

石斑魚虹彩病毒疫苗研發

黃淑敏 本所生物研究組

前言

全球水產養殖之產量有 9 成以上在亞洲，依據 FAO 2009 年的預估，全世界對於水產養殖之需求，每年預計有 8-9% 之成長，尤其是位在亞洲地區以中國大陸、印度、東南亞的國家、日本、台灣及南韓為主要生產國。在北美及歐洲國家，以疫苗來控制水生動物之疾病已經變成生產模式中的必要標準程序，以挪威的鮭魚養殖為例，1990 年未使用疫苗前，每公斤鮭魚之養成平均需要 500 mg 之抗生素，但自 1992 年後使用油性佐劑菌苗對抗細菌性疾病，其抗生素之用量降至接近於零，而其產出量卻巨大的增加，加上政府積極推動產業之整合，2009 年挪威的鮭魚養殖業產量約占全球鮭魚養殖業的 56%，成為全球最大的鮭魚養殖國。疫苗是由具有免疫原佳的病原微生物經增殖和處理後製成的製品，接種於動物體後，刺激體內產生特異性抗體，當體內的抗體濃度達到一定力價後，就可以抵抗這種病原微生物的感染，達到預防疾病的作用。目前發展的疫苗種類，大都使用病原微生物本體或其代謝產物經加工製成的、或以人工合成勝肽或基因工程方法製成的生物製品。在養殖場內疫苗免疫最主要好處在於能降低疾病死亡率，並減少其它不當藥物及抗生素之使用機會，除了可降低生產成本外，亦能符合消費者對魚類產品衛生安全日趨重視之期待，並減緩海洋魚類資源過度捕撈之生態衝擊。因此，為提昇養殖魚類之產量又兼顧優良、安全之生產品質，以發展疫苗控制疾病成為極有效的對策之一。

台灣石斑魚養殖及疾病概況

台灣具有優良的天然養殖環境及氣候條件適合石斑魚之養殖，又接近於主要消費市場-中國大陸的特殊地理位置，運輸成本相較低於東南亞國家，因此具有市場競爭力之優

勢。台灣之石斑魚養殖生產模式，主要區分為種苗期、稚魚期（白身苗）、吋苗期（2-3吋）及成魚期。台灣石斑魚之主要生產區集中於台南、高雄及屏東等地區，除成魚期外，每階段之蓄養期很短，自種魚生產魚卵後，魚卵即開始進行商業買賣，在稚魚階段，其體內免疫系統尚未發育完全，即隨著商業交易行為迫使魚苗不斷遭受到運輸、重新適應水質及養殖環境等多重外在緊迫壓力，疾病的爆發是不可避免。目前石斑魚苗養殖業成長受限於石斑虹彩病毒（grouper iridovirus）及神經壞死病毒（nervous necrosis virus, NNV），損失高達 8 成。此兩種病毒皆會造成 20 餘種之魚類感染，其中 NNV 好發於稚魚階段，而虹彩病毒則好發於吋苗期至成魚初期。目前虹彩病毒科由 5 個病毒屬所組成，分別為 *Iridovirus*, *Chloriridovirus*, *Ranavirus*, *Megalocystivirus* 及 *Lymphocystivirus*，為一正二十面體 DNA 病毒，已有報告指出可感染超過 20 種以上之魚種。*Iridovirus* 及 *Chloriridovirus* 主要感染昆蟲及無脊椎動物；*Megalocystivirus* 及 *Lymphocystivirus* 主要感染魚類；*Ranavirus* 主要造成魚類、爬蟲類及兩棲類嚴重的全身性感染，其中 *Ranavirus* 及 *Megalocystivirus* 會造成魚類高致死率並引起巨大損失，而 *Lymphocystivirus* 主要引起魚類上皮腫瘤，影響魚體外觀，致死率並不高。經 9 年持續監控田間分離的虹彩病毒分離株中，發現主要有 3 基因型在田間流行，分別為石斑虹彩病毒 grouper iridovirus (GIV)；嘉鱾魚虹彩病毒 red sea bream iridovirus (RSIV) 及魚類傳染性脾臟及腎臟壞死虹彩病毒 infectious spleen and kidney necrosis iridovirus (ISKNV)。

石斑虹彩病毒不活化疫苗之研發歷程

魚類疫苗研發須考慮的重要因素包括：第一、疫苗之製程：因疫苗製程會直接反應於疫苗成本及施予方式，第二、選擇目標魚種：以台灣目前養殖之大宗魚類種別為主要考量，前期規劃以青斑為主、後期加入龍膽石斑，第三、選定疫苗生產之種毒株：篩選具有免疫原性之疫苗株及具有廣泛宿主感受性之種毒株，第四、疫苗安全性：選定對人類及魚類皆具安全性之配方，第五、疫苗之穩定性及效力：測試疫苗之效力及穩定性，並建立一套有效評估疫苗效力之方法，最後通過田間試驗。本所研發之不活化疫苗目前已完成田間試驗，期待本年內能研發出具有經濟效益、穩定且有效的疫苗，也能立即解決現今養殖業的困境，並提昇養殖產業之國際競爭力。

疫苗田間試驗情形

選定青斑及龍膽石斑二場進行石斑魚虹彩病毒不活化疫苗田間試驗。免疫選取約 10 克大小健康石斑魚苗，以腹腔注射第 1 劑量後，間隔 14 天再補強接種第 2 劑，而後於免疫後 3 及 6 個月，自田間試驗場購回魚隻進行效力試驗及代謝性評估。另於田間實驗期間觀察各組之存活率、注射安全性、體重與體長之生長情形，以評估疫苗使用後對經濟效益之影響。初步結果顯示，在注射疫苗之安全性評估部份：建議使用於 10 克以上之石斑魚陰性場，其安全性是無虞的。田間試驗魚苗存活率：龍膽石斑之對照組與實驗組之存活率皆為 100%，但實驗組之體重增重情形極顯著優於對照組；而青斑之免疫成效，經免疫後 11 個月，其免疫組之存活率為 74.6%，明顯優於對照組之存活率為 50%。實驗室之效力評估：龍膽石斑於免疫後 3 及 6 個月之疫苗效力是合格的；青斑於免疫後 3 個月之疫苗效力是合格的。試驗結果顯示，本所試製疫苗於青斑及龍膽石斑皆獲得有效之保護效果，除了魚隻之存活率顯著優於對照組之外，施打本疫苗之魚隻其體重增重皆優於未施打者。田間臨床效益評估顯示，龍膽石斑飼養環境為循環水之養殖方式，於本試驗之對照組與實驗組之存活率皆為 100%，但其實驗組之體重增重情形極顯著優於對照組，以免後 9 個月為例，免疫組平均體重約 1,108.5 克（身長 40 公分）；對照組為 625.2 克（身長 32 公分），龍膽交易若以體長公分計算其成交價格（1 公分 20 元計），則實驗組之增長情形（8 公分），每尾增加 160 元收入，以 1 萬尾計可以幫助魚戶實際增加約 160 萬元之收入；相對於青斑之免疫成效為 75%；對照組之育成率為 50%，以飼養 1 萬尾並以 220 元/公斤換算其市價，則為魚戶增加約 55 萬元之實質收入。因此，以疫苗來控制疾病，除了明顯降低疾病死亡率外，並能實際增加漁民之收益。

未來水產動物疫苗使用的前景與挑戰

今後 10 年內，國內水生動物疫苗市場將步入快速發展的黃金期，疫苗要能落實應用於田間並發揮實質經濟效益，才能於國際間保持領先之優勢。影響水生動物疫苗之使用意願關鍵在於疫苗安全性、效力、成本及疫苗施打方法。現階段最容易被接受之免疫策略為直接切入石斑魚養殖產業各時期分段，提供一種有效、安全及方便之免疫方法。各階段有穩定育成率之後，再連接由其上、下游之養殖戶形成產業線，由生產線再擴充其生產量形成具有穩定產量之產業。目前本所正申請許可證之注射型虹彩病毒不活化疫

苗，主要解決吋苗期（2-3 吋）及成魚期之虹彩病毒感染問題，預期能增加 2-3 成之育成率。然而，疫苗研發的方向與疾病控制方法將決定生物製劑是否能有效應用於田間並達到實質經濟效益；水生動物疫苗產業為近些年來嶄新發展之新產業，如何持續穩定發展關鍵在於政府政策導向、養殖業者配合市場需求以及消費者對食品安全的重視，是推動水產業快速成長的根本動力。

疫苗施打流程



1
麻醉

2
疫苗注射



3
置入放養池恢復