EVEX. In Nederland wordt EVEX regelmatig gevonden bij paling, meestal in combinatie met een stressfactor en/of een andere primaire ziekteverwekker. In de palingkweek gaat een infectie met EVEX vaak gepaard met een infectie van een ander virus als EVE of HVA. Het virus is wijdverspreid in Europa (van Beurden et al. 2011).
EVEX is nauw verwant aan Eel Virus American (EVA), dat in 1976 uit Amerikaanse paling *Anguilla rostrata* afkomstig uit Cuba is geïsoleerd (Sano 1976). Beide virussen zijn mogelijk verschillende stammen van hetzelfde virus (Hill et al. 1980). Voor zover bekend is EVA niet aanwezig in Europa.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
EVEX werd in Japan uit ogenschijnlijk gezonde Europese paling geïsoleerd. In Nederland is EVEX inmiddels regelmatig gevonden in zieke paling, die ook virusverdachte verschijnselen vertoonden: bleke, niet opgezette milt, puntbloedingen, bloedarmoede en bloederig buikvocht. Meestal was er dan een hoofdoorzaak aan te wijzen, zoals stress door sorteren, of een primaire ziekteverwekker zoals een ander virus of de bacterie *Vibrio vulnificus*. In infectieproeven was EVEX niet ziekteverwekkend voor glasaal, oudere Europese paling en karperachtigen, maar wel voor regenboogforelbroed (*Oncorhynchus mykiss*; ongepubliceerde data Haenen et al.).

Diagnostische methoden
EVEX kan dus aanwezig zijn in paling zonder ziekte verschijnselen. Voor isolatie van het virus worden de milt, lever, nieren en eventueel de kieuwen uit de paling genomen, verwreven en op een cellijn gezet. EVEX is goed te isoleren op onder andere de Japanse palingnier (EK-1) cellijn, maar ook op de Fat Head Minnow (FHM) cellijn en de Rainbow Trout Gonad (RTG-2)

cellijn. Na virusisolatie kan het virus getypeerd worden met antilichamen tegen EVEX in een immunoflurescentietest (IFAT) of met een specifieke kwantitatieve PCR-test (van Beurden et al. 2011). Bij paling komen dubbelinfecties van EVEX samen met een ander palingvirus als EVE of HVA frequent voor.



Figuur 4.1.6. Elektronenmicroscopische opname van het kogelvormige rhabdovirus Eel virus European X (EVEX).

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht van EVEX verloopt horizontaal, dat wil zeggen, direct tussen vissen of via water, netten, emmers, etc. van de ene naar de andere paling. Er dient dus steeds een goede hygiëne te worden betracht tussen units van kwekerijen, om het virus niet van de ene naar de andere unit over te brengen. Of er in het wild verticale transmissie plaatsvindt, dat wil zeggen van ouderdier via besmette eitjes op de nakomelingen, is onbekend. De verschillende stammen van EVEX en EVA kunnen variëren in virulentie. Import van Japanse en Amerikaanse paling heeft een mogelijke risico van insleep van EVA, een stam die schadelijker zou kunnen zijn voor de Europese paling.
Er zijn geen vaccins tegen EVEX beschikbaar. Wel kunnen soms houderijtechnische maatregelen worden getroffen door de watertemperatuur aan te passen naar een waarde die buiten de ideale temperatuur voor virusvermeerering valt. Voor EVEX varieert de optimale temperatuur: de ene virusstam groeit goed bij 15˚C, terwijl de andere bij 26˚C groeit. Het is dan ook zaak om in overleg met het visziektenlaboratorium waar EVEX is aangekweekt, de optimum temperatuur voor de virusstam na te gaan, zodat de watertemperatuur naar een range daarbuiten kan worden gebracht.

4.1.7. IPNV

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De ziekte Infectieuze pancreatische necrose (IPN) werd voor het eerst gevonden in 1940 in Canada bij zieke jonge forel. De veroorzaker, het IPN virus werd pas in 1960 voor het eerst gezien (Wolf 1966). IPNV is een dubbelstrengs RNA-virus uit de familie Birnaviridae genus Aquabirnavirus, dat vooral bij salmoniden grote problemen veroorzaakt. Het virus is inmiddels wereldwijd verspreid en naast salmoniden zijn een groot aantal andere vissoorten gevoelig voor verschillende Aquabirnavirus stammen. Daarnaast kunnen verschillende aquatische

diersoorten optreden als drager van het virus. Er worden 7 genotypen onderscheiden waarvan de belangrijkste zijn: genogroep 1 met onder andere de stam *VR299* uit forel, genogroep 3 met onder andere de stam *Ab* uit forel, maar ook paling stammen en stammen geïsoleerd uit schelpdieren, genogroep 5 met onder andere de stam *Sp* uit forel en stammen uit schelpdieren en genogroep 6 met de stam *He* uit snoek (Blake et al. 2001, Zhang & Suzuki 2004). Genogroup 3 van dit virus komt dus ook bij paling voor onder de naam Eel virus European (EVE; zie 4.1.8). Zowel IPNV als EVE komen in Nederland uitgebreid voor.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

Zowel broed als parr van vooral bronforel (*Salvelinus fontinalis*) en regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*) zijn gevoelig voor IPN infecties, zoals van het type *Sp*. IPNV veroorzaakt rond 6 tot maximaal 16°C bij met name jonge forel donkerkleuring, zwelling van de buik, puntbloedingen in de maagzakken en organen, bleke organen, opzetten van de galblaas en soms donkerkleuring van de staart en bultjes op de kop. Karakteristiek is verder de gele, melkachtige visceuze vloeistof in de darmen, waarbij een witte draad uit de anus hangt (pseudo faeces). Het forellenbroed vertoont bij IPN soms ongecoördineerde spiraalvormige zwembewegingen. De sterfte kan oplopen tot 90%.

Diagnostische methoden

IPNV is goed te isoleren op bijvoorbeeld de regenboogforel gonaden (RTG-2) cellijn. Het virus veroorzaakt daarin een cytopathogeen effect (cpe). Na virusisolatie kan het virus getypeerd worden met specifieke antilichamen tegen de belangrijkste Birnavirussen, in bijvoorbeeld een immunoperoxidase test (IPMA). Ook zijn PCR-testen ontwikkeld, waarbij genetische materiaal van het virus worden gedetecteerd.

Overdracht van de infectie en preventie

De overdracht verloopt horizontaal, dat wil zeggen, direct van vis naar vis via water, netten, emmers, laarzen, vogelpoep, viseieren en bloedzuigende visparasieten. Er dient dus steeds een goede hygiëne te worden betracht tussen units van kwekerijen, om het virus niet van de ene naar de andere unit over te dragen. Daarnaast heeft IPNV een verticale transmissie en kan dus via viseieren en/of sperma worden overgedragen op de volgende generatie. Soms is verticale overdracht gedurende meerdere generaties niet te merken, omdat de vissen niet ziek worden. De vis fungeert dan als drager van het virus. Onder invloed van stress kan het opeens weer de kop opsteken.

Internationaal, onder andere in Noorwegen, zijn vaccins tegen IPN op de markt welke uitgebreid worden toegepast. Zoals voor vele virusziekten geldt dat stress vermijden het belangrijkste is ter preventie van IPN. Het aankopen van ziektevrije vis met gezondheidscertificaat met betrekking tot IPNV is ook mogelijk. Dit loont echter alleen als er op het bedrijf waar de vis heengaat IPNV-vrije omstandigheden heersen. Voor Denemarken bijvoorbeeld zijn alleen de topstroomse forellenbedrijven IPNV-vrij, die direct uit een bron water putten en niet uit een rivier.

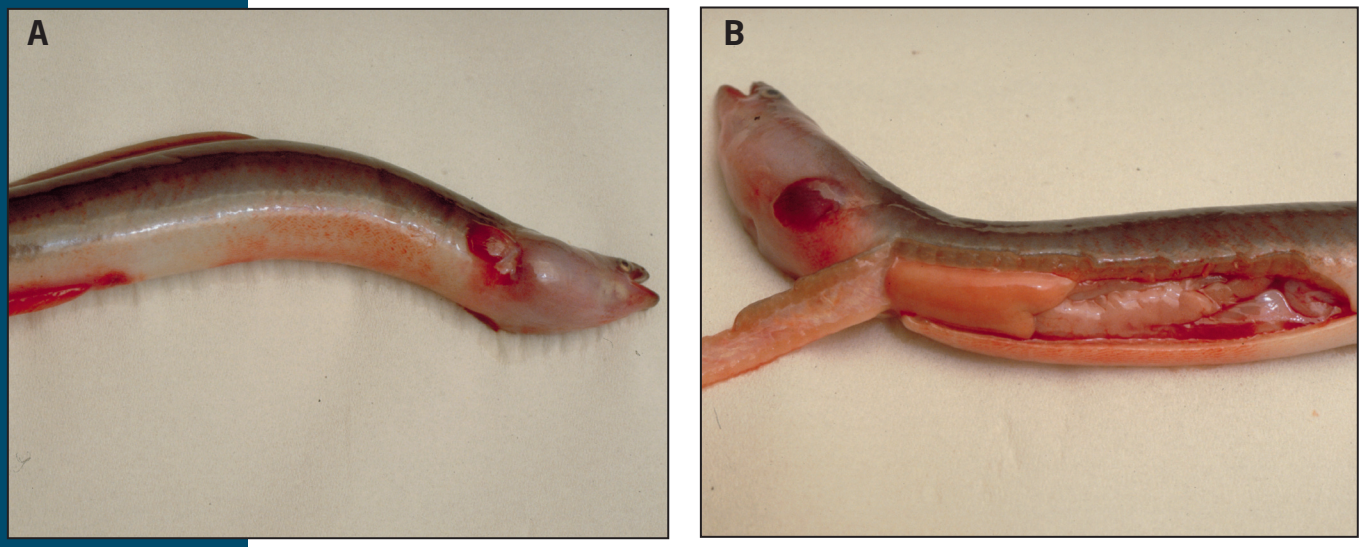
Bij een uitbraak kunnen houderijtechnische maatregelen worden getroffen. Uitroeiing van de ziekte door middel van drooglegging en desinfectie van de vijvers is een mogelijkheid. IPNV is echter zeer persistent: het kan meer dan 6 maanden overleven in zeewater en meer dan 3 maanden in zoetwater, buiten de vis om en kan langdurig tegen uitdroging. Het virus kan dan ook makkelijk via laarzen en autobanden van het ene naar het andere bedrijf worden overgedragen. Door die eigenschappen en de grote geografische verspreiding is bestrijding zeer lastig.

4.1.8. EVE

NL
Europese paling
Japanse paling

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Eel virus European (EVE) is een virus dat sinds 35 jaar in Japan branchionephritis (nierziekte) bij Japanse paling *Anguilla japonica* veroorzaakt, met sterfte tot 50%. In 1976 werd het virus voor het eerst in Europese paling *Anguilla anguilla* gevonden (Wolf 1988). Het ging hier om IPNV type *Ab*, dat niet schadelijk bleek te zijn voor forelachtigen, maar wel voor Europese en Japanse paling. Net als IPNV is EVE dus een Aquabirnavirus uit de familie Birnaviridae. In Nederland wordt ook wel van 'roodziekte' of 'roodkopziekte' gesproken, echter deze namen worden soms ook voor *Vibrio*-infecties gebruikt.
Sinds 1980 is EVE regelmatig geïsoleerd in Europa uit zowel gezonde als zieke Europese paling. De stammen uit paling uit Nederland behoren tot Aquabirnavirus genotype 3 (niet gepubliceerde data, Engelsma et al.). Vaak is een stressfactor nodig in combinatie met EVE om ziekte te verkrijgen. In Nederland komt EVE veelvuldig voor bij gekweekte paling, soms in combinatie met EVEX of HVA virus.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
De ziekteverschijnselen van EVE-infectie bij paling variëren: spiraalvormig zwemmen aan het oppervlak, sloom worden van de paling, extreme roodkleuring door fijne bloedinkjes in de kop of het hele lichaam, vaak een opgezette kop met opgezette kieuwdeksels, bloederig buikvocht, bleke en niet-opgezette milt, bleke lever, bloed in de darmen, bleke en opgezette nieren, bloedarmoede, en bloedingen in de buikvliezen en buikwand. De sterfte loopt bij glasaal al gauw op tot zo'n 5-7%. Bij stress kan de sterfte veel hoger zijn, zowel in kleine als grotere paling.



Figuur 4.1.8. Paling met een infectie met Eel virus European (EVE), (A) opgezette kop en kieuwdeksels, puntbloedingen en (B) intern bleke organen.

Diagnostische methoden
Analoog aan IPNV is EVE goed te isoleren op de RTG-2, maar ook op de EK-1 cellijn. Typering van het virus gaat analoog aan die van IPNV. Een kwantitatieve PCR voor de detectie van Aquabirnavirus stammen van genotype 3 waaronder EVE is in ontwikkeling.

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht is horizontaal en vermoedelijk ook verticaal, al is daar nog geen gedegen onderzoek naar gedaan. EVE is net als IPNV als sterk infectieus en een goede hygiëne binnen en tussen bedrijven is dan ook een noodzaak. Stress is vaak de aanzet voor een uitbraak, dus stress vermijden is weer het devies. Er zijn internationaal geen vaccins tegen EVE ontwikkeld. Bij een EVE-uitbraak kunnen houderijtechnische maatregelen worden getroffen. Het verhogen van de watertemperatuur tot boven de 26°C geeft vaak vermindering van de sterfte. Dan moet echter wel vaststaan dat het om EVE gaat en bijvoorbeeld niet om paling herpesvirus (HVA; zie 4.1.10) of een dubbelinfectie met HVA. Voor HVA geldt namelijk, dat de watertemperatuur juist beter omlaag gebracht kan worden. Het virus blijft wel op het bedrijf aanwezig en is alleen te verwijderen als het hele bedrijf geleegd en opgeschoond wordt.

4.1.9. KHV (CyHV-3)

KHV staat op de lijst van niet-exotische visziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU, NL
Karper, koi

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Koi herpesvirus (KHV) oftewel *Cyprinid herpesvirus 3* (CyHV-3) is een dubbelstrengs DNA virus uit de familie Alloherpesviridae genus Cyprinivirus. Het virus veroorzaakt grote ziekteproblemen bij karper en koi (*Cyprinus carpio*). Door de internationale handel in karper en koi heeft het virus zich in het afgelopen decenium snel verspreid naar de voornaamste kweekgebieden van karper over de gehele wereld (Hedrick et al. 2000, Amita et al. 2002, Ronen et al. 2003, Haenen et al. 2004). Ook in Nederland komt het virus voor bij koi en karper, maar wordt in hoofdzaak aangetroffen in gesloten systemen (tuinvijvers en enkele koibedrijven), die geen rechtstreeks contact hebben met het buitenwater. In Duitsland, Polen en Engeland zijn in open water wel diverse sterfte in wilde karper te wijten aan KHV. Men tracht daar de ziekte te bestrijden door te ruimen en te desinfecteren. Meldplicht is onder de nieuwe EU-wetgeving aan de orde, als KHV in open water wordt gevonden.
Een gerelateerd virus is het karper pokken herpesvirus, *Cyprinid herpesvirus 1* (CyHV-1). De ziekte veroorzaakt door dit virus bij karper werd al beschreven in de middeleeuwen. Halverwege de vorige eeuw is de ziekteverwekker gekarakteriseerd als een herpesvirus. Ook dit virus is wijdverspreid onder de karperpopulatie, echter de impact hiervan is veel kleiner. Afhankelijk van de watertemperatuur kan het sterfte geven in jonge karpers en ontwikkelen overlevende karpers wratachtige laesies op de huid (Sano et al. 1991, Sano et al. 1993).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Ziekte door KHV uit zich meestal door grote kieuwveranderingen: extreme kieuwontsteking waarbij de kieuwen vlekkerig worden en bleek, soms ingevallen ogen, een ruwe huid, overmatige slijmproductie op de huid en kieuwen, verlies van de slijmhuid, oppervlakkige of diepere huidwondjes, ongecoördineerd zwemgedrag, grotere reactie op stress, verlies van eetlust, en aan het oppervlak lucht happen. Inwendig zijn vaak geen symptomen te vinden. De ziekte treedt op bij een watertemperatuur tussen de 18 en 29°C, met een optimum van circa 23°C. Aan de ondergrens van deze range wordt een infectie met KHV vaak gemaskeerd door een reeks van secundaire bacteriologische of parasitaire aandoeningen. Rond het optimum kan de infectie zo snel gaan dat geen klinische symptomen waarneembaar zijn. De sterfte kan oplopen tot 100%.

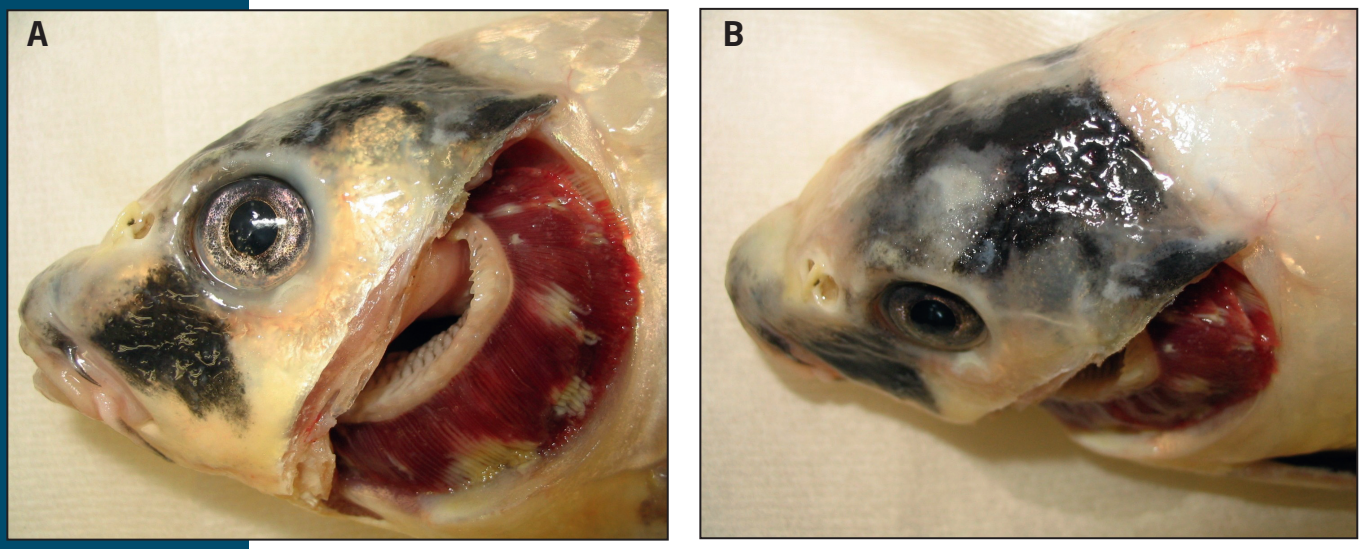
Diagnostische methoden

Als bovenvermelde verschijnselen te zien zijn kan ziekte door KHV vermoed worden. Er zijn twee cellijnen beschikbaar voor KHV isolatie (KF-1 en CCB). Echter, de virusisolatie is te ongevoelig om gebruikt te worden in de diagnostiek. De PCR test is dan ook de standaard die internationaal wordt gebruikt voor de detectie van KHV (Bercovier et al. 2005). Daarnaast is het op enkele laboratoria mogelijk om te laten onderzoeken of de koi of karper het virus 'gezien' heeft, door het bepalen van de antilichaam productie tegen KHV met een zogenaamde ELISA test.

Overdracht van de infectie en preventie

Tot nu toe is alleen horizontale transmissie bekend, dat wil zeggen, ziekte-overdracht direct van vis naar vis of via water, vissenslijm, netten, emmers, etc. Overlevende vis van een uitbraak kan het virus jaren bij zich kan dragen zonder ziekteverschijnselen. Hoewel alleen karper gevoelig is voor het virus, kunnen andere vissoorten mogelijk optreden als mechanische vector in de verspreiding van het virus. Een aantal kwekerijen in Israël maakt gebruik van een geattenueerd (verzwakt) levend vaccin om de koi weerstand te laten opbouwen tegen KHV. Dit geeft de betreffende koi weerstand tegen een infectie met KHV echter gevaccineerde vissen kunnen dubbel geïnfecteerd zijn, met zowel de vaccin stam als het wildtype virus, waardoor deze vissen een bron van besmetting kunnen zijn voor naïeve koi. Het levende vaccin uit Israël is niet toegelaten in Europa. Diverse laboratoria werken aan de ontwikkeling van een effectief afgedood vaccin.

Bij een uitbraak van KHV kunnen houderijtechnische maatregelen worden getroffen door het verhogen van de watertemperatuur tot boven de 30°C. Hierdoor wordt de sterfte geremd. Echter overlevers van de uitbraak kunnen drager zijn van KHV en andere vis infecteren. Om het virus kwijt te raken is ruimen van de hele partij vis met daarna desinfectie van de vijver en/of het systeem de enige zekere methode tot nu toe.



Figuur 4.1.9. Koi geïnfecteerd met KHV en klinische symptomen: (A) ontstoken kieuwen en (B) ingevallen ogen.

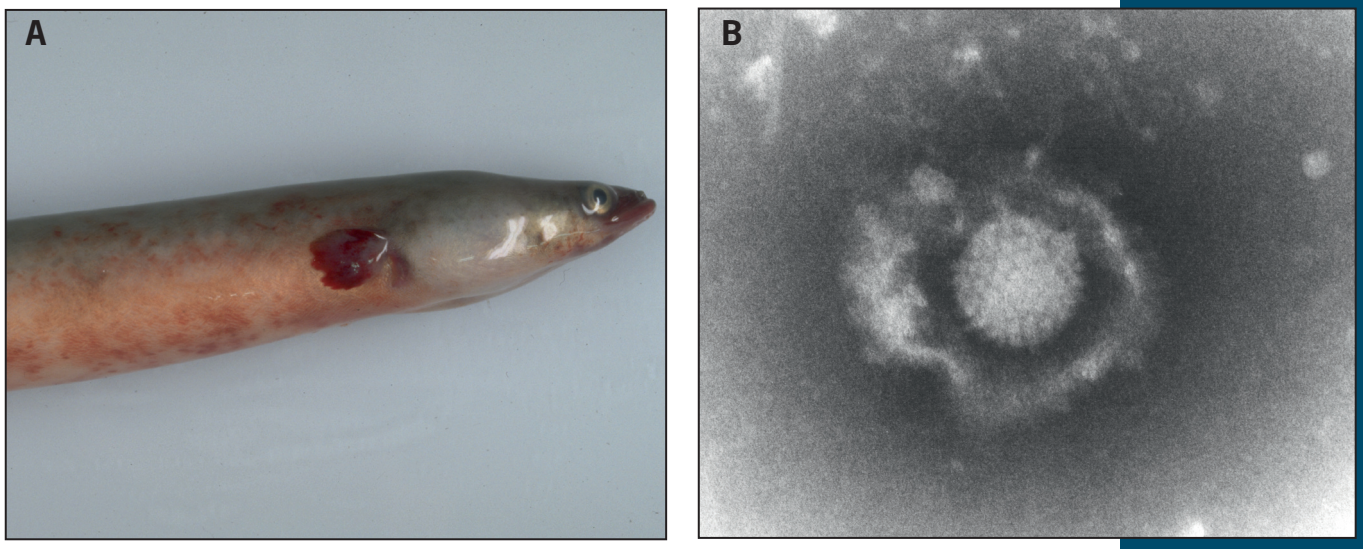
4.1.10. HVA (AngHV-1)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

Herpesvirus Anguilla (HVA) of *Anguillid herpesvirus 1* (AngHV-1) was in Japan al bekend bij Japanse paling, *Anguilla japonica*, en werd later in Japan uit zieke Europese paling, *Anguilla anguilla*, geïsoleerd door Sano en collega's (1990). Toen in 1998 de palingnier cellijn (EK-1) beschikbaar kwam in Nederland werd het virus ook aangetoond in Nederlandse Europese paling van allerlei maten, van postglasaal tot grote aal (Davidse et al. 1999, Haenen et al. 2002). Het eerste in Nederland terugtraceerbare HVA-gerelateerde ziektegeval bij kweekpaling dateert van 1996. HVA is een dubbelstrengs DNA virus uit de familie Alloherpesviridae en verwant aan cyprinide herpesvirussen, waaronder KHV (zie 4.1.9; van Beurden et al. 2010).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

HVA is tot nu toe gevonden in paling met een of meer van de volgende ziekteverschijnselen: puntbloedingen in de huid, kleine of grotere huidwonden, vinbloedingen, rode kop, bloedingen in de bek, kieuwdeksels, vinnen en kieuwlamellen. Over het algemeen bedraagt de sterfte maximaal 10%, maar bij een extra stressfactor zoals bijvoorbeeld een slechte waterkwaliteit kan de sterfte veel hoger zijn.



Figuur 4.1.10. (A) Paling met infectie door *Anguillid herpesvirus 1* (AngHV-1): uitgebreide huidbloedingen. (B) Een electronenmicroscopische opname van AngHV-1

Diagnostische methoden

HVA groeit tot nu toe alleen op de Eel Kidney-1 (EK-1) cellijn (Chen et al. 1982). Na virusisolatie op de EK-1 cellijn kan het virus getypeerd worden met antilichamen tegen HVA in een immunoperoxidase test (IPMA). Op dit moment wordt voornamelijk een PCR methode gebruikt voor de typering van het virus zoals beschreven door Rijsewijk en collega's (2005).

Overdracht van de infectie en preventie

De overdracht verloopt in elk geval horizontaal, dat wil zeggen direct van vis naar vis of via water, netten, emmers, etc. van de ene naar de andere paling. Er dient dus steeds een goede hygiëne te worden betracht tussen palingunits op kwekerijen, om het virus niet van de ene naar de andere unit over te dragen. Het is onbekend of er ook verticale overdracht van de infectie is.

Vaak is een stressfactor als sorteren, te vuil water, etc. de aanleiding voor een ziekte uitbraak met HVA. Ook worden vaak meerdere ziekteverwekkers geïsoleerd dan alleen het herpesvirus: parasieten, vispathogene bacteriën, of een ander palingvirus. Qua preventie is het dus zaak de stressfactoren te minimaliseren.
Bij een uitbraak van HVA kunnen houderijtechnische maatregelen worden getroffen: de optimum temperatuur voor groei ligt voor HVA bij 26°C. Bij een uitbraak kan verlagen van de watertemperatuur tot bijvoorbeeld 22°C de sterfte afremmen. De paling kan dan, onder suboptimale omstandigheden voor het virus, weerstand opbouwen tegen het virus.

4.1.11. EHNV

EHNV staat op de lijst van exotische visziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU
Baars, regenboogforel

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Epizoötisch haematopoietisch necrose virus (EHNV) veroorzaakt een systemische infectie (EHN) bij jonge en volwassen baars (*Perca fluviatilis*) en regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*; OIE 2009). Bij regenboogforel is de uitval en prevalentie beperkt, echter baars is zeer gevoelig voor het virus. De baars is hoogst waarschijnlijk de natuurlijke gastheer van het EHNV en kan het virus via open water overdragen aan forellenkwekerijen. EHNV is een relatief groot DNA virus van het genus Ranavirus familie Iridoviridae. EHN is tot nu toe slechts gevonden in Australië en voor Europa dus een exotische ziekte. In Europa is zijn wel een zeer nauw gerelateerd Ranavirus aanwezig: European catfish virus (ECV) van meerval (*Ictaluris melas*), Europese meerval (*Silurus glanis*) en tarbot (*Scophthalmus maximus*). ECV is niet meldplichtig. Alleen met moleculaire technieken is ECV van EHNV te onderscheiden (Hyatt et al. 2000).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Bij baars kan bij een watertemperatuur van boven de 12°C bij een infectie met EHNV een acute hoge sterfte optreden in baars van alle leeftijdsklassen. Bij forel treedt ziekte op bij een temperatuur tussen de 11 en 17°C, met name in fingerlings, maar ook bij oudere dieren. In deze soort geeft de ziekte slechts lage sterfte (0,2% dagelijks tot een totaal van zo'n 4%). Er zijn vaak geen specifieke klinische symptomen, soms vertoont de vis evenwichtsstoringen, uitstaande kieuwdeksels en donkerkleuring. De ziekte treedt met name op bij een slechte waterkwaliteit als stressfactor. Inwendig ontstaan ontstekingen van de lever, milt, nieren en andere weefsels, gevolgd door sterfte.

Diagnostische methoden
De diagnostiek gebeurt door organen van zieke vissen te verwrijven en op gevoelige cellijnen te brengen, waarna cytopathogeen effect (celveranderingen in de cellijn) ontstaat. Vervolgens wordt het virus getypeerd met een indirecte immunofluorescentie test (IFAT), een ELISA-test en/of een PCR-test. Met een PCR-test gevolgd door sequencing kan EHNV onderscheiden worden van ECV.

Overdracht van de infectie en preventie
Tot nu toe is alleen horizontale transmissie bekend, dat wil zeggen, ziekteoverdracht direct van vis naar vis via water, vissenslijm, netten, emmers, etc. Opmerkelijk is dat overlevende forel van een EHN-uitbraak geen antilichamen heeft geproduceerd tegen het virus. Preventie van EHN kan betekenen dat er bijvoorbeeld geen baars in het toestromend water van een forellenkwekerij mag voorkomen. Bij een uitbraak van EHN kan de ziekte mogelijk geremd worden door naar de watertemperatuur te veranderen tot beneden of boven die waarbij de

ziekte optreedt. Om het virus kwijt te raken is afmaken van de hele partij vis met daarna desinfectie van de vijver en/of het systeem de enige methode tot nu toe. Op hatcheries in Australië werkt UV-behandeling van het water preventief tegen EHNV. Het virus is extreem resistent tegen opdroging en kan maanden overleven in water. In bevroren visorganen kan het meer dan 2 jaar overleven en in bevroren hele vis meer dan een jaar. Daarom wordt verondersteld, dat EHNV jaren kan overleven op een viskwekerij als deze eenmaal besmet is geraakt.

4.2. Bacteriële ziekteverwekkers van vissen

4.2.1. *Aeromonas* species

NL
Vele vissoorten

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Aeromonas bacteriën (Gammaproteobacteria: Aeromonadales) zijn alomtegenwoordig in het aquatische milieu. Een aantal *Aeromonas salmonicida* subsoorten zijn primaire vispathogenen, die tot grote verliezen in de productie kunnen leiden (zie 4.2.2. en 4.2.3.). Daarnaast vallen er binnen deze groep bacteriën als *Aeromonas hydrophila* en *Aeromonas sobria* (syn. *Aeromonas veronii* biovar *sobria*). Dit zijn bacteriën die algemeen aanwezig zijn in zoet en brak oppervlaktewater, maar ook opportuun pathogeen kunnen zijn voor vissen. Infecties met *A. hydrophila* en *A. sobria* kunnen voorkomen bij vele vissoorten in water van boven de 10°C (Austin & Austin 1999). De ziekte veroorzaakt door *A. hydrophila* en *A. sobria* wordt bacteriële haemorrhagische septicaemie genoemd. Aangezien het opportuun vispathogenen zijn, betreft het meestal secundaire infecties en is de ontwikkeling van de ziekte vaak afhankelijk van een andere primaire oorzaak, bijvoorbeeld een slechte waterkwaliteit. Overigens zijn ook infecties in de mens beschreven voor beide soorten (Janda & Abbott 2010).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
De ziekte geeft vrij aspecifieke verschijnselen: huidbloedingen en zweren in de huid en spieren, vin- en staartrot, uitpuilende ogen, opgezette buik door buikvocht, schubbenruigheid (uitstaande schubben door vochtophoping) en bloedingen in de kieuwen. Inwendig zijn bloedingen in de organen en bloederig buikvocht in de buikholte te zien. De milt en de nieren zijn opgezet. De sterfte kan flink oplopen, maar hangt meestal af van andere ziektverwekkers die de conditie van de vis doen verslechteren.

Figuur 4.2.1. Koi met systemische *Aeromonas hydrophila* infectie: uitstaande schubben door oedeemvorming, opgezette buik, bloedingen.

Diagnostische methoden
Aeromonas hydrophila en *Aeromonas sobria* groeien goed en snel op standaard gebruikte voedingsbodems. De bacterie kan uit bijvoorbeeld de nieren van een zieke vis worden geïsoleerd, door af te enten op geschikte voedingsbodems. Na isolatie kan de antibioticum-gevoeligheid (antibiogram) worden bepaald, bij 22 à 28°C, zodat een geschikte therapie kan worden ingezet. De bacterie wordt volgens standaard methoden getypeerd tot de naam.

Overdracht van de infectie en preventie
Het betreft een ziekteverwekker die standaard al in het filtersysteem, op de grond, in vijvers of sloten en dus ook al op de huid van de vis voorkomt. Alleen onder slechte omstandigheden, of wanneer de vis sterk beschadigd is, kan de bacterie toeslaan. De overdracht verloopt in elk geval horizontaal, dat wil zeggen, direct van vis naar vis, via water, netten, emmers, etc. Preventief dient stress (slechte waterkwaliteit) en beschadiging van de vis (tijdens sorteren bijvoorbeeld) te worden voorkomen, evenals overbezetting van de vijver of het bassin. Diverse antibiotica werken tegen bacteriële haemorrhagische septicaemie. Naast antibiotica behandeling zal de primaire oorzaak van het probleem opgespoord en opgelost moeten worden.

4.2.2. *Aeromonas salmonicida salmonicida* (furunculose)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Aeromonas salmonicida (Gammaproteobacteria: Aeromonadales) heeft 5 ondersoorten: de typische *A. salmonicida* subspecies *salmonicida* en de atypische ondersoorten *A. salmonicida* subsp. *masoucida, A. salmonicida* subsp. *achromogenes*, *A. salmonicida* subsp. *smithia*, en *A. salmonicida* subsp. *pectinolytica* (Martin-Carnahan & Joseph 2005).
Aeromonas salmonicida subsp. *salmonicida* veroorzaakt furunculose bij verschillende soorten salmoniden van alle leeftijden, speciaal bronforel (*Salvenius fontinalis*) en beekforel (*Salmo trutta fario*), zowel in het zoete als zoute water. Meestal komt een furunculose-uitbraak voor bij watertemperaturen boven de 16˚C, maar bij lagere temperaturen bestaat er chronische furunculose, zonder al te duidelijke ziekteverschijnselen (Inglis et al. 1993).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Furunculose uit zich in donkerkleuring, ontbreken van eetlust en allerlei uitwendig zichtbare bloedinkjes in de huid en vinbases. De kieuwen zijn zeer bleek. Inwendig zijn bloedingen te zien op de organen en in het spierweefsel. De spierbloedinkjes zijn oppervlakkiger en meer diffuus, ten opzichte van die bij een VHS virus uitbraak. De milt en de nieren zijn opgezet en kersenkleurig. In sommige gevallen zijn de furunkels (uitbrekende abcessen, 'steenpuisten') als knobbels zichtbaar op de vis. De sterfte onder forellenbroed kan de 50% bereiken. In oudere vis gaat het meestal om maximaal 30% sterfte, maar bij een extra stressfactor zoals bijvoorbeeld een slechte waterkwaliteit is de sterfte veel hoger.

Diagnostische methoden
Aeromonas salmonicida subsp. *salmonicida* is een trage groeier op voedingsbodems. De bacterie kan worden geïsoleerd door vanuit de milt of een furunkel van een zieke vis met een steriele swab af te enten op een voedingsbodem en te bebroeden bij 22°C. De bacterie is onbeweeglijk en groeit niet bij 37°C. Het typische van deze bacterie is dat deze bruin pigment produceert in de agar, waardoor de agar na enkele dagen geheel donkerbruin kleurt. Na isolatie kan vervolgens de antibioticum-gevoeligheid (antibiogram) worden bepaald, zodat een geschikte therapie kan worden gestart. De bacterie wordt volgens standaard methoden getypeerd tot de naam.

Overdracht van de infectie en preventie
Het betreft een zeer infectieuze bacterie. De overdracht verloopt in elk geval horizontaal, dat wil zeggen direct van de ene naar de andere vis, of via water, netten, emmers, etc. Daarnaast kunnen parasieten, zoals bloedzuigers en zalmluizen de bacterie overdragen. Er dient dus steeds een goede hygiëne te worden betracht tussen salmonidebedrijven, om de ziekte niet

van de ene naar de andere unit over te dragen. Preventief dient stress te worden voorkomen, evenals overbezetting van de vijver of het bassin. Ook is het belangrijk ziektevrije pootvis van een gecertificeerd bedrijf aan te kopen. Tegenwoordig zijn daarnaast goed werkende commerciële furunculose vaccins verkrijgbaar, die per bad worden toegediend aan jonge vis. Indien er tevens virussen spelen hebben bacteriële vaccins weinig zin.

Figuur 4.2.2. Salmonide met furunculose door *Aeromonas salmonicida salmonicida*: uitbrekend abces.

4.2.3. *Aeromonas salmonicida achromogenes* (erythrodermatitis, gatenziekte)

NL
karper, koi, goudvis, andere karperachtigen, paling

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

De bacterie *Aeromonas salmonicida achromogenes* (syn. *Aeromonas salmonicida nova*) veroorzaakt gatenziekte van koi (*Cyprinus carpio*), en erythrodermatitis van de karper (*C. carpio*; Bootsma et al. 1977), goudvis (*Carassius auratus*) en paling (*Anguilla anguilla*). Uitbraken van deze ziekten vinden plaats in het zoete water vooral bij watertemperaturen boven de 22˚C. Echter, bij lagere temperaturen tussen de 12˚C en 22˚C kan er zich wel een chronische vorm ontwikkelen, zonder al te duidelijke ziekteverschijnselen.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

Het ziektebeeld is beschreven door Fijan & Petrinec (1973) en Bootsma en collega's (1977). De ziekte begint vaak bij huidbeschadigingen, waarna een bloederig plekje ontstaat dat zich uitbreidt. Centraal ontstaat een diepe zweer met een witte en daar omheen een rode, bloederige randzone. De zweer kan zich tot diep in de spieren uitbreiden en in extreme gevallen doordringen tot in de buikholte. De infectie verloopt van buiten naar binnen. Dit in tegenstelling tot furunculose door *A. salmonicida salmonicida*, welke de vis van binnen infecteert en abcessen produceert die naar buiten toe openbarsten. De sterfte is meestal laag, onder de 20%, maar bij een extra stressfactor, zoals bijvoorbeeld een slechte waterkwaliteit, is de sterfte hoger.

Diagnostische methoden

Aeromonas salmonicida achromogenes is een trage groeier op voedingsbodems. De bacterie kan worden geïsoleerd door vanuit de rand van de huidwond van een zieke vis met een steriele swab of öse af te enten op een standaard voedingsbodem en te bebroeden bij 22°C. Ook deze bacterie is onbeweeglijk en groeit niet bij 37°C. In tegenstelling tot de typische *A. salmonicida* produceert *Aeromonas salmonicida achromogenes* geen bruin pigment. Na isolatie kan de antibioticum-gevoeligheid (antibiogram) worden bepaald, zodat een geschikte therapie kan worden gestart. De bacterie wordt volgens standaard methoden getypeerd tot de naam.

Overdracht van de infectie en preventie

De overdracht verloopt horizontaal, dat wil zeggen van de ene naar de andere vis direct of via water, netten, emmers, etc. Daarnaast kunnen parasieten, zoals bloedzuigers en luizen de bacterie overdragen.

Preventief dienen stress, huidbeschadigingen aan de vis en overbezetting van de vijver of het bassin te worden voorkomen. Ook is het belangrijk pootvis eerst een tijd in quarantaine te houden. Tegenwoordig zijn enkele commerciële vaccin verkrijgbaar, die per bad worden toegediend. Indien er tevens virussen spelen hebben bacteriële vaccins weinig zin.

Figuur 4.2.3. Koi met diepe huidwonden (gatenziekte) door *Aeromonas salmonicida achromogenes*.

4.2.4. *Vibrio* species (vibriose)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

Vibrio bacteriën (Gammaproteobacteria: Vibrionales) zijn alomtegenwoordig in het brakwater en marine milieu. Een aantal bacteriën uit deze groep veroorzaakt Vibriose in brak- en marine vis als opportunist of als primaire ziekteverwekker. De belangrijkste *Vibrio*-soorten als ziekteverwekkers voor vis zijn *Vibrio anguillarum* (syn. *Listonella anguillarum*), *Vibrio harveyi*, *Vibrio ichthyoenteri*, *Vibrio ordalii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio scophthalmi*, *Vibrio vulnificus*, en stammen uit de *Vibio splendidus-Vibrio lentus* groep. (Austin & Austin 1999, Austin & Zhang 2006, Montes et al. 2006). Vibriose is beschreven bij vele brakwater en marine vissoorten over de gehele wereld. In de viskweek zijn de verliezen vaak groter door de intensiteit van de kweek. In de Nederlandse brak- en zoutwater aquacultuur worden *Vibrio*-infecties met name aangetroffen in de kweek van paling (onder andere *Vibrio splendidus* en *Vibrio vulnificus*) en

platvissoorten (onder andere *Vibrio splendidus*, *Vibrio ichthyoenteri* en *Vibrio scophthalmi*). *Vibrio vulnificus* kan naast infecties bij vis ook ziekte bij de mens veroorzaken als contact zoönose (Dijkstra et al. 2009; zie ook hoofdstuk 7 *Zoönosen*).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

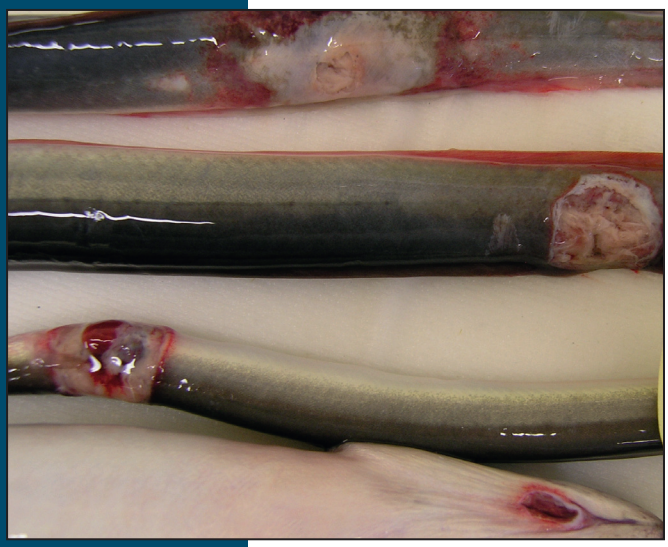
Er zijn allerlei ziekteverschijnselen bekend bij Vibriose. Jonge vis houdt op met eten en kleurt donker, gevolgd door een acute sterfte. Bij grotere vis worden vaak bloedingen rond de anus en vinbases gezien, met uitbrekende spierabcessen en huidwonden. Soms gaan de zweren tot diep in de spieren. De kieuwen zijn bleek. Inwendig zijn de organen opgezet door vochtophoping en bloederig. De sterfte kan de 100% benaderen, afhankelijk van stress. In Nederland vormt Vibriose met name een probleem in brakwater paling- en tarbotkwekerijen.

Diagnostische methoden

Vibrio-soorten zijn zoutminnende bacteriën. Sommige *Vibrio*-soorten kunnen zelfs niet groeien zonder voldoende zout in de voedingsbodems. De bacterie kan worden geïsoleerd door vanuit de wond, het spierabces of uit interne organen van de zieke vis af te enten op geschikte voedingsbodems. Na isolatie kan vervolgens een antibiogram worden bepaald, zodat een geschikte therapie kan worden ingezet. De bacterie wordt volgens standaard methoden getypeerd tot de naam. Echter, voor typering met een bonte rij moet zout aan de testbuizen worden toegevoegd, omdat veel van de *Vibrio*-soorten anders niet groeien.

Overdracht van de infectie en preventie

De overdracht verloopt horizontaal, dat wil zeggen van de ene naar de andere vis direct of via water, netten, emmers, etc. Daarnaast kunnen onder andere parasieten de bacterie overdragen. Ter preventief dienen stress, huidbeschadigingen aan de vis en overbezetting van de vijver of het bassin te worden voorkomen. Voor een aantal *Vibrio*-soorten zijn goedwerkende commerciële vaccins verkrijgbaar, die per bad worden toegediend. Tegen vibriose zijn diverse antibiotica werkzaam, afhankelijk van het antibiogram. Er bestaat kans op herinfectie als de primaire oorzaak (stress, slechte waterkwaliteit) niet wordt opgelost.



Figuur 4.2.4. Diepe ulcers in zieke paling veroorzaakt door een infectie met *Vibrio vulnificus*.

4.2.5. *Pseudomonas anguilliseptica*

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De bacterie *Pseudomonas anguilliseptica* (Gammaproteobacteria: Pseudomonadales; Wakabayashi & Egusa 1972) veroorzaakt 'Red spot ziekte' bij onder andere Japanse paling (*Anguilla japonica*) en Europese paling (*Anguilla anguilla*) in vooral brak en zout water (Muroga 1978). De Japanse paling is gevoeliger voor de ziekte dan de Europese paling. Daarnaast is de bacterie bekend als verwekker van 'Winterziekte' bij zeebrasem (*Sparus aurata*) in Zuid-Europa in zout water. De bacterie is ook uit zieke salmoniden, zeebaars, tarbot en kabeljauw geïsoleerd. In Nederland wordt *Pseudomonas anguilliseptica* af en toe gevonden in glasaal (Haenen & Davidse 2001).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
In paling is met name jonge aal (glasaal en het stadium daarna) gevoelig voor *Pseudomonas anguilliseptica*. Ziekte ontstaat onder invloed van stress bij een watertemperatuur tussen de 18 en 25˚C. Met name bij transport van glasaal onder slechte omstandigheden is er een risico op de ziekte. Zieke glasaal is sloom, wit uitgeslagen, heeft een opgezette nier en vertoont een hoge sterfte, tot 100%. Iets grotere paling vertoont puntbloedingen in de huid en een iets lagere sterfte. De ziekte bij zeebrasem treedt in de winter op, bij lagere watertemperaturen dus.

Figuur 4.2.5. Zieke glasaal met een opgezette nier door *Pseudomonas anguilliseptica*.

Diagnostische methoden
Pseudomonas anguilliseptica is een trage groeier op voedingsbodems. De bacterie kan worden geïsoleerd door vanuit de milt of de nier van een zieke vis met een steriele swab af te enten op geschikte voedingsbodems. Vervolgens kan de antibioticum-gevoeligheid (antibiogram) worden bepaald, zodat een geschikte therapie kan worden ingezet. De bacterie wordt volgens standaard methoden getypeerd tot de naam.

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht verloopt in elk geval horizontaal, dat wil zeggen, van de ene naar de andere vis direct of via water, netten, emmers, etc. Daarnaast kunnen parasieten de bacterie overdragen. Aangezien stress een belangrijke factor is in het ontstaan van de ziekte dient preventief stress te worden voorkomen, evenals overbezetting tijdens bijvoorbeeld glasaaltransporten. Er zijn geen vaccins tegen *Pseudomonas anguilliseptica* op de markt. Tegen de ziekte kan, na het

bepalen van de antibioticum-gevoeligheid, antibiotica worden ingezet. Een andere methode zonder de inzet van antibiotica is om, indien mogelijk, de watertemperatuur voor 2 weken te verhogen naar 26°C. Dit onderdrukt de ziekte en geeft de paling de gelegenheid weerstand tegen de bacterie op te bouwen (Ellis et al. 1983). Daarna kan de temperatuur weer langzaam verlaagd worden.

4.2.6. *Yersinia ruckeri* (enteric redmouth ziekte)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De bacterie *Yersinia ruckeri* (Gammaproteobacteria: Entrobacteriales) is de veroorzaker van 'Enteric redmouth ziekte' (ERM) bij regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*; Ewing et al. 1978). Hoewel infecties met *Y. ruckeri* zijn bescherven in andere vissoorten zijn salmoniden en dan met name de regenboogforel het meest gevoelig voor ERM. Daarnaast zijn er vele vissoorten en zelfs geleedpotigen, die asymptomatische dragers van de bacterie kunnen zijn. Ook regenboogforellen kunnen *Yersinia ruckeri* bij zich dragen in de darm zonder hier zelf ziek van te worden. Verder is *Y. ruckeri*, net als vele andere bacteriën, geassocieerd met oppervlakten en sediment en vormt het biofilms op oppervlakten. Deze biofilms kunnen de bron zijn van terugkerende infecties op bedrijven met regenboogforel (Tobback et al. 2007). *Yersinia ruckeri* heeft een grote temperatuurrange en de ziekte kan dan ook uitbreken bij allerlei watertemperaturen. Alleen in de winter als de watertemperaturen onder de 5˚C liggen zal er geen ziekte ontstaan. De ziekte is gerapporteerd in Europa, Noord en Zuid Amerika, Australië en Nieuw Zeeland (Carson & Wilson 2009) en wordt in Nederland af en toe gevonden in kleine en grotere forel.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
De naam 'Enteric redmouth ziekte' komt van het feit dat zieke vissen soms bloedingen in de bek vertonen. Dit is echter zeker niet altijd het geval. Een ziekte-uitbraak kan op het eerste gezicht op een virusuitbraak lijken, echter de milt is donker van kleur en opgezet, wat bij virusinfecties doorgaans niet het geval is. De ziekte begint met een opgezette buik, doordat de maag gevuld is met lucht en vloeistof. Dan volgen donkerkleuring van de vis en vinbloedingen. De zieke vis zondert zich af. De darminhoud is vaak felgeel gekleurd en, zoals boven genoemd, is de milt opgezet. Later volgen dan nog de roodkleuring in de bek door bloedingen. Ook kunnen er oogbloedingen optreden. De sterfte kan oplopen tot 60%.

Diagnostische methoden
Yersinia ruckeri is een redelijk trage groeier op voedingsbodems. De bacterie kan worden geïsoleerd, door vanuit de milt, nier of darmen van een zieke vis af te enten op geschikte voedingbodems. Na isolatie kan vervolgens de antibioticum-gevoeligheid (antibiogram) worden bepaald, zodat een geschikte therapie kan worden ingezet. De bacterie wordt volgens standaard methoden bij 22°C getypeerd tot de naam.

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht van de infectie verloopt in elk geval horizontaal, dat wil zeggen, direct van de ene naar de andere vis of via water, netten, emmers, etc. Daarnaast kunnen asymptomatische dragers, in combinatie met stress, een grote rol spelen in de overdracht van de bacterie. Preventief dienen stress en te hoge visbezettingsdichtheden, bijvoorbeeld tijdens transport, te worden voorkomen. Er zijn diverse goede commerciële vaccins op de markt, die in het buitenland uitgebreid worden ingezet. Daarbij worden bijvoorbeeld jonge vis via een bad of spray gevaccineerd, een paar weken voor ze worden uitgezet in de vijver of het open water.

In de tussentijd bouwt de vis weerstand op tegen de bacterie. De bescherming door het vaccin duurt 8 tot 12 maanden, daarna moet weer gevaccineerd worden. Afhankelijk van het antibiogram kunnen antibiotica worden ingezet tegen de ziekte. Het is echter beter preventie te betrachten, door stress te minimaliseren en zo nodig te vaccineren.

4.2.7. *Edwardsiella tarda* (edwardsiellosis)

NL
Europese paling, Amerikaanse meerval en vele andere soorten

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De bacterie *Edwardsiella tarda* (Gammaproteobacteria: Enterobacteriales) is een van oudsher bekende ziekteverwekker van de Europese paling (*Anguilla anguilla*) (Austin & Austin 1999). De bacterie kan echter uit allerlei zieke warmwater-vissoorten worden geïsoleerd, waaronder meervalsoorten, goudvis (*Carassius auratus auratus*), karper (*Cyprinus carpio*), Nijl tilapia (*Oreochromis niloticus*) en siervissen. De ziekte komt vooral bij hogere watertemperaturen van 26-30°C voor, en dan met name bij een slechte waterkwaliteit en in organisch vervuild water. *Edwardsiella tarda* is niet alleen een ziekteverwekker van vis, hij kan ook ziekte veroorzaken in reptielen, vogels en zoogdieren, waaronder de mens (zoönose). In Nederland komt de bacterie onder vis sporadisch voor, en dan vooral bij siervis. In de zuidelijke Verenigde Staten en in Japan en Taiwan vormt de bacterie een groot probleem voor de aquacultuur.
De verwante bacterie *Edwardsiella ictaluri* veroorzaakt de ziekte Enteric septicaemie oftewel 'Hole-in-the-head-disease' van Amerikaanse meerval (*Ictalurus punctatus*). Het is een ernstige ziekte binnen de Amerikaanse meervalteelt in het Mississippi-gebied van de Verenigde Staten. *Edwardsiella ictaluri* is alleen schadelijk voor vis. De ziekte treedt op bij 20 tot 30°C, maar soms ook bij lagere temperaturen. *Edwardsiella ictaluri* is voor Europa vrijwel exotisch.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
De ziekte die bij de bacterie *Edwardsiella tarda* hoort heet edwardsiellosis. De bacterie huist in de darm, maar verspreidt zich over het hele lichaam. De ziekte uit zich in kleine huidzweertjes, die zich tot diepe abcessen in het onderliggende spierweefsel kunnen ontwikkelen. Op de kieuwen kunnen witte haardjes worden aangetroffen. Soms verliest de vis zijn pigmentatie, met name schubloze vissen. Inwendig is er buikvocht en zijn er witte ontstekingshaardjes in de lever, milt en nieren te zien. De nieren zijn daarbij opgezet. Bij paling zijn òf een zware nierontsteking te zien (nier raakt opgezet en bleek met wittige haardjes), òf leverontsteking (lever raakt opgezet en bleek met wittige haardjes erin). De sterfte is meestal laag, tot 5%, maar kan onder invloed van stress oplopen tot zo'n 50%.
Bij *Edwardsiella ictaluri* uiten de verschijnselen zich als lusteloosheid, verticaal in het water hangen, spiraalvormig zwemmen, puntbloedingen in de huid, bleke kieuwen, uitpuilende ogen, gaten in de kop vooral tussen de ogen en op de flanken. Inwendig kunnen de nier en lever opgezet zijn met bloedingen, bloederig vocht in de buikholte en puntbloedingen in de vliezen en spieren. De sterfte kan bij Amerikaanse meerval onder slechte omstandigheden de 50% bereiken.

Diagnostische methoden
Edwardsiella tarda is een trage groeier op voedingsbodems. *Edwardsiella ictaluri* is een iets minder trage groeier dan *E. tarda*. Beide soorten kunnen worden geïsoleerd, door vanuit huidwonden, milt, nier of spierabcessen van een zieke vis af te enten op geschikte voedingsbodems. Na isolatie kan vervolgens kan de antibioticum-gevoeligheid (antibiogram) worden bepaald, zodat een geschikte therapie kan worden gestart. De bacterie wordt volgens standaard methoden getypeerd tot de naam.

Overdracht van de infectie en preventie
Edwardsiella tarda en *Edwardsiella ictaluri* zijn infectieuze ziekteverwekkers die onder invloed van stress toeslaan. De overdracht verloopt horizontaal, dat wil zeggen, van de ene naar de andere vis direct of via water, netten, emmers, etc. *Edwardsiella tarda* komt echter ook voor in onder andere uitwerpselen van vogels en kan zo op vis in vijvers worden overgedragen. *Edwardsiella ictaluri* kan weken overleven in de vijverbodem. In de overlevende vis vestigt de bacterie zich waarschijnlijk in de hersenen en de darm. Bij stress breekt de ziekte dan weer uit. Voor *Edwardsiella ictaluri* zijn in de VS effectieve vaccins ontwikkeld, die via het voer of via een bad kunnen worden toegediend. Tegen beide soorten kunnen, afhankelijk van het antibiogram, antibiotica worden ingezet. Het is echter beter preventie te betrachten door stress te minimaliseren.

Figuur 4.2.7. Paling met een diepe huidzweer door *Edwardsiella tarda*.

4.2.8. *Francisella noatensis* en *Francisella noatensis orientalis*

Kabeljauw, Atlantische zalm, tilapia en diverse cichlide-soorten

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Tenminste twee nauwgerelateerde *Francisella*-soorten (Gammaproteobacteria: Francisellaceae) kunnen ziekte veroorzaken in vis. *Francisella noatensis* (syn. *F. philomiragia* subsp. *noatensis* en *F. piscicida*), veroorzaakt ziekte in wilde en gekweekte kabeljauw (*Gadus morhua*) in Noord-Europa (Nylund et al. 2006) en Atlantische zalm (*Salmo salar*) in Chili (Birkbeck et al. 2007). *Francisella noatensis* subsp. *orientalis* (syn. *F. asiatica*) veroorzaakt ziekte in gekweekte tilapia (*Oreochromis* spp.) en verschillende andere cichlide soorten in Azië en Zuid-Amerika en in *Parapristipoma trilineatum* in Japan. In 2010 werd *Francisella* sp. aangetoond in zieke Nijl tilapia (*Oreochromis niloticus*) uit een recirculatiesysteem in Engeland (Jeffery et al. 2010).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Beide *Francisella*-soorten veroorzaken een ernstige granulomateuze ziekte met soms hoge sterfte. Gekweekte Noorse kabeljauw van enkele kilo's met een infectie van *Francisella noatensis* stopte met eten, zwom traag, en verkleurde donker. Op de kieuwen en in de mondholte werden subdermale granuloma's gevonden. Inwendig waren een opgezette milt, nier en hart te zien, die vol zaten en bedekt waren met witte granulomen. Deze granulomen bevatten een heldere vloeistof (Nylund et al. 2006). Zieke tilapia met een infectie van *Francisella noatensis orientalis* was apathisch en hing aan het oppervlak, met schichtige

bewegingen, uitpuilende ogen, bleke kieuwen, en enkele puntbloedingen op en nabij de borstvinnen. Inwendig was de darm leeg en de galblaas sterk opgezet, met vaak een opgezette milt en opgezette nier met granulomateuze laesies (Jeffery et al. 2010).

Diagnostische methoden
Francisella soorten zijn trage groeiers en groeien doorgaans niet op de standaard media. De bacterie kan worden geïsoleerd door vanuit de bacteriehaarden in de inwendige organen van een zieke vis af te enten op specifiek *Francisella*-medium. Vervolgens kan een antibioticum-gevoeligheid (antibiogram) worden bepaald, zodat een geschikte therapie kan worden ingezet. De bacterie is lastig typeerbaar volgens klassieke methoden, en daarom wordt vaak een specifieke PCR test gebruikt voor typering.

Overdracht van de infectie en preventie
In principe geldt een horizontale transmissie, dus van de ene naar de andere vis direct of via water, netten, emmers, etc. Er is slechts beperkte informatie beschikbaar met betrekking tot methoden om een infectie onder controle te brengen, maar in principe kan geïnfecteerde vis behandeld worden met antibiotica (Birkbeck et al. 2011). Mauel et al. (2007) beschreef dat de ziekte in Nijl tilapia, optreedt tussen 21.5 en 26.3°C, maar dat vis die tussen 26.5 en 29.2°C werd gehouden geen sterfte vertoonde. De watertemperatuur veranderen zou dus de symptomen kunnen doen verdwijnen.

4.2.9. *Streptococcus iniae* en *Streptococcus agalactiae*

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Streptococcus iniae (Firmicutes: Lactobacillales) is een ernstige visziekteverwekker voor meer dan 40 verschillende vissoorten, van tilapia tot harder tot zeebaars, in zoet en zout water (Evans et al. 2006). Ziekteproblemen door *Streptococcus iniae* in tilapia-soorten zijn bekend uit de VS, Canada, Colombia, Ecuador, Saoudi-Arabië, Iran, China, Japan, Taiwan, Singapore, Thailand, de Philipijnen, Indonesië en Australië, maar ook uit Spanje. In Nederland is de bacterie in kweeksteur gevonden. *Streptococcus iniae* was oorspronkelijk als bacterie van zeezoogdieren bekend. De bacterie kan echter ook voor andere diersoorten en de mens schadelijk zijn: bij oudere mensen of mensen met een mindere weerstand kunnen via wondjes ontstekingen ontstaan na contact met besmette vis, bijvoorbeeld als men zich snijdt bij visverwerking (Baiano & Barnes 2009).
De gerelateerde bacterie *Streptococcus agalactiae* (syn. *S. difficile*) kan ook ziekte veroorzaken bij een groot aantal vissoorten en is beschreven in Israël, Thailand, Brazilië, Griekenland, Koeweit, Japan, en de VS. In Nederland is *S. agalactiae* geïsoleerd uit Nijl tilapia (*Oreochromis niloticus*). Ook deze soort heeft een breed gastheerspectrum en kan ziekte veroorzaken bij onder andere runderen en de mens. Een uit de mens geïsoleerde stam kon experimenteel ook ziekte en sterfte veroorzaken in Nijl tilapia (Evans et al. 2009).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Streptococcus iniae veroorzaakt met name onder stressvolle omstandigheden allerlei variabele ziekteverschijnselen: aan het oppervlak zwemmen, uitpuilende en matte ogen, stoppen met eten, opgezette buik, draaiend zwemmen, een krom en C-vormig lichaam, en mest (pseudofaeces) hangend uit de anus. Inwendig worden soms buikvocht, opgezette, ontstoken organen met een bleke lever en bloed in de buikholte gezien. De sterfte kan flink oplopen. *Streptococcus agalactiae* veroorzaakt bij vis bloedinkjes aan de vinbases en bloederige huidwonden, uitpuilende ogen, aan het oppervlak hangen, van het voer afraken, draaierig

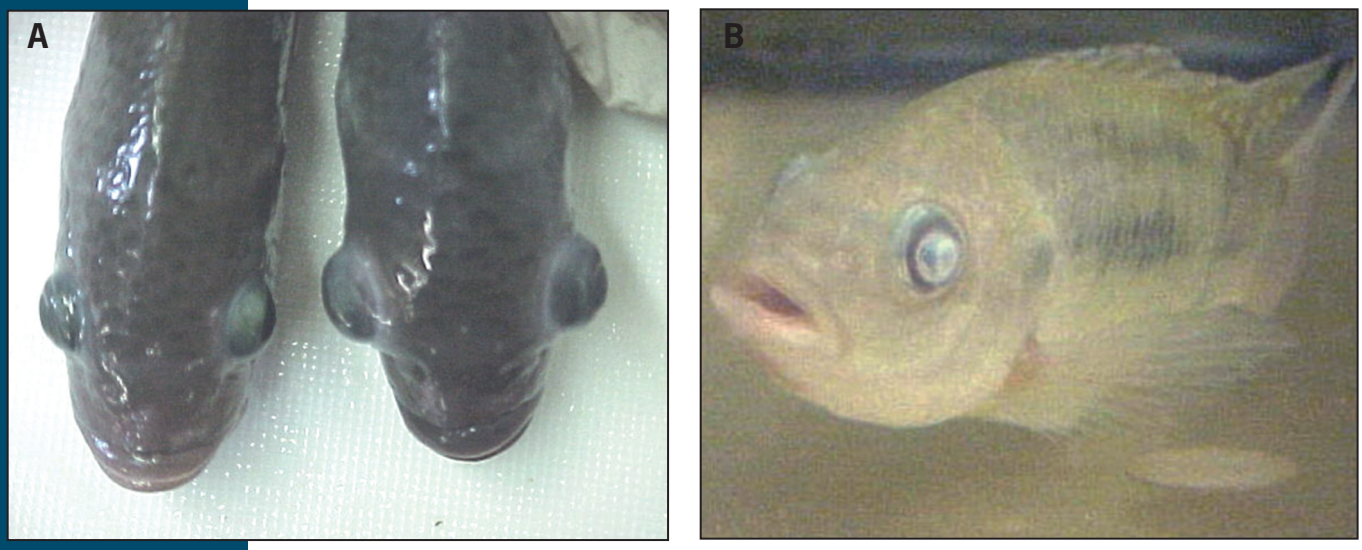
zwemmen, kromming van het lichaam en mest (pseudofaeces) hangend uit de anus, deels dus gelijk aan de verschijnselen van *Streptococcus iniae*. Inwendig ontstaan bij de vis een opgezette milt, verdikte zwemblaas, bloedingen in de lever en spieren en hersenvliesontsteking.

Diagnostische methoden

Streptococcus iniae en *Streptococcus agalactiae* kunnen worden geïsoleerd door vanuit de bacteriehaarden in de inwendige organen van een zieke vis af te enten op standaard voedingsbodems. Vervolgens kan een antibioticum-gevoeligheid (antibiogram) worden bepaald, zodat een geschikte therapie kan worden ingezet. De bacteriën worden met standaard biochemische methoden of moleculaire technieken verder gedetermineerd tot de soort.

Overdracht van de infectie en preventie

De overdracht verloopt horizontaal, dat wil zeggen, direct van de ene naar de andere vis of via water, netten, emmers, etc. Er dient dus steeds een goede hygiëne te worden betracht tussen units van kwekerijen, om de ziekte niet van de ene naar de andere unit over te dragen. Omdat de *Streptococcus* infecties optreden onder invloed van stress dient deze in de eerste plaats te worden voorkomen. Er zijn verschillende experimentele vaccins ontwikkeld in de VS, die per injectie of via het voer worden toegediend, met redelijke tot goede resultaten qua bescherming van de vis. Hoewel de bacteriën verwant aan elkaar zijn geeft een *Streptococcus iniae* vaccin geen beschreming tegen een *Streptococcus agalactiae*-infectie. Tegen beide soorten kunnen, afhankelijk van het antibiogram, antibiotica worden ingezet. Het is echter beter preventie te betrachten door stress te minimaliseren.



Figuur 4.2.9. (A & B) Nijl tilapia met *Streptococcus iniae / Streptococcus agalactiae* ziekteverschijnselen (foto met dank aan J. Evans).

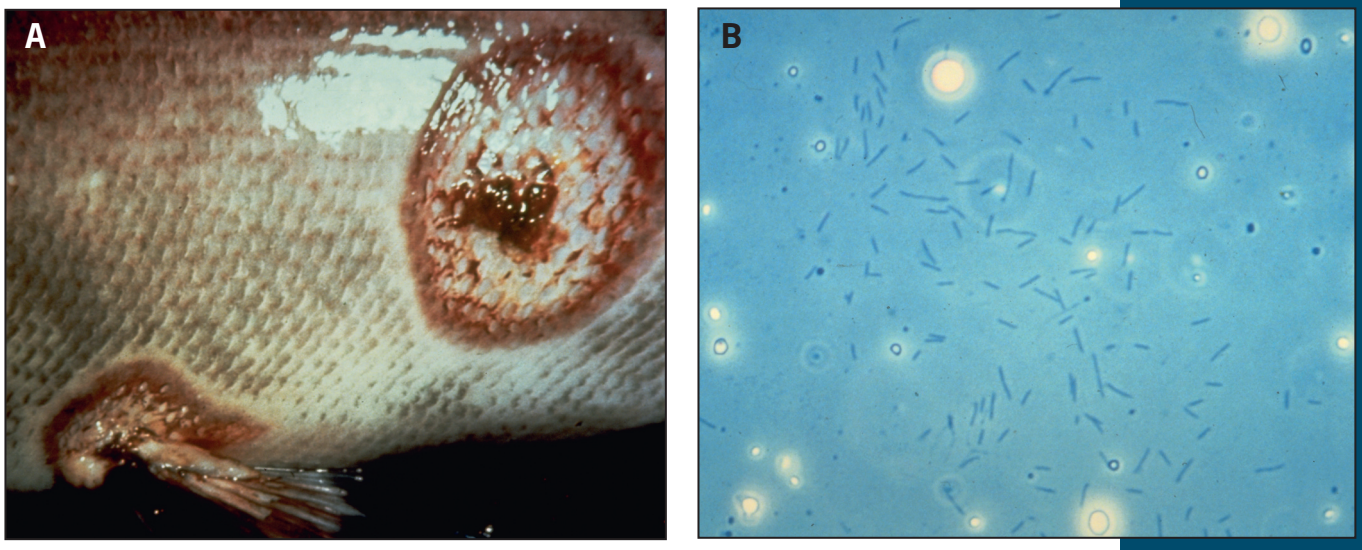
4.2.10. *Flavobacterium columnare* (columnaris ziekte)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

De myxobacteriën vormen een groep bacteriën, die algemeen in het oppervlaktewater voorkomt. Onder invloed van stress kan *Flavobacterium columnare* (Bacteroidetes: Flavobacterales) Columnaris ziekte veroorzaken bij onder ander karper-achtigen, en *Flavobacterium psychrophilum* 'Cold water disease' bij jonge salmoniden. Columnaris ziekte komt tot uiting bij een watertemperatuur van circa 16 tot 22°C en wordt geremd onder de 15°C. De ziekte kan vóórkomen bij alle maten vis, met name na sorteren, transport en andere stress en bij huid beschadigingen. In een uitstrijkje van de huid en kieuwen zijn de bacteriën te zien als zeer lange, slanke staafjes die in bosjes heen en weer bewegen. Cold water disease van forellen komt voor bij een watertemperatuur van 8 tot 14°C. Myxobacteriën komen over de de hele wereld voor. In Nederland zijn vooral in het voorjaar en de zomer veel problemen met myxobacteriën te zien in onder andere koi. Er zijn ook myxobacteriën in zoutwater, zoals *Flexibacter maritumus*, die bij 15 tot 34°C bij zeevis allerlei bek-, vin- en huidontstekingen kunnen veroorzaken.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

Myxobacteriën veroorzaken met name onder stressvolle omstandigheden huid- en kieuwontstekingen. Vaak begint een huidinfectie met een dof 'zadel' vanaf de rugvin als een band om de vis heen, dat zich dan naar voren en achteren uitbreidt. Door aantasting van de slijmlaag kunnen ander bacteriën toeslaan en groeit er na een tijdje ook vaak schimmel op de wonden. De kieuwen raken verkleefd door ontstekingen. De vis krijgt hierdoor ademhalingsmoeilijkheden, gaat minder eten en sterft uiteindelijk door secundaire infecties en uitputting. Dit proces kan weken in beslag nemen maar kan, afhankelijk van de mate van stress en de watertemperatuur, ook sneller gaan. De sterfte kan oplopen op tot 50-80%. Bij 'Cold water disease' van forellen ontstaan algehele ontsteking, bloedarmoede, vergroting van de milt en bloedinkjes in het vet, soms spiraalvormig zwemmen, ook gevolgd door sterfte.



Figuur 4.2.10. (A) Vis met oppervlakkige huidwonden door myxobacteriën. (B) Vers uitstrijkje van de huid met myxobacteriën.

Diagnostische methoden
Myxobacteriën zijn zeer lastig aan te kweken. Ze groeien alleen maar op een zeer arme voedingsbodem, cytophaga agar, bij 22°C. In de praktijk kan een verdenking op een myxobacteriële-infectie worden gesteld op basis van het klinische beeld van de huid en kieuwen en het waarnemen van de zeer lange, slanke Gramnegatieve staafjes in een uitstrijkje van de huid en kieuwen. De bosjes myxobacteriën met hun zogenaamde 'gliding motility' zijn karakteristiek. Indien er groei onststaat op de cytopgaha agar wordt de verdere determinatie van de myxobacterie overgelaten aan een specialistisch laboratorium.

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht verloopt horizontaal, dat wil zeggen, direct van de ene naar de andere vis of via water, netten, emmers, etc. Er dient dus steeds een goede hygiëne te worden betracht tussen units van kwekerijen, om de ziekte niet van de ene naar de andere unit over te dragen. Bij Cold water disease lijkt ook een verticale transmissie op te treden, via het ei naar de nakomelingen. Omdat myxobacteriën onder invloed van stress tot ziekte aanleiding geven dient stress in de eerste plaats te worden voorkomen. Voor behandeling met antibiotica dient eerst de oorzaak van het probleem te worden weggenomen en veel water te worden ververst.

4.2.11. *Mycobacterium marinum*

NL
Diverse vissoorten

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Mycobacteriële infecties van vis (ook wel vissen-TBC) zijn meestal chronisch verlopende infecties in vis, die door verschillende soorten atypische mycobacteriën kunnen worden veroorzaakt. De meest bekende en meest voorkomende is *Mycobacterium marinum* (Actinomycetales: Corynebacterineae). *M. marinum* infecties komen wereldwijd in meer dan 167 zoet- en zoutwatervissoorten voor (Gauthier & Rhodes 2009, Jacobs et al. 2009). Infecties kunnen voorkomen bij vissen van alle leeftijden, maar omdat de ziekte een chronisch verloop kent vooral bij oudere vissen. Verder heeft *M. marinum* een optimum groeitemperatuur bij 25-30°C en treden infecties van deze bacterie dus vooral op bij vissen gehouden bij een watertemperatuur van 25°C of hoger. Dit zijn voornamelijk aquaria van dierentuinen en particulieren, maar soms ook bij warmwater consumptievisteeltbedrijven. Naast *M. marinum* zijn *Mycobacterium fortuitum* en *Mycobacterium chelonae* bekende mycobacteriële ziekteverwekkers van vis. In Nederland zijn *Mycobacterium marinum* en *Mycobacterium fortuitum* veelvuldig geïsoleerd uit verschillende zoet- en zoutwatersiervissen, maar ook uit zeebaars, paling, Afrikaanse meerval en steur.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Warmwatervissen met chronische infectie van *Mycobacterium marinum* kunnen de volgende verschijnselen vertonen: ze verliezen schubben, worden bleek of juist erg donker, gaan in een hoek van het aquarium hangen, bewegen snel de kieuwdeksels op en neer, zijn lusteloos en willen niet meer eten, krijgen uitpuilende ogen en een doffe huid, wondjes en vinrot. In de lever, milt en nieren en om de darmen heen ontstaan grijs-witte bacteriehaardjes, zogenaamde granulomen. Bij koudwatervissen zoals salmoniden kan de ziekte uitwendig lang onzichtbaar blijven. De ziekte kan zich dan manifesteren door een vertraagde groei van de vis, afwezigheid van secundaire sexuele geslachtskenmerken en een afwijkende kleur van de vis, meestal lichter. Met *Mycobacterium* besmette paairijpe zalmen bleken een verstoord migratiegedrag te vertonen. De bacterie is zoönotisch en kan bij de mens via huidwondjes een niet tuberculeuze of atypische mycobacteriële infectie veroorzaken (zie hoofdstuk 7 *Zoönosen*).

Diagnostische methoden

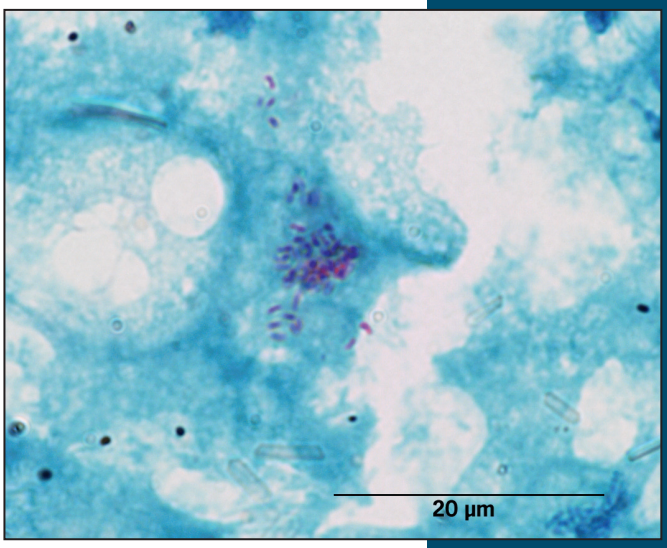
Mycobacteriën zijn Grampositieve, zuurvaste, onbeweeglijke, staafvormige bacteriën. Bij verdenking op een mycobacteriële-infectie worden orgaanafdrukjes op een objectglaasje gekleurd met een Ziehl Neelsen zuurvaste kleuring. Bij de aanwezigheid van zuurvaste bacteriën is er een sterke verdenking op een mycobacteriële-infectie. Vervolgens kan door een specialistisch laboratorium een bacterie-isolatie worden ingezet voor isolatie van de mycobacterie. Daartoe wordt de bacterie afgeënt en specifieke eiwitrijke media gebruikt. Groei van de bacterie treedt dan vaak pas na weken op. Typering geschiedt met biochemische en moleculaire methoden.

Overdracht van de infectie en preventie

Mycobacteriële infecties worden waarschijnlijk op een natuurlijke wijze overgebracht op de vis door het eten van besmet voer, dode besmette vis, of besmet organisch materiaal op de bodem van het bassin of water. De bacterie kan ook via een beschadigde huid of kieuwen binnendringen. Levendbarende vissen kunnen de bacterie rechtstreeks op de nakomelingen overdragen via de ovariële vloeistof. Via normale voortplanting wordt de ziekte niet overgedragen.

Met een strikte hygiëne door kweek omstandigheden zo optimaal mogelijk te houden kunnen mycobacteriële-infecties voorkomen worden. Waterplanten dienen goed gewassen te worden alvorens ze aan het aquarium of de vijver worden toegevoegd. Introductie van wild gevangen vis - maar ook waterplanten - geven een risico op introductie van mycobacteriën. Zieke vis dient direct te worden verwijderd en in een aparte behandelingsbak te worden geplaatst of afgevoerd en vernietigd (destructie).

Een antibioticumtherapie tegen de ziekte is langdurig en moeizaam en vaak alleen haalbaar bij zeer waardevolle vis. Het niet-eten van de vissen bemoeilijkt daarbij de toediening van het medicijn. Als een populatie vissen al sterk is aangetast is het beter de hele partij af te voeren en het hele systeem te desinfecteren. Voor desinfectie geldt dat mycobacteriën hardnekkige organismen zijn en nagenoeg resistent zijn tegen desinfectants als jodium, benzalkoniumchloride en natronloog. Ze zijn echter te doden met ethanol 70%, Lyorthol®, formaline en een hoge concentratie chlooramine-B, en kunnen niet tegen verhitten tot 70°C voor 120 minuten. Vijvers kunnen na drooglegging met ongebluste kalk worden behandeld om de ziekteverwekkers kwijt te raken.



Figuur 4.2.11. Zuurvaste staafjes in een afdrukpreparaat van de lever van een tilapia.

4.3. Parasitaire ziekteverwekkers van vissen

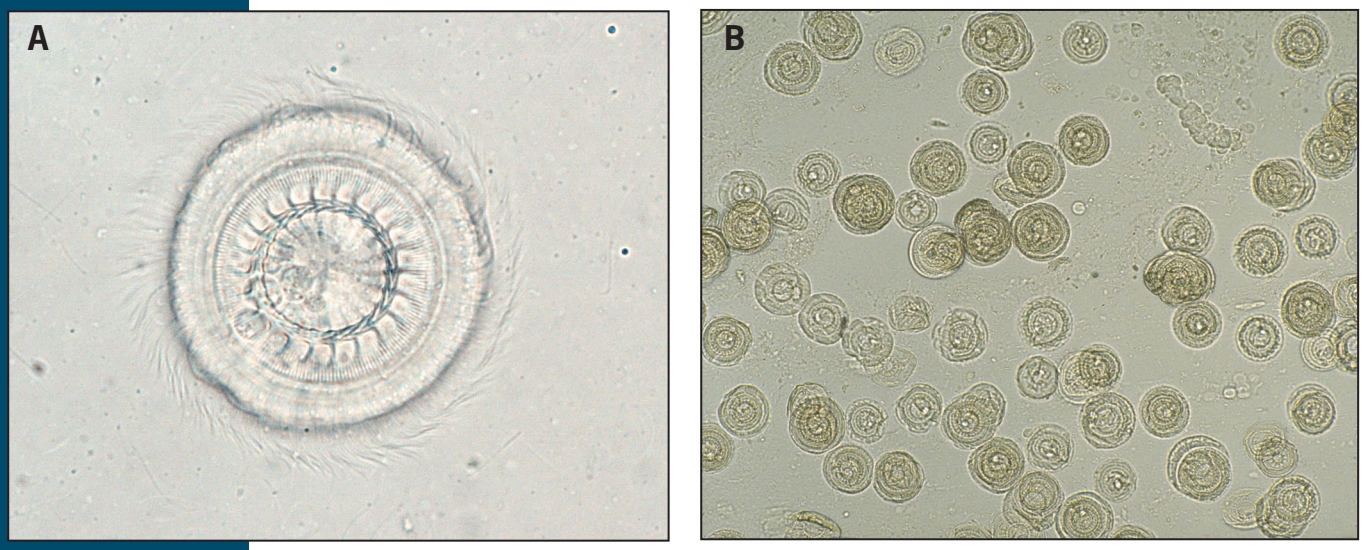
4.3.1. *Trichodina* species

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Trichodina soorten (Alveolata: Ciliophora) zijn ééncellige ciliaten die voorkomen op de huid en kieuwen van vissen. De parasiet wordt gevonden bij zoetwater- en zeevissen van verschillende leeftijden en bij verschillende kweektemperaturen. *Trichodina* is een veel voorkomende parasiet wereldwijd en in de Nederlandse aquacultuur.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Bij een infectie met *Trichodina* ontstaat een grijs-blauwe troebele slijmlaag op de huid. Zwaar besmette vissen stoppen vaak met eten (anorexie). Er treedt niet vaak primaire sterfte ten gevolge van een *Trichodina* infectie op, behalve bij zeer zwaar geïnfecteerd broed. Echter, door de bewegingen van *Trichodina* over de huid en de kieuwen wordt wel de beschermende slijmlaag aangetast, waardoor secundair bacteriën kunnen toeslaan.

Diagnostische methoden
Trichodina infecties kunnen eenvoudig met lichtmicroscopisch onderzoek in een vers huid- of kieuwafstrijkje worden aangetoond bij een vergroting van 40-100x. In een kieuwpreparaat is de parasiet te vinden in de slijmlaag of rond de kieuwstalen. De cirkelvormige parasieten zijn 30-80 µm groot en hebben diverse ronde trilhaarkransen. Ze draaien als vliegende schotels door het beeld.

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht van *Trichodina* infecties is horizontaal en geschiedt via vis, water en materialen, zoals netten, emmers, etc. *Trichodina* komt met name voor in vervuild water met veel voer- en mestresten. Preventie bestaat naast het aankopen van schone pootvis en het kweken op leidingwater, dan ook uit het betrachten van een goede bedrijfshygiëne.



Figuur 4.3.1. (A&B) *Trichodina* species, een ciliaat van huid en kieuwen.

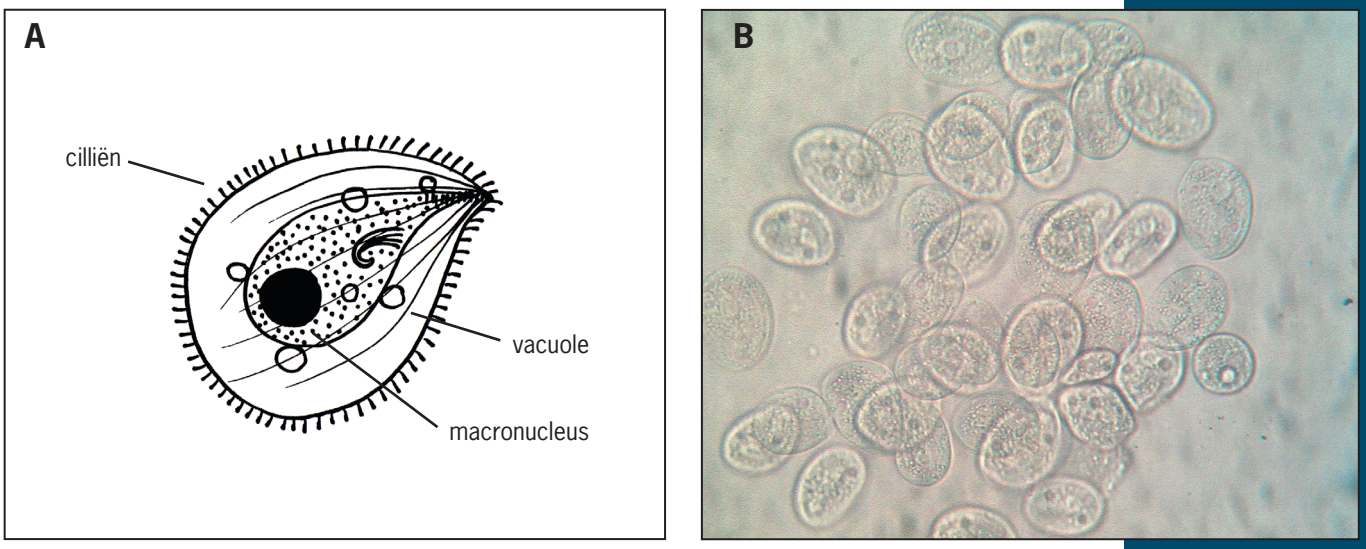
4.3.2. *Chilodonella* species

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Chilodonella species (Alveolata: Ciliophora) zijn een ectoparasieten op de huid en kieuwen van vis en veroorzaken een verhoogde slijmproductie. In principe zijn allerlei vissoorten van verschillende leeftijden en bij verschillende temperaturen vatbaar voor *Chilodonella*, maar de parasiet komt meestal voor bij verzwakte vis.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Een *Chilodonella* infectie kan zich manifesteren als een wittige, wolkachtige laag op de slijmlaag, vaak op de rug tussen de rugvin en de kop van de vis. Aangetaste vissen vertonen schuurgedrag, krijgen ademhalingsproblemen en stoppen met eten (anorexie). De aantasting van de slijmlaag resulteert vaak in het optreden van secundaire bacteriële infecties. De sterfte is afhankelijk van de intensiteit van de infectie en de betreffende vissoort, maar kan hoog oplopen.

Diagnostische methoden
Chilodonella infecties kunnen eenvoudig met lichtmicroscopisch onderzoek in een vers huidafstrijkje of kieuwpreparaat worden aangetoond bij een vergroting van 40-100x. De parasiet is ovaal van vorm en heeft een grootte van 30-70 µm. Ze bewegen zich zeer glijdend door het beeld en draaien soms iets rond. In kieuwpreparaten wekt de parasiet soms de indruk over het kieuwepitheel heen te grazen.

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht van *Chilodonella* is horizontaal via vis, water, waterplanten, levend voer en materialen. Preventieve maatregelen bestaan uit een goede hygiëne, een lage visdichtheid en voldoende waterstroming.



Figuur 4.3.2. (A) Schematische weergave van een *Chilodonella* species. (B) Vers uitstrijkje met de ciliaat *Chilodonella* sp. (foto met dank aan P. Werkman).

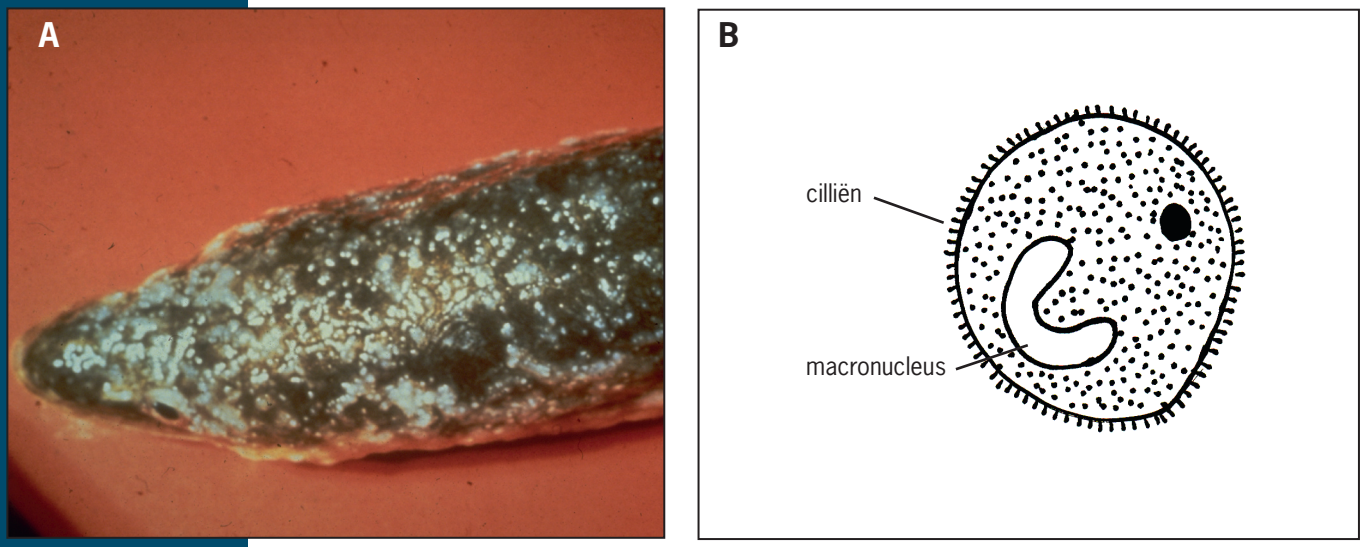
4.3.3. *Ichthyophthirius multifiliis* (witte stip)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

De ziekte Witte stip wordt veroorzaakt door de eencellige ectoparasiet *Ichthyophthirius multifiliis* (Alveolata: Ciliophora). Witte stip komt wereldwijd bij allerlei zoetwatervissoorten van alle leeftijden voor, bij een watertemperatuur van 3-28 °C. *Ichthyophthirius multifiliis* tolt rond en nestelt zich op en in de buitenste weefsellaag van huid en kieuwen. De vis reageert hierop door de vorming van exudaat in de vorm van slijmpropjes, die uitwendig zichtbaar zijn als witte stippen. Het ovale voorstadium van de parasiet (tomiet) heeft vele uitwendige ciliën en beweegt zich rollend voort. De genestelde volwassen parasiet is ovaal tot bolvormig en produceert de tomieten, welke binnen 3 dagen een nieuwe gastheer moeten vinden, omdat ze anders sterven. In het zoutwater milieu komt de gerelateerde parasiet *Cryptocaryon irritans* voor, welke marine witte stip veroorzaakt in zeevissen.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

In een vroeg stadium vertonen geïnfecteerde vissen schuurgedrag en ademhalingsproblemen. *Ichthyophthirius multifiliis* kan aanzienlijke sterfte veroorzaken door benauwdheid en secundaire bacteriële infecties, vooral bij jonge vis. In een vergevorderd stadium is de ziekte te herkennen aan met het blote oog waarneembare witte stipjes met een doorsnede van 0,5-1 mm op de huid en kieuwen van de vis.



Figuur 4.3.3. (A) Paling met extreme witte stip infectie door de ciliaat *Ichthyophthirius multifiliis*. (B) Schematische weergave van een volwassen *Ichthyophthirius multifiliis*.

Diagnostische methoden

De diagnose witte stip wordt gesteld op basis van de ziekteverschijnselen, in combinatie met een vers huid- en kieuwpreparaat bekeken met behulp van een lichtmicroscoop. Bij minimaal 40x vergroting zijn de volwassen parasieten duidelijk waarneembaar als voortrollende bollen met een hoefijzervormige lichtere kern. De bollen zijn verschillend van grootte (0,2 - 1 mm) en de inhoud van elke bol beweegt als een diffuse massa. Bij witte stip zijn de donkere bollen vaak ook in het kieuwpreparaat te zien. De ovale tomieten zijn kleiner dan de volwassen parasiet en zijn bedekt met ciliën.

Overdracht van de infectie en preventie
Witte stip kent een horizontale transmissie en kan dus overgedragen worden via vissen, water, planten, slakken en levend voer. Als de hygiëne op een viskwekerij slecht is kan de parasiet zich ook gemakkelijk via netten, emmers, handen, etc. naar andere bakken verspreiden. Preventieve maatregelen bestaan uit een goede hygiëne, niet te hoge visdichtheden en een goede water flow in het systeem. Preventieve behandeling dient bij voorkeur te geschieden op de bedrijven van herkomst.

4.3.4. *Aphanomyces invadans* (EUS)

EUS staat op de lijst van exotische visziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU
Groot aantal vissoorten

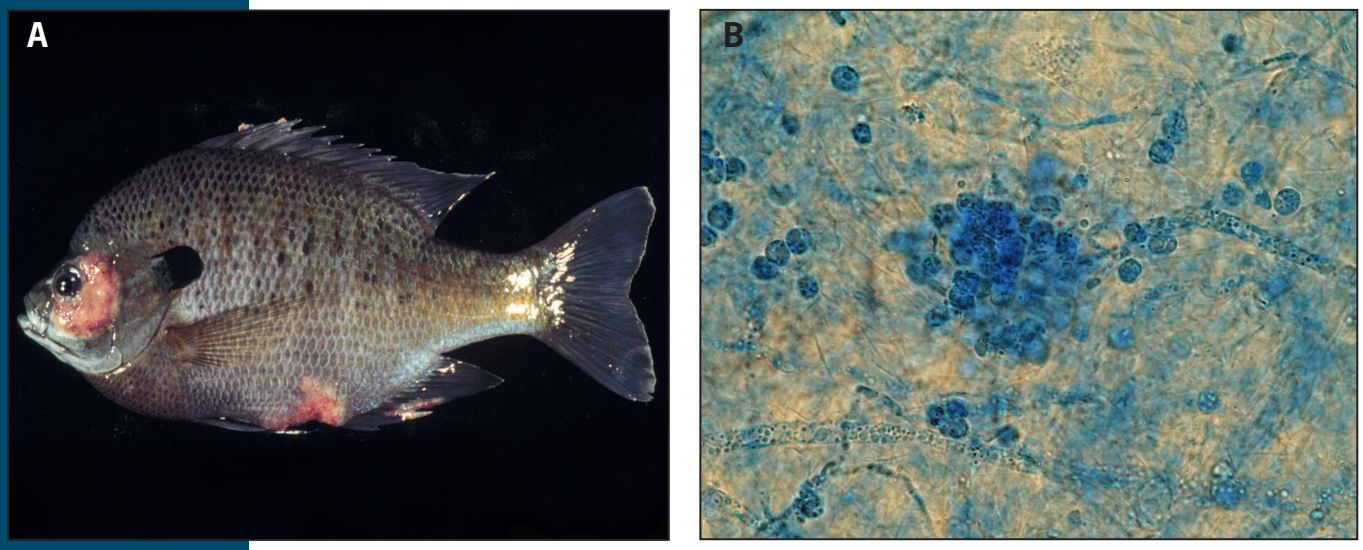
Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Epizoötisch ulceratief syndroom (EUS) wordt beschouwd als een infectie met een waterschimmel die bekend staat als *Aphanomyces invadans* (Stramenopiles: Oomyceta; syn. *Aphanomyces piscicida*). Lange tijd is onduidelijk geweest wat de veroorzakende ziekteverwekker was voor EUS, waardoor ook andere namen in omloop zijn, zoals 'red spot disease', mycotische granulomatose en ulceratieve mycose. EUS is een ernstige ziekte met een hoge sterfte die voorkomt bij tenminste 50 verschillende soorten wilde en gekweekte zoet- en brakwatervis. Onder andere verschillende meervalsoorten, harders, barramundi, Indiase karpersoorten, gourami's, en vele siervissoorten zijn gevoelig. Experimenteel was ook de goudvis vatbaar, maar karper, tilapia en milk fish niet. De ziekte komt voor in Japan, Oost Australië, Papoea-Nieuw-Guinea, Zuid- en Zuidoost-Azië en Pakistan. In de afgelopen jaren zijn vele uitbraken van EUS met hoge vissterfte gemeld in de Zambezi rivier in Zuid-Afrika. In 2011 is sterfte van brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*) in Lake Ontario toegeschreven aan een EUS uitbraak. EUS treedt vaak op bij 18-22°C en in de tropen na periodes van zware regen. Onder deze omstandigheden kan de waterschimmel goed kiemen.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
In een vroeg stadium kunnen in de huid, op de kop, op de kieuwdeksels en op de staart rode stippen te zien zijn. In een latere fase ziet men met name op de flanken of op de rug grote rode of grijze ondiepe wonden met bruine ontstekingsplekken. Soms gaat de ontsteking dieper door, zelfs tot op het bot. Het verschijnen van uitwendige ontstekingen wordt gevolgd door sterfte, waarbij secundaire bacteriële infecties de sterfte van zieke vis versnellen.

Diagnostische methoden
De schimmeldraden van *Aphanomyces invadans* (12-25 µm in diameter) kunnen in een vers preparaat vanuit de spieren onder de wonden gezien worden met de lichtmicroscoop. De diagnose EUS wordt uiteindelijk gesteld op basis van de klinische verschijnselen en histopathologie van aangetast weefsel. Microscopisch zijn in coupes van gefixeerd materiaal mycotische (schimmel) granulomen in de weefsels te zien. Ook kan *Aphanomyces invadans* uit interne organen worden geïsoleerd op specifiek groeimedium. Bij groei kan met een PCR test vervolgens de soortnaam worden bevestigd.

Overdracht van de infectie en preventie
EUS kent een horizontale transmissie; ziekteoverdracht vindt dus plaats tussen vissen, via water, vissenslijm, netten, emmers, etc. Sporen van EUS kunnen lange tijd in water of in de vijverbodem overleven, tot de omstandigheden om te ontkiemen gunstig zijn. De sporen kunnen zich ook aan de slijmhuid van vissen hechten, en daar uitgroeien tot schimmeldraden

(hyphae). In kleine uitbraken in vijvertjes kan men door middel van het verwijderen van zieke en dode vis en het toepassen van kalk de sterfte verlagen en de ziekte onder controle krijgen. Desinfectie van harde oppervlakken (netten, bassins) voor *Aphanomyces invadans* kan met chloorverbindingen, niet met alcohol. Het bestrijden van EUS in buitenwater is waarschijnlijk onmogelijk, aangezien er geen effectief diergeneesmiddel bekend is tegen EUS. Preventie bestaat uit het voorkomen van insleep van de ziekte; een vaccins is niet beschikbaar.



Figuur 4.3.4. (A) Zonnebaars (*Lepomis macrochirus*) met een EUS infectie (foto met dank aan J. Hawke & A. Camus). (B) 'Sporenbol' van *Aphanomyces invadans* in kweek (foto met dank aan E. Jansson).

4.3.5. *Hexamita* species

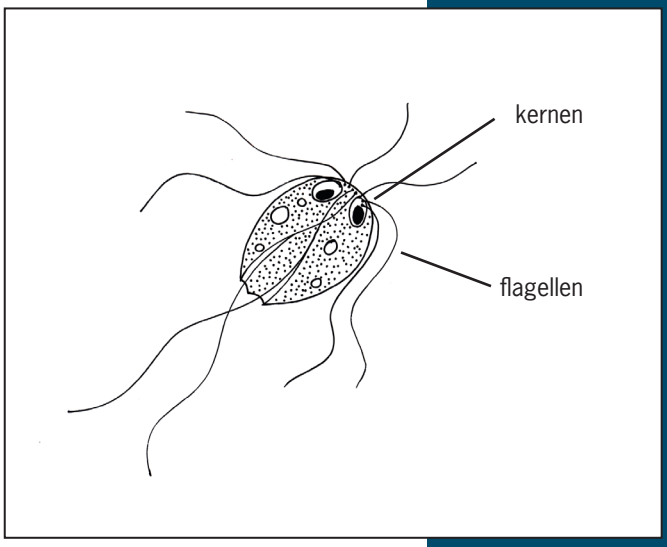
NL
Forel

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Hexamita species (Fornicata) zijn eencellige flagelaten die met name worden aangetroffen in de einddarm van forelachtigen in het buitenwater in midden-Europa. Daarnaast komen bepaalde *Hexamita*-soorten voor in siervis en in zeevis. In Nederland wordt de parasiet zowel in wilde vis als in kweekvis aangetroffen.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Hexamita veroorzaakt een catarrale enteritis (darmontsteking) bij forelachtigen. Algemene ziekteverschijnselen van *Hexamita*-infectie zijn afname van de eetlust, vermagering van de vis, soms invallen van de ogen, apathie en sterfte. Soms treedt galblaasontsteking op door massale aanwezigheid van *Hexamita* sp. in de galblaas.

Diagnostische methoden
Hexamita species kunnen worden gevonden met behulp van microscopisch onderzoek van darminhoud uit de einddarm van de vis bij een vergroting van 100-400x. *Hexamita* sp. zijn relatief klein (8-12 µm lang), maar vallen op door hun sterke beweeglijkheid. Het is een ééncellige bilateraal symmetrische flagellaat, met vier paar flagellen en twee kernen.

Overdracht van de infectie en preventie
De overdracht van *Hexamita* species is horizontaal, onder andere via vis, mest en water. Preventief is hygiëne ten opzichte van buitenwater het belangrijkst. Bij siervis wordt ter onderdrukking van de ziekte soms een vitamine B-complex toegediend via het water of via *Artemia* (pekelkreeftjes).



Figuur 4.3.5. Schematische weergave van *Hexamita* sp.

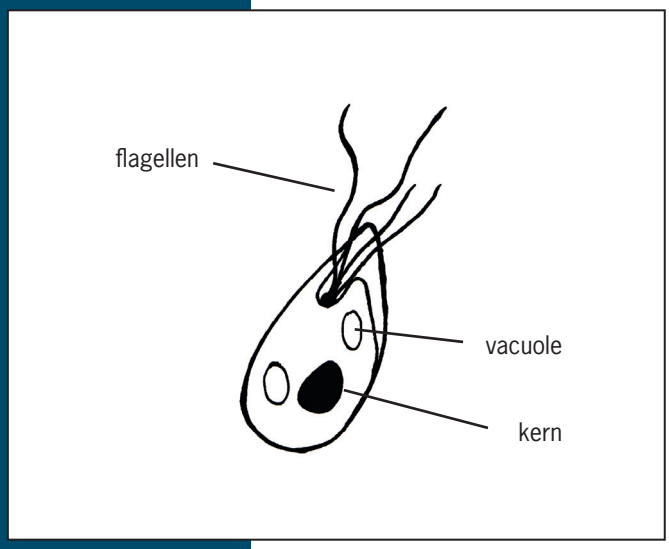
4.3.6. *Ichthyobodo necator* (syn. *Costia necatrix*)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Ichthyobodo necator (Euglenozoa: Kinetoplastida; syn. *Costia necatrix*) is een eencellige flagellaat die zich ophoudt op de huid en kieuwen van allerlei wilde en gekweekte zoetwatervissen in Nederland en de rest van de wereld. In het marine milieu komen verwante soorten voor.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Door aanwezigheid van de parasiet *Ichthyobodo necator* produceert de vis meer huidslijm, waardoor een blauwige tot witte glans ontstaat. De ziekte wordt daarom soms 'blue slime disease' genoemd. Geïnfecteerde vissen vertonen schuurgedrag door de jeuk en eten minder dan anders. Door beschadiging van de beschermende slijmlaag van de vis kunnen bacteriën en schimmels secundaire infecties veroorzaken. Bij jonge vis treedt eerder sterfte op dan bij oudere vis.

Diagnostische methoden
De diagnose wordt gesteld op basis van lichtmicroscopisch onderzoek van een vers huidafstrijkje of kieuwpreparaat. *Ichthyobodo necator* is relatief klein (10-15 µm lang) dus de preparaten dienen bij 100-400x te worden bekeken. De eencellige druppelvormige parasiet heeft 2 paar flagellen en maakt een trillerige beweging, draait snel rond, of zwemt vooruit. Ook kan *Ichthyobodo necator* vastzitten op de kieuwlamellen.

Overdracht van de infectie en preventie
Er vindt horizontale overdracht van *Ichthyobodo necator* plaats, van vis naar vis, via slijm van geïnfecteerde vissen en via besmet water. In sommige gevallen kan men de parasiet doden door de watertemperatuur tijdelijk naar circa 30 °C te verhogen, maar dit is alleen mogelijk als de aangetaste vissoort deze temperatuur kan verdragen. Als preventie gelden onder andere een goede hygiëne, het aankopen van parasietvrije pootvis en het gebruik van schoon gerecirculeerd (leiding)water.



Figuur 4.3.6. Schematische weergave van *Ichthyobodo necator*.

4.3.7. *Trypanosoma* species (slaapziekte)

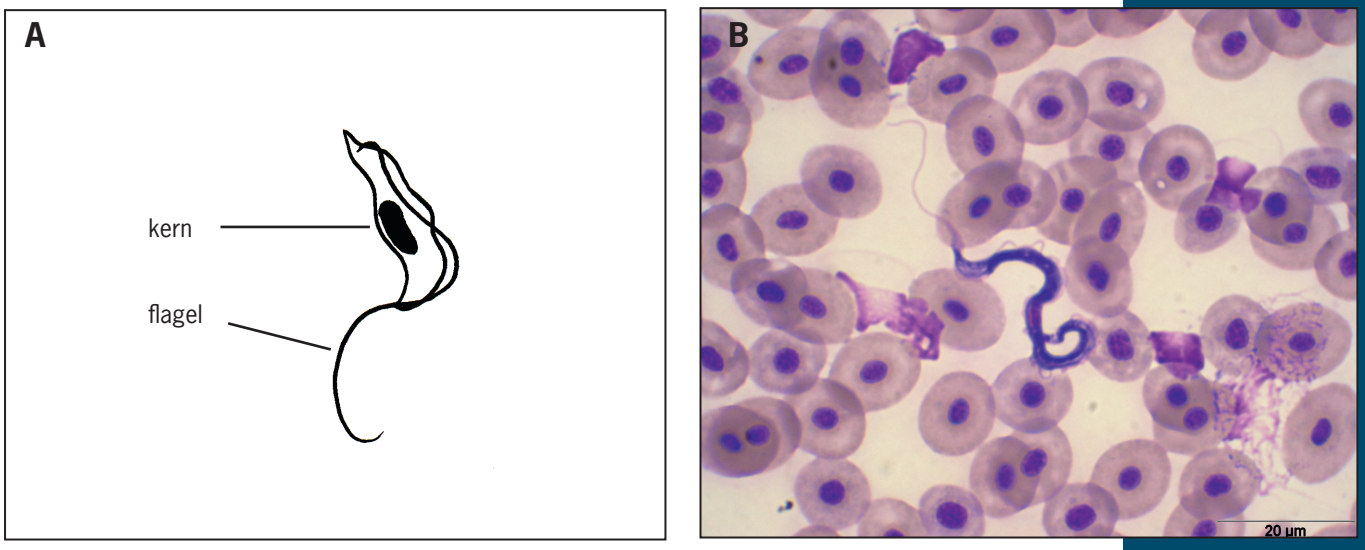
NL
Karper-achtigen, paling

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Slaapziekte wordt veroorzaakt door de eencellige bloedparasieten *Trypanosoma* species (Euglenozoa: Kinetoplastida). Deze flagellaten komen wereldwijd voor bij allerlei wilde zoet- en zoutwater vissoorten, in Europa voornamelijk bij karperachtigen. In Nederland is de parasiet onder andere aangetroffen in wilde paling en karper, waarbij de aangedane vissen apathisch op de bodem lagen en de karpers tevens ingevallen ogen hadden.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Wilde vissen kunnen soms met hoge aantallen *Trypanosoma* species geïnfecteerd zijn, zonder klinische verschijnselen te vertonen. Wanneer zich slaapziekte manifesteert vertonen de vissen ingevallen ogen, bloedarmoede, vermagering en apathie, waarbij de vissen soms lusteloos op de bodem liggen. In wilde schieraal kan de prevalentie van de infectie hoog oplopen zonder dat sterfte wordt waargenomen.

Diagnostische methoden
Een *Trypanosoma* infectie kan worden aangetoond middels lichtmicroscopisch bloedonderzoek van de vis (400x). In een vers bloeduitstrijkje vallen de zeer beweeglijke, slanke, sierlijke, op en neer zwaaiende flagellaten van 10-25 µm direct op tussen de bloedcellen. Als alternatief kan een bloeduitstrijkje worden gekleurd, waarbij de parasiet eenvoudig herkent wordt tussen de bloedcellen. *Trypanosoma* soorten hebben een duidelijke kern en één enkele lange flagel.

Overdracht van de infectie en preventie
De parasiet wordt door bloedzuigers tijdens het bloedzuigen overgebracht op een volgende gastheer, de vis. Daarna treedt vermeerdering op door lengtedeling van de parasiet. De parasiet houdt zich met name in de nierstreek van de vis op. Als preventie kan binnenhuisviskweek met gerecirculeerd schoon (kraan)water worden gehanteerd. Elk contact met buitenwater dient dan vermeden te worden. Er is geen goede therapie tegen bloedflagellaten.



Figuur 4.3.7. (A) Schematische tekening van *Trypanosoma* sp. (B) Met Hemacolor gekleurd bloeduitstrijkje van paling met daarin *Trypanosoma* sp.

4.3.8. *Myxobolus cerebralis* (draaiziekte)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De myxozoaire parasiet *Myxobolus cerebralis* (Myxozoa) komt bij bijna alle salmonide-soorten over de hele wereld voor, en veroorzaakt in met name het broed- en fingerlingstadium de zogenaamde 'draaiziekte'. Hoewel de jonge vis al langer geïnfecteerd kan zijn, vertoont deze pas ziekteverschijnselen bij ongeveer 6-7 cm lengte. De ziekte is goed te voorkomen via management-technische maatregelen, en komt derhalve op moderne, goed beheerde viskwekerijen nog slechts sporadisch voor. In het verleden is *Myxobolus cerebralis* ook in Nederlandse bedrijven gevonden (Bootsma et al. 1971).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Myxobolus cerebralis infecteert het kraakbeen van jonge vissen. De verschijnselen worden veroorzaakt door de druk van de myxozoën vanuit het kraakbeen op het omliggende zenuwweefsel. Draaiziekte uit zich vaak door donkerkleuring van de staart, spiraalvormig (draaiend) zwemmen en gestresst reageren op verstoringen, met schichtige, spastische zwembewegingen tot de vis uitgeput is. Ongeveer 3 tot 4 maanden na de eerste infectie treden verkrommingen en deformaties van de schedel, kieuwdeksels en ruggengraat op. Uiteindelijk sterft de vis door uitputting.

Diagnostische methoden
Er zijn twee diagnostische methoden om draaiziekte vast te stellen. De eerste en meest gebruikte methode is histopathologie. Hierbij kunnen de myxozoën met behulp van lichtmicroscopie worden aangetroffen in histologische coupes van het kraakbeen van jonge vis. Na een Giemsa-kleuring zijn de sporen van de parasiet duidelijk zichtbaar. Bij een andere methode worden hele visjes fijngemalen en verteerd in enzymoplossingen. De resistente sporen van de myxozoën blijven over en kunnen vervolgens microscopisch worden onderzocht.

Overdracht van de infectie en preventie
Myxobolus cerebralis wordt overgedragen via *Tubifex*, kleine wormpjes die zich in de modderige bodem van een vijver bevinden. Als een visteeltbedrijf eenmaal besmet is blijft dit zo, omdat de spore van deze parasiet enkele decennia kan overleven. Daarbij is desinfectie van de vijverbodem is zo goed als onmogelijk. Preventie kan door de jonge vis in plastic tanks te houden tot verbening van het kraakbeen skelet optreedt bij 6 à 7 cm. Na verbening van het skelet zijn de vissen resistent tegen de infectie en kunnen dan dus in (modderige) vijvers worden uitgezet zonder risico op draaiziekte. Jonge vis dient van draaiziekte-vrije bedrijven te worden aangekocht. Er bestaat geen therapie voor draaiziekte.

Figuur 4.3.8. Jonge forel met *Myxobolus cerebralis*: donkerkleuring van de staart (foto ter beschikking gesteld door Dr. R. Bootsma).

4.3.9. *Pseudodactylogyrus*, *Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* species

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Tot de genera *Pseudodactylogyrus*, *Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* (Platyhelminthes: Monogenea) behoren verschillende soorten huid- en kieuwparasieten van de vis. Deze monogene trematoden (platwormen) zijn ectoparasieten die zich met een voet met haken vastzetten op de huid en kieuwen van vissen. De zuigwormen voeden zich met slijm en organisch materiaal van de vissenhuid, dat ze opnemen door het maken van graasbewegingen met hun slurfvormige lichaam. (*Pseudo*)*dactylogyrus*- soorten zijn eierleggend, *Gyrodactylus*-soorten zijn levendbarend. De monogene trematoden komen wereldwijd bij allerlei vissoorten bij alle kweektemperaturen voor. Ook in het buitenwater komen deze parasieten algemeen voor, met name bij verzwakte vissen. In Nederland kan *Pseudodactylogyrus anguillae* grote problemen geven op palingmesterijen, terwijl *Gyrodactylus*-soorten op visteeltbedrijven in

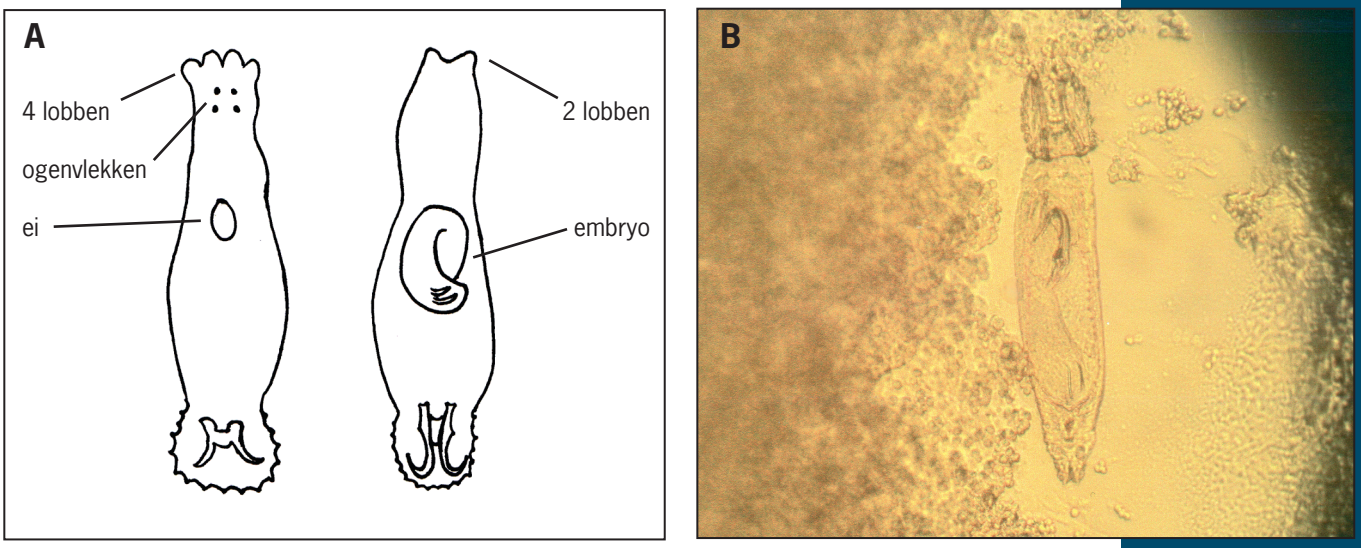
Nederland een minder groot probleem vormen. Binnen de Europese Unie staat *Gyrodactylus salaris* sterk in de aandacht, die met name bij zalmkwekerijen grote schade kan aanrichten.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

Vissen geïnfecteerd met (*Pseudo*)*dactylogyrus*-, of *Gyrodactylus*-soorten krijgen ademhalingsmoeilijkheden als de kieuwen besmet zijn, en vertonen schuurgedrag als de huid besmet is. De kieuwdeksels staan verder naar buiten dan normaal, en de kieuwen zelf vertonen vlekken en vaak bloedingen. Ook zal besmette vis ophouden met eten, wat in de visteelt een financieel verlies betekent. De parasieten veroorzaken schade aan de slijmlaag van de huid en de kieuwen door het zich vastzetten met de haken en het afgrazen van het epitheel met de kop. Ernstige directe schade komt echter alleen bij zeer zware infecties voor. Wel treden vaak secundaire bacteriële infecties op.

Diagnostische methoden

De diagnose monogene trematode infectie wordt gesteld door middel van microscopisch onderzoek van een vers huid- en kieuwpreparaat bij 40x vergroting. De zuigwormen van 0,3-1 mm groot zitten met haken vast op de kieuwen of in het huidslijm en bewegen slurfachtig. (*Pseudo*)*dactylogyrus*-soorten zijn met behulp van een lichtmicroscoop morfologisch te onderscheiden van *Gyrodactylus*-soorten. De eierleggende *(Pseudo)dactylogyrus* soorten hebben vier duidelijke zwarte oogpunten in hun kop en vaak ziet men eitjes los tussen de kieuwlamellen, of nog in de volwassen parasiet zelf. Bij de *Gyrodactylus* soorten zijn de haken in de voet duidelijk te zien, terwijl de ogen vaak niet te zien zijn. Omdat *Gyrodactylus* soorten levendbarend zijn, zijn inwendig vaak de haken van het embryo te zien.



Figuur 4.3.9. (A) Schematische weergave van (*Pseudo*)*dactylogyrus* sp. (links) en *Gyrodactylus* sp. (rechts) (B) *Gyrodactylus* sp. met duidelijk zichtbaar de haken van de embryo (foto met dank aan P. Werkman).

Overdracht van de infectie en preventie

De overdracht van de monogene trematoden is horizontaal en gebeurt direct tussen vissen, maar ook indirect via water, waterplanten, slakken, levend voer en materialen, zoals netten, emmers, etc. *(Pseudo)dactylogyrus*- en *Gyrodactylus*-soorten kunnen worden bestreden met het antihelminticum Mebendazol of formaline, maar de parasieten zullen vaak niet helemaal verdwijnen op een viskwekerij. In geval van een infectie met de eierleggende *(Pseudo)dactylogyrus* soorten moet meermalen behandeld worden met een tussenpauze van

enkele dagen, omdat de eitjes zelf door de behandeling niet gedood worden en dus eerst moeten uitkomen. Er ontstaat bij *(Pseudo)dactylogyrus* soorten op viskwekerijen echter steeds meer resistentie tegen deze behandelingen.

4.3.10. *Diphyllobothrium* species en *Ligula intestinalis (lintwormen)*

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Bij vissen zitten lintwormen (Platyhelminthes: Cestoda) vaak vrij of ingekapseld in de buikholte of inwendige organen (lever, spieren), en maar zelden in de darmen. Het eerste larvale stadium van deze endoparasieten vinden we in *Tubifex* (kleine wormpjes in de bodem), of in kleine kreeftachtigen in het zoöplankton. De kleine wormpjes of kreeftjes worden gegeten door de vis en dringen de buikholte of inwendige organen binnen. De vis wordt vervolgens weer gegeten door een roofvis, vogel, zeezoogdier of de mens, alwaar de parasiet, afhankelijk van de soort, het volwassen stadium bereikt in de darmen van deze organismen. Enkele bekende lintwormen van vissen zijn *Diphyllobothrium* species en *Ligula intestinalis*.
Diphyllobothrium species komen met name voor bij roofvissen, zoals baars, snoekbaars en snoek, bij verschillende watertemperaturen. De lintwormen worden dan aangetroffen in de lever, de rugspieren en in het maagdarmkanaal. *Diphyllobothrium latum* is een ondersoort met zoogdieren als mogelijke eindgastheer. Zo kunnen bijvoorbeeld honden en varkens, maar ook de mens geïnfecteerd raken na consumptie van rauw besmet visvlees. In Europa is deze soort vooral aanwezig in Scandinavië. In Nederland komt *Diphyllobothrium latum* zowel op visteeltbedrijven als in het buitenwater nauwelijks voor. In de darmen van snoek in het buitenwater in Nederland kan de lintworm *Triaenophorus nodulosus* worden aangetroffen.
Ligula intestinalis wordt gevonden in de buikholte van allerlei vissoorten van alle leeftijden, maar komt voornamelijk voor bij karperachtigen, zoals blankvoorn, ruisvoorn en winde. De eerste tussengastheer zijn *Cyclops*- en *Diaptomus*-soorten. In Nederland kan de parasiet een groot probleem vormen bij karperachtigen, met name gedurende hete zomers. De verzwakte vissen worden dan massaal opgegeten door vogels, welke de eindgastheer vormen.

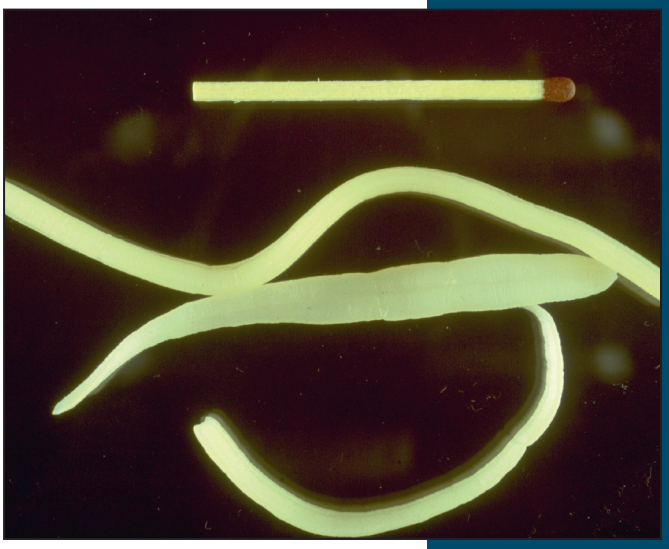
Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Larven van *Diphyllobothrium* soorten veroorzaken cystevormingen in de maag, darm, lever en spieren van roofvissen, die bij sectie te zien zijn als onregelmatige grotere en kleinere witte knobbels. De vis kan lang doorzwemmen met een *Diphyllobothrium* infectie, maar raakt verzwakt en valt daarmee eerder te prooi aan hogere roofdieren.
Vissen besmet met *Ligula intestinalis* zijn mager, maar vertonen een dikke buik, vaak met wat hobbels. Het grootste gedeelte van de buikholte is opgevuld met wormen in plaats van organen, en de randen van de platte lintwormen kunnen zich aftekenen door de buikwand van de vis heen. Zwaar geïnfecteerde vissen hebben een sterk teruggelopen algehele conditie, zwemmen trager en hangen vaak aan het oppervlak, waardoor ze een gemakkelijke prooi voor vogels vormen. Ook heeft *Ligula intestinalis* een castrerend effect op vissen, doordat de ontwikkeling van de gonaden wordt geremd.

Diagnostische methoden
De diagnose *Diphyllobothrium* species of *Ligula intestinalis* infectie wordt gesteld door middel van sectie. Bij een infectie met *Diphyllobothrium* soorten zijn in de organen (lever en maagdarmkanaal) onregelmatige grotere en kleinere witte knobbels te zien, en kunnen in filets van de visspieren tegen het licht donkere plekken worden gezien. Na voorzichtig opensnijden van de witte knobbels in de organen en donkere plekken in de spieren, kunnen de larvale stadia van de lintworm worden gevonden. De larven zijn enkele millimeters lang en kunnen het beste

bij een lage vergroting (40x) bekeken worden. *Ligula intestinalis* is in de buikholte van de vis te vinden als een lange, witte, lintvormige parasiet, gestrengeld om en tussen de organen. Met een stompe pincet kan de worm – die tientallen centimeters groot kan worden – er voorzichtig uitgetrokken worden.

Overdracht van de infectie en preventie

Lintwormen van vissen hebben een complexe levenscyclus met meerdere tussengastheren. *Diphyllobothrium* soorten en *Ligula intestinalis* hebben als eerste tussengastheer *Cyclops*- en *Diaptomus*-soorten uit het zoöplankton, welke worden gegeten door vissen, de tweede tussengastheer. Infectie van roofvissen door *Diphyllobothrium* soorten vindt plaats wanneer zij geïnfecteerde prooivissen consumeren. De cyclus is rond wanneer een eindgastheer (waaronder roofvissen, vogels en zoogdieren) geïnfecteerd wordt en vervolgens het water weer besmet. *Ligula intestinalis* infecties slaan aan in het voorjaar en kunnen bij warme zomers tot grote problemen leiden. In de winter kan *Ligula intestinalis* zich lang goed houden in de modderige vijverbodem, zelfs als de vijver leegstaat. Zowel tegen *Diphyllobothrium* soorten als tegen *Ligula intestinalis* bestaat eigenlijk geen gedegen therapie. Infecties met *Diphyllobothrium* soorten hoeven in de praktijk vaak ook niet behandeld te worden. Preventieve maatregelen zijn bij vijverteelt lastig en moeten zich richten op het doorbreken van de levenscyclus van de parasiet, dus bijvoorbeeld het vermijden van (overvliegende) vogels, of de aanwezigheid van *Cyclops*- en *Diaptomus*-soorten in het (aanvoer)water.



Figuur 4.3.10. *Ligula intestinalis* uit de buikholte van jonge winde uit een buitenvijver.

4.3.11. *Anguillicoloides crassus* (zwemblaasworm)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

De volwassen rondwormen van *Anguillicoloides crassus* (Nematoda; syn. *Anguillicola crassus*) komen voor in de zwemblaas van zowel de Japanse paling (*Anguilla japonica*) als de Europese paling (*Anguilla anguilla*), in zoet en brak water. Bij de Japanse paling geeft de zwemblaasworm nauwelijks problemen, terwijl de parasiet bij de Europese paling zwemblaaslaesies veroorzaakt. Toen de zwemblaasworm begin jaren tachtig vanuit Zuidoost-Azië in Nederland en België werd geïntroduceerd, vond snelle verspreiding door heel Europa plaats. In de beginjaren waren de aantallen volwassenwormen per zwemblaas hoog en was de reactie van de zwemblaas op de aanwezigheid van de parasieten heftig: door secundaire ontstekingen en een bindweefselreactie werden de zwemblazen verdikt, waarbij diverse larven en volwassen wormen werden ingekapseld. De zwemblazen verloren in die fase vaak hun functie van regulatie van de opwaartse kracht en de koolzuurspanning. Na enkele jaren werden zowel de aantallen als de effecten van de worm in de palingen minder ernstig.
Veel palingmesterijen namen begin tachtiger jaren pootaal vanuit de Nederlandse binnenwateren in en haalden zo de infectie met de zwemblaasworm in huis. In combinatie met soms zware houderij-omstandigheden trad daar veel palingsterfte op. Sinds het onderkennen van het probleem gebruiken palingmesters niet langer pootaal, maar in zoutwater gevangen niet-geïnfecteerde glasaal. Hiermee is het probleem met de zwemblaasworm in de palingkweek opgelost.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

Bij een zware zwemblaasworm-infectie is dit uitwendig te herkennen aan een sterk opgezette buik. Bij een lichtere infectie is dit vaak niet aan de buitenkant van de paling te zien en zijn de vissen er ook niet echt ziek van.

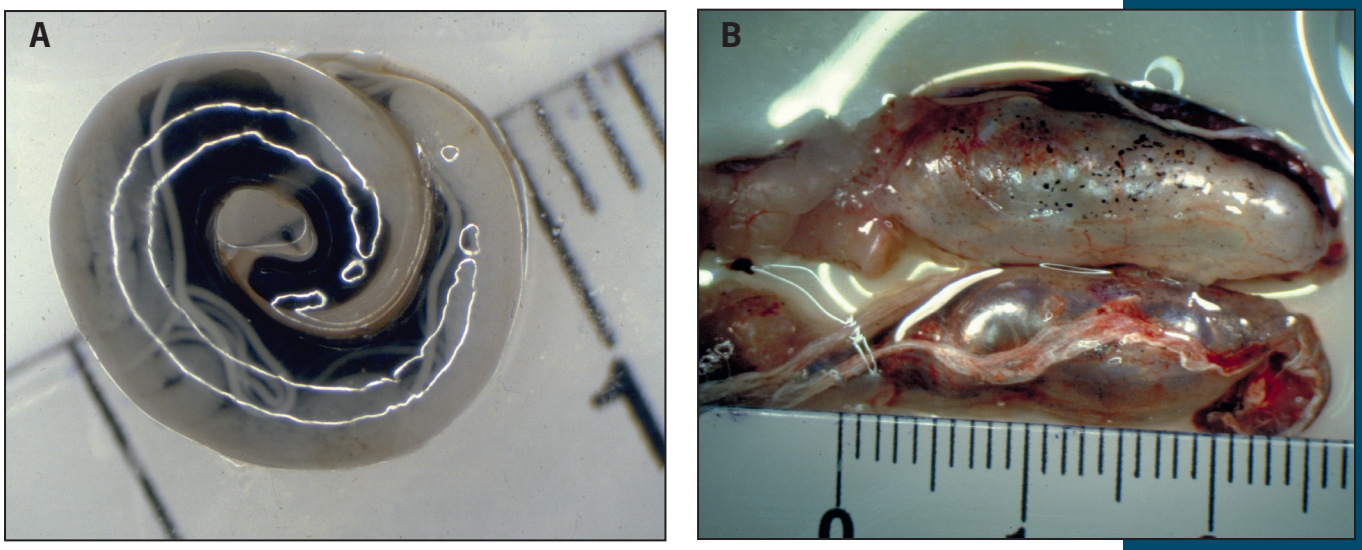
Diagnostische methoden

De diagnose *Anguillicoloides crassus* infectie wordt gesteld door middel van sectie. Bij een zware infectie is de zwemblaas donker en gevuld met dikke donkerbruine, met bloed gevulde wormen. Bij een jonge of lichte infectie kan de diagnose gesteld worden door de zwemblaas open te knippen, en onder de lichtmicroscoop bij minimaal 40x naar de beweeglijke larvale stadia te zoeken. Om met zekerheid te kunnen concluderen dat het om *Anguillicoloides crassus* gaat zijn echter de volwassen wormen nodig.

Overdracht van de infectie en preventie

De voortplanting in de zwemblaas van de paling is geslachtelijk, waarna de levend gebaarde L1- en L2-larven via de pneumatische buis naar de slokdarm en de darm sijpelen en vervolgens in het water terecht komen. De L2-larven worden opgegeten door copepoden van het zoöplankton, waarna de larve tot de infectieuze L3-larve vervelt. De geïnfecteerde copepode wordt door een paling of een andere zoetwatervissoort opgegeten, waarna de L3-larve naar de zwemblaas van de vis kruipt. In de paling vervelt de L3-larve in enkele weken tot L4-larve, die in de weken/maanden daarna tot de volwassen worm (adulte stadium) uitgroeit. De volwassen zwemblaasworm zit niet langer in de zwemblaaswand, maar in de zwemblaasholte, en voedt zich daar met bloed via de vele bloedvaatjes van de zwemblaas. In andere vissoorten wordt de larve niet volwassen, maar deze paratenische gastheren kunnen wel weer palingen infecteren wanneer zij worden opgegeten.
Preventie is goed mogelijk door niet-geïnfecteerde glasaal als pootgoed te gebruiken en door op de viskwekerij met schoon leidingwater te werken. De overdracht kan worden verhinderd door copepoden te bestrijden, maar dit is in de praktijk vaak niet mogelijk bij palingmesterijen

met een biofilter. Over het algemeen wordt niet tegen *Anguillicoloides crassus* infecties behandeld, omdat het probleem niet meer speelt op viskwekerijen en de zware behandelingen met antihelminthica vaak ernstige bijwerkingen hebben.



Figuur 4.3.11. (A) Volwassen vrouwtje *Anguillicoloides crassus* uit de zwemblaas van paling. (B) met de zwemblaasworm geïnfecteerde zwemblaas van paling.

4.3.12. *Argulus* species (visluis)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Argulus species of visluizen (Crustacea: Branchiura) zetten zich vast op de huid van de vis en voeden zich met lichaamsvloeistoffen van de vis via een boorsnuit. Door de beschadigingen aan de beschermende slijmhuid kunnen secundaire infecties optreden. *Argulus* species komen met name in het buitenwater voor, bij allerlei wilde vissoorten, maar ook in vijvers bij met name koi en goudvissen. Bekende visluissoorten zijn *Argulus foliaceus* en de zalmluis *Lepeophtheirus salmonis*.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Argulus species zitten op de huid van de vis vast en voeden zich door middel van een boorsnuit. Als gevolg van irritatie door de aanwezigheid van de parasieten kan de vis afwijkend zwemgedrag vertonen. De huid raakt geïrriteerd en soms treedt donkerverkleuring van de huid op (hyperpigmentatie). De huidbeschadigingen zelf vormen weer een aanhechtingspunt voor secundaire bacteriële en virale infecties. De de zalmluis *Lepeophtheirus salmonis* is internationaal bekend vanwege zijn schadelijk effect op zalm.

Diagnostische methoden
De diagnose visluis wordt gesteld door macroscopisch onderzoek van de vis. Juveniele visluizen zijn 1-3 mm lang, volwassen parasieten 5-8,5 mm en dus met het blote oog waarneembaar. Eventueel kan een huidafkrabsel microscopisch worden onderzocht bij een lage vergroting (40x).

Overdracht van de infectie en preventie
Argulus species planten zich geslachtelijk voort, met een snelheid die afhankelijk is van de soort en van de watertemperatuur. Gewoonlijk duurt de levenscyclus ongeveer een maand.

Volwassen vrouwtjes leggen eieren op onder andere waterplanten, die binnen 10-50 dagen uitkomen. Volwassen parasieten kunnen enkele dagen zonder gastheer voortleven. Tegen *Argulus* species kan worden behandeld met organofosforverbindingen, die echter toxisch zijn voor de vis. Preventie is alleen mogelijk als de vis binnen wordt gekweekt, zonder contact met wilde visbestanden of het buitenwater.

Figuur 4.3.12. *Argulus* species van de huid van een karperachtige.

4.3.13. *Ergasilus* en *Lernaea* species (copepoden)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

Ergasilus en *Lernea* species behoren tot de grote en gevarieerde groep van de Copepoda (Crustacea: Copepoda). Het betreffen bijna uitsluitend ectoparasieten die voorkomen op de huid, kieuwen, ogen en in de bek van vissen, waar ze zich aan vasthechten via zuignappen, haken of verankerde aangroeisels. *Ergasilus*-soorten komen voornamelijk bij zoetwatervissoorten voor, maar ze kunnen ook in het marine milieu gevonden worden. Door hun parasitisme op de huid en kieuwen veroorzaken ze tal van infecties. *Ergasilus*-soorten hebben een conische vorm en een gesegmenteerd lichaam, dat meestal minder dan 2 cm lang is. *Lernea*- soorten worden ook wel ankerwormen genoemd en komen eveneens overwegend bij zoetwatervissoorten voor. De worm verankert zich met vier kopuitsteeksels diep in de huid en kieuwen van de vis. *Lernea*-soorten zijn langgerekt, wormachtig van vorm met een lengte tot 2 cm.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

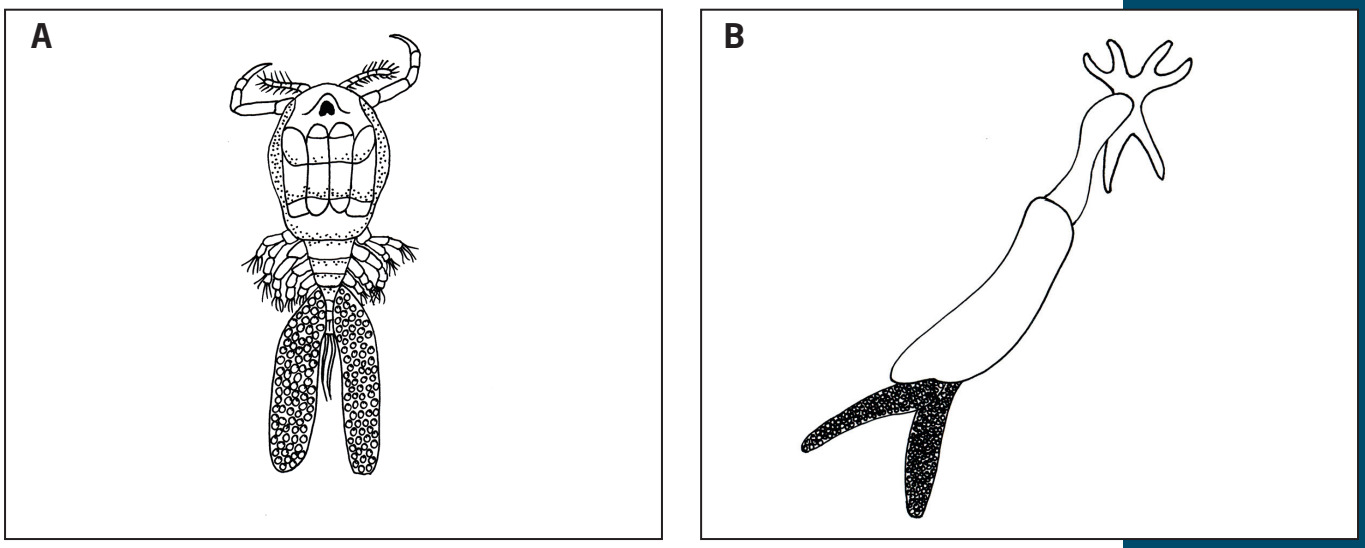
Ergasilus en *Lernea* species beschadigen de huid met hun aanhechten, waardoor secundair allerlei bloedingen en secundaire ontstekingen in de huid en kieuwen optreden. Soms vertonen de vissen schuurgedrag en zwemmen ze schichtig door de vijver als gevolg van de infectie. In ernstige gevallen kunnen de (secundaire) infecties sterfte tot gevolg hebben.

Diagnostische methoden

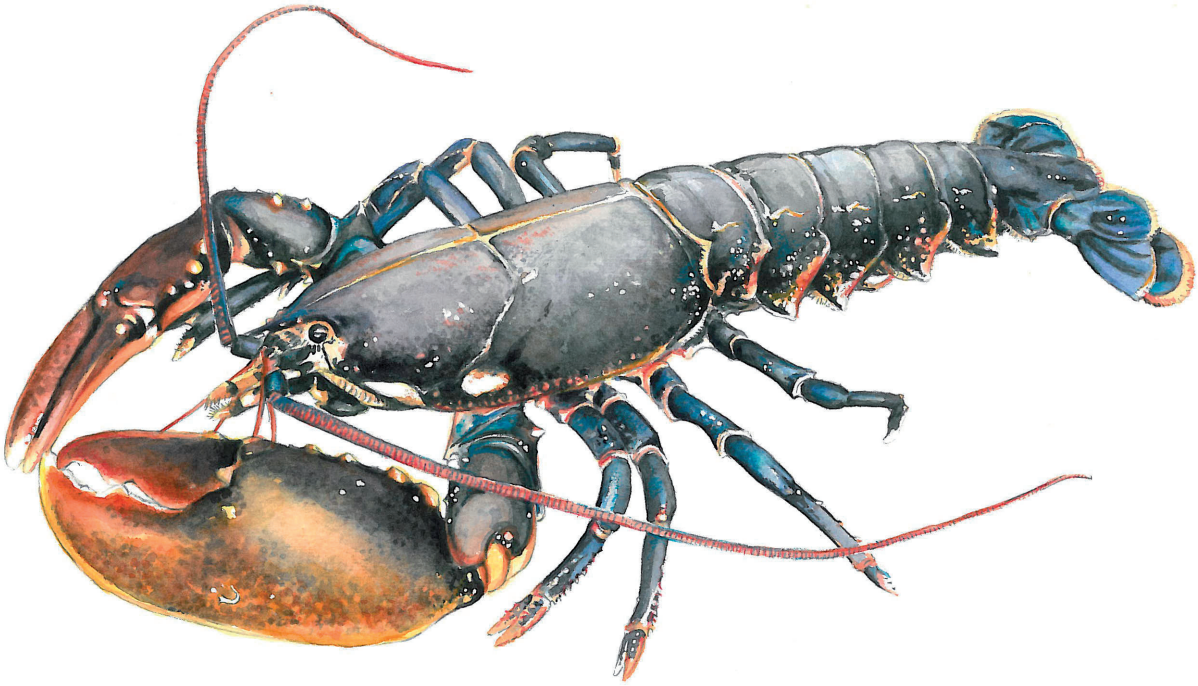
Ergasilus en *Lernea* species worden tot 2 cm lang en met name de enkele millimeter grote eierzakken aan de achterlijven van de wijfjes zijn met het blote oog goed waarneembaar. De parasiet kan microscopisch bestudeerd worden in een huidafstrijkje of kieuwpreparaat bij een lage vergroting (40x). *Lernea* species hebben wat langwerpigere eierzakken dan *Ergasilus* sp.

Overdracht van de infectie en preventie

De levenscyclus van *Ergasilus* en *Lernea* species verloopt in Nederland als volgt. In april komen de naupliuslarven uit de eieren, die zich afhankelijk van de watertemperatuur direct ontwikkelen tot volwassen copepoden. De mannetjes blijven maar twee weken leven en sterven direct na de bevruchting. De vrouwtjes zoeken in juni de gastheer (vis) op en leggen elk tot 200 eieren. Hierdoor stijgt de infectiedruk op de vis tot in september, en ontwikkelen zich in de zomerperiode 2 tot 3 generaties. Bij een watertemperatuur onder de 14°C neemt het aantal parasieten snel af en in de winter blijven alleen de eieren over. Tegen *Ergasilus* en *Lernea* soorten kan worden behandeld met organofosforverbindingen, die echter toxisch zijn voor de vis. Preventie bestaat uit het vermijden van contact met wilde visbestanden en het buitenwater.



Figuur 4.3.13. Schematische tekeningen van (A) *Ergasilus* sp. en (B) *Lernaea* sp.



Schaaldierziekten 5

5.1. Virale ziekteverwekkers van schaaldieren

5.1.1. Taura syndroom virus (TSV)

TSV staat op de lijst van exotische schaaldierziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

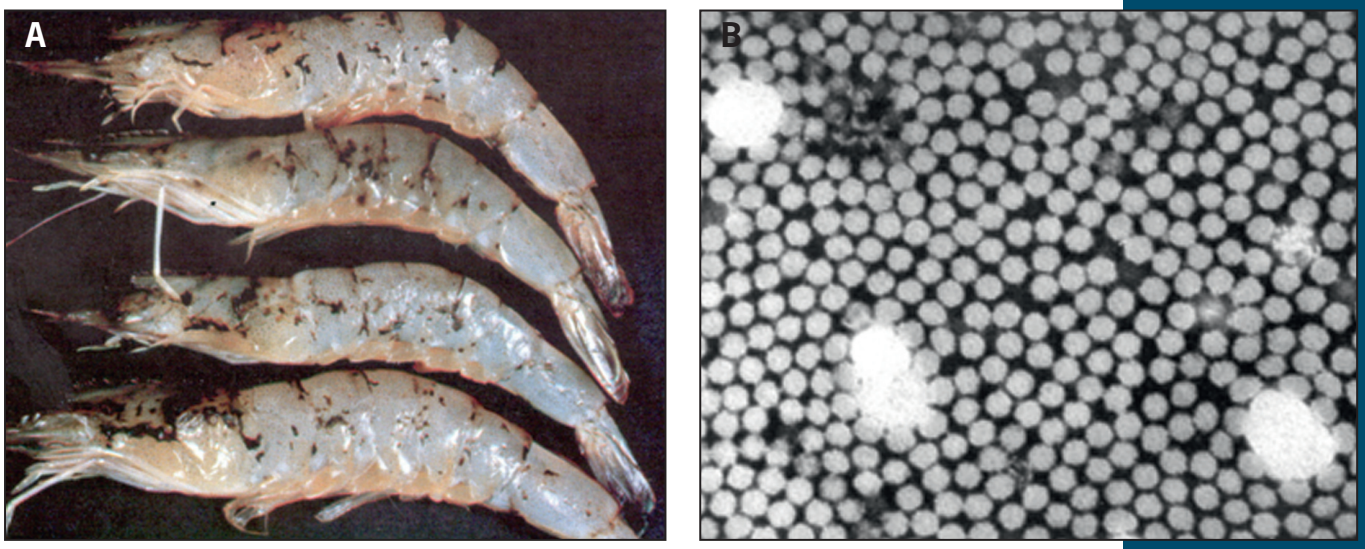
OIE, EU
Pacificische witte garnaal, Pacifische blauwe garnaal, en diverse andere garnalen soorten.

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Taura syndroom is een ernstige ziekte van garnalen, die veroorzaakt wordt door het *Taura syndroom virus* (TSV). Dit enkelstrengs (+)RNA virus behoort tot de familie van de Dicistroviridae van de orde Picornavirales. Het virus veroorzaakt in alle levensstadia van een aantal garnalensoorten ziekte, met sterfte van 40% tot 90%. De belangrijkste gevoelige soorten voor deze ziekte zijn de Pacificische witte garnaal *Litopenaeus vannamei* en de Pacifische blauwe garnaal *Litopenaeus stylirostris*. In infectieproeven is aangetoond dat ook andere garnalensoorten met het virus geïnfecteerd kunnen worden, hoewel die soorten geen ziekteverschijnselen vertoonden. De aanvullende lijst van gevoelige soorten voor TSV op basis van waarnemingen in de natuur en in proeven luidt: *Litopenaeus setiferus, Litopenaeus schmitti*, *Penaeus monodon*, *Metapenaeus ensis, Fenneropenaeus chinensis, Marsupenaeus japonicus, Farfantepenaeus aztecus* en *Farfantepenaeus duorarum.* De ziekte komt voor in de garnalen producerende gebieden van Noord- en Zuid-Amerika en Zuidoost Azië.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Er zijn drie stadia in het verloop van de ziekte: de acute fase, de overgangsfase en de chronische fase. De Pacificische witte garnaal krijgt in de acute fase een bleekroze kleur met rode staart en rode pleopoda (zwempoten). Meteen zijn dan ontstekingsplekken te zien op de schalen, waarbij de schalen zacht zijn en de darmen vaak leeg. De zieke garnalen hangen aan het oppervlak en er is een hoge sterfte in de partij.
In de overgangsfase zijn donkere vlekkerige laesies op de schalen te zien (door melanine), terwijl de schalen niet per se zacht zijn, er ook geen rode staart te zien is en de eetlust nog wel goed kan zijn.
In de chronische fase van de ziekte, na een geslaagde vervelling, zijn er geen ziekteverschijnselen meer te zien. Echter, de besmette garnalen verdragen plotselinge veranderingen in het milieu minder goed (bijvoorbeeld fluctuaties in zoutconcentratie).

Diagnostische methoden
De ziekte is eigenlijk alleen maar goed aan te tonen met hulp van de RT-PCR. Daarnaast kunnen bij een verdenking histopathologie en *in situ* hybridisatie worden gebruikt.

Overdracht van de infectie en preventie
In gebieden, waar het virus algemeen voorkomt varieert het aantal besmette garnalen van 0 tot 100%. De ziekte heeft zowel een horizontale (door kannibalisme, of via het water) als hoogstwaarschijnlijk ook een verticale transmissie (via besmette ouderdieren).
Overlevende garnalen van een ziekte-uitbraak met TSV dragen het virus soms de rest van hun leven bij zich. Verder kunnen zeevogels en sommige waterinsecten die dode garnalen eten het virus overdragen. Daarnaast vormen ingevroren besmette garnalen een bron van TSV verspreiding.
Er is geen therapie bekend tegen het Taura syndroom. Wel is men hoopvol over het kweken van TSV-resistente garnaalstammen.



Figuur 5.1.1. (A) Klinische verschijnselen van een garnaal *Litopenaeus vannamei* besmet met *Taura syndroom virus* (TSV). (B) EM foto van gezuiverde TS virions (foto's met dank aan D.V. Lightner).

5.1.2. Yellowhead virus (YHV)

YHV staat op de lijst van exotische schaaldierziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

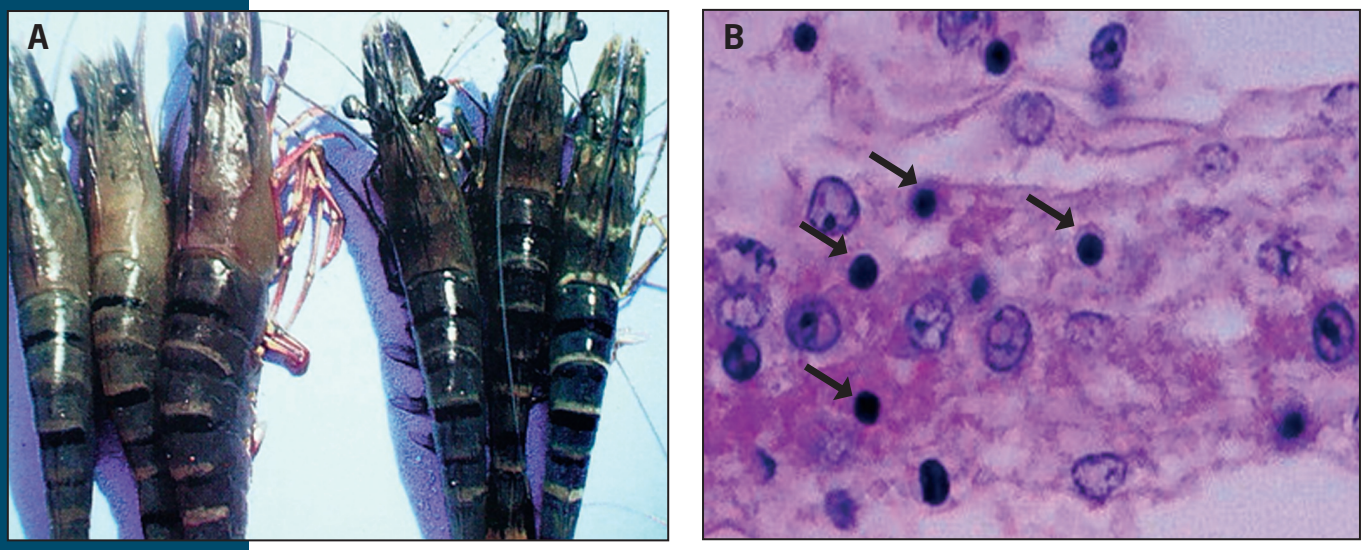
OIE, EU
Penaeus en *Litopenaeus* species

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Yellowhead ziekte (YHD) is een ernstige ziekte van garnalen, die veroorzaakt wordt door het *yellowhead virus* (YHV). Dit enkelstrengs (+)RNA virus behoort tot het genus Okavirus in de familie Roniviridae van de orde Nidovirales. Het virus veroorzaakt in alle levensstadia van enkele garnalensoorten ziekte, met sterfte tot 100% binnen 3 dagen na de eerste ziekteverschijnselen. De in de richtlijn genoemde gevoelige soorten voor deze ziekte zijn verschillende *(Lito)penaeus*-garnaalsoorten: de Golf bruine garnaal *(Penaeus aztecus)*, de Golf roze garnaal *(Penaeus duodarum)*, de Kuruma garnaal *(Penaeus japonicus)*, de zwarte tijgergarnaal *(Penaeus monodon)*, de Golf witte garnaal *(Penaeus setiferus)*, de Pacifische blauwe garnaal *(Litopenaeus stylirostris)* en de Pacifische witte garnaal *(Litopenaeus vannamei)*. Daarnaast kunnen ook andere soorten garnalen gevoelig zijn voor YHV (OIE 2009). Yellow Head ziekte is aangetoond in China, India, Indonesië, Maleisië, de Filippijnen, Sri Lanka, Taiwan, Thailand, en Vietnam.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Het virus kan de garnalen al in het larvale stadium infecteren, maar ziekte en sterfte zijn pas in een verder juveniel (jeugdig) stadium te zien. De garnalen eten opeens veel meer dan normaal, waarna ze binnen 2 tot 4 dagen plotseling stoppen met eten. De klinische verschijnselen zijn: hangen aan het oppervlak, geelkleuring van de cephalothorax (kopschaal, doordat de hepatopancreas eronder geel wordt), zacht en geel worden van de hepatopancreas, gevolgd door een acute, hoge sterfte.

Diagnostische methoden
Alleen RT-PCR is een betrouwbare methode voor het screenen van een populatie op de ziekte YHD. Als er een verdenking is, kunnen daarnaast histopathologie, immunologische testen, transmissie electronen microscopie, *in situ* hybridisatie en sequencen van het virus worden gebruikt.

Overdracht van de infectie en preventie
YHD kent een chronische vorm, waarbij de garnalen levenslang zijn besmet. Er zijn geen vectoren voor het virus bekend. Overdracht van het YHV geschiedt in elk geval horizontaal: via het eten van besmet materiaal, via het omringende water en de omringende besmette garnalen, maar experimenteel ook via injectie van besmet materiaal in gezonde garnalen. Er is ook sprake van verticale transmissie, van ouderdieren op garnaleneieren.
Het risico van de insleep van de ziekte kan worden beperkt door uit te gaan van specifiek ziektevrij pootgoed en ziektevrij water in gesloten kweeksystemen.
Er is geen therapie bekend tegen Yellow Head ziekte.



Figuur 5.1.2. (A) Links drie *yellowhead virus* (YHV) geïnfecteerde *Penaeus monodon* garnalen, rechts drie gezonde garnalen. (B) Histologisch preparaat (H&E kleuring) van met YHV geïnfecteerd kieuwweefsel. Donkere inclusies in cytoplasma van geïnfecteerde cellen (pijlen) (foto's met dank aan D.V. Lightner).

5.1.3. White spot syndroom virus (WSSV)

WSSV staat op de lijst van niet-exotische schaaldierziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU
Vermoedelijk alle decapoda

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
White spot syndroom virus (WSSV) veroorzaakt de ziekte "white spot syndroom" (WSS) of "white spot ziekte" (WSD) en heeft een zeer breed gastheer spectrum: tot nu toe zijn alle geteste10-potige schaaldieren (decapoda) gevoelig gebleken voor het virus. Dit dubbelstrengs DNA virus behoort tot de familie van de Nimaviridae, genus Whispovirus. Het virus veroorzaakt in alle levensstadia van de 10-potige schaaldieren ziekte, hoewel de gevoeligheid en sterfte per soort kan verschillen. Met name *Litopeneaus* en *Peneaus* soorten zijn zeer gevoelig. De ziekte komt voor in Oost-, Zuidoost-, en Zuidelijk Azië, en in Noord-, Centraal- en Zuid-Amerika. WSDV is in het verleden gedetecteerd in geïmporteerde garnalen in Zuid-Europa, waardoor deze virusziekte op de lijst van niet-exoten van de EU-wetgeving is geplaatst.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
De ziekteverschijnselen zijn niet specifiek voor het virus maar zijn onder andere witte stippen op het schild (cuticula), een grote kleurvariatie tussen de dieren met vooral rood- en roze-achtig verkleurde dieren. De dieren stoppen met eten, worden lusteloos en hangen aan het

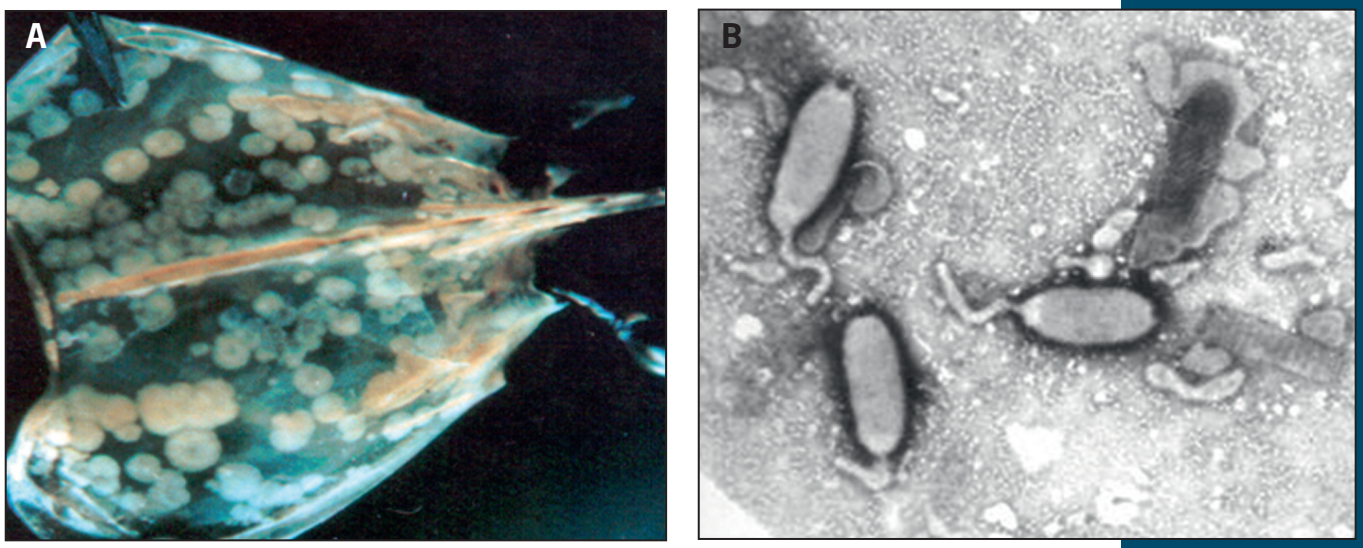
wateroppervlak en in de hoeken van het bassin of de vijver. Vooral de schalen en het daaronder gelegen bindweefsel van de schaaldieren worden aangetast. De sterfte is afhankelijk van de gastheersoort maar kan hoog oplopen.

Diagnostische methoden

Het virus is goed aan te tonen door middel van een PCR. Daarnaast kan bij een verdenking transmissie electronenmicroscopie (TEM) worden toegepast, waarbij de virusdeeltjes zichtbaar zijn in het haemolymfe van het dier. Verder is met histopathologie hypertrofie van celkernen zichtbaar in geïnfecteerde dieren, en kan voor bevestiging ook *in situ* hybridisatie worden ingezet.

Overdracht van de infectie en preventie

De ziekte heeft zowel een horizontale (door kannibalisme, of via het water) als een verticale transmissie (via besmette ouderdieren naar nakomelingen). Ogenschijnlijk gezonde schaaldieren kunnen het virus ook overdragen.
Overlevende garnalen van een ziekte-uitbraak met WSSV dragen het virus soms de rest van hun leven bij zich, en zijn daarmee dragers van het virus. Soms kan men bij deze dieren het virus niet eens aantonen, maar toch vormen ze een gevaar voor overdracht naar andere schaaldieren. Verder kunnen onder andere rotiferen (zoöplankton), tweekleppige schelpdieren, polychaete wormen, niet-10-potige schaaldieren (*Artemia* en copepoden) en sommige aquatische insectenlarven het virus als vector meenemen naar gevoelige 10-potige schaaldieren. Vaccins tegen WSSV zijn in ontwikkeling. Er is geen therapie bekend tegen de ziekte.



Figuur 5.1.3. (A) Klinische verschijnselen van *white spot syndroom virus* (WSSV) op de cephalothorax (kopschild). (B) WSSV virions met staart-achtige structuur (foto's met dank aan D.V. Lightner).

5.2. Bacteriële ziekteverwekkers van schaaldieren

5.2.1. *Aerococcus viridans* (gaffkemia)

Europese zeekreeft, Amerikaanse zeekreeft

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

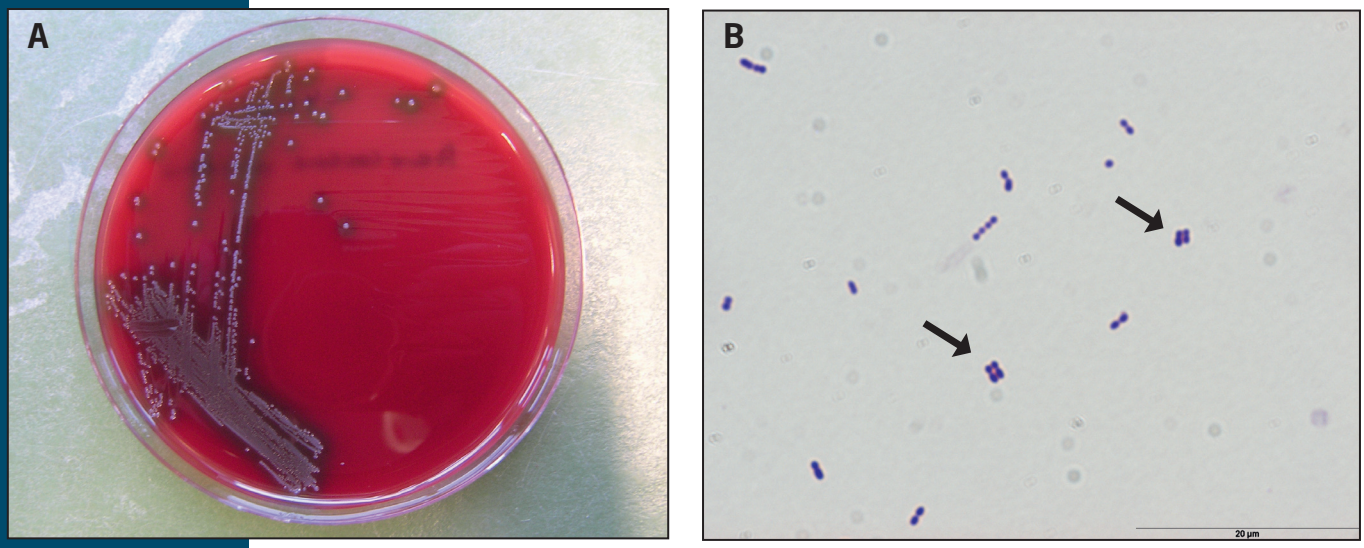
Een van de belangrijkste ziekten van de Europese zeekreeft (*Homares gammarus*) en de Amerikaanse zeekreeft (*Homares americanus*) is gaffkemia veroorzaakt door de bacterie *Aerococcus viridans* (var.) *homari* (Firmicutes: Lactobacillales). Ook andere decapoden kunnen *A. viridans* bij zich dragen, echter *Homares* species zijn het meest gevoelig voor infectie en ziekte. De ziekte is voor het eerste beschreven in een bedrijf in Maine, Verenigde Staten. Transport en het uitzetten van zeekreeften of het dumpen van geïnfecteerd slachtafval hebben er waarschijnlijk voor gezorgd dat de bacterie zich ook in Europa heeft gevestigd. Het is voornamelijk een ziekte van zeekreeften in gevangenschap (Cawthorn 2011).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

Geïnfecteerde zeekreeften laten klinisch geen verschijnselen zien behalve dan dat de dieren lethargisch zijn en geen voer meer tot zich nemen (anorexia).

Diagnostische methoden

De meest praktische methode om de bacterie aan te tonen is een directe Gram kleuring van een haemolymfe uitstrijkje. De karakteristieke Gram positieve tetrads zijn hierin zichtbaar. Andere methoden zoals kweek van de bacterie kunnen ook vroege infecties aantonen. Een recente moleculaire studie heeft aangegeven dat er waarschijnlijk meerdere *A. viridans* stammen zijn, waaronder een aantal pathogene stammen en tenminste één avirulente stam.



Figuur 5.2.1. (A) Kweek van *Aerococcus viridans* op agarplaat en (B) Gram kleuring van de bacterie uit een boulionkweek waarbij enkele tetrads zichtbaar zijn (pijlen).

Overdracht van de infectie en preventie

De bacterie kan niet door het intacte schild van een zeekreeft dringen, noch overleven in de darm. Infectie van de gastheer vind dan ook plaats via wonden of perforaties in het schild. In het sediment en in kweekfaciliteiten kan *Aerococcus viridans* lang overleven in vrije vorm buiten de gastheer. Hanteren van de kreeften, hoge dichtheden, slechte waterkwaliteit en snelle veranderingen in de watertemperatuur versterken de transmissie van de bacterie en de kans op infectie. De bacterie is gevoelig voor verschillende antibiotica. Hoewel deze toegepast zouden kunnen worden door antibiotica door het voer te mengen, zijn de dieren anorexisch en nemen daardoor vaak niet voldoende van het medicijn op (Cawthorn 2011).

5.3. Parasitaire ziekteverwekkers van schaaldieren

5.3.1. Aphanomyces astaci (kreeftenpest)

OIE, NL
Alle soorten rivierkreeften

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De neergang van de inheemse gewone rivierkreeft *Astacus astacus* eind 19e eeuw wordt toegeschreven aan kreeftenpest veroorzaakt door de waterschimmel *Aphanomyces astaci* (Stramenopiles: Oomycetes). Sinds 1900 wordt de gewone rivierkreeft in Nederland nog maar sporadisch waargenomen en de huidige vindplaats is beperkt tot één enkele geïsoleerde locatie. Amerikaanse rivierkreeften die in Europa vanaf 1860 zijn geïntroduceerd hebben de ziekte hoogst waarschijnlijk meegenomen. Officieel is *Aphanomyces astaci* echter nog nooit in Nederland aangetoond (Niewold 2003).
Voor zover bekend zijn alle soorten rivierkreeften gevoelig voor infectie met *A. astaci*. De ernst van de infectie is afhankelijk van de soort. De verschillende soorten Europese rivierkreeften waaronder de gewone rivierkreeft (*Astacus astacus*), de steenkreeft (*Austropotamobius pallipes* en *Austropotamobius torrentium*) en de Turkse rivierkreeft (*Astacus leptodactylus*) zijn zeer gevoelig voor *A. astaci*. Noord Amerikaanse rivierkreeften zoals de Californische kreeft (*Pacifastacus leniusculus*), *Procambarus clarkii* en *Orconectes* species kunnen worden geïnfecteerd door *A. astaci,* maar onder normale omstandigheden zal de infectie geen klinische symptomen geven noch sterfte. Deze soorten kunnen wel reservoir zijn voor de infectie en de waterschimmel overdragen aan andere soorten. Alle gebieden waarin Noord-Amerikaanse rivierkreeften aanwezig zijn moeten dan ook beschouwd worden als gebieden waarin *A. astaci* aanwezig is. Samen met de introductie en verspreiding van Noord-Amerikaanse rivierkreeften is *A. astaci* dan ook aanwezig in grote delen van Europa (OIE 2009).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
De eerste signalen binnen een populatie rivierkreeften dat er mogelijk een infectie met *A. astaci* speelt is dat de normaal gesproken nachtdieren massaal overdag hun schuilplaats verlaten. Verder hebben de dieren een verminderde ontsnappingsreflex en een voortschrijdende verlamming. Klinisch zijn de symptomen beperkt en niet altijd aanwezig door het snel intreden van de dood na infectie. Het spierweefsel onder het schild kan wit uitgeslagen zijn. Dit is echter niet specifiek voor *A. astaci,* ook andere ziekte verwekkers kunnen dit veroorzaken. Op de plek waar de zoösporen de gastheer zijn binnengedrongen kunnen fijne bruine sporen in het schild zichtbaar zijn (door melanisatie).
Als de infectie naïeve populaties van hoog gevoelige rivierkreeft soorten bereikt, wordt in een korte tijdspanne hoge sterfte tot 100% van de populatie waargenomen.

Diagnostische methoden
Histologisch zijn op de plek van de infectie de hyfen zichtbaar in het schild. Voor bevestiging van de soort was tot voor kort isolatie en kweek van *A. astaci* op specifieke media noodzakelijk. De recente ontwikkelingen in de PCR diagnostiek van *A. astaci* laten echter potentie zien voor snelle en betrouwbare identificatie van *A. astaci* (Hochwimmer et al. 2009).

Overdracht van de infectie en preventie
Transmissie vindplaats via zoösporen afkomstig van geïnfecteerde stervende of dode rivierkreeften. De zoösporen kunnen enkele dagen in water en verschillende weken in cysten in de bodem overleven. De biflagellate zoösporen zijn bewegelijk en worden chemotactisch aangetrokken door rivierkreeften. Rivierkreeften worden geïnfecteerd doordat de zoösporen via wonden en beschadigingen van het schilt de gastheer binnen dringen (Longshaw 2011). Als *A.*

astaci eenmaal is geïntroduceerd in een wilde populatie met hoog gevoelige rivierkreeften is de verspreiding binnen de populatie niet onder controle te brengen. Preventie van introductie in de populatie is daarom essentieel.

Schelpdierziekten 6

6.1. Virale ziekteverwekkers van schelpdieren

6.1.1. Oesterherpesvirus (OsHV-1)

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

De eerste beschrijving van een herpes-achtig virus in oesters dateert van 1972 in de Verenigde Staten (Farley et al. 1972). Op basis van de overeenkomst in ultrastructuur tussen dit virus en herpesvirussen bij andere diersoorten werd dit virus in de groep van herpesvirussen geplaatst. Door later werk aan de genetische structuur van het oesterherpesvirus, *Ostreid herpesvirus 1* (OsHV-1; familie Malacoherpesviridae, genus Ostreavirus) is de relatie met de herpesvirussen bevestigd (Davison et al. 2005). De gevoelige gastheersoort voor dit virus is in de eerste plaats de Japanse oester (*Crassostrea gigas*).

In Europa is oesterherpesvirus voor het eerst waargenomen in hatcheries in Frankrijk in 1992 en op kweeklocaties in 1994. Naar aanleiding van de recente sterfte onder juveniele Japanse oesters in kweekgebieden in Frankrijk en Ierland (Segarra et al. 2010) zijn ook juveniele oesters uit de Oosterschelde getest op OsHV-1 en kon het virus ook in deze oesters worden aangetoond. Naast de Japanse oester is OsHV-1 infectieus voor de platte oester (*Ostrea edulis*) en onder experimentele condities ook voor de geruite tapijtschelp (*Ruditapes decussatus*) en Aziatische tapijtschelp (*Ruditapes philippinarum*). Ook is een variant van OsHV-1 aangetroffen in *Pecten maximus*. Hoewel het gastheerspectrum van het virus breed lijkt te zijn zijn er geen aanwijzingen dat de mossel een gevoelige soort is voor OsHV-1.

Andere herpesvirussen waarvan het type niet bekend is zijn aangetroffen in de Amerikaanse oester (*Crassostrea virginica*), Australische platte oester (*Ostrea angasi*) en de Nieuw-Zeelandse platte oester (*Ostrea chilensis*). Recentelijk is ook een herpesvirus beschreven dat massale sterfte lijkt te veroorzaken onder verschillende soorten zeeoren (*Haliotis diversicolor*, *Haliotis laevigata* en *Haliotis rubra*) in Taiwan en Australië (Chang et al. 2005, Tan et al. 2008)

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

In Europa zijn infecties met OsHV-1 geassocieerd met sterfte onder oesterbroed en juveniele oesters. Het virus kan ook worden aangetroffen in asymptomatische volwassen oesters. Mogelijk spelen deze “latent” geïnfecteerde oesters een rol als drager en reservoir van het virus. Bij de sterfte in Frankrijk van de afgelopen twee zomers is een nieuwe variant van OsHV-1 aangetroffen, OsHV-1 µvar (micro-var), genoemd naar de kleine genetische verschillen tussen OsHV-1 en OsHV-1 µvar (Segarra et al. 2010). Deze variant lijkt virulenter dan het oorspronkelijk beschreven OsHV-1. Tot nog toe is deze variant alleen in Japanse oesters aangetroffen. Geeft OsHV-1 vooral sterfte onder broed, OsHV-1 µvar geeft ook hoge sterfte onder juveniele oesters.

Zoals bij veel virussen van aquacultuurdieren is ziekte veroorzaakt door OsHV-1 sterk afhankelijk van de watertemperatuur. Hoewel er nog geen duidelijke gegevens zijn over wanneer er weinig risico is op het overbrengen van het virus, gaat oestersterfte als gevolg van OsHV-1 nagenoeg altijd gepaard met hoge watertemperaturen: boven de 20°C, vaak zo rond de 25°C. De optimale periode voor overdracht van het virus ligt in Europa dus in de zomermaanden.

Diagnostische methoden

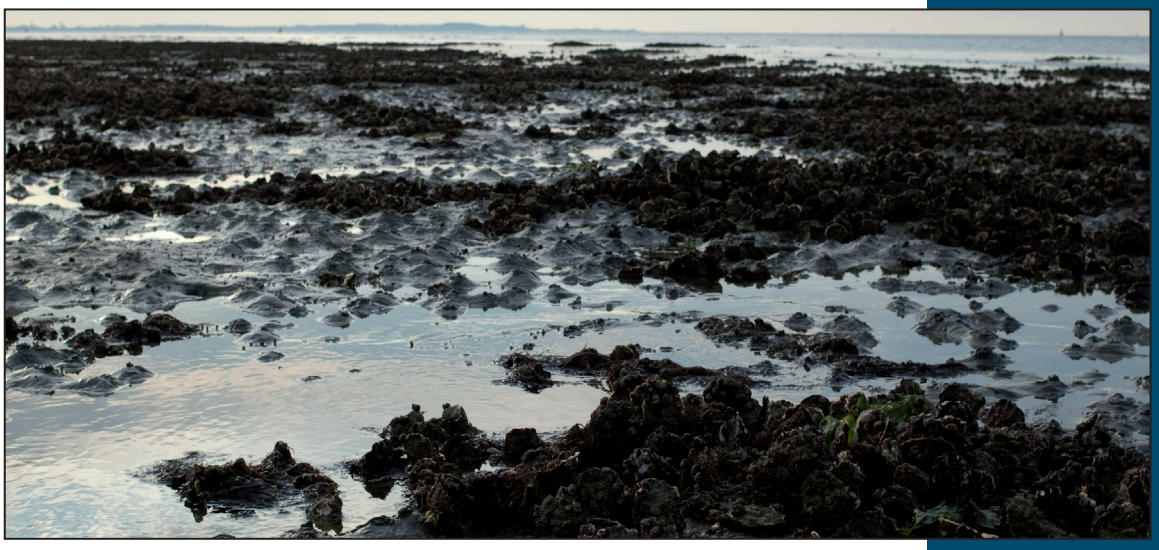
Tot nu toe is het nog niet gelukt om OsHV-1 te kweken. Dit beperkt de mogelijkheden voor detectie van en onderzoek naar het virus. In het algemeen worden PCR testen gebruikt om

dit virus aan te tonen. Deze testen tonen het genetisch materiaal van het virus aan. Naar aanleiding van de zomersterfte in Frankrijk en de betrokkenheid van OsHV-1 hierin heeft het CVI een aantal (kwantitatieve) PCR testen geïmplementeerd om OsHV-1 aan te kunnen tonen (Webb et al. 2007, Pepin et al. 2008).

Overdracht van de infectie en preventie

Net als bij vele andere virussen is voor OsHV-1 de watertemperatuur één van de belangrijkste factoren in de overleving van virus buiten de gastheer. Lage temperaturen geven een betere overleving van het virusdeeltje. Onder experimentele omstandigheden was in zeewater van 4°C na 22 dagen nog genetisch materiaal van OsHV-1 te detecteren. Bij 20°C was na 16 dagen geen genetisch materiaal van het virus meer waarneembaar (Vigneron et al. 2004). Overdracht van het virus gaat in de eerste plaats via horizontale transmissie, van oester naar oester, via het zeewater. Er is een enkele indicatie dat er ook verticale transmissie van het virus zou kunnen plaatsvinden, dat wil zeggen van ouders op het nageslacht via de voortplantingscellen. Daarnaast zal het virus zich, in mindere mate, waarschijnlijk ook kunnen verspreiden via materialen als netten en dergelijke (mechanische vectoren).

Buiten de gastheer is het virusdeeltje zelf voor verspreiding geheel afhankelijk van externe factoren zoals de waterstroom. Aangezien het virusdeeltje maar een beperkte levensduur heeft buiten de oester kan infectie dus alleen op relatief korte afstand van de oorspronkelijke gastheer plaatsvinden. Een belangrijke factor in de verspreiding van het OsHV-1 zijn dan ook handelingen (lees verplaatsingen van oesters) door de mens.



Figuur 6.1.1. Japanse oesterbank Oosterschelde.

6.2. Bacteriële ziekteverwekkers van schelpdieren

6.2.1. *Vibrio*-species

NL
Japanse oester, diverse schelpdieren

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Vibrio bacteriën zijn alom vertegenwoordigd in het brakke en zoute wateren. De meeste soorten zijn niet pathogeen, maar een aantal soorten kunnen voor problemen zorgen in schelpdieren. Hieronder vallen *Vibrio splendidus* en *Vibrio aestuarianus* (Gammaproteobacteria: Vibrionaceae). Problemen met *Vibrio*-infecties zijn voornamelijk beschreven bij larven en jonge Japanse oesters bij intensieve schelpdierkweek in hatcheries (Paillard et al. 2004). Bij volwassen oesters is de sterfte over het algemeen minder groot. Ook in andere schelpdiersoorten kunnen onder suboptimale condities *Vibrio*-infecties optreden.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Zoals in het algemeen bij schelpdierziekten zijn er geen specifiek waarneembare klinische symptomen voor *Vibrio*-infecties. Problemen met een ziekte worden als eerste waargenomen door een verhoogde sterfte. Verschillende *Vibrio*-soorten en verschillende isolaten van één *Vibrio*-soort verschillen sterk in hun pathogeniteit voor schelpdieren (Garnier et al. 2007). Sommige *Vibrio*-stammen produceren stoffen die het afweersysteem van de oesters onderdrukken wat een belangrijke rol kan spelen in de pathogeniciteit van de betreffende *Vibrio*-stam (Labreuche et al. 2010).

Diagnostische methoden
Analoog aan de pathogene *Vibrio*-soorten bij vis zijn *Vibrio splendidus* en *Vibrio aestuarianus* zoutminnende bacteriën die gekweekt kunnen worden vanuit haemolymfe van een geïnfecteerde oester op een standaard voedingsbodem bij 22°C. Geïsoleerde *Vibrio*-stammen kunnen tot de soort worden getypeerd met de klassieke bonte reeks of met 16S sequencing. Daarnaast heeft het CVI een kwantitatieve PCR in huis voor de specifieke detectie van *Vibrio splendidus* en *Vibrio aestuarianus* (Saulnier et al. 2009).

Overdracht van de infectie en preventie
Infecties met pathogene *Vibrio*-soorten lijken vaak direct gerelateerd aan slechte (houderij) omstandigheden en/of slechte waterkwaliteit. Bronnen voor infecties in hatcheries kunnen zijn de ouderdieren, het inkomende zeewater en gecontamineerde algenkweken. Met name gecontamineerde algenkweken zijn verraderlijk aangezien de pathogene bacteriën in de algenkweek aanwezig kunnen zijn zonder effect op de algengroei en -dichtheid. Het achterhalen van de bron van infectie is de eerste stap om de infectie onder controle te krijgen. Elston et al. (2008) geeft verschillende technieken voor management en preventie van bacteriële besmettingen in schelpdier hatcheries.

6.2.2. *Nocardia crassostreae*

NL
Japanse oester, Europese platte oester

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
In het midden van de vorige eeuw zijn bij zomersterfte van Japanse oesters (*Crassostrea gigas*) in Japan al *Nocardia*-achtige infecties waargenomen (Imai et al. 1968). Later is de bacterie waargenomen aan de westkust van Noord Amerika en beschreven als *Nocardia crassostreae* (Actinomycetales: Corynebacterineae) (Friedman et al. 1998). Meer recent is de bacterie ook gedetecteerd in Nederland in Japanse oesters uit de Oosterschelde en het Grevelingenmeer

(Engelsma et al. 2008). Door de verspreiding van Japanse oesters wereldwijd voor de oesterkweek is het mogelijk dat *N. crassostreae* voorkomt in meer kweekgebieden waar de Japanse oester is uitgezet dan nu bekend (Bower et al. 2005). De soort kan naast Japanse oesters ook platte oesters (*Ostrea edulis*) infecteren.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

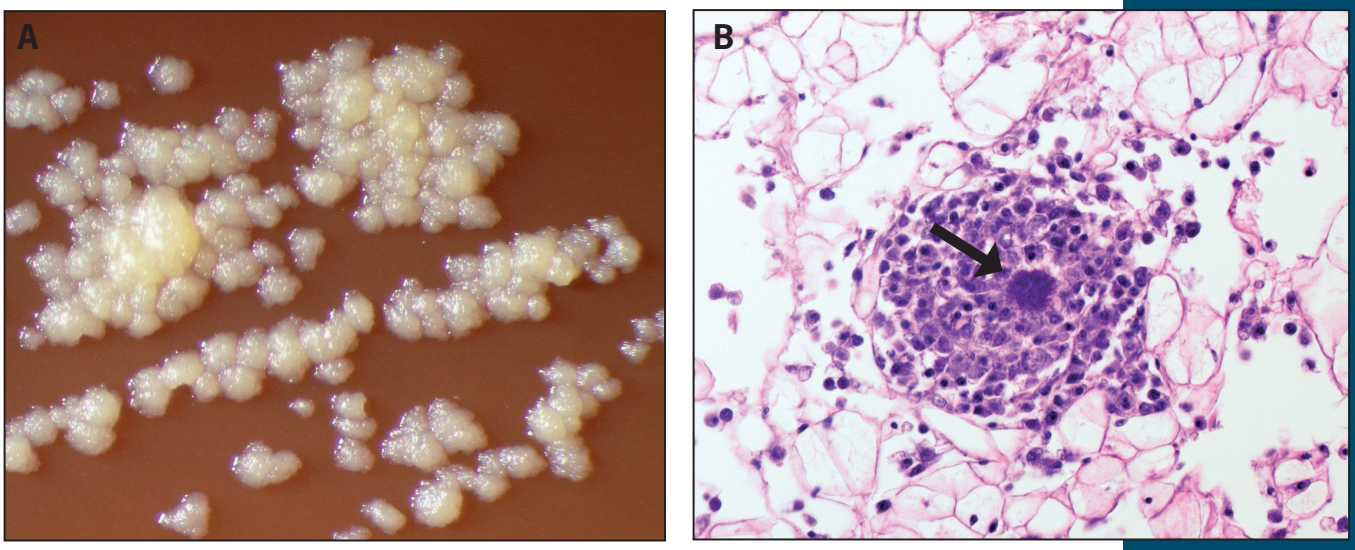
De ziekte kan zich uiten door groene zweren op de huid van de oester. *N. crassostreae* is een opportunist die voornamelijk infecties veroorzaakt op het moment dat de omstandigheden voor de oester suboptimaal zijn. Echter, injectie van de bacterie in een gezonde Japanse oester onder experimentele omstandigheden geeft dezelfde klinische symptomen en sterfte als waargenomen in het veld (Friedman & Hedrick 1991).

Diagnostische methoden

Nocardia crassostreae is uit haemolymfe van een geïnfecteerde oester te kweken op een standaard voedingsbodem bij 22°C. De bacterie is echter een zeer trage groeier, pas na één tot twee weken zijn de eerste kolonies zichtbaar. Bij infectie kunnen histologisch karakteristieke clusters van bacteriën worden waargenomen in het weefsel van de oester met daaromheen een infiltratie van afweercellen van de oester.

Overdracht van de infectie en preventie

Veel actinomyceten waartoe ook *N. crassostreae* behoort zijn saprofyten, organismen die leven van dode dieren. Er wordt aangenomen dat *N. crassostreae* zich ophoudt in het sediment en vanuit daar onder suboptimale omstandigheden de gastheer kan infecteren (Bower et al. 2005). Directe overdracht tussen schelpdieren onderling is waarschijnlijk van minder belang. Kweek van de bodem af, op rekken of in manden, zal waarschijnlijk de infectiedruk doen verminderen.



Figuur 6.2.2. (A) Typische kolonie vorm van *Nocardia crassostreae* op bloedagar plaat. (B) Histologisch beeld (H&E) van een cluster van *N. crassostreae* bacteriën (pijl) met daaromheen een infiltratie van afweercellen van de oester.

6.3. Parasitaire aandoeningen van schelpdieren

6.3.1. *Bonamia ostreae*

Bonamia ostreae staat op de lijst van niet-exotische schelpdierziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU, NL
Europese platte oester

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Bonamia ostreae (Rhizaria: Haplospordia) is een eencellige intracellulaire parasiet van de Europese platte oester (*Ostrea edulis*). Er zijn aanwijzingen dat ook andere platte oestersoorten (experimenteel) geïnfecteerd kunnen worden met *Bonamia ostreae*. De parasiet is voor het eerst beschreven in Frankrijk na uitgebreide sterfte onder Europese platte oesters eind zeventiger jaren (Pichot et al. 1980). In die periode is ook de parasiet door oestertransporten verspreid naar diverse andere oesterkweek gebieden in Europa waaronder Spanje, Groot Brittannië, Ierland en Nederland. In Nederland werd *Bonamia ostreae* voor het eerst waargenomen in de Oosterschelde in 1980 en later in 1988 ook in de Grevelingen (Van Banning 1985, 1991). Nu wordt de parasiet als endemisch beschouwd in de Zeeuwse wateren (Engelsma et al. 2010). *Bonamia ostreae* is samen met de parasiet *Marteilia refringens* een belangrijke oorzaak voor de neergang van de kweek van de platte oester in Europa.

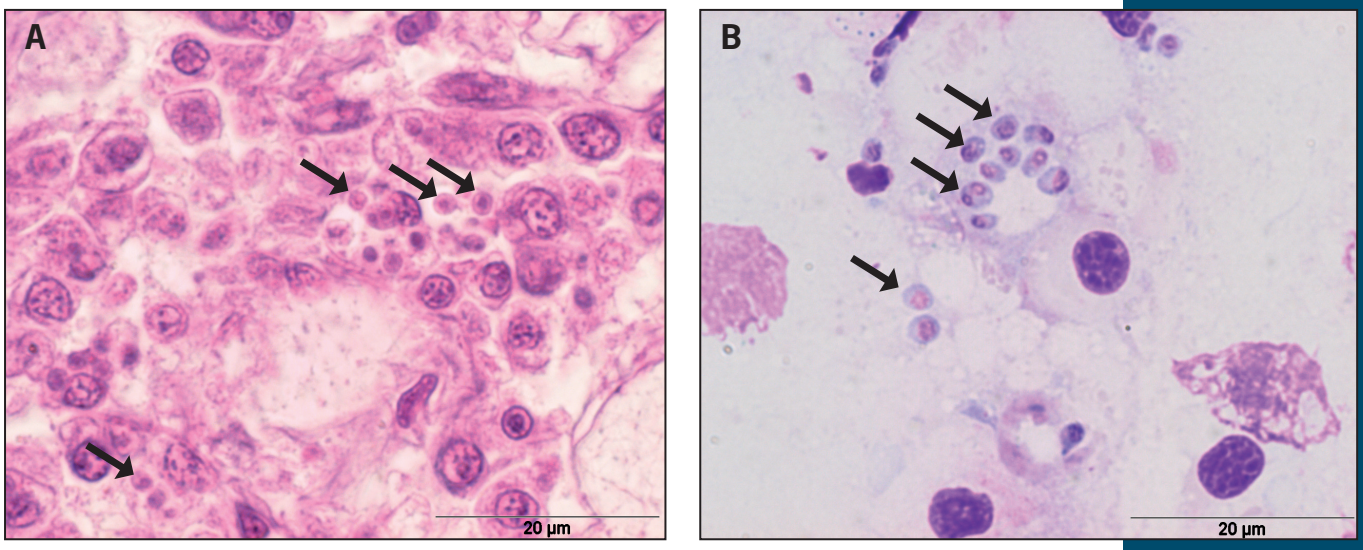
Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Zoals in het algemeen bij schelpdierparasieten zijn er geen specifiek waarneembare klinische symptomen voor *Bonamia ostreae*. Problemen met een ziekte worden als eerste waargenomen door een verhoogde sterfte in het schelpdierbestand die niet te verklaren is door andere factoren, waarna op het laboratorium moet worden vastgesteld of *Bonamia ostreae* de oorzaak is van de sterfte.

Diagnostische methoden
In de diagnostiek handleiding van de OIE (2009) zijn de verschillende methoden voor diagnostiek van *Bonamia ostreae* naast elkaar gezet. Over het algemeen vindt de diagnose plaats met behulp van een afdrukpreparaat van het hart van de oester of histopathologie van een stukje weefsel van de oester. Beide technieken zijn echter niet geschikt om de verschillende *Bonamia*-soorten van elkaar te onderscheiden. Typering tot de soort kan vervolgens geschieden met technieken als PCR gevolgd door sequencen, PCR-RFLP test of transmissie elektronen microscopie (TEM). Voor onderzoek kan met behulp van *in situ* hybridisatie (ISH) de locatie van *Bonamia ostreae* in het weefsel nauwkeurig worden vastgesteld.

Overdracht van de infectie en preventie
De levenscyclus van *Bonamia ostreae* is nog niet opgehelderd maar het meest waarschijnlijke is dat er horizontale transmissie plaats vindt, dus een directe overdracht van oester naar oester via het water. In geïnfecteerde oesters neemt gedurende het verloop van de ziekte het aantal parasieten per oester toe en dat resulteert uiteindelijk in de dood van de gastheer. Er is een seizoensvariatie in de aanwezigheid van *Bonamia ostreae* in de gastheerpopulatie met een piek in het vroege voorjaar (Engelsma et al. 2010).

Na de eerste uitbraak van *Bonamia ostreae* in de Oosterschelde in 1980 is getracht om de parasiet weer kwijt te raken, oesterpercelen werden geruimd en na braak liggen opnieuw ingezaaid met *Bonamia*-vrije oesters (Van Banning 1985). Helaas is daarna *Bonamia ostreae*

weer vastgesteld in de oesters, waarschijnlijk afkomstig vanuit de wilde oesterpopulatie rondom de percelen. Het spreekt voor zich dat transfer van oesters uit gebieden met *Bonamia ostreae* naar ziektevrije gebieden vermeden moet worden.



Figuur 6.3.1. (A) Histologisch preparaat (H&E) met uitgebreide infectiehaard van *Bonamia ostreae* in de platte oester. (B) Afdruk preparaat van het hart van een platte oester met *Bonamia ostreae*. Enkele van de parasieten zijn gemarkeerd met een pijl.

6.3.2. *Bonamia exitiosa*

Bonamia exitiosa staat op de lijst van exotische schelpdierziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU
Australische platte oester, Europese platte oester

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Bonamia exitiosa (Rhizaria: Haplospordia) is een eencellige intracellulaire parasiet van de Nieuw-Zeelandse platte oester *(Ostrea chilensis)* en de Australische platte oester *(Ostrea angasi)* (Hine et al. 2001). De parasiet is zeer nauw verwant aan *Bonamia ostreae*, een parasiet van onze inheemse platte oester *(Ostrea edulis)*. *Bonamia exitiosa* is oorspronkelijk beschreven in *Ostrea chilensis* in Foveaux Strait en andere locaties rond het Zuidereiland van Nieuw-Zeeland en in verschillende andere gebieden op het zuidelijk halfrond: in Chili en in *Ostrea angasi* in Australië, Tasmania en West-Australië. Recentelijk blijkt de verspreiding echter niet beperkt tot het zuidelijk halfrond maar is *Bonamia exitiosa* ook aangetroffen in *Ostrea edulis* in Galicië, Spanje (Abollo et al. 2008), in de Adriatische zee, Italië (Narcisi et al. 2010) en in *Ostrea stentina* in Tunesië (Hill et al. 2010). De waarnemingen in Europa betekenen dat de parasiet niet langer exotisch is voor de EU, ook al staat deze nog wel op de lijst van exotische ziekten. Verder is een *Bonamia exitiosa*-achtige parasiet aangetroffen in *Crassostrea ariakensis* in North Carolina, Verenigde Staten (Burreson et al. 2004).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Zoals in het algemeen bij schelpdierparasieten zijn er geen specifiek waarneembare klinische symptomen voor *Bonamia exitiosa*. Problemen met een ziekte worden als eerste waargenomen door een verhoogde sterfte in het schelpdierbestand die niet te verklaren is door andere factoren. In *Ostrea chilensis* zijn infecties tot bijna 80% van het oesterbestand waargenomen. Er is een seizoensvariatie in de aanwezigheid van de parasiet in de gastheer met een piek in

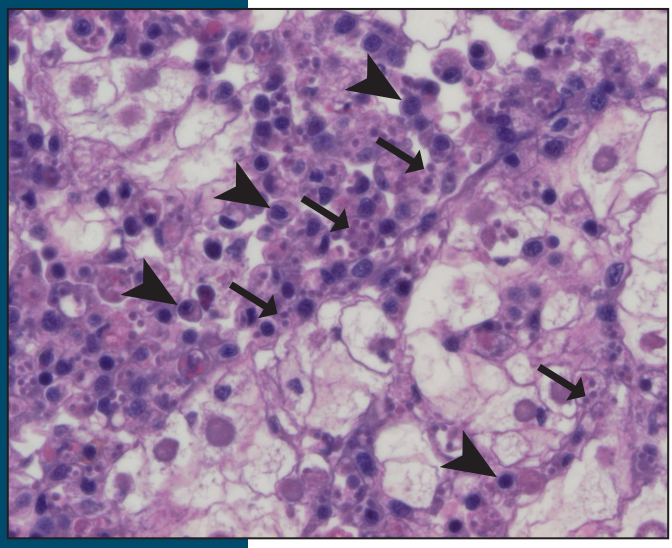
het najaar. Extreme temperaturen en zoutconcentraties vormen stressfactoren, die de ziekte in *Ostrea chilensis* flink kunnen verergeren. Ook stress door het hanteren (dreggen) van de oesters kan de problemen verergeren. Gedurende het verloop van de ziekte neemt het aantal parasieten per oester toe en resulteert uiteindelijk in de dood van de gastheer. De impact van *Bonamia exitiosa* op de Europese platte oester is onduidelijk omdat in de gebieden waar *Bonamia exitiosa* gevonden is in Europa ook *Bonamia ostreae* wordt aangetroffen. Dubbel infecties van *Bonamia exitiosa* en *Bonamia ostreae* komen in deze gebieden voor.

Diagnostische methoden

In de diagnostiek handleiding van de OIE (2009) zijn de verschillende methoden voor diagnostiek van *Bonamia exitiosa* naast elkaar gezet. Over het algemeen vindt de diagnose plaats met behulp van een afdrukpreparaat van het hart van de oester of histopathologie van een stukje weefsel van de oester. Beide technieken zijn echter niet geschikt om de verschillende *Bonamia*-soorten van elkaar te onderscheiden. Typering tot de soort kan vervolgens geschieden met technieken als PCR gevolgd door sequencen, PCR-RFLP test of transmissie elektronen microscopie (TEM).

Overdracht van de infectie en preventie

Hoewel de levenscyclus nog niet geheel bekend is is het aannemelijk dat de parasiet *Bonamia exitiosa* een horizontale transmissie heeft en er dus directe overdracht van oester naar oester plaatsvindt. Transfer van oesters uit gebieden met *Bonamia exitiosa* naar ziektevrije gebieden moet vermeden worden. Preventief kan men de stressfactoren proberen te minimaliseren, door aanpassing van visserijmethoden en door extreme temperaturen en zoutconcentraties te vermijden.



Figuur 6.3.2. Histologisch preparaat (H&E) met uitgebreide infectiehaard van *Bonamia exitiosa* in de Nieuw-Zeelandse platte oester. Enkele van de parasieten zijn gemarkeerd met een pijl. De pijlkoppen geven celkernen van afweercellen van de oester aan.

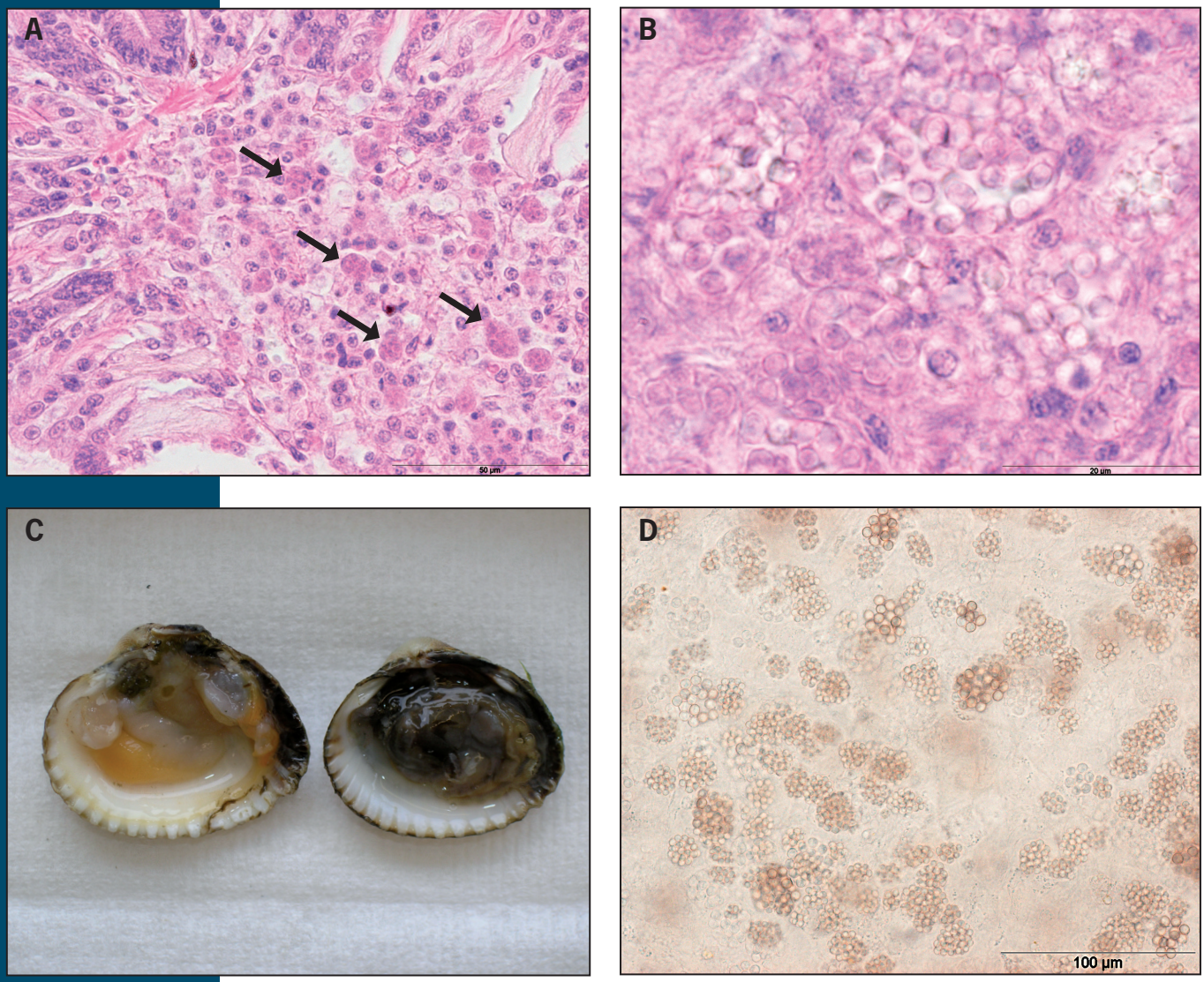
6.3.3. *Haplosporidium armoricanum*

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De parasiet *Haplosporidium armoricanum* (Rhizaria: Haplospordia) is voor het eerst beschreven door Paul van Banning in uit Frankrijk geïmporteerde Europese platte oesters (*Ostrea edulis*) bestemd voor de Oosterschelde (Van Banning 1977). De parasiet komt in zeer lage frequentie voor in platte oesters in Nederland, Frankrijk, Spanje en Ierland. In verschillende soorten schelpdieren kunnen andere haplosporidia soorten worden aangetroffen zoals *Haplosporidium nelsoni* en *Halplosporidium costale* in de Amerikaanse oesters (*Crassostrea virginica*) uit Chesapeake Bay (Verenigde Staten; Burreson & Ford 2004) en *Haplosporidium edule* en *Minchinia tapetis* in de kokkels (*Cerastoderma edule*) in het Verenigd Koninkrijk en Nederland (ongepubliceerde data, Engelsma et al.).

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Over het algemeen zijn er bij een infectie van *Haplosporidium armoricanum* geen klinische symptomen waarneembaar. In schelpdieren kunnen twee stadia worden onderscheiden: meerkernige plasmodia en een sporenstadium. Bij een zware infectie met het sporenstadium van de parasiet is een bruinverkleuring van de oester beschreven (Van Banning 1977). Ook bij kokkels met een zeer zware infectie met sporen van *Haplosporidium edule* en *Minchinia tapetis* is verkleuring van het weefsel waar te nemen. Meerkernige plasmodia geven vaak een uitgebreide infiltratie van haemocyten in het lichaam en infectie haarden rond de plasmodia. Bij infecties in het sporenstadium is het bindweefsel bijna geheel vervangen door sporen van de parasiet. Zoals voor de meeste haplosporidia soorten is de impact van *Haplosporidium armoricanum* op de populatie laag. De prevalentie in de populatie platte oesters in West Europa ligt onder de 1%. Uitzondering hierop vormt *Haplosporidium nelsoni* welke sinds 1959 een zeer grote impact heeft op de productie en het management van de kweek van de Amerikaanse oester in Chesapeake Bay (Verenigde Staten).

Diagnostische methoden
Afhankelijk van het stadium van de parasiet zijn met behulp van histologie meerkernige plasmodia en sporen te herkennen in het weefsel van de oester. De bouw van de sporen is karakteristiek voor de soort en electronen microscopisch onderzoek wordt dan ook toegepast voor de identificatie van de verschillende haplosporidia. Daarnaast kunnen de soorten worden geïdentificeerd met behulp van PCR gevolgd door sequencen van het 18S gen of het actine gen. Op deze manier kunnen ook plasmodia stadia van haplosporidia worden getypeerd.

Overdracht van de infectie en preventie
De levenscyclus van haplosporidia soorten is nog onbekend. Directe transmissie tussen de schelpdieren is nog niet aangetoond. Mogelijk is een tussengastheer betrokken bij de levenscyclus van haplosporidia. Voor *Haplosporidium nelsoni* zijn zowel de watertemperatuur als het zoutgehalte belangrijke factoren die de impact van de parasiet bepalen. De parasiet kan zich niet handhaven bij watertemperaturen boven de 20°C en bij lage zoutgehaltes. Voor management van de ziekte in Chesapeake Bay (Verenigde Staten) worden de oesters hoger in de riviermonding gelegd om de impact van *Haplosporidium nelsoni* te minimaliseren.



Figuur 6.3.3. Histologisch preparaat (H&E) van (A) een plasmodium stadium en (B) een sporenstadium van *Haplosporidium armoricanum* in de Europese platte oester. De plasmodia zijn gemarkeerd met een pijl. (C) Klinisch beeld van een kokkel geïnfecteerd met haplosporidia (rechts). (D) Vers preparaat met sporocysten van *Haplosporidium edule* en *Minchinia tapetis* in de mantel van een kokkel.

6.3.4. *Marteilia refringens*

Marteilia refringens staat op de lijst van niet-exotische schelpdierziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU
Europese platte oester, mossel

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Marteilia refringens (Rhizaria: Cercozoa) is een eencellige parasiet die zich ophoudt in het spijsverteringsstelsel van de oester. De parasiet heeft de Europese platte oester (*Ostrea edulis*) en de mossel (*Mytilus edulis* en *Mytilus galloprovincialis*) als gastheer. De mossel lijkt hierbij minder gevoelig voor de ziekte. Genetisch worden twee stammen onderscheiden: het O-type, voornamelijk in de platte oester, en het M-type, voornamelijk in de mossel. De stammen zijn echter niet soort specifiek, het M-type kan dus ook in de platte oester gevonden worden en het O-type in de mossel. Ook kunnen er dubbelinfecties zijn met beide typen in één

oester of mossel. De parasiet is tot nu toe gevonden aan de Atlantische kust van Frankrijk, Spanje en Portugal en in landen rond de Middellandse en Adriatische zee. Daarnaast is *Marteilia refringens* recentelijk vastgesteld in een beperkt aantal mosselen in Zweden. In Nederland is in 1974 een partij platte oesters geïmporteerd vanuit Frankrijk waarin *Marteilia refringens* aanwezig bleek te zijn. De partij is geruimd en sinds 1978 is de parasiet niet meer waargenomen in de Nederlandse wateren. Het ontbreken van een geschikte tussengastheer kan hierbij een rol hebben gespeeld. De parasiet is samen met de parasiet *Bonamia ostreae* een belangrijke oorzaak van de neergang van de platte oesterbestanden en daarmee de kweek van deze oestersoort in Europa.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

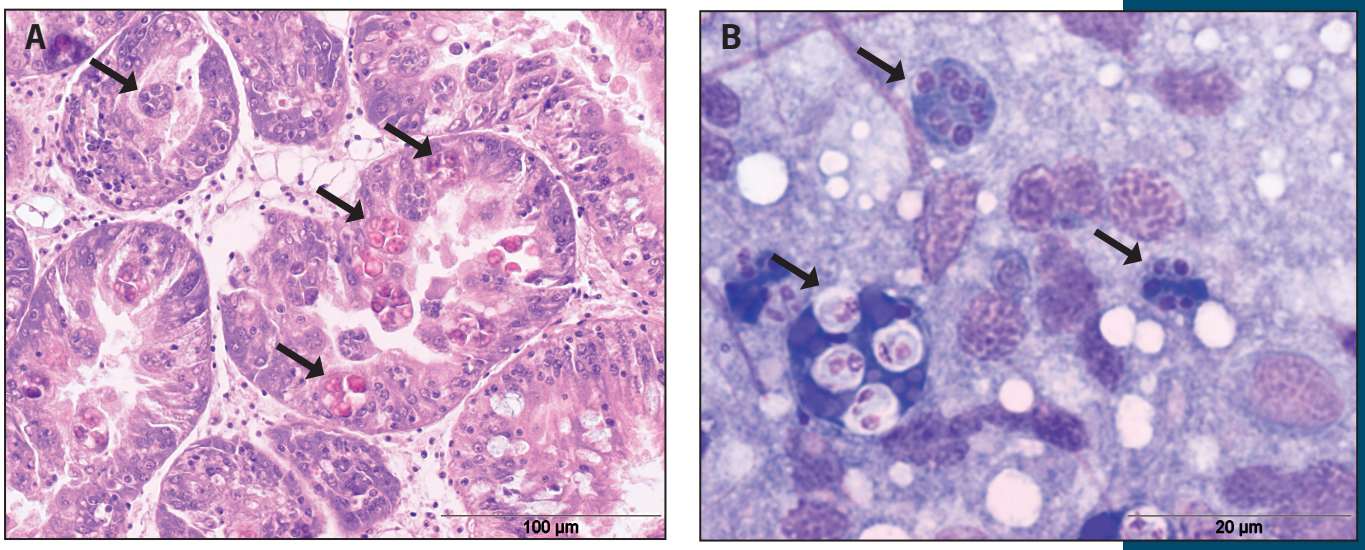
Zoals in het algemeen bij schelpdierparasieten zijn er geen specifieke waarneembare klinische symptomen voor *Marteilia refringens*. Problemen met een ziekte worden als eerste waargenomen door een verhoogde sterfte in het schelpdierbestand die niet te verklaren is door andere factoren.

Diagnostische methoden

Om een oesterpopulatie te screenen op de aanwezigheid van *Marteilia refringens* worden door de OIE (2009) verschillende methoden aanbevolen: een afdrukpreparaat van het verteringsstelsel of histopathologie van een stukje weefsel van de oester. Typering tot de soort kan vervolgens geschieden met technieken als PCR gevolgd door sequencen of PCR-RFLP test. Bij het CVI is een kwantitatieve PCR in ontwikkeling voor snelle detectie en typering van *Marteilia refringens*.

Overdracht van de infectie en preventie

De levenscyclus van *Marteilia refringens* is nog niet compleet opgehelderd. Een directe horizontale transmissie van oester naar oester kon niet worden aangetoond, een tussengastheer of alternatieve gastheer lijkt noodzakelijk. Een potentiële (tussen)gastheer is de copepode *Paracartia grani*. *Marteilia refringens* kon in deze copepode worden aangetoond en vanuit oesters kon de copepode worden geïnfecteerd met de parasiet (Audemard et al. 2002). Import van oesters en mosselen uit gebieden met *Marteilia refringens* moet vermeden worden.



Figuur 6.3.4. (A) Histologisch preparaat (H&E) met *Marteilia refringens* in het verteringsstelsel van een platte oester. (B) Afdruk preparaat van het verteringsstelsel van een platte oester met *Marteilia refringens*. Parasiet aangegeven met pijlen.

6.3.5. *Perkinsus marinus*

Perkinsus marinus staat op de lijst van exotische schelpdierziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

OIE, EU
Amerikaanse oester

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

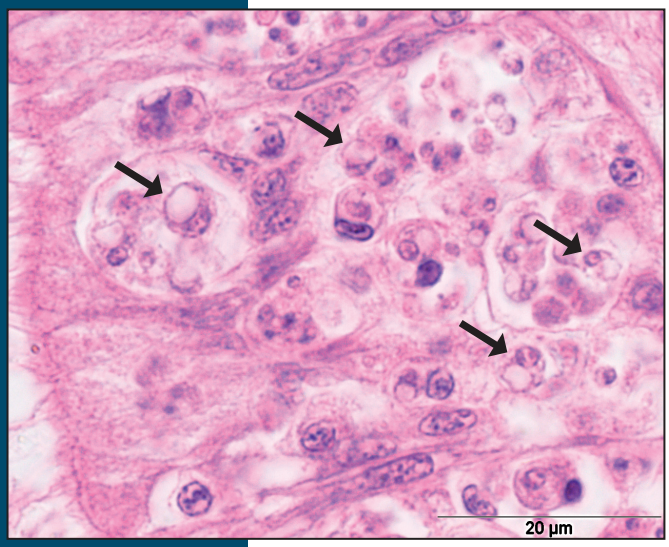
Perkinsus marinus (Alveolata: Perkinsea) is een eencellige parasiet verwant aan dinoflagellaten. In de eerste plaats is de gastheer voor *Perkinsus marinus* de Amerikaanse oester (*Crassostrea virginica*). Ook de Japanse oester (*Crassostrea gigas*) en de Suminoe oester (*Crassostrea ariakensis*) kunnen geïnfecteerd worden met de parasiet maar deze lijken minder gevoelig dan de Amerikaanse oester voor de ziekte. De parasiet is tot nu toe gevonden aan de oostkust van de Verenigde Staten van Massachusetts tot aan Florida, langs de Golf van Mexico tot aan Venezuela, en in Puerto Rico, Cuba en Brazilië.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

Zoals in het algemeen bij schelpdierparasieten zijn er geen specifiek waarneembare klinische symptomen voor *Perkinus marinus*. Problemen met een ziekte worden als eerste waargenomen door een verhoogde sterfte in het schelpdierbestand die niet te verklaren is door andere factoren. *Perkinsus marinus* veroorzaakt een chronische ziekte, geïnfecteerde oesters vermageren, vertonen teruglopende conditie en een afname van de groei. De piek in sterfte treedt op in de warme zomermaanden (watertemperatuur boven de 20°C). Deze sterfte kan oplopen tot 95% in de tweede zomer nadat oesters zijn overgebracht naar een omgeving met de parasiet.

Diagnostische methoden

Om een oesterpopulatie te screenen op de aanwezigheid van *Perkinsus marinus* wordt door de OIE (2009) een specifieke kweekmethode aanbevolen: de zogenaamde Ray's fluid thioglycollate culture. Daarnaast worden ook histopathologie en PCR gebruikt als diagnostische testmethoden. Met behulp van PCR en sequencing kan de parasiet tot op de soort worden getypeerd.



Figuur 6.3.5. Histologisch preparaat (H&E) van *Perkinsus marinus* (pijlen) in epitheel cellen van de darm van een Amerikaanse oester.

Overdracht van de infectie en preventie
De parasiet heeft een horizontale transmissie, dus er is directe overdracht van oester naar oester. Alle stadia van de parasiet zijn infectieus. De import van oesters uit gebieden met *Perkinsus marinus* moet vermeden worden. Er bestaan populaties van de Amerikaanse oester met een natuurlijke resistentie voor *Perkinsus marinus*. Verschillende stammen van de parasiet kunnen ook variëren in virulentie en zout tolerantie. Om de impact van de parasiet op de oesters te minimaliseren kan de dichtheid van de oesters verlaagd worden en kunnen oesters overgebracht worden naar een locatie met een lage saliniteit vóór de watertemperatuur boven de 15-20°C uitkomt.

6.3.6. *Mikrocytos mackini*

Mikrocytos mackini staat op de lijst van exotische schelpdierziekten van de EU-richtlijn 2006/88/EG

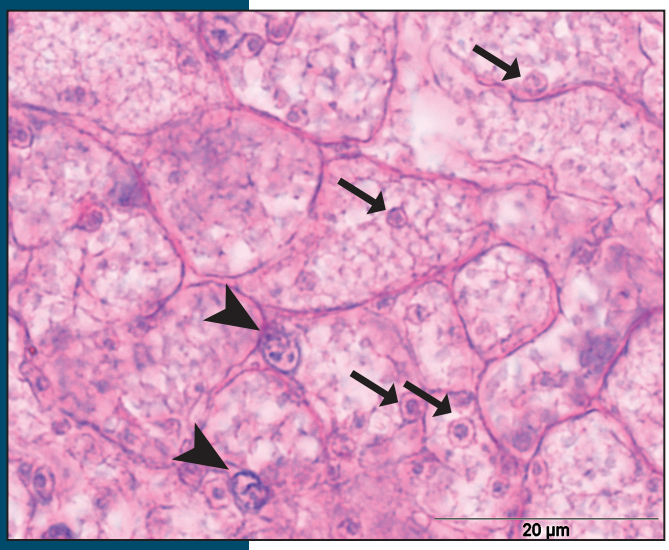
Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Mikrocytos mackini is een eencellige parasiet van oesters zonder een duidelijke verwantschap met enige andere protozoa. Als gevoelige oestersoorten zijn bekend de Japanse oester (*Crassostrea gigas*) en de Olympia oester (*Ostrea lurida*). Experimenteel zijn ook de platte oester (*Ostrea edulis*) en de Amerikaanse oester (*Crassostrea virginica*) te infecteren met *Mikrocytos mackini*. De parasiet komt voor aan de Canadese westkust, is zeer algemeen in de Strait of Georgia en aanwezig op andere locaties rond Vancouver Island, en de aangrenzende gebieden van de State of Washington, Verenigde Staten.

EU
Japanse oester,
Olympia oester

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
Klinisch zijn bij een infectie met *Mikrocytos mackini* op het lichaam en de mantel van de oester ronde geelgroene abcessen zichtbaar met een diameter tot 5 mm, met vaak op die plek een bruinige afdruk op de binnenzijde van de schelp. Echter, deze verschijnselen zijn niet specifiek voor infectie met *Mikrocytos mackini*, want ook bacteriële infecties zoals *Nocardia crassostreae* kunnen dergelijke abcessen geven. *Mikrocytos mackini* vormt een risico voor oesters gekweekt in gebieden waar langere periodes (enkele maanden) zijn met watertemperaturen onder de 10°C. Vooral dieren ouder dan 2 jaar zijn gevoelig voor de ziekte. De piek in infectie en sterfte in Noord-Amerika valt over het algemeen in april/mei na een 3-4 maanden periode met temperaturen onder de 10°C.

Diagnostische methoden
Om een oesterpopulatie te screenen op de aanwezigheid van de parasiet wordt door de OIE (2009) histopathologie aanbevolen. Dit zowel voor een reguliere screening als voor een verdenking. Voor bevestiging en typering van de parasiet zijn PCR, sequencing en/of transmissie electronen microscopie (TEM) de aangewezen technieken.

Overdracht van de infectie en preventie
Mikrocytos mackini heeft een horizontale transmissie, er is directe overdracht van oester naar oester. Het overbrengen van oesters van geïnfecteerde gebieden naar gebieden waar de parasiet niet aanwezig is moet vermeden worden. In gebieden waar de ziekte heerst, kunnen maatregelen genomen worden om het effect van de ziekte op de populatie te reduceren. Dit kan bijvoorbeeld door de oesters over te brengen naar een locatie hoog in de getijdenzone. Daarnaast kunnen marktklare oesters binnen 3 jaar geoogst worden, vóór maart van het 3e jaar.



Figuur 6.3.6. Histologisch preparaat met *Mikrocytos mackini* in het bindweefsel van een Japanse oester. De pijlkop geeft een celkern weer, de pijlen geven de plaats van de parasiet aan.

6.3.7. Digene trematode infecties

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding

Digene trematode infecties (Platyhelminthes: Digenea) komen voor in kokkels, mosselen, oesters en andere tweekleppigen wereldwijd. Bij kokkels langs de kust van Noordwest Europa wordt een aantal soorten frequent aangetroffen (De Montaudouin et al. 2009), waaronder *Bucephalus minimus* en *Gymnophallus choledochus* in de viscera, *Himasthla* species in mantel en voet, en *Parvatrema minutus* (syn. *Meiogymnophallus minutus*) in een cyste nabij het slot van de kokkel. Daarnaast kunnen *Renicola roscovita* in het labial palp en *Psilostomum brevicolle* nabij het verteringsstelsel waargenomen.

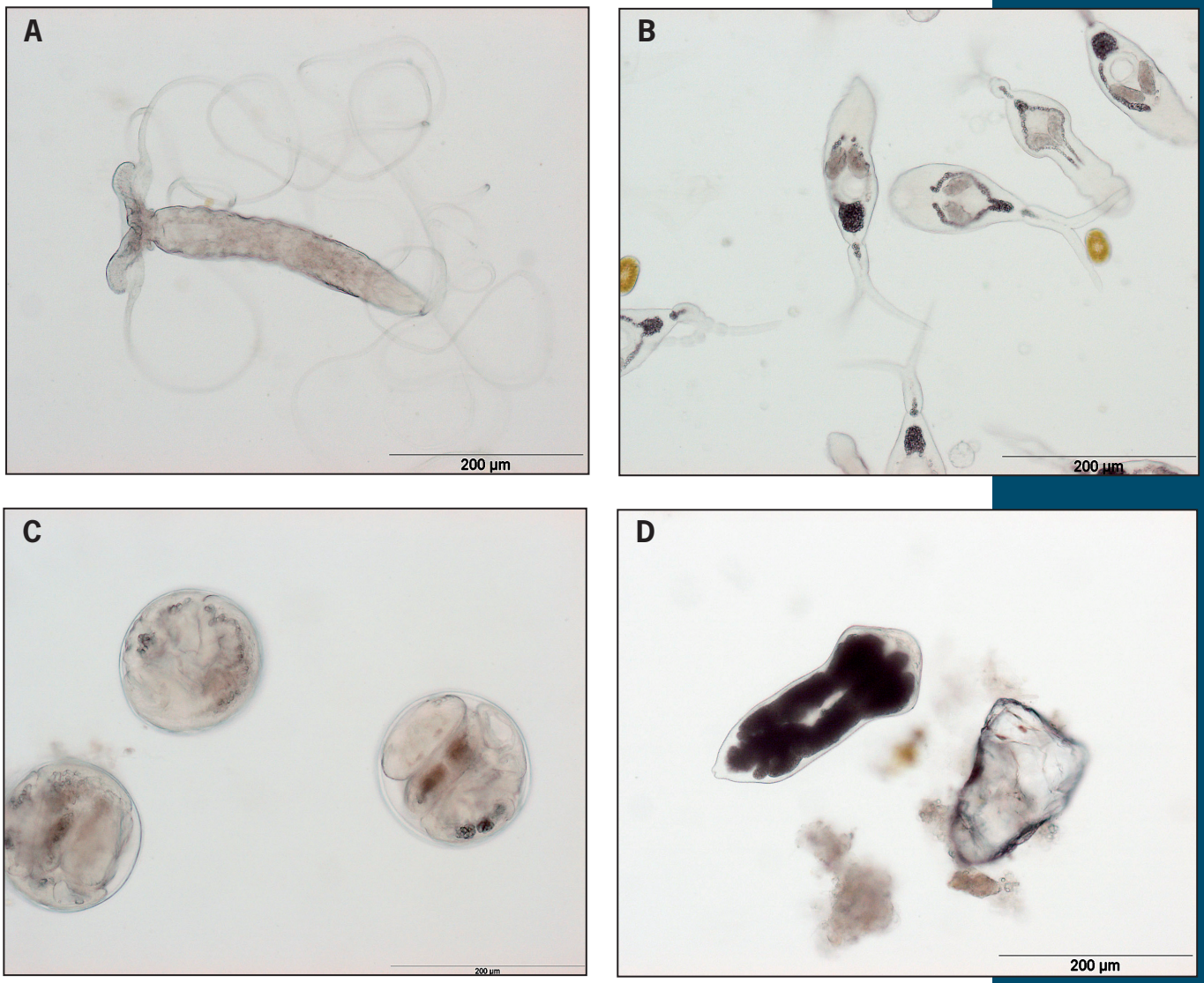
De kokkel is voor *Bucephalus minimus* en *Gymnophallus choledochus* de eerste tussengastheer. Deze soorten hebben als eindgastheer respectievelijk de zeebaars (*Bucephalus minimus*) en watervogels (*Gymnophallus choledochus*). Voor *Himasthla* species, *Parvatrema minutus*, *Renicola roscovita* en *Psilostomum brevicolle* is de kokkel de tweede tussengastheer. De eindgastheren voor deze trematode soorten zijn watervogels. Voor *Parvatrema minutus* is dit de scholekster. Deze trematoden vormen dan ook geen gevaar voor de volksgezondheid.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer

Over het algemeen zijn de gevolgen van infecties met de meeste trematode soorten op populatie niveau beperkt. Hoewel de prevalentie en intensiteit van infectie van trematoden met de kokkel als tweede tussengastheer zeer hoog kan zijn worden deze soorten over het algemeen niet als een probleem voor de kokkels gezien. Een infectie met een soort waarvan de kokkel de eerste tussengastheer is, is vaak schadelijker en kan leiden tot castratie van de kokkel. Van *Gymnophallus choledochus* is beschreven dat deze betrokken was bij zomersterfte van kokkels (Thieltges 2006), onder andere in de Oosterschelde in 2010, waar op enkele locaties de prevalentie van *Bucephalus minimus* opliep tot 70% (Van den Brink et al. 2010). Infecties met trematoden kunnen ook leiden tot gedragsveranderingen van de gastheer, waardoor deze zich bijvoorbeeld minder diep kan ingraven en daardoor een makkelijkere prooi voor bijvoorbeeld watervogels is, die dan weer de volgende gastheer van deze trematode vormen (Desclaux et al. 2002).

Diagnostische methoden

De trematoden zijn waarneembaar door een vers preparaat te maken van het weefsel en dit te bekijken onder een stereomicroscoop of lichtmicroscoop. Als hulp bij de identificatie is er een sleutel gepubliceerd van de trematode soorten die voorkomen bij de kokkel in Noordwest Europa (De Montaudouin et al. 2009).



Figuur 6.3.7. Cercaria van digene trematoden met de kokkel als eerste tussengastheer, (A) *Bucephalus minimus* en (B) *Gymnophallus choledochus*. En metacercaria van digene trematoden met de kokkel als tweede tussengastheer (C) *Himasthla* species en (D) *Parvatrema minutus*.

Overdracht van de infectie en preventie

Onder de digene trematoden bestaat een eindeloze variatie in complexe levenscyclussen met vaak één of meer tussengastheren en een eindgastheer. In de levenscyclus wisselen seksuele en aseksuele generaties elkaar af binnen één cyclus. Een generalistische levenscyclus van een trematode heeft drie gastheren en is als volgt: Eieren uit de faeces van een gewervelde eindgastheer infecteren de eerste tussengastheer (vaak een slak) actief of passief: de eieren worden passief opgegeten door de eerste tussengastheer waarin ze uitkomen of de eieren komen uit in water en dringen actief als miracidium larve de gastheer binnen. In de gastheer ontwikkelt de miracidium zich tot sporocyst, die uiteindelijk zeer grote aantallen cercariae

produceert. De vrij-levende cercariae verlaten de eerste tussengastheer en kunnen de tweede gastheer passief (gastheer eet de cercaria) of actief (de cercaria dringt de tweede gastheer binnen) infecteren. In de tweede tussengastheer ontwikkelen de cercaria zich tot metacercaria in een cyste. Dit stadium is infectieus voor de eindgastheer, die de geïnfecteerde tweede tussengastheer opeet. In de maag van de eindgastheer komen de metacercaria uit de cyste en migreren naar een specifieke plaats in het lichaam van de eindgastheer waarna de levenscyclus zich herhaalt. Trematoden vormen een onderdeel van de fauna rond kokkel en andere schelpdierpopulaties.

6.3.8. *Polydora*-species

NL
Oesters maar ook andere schelpdieren

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De schelpen van oesters vormen een leefomgeving voor talrijke organismen in zee die zich verbergen tussen groeven in de schelp en zich hechten aan het oppervlak van de schelpen. Borstelwormen van het genus *Polydora* (Annelida: Polychaeta) gaan nog een stap verder en boren gangen in de schelp. De *Polydora* soorten komen vooral voor in oestersoorten als de Japanse oester en platte oester, maar zijn ook beschreven in andere schelpdieren als mosselen en de grote mantel (*Pecten maximus*; Mortensen et al. 2000). De verspreiding is wereldwijd, maar waarschijnlijk is de verspreiding van de verschillende *Polydora* soorten beperkt.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
De borstelwormen boren gangen in de schelp waarbij vaak ook modderinsluitingen ontstaan. De infecties zijn in de meeste gevallen onschadelijk voor de schelpdieren en beperken zich tot de schelp. In zeldzame gevallen kunnen er abcessen in het spierweefsel zichtbaar zijn als de boorgang in contact komt met het spierweefsel van de sluitspier. De aanwezigheid van de borstelwormen en modderinsluitingen kan de commerciële waarde van de oester verminderen.

Figuur 6.3.8. Boorgangen aan de rand van een Japanse oesterschelp met *Polydora* spp.

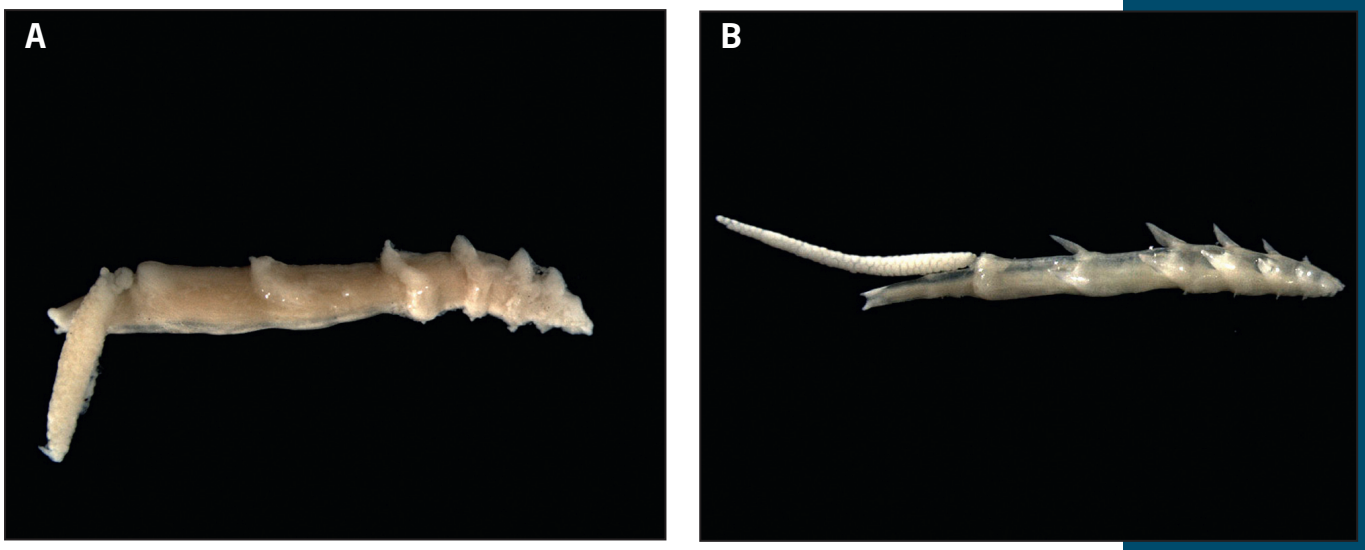
Diagnostische methoden
Bij goed licht zijn de kronkelige gangen (2 mm in diameter) en de borstelwormen zichtbaar aan de binnenkant van de lege schelphelft. Ook kunnen insluitingen van modder (tot circa 1 cm) zichtbaar zijn in de schelp (Bower 2004).

Overdracht van de infectie en preventie
Prevalentie en intensiteit van de infectie kunnen worden teruggebracht door de kweek van schelpdieren van de bodem af, in de waterkolom, of door het plaatsen van de schelpdieren op rekken in de getijdezone.

6.3.9. *Mytilicola*-species

Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
De copepoden *Mytilicola intestinalis* en *Mytilicola orientalis* (Crustacea: Copopoda) zijn darmparasieten, die zich hechten aan de darmwand van de gastheer. *Mytilicola intestinalis* is waarschijnlijk in de jaren dertig geïntroduceerd met mosselen uit het Middellandse zee gebied. De voornaamste gastheer is de mossel (*Mytilus edulis*). *Mytilicola orientalis* is binnengekomen met de introductie van de Japanse oester (*Crassostrea gigas*). Hoewel ook andere schelpdiersoorten door beide *Mytilicola*-soorten geparasiteerd kunnen worden geven deze soorten de voorkeur aan de mossel en de Japanse oester.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
In het algemeen is het effect van *Mytilicola* species op de gastheer beperkt. In een aantal gevallen is gevonden dat de conditie van de geïnfecteerde gastheer lager is dan die van niet geïnfecteerde gastheren. In het verleden is de massale sterfte van mosselen van 1949 tot 1951 in de Waddenzee toegeschreven aan *Mytilicola intestinalis* (Korringa 1968). Hoewel deze parasiet zeker zijn gastheer kan beschadigen is dit later in twijfel getrokken en is het de vraag of *Mytilicola intestinalis* de primaire oorzaak van de sterfte was, of alleen secundair betrokken was bij de sterfte door de slechte conditie van de mossel (Elsner et al. 2010).



Figuur 6.3.9. Vrouwtje van (A) *Mytilicola intestinalis* en (B) *Mytilicola orientalis*. Beide met maar één eierzak (artefact). De rode kleur is verloren gegaan door fixatie (foto's met dank aan N. Elsner).

Diagnostische methoden

Mytilicola species kunnen met dissectie worden vrijgeprepareerd uit de darm van de gastheer. De copepoden zijn intens rood gekleurd. Vrouwtjes dragen twee eierzakken aan weerszijde van het lichaam en zijn tot respectievelijk 9 mm (*M. intestinalis*) en 12 mm (*M. orientalis*) in lengte. Mannetjes zijn aanzienlijk kleiner met een lengte tot respectievelijk 4,5 mm (*M. intestinalis*) en 5 mm (*M. orientalis*). De twee soorten kunnen onderscheiden worden aan de hand van de stekels aan de rugzijde. Voor het kwantificeren van het aantal copepoden in de darm is er een methode van digestie (vertering) van het gastheerweefsel waarop de copepoden vervolgens bloot komen te liggen. Histologisch kunnen de copepoden worden aangetroffen in dwarsdoorsneden in het lumen van de darm.

Overdracht van de infectie en preventie

De nauplii larven van de copopoden leven vrij in de waterkolom. Door filtratie van de gastheer komen de copepoden in de gastheer terecht. In het maagdarmkanaal van de gastheer ontwikkelt de copepode zich via verscheidene tussenstadia tot de volwassen copepode. Eenmaal in een gastheer kan *Mytilicola* niet meer naar een andere gastheer. Over het algemeen zijn mosselen in beschutte en diepe wateren in hogere mate geïnfecteerd met *Mytilicola intestinalis* dan mosselen in meer blootgestelde en snel stromende getijde wateren (Kinne & Lauckner 1983). Het terugbrengen van de dichtheden van de mosselen in het gebied kan ook intensiteit van de infectie verminderen.

6.4. Schimmelziekten van schelpdieren

6.4.1. Ostracoblabe implexa (schelpziekte)

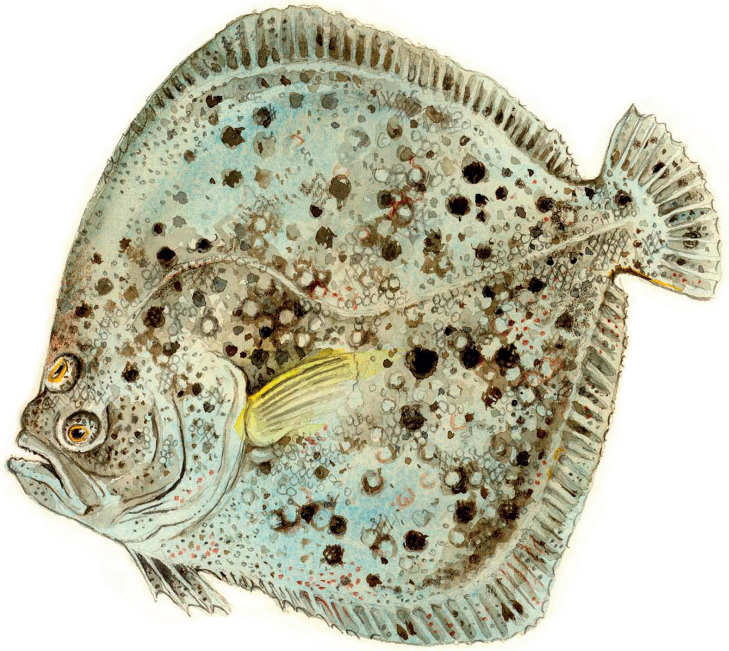
Ziekteverwekker, gevoelige soorten en geografische verspreiding
Ostracoblabe implexa is een schimmel zonder duidelijke verwantschap met andere schimmels. De schimmel groeit in de schelp van oestersoorten als de platte oester (*Ostrea edulis*), Japanse oester (*Crassostrea gigas*) en Portugese oester (*Crassostreae angulata*) in Canada, India en Europa. De aantasting door de schimmel in de schelp wordt ook wel schelpziekte genoemd.

Ziekteverschijnselen en impact op de gastheer
In beginnende infecties vormt de schimmel ronde mat-witte vlekken aan de binnenzijde van de schelphelft welke zich uitbreiden tot witte vlakken. In latere stadia van de infectie kunnen conchioline wratten en vergroeiingen van de schelp ontstaan. Conchioline is een eiwit afgezet door epitheelcellen in de mantel van de oester, dat als bindmiddel dient voor het aanmaken van het schelpmateriaal. Als het gebied onder de sluitspier geïnfecteerd raakt kan de aanhechting van de spier verzwakken. De aanwezigheid van de vergroeiingen en conchioline wratten kan de commerciële waarde van de oester verminderen. Ook wordt de structuur van de schelp verzwakt door de schimmel, waardoor de schelp makkelijker breekt.

Diagnostische methoden
Infectie met *Ostracoblabe implexa* kan met het blote oog worden waargenomen aan de binnenzijde van de schelp: als kleine mat-witte vlekken tot grote witte vlakken. In gevorderde stadia van infectie zijn donkere conchioline wratten zichtbaar en kunnen vergroeiingen optreden aan de binnenzijde van de schelp.

Overdracht van de infectie en preventie
Temperatuur is een limiterende factor voor de schimmel. Voor ontwikkeling van schelpziekte is een watertemperatuur van boven de 22 °C voor minimaal twee weken noodzakelijk (Bower 2001). Alle kalkhoudende materialen in zee kunnen als reservoir dienen voor deze schimmel.

Figuur 6.4.1. Schelp van Japanse oester met aantasting door *Ostracoblabe implexa* (pijl koppen).



Zoönosen 7

7.1. Algemeen

Zoönosen zijn infectieziekten die overdraagbaar zijn van dier op mens. Ook bij contacten met aquacultuurdieren is er een risico op het oplopen van een infectieziekte die zowel het aquacultuurdier als de mens ziek kan maken. In de Nederlandse aquacultuur komen dergelijke ziekteverwekkers af en toe voor. Een probleem bij het diagnosticeren van aquatische zoönosen bij de mens is vaak dat deze in eerste instantie niet als zodanig herkent wordt. Zoönosen van aquacultuurdieren kunnen worden onderverdeeld in:

Contactzoönosen: Zoönotische infectieziekten, opgedaan door huidcontact via oppervlakkige wondjes. Risicogroepen zijn vooral kwekers, vis- en schelpdierverwerkers, en consumenten. Het gaat hierbij om bacteriële ziekteverwekkers.

Voedselzoönosen: Bij ziekte opgelopen door consumptie van vis, schaal of schelpdieren gaat het meestal om contaminatie van producten met bijvoorbeeld Norovirus, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* of *Salmonella*. Echte zoönotische infectieziekten opgedaan door consumptie van aquacultuurdieren komen in Europa zelden voor. De potentiële veroorzakers van voedselzoönosen zijn veelal parasieten van in wild gevangen vis. Indien aquacultuurproducten vooraf worden ingevroren of voldoende worden verhit voor consumptie spelen deze voedselzoönosen niet.

7.2. Bacteriële contactzoönosen

De voornaamste contact zoönotische bacteriën die van aquacultuurdieren op de mens kunnen overslaan door een steek, snee of via open wondjes zijn *Aeromonas hydrophilia*, *Edwardsiella tarda, Mycobacterium marinum*, *Streptococcus iniae*, *Vibrio vulnificus* en *Photobacterium damselae* subsp. *damselae*. In Nederland zijn deze bacteriën van belang op viskwekerijen waar gekweekt wordt bij temperaturen van circa 24 tot 28°C. In de laatste decennia zijn er diverse gevallen van *Vibrio vulnificus, Edwardsiella tarda* en *Mycobacterium marinum* aangetoond in zieke paling, Afrikaanse meerval, tilapia en barramundi. In enkele gevallen gaven *Vibrio vulnificus* en *Mycobacterium marinum* ook bij de viskweker en/of visverwerker aanleiding tot ziekte, via wondjes op de hand na contact met besmette vis (eigen bevindingen CVI). Aangezien beide bacteriën het meest optimaal goeien bij lagere temperaturen dan die van het menselijk lichaam veroorzaken deze bacteriën bij de mens vooral onderhuidse ontstekingen in perifere delen van het lichaam (ledematen).

Vibrio vulnificus is een agressieve ziekteverwekker bij vis, die vooral bij paling ernstige ziekte met hoge sterfte kan veroorzaken. De bacterie kan vanuit besmet aquariumwater of besmette vis overslaan op de mens via verwonding van de huid of via al aanwezige huidbeschadigingen. Er ontstaat dan, binnen enkele dagen, een infectie met ontsteking van het onderhuidse bindweefsel, zweren en necrose (Veenstra et al. 1993). In een enkel geval kan zich dit ontwikkelen tot een necrotische fasciitis met volledige sepsis. In Nederland is deze ziekte opgetreden na contact met zieke paling (Dijkstra et al. 2009). Het genezingsproces heeft een traag beloop met chirurgisch ingrijpen en antibioticum therapie.

Mycobacterium marinum is een atypische mycobacterie, die bij de mens het zogenaamde ‘zwemmersgranuloom’ kan veroorzaken. Dit is een chronische infectie met *M. marinum,* die ontstaat door contact met besmet (aquarium)water of besmette vis. De bacterie kan zich via huidbeschadigingen of wondjes in met name de handen vestigen en lokaal oppervlakkige

ontstekingen in de huid (granuloma's) veroorzaken, en pees- en gewrichtsontstekingen (Petrini 2006, Pang et al. 2007). De infectie ontwikkelt zich in de weken of maanden na de blootstelling. Bij verwaarlozing van de infectie of bij patienten met een verminderde weerstand kan de infectie zich via de lymfevaten uitbreiden met granulomateuze ontstekingen onder de huid. *Mycobacterium fortuitum* kan bij de mens lokale ontstekingen veroorzaken. Bij verwaarlozing kan dit zich uitbreiden tot laesies in de longen en lymfeklieren. In vergelijking met *M. marinum* komt *M. fortuitum* minder vaak voor bij vis.
Atypische mycobacteriën groeien bij temperaturen onder de 30 °C. Aangezien in de humane diagnostiek doorgaans alleen bij 37 °C worden gekweekt is het dan ook belangrijk om aan de arts aan te geven dat men beroeps- of in de hobbymatig met vis werkt. Dit om vertraging in de diagnose en misdiagnose te vermijden (Aslam & Ng 2010, Cheung et al. 2010). Via langdurige antibioticumtherapie zijn de infecties te bestrijden.

In de visteelt en visverwerking treden af en toe huidbeschadigingen op door het zich snijden bij verwerking van vis of het zich prikken aan stekels van de vis. Ter preventie van infecties door bovengenoemde bacteriën is een goed hygiëne vereist: na contact met vis, schaal- of schelpdieren steeds handen wassen met desinfecterende zeep en ontsmetten met alcohol. Bij het slachten en schoonmaken van vis is het dragen van beschermende handschoenen en goede werkkleding een vereiste. Bij wondjes deze afdekken met pleisters, en ontstoken wondjes in de gaten houden.

7.3. Parasitaire voedsel gerelateerde zoönosen

Via consumptie van rauwe of slecht gekookte vis kan de mens geïnfecteerd worden met zoönotische parasieten. Met name in Azië komen infecties met parasitaire voedselzoönosen uit de aquacultuur frequent voor, omdat aquacultuur daar een zeer belangrijke voedselbron vormt en de consumptie van rauwe vis veel gebruikelijker is dan in Europa. Infecties worden veroorzaakt door diverse parasitaire ziekteverwekkers, waaronder diphyllobothriasis door de lintworm *Diphyllobothrium* species (Cestode), anisakiasis door de rondworm *Anisakis* species (Nematode) en minder frequent door de rondworm *Pseudoterranova decipiens*, clonorchiasis door de parasitaire zuigworm *Clonorchis sinensis* (Trematode), en ziekte veroorzaakt door zuigwormen van het geslacht *Opisthorchis* (Dorny et al. 2009, Lima dos Santos & Howgate 2011). Vooral deze laatste trematoden hebben een significante socio-economische impact in Azië door de consumptie van rauwe zoetwatervis (Keiser & Utzinger 2009).

Historisch gezien is in Nederland de haringworm *Anisakis simplex* van groter belang, aangezien Nederland een traditie heeft in consumptie van rauwe gekaakte haring. Ter voorkoming van infecties met de haringworm geldt in Nederland sinds 1968 een verplichting tot invriezen van de haring voor consumptie. In de normale levenscyclus doorloopt *A. simplex* een aantal larvale stadia in verschillende gastheren waarna in het volwassen stadium de parasieten de maag van zeezoogdieren zoals zeehonden en dolfijnen infecteren. De mens vormt een onbedoelde gastheer door het eten van rauwe of onvoldoende gekookte vis of zeevruchten met daarin derde stadium larven van *A. simplex*. Na infectie met een levende worm veroorzaakt *A. simplex* een acute infectie gepaard gaande met darmkrampen, overgeven en diarree. Daarnaast kan zich bij de mens een allergische reactie tegen de worm ontwikkelen (Audicana & Kennedy 2008). Invriezen en koken kan de parasiet doden. Echter, dit zal niet de allergenen wegnemen. Hoewel *Anisakis* species en *Pseudoterranova* species nog steeds in wilde consumptie vis in Nederland worden vastgesteld (Aalten et al. 2009, Franssen & Van der Giessen 2009) is het aantal infecties sinds de verplichting tot invriezen dramatisch gedaald (Bouree et al. 1995).

8 Regelgeving aquacultuur

8.1. Aquacultuurrichtlijn 2006/88/EG en andere regelgevingen

De Europese aquacultuurrichtlijn 2006/88/EG en de daaruit voortvloeiende regelgevingen betreffen veterinair rechtelijke voorschriften voor de kweek en het in de handel brengen van aquacultuurdieren, ter preventie en bestrijding van bepaalde ziekten in de aquacultuur. Hierin zijn onder andere beschreven de minimale controle maatregelen die genomen dienen te worden in het geval van een verdenking of een uitbraak van bepaalde ziekten in aquacultuurdieren. Verder zijn beschreven preventieve maatregelen om het bewustzijn met betrekkening tot ziekten bij aquacultuurdieren te verhogen bij de authoriteiten en de sector. Ook komen de diergezondheidsvereisten bij het in de handel brengen en de import van aquacultuurdieren aan bod. In de richtlijn is een lijst opgenomen van meldplichtige exotische en niet-exotische ziekten (tabel 8.1) en de gevoelige soorten.

Tabel 8.1 meldplichtige vis-, schaaldier-, en schelpdierziekten zoals opgenomen in Bijlage IV Deel II van de Richtlijn 2006/88/EC, en gewijzigd in de Richtlijn van de Raad 2008/53/EC.

Exotische ziekten	
Vis	Epizoötische hematopoïetische necrose (EHN) Epizoötisch ulceratief syndroom (EUS)
Weekdieren	Besmetting met *Bonamia exitiosa* Besmetting met *Perkinsus marinus* Besmetting met *Microcytos mackini*
Schaaldieren	Besmetting met het Taura syndroom virus (TSV) Besmetting met het Yellowhead virus (YHV)

Niet exotische ziekten	
Vis	Virale hemorragische septikemie (VHS) Infectieuze hematopoïetische necrose (IHN) Koi herpesvirus (KHV) Infectieuze zalmanemie (ISA)
Weekdieren	Besmetting met *Marteilia refringens* Besmetting met *Bonamia ostreae*
Schaaldieren	Besmetting met het wittevlekkenvirus (WSSV)

Volgens de richtlijn kunnen lidstaten een bewakings- of uitroeiingsprogramma opstellen voor het verkrijgen van een ziektevrije status van de lidstaat, een gebied of een bedrijf. Er wordt een aantal categorieën onderscheiden (zie bijlage III Deel A uit de 2006/88/EC): I ziektevrij, II bewakingsprogramma, III onbepaald, IV uitroeiingsprogramma en V besmet. Aangezien, met uitzondering van ISA en WSSV, de niet-exotische ziekten in Nederland of al aanwezig zijn of in het verleden al eens zijn aangetroffen in aquacultuurdieren, heeft Nederland voor de meeste ziekten de status III onbepaald of V besmet.

Een aquacultuurbedrijf kan een ziektevrije status (catogorie I) nastreven als het een bedrijf betreft dat niet in direct contact met open water staat. Voor deze vrijwillige gezondheidscertificering worden twee keer per jaar monsters genomen door de nVWA en getest door het CVI. Het gaat dan om grote aantallen dieren.

De richtlijn 2006/88/EG is geïmplementeerd in de nationale wetgeving. Dit betekent dat als men in aquacultuurdieren een onverklaarbare verhoogde sterfte aantreft, met een verdenking van een meldplichtige vis-, schaaldier- of schelpdierziekte, deze verdenking gemeld dient te worden aan de overheid (nVWA).

Bij een verdenking worden officieel ambtelijke monsters genomen door de nVWA, welke worden onderzocht bij het CVI te Lelystad. Gedurende het onderzoek is geen transport van levende dieren van of naar het bedrijf mogelijk. Details staan in de richtlijn 2006/88/EG en de uitvoeringsbepalingen. Zie voor de richtlijn 2006/88/EG en aanverwante wetgeving de link http://ec.europa.eu/food/animal/liveanimals/aquaculture/index_en.htm.

Als een ziekte van de lijst is aangetoond wordt de ziekte gemeld aan de EU en de OIE. Bij exotische ziekten is ruimingsplicht en bestrijding (inclusief desinfectie) een gevolg. Voor niet-exotische ziekten varieert de politiek per lidstaat en is dit afhankelijk van de status van het gebied: er kan vrijwillig geruimd worden, in overleg met de nVWA.

Nationaal zijn de Gezondheids en Welzijns Wet voor Dieren (zie de link http://wetten.overheid.nl/BWBR0005662) en de daaruit voorkomende Regeling Aquacultuur (zie de link http://wetten.overheid.nl/BWBR0024256) van belang met betrekking tot dierziekten in de aquacultuur.

Naast de EU regelgeving en de nationale wetten zijn er adviesstukken opgesteld door de wereld organisatie voor diergezondheid, de OIE (Office International des Epizooties). Deze organisatie heeft een aantal aanbevelingen en adviesstukken opgesteld voor gezonde aquacultuur waaronder de zogenaamde OIE *Aquatic Code* en de OIE *Aquatic Manual*. Deze documenten (in het Engels, Frans en Spaans) zijn online voorhanden op de OIE website (zie de link http://www.oie.int).

8.2. Wat te doen bij ziekte uitbraak

Indien er plotselinge ziekte of sterfte optreedt is het raadzaam meteen een watermonster te nemen en te testen. De symptomen dienen ge-observeerd en genoteerd te worden, en de dierenarts dient geraadpleegd te worden. Vaak is stoppen met voeren aan te raden, zeker als de vis niet meer eet. De dierenarts kan ter plaatse sectie en klinisch onderzoek aan de vissen verrichten. Het visziektelaboratorium van het CVI kan benaderd worden, voor sectie, parasitologie, bacteriologie en eventueel virologie. Zie bijlage 12.4 voor het inzendformulier en de website (http://www.cvi.wur.nl) voor de voorwaarden en prijslijst.

Indien een verdenking op een meldplichtige ziekte speelt, geldt hetgeen vermeld in paragraaf 8.1. van dit hoofdstuk.

Diagnostiek bij het CVI 9

9.1. Algemeen

Bij het CVI wordt onderzoek naar visziekten sinds 1985 uitgevoerd (Haenen & Bool 2005). Van buitenlandse laboratoria werden bacterie- en virusstammen en andere referentiematerialen gekregen, om de visziektendiagnostiek vanaf eind 1986 uit te kunnen uitvoeren. Sinds 1993 is het laboratorium aangewezen als nationaal referentielaboratorium (NRL) voor visziekten. In 2001 zijn de referentietaken op het gebied van schelpdierziekten van het toemalige RIVO (nu IMARES) overgenomen en sinds 2010 ligt ook de taak van Nederlands referentielaboratorium voor schaaldierziekten bij het CVI.
Dit hoofdstuk geeft een overzicht van de huidige methoden bij het CVI gebruikt in de diagnostiek voor vis-, schaaldier- en schelpdierziekten. Het geeft een toelichting op de in hoofdstukken 4, 5 en 6 genoemde technieken onder het kopje *Diagnostische methoden*. Achtereenvolgens komen aanbod: de monstername (9.2), parasitologie (9.3), bacteriologie (9.4) en virologie (9.5). De moleculaire diagnostiek met behulp van de PCR techniek wordt in een aparte paragraaf behandeld, aangezien deze voor alle soorten ziekteverwekkers wordt ingezet (9.6).

9.2. Monstername voor diagnostiek

Voor diagnostisch onderzoek kunnen dieren bemonsterd worden door de kweker, de dierenarts of de nVWA. Afhankelijk van het doel van het onderzoek kunnen bepaalde dieren worden geselecteerd of steekproefsgewijs monsters worden genomen. Bij het vermoeden van de aanwezigheid van een ziekteverwekker kan vaak met een relatief klein aantal (10-30) dieren met verschijnselen worden volstaan. Bij screening op (meldplichtige) visziekten ten behoeve van import, export of controle wordt de partij steekproefsgewijs bemonsterd. Afhankelijk van de gewenste statistische onderbouwing zal in dit laatste geval het aantal te bemonsteren dieren tussen de 30 en de 150 liggen.

Sectie
Aan de hand van uiterlijke waarneming van levende dieren wordt beoordeeld of de dieren ziekteverschijnselen vertonen en of er aanwijzingen zijn voor de aanwezigheid van een ziekteverwekker. De geselecteerde vissen worden door een overdosis anaestheticum geëuthanaseerd. Bij een volledige sectie wordt altijd gekeken naar de aanwezigheid van ectoparasieten, bloedparasieten en meercellige endoparasieten. Tijdens de sectie wordt verder gelet op algemene en specifieke verschijnselen van infectie. Voor vervolg onderzoek naar parasitaire, bacteriologische of virologische aandoeningen worden specifieke organen bemonsterd:

- Voor parasitologisch onderzoek van schelpdieren wordt een dwarsdoorsnede door alle organen bemonsterd voor histologie. Hiervoor wordt het monster gefixeerd in Davidson fixatief.
- Voor bacteriologisch onderzoek worden verdachte huidwonden en organen afgeënt met behulp van steriele swabs of entnaalden, en zo snel mogelijk uitgeplaat op agarplaten. Essentieel bij het afenten van wonden is dat een monster van de primaire infectie wordt genomen, met zo min mogelijk contaminatie van secundaire bacteriën. Bij afenten van interne organen, meestal nier, milt en/of lever, dient het orgaan daarom steriel benaderd te worden.
- Voor algemeen virologisch onderzoek worden in ieder geval een gepooled monster van de lever, milt en nieren, en een los monster van de kieuwen verzameld. In geval van zeer kleine visjes (<4 cm) kunnen gehele vissen (kop en romp) worden gebruikt voor virusisolatie, waarbij de staart bij de anus wordt verwijderd.

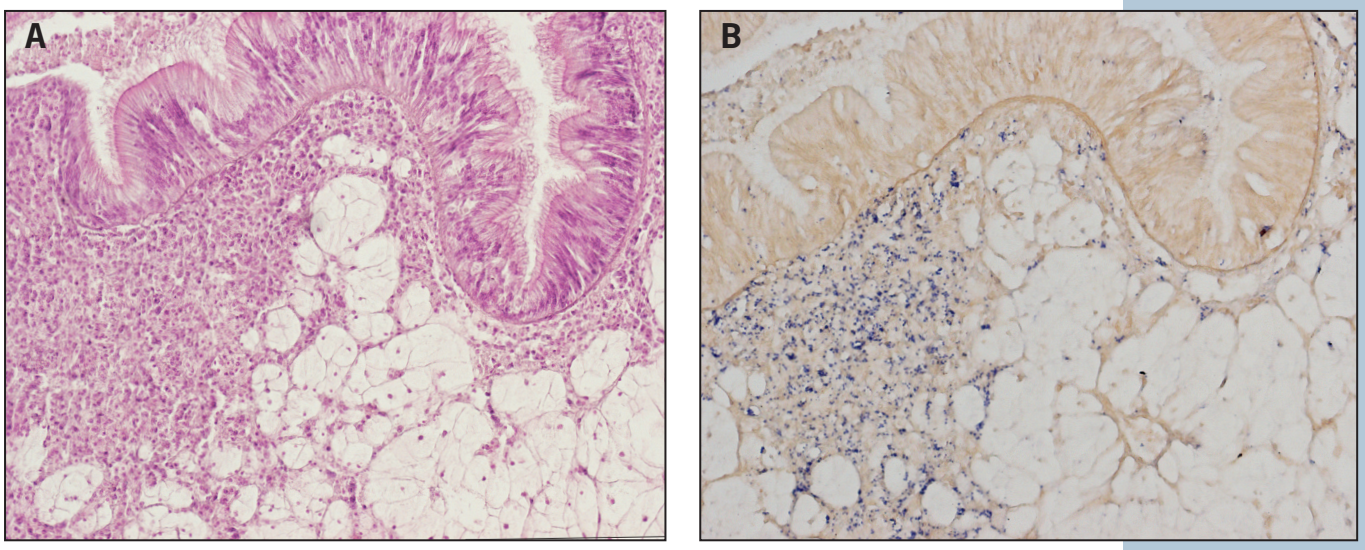
- Voor op genetisch materiaal gebaseerde moleculair diagnostische technieken kunnen monsters genomen worden van de gewenste weefsels en bewaard worden in een 75-100% ethanol oplossing. Monsters van verschillende dieren kunnen hierbij gepooled worden (van 2 tot maximaal 10 vissen per pool), maar dit kan een lagere testgevoeligheid tot gevolg hebben.

9.3. Parasitologie

De aanwezigheid van ectoparasieten, bloedparasieten en meercellige endoparasieten wordt tijdens de sectie onderzocht. Ook verschillende eencellige endoparasieten in vissen en sporen van bepaalde eencellige endoparasieten in schelpdieren kunnen in verse microscopische preparaten worden aangetoond.

Histologie

Voor histologisch onderzoek wordt een stukje weefsel gefixeerd in een op formaldehyde gebaseerd fixatief. Na fixatie wordt het weefsel ingebed in paraffine. Dit weefsel in paraffine kan vervolgens in zeer dunne plakjes (3-5 µm) worden gesneden en op een objectglaasje worden gebracht. Na een algemene kleuring kan onder een lichtmicroscoop het weefsel worden onderzocht op afwijkingen en parasieten. Als standaard kleuring wordt veelal haemotoxiline en eosine (H&E) kleuring gebruikt. Ook kunnen specifieke kleuringen gebruikt worden zoals Ziehl Neelsen zuurvaste kleuring, om bijvoorbeeld *Mycobacterium* spp. aan te tonen. Het voordeel van histologie is dat een zeer breed beeld verkregen wordt van de gezondheidsstatus van het dier en niet vooraf wordt geselecteerd op de detectie van één bepaalde groep van parasieten, zoals bij de moleculaire technieken vaak wel het geval is. De keerzijde is dat de meeste parasieten niet tot op soort te determineren zijn met histologie. Ook bacteriele infecties en aanwijzingen voor virale infecties kunnen zichtbaar zijn in histologische preparaten. Histologie vormt (nog) de basis van veel routine diagnostiek van schaal- en schelpdieren.



Figuur 9.3. H&E (A) en *in situ* hybridisatie (B) van dezelfde locatie van een met de parasiet *Bonamia ostreae* geïnfecteerde platte oester. De parasiet is in de ISH zichtbaar als paars-zwarte stippen in het weefsel.

***In situ* hybridisatie**
In situ hybridisatie (ISH) is een combinatie van histologie en een moleculaire detectie techniek. Net als bij de boven beschreven histologie wordt een stukje weefsel in paraffine ingebed en in zeer dunne plakjes gesneden. In plaats van een algemene kleuring wordt echter een kort stukje van het genetisch materiaal (probe of marker) op het weefsel gebracht welke specifiek hecht (hybridiseert) met het genetisch materiaal van de gezochte ziekteverwekker. De marker kan vervolgens zichtbaar worden gemaakt. Zoals te zien in figuur 9.3 is de locatie van de ziekteverwekker in een ISH prepataat sneller en beter herkenbaar dan in een histologische preparaat. Aangezien de techniek arbeidsintensief is, wordt deze niet vaak toegepast in routine diagnostiek, maar meestal voor onderzoeksdoeleinden om de exacte locatie van de ziekteverwekker vast te stellen.

9.4. Bacteriologie

9.4.1. Bacterie isolatie

Voor bacterie isolatie wordt het met een steriele swab of öse van huid, milt, lever of nieren afgenomen monster afgeënt op agarplaten. Standaard is dit een schapenbloed agarplaat (HIS), maar om bepaalde bacteriën te kunnen isoleren worden ook specifieke platen gebruikt zoals Cytophaga agar voor *Flavobacterium columnare* of Marine agar bij zeevis. De platen worden bebroeden bij 22 en/of 37°C. Van de meeste bacteriesoorten zijn dan na één tot enkele dagen de kolonies duidelijk zichtbaar. Vervolgens wordt een reinkweek gemaakt van de bacterie door één enkele kolonie op te pikken en op een nieuwe plaat uit te ösen en opnieuw te bebroeden. Van een reinkweek wordt vervolgens een antibiogram ingezet en kan de bacterie op naam worden gebracht biochemisch met een klassieke bonte rij of genetisch met een 16S RNA-typering. De totale duur van het onderzoek is voor een antibiogram meestal 2 dagen en voor een biochemische typering tot circa 2 weken en 16S RNA-typering enkele dagen.

9.4.2. Bacterie typering

Klassieke bonte rij
De verschillende bacterie soorten hebben verschillende stofwisselingseigenschappen waarmee ze bepaalde stoffen al of niet kunnen vormen of omzetten. Bepaalde omzettingen zijn in meer of mindere mate karakteristiek voor een groep of soort. In kweekbuizen is de omzetting zichtbaar door kleur verandering in de klassieke bonte rij. Aan de hand van een reeks van dit soort biochemische omzettingen kunnen bacteriën worden getypeerd. Ook zijn er strips ontwikkeld waarbij een reeks van omzettingen in één strip plaatsvinden (bijvoorbeeld API strips, Biomérieux). Voor het detemineren van vispathogenen zijn deze strips over het algemeen minder geschikt, aangezien deze ontwikkeld zijn voor de humane diagnostiek en het meest optimale resultaat geven bij 37°C, terwijl voor veel ziekteverwekkers bij vis de optimale groei bij lagere temperaturen ligt.

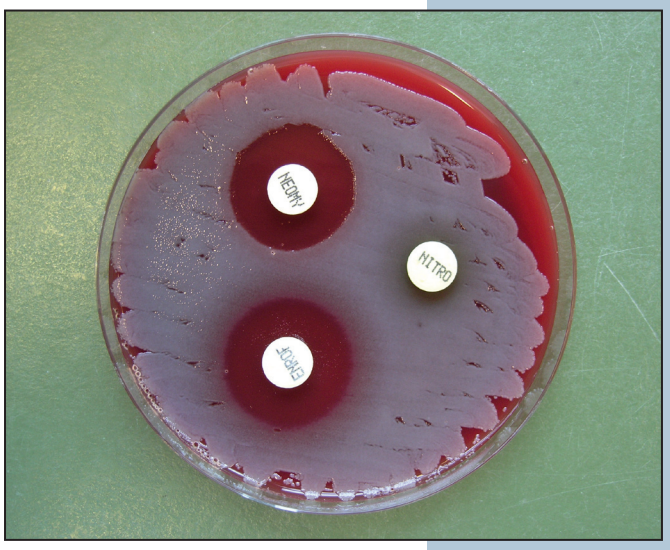
16S typering
Bacteriën kunnen ook worden getypeerd aan de hand van hun erfelijk materiaal, een genetische typering. Een aantal gedeeltes van dit erfelijk materiaal is zo geconserveerd dat de samenstelling hiervan gebruikt kan worden voor de typering van organismen. Voor veel bacteriën is het vaststellen van een gedeelte van de DNA volgorde van het 16S gedeelte

geschikt om deze op soort te kunnen typeren. De methode gaat uit van een kweek op plaat gevolgd door PCR en sequencing, en is snel en krachtig.

Figuur 9.4.2. Klassieke bonte rij in kweekbuizen.

9.4.3. Antibiogram bepaling

Een reine kweek van een geïsoleerde bacterie stam kan getest worden op de gevoeligheid van deze stam voor verschillende antibiotica. De stam wordt hiervoor uitgeplaat op een agar en tabletten met antibiotica worden op de plaat gelegd. Na 24 uur wordt de zone rond de tabletten waar de bacterie niet kan groeien (de remmingszone) opgemeten. Voor ieder antibioticum is er een voorgeschreven zone; als de betreffende bacterie stam binnen deze zone kan groeien, wordt deze als resistent voor het betreffende antibioticum beschouwd. Het antibiogram is het resultaat van deze test en geeft aan of de betreffende stam gevoelig (S) of resistent (R) is voor het betreffende antibiotica.

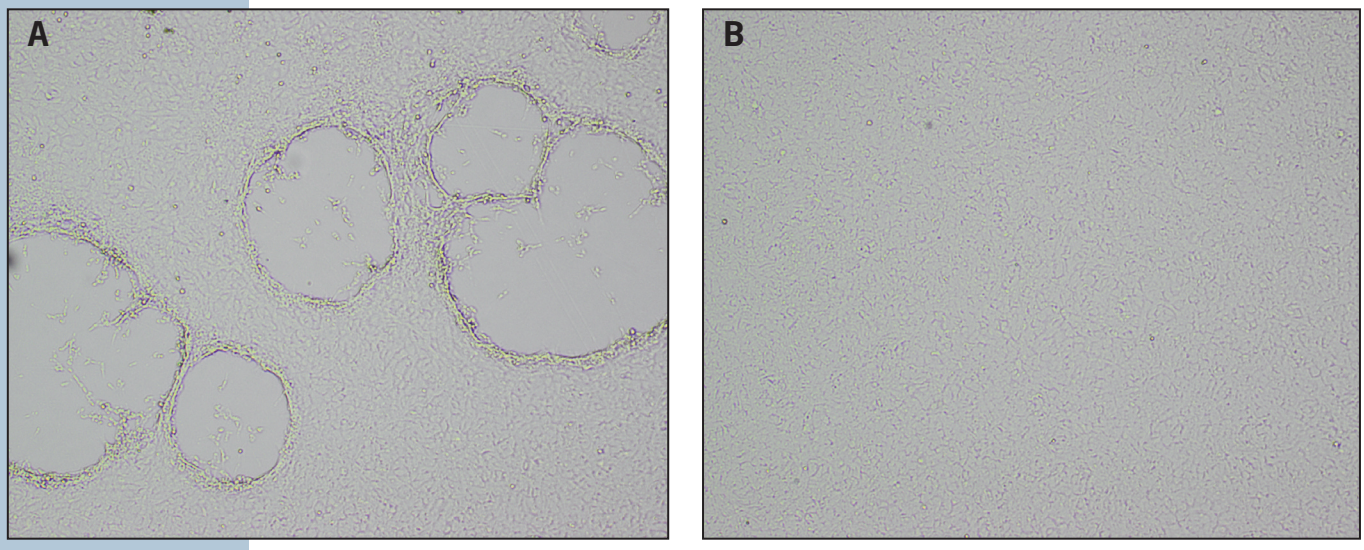


Figuur 9.4.3. Antibiogram van een bacterie stam voor drie antibiotica. Bij nitrofurantoine (NITRO) is er geen remming van de groei van de stam en de bacterie is hiervoor dus resistent. Bij enrofloxacine (ENROF) en neomycine (NEOMY) treedt er wel een remming van de groei op.

9.5. Virologie

9.5.1. Virus isolatie

Voor isolatie en vermeerdering van visvirussen worden permanente cellijnen gebruikt. Dit is een kweek van cellen, oorspronkelijk afkomstig van een vis, die onbeperkt door blijven delen. De cellen groeien in één enkele cellaag (monolayer) op de bodem van een steriele kweekfles in groeimedium.
Door een suspensie van de organen van een vis te inoculeren op een cellijn zullen de eventueel aanwezige virussen de cellijn infecteren en zich vermenigvuldigen (repliceren) in de cellijn. Bij de aanwezigheid en replicatie van een virus vinden veranderingen in de monolayer plaats, het zogenaamde cytopathogeen effect (cpe), dat lichtmicroscopisch waarneembaar is.
De te gebruiken cellijn is bij voorkeur oorspronkelijk afkomstig van dezelfde vissoort als het monster, aangezien virussen vaak soort specifiek zijn. Verder is de temperatuur van de kweek zeer belangrijk, virussen hebben maar een beperkte temperatuursrange waarin ze optimaal kunnen groeien. Als cpe ontstaat zijn aanvullende testen nodig om het virus te typeren.
Het voordeel van virusisolatie is dat, wanneer een gevoelige cellijn gebruikt wordt, in principe geen verdenking op een specifiek virus hoeft te bestaan, en een grote range van virussen kan worden geïsoleerd. Nadeel is echter dat alleen virussen die kunnen repliceren en cpe geven in de gebruikte cellijn en bij de toegepaste temperatuur zullen worden gevonden. Verder duurt virusisolatie relatief lang (2-3 weken) en is het arbeidsintensief.



Figuur 9.5.1. Fat Head Minnow (FHM) cellijn met cytopathogeen effect (cpe) door infectie met *epizoötisch haemotopoietisch necrose* (EHN) virus (A) en de controle zonder virus (B).

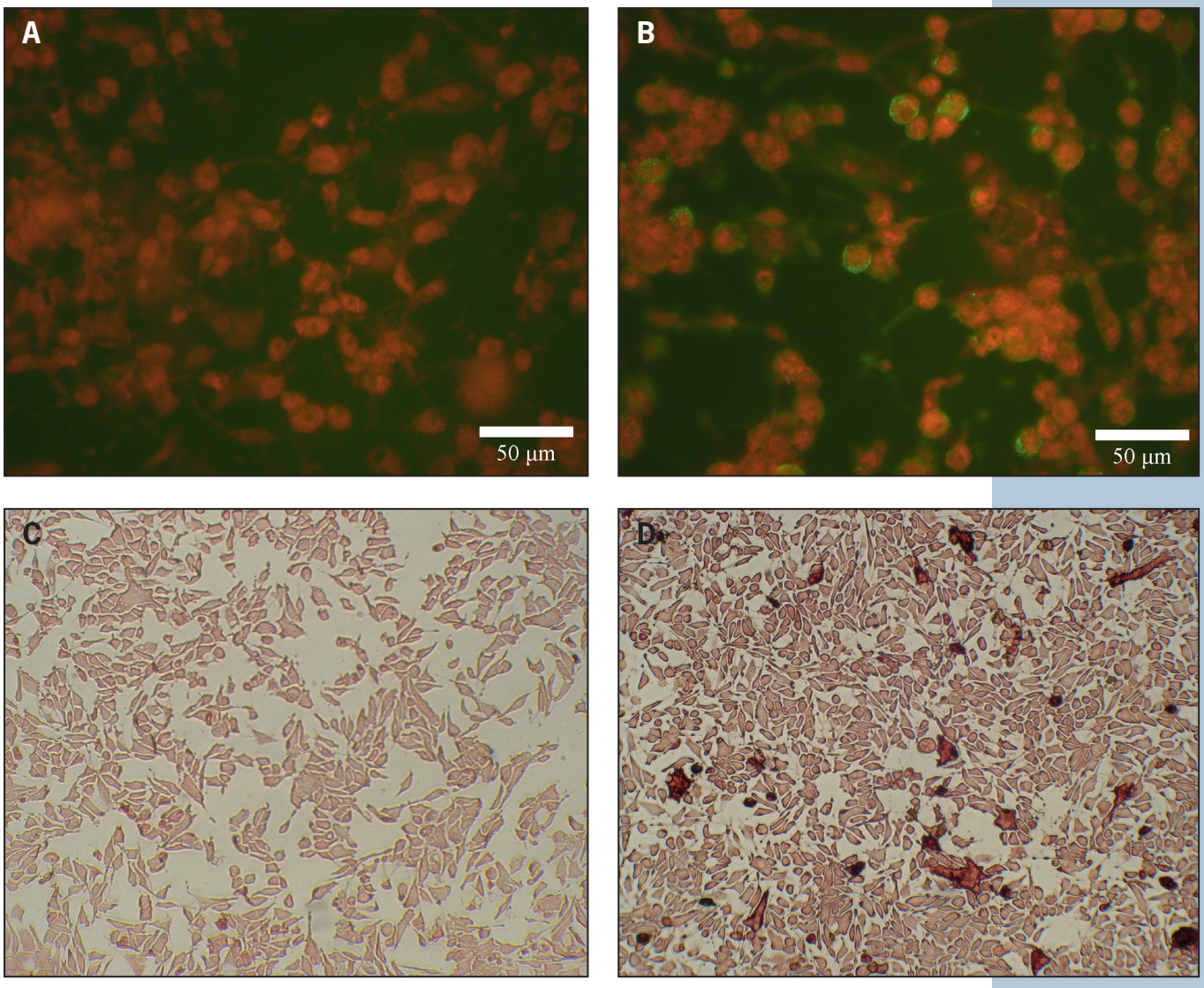
9.5.2. Virus typering

Electronenmicroscopie
Voor elektronenmicroscopie van cpe vertonende kweken worden de celresten gescheiden van het virus middels centrifugatie, en wordt het virus geconcentreerd door ultracentrifugatie. Vervolgens wordt het materiaal gekleurd met zware metalen die electronen weerkaatsen, en bekeken met een transmissie electronenmicroscoop (EM). Deze EM kan zover doorvergroten dat aanwezige zeer kleine virusdeeltjes zichtbaar gemaakt kunnen worden.

Voordeel van EM is dat in principe geen verdenking op een specifiek virus hoeft te bestaan. Nadeel is dat er grote hoeveelheden virus in het monster aanwezig moeten zijn en dat slechts bepaald kan worden welk type virus aanwezig is, en niet welke soort. EM wordt ingezet als de kweek cpe vertoont, maar uit de beschikbare typeringstesten geen virus naar voren komt.

Immunologische typeringstesten

Voor virus typering met immunologische testen wordt het virus aangekweekt op een gevoelige cellijn bij de optimale temperatuur voor het virus. Na incubatie met virus worden de cellen gefixeerd en worden de geïnfecteerde monolayers geïncubeerd met antilichamen gericht tegen het specifieke virus. Deze specifieke antilichamen hechten zich aan het virus. Vervolgens kunnen in een tweede stap deze antilichamen zichtbaar worden gemaakt met een gelabelde antilichamen specifiek gericht tegen het eerste antilichaam.
Er zijn twee typen labels die veelvuldig worden toegepast. Een flourescerend label, gebruikt



Figuur 9.5.2. (A) en (B) geven een beeld van een indirecte fluorescente antilichaam test (IFAT) van een cellijn geïnfecteerd met EVEX. In de controle (A) zijn alleen de kernen van de cellen zichtbaar (rood). In (B) is het virus in de cellen met specifieke antilichamen groen fluorescent aangekleurd. (C) en (D) geven een beeld van een indirecte peroxidase monolayer assay (IPMA) waarbij met AngHV-1 geïnfecteerde cellen rood zijn aangekleurd (D). In (C) de controle zijn geen cellen aangekleurd.

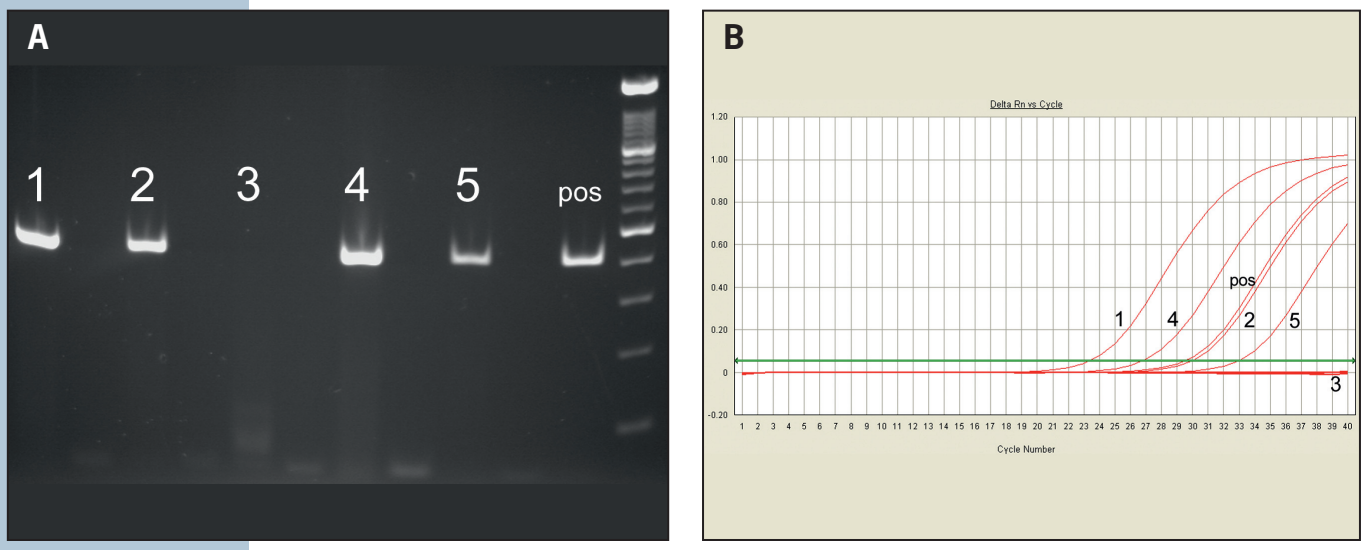
in de indirecte fluorescente antilichaam test (IFAT), welke bij aanstralen met laserlicht felgroen oplicht. En een substraat dat van een kleurloos chromogeen wordt omgezet in een rode neerslag, gebruikt in de indirecte peroxidase monolayer assay (IPMA).

9.6. Moleculaire diagnostiek

De laatste jaren hebben moleculaire technieken een enorme opmars gemaakt in zowel de humane als de veterinaire diagnostiek. De verschillende technieken zijn allemaal gericht op het aantonen van genetisch materiaal (DNA of RNA) van de ziekteverwekker in organen van de gastheer en/of het identificeren van een ziekteverwekker na isolatie. De meeste moleculaire testen zijn gebaseerd de zogenaamde polymerase ketting-reactie (PCR, van polymerase chain reaction).

PCR

Voorafgaand aan een PCR reactie wordt allereerst erfelijk materiaal (DNA of RNA) uit de doelorganen geïsoleerd. Vervolgens wordt de PCR reactie uitgevoerd. Een enzym (polymerase) in deze reactie zorgt hierbij voor het kopieren van het gewenste stukje van het erfelijk materiaal, het PCR-product. Door het doorlopen van een cyclisch proces van verschillende temperaturen is er een exponentiële vermenigvuldiging van dit specifieke stukje genetisch materiaal tot het genoeg is om het “zichtbaar” te maken. Bij een conventionele PCR kan de aan- of afwezigheid van een specifiek PCR-product van de juiste grootte aangetoond worden door het DNA in een gel elektroforese te kleuren en vervolgens zichtbaar te maken onder UV-licht. Bij moderne kwantitatieve PCR reacties wordt het PCR-product gedurende de PCR-reactie gelabeld met een fluorescente stof, en kan de hoeveelheid “real time” worden bepaald. Het PCR-product hoeft dan niet meer achteraf geanalyseerd te worden en er kan tevens (semi-)kwantitatief beoordeeld worden hoeveel van het specifieke genetisch materiaal er in het uitgangsmonster aanwezig was.
De meeste PCR-testen zijn ontwikkeld voor de detectie van één bepaalde ziekteverwekker. Daarnaast kunnen PCR-testen die daar specifiek voor ontwikkeld zijn ook ziekteverwekkers typeren en onderscheiden van nauwgerelateerde ziekteverwekkers. PCR-testen geven alleen

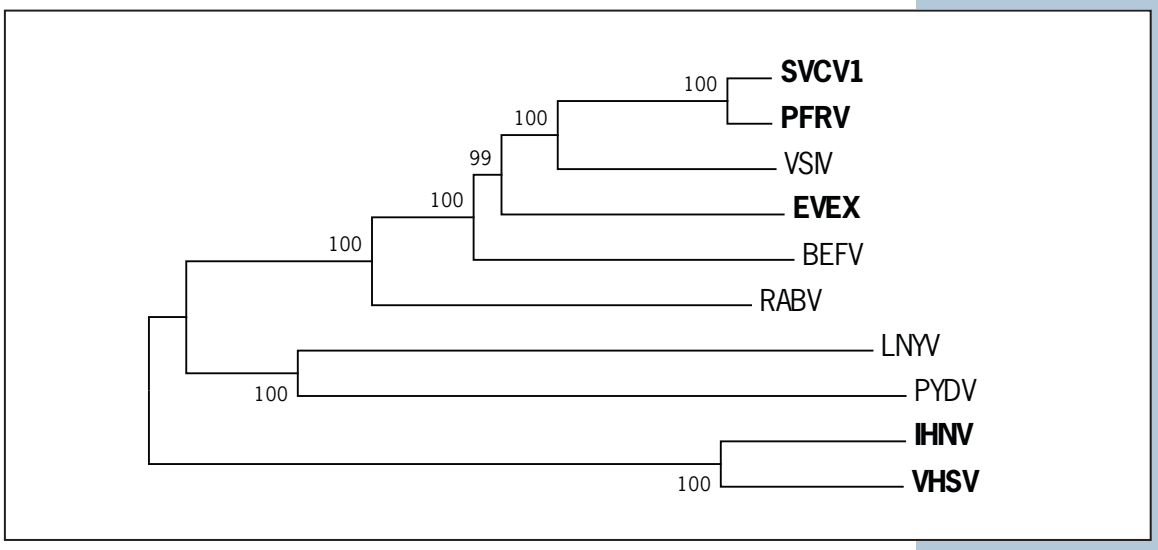


Figuur 9.6.1. Vijf weefsels van karper getest op aanwezigheid van KHV met conventionele PCR op gel (A) en curves van de kwantitatieve PCR (B). In nummers 1, 2, 4 en 5 is genetisch materiaal van het virus aanwezig. “pos” is de positieve controle.

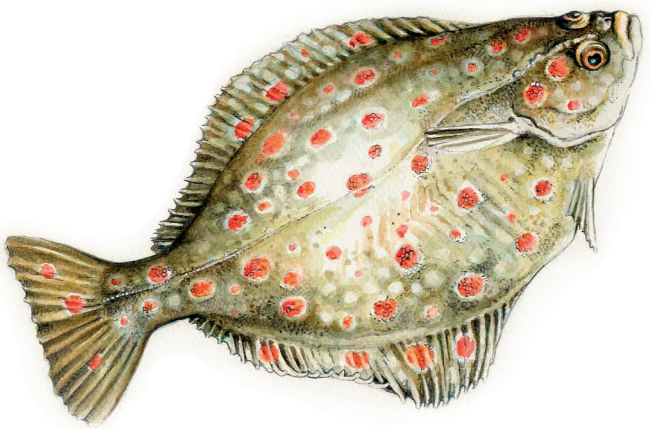
aan of er genetisch materiaal van de ziekteverwekker aanwezig is. Er wordt geen informatie verkregen of de aangetoonde ziekteverwekker nog infectieus is. Het voordeel van PCR is dat het een snelle, specifieke en zeer gevoelige methode is.

Sequencing

Bij de sequence techniek wordt met behulp van PCR een stuk genetisch materiaal van een ziekteverwekker vermenigvuldigd en vervolgens de exacte volgorde van de DNA of RNA sequentie bepaald. Aan de hand van deze sequentie kan een organisme worden getypeerd op soort, of kunnen zelfs binnen een soort verschillende stammen met elkaar worden vergeleken. Voor virussen en parasieten is dit alleen mogelijk als er al een indicatie is tot welke groep van soorten de ziekteverwekker behoort. Voor bacteriën wordt naar een stuk DNA gekeken (het 16S gen) dat in alle bacteriën aanwezig is. Aan de hand van de DNA sequentie, die per bacteriesoort verschilt, kan in bijna alle gevallen de bacterie geïdentificeerd worden.
In een aantal gevallen kan met behulp van sequencen ook het verloop van ziekte-uitbraken tussen bedrijven bestudeerd worden (moleculaire epidemiologie). Dit kan met name bij verschillende virussen waarbij constant kleine veranderingen (mutaties) in het genetisch materiaal optreden.



Figuur 9.6.2. Sequenties van bijvoorbeeld gerelateerde virussen kunnen met elkaar vergeleken worden en hieruit de verwantschap tussen deze virussen worden bepaald. Hierboven is een voorbeeld gegeven van de relaties van een aantal virussen uit de familie Rhabdoviridae waarbij de in dit boek behandelde rhabdovirussen in vet zijn weergegeven samen met een aantal type stammen. In deze zogenaamde fylogenetische boom zijn sequenties gebruikt van het polymerase gen van *Bovine ephemeral fever virus* (BEFV), *Eel virus European X* (**EVEX**), *Infectious hematopoietic necrosis virus* (**IHNV**), *Lettuce necrotic yellows virus* (LNYV), *Pike fry rhabdovirus* (**PFRV**), *Potato yellow dwarf virus* (PYDV), *Rabies virus* (RABV), *Spring viraemia of carp virus* (**SVCV**), *Vesicular stomatitis Indiana virus* (VSIV) en *Viral hemorrhagic septicemia virus* (**VHSV**)



Dankwoord 10

Dankwoord
Dit boek was niet tot stand gekomen zonder de hulp van velen. Allereerst willen we de afdeling AKV van het Ministerie EL&I danken voor de opdracht en het financieel mogelijk maken van deze uitgave. Daarnaast Uitgeverij GBU, Albert Brouwer van Visserijnieuws BV te Urk voor de toestemming om de reeks 'Uit de Ziekenboeg' artikelen - verschenen in het blad Aquacultuur - te gebruiken als basis voor de ziektebeschrijvingen.
In de loop der jaren zijn vele van de behandelde ziekteverwekkers uit vis en schelpdieren geïsoleerd door onze huidige medewerkers bij het visziektenlaboratorium, Ineke Roozenburg en Michal Voorbergen-Laarman en de oud-medewerkers Sonja Kerkhoff, Sonja Dijkstra, Imke Wijmenga, Rob Zwart, Peter van Tulden, Aart Davidse, Betty van Gelderen, Ton van Nieuwstadt, Françoise Keuzenkamp en Grytsje Wybenga. Door deze groep personen is veel informatie over de status van de in dit boek behandelde ziekteverwekkers in Nederland bekend geworden. Daarnaast kan de vis groep altijd rekenen op de ondersteuning en expertise van de collega's van histopathologie, voedingsmedia, het mycobacteriën-laboratorium en antibioticaresistentie, door wie aan vele diagnoses is meegewerkt. Peter Werkman willen we graag danken voor zijn bijdrage aan de hoofdstukken 1.4, 1.5 en 3. Ingeborg Engelsma willen we graag bedanken voor de hulp en tips bij de opmaak. Stein Mortensen willen we bedanken voor zijn toestemming om een aantal van zijn aquarellen in dit boek op te nemen die nu het begin van de hoofdstukken opsieren.

Verantwoording illustraties en foto's
Alle foto's en figuren zijn gemaakt door het CVI tenzij anders staat aangegeven. We zijn dank verschuldigd aan de onderstaande personen en instanties, die toestemming hebben gegeven om hun foto's of illustraties te gebruiken in deze uitgave.

Bootsma, R., figuren 4.1.5. B & C en figuur 4.3.8.

CEFAS (Weymouth, Verenigd Koninkrijk), figuur 4.1.5. A

Clipart ETC (University of South Florida, Verenigde Staten), figuren 3.4 A & B
Figuur 3.4. A is oorspronkelijk afkomstig uit: Cuppy, H A (1895) Beauties and Wonders of Land and Sea. Mast, Crowell & Kirkpatrick, Springfield, Ohio, USA.
Figuur 3.4. B is oorspronkelijk afkomstig uit: Morris, C (1918) Winston's Cumulative Loose-Leaf Encyclopedia. John C. Winston Company, Philadelphia, USA.

Elsner, Nikolaus (Universiteit Hamburg, Hamburg, Duitsland), figuren 6.3.9 A & B

Evans, Joyce (Agricultural Research Service, USDA, Chestertown, MD, VS), figuur 4.2.9. A & B

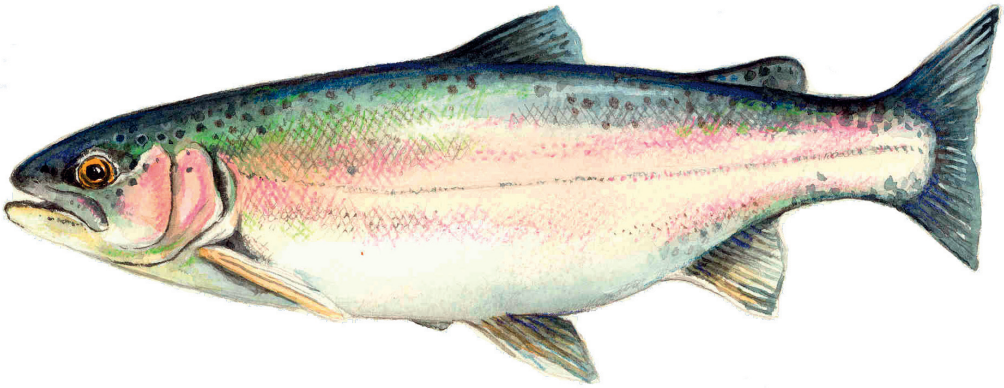
Hawke, John & Al Camus (Louisiana State University, Baton Rouge, LA, VS), figuur 4.3.4. A

Jansson, Eva (SVA, Uppsala, Zweden), figuur 4.3.4. B

Lightner, Don (University ofArizona, Tucson, AZ, VS), figuren 5.1.1 A & B, 5.1.2 A & B en 5.1.3 A & B

National Veterinary Institute (Oslo, Noorwegen), figuur 4.1.2.

Werkman, Peter, figuren 4.3.2. en 4.3.9.



Literatuur 11

Literatuur

Aalten M, Stenvers O, van Pelt W, Braks M, Schimmer B, Langelaar M (2009) Staat van zoönosen. RIVM rapport

Abollo E, Ramilo A, Casas SM, Comesaña P, Cao A, Carballal MJ, Villalba A (2008) First detection of the protozoan parasite *Bonamia exitiosa* (Haplosporidia) infecting flat oyster *Ostrea edulis* grown in European waters. Aquaculture 274:201-207

Amita K, Oe M, Matoyama H, Yamaguchi NY, Fukuda H (2002) A survey of koi herpesvirus and carp edema virus in color carp cultured in Niigata Prefecture, Japan. Fish Pathol 37:197-198

Ammayappan A, Vakharia VN (2009) Molecular characterization of the Great Lakes viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) isolate from USA. Virol J 6:171

Aslam F, Ng B (2010) "You never asked doc., I do fish". Clin Rheumatol 29:691-693

Audemard C, Le Roux F, Barnaud A, Collins C, Sautour B, Sauria P-G, de Montaudouin X, Coustau C, Combes C, Berthe F (2002) Needle in a haystack: involvement of the copepod *Paracartia grani* in the life-cycle of the oyster pathogen *Marteilia refringens*. Parasitol 124:315-323

Audicana MT, Kennedy MW (2008) *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. Clin Microbiol Rev 21:360-379

Austin B, Austin DA (1999) Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish. Springer Praxis Publishing, Chichester, UK

Austin B, Zhang XH (2006) *Vibrio harveyi*: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. Lett Appl Microbiol 43:119-124

Baiano JC, Barnes AC (2009) Towards control of *Streptococcus iniae*. Emerg Infect Dis 15:1891-1896

Bercovier H, Fishman Y, Nahary R, Sinai S, Zlotkin A, Eyngor M, Gilad O, Eldar A, Hedrick RP (2005) Cloning of the koi herpesvirus (KHV) gene encoding thymidine kinase and its use for a highly sensitive PCR based diagnosis. BMC Microbiol 5:13

Betts AM, Stone DM, Way K, Torhy C, Chilmonczyk S, Benmansour A, de Kinkelin P (2003) Emerging vesiculo-type virus infections of freshwater fishes in Europe. Dis Aquat Organ 57:201-212

Birkbeck TH, Bordevik M, Frøystad MK, Baklien A (2007) Identification of *Francisella* sp. from Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Chile. J Fish Dis 30:505-507

Birkbeck TH, Feist SW, Verner-Jeffreys DW (2011) *Francisella* infections in fish and shellfish. J Fish Dis 34:173-187

Blake S, Ma JY, Caporale DA, Jairath S, Nicholson BL (2001) Phylogenetic relationships of aquatic birnaviruses based on deduced amino acid sequences of genome segment A cDNA. Dis Aquat Organ 45:89-102

Bootsma R (1971) Hydrocephalus and red-disease in pike fry (*Esox lucius* L.). J Fish Biol 3:417-419

Bootsma R, Benders MLJM, Dijkshoorn NA, Zikken A (1971) Whirling disease in trout. Neth J Vet Sci 4:39-42

Bootsma R, de Kinkelin P, Le Berre M (1975) Transmission experiments with pike fry (*Esox lucius* L.) rhabdovirus. J Fish Biol 7:269-276

Bootsma R, Fijan N, Blommaert J (1977) Isolation and preliminary identification of the causative agent of carp erythrodermatitis. Veterinarski Archiv 47:291-302

Bootsma R, van Vorstenbosch CJAHV (1973) Detection of a bullet-shaped virus in kidney sections of pike fry (*Esox lucius* L.) with red-disease. Neth J Vet Sci 98:86-90

Bouree P, Paugam A, Petithory JC (1995) Anisakidosis: report of 25 cases and review of the literature. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 18:75-84

Bower SM (2001) Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: *Ostracoblabe implexa* (Shell Disease) of Oysters. Accessed 19 April 2002. http://www-sci.pac.dfo-mpo.gc.ca/sealane/aquac/pages/oioy.htm

Bower SM (2004) Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: Shell-boring Polychaetes of Oysters. Accessed 28 Jan 2011. http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/science/species-especes/shellfish-coquillages/diseases-maladies/pages/sbpoy-eng.htm

Bower SM, Goh B, Meyer GR, Carnegie RB, Gee A (2005) Epizootiology and detection of nocardiosis in oysters. In: Diseases in Asian Aquaculture V. Proc Fifth Symposium on Diseases in Asian Aquaculture. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, 633 p

Burreson EM, Ford SE (2004) A review of recent information on the Haplosporidia, with special reference to *Haplosporidium nelsoni* (MSX disease). Aquat Living Resour 17:499-517

Burreson EM, Stokes NA, Carnegie RB, Bishop MJ (2004) *Bonamia* sp. (Haplosporidia) Found in Nonnative Oysters *Crassostrea ariakensis* in Bogue Sound, North Carolina. J Aquat Anim Health 16:1–9

Carson J, Wilson T (2009) Yersiniosis in fish. Sub-Committee on Animal Health Laboratory Standards, Australian New Zealand Standard Diagnostic Procedures

Cawthorn RJ (2011) Diseases of American lobsters (*Homarus americanus)*: A review. J Invert Pathol 106:71-78

Chang PH, Kuo ST, Lai SH, Yang HS, Ting YY, Hsu CL, Chen HC (2005) Herpes-like virus infection causing mortality of cultured abalone *Haliotis diversicolor supertexta* in Taiwan. Dis Aquat Organ 65:23-27

Chen SN, Ueno Y, Kou GH (1982) A cell line derived from Japanese eel (*Anguilla japonica*) kidney. Proc Natl Sci Counc Repub China B 6:93-100

Cheung JP, Fung B, Wong SS, Ip WY (2010) Review article: *Mycobacterium marinum* infection of the hand and wrist. J Orthop Surg 18:98-103

Dannevig BH, Falk K, Namork E (1995) Isolation of the causal virus of infectious salmon anaemia (ISA) in a long-term cell line from Atlantic salmon head kidney. J Gen Virol 76:1353-1359

Davidse A, Haenen OLM, Dijkstra SG, van Nieuwstadt AP, van der Vorst TJK, Wagenaar F, Wellenberg GJ (1999) First isolation of herpesvirus of eel (Herpesvirus Anguillae) in diseased European eel (*Anguilla anguilla* L.) in Europe. Bull Eur Ass Fish Pathol 19:137-141

Davison AJ, Trus BL, Cheng N, Steven AC, Watson MS, Cunningham C, Le Deuff RM, Renault T (2005) A novel class of herpesvirus with bivalve hosts. J Gen Virol 86:41-53

De Montaudouin X, Thieltges DW, Gam M, Krakau M, Pina S, Bazairi H, Dabouineau L, Russell-Pinto F, Jensen KT (2009) Digenean trematode species in the cockle *Cerastoderma edule*: identification key and distribution along the north-eastern Atlantic shoreline. J Mar Biol Ass UK 89:543-556

Desclaux C, de Montaudouin X, Bachelet G (2002) Cockle emergence at the sediment surface: 'favourization' mechanism by digenean parasites? Dis Aquat Organ 52:137-149

Dijkstra A, van Ingen J, Lubbert PH, Haenen OL, Moller AV (2009) Fasciitis necroticans ten gevolge van een infectie met *Vibrio vulnificus* in een palingkwekerij. Ned Tijdschr Geneeskd 153:408-411

Dorny P, Praet N, Deckers N, Gabriel S (2009) Emerging food-borne parasites. Vet Parasitol 163:196-206

EFSA (2008) Aquatic species susceptible to diseases listed in Directive 2006/88/EC. The EFSA Journal 808:1-144

Ellis AE, Dear G, Stewart DJ (1983) Histopathology of 'Sekiten-byo' caused by *Pseudomonas anguilliseptica* in the European eel, *Anguilla anguilla* L., in Scotland. J Fish Dis 6:77-79

Elsner NO, Jacobsen S, Thieltges DW, Reise K (2010) Alien parasitic copepods in mussels and oysters of the Wadden Sea. Helgol Mar Res 1-9

Elston RA, Hasegawa H, Humphrey KL, Polyak IK, Häse CC (2008) Re-emergence of *Vibrio tubiashii* in bivalve shellfish aquaculture: severity, environmental drivers, geographic extent and management. Dis Aquat Organ 82:119-134

Engelsma MY, Kerkhoff S, Roozenburg I, Haenen OLM, Van Gool A, Sistermans W, Wijnhoven S, Hummel H (2010) Epidemiology of *Bonamia ostreae* infecting European flat oysters (*Ostrea edulis*) from Lake Grevelingen, The Netherlands. Mar Ecol Prog Ser 409:131-142

Engelsma MY, Roozenburg I, Joly JP (2008) First isolation of *Nocardia crassostreae* from Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Europe. Dis Aquat Organ 80:229-234

Evans JJ, Klesius PH, Pasnik DJ, Bohnsack JF (2009) Human *Streptococcus agalactiae* isolate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Emerg Infect Dis 15:774-776

Evans JJ, Klesius PH, Shoemaker CA (2006) An overview of *Streptococcus* in warmwater fish. Aquaculture Health Int 7:10-14

Ewing WH, Ross AJ, Brenner DJ, R FG (1978) *Yersinia ruckeri* sp. nov., the redmouth (RM) bacterium. Int J Syst Evol Microbiol 28:37-44
Farley CA, Banfield WG, Kasnic GJ, Foster WS (1972) Oyster herpes-type virus. Science 178:759-760
Fijan N, Petrinec Z (1973) Mortality in a pond caused by carp erythrodermatitis. Riv It Piscic Ittiop 8:45-52
Fijan N, Petrinec Z, Sulmanovic D, Zwillenberg LO (1971) Isolation of the viral causative agent from the acute form of infectious dropsy of carp. Vet Arhiv 41:125-138
Franssen FFJ, Van der Giessen JWB (2009) Parasitologisch onderzoek bij vissen bestemd voor consumptie. briefrapport 330351001. RIVM
Friedman CS, Beaman BL, Chun J, Goodfellow M, Gee A, Hedrick RP (1998) *Nocardia crassostreae* sp. nov., the causal agent of nocardiosis in Pacific oysters. Int J Syst Bacteriol 48:237-246
Friedman CS, Hedrick RP (1991) Pacific oyster nocardiosis: isolation of the bacterium and induction of laboratory infections. J Invertebr Pathol 57:109-120
Garnier M, Labreuche Y, Garcia C, Robert M, Nicolas JL (2007) Evidence for the involvement of pathogenic bacteria in summer mortalities of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Microb Ecol 53:187-196
Gauthier DT, Rhodes MW (2009) Mycobacteriosis in fishes: A review. Veterinary Journal 180:33-47
Haenen O, Davidse A (2001) First isolation and pathogenicity studies with *Pseudomonas anguilliseptica* from diseased European eel *Anguilla anguilla* (L.) in The Netherlands. Aquaculture 196:27-36
Haenen OLM, Bool PH (2005) Vis- en schelpdierziekten. In: Verhoef P (ed) 'Strenge wetenschappelijkheid en practische zin' Een eeuw Nederlands centraal veterinair instituut 1904-2004. Erasmus Publishing, Rotterdam
Haenen OLM, Davidse A (1993) Comparative pathogenicity of two strains of pike fry rhabdovirus and spring viremia of carp virus for young roach, common carp, grass carp and rainbow trout. Dis Aquat Org 15:87-92
Haenen OLM, Dijkstra SG, Tulden PW, Davidse A, van Nieuwstadt AP, Wagenaar F, Wellenberg GJ (2002) Herpesvirus anguillae (HVA) isolations from disease outbreaks in cultured European eel, *Anguilla anguilla* in the Netherlands since 1996. Bull Eur Ass Fish Pathol 22:247-257
Haenen OLM, Lehmann J, Engelsma MY, Stürenberg F-J, Roozenburg I, Kerkhoff S, Klein Breteler J (2010) The health status of European silver eels, *Anguilla anguilla*, in the Dutch River Rhine Watershed and Lake IJsselmeer. Aquaculture 309:15-24
Haenen OLM, Way K, Bergmann SM, Ariel E (2004) The emergence of Koi herpesvirus and its significance to European aquaculture. Bull Eur Ass Fish Pathol 24:293-307
Hedrick RP, Gilad O, Yun S, Spangenberg JV, Marty GD, Nordhausen RW, Kebus MJ, Bercovier H, Eldar A (2000) A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. J Aquat Anim Health 12:44-57
Hill BJ, Williams RF, Smale CJ, Underwood BO, Brown F (1980) Physicochemical and serological characterization of two rhabdoviruses isolated from eels. Intervirology 14:208-212
Hill KM, Carnegie RB, Aloui-Bejaoui N, El Gharsalli R, White DM, Stokes NA, Burreson EM (2010) Observation of a *Bonamia* sp. infecting the oyster *Ostrea stentina* in Tunisia, and a consideration of its phylogenetic affinities. J Invertebr Pathol 103:179-185
Hine PM, Cochennec-Laureau N, Berthe FC (2001) *Bonamia exitiosus* n. sp. (Haplosporidia) infecting flat oysters *Ostrea chilensis* in New Zealand. Dis Aquat Organ 47:63-72
Hochwimmer G, Tober R, Bibars-Reiter R, Licek E, Steinborn R (2009) Identification of two GH18 chitinase family genes and their use as targets for detection of the crayfish-plague oomycete *Aphanomyces astaci*. BMC Microbiology 9:184
Hyatt AD, Gould AR, Zupanovic Z, Cunningham AA, Hengstberger S, Whittington RJ, Kattenbelt J, Coupar BEH (2000) Comparative studies of piscine and amphibian iridoviruses Arch Virol 145:301-331
Imai T, Mori K, Sugawara Y, Tamate H, Oizimu J, Itikawa O (1968) Studies on the mass mortality of oysters in Matsushima Bay VII. Pathogenic investigation. Tohoku J Agri Res 19:250-265
Inglis V, Roberts RJ, Bromage NR (1993) Bacterial diseases of fish, Blackwell Science Ltd, Oxford, UK

Jacobs JM, Stine CB, Baya AM, Kent ML (2009) A review of mycobacteriosis in marine fish. J Fish Dis 32:119-130

Janda JM, Abbott SL (2010) The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. Clin Microbiol Rev 23:35-73

Jeffery KR, Stone D, Feist SW, Verner-Jeffreys DW (2010) An outbreak of disease caused by *Francisella* sp. in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* at a recirculation fish farm in the UK. Dis Aquatic Organ 91:161-165

Jensen MH (1965) Research on the virus of Egtved disease. Ann N Y Acad Sci 126:422-426

Keiser J, Utzinger J (2009) Food-borne trematodiases. Clin Microbiol Rev 22:466-483

Kinne O, Lauckner G (1983) Diseases of Marine Animals – Volume II: Introduction, Bivalvia to Scaphopoda. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Germany

Korringa P (1968) On the ecology and distribution of the parasitic copepod *Mytilicola intestinalis* Steuer. Bijdragen tot de Dierkunde 38:47-57

Labreuche Y, Le Roux F, Henry J, Zatylny C, Huvet A, Lambert C, Soudant P, Mazel D, Nicolas JL (2010) *Vibrio aestuarianus* zinc metalloprotease causes lethality in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and impairs the host cellular immune defenses. Fish Shellfish Immunol 29:753-758

Lima dos Santos CAM, Howgate P (2011) Fishborne zoonotic parasites and aquaculture: a review. Aquaculture 318:253-261

Longshaw M (2011) Diseases of crayfish: A review. Journal of Invertebrate Pathology 106:54-70

Martin-Carnahan A, Joseph SW (2005) Aeromonadaceae. In: Garrity GM (ed) Bergey's manual of systematic bacteriology, Book 2. Springer-Verlag, New York

Matejusova I, McKay P, McBeath AJ, Collet B, Snow M (2008) Development of a sensitive and controlled real-time RT-PCR assay for viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) in marine salmonid aquaculture. Dis Aquat Organ 80:137-144

Mauel MJ, Soto E, Moralis JA, Hawke J (2007) A Piscirickettsiosis-like syndrome in cultured Nile tilapia in Latin America with *Francisella* spp. as the pathogenic agent. J Aquat Animal Health 19:27-34

Mjaaland S, Hungnes O, Teig A, Dannevig BH, Thorud K, Rimstad E (2002) Polymorphism in the infectious salmon anemia virus hemagglutinin gene: importance and possible implications for evolution and ecology of infectious salmon anemia disease. Virology 304:379-391

Montes M, Farto R, Pérez MJ, Armada SP, Nieto TP (2006) Genotypic diversity of *Vibrio* isolates associated with turbot (*Scophthalmus maximus*) culture. Res Microbiol 157:487-495

Mortensen S, Meeren T, Fosshagen A, Hernar I, Harkestad L, Torkildsen L, Bergh Ø (2000) Mortality of scallop spat in cultivation, infested with tube dwelling bristle worms, *Polydora* sp. Aquaculture International 8:267-271

Munday BL, Kwang J, Moody N (2002) Betanodavirus infections of teleost fish: a review. J Fish Dis 25:127-142

Muroga K (1978) Red spot disease of eels. Fish Pathol 13:35-39

Narcisi V, Arzul I, Cargini D, Mosca F, Calzetta A, Traversa D, Robert M, Joly J-P, Chollet B, Renault T, Tiscar PG (2010) Detection of *Bonamia ostreae* and *B. exitiosa* (Haplosporidia) in *Ostrea edulis* from the Adriatic Sea (Italy). Dis Aquat Organ 89:79-85

Niewold FJJ (2003) Kansen voor de Europese rivierkreeft *Astacus astacus* in Nederland. Alterra, Wageningen

Nylund A, Devold M, Plarre H, Isdal E, Aarseth M (2003) Emergence and maintenance of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Europe: a new hypothesis. Dis Aquat Organ 56:11-24

Nylund A, Ottem KF, Watanabe K, Karlsbakk E, Krossøy B (2006) *Francisella* sp. (Family *Francisellaceae*) causing mortality in Norwegian cod (*Gadus morhua*) farming. Arch Microbiol 185:383-392

OIE (2009) Manual of diagnostic tests for aquatic animals. World Organization for Animal Health, Paris

Paillard C, Le Roux F, Borrego JJ (2004) Bacterial disease in marine bivalves, a review of recent studies: Trends and evolution. Aquat Living Resour 17:477-498

Pang HN, Lee JY, Puhaindran ME, Tan SH, Tan AB, Yong FC (2007) *Mycobacterium marinum* as a cause of chronic granulomatous tenosynovitis in the hand. J Infection 54:584-588

Pepin JF, Riou A, Renault T (2008) Rapid and sensitive detection of ostreid herpesvirus 1 in oyster samples by real-time PCR. J Virol Methods 149:269-276

Petrini B (2006) *Mycobacterium marinum*: ubiquitous agent of waterborne granulomatous skin infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 25:609-613

Pichot Y, Comps M, Tigé G, Grizel H, Rabouin MA (1980) Recherches sur *Bonamia ostreae* gen. n., sp. n., parasiste nouveau de l'huître plate *Ostrea edulis* L. Rev Trav Inst Pêches Marit 43:131-140

Rijsewijk F, Pritz-Verschuren S, Kerkhoff S, Botter A, Willemsen M, van Nieuwstadt T, Haenen O (2005) Development of a polymerase chain reaction for the detection of Anguillid herpesvirus DNA in eels based on the herpesvirus DNA polymerase gene. J Virol Methods 124:87-94

Ronen A, Perelberg A, Abramowitz J, Hutoran M, Tinman S, Bejerano I, Steinitz M, Kotler M (2003) Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. Vaccine 21:4677-4684

Sano M, Fukuda H, Sano T (1990) Isolation and characterization of a new herpesvirus from eel. In: Perkins FO, Cheng TC (eds) Pathology in Marine Sciences. Academic Press, San Diego

Sano N, Moriwake M, Sano T (1993) *Herpesvirus cyprini*: thermal effects on pathogenicity and oncogenicity. Fish Path 28:171-175

Sano T (1976) Viral diseases of cultured fishes in Japan. Fish Pathol 10:221-226

Sano T, Morita N, Shima N, Akimoto M (1991) *Herpesvirus cyprini*: lethality and oncogenicity. J Fish Dis 14:533-543

Saulnier D, De Decker S, Haffner P (2009) Real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Vibrio aestuarianus* in oyster and seawater: a useful tool for epidemiologic studies. J Microbiol Methods 77:191-197

Segarra A, Pépin JF, Arzul I, Morga B, Faury N, Renault T (2010) Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. Virus Res 153:92-99

Snieszko SF (1974) The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. J Fish Biol 6:197-208

Stone DM, Ahne W, Denham KL, Dixon PF, Liu CT, Sheppard AM, Taylor GR, Way K (2003) Nucleotide sequence analysis of the glycoprotein gene of putative spring viraemia of carp virus and pike fry rhabdovirus isolates reveals four genogroups. Dis Aquat Organ 53:203-210

Tan J, Lancaster M, Hyatt A, van Driel R, Wong F, Warner S (2008) Purification of a herpes-like virus from abalone (*Haliotis* spp.) with ganglioneuritis and detection by transmission electron microscopy. J Virol Methods 149:338-341

Thieltges DW (2006) Parasite induced summer mortality in the cockle *Cerastoderma edule* by the trematode *Gymnophallus choledochus*. Hydrobiologia 559:455-461

Thorud K, Djupvik HO (1988) Infectious anaemia in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). Bull Eur Ass Fish Pathol 8:109-111

Tobback E, Decostere A, Hermans K, Haesebrouck F, Chiers K (2007) *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. J Fish Dis 30:257-268

Van Banning P (1977) *Minchinia armoricana* sp. nov. (Haplosporida), a parasite of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. J Invertebr Pathol 30:199-206

Van Banning P (1985) Control of *Bonamia* in Dutch oyster culture. In: Ellis AE (ed) Fish Shellfish Pathology. Academic Press, London

Van Banning P (1991) Observations on bonamiasis in the stock of the European flat oyster, *Ostrea edulis*, in the Netherlands, with special reference to the recent developments in Lake Grevelingen. Aquaculture 93:205-211

van Banning P, Haenen OLM (1990) Effects of the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* in wild and farmed eel *Anguilla anguilla*. In: Perkins FO, Cheng TC (eds) Pathology in Marine Science. Academic Press inc, New York

van Beurden SJ, Bossers A, Voorbergen-Laarman MH, Haenen OLM, Peters S, Abma-Henkens MH, Peeters BP, Rottier PJ, Engelsma MY (2010) Complete genome sequence and taxonomic position of anguillid herpesvirus 1. J Gen Virol 91

van Beurden SJ, Voorbergen-Laarman MA, Roozenburg I, Boerlage AS, Haenen OLM, Engelsma MY (2011) Development and validation of a two-step real-time RT-PCR for the detection of eel virus European X in European eel, *Anguilla anguilla*. J Virol Methods 171:352-359

Van den Brink A, Troost K, Engelsma M, Ysebaert T (2010) Kokkelsterfte in de Oosterschelde, juni 2010. IMARES-rapport, Book C101/10. IMARES, Yerseke

Veenstra J, Rietra PJGM, Coster JM, Stoutenbeek CP, ter Laak EA, Haenen OLM, W dGHH, Dirks-Go S (1993) Human *Vibrio vulnificus* infections and environmental isolates in the Netherlands. Aquac Fish Managem 24:119-122

Vigneron V, Solliec G, Montanie H, Renault T (2004) Detection of Ostreid Herpesvirus 1 (OsHV-1) DNA in seawater by PCR: influence of water parameters in bioassays. Dis Aquat Organ 62:35-44

Wakabayashi H, Egusa S (1972) Characteristics of a *Pseudomonas* sp. from an epizootic of pond-cultured eels (*Anguilla japonica*). Bull Jap Soc Sci Fisheries 38:577-587

Webb SC, Fidler A, Renault T (2007) Primers for PCR-based detection of ostreid herpes virus-1 (OsHV-1): Application in a survey of New Zealand molluscs. Aquaculture 272:126-139

Wolf K (1966) Infectious Pancreatic Necrosis (IPN) of salmonid fishes. In: Service FaW (ed), Book FDL-1, Washington DC, United States

Wolf K (1988) Fish viruses and fish viral diseases, Vol. Cornell University Press, Ithaca, New York

Zhang CX, Suzuki S (2004) Aquabirnaviruses isolated from marine organisms form a distinct genogroup from other aquabirnaviruses. J Fish Dis 27:633-643

Bijlagen 12

12.1. Tabel gevoelige soorten en ziekten

Hieronder zijn in tabel vorm weergegeven de voornaamste vis- en schelpdiersoorten in de Nederlandse aquacultuur en de ziekteverwekkers waarvoor de betreffende soort gevoelig is welke behandeld zijn in de hoofdstukken 4 en 6 van dit boek.

Gastheer	Ziekteverwekker	
Karper inclusief koi	Virus	SVCV, KHV
	Bacterie	*Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Aeromonas salmonicida atypisch, Flavobacterium columnaris* (columnaris ziekte), *Mycobacterium marinum* en *Mycobacterium* species
	Parasiet	*Trichodina* species, *Chilodonella* species, *Ichthyophthirius multifiliis* (witte stip), *Saprolegnia* species, *Hexamita* species, *Ichthyobodo necator* (costia), *Trypanosoma species* (slaapziekte), *Myxidium* species, *Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* species, *Diphyllobothrium* species en *Ligula intestinalis*, *Argulus* species (visluis), *Ergasilus* en *Lernaea* species, *Aphanomyces invadans* (EUS)
Paling	Virus	EVEX, EVE, HVA (AngHV-1)
	Bacterie	*Aeromonas hydrophila en Aeromonas sobria, Aeromonas salmonicida* atypisch, *Vibrio* species, *Pseudomonas anguiliseptica, Edwardsiella tarda, Flavobacterium columnare* (columnaris ziekte), *Mycobacterium marinum* en *Mycobacterium* species
	Parasiet	*Trichodina* species, *Chilodonella* species, *Ichthyophthirius multifiliis* (witte stip), *Saprolegnia* species, *Hexamita* species, *Ichthyobodo necator (Costia), Trypanosoma* species (slaapziekte), *Myxidium* species, *(Pseudo)Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* species, *Diphyllobothrium* species, *Anguillicoloides crassus*
Forel	Virus	ISAV, VHSV, IHNV, IPNV, EHNV
	Bacterie	*Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Aeromonas salmonicida salmonicida* (furunculose), *Yersinia ruckeri (enteric redmouth disease), Flavobacterium psychrophilum* (cold water disease)
	Parasiet	*Trichodina* species, *Chilodonella* species, *Ichthyophthirius multifiliis* (witte stip), *Saprolegnia* species, *Hexamita* species, *Ichthyobodo necator* (Costia), *Trypanosoma* species (slaapziekte), *Myxobolus cerebralis* (draaiziekte), *Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* species, *Diphyllobothrium* species en *Ligula intestinalis*, *Argulus* species (visluis), *Ergasilus* en *Lernaea* species, *Aphanomyces invadans* (EUS)
Meerval	Bacterie	*Aeromonas hydrophila* en *Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Streptococcus iniae, Streptoccocus agalactiae, Flavobacterium columnare* (columnaris ziekte), *Mycobacterium marinum* en *Mycobacterium* species
	Parasiet	*Trichodina* species, *Chilodonella* species, *Ichthyophthirius multifiliis* (witte stip), *Saprolegnia* species, *Hexamita* species, *Ichthyobodo* necator (Costia), *Trypanosoma species* (slaapziekte), *Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* species, *Aphanomyces invadans* (EUS)

Tilapia	Bacterie	*Aeromonas hydrophila en Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Francisella noatensis, Streptococcus iniae, Streptoccocus agalactiae, Flavobacterium columnare* (columnaris ziekte), *Mycobacterium marinum* en *Mycobacterium* species
	Parasiet	*Trichodina* species, *Chilodonella* species, *Ichthyophthirius multifiliis* (witte stip), *Saprolegnia* species, *Hexamita* species, *Ichthyobodo necator* (Costia), *Trypanosoma* species (slaapziekte), *Myxidium* species, *Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* species, *Aphanomyces invadans* (EUS)
Tong	Virus	VER/VNN (nodavirus), IPNV
	Bacterie	*Vibrio* species, *Edwardsiella tarda, Flavobacterium species* (mariene soorten), *Mycobacterium marinum* en *Mycobacterium* species
	Parasiet	*Trichodina* species, *Chilodonella* species, *Ichthyophthirius multifiliis* (witte stip), *Cryptocaryon irritans, Hexamita* species, *Ichthyobodo necator (Costia), Trypanosoma* species (slaapziekte), *Myxidium* species, *Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* species, *Diphyllobothrium* species
Tarbot	Virus	VER/VNN (nodavirus), VHSV, IPNV
	Bacterie	*Vibrio* species, *Edwardsiella tarda, Flavobacterium* species (mariene soorten), *Mycobacterium marinum* en *Mycobacterium* species
	Parasiet	*Trichodina* species, *Chilodonella* species, *Ichthyophthirius multifiliis* (witte stip), *Cryptocaryon irritans, Hexamita* species, *Ichthyobodo necator (Costia), Trypanosoma* species (slaapziekte), *Myxidium* species, *Dactylogyrus* en *Gyrodactylus* species, *Diphyllobothrium* species
Platte oester	Bacterie	*Vibrio* species, *Nocardia crassostreae*
	Parasiet	*Trichodina* species, *Bonamia ostreae*, *Bonamia exitiosa*, *Haplosporidium armoricanum*, *Marteilia refringens*, *Polydora* species
	Schimmel	*Ostracoblabe implexa*
Japanse oester	Virus	Oester herpesvirus (OsHV-1)
	Bacterie	*Vibrio* species, *Nocardia crassostreae*
	Parasiet	*Trichodina* species, *Perkinsus marinus*, *Mikrocytos mackini*, *Polydora* species, *Mytilicola orientalis*
	Schimmel	*Ostracoblabe implexa*
Mossel	Bacterie	*Vibrio* species
	Parasiet	*Trichodina* species, *Marteilia refringens*, *Mytilicola intestinalis*

12.2. Instanties en adressen

Aquacultuur en Visserij groep, Wageningen Universiteit

Bezoekadres
Zodiac Marijkeweg 40
6709 PG Wageningen
T. 0317 48 3307
E. office.AFI@wur.nl
www.afi.wur.nl
Bezoek adres per 2012: De Elst 1, 6708 WD Wageningen

Postadres
Postbus 338
6700 AH Wageningen

Centraal Veterinair Instituut

Vis-, schaaldier- en schelpdierziekten

Bezoekadres
Edelhertweg 15
8219 PH Lelystad
T. 0320 238 800
E. info.cvi@wur.nl
www.cvi.wur.nl
Diagnostiek visziekten: 0320 238373 / 0320 238352

Postadres
Postbus 65
8200 AB Lelystad

Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht

Bezoekadres
Androclusgebouw
Yalelaan 1, De Uithof
3584 CL Utrecht
T. 030 253 90 00
www.uu.nl

Postadres
Faculteit Diergeneeskunde
Postbus 80163
3508 TD Utrecht

IMARES

Vestiging IJmuiden

Bezoekadres
Haringkade 1
1976 CP IJmuiden
T: 0317 - 480900

Postadres
Postbus 68
1970 AB IJmuiden

Vestiging Yerseke

Bezoekadres
Korringaweg 5
4401 NT Yerseke
T. 0317 480900
E. imares@wur.nl
www.imares.wur.nl

Postadres
Postbus 77
4400 AB Yerseke

Nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit (nVWA)
Hoofdkantoor nVWA

Bezoekadres	*Postadres*
Catharijnesingel 59	Postbus 43006
3511 GG Utrecht	3540 AA Utrecht

T. 088 2233333
E. info@nVWA.nl
www.nVWA.nl
Meldkamer: 0800-0488
Meldpunt dierziekten: 045- 546 31 88

Productschap Vis
Visserijcentrum

Bezoekadres	*Postadres*
Treubstraat 17	Postbus 72
2288 EH Rijswijk	2280 AB Rijswijk

T. 070 3369600

Mosselkantoor

Bezoekadres	*Postadres*
Dregweg 2	Postbus 133
4401 LD Yerseke	4400 AC Yerseke

T. 0113 579050
E. info@pvis.nl
www.pvis.nl

RIVM

Bezoekadres	*Postadres*
Antonie van Leeuwenhoeklaan 9	Postbus 1
3721 MA Bilthoven	3720 BA Bilthoven

T. 030 2749111
E. info@rivm.nl
www.rivm.nl

Sportvisserij Nederland

Bezoekadres	*Postadres*
Lijenseweg 115	Postbus 162
3721 BC Bilthoven	3720 AD Bilthoven

T. 030 6058400
E. info@sportvisserijnederland.nl
www.sportvisserijnederland.nl

Werkman, Peter
Dierenarts te Leusden
T. 06 51266440

12.3. Logboek

LOGBOEK

Bedrijf

Naam:_____ Vissoort:_____

Adres:_____

Telefoon:_____

Water: zoet/zout/brak

Bedrijfsleider_____

Telefoon:_____

Dierenarts

Naam:_____

Adres:_____

Telefoon:_____

Probleem

Datum: _____-_____-_____ Enkele/veel/alle* vissen aangetast

In de bassin nummers:_____

Symptomen:_____

_____

_____

Percentage vis ziek: _____ Percentage vis dood: _____

Gewicht per vis: _____ gram/kilogram*

(Voorlopige) diagnose: _____

Datum vis opgestuurd: _____-_____-_____ naar: CVI/dierenarts*

Datum uitslag: _____-_____-_____

Uitslag:_____Uitslagnummer:_____

Behandeling

Datum: _____-_____-_____

Medicament merknaam:_____Reg NL nr._____

Werkzame stof:_____

Concentratie werkzame stof:_____

- Dosering in voer: _____ mg/kg vis _____ dagen

Hoeveelheid medicament afgeleverd: _____ mg/g/kg* voor _____ kg vis*

- Dosering in water: _____ ml/l water _____uur/dagen

Hoeveelheid medicament afgeleverd: _____ ml/l/mg/g* voor _____ liter water*

Watertemperatuur_____°C Wachttermijn_____dagen

Extra advies: extra beluchten / extra zuurstof / biofilter kortsluiten / weinig voeren / water verversen*

Handtekening dierenarts: _____

Controle

Datum controle: _____-_____-_____

Effect behandeling: goed / matig / slecht* _____

12.4. Inzendformulier diagnostiek CVI Lelystad

CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR

Edelhertweg 15, 8219 PH, Lelystad, Tel.: +31 (0) 320 238302, Fax: +31 (0) 320 238307, Internet: www.cvi.wur.nl, Email: dsu.cvi@wur.nl

In te vullen door het CVI:

Uitpakken	Registratie	Controle registratie	Opdrachtnummer

Inzendformulier Vis- en Schelpdierziekten

□ Uitslag in het Engels i.p.v. in het Nederlands

Inzendformulier zo volledig mogelijk invullen!
(Voor acceptatiebeleid, zie onze website : www.cvi.wur.nl)

Inzender\eigenaar:		Dierenarts\VWA kring:	
Naam*		Naam	
Adres*		Adres	
Postcode*		Postcode	
Woonplaats*		Woonplaats	
Telefoon*		Telefoon	
Fax		Fax	
Email		Email	

Factuur naar* : □ Inzender / eigenaar □ Dierenarts / VWA-kring

	Soort		Status
□	Vis, nl. :	□	Levend
□	Schaal/Schelpdieren, nl. :	□	Vers (dood)
□	Overig :	□	Bevroren
	1. 2. 3.	□	Overig, nl. :

Uw kenmerk van inzending*:
(Dit kenmerk wordt vermeld op zowel het uitslagrapport als de factuur, max. 20 karakters)

Gevraagd onderzoek :

□	Sectie en parasitologisch onderzoek	□	Algemeen bacteriologisch onderzoek
□	Algemeen virologisch onderzoek	□	Laat lab vervolgonderzoek bepalen a.d.h.v. sectie
□	Koi Herpes Virus PCR	□	Algemeen histologisch onderzoek
□	Overig, nl:		

Datum inzending*		Datum monstername*	
Naam invuller*		Handtekening*	

* Verplicht in te vullen

N.B. Eventuele afwijkingen n.a.v. de uitslag gaarne melden binnen 2 weken na ontvangst van de uitslag

[1] Doorhalen wat niet van toepassing is

CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR
Edelhertweg 15, 8219 PH, Lelystad, Tel.: +31 (0) 320 238302, Fax: +31 (0) 320 238307, Internet: www.cvi.wur.nl, Email: dsu.cvi@wur.nl

Uw kenmerk van inzending*: _____

Anamneseformulier Vis- en schelpdierziekten

Anamnese / Opmerkingen :	
Datum eerste problemen :	
Eetlust :	
Behandeling tot heden :	
Soort water: Zoetwater / Brakwater / Zoutwater [1]	Watertemperatuur : °C
Waterkwaliteitsproblemen gehad : Ja/Nee [1] Zo ja, wanneer :	
Technische problemen gehad : Ja/Nee [1] Zo ja, wanneer :	
Zijn er recentelijk wijzigingen in het systeem aangebracht : Ja/Nee [1] Zo ja, welke :	
Sterfte % tot nu toe :	
Herkomst van de partij vis :	
Sinds wanneer zijn de vissen / schelpdieren op het bedrijf :	
Zijn de dieren gemengd met andere partijen : Ja / Nee [1]	

In te vullen door Visziektenlab:

	Onderzoek	Code	Aantal
☐	Sectie vis of schelpdieren, incl. parasitologisch onderzoek	VIS01-07	
☐	Algemeen bacteriologisch onderzoek	VIS02-07	
☐	Algemeen histologisch onderzoek	VIS04-07	
☐	Algemeen virologisch onderzoek	VIS03-07	
☐	Koi Herpes Virus PCR	VIS05-07	
☐	Certificering		

Uitslag in LIMS	Validatie Word verslag	Validatie LIMS

* Verplicht in te vullen

N.B. Eventuele afwijkingen n.a.v. de uitslag gaarne melden binnen 2 weken na ontvangst van de uitslag

[1] Doorhalen wat niet van toepassing is

12.5. Sectieformulier CVI Lelystad

CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR

SECTIEFORMULIER VISZIEKTEN

Datum:____-____-_____ LIMS nummer:_____

INZENDER:_____te(plaats)_____

EIGENAAR:_____te(plaats)_____

VISSOORT:_____aantal_____levend/vers/bevroren

broed/juv/adult_____ uit nr. systeem/bak_____lengte/gewicht_____cm/gram

ANAMNESE:_____

_____

BEHANDELING TOT HEDEN: _____

1. UITWENDIG ONDERZOEK:

Zwemgedrag: sloom/apathisch/aan-oppervlak/onrustig/spiraalvormig/tuimelen/g.a.#*/_____

Kleur: hele lijf donker/donkere staart/bleek/g.a.*/_____

Huid: beschadiging/witte aangroeisels/laesies/dof/puntbloed./parasieten/g.a.*/_____

Vorm: opgezette buik/mager/rug krom/kieuwdeksel krom/schubbenruigheid/g.a.*/_____

Ogen: uitpuilend/bloedingen in oog/dof/wittige lens/g.a.*/_____

V**innen**: rafelig/vinrot/bloedinkjes/misvormd/g.a.*/_____

Andere opvallende zaken:_____

2. HUIDPREPARAAT:

Parasieten: ja/nee* en hoeveel?_____

Veel bacteriën: ja/nee*_____myxobact?/allerlei*?_____**Schimmel**: ja/nee*_____

Andere opvallende zaken:_____

3. KIEUWPREPARAAT:

Parasieten: ja/nee* en hoeveel?_____

Veelbacteriën:ja/nee*_____myxobact?/allerlei*?_____**Schimmel**:ja/nee*_____

Kleur: bleek/wittige aanslag/bloedingen/dieprood/vlekkerig/bruin/g.a.*/_____

Vorm kieuwlamellen: vergroeid/verdikt/verdikte top/g.a.*/_____

Epitheel: verdikt/dik slijm/losse cellen/veel bacteriën/organisch mat./korrelig/g.a.*/_____

Bij karper/koi: verdacht op KHV?: ja/nee*_____

A**ndere opvallende zaken**:_____

Bloed: vers preparaat: slaapziekteverwekkers aanwezig? ja/neen*_____

CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR

3. INWENDIG ONDERZOEK:

Milt: vergroot/bleek/opgezet/g.a.*/_____

Lever: bleek/rose/geel/groen/papperig/vlekkerig/puntbloedingen/g.a.*/_____

Galblaas: vergroot/opgezet/g.a.*/_____ **zwemblaas**: g.a.*/_____

Darmen: bloederig/bleek/vol/iets gevuld/leeg/gelig/g.a.*/_____

Darminhoud: gelig/groenig/g.a.*/_____ **parasieten**: ja/nee*_____

Vet: veel/weinig/geen/bloedingen/g.a.*/_____

Nieren: droog/bleek/opgezet/vlekkerig/puntbloedingen/g.a.*/_____

Spieren: puntbloedingen/g.a.*/_____

Buikvliezen: bloedingen/g.a.*/_____**testes/ovarium**: g.a.*/_____

Ascites: ja/nee* _____helder/bloederig*_____ **anus**: ontstoken/g.a.*/_____

Parasieten in buikholte?: ja/neen* _____

Andere opvallende zaken: _____

TBC: _____ **x uitstrijkjes van**: _____ uitslag: _____

4. VERVOLGONDERZOEKEN:

VIBA: ja/nee* _____ aantal: _____; **VIVI**: ja/nee* _____ aantal: _____

VIHI: ja/nee* _____ aantal: _____; **VIKI**: ja/nee* _____ aantal: _____

TBC-isolatie: ja/nee* ____ x organen: _____

OPSLAG -70 ABPE: ja/nee* _____**OPSLAG -20 ABPE**: ja/nee* _____

sectie uitgevoerd door: paraaf: _____ en paraaf: _____ en paraaf: _____

---

5. VOORLOPIGE DIAGNOSE :

_____

_____

tel./email* naar: _____ datum: _____ paraaf: _____

tel./email* naar: _____ datum: _____ paraaf: _____

tel./email* naar: _____ datum: _____ paraaf: _____

tel./email* naar: _____ datum: _____ paraaf: _____

tel./email* naar: _____ datum: _____ paraaf: _____

*) doorhalen wat n.v.t. is; #) g.a. = geen afwijkingen

12.6. Gebruikte bronnen blad Aquacultuur

Haenen O (1997) Myxobacteriën: een lastig probleem. Aquacultuur, 24-25.

Haenen O (1997) “Red Spot Disease”: een voor Nederland nieuwe glasaalziekte. Aquacultuur, 9-11.

Haenen O (1997) Vissen-TBC: een chronische ziekte. Aquacultuur, 15-17.

Haenen O (1997) Zoeken naar de ziekteverwekker. Aquacultuur, 18-22.

Haenen O (1998) Deel 1 Eéncellige parasieten: Protozoën. Aquacultuur, 27-29.

Haenen O (1998) Deel 2 Eéncellige parasieten: Protozoën. Aquacultuur, 15-17.

Haenen O (1998) Deel 3 Eéncellige parasieten: Protozoën. Aquacultuur, 32-34.

Haenen O (1998) Deel 4 Eéncellige parasieten: Protozoën. Aquacultuur, 32-34.

Haenen O (1998) Deel 5 Meercellige parasieten: Metazoën. Aquacultuur, 24-27.

Haenen O (1998) Deel 6 Meercellige parasieten: Metazoën. Aquacultuur, 29-32.

Haenen O (1998) Visparasieten: van ciliaat tot lintworm. Aquacultuur, 9-12.

Haenen O (1999) Deel 7 Meercellige parasieten: Metazoën. Aquacultuur, 20-23.

Haenen O (1999) Deel 8 Meercellige parasieten: Metazoën. Aquacultuur, 22-24.

Haenen O (1999) Deel 9 Meercellige parasieten: Metazoën. Aquacultuur, 28-31.

Haenen O (1999) Deel 10 Meercellige parasieten: Metazoën. Aquacultuur, 35-37.

Haenen O (1999) Deel 1 - Visvirussen. Aquacultuur, 24-27.

Haenen O (2000) Deel 2 - Visvirussen. Herpesvirus (HVA) van paling. Aquacultuur, 22-24.

Haenen O (2000) Deel 3 - Visvirussen. Channel Catfish Virus (CCV) van Amerikaanse meerval. Aquacultuur, 22-24.

Haenen O (2000) Deel 4 - Visvirussen. Infectieuze Haematopietische Necrose Virus (IHNV) en Virale Haemorrhagische Septicaemie Virus (VHSV) van salmoniden. Aquacultuur, 32-34.

Haenen O (2000) Deel 5 - Visvirussen. SVC-virus van karper en PFR-virus van snoek. Aquacultuur, 28-31.

Haenen O (2000) Deel 6 - Visvirussen. Rhabdovirussen van paling: EVEX-virus en verwanten. Aquacultuur 5, 26-28.

Haenen O (2000) Deel 7 - Visvirussen. Infectieuze Pancreatische Necrose Virus (IPNV) van salmoniden en Europees Virus van Paling (EVE). Aquacultuur, 32-35.

Haenen O (2001) Deel 8 - Visvirussen. Infectieuze zalm anaemie (ISA) van zalm. Aquacultuur, 32-33.

Haenen O (2001) Deel 9 - Visvirussen. Virale Encephalopathie en Retinopathie (VER) of Virale Nerveuze Necrose (VNN) van zeevis. Aquacultuur, 21-22.

Haenen O (2001) Deel 1 - Vispathogene bacteriën. Inleiding. Aquacultuur, 20-22.

Haenen O (2001) Deel 2 - Vispathogene bacteriën. *Aeromonas salmonicida*: Furunculose bij forel en huidzweren bij karper, goudvis en paling. Aquacultuur, 46-48.

Haenen O (2001) Deel 3 - Vispathogene bacteriën. Bacteriële haemorrhagische septicaemie en Vibriose van allerlei vis. Aquacultuur, 38-41.

Haenen O (2001) Deel 4 - Vispathogene bacteriën. *Pseudomonas anguilliseptica* en *Pseudomonas* species: allerlei septicaemie bij allerlei vis. Aquacultuur, 29-31.

Haenen O (2002) Deel 5 - Vispathogene bacteriën. *Yersinia ruckeri*: Enteric Red Mouth (ERM) van forel en zalm. Aquacultuur, 36-37.

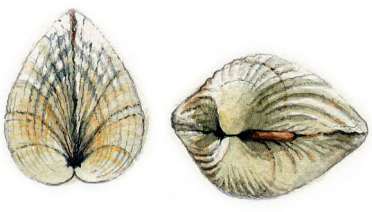
Haenen O (2002) Deel 6 - Vispathogene bacteriën. *Edwardsiella tarda* en *E. ictaluri*: *Edwardsiella* septicaemie van paling en hole-in-the-head-disease van Amerikaanse meerval. Aquacultuur, 32-35.

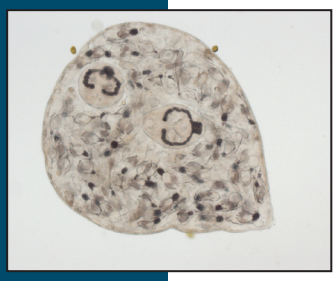
Haenen O (2002) Deel 7 - Vispathogene bacteriën. *Streptococcus* en *Lactococcus*-infecties: pop-eye en pseudokidney disease van allerlei vis. Aquacultuur, 41-42.

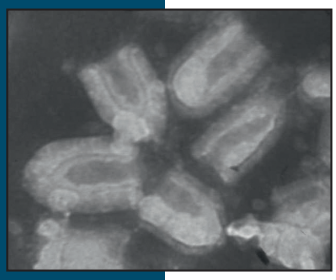
Haenen O (2002) Deel 8 - Vispathogene bacteriën. Myxobacteriën: allerlei huidinfecties bij allerlei vissoorten. Aquacultuur, 36-37.

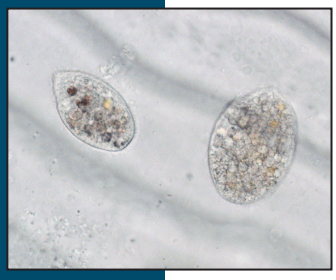
Haenen O (2002) Deel 9 - Vispathogene bacteriën. *Piscirickettsia salmonis* en Bacterial Kidney Disease door *Renibacterium* salmoninarium van zalmachtigen. Aquacultuur, 40-42.

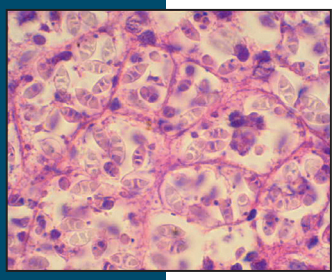
Haenen O (2003) Deel 10 - Vispathogene bacteriën. Vistuberculose door *Mycobacterium marinum*. Aquacultuur, 43-45.
Haenen O (2004) Dubbelinfecties van bacteriën en virussen bij vis. Aquacultuur, 30-31.
Haenen OLM (2003) Deel 10 - Visvirussen. Koi Herpes Virus (KHV) van de koi en karper (*Cyprinus carpio*). Aquacultuur, 25-26.
Haenen OLM, Engelsma MY (2005) Effect van Koi Herpesvirus op Europese en wereldschaal. Aquacultuur, 35-37.
Haenen, 2005. Visziekten in Nederland, een terugblik: 20 jaar diagnoses bij het visziektenlaboratorium. Aquacultuur 6/2005 : 37-45.
Haenen OLM, Engelsma MY (2006) Koi Herpesvirus: de stand van zaken in Europa. Aquacultuur 3, 48.
Haenen OLM, Engelsma MY (2006) *Streptococcus iniae* en *Streptococcus agalactiae* in o.a. tilapia. Aquacultuur 5, 43-45.
Haenen OLM, Engelsma MY, Claassen I, Bergmann SM (2006) HVA-vaccin voor paling: resultaten van een eerste pilotstudie. Aquacultuur, 38-40.
Haenen OLM, Engelsma MY (2007) Aquacultuurrichtlijn 2006/88/EG: Aangifteplichtige visdierziekten, deel 1: EHN en EUS. Aquacultuur 22, 40-42.
Haenen OLM, Engelsma MY (2007) Aquacultuurrichtlijn 2006/88/EG: Aangifteplichtige visdierziekten, deel 2: KHV & SVC. Aquacultuur 22, 31-34.
Haenen OLM, Engelsma MY (2007) Aquacultuurrichtlijn 2006/88/EG: Aangifteplichtige visdierziekten, deel 3: VHS, IHN en ISA. Aquacultuur 22, 33-37.
Haenen OLM, Engelsma MY (2008) Aquacultuurrichtlijn 2006/88/EG: Aangifteplichtige schaaldierziekten, deel 1: Taura Syndroom en Yellowhead ziekte. Aquacultuur 23, 33-35.
Haenen OLM, Engelsma MY (2008) Aquacultuurrichtlijn 2006/88/EG: Aangifteplichtige schaaldierziekten, deel 2: White Spot Syndrome of White Spot Disease. Aquacultuur 23, 40-41.
Haenen OLM, Engelsma MY (2008) Eerste IHN uitbraak bij forellen in Nederland. Aquacultuur 23, 38.
Haenen OLM, Engelsma MY (2009) Epizoötisch Ulceratief Syndroom, EUS, in de Zambezi Rivier. Aquacultuur 24, 44-45.
Haenen OLM, Engelsma MY (2009) Secundaire bacteriële infecties van kweekvis. Aquacultuur 24, 32-33.
Haenen OLM, Engelsma MY (2010) Koi Herpesvirus nu ook in wilde karper in Nederland. Aquacultuur 25, 40-41.
Haenen OLM, Engelsma MY (2010) Opkomst van *Vibrio* infecties in brakwaterkweekvis. Aquacultuur 25, 29-31.

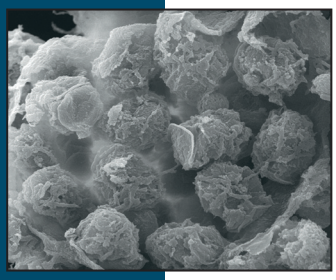


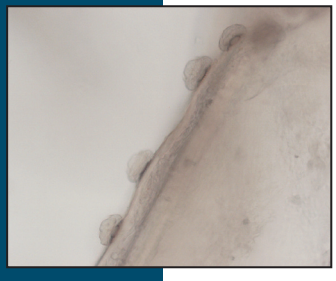












CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR