

養殖海水魚類之 病毒性腦病及視網膜病 (Viral encephalopathy and retinopathy) 或病毒性神經性壞死症 (Viral nervous necrosis, VNN)

●黃旭田 / 屏東縣家畜疾病防治所

前言

養殖海水魚苗罹患空泡性腦病及視網膜病 (vacuolating encephalopathy and retinopathy) 或病毒性神經性壞死病 (viral nervous necrosis)，所感染魚種曾被報導於澳洲海鱸 (金目鱸) (*Lates niloticus*)、歐洲海鱸 (*Dicentrarchus labrax*)、比目魚 (turbot, *Scophthalmus maximus*)、庸鰈 (halibut, *Hippoglossus hippoglossus*)、條石鯛

(Japanese parrotfish, *Oplegnathus fasciatus*)、紅斑石斑魚 (編：赤點石斑魚) (redspotted grouper, *Epinephelus akaara*)、日本條紋鰺 (striped jack, *Pseudocaranx dentex*) (編著：亦稱條紋鰺、縱帶鰺，俗稱青甘，大陸稱擬鰺)，而最近爆發之疾病經鑑定為上述病症之海水魚種有牙鰾 (Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*)、tiger puffer (*Takifugu rubripes*)、莫阿拉石斑 (Kelp grouper,

Epinephelus moara)、斑點石鯛 (rock progy, *Oplegnathus punctatus*)，及其他許多養殖之海水魚類。

感染海水魚類之病毒顆粒約 25 ~ 30nm 直徑，而在日本條紋鰺所感染之病原稱為日本條紋鰺神經壞死病毒 (striped jack nervous necrosis virus, SJVNN)、金目鱸及海鱸稱為魚類腦炎病毒 (fish encephalitis virus, FEV)，依據此病毒之特徵，歸類為 Noda 病毒科 (Nodaviridae)，SJVNN 與其他感染因子在免疫學上的相關性，如同發生於海鱸之疾病與 VNN 一樣。

一、病因

本病毒屬 Nodavirus 科 (Nodaviridae) 內之 Nodavirus 屬，具有 2 個單股 RNA 病毒陽性 -sense RNA (two single-stranded、positive-sense RNA) 分子量含有 RNA1：1.01 × 10⁶Da、

RNA2: 0.49×10^6 Da; 而病毒之構造蛋白分別為 42、40KDa。Nodavirus 對酸穩定，本屬有一部份病毒是從昆蟲分離出，這些從昆蟲分離出之病毒如 Nodanura virus (Nov)、black beetle virus (BBV)、flock house virus (FHV)、Boolarra virus (Bov) 具有交叉反應性；但從發病海水魚類分類之 Nodavirus；彼此間之相關性尚未清楚。

二、臨床症狀與肉眼病變

在所罹患的海水魚種間之共同臨床症狀為大量死 (mass mortality)，並且伴隨不同的神經症狀，如下：

●金目鱧 (*Lates calcarifer*)：不協調性的猛進 (uncoordinated darting)、螺旋狀之游泳 (corkscrew swimming)、體色蒼白、厭食、消瘦。

●海鱸 (seabass, *Dicentrarchus labrax*)：呈現螺旋狀游泳狀態 (whirling swim pattern)、泳鰾過度膨脹、厭食。

●條石鯛 (*Oplegnathus fasciatus*)：螺旋狀游泳 (Spiral swimming)、體色變黑。

●紅斑石斑魚 (*Epinephelus akaara*)：螺旋游泳狀態 (whirling swim pattern)。

●日本條紋鰷魚 (*Pseudocaranx dentex*)：不正常游泳行為，泳鰾過度膨脹。

●比目魚 (*Scophthalmus maximus*)：螺旋或翻圈游泳狀態 (Spiral and/or looping swim pattern)、腹部朝上漂浮、體色變黑，罹病魚體除了體色及外形消瘦外，並無特徵肉眼病變。

三、流行性病學

此病毒感染金目鱧一般在魚苗孵化後第九天產生病症，而潛伏期為四天；條紋幼梭魚則證明可經垂直感染，由早期顯現臨床症狀，可印證此事實。歐洲海鱸亦曾報導經卵巢感染，通常不早期出現臨床症狀，而在魚苗孵化後 30 天。

此病毒媒介或傳播的途徑，除了生殖細胞外，其他途徑尚未證實，但可能傳播的方式包括水流、相同魚池內之年幼魚（耐過魚）、媒介物或養殖器具被病毒污染、其他。可能這些小病毒對環境的抵抗力強，容易藉由商業性交易轉域感染發病。

有趣的差異在於發病相關性及病症的嚴重性，見表一；而最初發病的首要於魚齡的變異及發生死亡魚體之期間性。一般魚體發病的早期症狀，即是產生死亡的開始。雖然某些魚種之年幼魚期

表一、魚苗及年幼魚罹患病毒性腦 (viral encephalopathies) 重要之特徵

	最早發病時間	發病時期	一般死亡率	最高死亡率
金目鱧 <i>Lates calcarifer</i>	孵化後第 9 天	孵化後 15~18 天	50~100%/月	100% 內 < 1 月
歐洲海鱸 <i>Dicentrarchus labrax</i>	孵化後第 10 天	孵化後 25~40 天	10%/月	
條石鯛 <i>Oplegnathus fasciatus</i>	體長 6~25mm			至 100%
紅斑石斑魚 <i>Epinephelus akaara</i>	孵化後第 14 天 (體長 7~8mm 魚)	體長 9~10mm 魚	80%	至 100%
馬拉巴石斑魚 <i>Epinephelus malabaricus</i>		體長 20~50mm 魚	50~80%	
條紋幼梭魚 <i>Pseudocaranx dentex</i>	孵化後第 1 天	孵化後 1~4 天	100%	
比目魚 <i>Scophthalmus maximus</i>	< 孵化後第 21 天			至 100%

(juvenile stages) 很少感染發病，但在其他魚種於年幼至未滿年歲期 (juvenile to young stages) 卻發生大量死亡。後者經常之死亡率未達 100%，這可能與魚齡感受性有關。

[有趣的是，最近國外曾報導於發病的七帶石斑 (sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*) 呈現上下沈浮之游泳鰾膨脹之疾病特徵時；而被檢測出 nodavirus

感染未滿年齡或成齡魚體。]

四、處理

要控制日本條紋鰾 (striped jack) 之病毒神經壞死症 (VNN) 是非常困難的一件事，因為此病會形成垂直感染傳播。最近利用 PCR 發展出檢測種魚 (broodfish) 是否帶病毒之方法，可進行刪除帶毒種魚之工作，同時有明顯證

據顯示種魚在產卵期間減少緊迫因子，則可減輕帶毒種魚經卵巢感染的機會。相反的在控制感染此病金目鱧之臨床症狀，則相當成功。在集約孵化卵巢中，包含部份或全部下列的策略：培養水無重複循環，水流及養殖器具之化學消毒；減少養殖密度，從每升水中 15~30 隻魚苗減少至每升水中 15 隻魚苗 (較偏好使用於每升水中少於 10 隻魚苗)。粗放式

繁殖則應用綠水池養殖 (green pond)，亦可減少臨床症狀之發生及組織病理病灶。

五、診斷

初步的診斷可依據組織病理學在腦及視網膜之病灶觀察；但個體罹病魚僅在腦部神經氈處產生少許空泡，則非常困難研判。文獻上曾報導 shi drum (*Umbrina cirrosa*) 被魚腦炎病毒感染而呈現臨床症狀，但並無中樞神經系統病變。

電子顯微鏡則是經常使用之確立診斷方法；特別是，經陰性染色視野能迅速得到結果；亦能應用於未固定（較常使用）或經福馬林固定之物質，行使鏡檢觀察。

日本條紋鰻病毒神經性壞死症 (SJVNN) 亦能應用直接螢光標示抗體 (direct fluorescent antibody

test, FAT) 測試、酸素免疫吸附分析法 (ELISA)、RNA 之 PCR 增幅檢測，螢光標示抗體檢測有充份的寬域專一性，至少可檢測這群病毒中四種其他病毒。

有些魚病研究者嘗試組織培養法，應用寬廣範圍之細胞株分離 nodavirus，皆告失敗。但卻有成功的例子，如應用條紋鰻魚 (Stripped snake head, *Channa striatus*) 當作細胞株 (SNN-1) 分離海鱸 (*D. labrax*) 之魚類神經病性 nodavirus。

(一) 組織病理學 (histopathology)

正常組織學方法，包括 H&E 染色；經魚苗整體包埋，並行連續切片染色鏡檢腦及眼球，而較大型魚則分別取下腦、眼各別固定、包埋、切片、染色鏡檢。

此病主要特徵於罹病

死亡魚體的腦部，呈現空泡化 (vacuolation)，一般此空泡化亦可在視網膜之細胞核層 (nuclear layers) 觀察到，雖然在條石鯛或比目魚之病灶中，無法觀察到視網膜空泡化病灶。一般而言，年輕之罹病魚較易產生嚴重病灶，特別是視網膜。細胞質內包涵體（至 $5\mu\text{m}$ 直徑）出現於歐洲及澳洲海鱸、條石鯛、棕斑石斑魚 (brown-spotted grouper) 之神經組織；同時大多數魚種呈現神經壞死。

(二) 電子顯微鏡 (electron microscopy)

病毒顆粒可在呈現病灶之腦及視網膜組織中觀察，病毒主要出現於空泡化細胞病灶處，特別是含有包涵體之病變細胞質，顆粒大小隨罹病魚種之不同，而有大小差異，如感染歐洲海鱸之顆粒為 22nm ，感染條石鯛之顆粒

為34nm，排列於細胞質中，呈現結晶狀排列（crystalline arrays）；或單一及聚集顆粒於細胞內或細胞外，此病毒不具封套及呈二十四面體外形。

（三）酵素免疫吸附分析法（Enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）

目前診斷日本條紋鯡病毒神經壞死病（SJNNV），已經發展出應用ELISA檢測發病日本條紋鯡魚苗。

（四）聚合酶連鎖反應（Polymerase chain reaction，PCR）

條紋幼梭魚神經壞死病毒（SJNNV）具有二個單股陽性-sense（two single-stranded positive-sense）、非一聚合A之RNA（non-polyadenylated），包括RNA1及RNA2；RNA2轉譯42KDa之病毒構造蛋白。二個引子（primer），一個為反轉引子（reverse primer）（5'-CGAGT-CAACACGGGTGAAGA-

3'）；一個為前引子（forward primer）（5'-CGTGTCTCAGTCATGTG-TTCGCT-3'）；經由PCR操作將日本條紋鯡神經壞死病毒之RNA2中標的系列（約430鹼基）進行增幅。增幅後的產物可測出感染日本條紋鯡之神經壞死病毒，或感染其他魚類（條石鯛、紅斑石斑魚、歐洲海鱸、莫阿拉石斑、tiger puffer、斑點石鯛）之Noda病毒。◆

海洋生物博物館技術叢書系列

1. 香魚繁養殖.....黃家富著 / 定價 80 元
2. 海參.....鍾國南著 / 定價 80 元
3. 維生系統“初級班”講義 - 水生生物基本需求概說..鍾國南著 / 定價 80 元
4. 大型水族維生系統（上篇）.....鍾國南著 / 定價 80 元
5. 平頰鰻的飼育與繁殖.....呂明毅著 / 定價 80 元
6. 七星鱧魚繁養殖.....黃嘉富著 / 定價 100 元
7. 東部洄游性魚類養殖淺說.....何源興著 / 定價 150 元
8. 養魚池工程設施概說.....侯英物著 / 定價 150 元
9. 海洋無脊椎動物飼育要領.....陳章波・謝蕙蓮著 / 定價 120 元
10. 魚類標本及水族箱內魚類攝影.....李嘉亮著 / 定價 200 元

購書請利用郵政劃撥 01010320 鄭煥生帳戶
養魚世界雜誌社 100 台北市汀州路1段318號7樓

電話：02-23036525 傳真：02-23098929

E-mail：pitaya@ms29.hinet.net