

# 沒有商用疫苗可用下預防 錦鯉疱疹病毒入侵防治方法

## — 由錦鯉疱疹病毒傳染途徑探討

涂堅 本所生物研究組

### 病毒介紹

#### 病因

「錦鯉疱疹病毒」(Koi herpesvirus) 最早在 1998 年由美國 Hedrick 教授團隊所分離，本病最初爆發於以色列，該批錦鯉由歐洲進口，共損失超過 600 噸的鯉魚及 400 萬美金的錦鯉 (Hedrick et al. 2000)；同年美國東岸一錦鯉養殖場魚爆發本病。來源是參加鯉魚展示會後發病的錦鯉。1997 年，德國 Bretzinger (1999) 等則由錦鯉壞死鰓部發現類似病毒；另外根據 Kurita 等 (2009) 比較不同地區分離到病毒的特定基因序列發現，歐洲的分離株竟然可以分成 7 型，而亞洲的分離株只能分成 2 型，由於本病毒為 DNA 病毒，演化成 7 種基因型的時間要比 2 種基因型需要更多的時間，暗示歐洲應該是比亞洲更早出現本病毒的地區，推測歐洲地區的錦鯉早已感染本病毒，因此本病毒的感染源頭可能是歐洲的錦鯉。我國最早在 2002 年由本所發現本病毒，基因型比對發現與日本分離株 A1 基因型相似，推測是透過進口不顯性感染錦鯉而引入本病毒。本病毒經國際病毒命名協會於 2005 年正式命名為「第 3 型鯉科疱疹病毒」(Cyprinid herpesvirus-3)，目前分類位於疱疹病毒目 (Herpesvirales)、異類疱疹病毒科 (Alloherpesviridae) 之鯉魚病毒屬 (Cyprinivirus) 下。

#### 流行病學

本病不久就傳遍全球，遍及各國的湖泊、河流及養殖場。一般而言本病發



生在 18-28°C 之間，通常在春天及秋天溫度容易變動時節，因為此時溫度適宜病毒增殖，加上溫度變動的緊迫會引起魚類免疫能力下降。發病死亡率約 90-100%，通常在感染後 7-12 天就會產生臨床症狀及死亡。本病的發病經研究發現與水溫有絕對的關係，病毒只會在 18-28°C 之間增殖，因此在酷熱的夏天及寒冷的冬天，即使魚隻感染也不會發病死亡。

### 臨床症狀

臨床上病魚感染後會依序出現精神沉鬱、呼吸困難、浮到水面開口喘息及聚集到出水口處溶氧較高的地方。最常見的病灶為鰓部潮紅充血，嚴重時會壞死潰爛，上面吸附水中的藻類及細菌，形成局部黃白色斑塊的爛鰓外觀，這種病魚受到驚嚇時劇烈游動會引起鰓部微血管破裂出血，加上破裂紅血球溶出的血紅素，造成周圍的池水呈現紅色，由於池水廣闊通常不易觀察到；但由畜主送檢包裝有罹病錦鯉的塑膠袋中呈現紅色的水色，就可得知鰓部上皮已經受到嚴重破壞。另外全身體表黏液分泌增加，加上鰓部受創體液滲漏，造成脫水，病魚的眼睛會下陷。體表、鰭及尾也常出現充血潮紅。

### 病理變化

顯微組織病變主要發現在鰓部，鰓部的上皮細胞壞死，細胞間充滿炎症細胞，此外在鰓耙的細胞下層固有層充滿炎症滲出液，病程後期整個鰓部上皮細胞脫落。另外腎臟也是主要病變區，間質充滿炎症滲出液及炎症細胞，間質細胞壞死，後期腎小管也被波及，所以本病毒又被稱為腎炎及鰓壞死病毒。其他器官並無明顯病變，文獻報導會引起局部腦膜腦炎，不過臨床上很難看到出現神經症狀的病魚。

### 診斷

一般而言，本病的顯微病理變化都不是特異性變化，想要在組織病理切片下找到病毒的核內包涵體相當困難，因此憑病理切片診斷本病並不實際。加上病毒分離也不容易，目前診斷都是靠聚合酶鏈反應來確診。

### 消毒

本病毒在紫外線及溫度高於 50°C 時僅能存活一分鐘。消毒劑也可使用來不活化病毒：研究顯示在 15°C 下，200 ppm 碘仿需 20 分；60 ppm 四級胺(BKC)

需 20 分；30% 酒精需 20 分；200 ppm 次氯酸鈉（漂白水）僅需 30 秒。若想要消毒受精卵，在 15°C 下，200 ppm 碘仿只需 30 秒就可完成。

## 病毒傳播途徑

**問題一：既然本病具有宿主特異性，那只要避免將可能帶原的錦鯉引入魚場就可防範本病入侵？**

**答：一半對一半錯。**



## 無症狀感染的鯉科魚類—暗處的病毒傳播媒介

本病毒對於宿主具有專一性。基本上只有鯉魚（*Cyprinus carpio*）（包括錦鯉及家鯉）感染會發病死亡，理論上只要防止帶病毒的鯉魚進入自家養殖場就可防範本病入侵。人工感染實驗臨床上觀察，吳郭魚（*Oreochromis niloticus*）、金魚（*Carassius auratus*）、銀鱸（*Bidyanus bidyanus*）、鱧魚（*Hypophthalmichthys molitrix*）、草魚（*Ctenopharyngodon idella*）跟發病病魚同居均不會發病。但是進一步以聚合酶鏈反應檢驗金魚卻發現其體內可檢出本病毒，表示金魚可以被感染。將這種被感染的金魚與健康鯉魚同居飼養，可以造成鯉魚感染發病死亡。所以錦鯉疱疹病毒傳染的第一種途徑就是透過同科不同屬的無症狀魚類感染，變成病毒攜帶者，透過水平感染（體表分泌液及糞便）達成病毒散播。因此當一家錦鯉養殖業者同時飼養錦鯉及金魚；或是本身飼養錦鯉並不飼養金魚，但是從事錦鯉及金魚外銷，因此當金魚由其他場送到自己場區進行集貨包裝時，自己場的錦鯉遭受感染的風險就會大增。這是病毒一種類似木馬屠城的策略。

## 對策

1. 不要在錦鯉場內飼養其他鯉科的魚類，尤其是金魚一定要避免。
2. 如果錦鯉場本身並不飼養金魚，但需要在同一錦鯉養殖場集中錦鯉及金魚重新換水、打氣、包裝外銷時，要把金魚視為可能的帶原者。

甲、建議最好將別場運來的金魚集中在場區中離大門最近的單獨魚池及單獨



作業場所，所有金魚場運來的水及塑膠袋均需經過消毒才丟棄。

乙、作業人員應把握「先乾淨，後污染」原則，優先打包處理自己場內無病毒的健康錦鯉，然後再處理金魚包裝。處理金魚及錦鯉之網具、打氣設施、包裝樣材等應該要準備兩套，分別放在不同作業場所，不可混用。

丙、另外作業人員在處理金魚包裝時應著工作服、手套、雨鞋等裝備，工作完畢，要將個人工作裝備徹底消毒或消毒後再拋棄。

**問題二、我的魚場發病後還殘存下來幾尾高價錦鯉，留下來做種魚是否牠的後代就具有抗錦鯉疱疹病毒的能力？**

**答：錯。再次發病風險非常高。**

### 不顯性感染的錦鯉—人為的主動散播

錦鯉為一深受世界各地玩家喜好的觀賞魚，隨著全球交易熱絡，商業行為盛行，變成本病散播的主因。疱疹病毒的一個特性就是潛伏性感染 (latency)，存在魚場發生本病歷經高死亡率後殘存下來的魚隻，這些魚隻的特徵就是可以在組織或白血球中檢測到病毒的 DNA (去氧核糖核酸，為一種生物傳遞遺傳特性的物質)，但是卻無法發現具感染性的病毒顆粒。這也是目前國內養殖場接受監測或出口檢疫時常常詢問的一個問題，「為何我的魚場並沒有發病，你卻檢驗到錦鯉疱疹病毒？」，質疑檢驗的正確性。我們的解釋為：1、這種不顯性感染的魚隻出現，表示你的魚場以前感染過本病或是引入別場感染過殘存的魚隻；2、聚合酶鏈反應檢驗的是病毒 DNA，並不是檢驗活的病毒，所以會檢驗到病毒留在組織的 DNA，這並不代表你的魚場魚隻正在發病。「那既然現階段不會發病，為何這些魚隻無法出口？」這是緊接的第 2 個問題，答案是帶有本病毒 DNA 的魚隻，在遭受緊迫免疫能力下降時刻，這些 DNA 靠著魚體細胞內酵素可以重新合成蛋白及核酸，組裝成具感染性的病毒，藉由魚體分泌物及排泄物散播到水中，進而感染健康的鯉魚 (根據研究指出潛伏性感染的錦鯉至少在 30 週以內都可能遇到適當緊迫而重新發病)。因此養殖場最大的風險就是留下本病爆發後死亡殘存的魚隻。錦鯉業者在承接國際訂單，由於本身錦鯉貨源不足，常常需要跟其他同業養殖場調貨，於是許多不同魚場的錦鯉匯集在同一場，進行包裝出貨，由於每一場的病史及監測情形都不清楚，所以有可能

其中夾雜潛伏性感染的錦鯉，在經過包裝及空運緊迫後，在到達輸入國不久就出現發病的紀錄。常見到的問題為「為何我的錦鯉在出口檢驗時為陰性，去到進口國後卻發病？」。我們的答案是：1、可能送檢的魚隻樣本中不含有病毒 DNA，或是 2、病毒 DNA 含量低於檢測方法可驗到的最低量，但是其他未抽驗到的魚隻中存有潛伏性感染的魚隻；3、另一種可能為魚隻在國外當地被感染。一般而言，本病潛伏期為 5-8 天，因此從空運開始後一週內若無臨床症狀出現，應該判定為在當地感染，跟出口錦鯉並無關係。

## 對策

1. 潛伏性感染為疱疹病毒的感染特性，感染過本病毒的殘存魚隻可能變成一個未爆彈，會不定時排毒，造成本病在魚場內接連不斷的發作。因此在經歷本病爆發後殘留的魚隻應該撲滅，不應留下來做種魚或繼續飼養。發病池魚均應清除，池水應徹底消毒後排放。
2. 兼營錦鯉外銷的錦鯉養殖場由場外調魚供外銷時，應選擇有信用、近期無發病病史的錦鯉場，最好要選擇參加政府舉辦的輸出水產動物疾病監測計畫的錦鯉養殖場。
3. 基本上，要保持本身養殖場不受到本病威脅最佳對策是採用自家生產的錦鯉外銷，而且做到賣出的魚隻不再回收、換魚或代養。
4. 本身在進口種魚時，進口魚一定要出示經過事先檢驗的合格報告，並要求出口者將該貴重魚隻與無病健康小魚共同飼養 7 天以上，然後小魚與大魚一起出口，供進口者犧牲該哨兵魚檢驗是否感染本病毒。到達本場後在自己場內設立「檢疫池」，飼養 14 天觀察有無發病。另外也可挑選本場健康小魚擔任哨兵魚一起同居飼養，觀察哨兵魚是否會發病。

**問題三、我的魚場發病池後經過嚴密消毒、曝曬處理，為何不久同場另一池又發病？**

**答：病毒有其他來源。**





### 天上飛的地下爬的一自然界的散播者

當魚場有發病魚池時，不管是海水石斑魚或是白蝦養殖池，四周全部都會站滿白鷺鷥或夜鷺，俗稱「站衛兵」，等著吃這些瀕死或已死的水產動物屍體，當人們靠近這些鳥類一哄而散，這些鳥類會飛到附近的水體及魚池，沾過病毒池水的鳥爪及不小心掉落的病魚屍體都會污染附近魚池健康魚隻而造成發病。另外烏龜或青蛙等掠食者也可藉著表皮外殼的機械性攜帶病毒，靠爬行將病毒帶到另一健康錦鯉池。最近報告指出池水中的野生魚類及動物性浮游生物也會攜帶本病毒。

### 對策

1. 死亡或撲殺的病魚需做好焚毀或消毒掩埋，切忌以鄰為壑，將死魚順水流，丟棄在場外的排水溝渠，因為這些病毒會藉著掠食動物重新回到你的魚場。
2. 在本病好發時節，錦鯉養殖場魚池上方應該佈置防鳥網，避免掠食性鳥類將別場的病魚攜帶來本場。

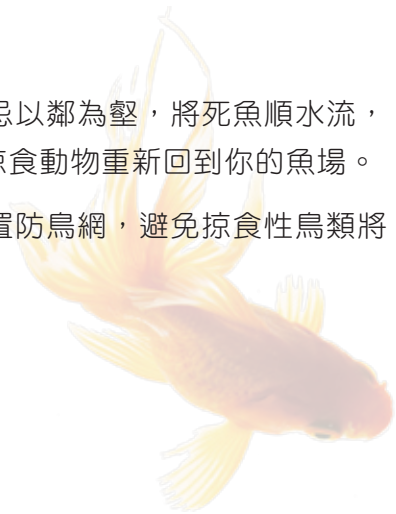


圖 1、感染錦鯉疱疹病毒錦鯉之鰭及尾嚴重充血。

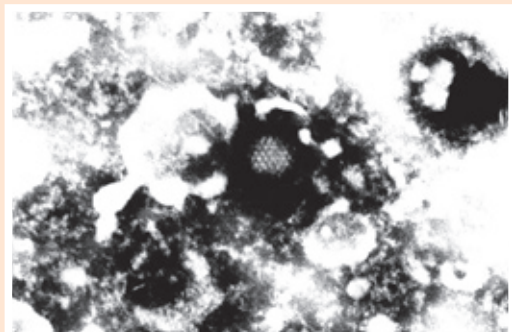


圖 2、電子顯微鏡負染色檢查，可見錦鯉疱疹病毒大小為 100-110 nm。

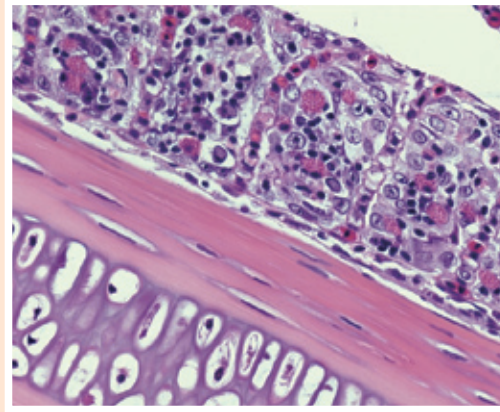


圖 3、感染錦鯉疱疹病毒的錦鯉鰓部顯微病變，可見二級鰓薄板增生及癒合，壞死處可見病毒之核內包涵體。

## 參考文獻

1. Bergmann SM, Lutsep P, Schutze H, Fischer U, Dauber M, Fichtner D, Kempter J. Goldfish (*Carassius auratus*) is a susceptible species for koi herpesvirus (KHV) but not for KHV disease. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 30, 74–84, 2010.
2. Bretzinger A, Fischer-scherl T, Oumouna M, Hoffmann R, Truyen U. Mass mortalities in koi carp, *Cyprinus carpio*, associated with gill and skin disease. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 19, 182–185, 1999.
3. Hedrick RP, Gilad O, Yun S, Spangenberg JV, Marty GD, Nordhausen RW, Kebus MJ, Bercovier H, Elder A. A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *J. Aquat Anim Health*, 12: 44-57, 2000.
4. Kurita J, Yuasa K, Ito T, Sano M, Hedrick RP, Engelsma MY, Haenen OL, Sunarto A, Kholidin EB, Chou HY, Tung MC, de la Pena L, Lio-Po G, Tu C, Way K, Iida T. Molecular epidemiology of koi herpesvirus. *Fish Pathol.*, 44: 59-66, 2009.
5. Perelberg A, Smirnov M, Hutorn M, Diamant A, Bejerano Y, Koltler M. Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured *Cyprinus carpio* in Israel. *Isr J. of Aquacult*, 55: 5-12, 2003.