

## 2006年我國輸出水產動物疾病監測

涂堅、邱芮瑜、黃淑敏

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

### 緒言

我國目前為世界貿易組織（WTO）會員國之一，有關會員國彼此間水產動物產品之貿易往來，均需遵循輸入國之輸入檢疫規範。在檢疫條件中，國際間水產動物產品輸入國有關（一）應檢疫水產動物疾病項目（二）無特定水產疾病地區或無特定水產疾病魚場之認定均係依照 OIE 水產動物健康法典所規定而規範，此外有時亦可要求輸出國增加檢測會威脅該國產業的疾病（雖然該病並不屬於 OIE 規定之法定傳染病）。一般而言，輸入國有關活水產動物進口除了要求外表無臨床症狀外，尚須有持續兩年以上無該國指定特定疾病的官方監測紀錄。若無該項特定疾病持續至少兩年之官方監測紀錄，有者允許以逐批產品檢驗替代，但是有者則拒絕該產品輸入，如此會造成輸出業者作業不僅額外時間上之擔誤；嚴重者甚至喪失輸出的機會。本計畫旨在結合國內獸醫官方機關及專家學者建立監測系統，選定志願參加監控之輸出養殖場，對於 OIE 水產動物健康法典規定魚蝦應檢測疾病進行監測。除可逐年建立我國本身水產動物特定疾病監測資料，縮短業者外銷活水產動物檢驗時間外；尚可透過本監測計畫早期了解我國是否有新浮現的海外水產動物疾病入侵，及早撲滅該病原，避免其擴散，確保我國水產養殖業不受新病原污染，提升其外銷之國際競爭力。

### 材料及方法

選定養殖場，每兩個月前往該場隨機採取 30-50 尾活體帶回實驗室，以 MS-222 麻醉後採取腦、眼、脾及腎，添加十倍 PBS，以研鉢及杵研磨製作乳劑。經 1500 rpm，15 分，4°C 離心後，取上清液進行核酸萃取。由組織萃取 DNA 步驟乃依照 QIAGEN DNA mini Kit 之指示操作。取 100ul 乳劑，加入 100 ul ATL，加入 20 ul proteinase k 振盪。放在 56°C 乾熱槽，加熱到液體透明。偶而搖動一下試管。短暫離心一下。加入 AL 200 μl，震盪 15 秒。70°C 感作 10 分。短暫離心一下。加入 200 μl 100%酒精，震盪 15 秒。短暫離心一下。取一個 spin column，將樣品加入，8000 rpm 離心 1 分。丟棄收集管及廢液。取出 spin column，放入一收集管，把 500 μl AW1 加入 spin column 內，8000 rpm 離心 1 分。丟棄收集管及廢液。取出 spin column，放入一收集管，把 500 μl AW2 加入 spin column 內，14000 rpm 離心 3 分。丟棄收集管及廢液。取出 spin column，放入乾淨 1.5-ml 微量離心管。加入 200 μl AE，8000 rpm 離心 1 分。凍在-80°C 備用。RNA 萃取步驟依照 TRIZOL 使用手冊操作。簡言之，取 0.2 ml 十倍稀釋乳劑上清液，加入 1-ml TRIZOL，劇烈震盪 30 秒，室溫放置 3 分。加入 200 μl 氯仿，以手震盪 15 秒，室溫放置 3 分。4 °C 下，12000 rpm 下，離心 10 分。吸取上清液約 600-700 μl 至新的微量離心管，加入等量異丙醇，

以手搖晃 15 秒，室溫感作 10 分。4 °C 下，12000 rpm 下，離心 10 分。去上清液後加入 1-ml 75%酒精輕搖後 7500 x g 離心 5 分。倒掉上清液。加入 100 µl DEPC 處理蒸餾水置於 55 °C 下 10 分以溶解 RNA。凍在 -80 °C 備用。PCR 及 RT-PCR 之操作及原料依照 OIE 水產動物診斷手冊 (Manual of Diagnostic tests for aquatic animals, 2006) 或敏感度相當的國際期刊發表方法操作。

## 結果與討論

2006 年輸出水產動物監測計畫共計監測 58 場養殖場，採樣次數為 333 次，病毒檢測共計 1096 次。監測的水產動物包括石斑、海鱸、錦鯉、熱帶魚、對蝦、九孔。在對蝦疾病方面，僅檢出疾病為傳染性皮下及造血組織壞死症 (22/62, 33%) 及陶拉症 (6/62, 10%)。此二病之檢出率略高於前年之調查 (94 年傳染性皮下及造血組織壞死症為 29%)。相較於前兩年，今年養成場並未檢出白點症、草蝦桿狀病毒症、黃頭病毒症及毛利病毒症。

海水魚疾病方面，野田病毒症檢出率為 35% (32/92,) 及石斑虹彩病毒症為 15% (14/92)；與去年檢出率相比 (野田病毒症為 27%，石斑虹彩病毒症為 11%)，二者稍微增加，顯示此二病仍為我國田間主要的海水養殖魚疾病。值得重視的為在石斑魚苗及幼魚 (3-8 公分) 的野田病毒檢出率達 83% (19/23)，顯示我國石斑繁殖場普遍感染野田病毒。軟體動物疾病方面，我國九孔並無檢出 OIE 規定的七種原蟲性疾病。

淡水魚疾病方面，觀賞魚並無檢出鯉魚春季毒血症 (Spring viremia of carp)、傳染性造血組織壞死症 (Infectious haematopoietic necrosis)、流行性造血組織壞死症 (Epizootic haematopoietic necrosis) 及病毒性出血性壞死症 (Viral hemorrhagic necrosis) 等四種疾病。錦鯉則發現 6 場為錦鯉 疹病毒陽性 (6/83, 7%)，較去年為高 (1/83, 1%)，顯示本病仍然存在我國境內，宜藉由擴大監測範圍找出潛在感染源將其撲滅。此外養殖戶仍須再教育，瞭解本病控制應採行整場撲滅；否則易造成保毒者長存於環境而無法消除。透過今年監測，並無發現我國水產動物受到海外惡性傳染病的入侵。

淡水觀賞魚養殖業中錦鯉為一逐年外銷增長的明星養殖業，根據資料顯示，我國除本計畫監測的魚場外，零星發生病例均發生在個人愛好養殖玩家，但究其來源也是由大型繁殖場購得，因此 96 年預計擴大錦鯉繁殖場的監測場數，儘可能將我國國內大型繁殖場均列入。由於我國大型繁殖場有限 (約四十七家)，如徹底監控本病則撲滅本病指日可待，或許本病可成為第一個撲滅的海外惡性動物傳染病，也可確保我國的錦鯉外銷國際競爭力。海水石斑種苗繁殖及養殖一為我國重要外銷指標養殖業，根據本次結果發現，若以石斑魚苗及幼魚 (3-8 公分) 場採樣分析，其檢出率高達 83%，表示我國石斑繁殖場普遍感染野田病毒並深受其害，造成此行業生產競爭力逐年下降。雖然本計畫定期監測且及時提供結果，還是無法降低我國石斑種苗場野田病毒症的嚴重污染問題。究其原因，我國繁殖場業者個性保守、缺乏求新求變精神、害怕技術外流加上種魚昂貴，均不願提供種魚血清、精及卵接受篩選，政府無法介入提供技術服務才會造成八成的陽性檢出率。解決之道為未來應積極與業者溝通，取得信賴並提供再教育訓練機會，使其瞭解本病控制應採行種魚篩選；避免使用陽性種魚進行繁殖，另外孵化之魚苗應使用不含病毒之水源及生物餌料養殖，如此才能預期有 SPF 魚苗產出。