

# 白蝦疾病診斷與防治

## Diagnosis and Prevention of White Shrimp Diseases

董明澄

Ming-Chen Tung

國立屏東科技大學 獸醫學系

Department of Veterinary Medicine, National Pingtung University of Science and Technology

### 蝦病病因

#### 一、非傳染性病因

營養不均衡，飼料品質不良，如缺膽固醇或礦物質，尤其部分維他命在製造過程、保存及運輸中分解破壞，水溫太高或太低，鹽度驟變，有毒藥物或水中毒物之物理化學傷害等。

#### 二、傳染性病因

有細菌，黴菌，病毒，原蟲及寄生蟲等。一般日常所遭遇之蝦病，絕大多數係由傳染性病因所造成。

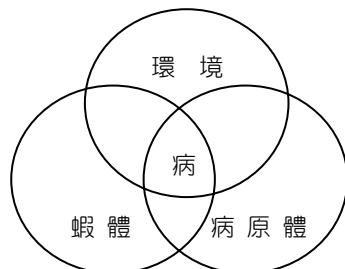
蝦類與水環境關係極為密切，對水質環境不良特別敏感，容易因環境不良而造成緊迫，使蝦體抵抗力下降；又水中常在一些病原菌，在水質良好時，該等病菌量少病原性亦低，當水質不良時，會大量增殖並伺機感染蝦類造成感染發病。因此高密度養殖之蝦池要時時刻刻注意水質，以免因不良水質環境而造成蝦病發生之誘因。同理，如蝦病發生後，除了正確投藥治療之外，同時亦要注意設法改善水質環境，才可收事半功倍之效。

### 蝦類一般疾病之預防措施

- 一、養殖池翻土，撒石灰，曝曬，必要時如前批養殖蝦有病毒感染致死，則有必要以漂白粉消毒。
- 二、購入無病原之健康蝦苗，最好選具抗病品種飼養。
- 三、購入後應隔離飼養，自行檢疫觀察一段時間。
- 四、隔離檢疫期間，宜同時實施藥浴。
- 五、搬運車，戴具，容器，網具，人手，腳及膠鞋等徹底消毒。
- 六、病蝦絕對禁止投藥後買賣及移動，以防止傳染病之散播及供食用之蝦體有藥物殘留。

### 蝦病致病機序

- 一、環境因素。
- 二、病原體感染因素。
- 三、蝦體因素。



- 七、適當之放養密度。
- 八、注意飼養及水質管理，並保持養殖場之衛生清潔。
- 九、病死蝦屍體應立即撈取，燒毀或掩埋，杜絕病原散播。
- 十、避免濫用及迷信藥物，確實瞭解藥性，適時應用有效藥物以達預防及治療疾病之效。

## 一般性蝦病防治措施

- 一、早期發現病情，並尋求正確之診斷。
- 二、改善水質，必要時進行藥浴(病毒性疾病之藥浴，要慎重考慮，非必要不藥浴，因藥浴可能引起緊迫)。
- 三、選擇有效之藥物、投藥方法及劑量應正確。
- 四、藥餌之調配混合，務必均勻及吸著完全。
- 五、追蹤觀察療效及檢討，並訂定防範措施。
- 六、嚴守停藥期，避免藥物殘留，俾免影響消費者健康，保障外銷（內銷）之市場。
- 七、妥善處理空藥罐、瓶及藥浴水之排放，避免二次公害之形成。
- 八、病、死蝦應即撈取集中燒毀或深埋，以防止病源之蔓延及散佈。

## 蝦類病毒性疾病之預防控制

### 一、避免病毒引進至養蝦場

由於目前對蝦病毒無有效抑制或殺死蝦體內病毒之藥物，且蝦類無特異性之體液免疫系統，因此無法如哺乳類或禽類等應用疫苗免疫而獲得對各種病毒之特異性之保護，故一般採用避免引入病毒之各種預防措施。

- (一) 加強放養蝦類前之池塘曬池，撒石灰及漂白粉之消毒操作（尤其前批飼養之蝦

有被病毒感染時，必須經漂白粉之消毒處理）。

- (二) 進養 SPF (Specific pathogen free，無特定病原) 蝦苗，即白蝦苗無 WSSV，TSV 及 IHHNV 等主要病毒感染之蝦苗，購蝦苗時可向有 SPF 蝦繁殖場訂購之外，未確定蝦苗有無該等病毒之污染時，可將蝦苗送檢進行聚合酶鏈反應 (PCR) 之檢驗。而繁殖場應定期檢測種蝦及蝦苗，且政府應責成種苗協會或其他具公信力之機構，執行 SPF 繁殖場之認證制度。
- (三) 養殖場應有蓄水池之設置，由於傳統養殖蝦場，直接引進海水、排水溝之水或養蝦場密集區域之地下水時，均有可能引進污染病毒之水源，尤其如 WSV 等傳播迅速且廣泛存在於水中生物，因此有必要濾除浮游動物後，再以高濃度漂白粉消毒，並經曝氣卻除殘氯後作為補充池水之用，故應用如此處理之池水補充。
- (四) 引用上述經處理之清淨蓄水池水時，只用於補充每日定時排放少量池底污水為原則，故池底污水排放結構應做適當之改良以達到有效排污之目的。
- (五) 避免用生餌餵飼，尤其如蟹類、豐年蝦等常為 WSV 帶毒者，故以人工完全飼料飼養為宜。種蝦場可用無污染之墨魚等飼餵。
- (六) 應用防鳥網覆蓋養殖池，本方法只能應用於較小型養蝦池。

### 二、應用免疫刺激劑 (Immunostimulant)

如葡聚醣類 (Glucan)、幾丁聚醣 (Chitosan)，左咪唑 (levamisole) 等可添加於飼料中，以便刺激蝦類之非特異性細胞免疫，對預防病毒輕度感染有若干保護效果而提高收成。

### 三、降低緊迫因子

例如避免低 DO，過高密度，pH 值驟變，水質不良等，對輕度之慢性病毒感染，可有效降低其轉變為急性感染而造成大量死亡之風險。

### 四、應用 PCR 等快速及敏感度極高之技術，在養殖過程中進行病毒性疾病之監測。

### 五、應用遺傳學或基因轉殖方法選殖具有抗病力品種

該品種同時要兼顧具有快速成長，肉質佳美，繁殖力強等之優點，要育成滿意之好品種不易。

### 六、使用消毒劑如臭氧 ( $O_3$ )、有機碘或前述之清淨水浸泡或清洗蝦卵等方法，亦可有效降低蝦苗之病毒感染。

## 白蝦疾病之診斷

### 一、疫情發生概況及臨床病徵

- (一) 發病疫情或症狀及病變檢查。
- (二) 肉眼病變檢查。
- (三) 體表、鰓、附肢或有病變之臟器組織之濕壓片 (wet mount) 之顯微鏡檢，一般可作為原蟲如微孢子蟲 (Microsporidians) 、鐘型蟲 (Zoothamnium) 、黴菌、細菌及寄生蟲之診斷參考。
- (四) 細胞染色鏡檢：
  1. 細菌可用革蘭或劉氏染色後鏡檢，或無染色檢查則用濕壓片方式以暗視野或位相差 (Phase contrast) 觀察。
  2. 病毒性疾病可用 Giemsa、劉氏或 Eosin 染色觀察肝胰腺或鰓、皮下及結締組織，檢查組織細胞之變性壞死，如細胞核腫大核濃縮，核破裂，核內包容體 (Oclusion) 或包涵體 (Inclusion) 等。

### 二、水質檢驗

如 pH 值，總氨，亞硝酸，硫化氫，DO，COD 或 BOD 等檢測。

### 三、組織病理學檢查

組織切片通常用 H&E 染色，必要時用特殊染色。

### 四、應用抗體檢測 (Antibody-based assay)

如螢光抗體技術 (FA)、酵素免疫試驗 (ELISA) 等。

### 五、電子顯微鏡檢查

病毒性疾病應用穿透式電顯 (TEM) 診斷。

### 六、基因探針 (Gene probe) 或原位雜交試驗 (in situ hybridization) 及聚合酶鏈反應 (Polymerase chain reaction, PCR)。

### 七、易感染動物之接種試驗

如對 IHHNV 診斷，用感受性高之 SPF 藍蝦人工接種感染。

### 八、微生物學試驗

細菌分離培養及形態學、生化學反應鑑定，常輔以 API 套組或 Biolog system 快速鑑定。

## 常見白蝦疾病及防治

### 一、白蝦病毒性疾病種類

台灣養殖白蝦病毒性疾病，主要有白點症 (WSS)，黃頭病 (YHD)，陶拉病 (TS)，傳染性及皮下造血組織壞死病 (IHHN) 及肝胰腺小病毒症 (HPVD) 等 (Table 1)。

**Table 1.** Viral diseases of white shrimp, *Penaeus vannamei* in Taiwan

Disease	Etiology	Severity
White spot syndrome (WSS)	White spot syndrome virus ( <i>Whispovirus</i> )	+++
Yellow head disease (YHD)	Yellow head virus ( <i>Okavirus</i> )	+++
Taura syndrome (TS)	Taura syndrome virus ( <i>Piconavirus</i> )	+++
Infectious hypodermal and hemopoietic necrosis (IHHN)	Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus ( <i>Parvovirus</i> )	++
Hepatopancreatic parvovirus disease (HPVD)	Hepatopancreatic parvo virus ( <i>Parvovirus</i> )	++

**Table 2.** Morphometrics of the white spot syndrome viruses

Name of Virus and Disease	Mean Virion Size (nm)	Mean Nucleocapsid Size (nm)	References
WSBV = White spot baculovirus = White spot syndrome (WSS) = White spot disease	70 ~ 150 × 250 ~ 380	58 ~ 68 × 330 ~ 350	Chou <i>et al.</i> , 1995; Wang <i>et al.</i> , 1995; Huang <i>et al.</i> , 1995
HHNBV = Baculoviral hypodermal & hematopoietic necrosis = Shrimp explosive epidermic disease (SEED) = China virus disease	120 × 360	—	
SEMBV = Systemic ectodermal & mesodermal baculovirus = Red disease = White spot disease	120 × 276	89 × 201	Wongteerasupaya <i>et al.</i> , 1995
RV-PJ = Red-shaped nuclear virus of <i>Penaeus japonicus</i> RV- PJ #1 RV- PJ #2	— 83 × 275	84 × 226 54 × 216	Inouye <i>et al.</i> , 1994; Nakano <i>et al.</i> , 1994

## 二、白點症徵候群 (White Spot Syndrome; WSS, 簡稱白點症)

### (一) 病原及疫學：

白點症病毒 (White spot syndrome virus, WSV) 在文獻上有如 Table 2 所載之不同名稱

及病毒大小，早期認為屬於雙股 DNA 之無包被體桿狀病毒 (Non-occluded Baculovirus)，目前分類屬於 Nimaviridae 科之 *Whispovirus* 屬 (Mayo, 2002a, 2002b)。

WSV 之基因組含 307,287 bp (GenBank Accession No. AF440570)。

**Table 3.** WSV surveillance, detection and diagnostic methods

Method	Screening				Presumptive	Confirmatory
	Larvae	PLs	Juveniles	Adults		
Gross signs	-	-	-	-	+	-
Histopathology	-	-	-	-	++	++
Bioassay	-	-	-	-	+	-
TEM	-	-	-	-	+++	+++
Antibody-based methods	?	?	+++	+++	+++	+++
<i>in situ</i> Hybridization	?	?	+	+	+++	+++
PCR	+++	+++	+++	+++	+++	+++

PLs: postlavae; TEM: transmission electron microscopy; PCR: polymerase chain reaction; -: the method is presently unavailable or unsuitable; ?: the method is available but untested; +: the method has application in some situations, but cost, accuracy, or other factors severely limits its application; ++: the method is a standard method with good diagnostic sensitivity and specificity; and +++: the method is recommended method for reasons of availability, utility, and diagnostic specificity and sensitivity.

白點症病毒 (WSV) 為目前嚴重危害台灣及其他亞洲地區甚至美洲地區之養殖蝦類 (台灣南區魚病中心等, 1994), 在台灣感染包括白蝦、草蝦、班節蝦、砂蝦、紅尾蝦等的病毒。本病傳播迅速, 死亡率最高可達 100 %, 目前尚未發現對白點症具抵抗力之蝦種。

## (二) 診斷：

白點症病毒 (WSV) 之各種診斷監測方法之特異性及敏感度如 Table 3 所示。

### 1. 臨床症狀及病變：

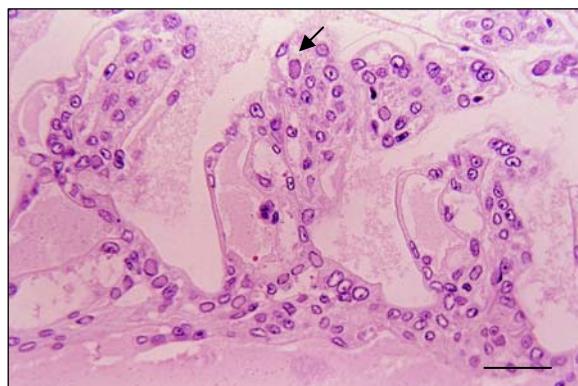
- (1) 急速明顯退料。倦怠, 體力耗弱, 行動遲緩, 浮上水面並靠近池旁。
- (2) 急性期: 頻死期蝦子體色呈現粉紅到紅棕色, 因體表色素細胞的擴展, 因此又有紅病 (Red disease) 之稱。
- (3) 亞急性至慢性型: 蝦體外殼 (外骨骼) 出現白點, 直徑 0.5 ~ 2.0 mm, 為本病特徵性病變。白蝦白點比草蝦、班節蝦不明顯, 通常頭胸甲處之白點比較容易觀察。白點為本病毒感染表皮組織造成鈣鹽之不正常沉積 (Figs. 1 & 2)。白點的出現, 並不一定代表病情已發展到感染末期, 一般若沒有緊迫因子, 受感染而具有輕微白點之蝦, 仍可繼續存活而不發病致死。



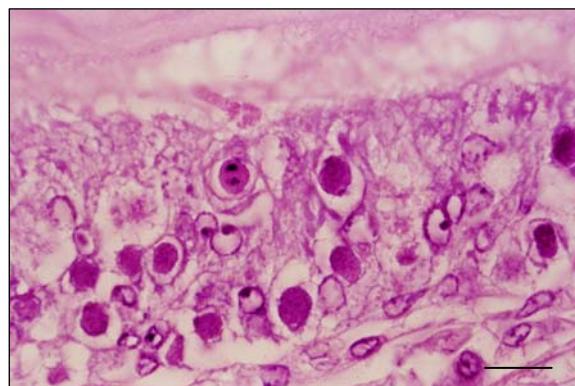
**Fig. 1.** White spot syndrome virus (WSV) infected black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. White spots are distinctively visible on the carapace.



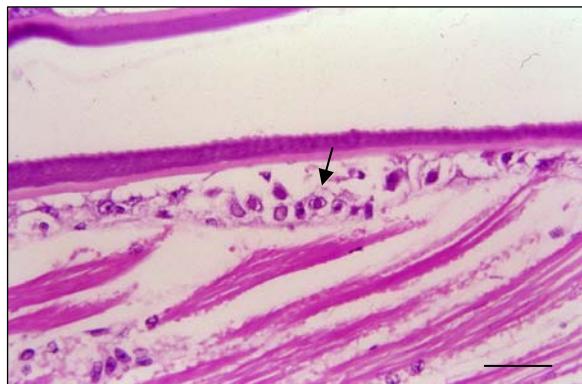
**Fig. 2.** WSV infected Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. White spots on the cuticle are usually not obvious. But when the carapace is raised against the dark background then these white spots become visible.



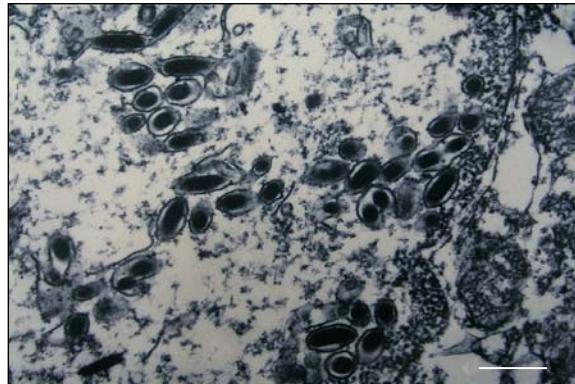
**Fig. 3.** White spot syndrome (WSS). Section of gill secondary lamellae show mild hyperplasia with several basophilic intranuclear inclusions and chromatin margination (arrow). H&E stain. Bar = 40  $\mu$ m.



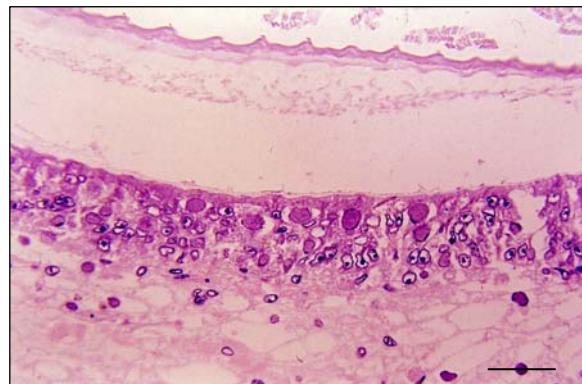
**Fig. 6.** WSS. High-power view of Fig. 5. H&E stain. Bar = 10  $\mu$ m.



**Fig. 4.** WSS. Section of cuticular epithelium reveals prominent nuclear swelling with basophilic intranuclear inclusion and chromatin margination (arrow). H&E stain. Bar = 40  $\mu$ m.



**Fig. 7.** WSS. Electron micrograph of WSV infected hypertrophic nucleus. Many non-occluded rod-shaped, blunt ends virions surrounded by envelope are presented. Bar = 300 nm.



**Fig. 5.** WSS. Note stomach epithelial hyperplasia with apparently swollen nuclei fully developed basophilic intranuclear inclusion and chromatin margination. H&E stain. Bar = 40  $\mu$ m.

## 2. 細胞病理學病變及電子顯微鏡檢查：

白點症病毒對外胚層及中胚層細胞，亦即對上皮細胞及淋巴樣器官或造血組織具有親和性。該被感染之細胞會產生嗜酸性或嗜鹼性核內包涵體 (Figs. 3 ~ 6)。

鰓上皮，前、中腸，軀幹，附肢之上皮及結締組織，淋巴樣器官組織，造血組織細胞，眼睛網膜細胞，肝胰腺結締組織均呈明顯之病變，後腸上皮及結締組織血淋細胞則病變較不明顯。

電子顯微鏡觀察，在核內包含體可見無蛋白質性包容體之類桿狀病毒（non-occluded baculovirus – like virus particle）(Fig. 7)。

### 3. 聚合酶鏈反應 (PCR) :

#### (1) 蝦組織及血淋液之 Nested-PCR 方法：

根據 Lo *et al.* (1996, 1997), 採組織做乳劑抽 WSV DNA 時，注意小心將蝦眼剔除，因已知該組織中含有 PCR 抑制因子。

#### (2) 一階 PCR 引子對 146F1/R1，

146F1: 5'-ACT-ACT-AAC-TTC-AGC-  
CTA-TCT-AG-3'  
146R1: 5'-TAA-TGC-GGG-TGT-AAT-  
GTT-CTT-ACT-A-3'

所增幅之 WSV 產物為 1447 bp。

#### (3) 二階 (nested) PCR 引子對 146F2/R2，

146F2: 5'-GTA-ACT-AAC-TTC-AGC-  
CTA-TCT-AG-3'  
146R2: 5'-TAC-GGC-AGC-TGC-TGC-  
ACC-TTC-T-3'

其 WSV 特異產物為 941 bp。

#### (4) 為確知 DNA 之品質及 PCR 之確實可靠性，應同時進行以下 PCR。

蝦類 (十足類) 特異引子對 143F/145R  
143F: 5'-TGC-CTT-ATC-AGC-TNT-CGA-  
-TTG-TAG-3'  
145R: 5'-TTC-AGN-TTT-GCA-ACC-ATA-  
-CTT-CCC-3'

其產物為 848 bp (N 代表 G、A、T or C)。

陽性對照組 (WSV DNA 模板)

陰性對照組 (無 WSV 及蝦 DNA 模板)

### (三) 防疫：

1. 放養前的養殖池一定要完全曬乾、灑石灰，必要時漂白粉消毒，以徹底杜絕病毒殘留。
2. 放養無 WSV 感染蝦苗，最好選無 WSV, TSV, YHV 及 IHHNV 帶毒之 SPF 蝦苗。
3. 餌料必須無病毒，以避免病毒進入養殖系統。不要以生蝦蟹餵飼種蝦，因為海蟹是 WSV 天然宿主，帶原率極高。WSV 對蟹病原性低，但對蝦則病原性高。種蝦一旦食入帶原海蟹，幾天內即會因病毒在體內大量增殖而死亡。豐年蝦之帶毒率極高，故亦禁止飼餵。
4. 不論雌種蝦或雄種蝦，均需經過病毒篩檢。
5. 一旦發現池中有死亡之蝦體，應立即清除，以免其他蝦噬食而感染。
6. 在養殖過程中，必須定期以 PCR 監測追蹤白點病毒的感染情形。由於 PCR 檢測系統除可早期發現病毒感染外，還可將感染情形分級。若養殖期間發現為輕度感染 (PCR+ ~ ++反應)，養殖戶可採取一些預防步驟，例如降低養殖密度，保持良好水質等，以減輕環境因子所造成的緊迫的衝擊，進而將爆發白點症的機率減低。不過發現為輕度感染的蝦群必須繼續以 PCR 監控，一旦發現有蝦檢體轉變為 PCR 重度正反應 (+++或++++) 時，必須立即採收，否則大量死亡一定會在幾天內發生。定期以 PCR 監控養殖蝦，應可將損失減至最小。
7. 在淡水環境中飼養，白點症病毒發生率降低。
8. 避免不必要的投藥，尤其是藥浴，因投藥亦會造成緊迫。

**Table 4.** TSV surveillance, detection and diagnostic methods

Method	Screening				Presumptive	Confirmatory
	Larvae	PLs	Juveniles	Adults		
Gross signs	-	-	-	-	++	-
Histopathology	-	+++	+++	+++	+++	+++
TEM	-	-	-	-	+	+
RT-PCR	-	+++	+++	+++	+++	+++

Footnotes: see Table 3.



**Fig. 8.** Taura syndrome (TS). *Penaeus vannamei* acutely infected by TS virus are lethargic, have soft shells, with distinct red tail fan.



**Fig. 9.** TS. A close-up view of Fig. 8. tail fan to visualize focal necrosis lesions at the edge.

### 三、陶拉病 (Taura Syndrome; TS)，全名為陶拉徵候群

#### (一) 病原及疫學：

陶拉病毒 (Taura syndrome virus, TSV) 屬單股 RNA 之微小 RNA 病毒 (*Picronavirus*)，無封套 (Envelope) 為裸露之正 20 面體 (Icosahedron) 之核殼體 (Nucleocapsid)，病毒大小 32 nm，線形正向單股 RNA 病毒 (+ ssRNA) 含 10,205 bp 核苷酸之基因體 (Hanson *et al.*, 1995; Bonami *et al.*, 1997; Mari *et al.*, 1998)。

TS 源自中南美，含美國佛州、德州、夏威夷之白蝦。台灣自 1997 年中南美大量引進白蝦後台灣已是 TS 之疫區 (Tu *et al.*, 1999; Yu and Song, 2000)。

#### (二) 診斷：

TSV 診斷監測方法及其特異性及敏感度如 Table 4。

##### 1. 臨床症狀及病變：

- (1) 白蝦 PL (PL1 ~ 12 或更大，約 0.05 ~ 5 公克體重) 及幼蝦感染 TSV 時，會產生嚴重疾病。一般白蝦 PL 放養至養成池後 14 ~ 40 天，會發生急性感染而造成大量死亡。較大蝦隻如早期未受 TSV 感染亦會被感染而發病。
- (2) 甚急性至急性期症狀：倦怠，軟殼，腸內無內容物，身體紅色素增加而變淡紅，尤其尾扇呈紅色明顯，故又稱紅尾病 (Red tail disease)，在尾扇及泳足邊緣呈局部壞死，常可見脫殼期之死亡蝦 (甚急性感染) (Figs. 8 & 9)。

- (3) 慢性及恢復期症狀：急性期耐過後出現，病蝦可能仍有食慾，但體表甲殼有多發性局部黑色斑點病變，有如細菌性殼病 (Shell disease) 之病灶 (Fig. 10)。
- (4) 累計死亡率可達 80 ~ 95 %，但一般約有 60 % 收成率。

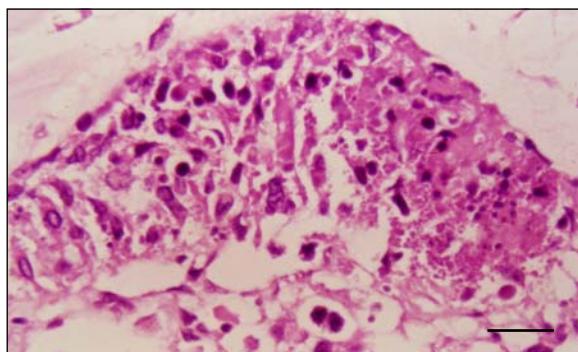


**Fig. 10.** TS. The chronic or recovery phase of TS. Multiple melanized foci of cuticular epithelium necrosis resulted from TSV infection.

## 2. 組織病理學病變：

### (1) 甚急性、急性期病變：

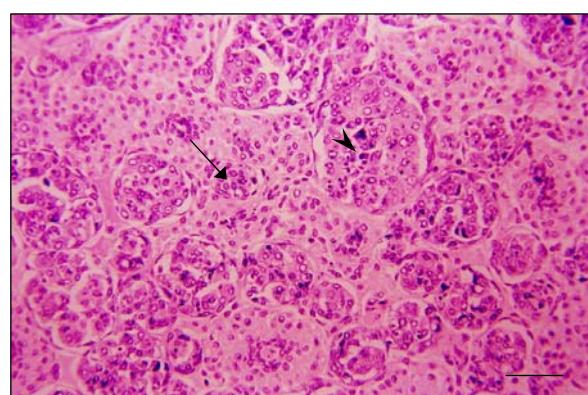
全身多發性壞死病灶，含全身外殼、附肢、尾扇、鰓、食道、胃、後腸之上皮及皮下結締組織。病變細胞核濃縮、核破裂為特徵，胞質呈嗜酸性，內含嗜酸性或嗜鹼性圓形 1 ~ 20  $\mu\text{m}$  包涵體，無血細胞 (Hemocyte) 之浸潤或炎症反應 (Fig. 11)。



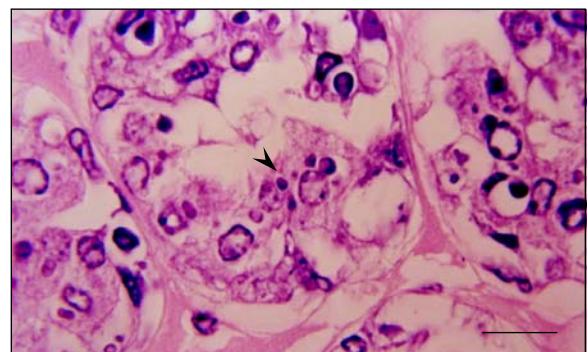
**Fig. 11.** TS. Section of the acute TSV infected necrotic lesions of connective tissue cells with pyknotic and karyorrhectic nuclei and numerous, variable sizes of cytoplasmic inclusions. H&E stain. Bar = 40  $\mu\text{m}$ .

### (2) 慢性、恢復期病變：

多發性體表潰瘍灶可見菌塊及皮下血細胞栓子 (Hemocytic plug) 伴隨結締組織及血細胞浸潤。在淋巴器官組織常見有不具中心管，其外鞘細胞排列呈不規則同心圓之所謂淋巴樣器官圓球 (Lymphoid spheroids, LOS)，該 LOS 內可具有大型胞核而胞質內含有空泡及包涵體之細胞 (Figs. 12 & 13)。



**Fig. 12.** TS. Section of the chronic TSV infected lesion in lymphoid organ (LO). Interspersed among normal appearing LO cords or tissues, which is characterized by multiple layers of sheath cells around a central hemolymph vessel (arrow), are accumulations of disorganized LO cells that form LO spheroids (LOS). LOS lack a central vessel and consist of cells which show karyomagly with basophilic cytoplasmic inclusions (arrow head) and large vacuoles. H&E stain. Bar = 50  $\mu\text{m}$ .



**Fig. 13.** TS. High-power view of Fig. 12. H&E stain. Bar = 30  $\mu\text{m}$ .

**Table 5.** IHHNV surveillance, detection and diagnostic methods

Method	Screening				Presumptive	Confirmatory
	Larvae	PLs	Juveniles	Adults		
Gross signs	-	-	-	-	+	-
Histopathology	-	-	-	-	++	++
TEM	-	-	-	-	+	+
PCR	+	+++	+++	+++	+++	+++

Footnotes: see Table 3.

### 3. 反轉錄聚合酶鏈反應 RT-PCR (Reverse-transcription polymerase chain reaction)

白蝦血淋液如用 10 % 檸檬酸鈉為抗凝劑時，原液使用於 RT-PCR 時，可能產生抑制效果，因此如發現有抑制現象，必須 10 倍稀釋後再檢測。

RT-PCR 應用 Nunan *et al.* (1998) 之方法及引子對 9195: 5'-TCA-ATG-AGA-GCT-TGG-TCC-3' 及 9992: 5'-AAG-TAG-ACA-GCC-GCG-CTT-3'，其產物為 231 bp TSV 基因序列。

#### (三) 防治：

清除 TSV 方法必須依賴無 TSV 感染之繁殖場生產無 TSV 之蝦苗供應養殖，養殖前白蝦養殖區域必須徹底消毒養殖池及所有設備，養殖期間必須注意鄰近養殖場及野生蝦之污染，詳細方法請參照前述之「蝦類病毒性疾病之預防控制」乙節。

### 四、傳染性皮下及造血組織壞死病，又稱矮小變形症 (Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis, IHHN; Runt Deformity Syndrome, RDS)

#### (一) 病因及疫學：

傳染性皮下及造血組織壞死病毒屬細小病毒 (*Parvovirus*)，單鏈 DNA 正 20 面體病毒，病毒大小平均 22 nm，約 4.1 kb (Bonami *et al.*, 1990; Lightner *et al.*, 1983)。

本病毒分布甚廣，美國、中南美、夏威夷、關島、大溪地、新加坡、馬來西亞、泰國、印尼等均為疫區，台灣自 1997 年大量引進中南美白蝦後亦成為疫區 (Bell and Lightner, 1984)。

#### (二) 診斷：

IHHNV 診斷檢測方法及其特異性及敏感度如 Table 5。

#### 1. 臨床症狀及肉眼病變：

本病對藍蝦 (*Penaeus stylirostris*) 感受性高及病原性強，感染後引起嚴重死亡。對白蝦、草蝦、斑節蝦亦可感染，惟均為慢性感染為主。

白蝦感染引起慢性感染為主，感染蝦體型

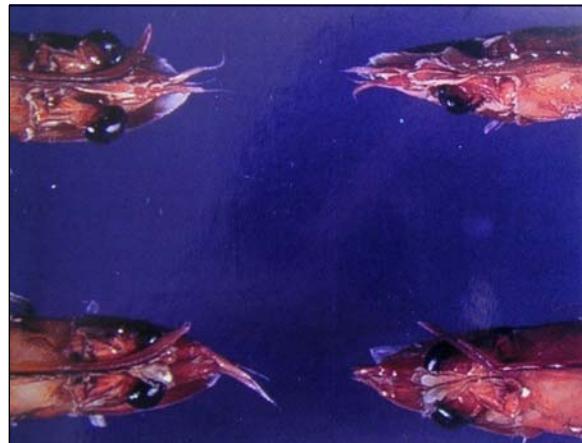
變形明顯，尤其多出現於額角變形彎向一側，第六體節及尾扇變形變小，故又稱為矮小變形症 (Runt deformity syndrome; RDS) (Figs. 14 & 15)。養成池蝦大小參差不齊，產生許多超小體型蝦隻及畸形，其大小變異度達 30 ~ 50 %，造成經濟上損失，因蝦隻仍有食慾而消耗飼料，但蝦隻不會相對地正常長大。

## 2. 細胞病理學病變：

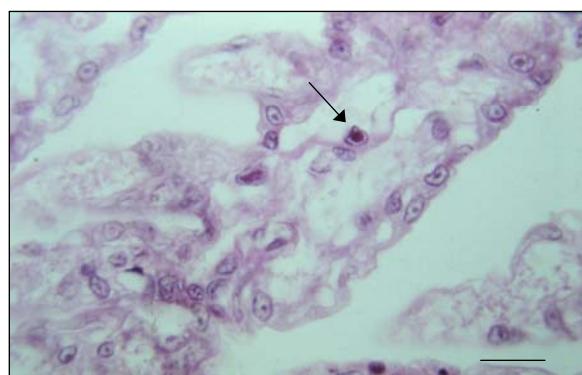
主要感染外胚層及中胚層組織；如外胚層之表皮、前腸、後腸之上皮細胞、中腸上皮（在糠蝦幼蟲及早期 PL）、神經索及神經細胞。中胚層之造血、觸角腺、生殖腺、淋巴樣器官、結締組織及橫紋肌、肝胰腺上皮細胞。主要病變出現細胞核肥大，內含嗜酸性 Cowdry A 型包涵體及核染色質著邊現象 (Figs. 16 ~ 18)。



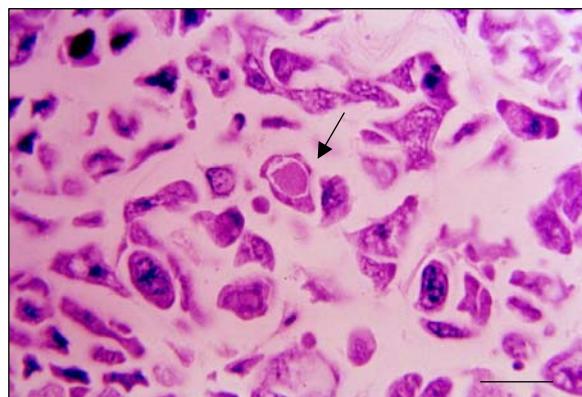
**Fig. 14.** Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis (IHHN). Gross signs of lateral view of IHHN virus infected RDS (Runt deformity syndrome). Cuticular abnormalities of the sixth abdominal segment and tail fan (Davidson's fixative preserved).



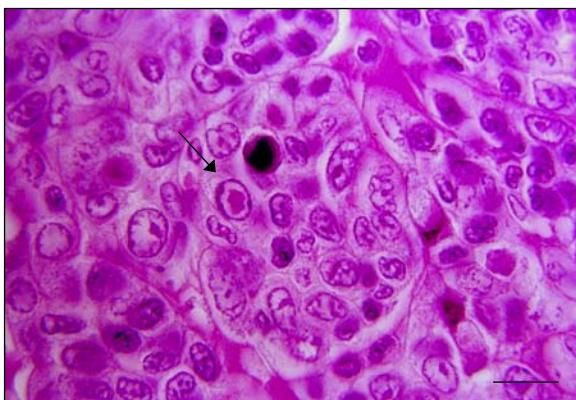
**Fig. 15.** IHHN. Gross signs of dorsal view of IHHN virus infected RDS. Rostrums bent to the left or to the right (Davidson's fixative preserved).



**Fig. 16.** IHHN. Section of IHHNV infected gill lamellae, showing hypertrophied nuclei and the pathognomonic eosinophilic intranuclear inclusions (Cowdry Type A inclusions) (arrow). H&E stain. Bar = 40 µm.



**Fig. 17.** IHHN. High magnification view of hepatopancreas epithelial cells with hypertrophied nuclei and the characteristic Cowdry Type A inclusions (arrow). H&E stain. Bar = 10 µm.



**Fig. 18.** IHNN. High magnification view of hematopoietic tissue also showing the pathognomonic cellular reactions mentioned. H&E stain. Bar = 10 μm.

### 3. PCR :

PCR 依 Lightner (1996) 及 Nunan *et al.* (2000, 2001) 所報告之 GenBank sequence AF218266 及方法，引子對 389F/R 為：5'-CGG-AAC-ACA-ACC- CGA-CTT-TA-3' 及 5'-GGC-CAA-GAC-CAA-CCT-ACG-AA-3'。

其基因產物為 389 bp，如其結果不理想時，則用另外引子對 77012 與 77253R 即 5'-ATC-GGT-GCA-CTA-CTC-GGA-3' 以及 5'-TCG-TAC-TGG-CTGTTTC-ATC-3'。其產物大小為 356 bp。

### (三) 防治：

參考前述之「蝦類病毒性疾病之預防控制」乙節。

## 五、黃頭病 (Yellow Head Disease, YHD)

### (一) 病因及疫學：

黃頭病病毒 (Yellow head virus, YHV) 早期在泰國草蝦發現感染時認為係 B 型細胞質內微粒桿狀病毒 (Type B cytoplasmic granulosis baculovirus) 或 類桿狀病毒 (Baculo-like virus) (Boonyaratpalin *et al.*, 1993; Chantanachookin *et al.* 1993)。由於桿狀病毒為

DNA 病毒，本病毒屬於 RNA 病毒，目前分類為 Nidovirales 目 Roniviridae 科 *Okavirus* 屬 (Mayo, 2002a, 2002b)。

YHV 為單股 RNA 病毒，大小為 150 ~ 200 × 40 ~ 50 nm，其核殼 (Nucleocapsid) 約 15 × 130 ~ 800 nm。

另外，在澳洲發現草蝦感染鰓病毒 (Gill-associated virus, GAV) 及淋巴樣器官病毒 (Lymphoid organ virus, LOV)，該等病毒均屬 YHV 基因分型 (YHV genotypes) (Spann *et al.*, 1995, 1998)。

台灣雖有草蝦發生報告 (Wang *et al.*, 2003)，而未見白蝦發生感染病例，惟本實驗室曾在檢驗白蝦種蝦有本病存在 (董等, 2003)

### (二) 診斷：

YHV 診斷檢測方法及其特異性及敏感度如 Table 6。

### 1. 臨床症狀及肉眼病變：

草蝦種蝦及幼蝦 (Subadult) 感染 YHV 後，病蝦及其鰓呈泛黃色，為高致死率之急性病毒感染症 (Boongalatpalin *et al.*, 1993)。人工感染藍蝦及白蝦均造成急性感染致死，感染後 2 天即食慾消失，昏睡，倦怠沉於池底，尾扇、泳足、走足等泛紅，約 4 ~ 5 天後死亡，致死率高達 100 % (Lu *et al.*, 1994, 1995)

### 2. 組織病理學病變：

罹患 YHV 蝦於外胚層及中胚層組織可見有全身多發性及瀰漫性壞死病灶，細胞呈明顯之核濃縮及核破裂，胞質內圍繞胞核有單一或數目大小不等，圓形之嗜鹼性包涵體，該包涵體呈 Feulgen 陽性反應。常見於淋巴器官，造血組織，血細胞 (Hemocyte)，鰓柱狀細胞及鰓上皮細胞，皮下疏鬆結締組織，肌肉，消化道，觸覺腺，生殖器官，腹部神經及神經節等。早期細胞病變，可見核脹大，染色質著邊。

Table 6. YHV surveillance, detection and diagnostic methods

Method	Screening				Presumptive	Confirmatory
	Larvae	PLs	Juveniles	Adults		
Gross signs	-	-	-	-	+	-
Histopathology	-	-	-	-	++	-
TEM	-	-	+	+	+++	+
RT-PCR	+	+++	+++	+++	+++	+++

Footnotes: see Table 3.

### 3. RT-PCR :

病蝦之鰓，血淋液及淋巴器官均為抽取 RNA 之適當病材。

RT-PCR 如應用 Wongteerasupaga *et al.* (1997) 方法僅能檢出 YHV。而 Cowley and Walker (2000) 方法屬巢式 (Nested) RT-PCR，則可檢出 YHV 及 GAV，其引子對有：GY1: 5'-GAC-ATC-ACT-CCA-GAC-AAC-ATC-TG-3'、GY2: 5'-CAT-CTG-TCC-AGA-AGG-CGT-CTA-TGA-3'、GY4: 5'-GTG-AAG-TCC-ATG-TGT-GTG-AGA-CG-3'、GY5: 5'-GAG-CTG-GAA-TTC-AGT-GAG-AGA-ACA-3'、Y3: 5'-ACG-CTC-TGT-GAC-AAG-CAT-GAA-GTT-3' 以及 G6: 5'-GTA-GTA-GAG-ACG-AGT-GAC-ACC-TAT-3'，引子對 GY5 合成病毒 RNA 之 cDNA。

第一階段 PCR 引子對 GY1 及 GY4，其產物與 GY2，Y3 及 G6 進行第二階段之單管多引子 PCR (Multiplex differential PCR)。第一階段 PCR 產物為 794 bp (YHV 及 GAV 均可產生)。第二階段之鑑別 PCR 產物為 277 bp 時，係由 YHV 所增幅所產生，如為 406 bp 則為 GAV 所增幅之產物。同時有 277 及 406 bp 產物，則為 YHV 及 GAV 混合感染。又第二階段係 Nested RT-PCR，其檢出之敏感度為一階 RT-PCR 之 1000 倍以上。

### (三)防治：

參考前述之「蝦類病毒性疾病之預防控制」乙節。

## 參考文獻

- 台灣南區魚病中心, 中區於病中心, 台南市家畜疾病防治所, 屏東縣家畜疾病防治所, 高雄縣家畜疾病防治所, 宜蘭縣家畜疾病防治所及台東縣家畜疾病防治所 (1994) 台灣草蝦大量死亡病例之病因學, 疫學, 病理組織學及電子顯微鏡觀察之研究. 83 年動物衛生報導, 行政院農委會, 台灣省政府農林廳編, 雲林縣家畜疾病防治所出版, 南投, 37-49。
- Bell, T. A. and D. V. Lightner (1984) IHHNV virus: Infectivity and pathogenicity studies in *Penaeus stylorostis* and *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 38: 185-194.
- Bonami, J. R., M. Brehelin, J. Mari, B. Trumper and D. V. Lightner (1990) Purification and characterization of IHHN virus of penaeid shrimps. J. Gen. Virol., 71: 2657-2664.
- Bonami, J. R., K. W. Hasson, J. Mari, B. T. Poulos and D. V. Lightner (1997) Taura syndrome of marine penaeid shrimp: characterization of the viral agent. J. Gen. Virol., 78: 313-319.
- Boonyaratpalin, S., K. Supamattaya, J. Kasornchandra, S. Direkbusaracom, U. Ekpanithanpong and C. Chantanachooklin (1993) Nonoccluded baculo-like virus, the causative agent of yellow head disease in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Fish Pathol., 28: 103-109.

- Chantanachookin, C., S. Boonyaratpalin, J. Kasornchandra, S. Direkbusarakom, U. Ekpanithanpong, K. Supamataya, S. Sriurairatana and T. W. Flegel (1993) History and ultrastructure reveal a new granulosis-like virus in *Penaeus monodon* affected by yellow head disease. Dis. Aquat. Org., 17: 145-157.
- Chou, H. Y., C. Y. Huang, C. H. Wang, H. C. Chiang and C. F. Lo (1995) Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. Dis. Aquat. Org., 23: 165-173.
- Hasson, K. W., D. V. Lightner, B. T. Poulos, R. M. Redman, B. L. White, J. A. Brock and J. R. Bonami (1995) Taura syndrome in *Penaeus vannamei*: Demonstration of a viral etiology. Dis. Aquat. Org., 23: 115-126.
- Huang, J., X. L. Song, J. Yu and C. H. Yang (1995) Baculoviral hypodermal and hematopoietic necrosis-study on the pathogen and pathology of the explosive epidemic disease of shrimp. Mar. Fish Res., 16: 1-10.
- Inouye, K., S. Miwa, N. Oseko, H. Nakano, T. Kimura, K. Momoyama and M. Hiraoka (1994) Mass mortality of cultured kuruma shrimp *Penaeus japonicus* in Japan in 1993 : Electron microscopic evidence of the causative virus. Fish Pathol., 29:149-158.
- Lightner, D. V. (1996) The penaeid shrimp viruses IHNV and TSV: epizootiology, production impacts and role of international trade in their distribution in the Americas. Rev. sci tech. Off. Int. Epiz., 15: 579-601.
- Lo, C. F., J. Leu, C. H. Ho, C. H. Chen, S. E. Peng, Y. T. Chen, C. M. Chou, P. Y. Yeh, C. J. Huang, H. Y. Chou, C. H. Wang and G. H. Kou (1996) Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. Dis. Aquat. Org., 25: 133-141.
- Lo, C. F., C. H. Ho, C. H. Chen, K. F. Liu, Y. L. Chiu, P. Y. Yeh, S. E. Peng, H. E. Hsu, H. C. Liu, C. F. Chang, M. S. Su, C. H. Wang and G. H. Kou (1997) Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs. Dis. Aquat. Org., 30: 53-72.
- Lu, Y., L. M. Tapay, J. A. Brock and P. C. Loh (1994) Infection of the yellow head baculo-like virus (YHV) in two species of penaeid shrimp *Penaeus stylirostris* (Stimpson) and *Penaeus vannamei* (Boone). J. Fish Dis., 17: 649-656.
- Lu, Y., L. M. Tapay, P. C. Loh, J. A. Brock, and R. B. Gose (1995) Distribution of yellow-head virus in selected tissues and organs of penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. Dis. Aquat. Org., 23: 67-70.
- Mari, J., J. R. Bonami and D. V. Lightner (1998) Taura syndrome of penaeid shrimp : cloning of viral genome fragments and development of specific gene probes. Dis. Aquat. Org., 33:11-17.
- Mayo, M. A. (2002 a) A summary of taxonomic changes recently approved by (International Committee on Taxonomy of Viruses[ICTV] Secretary). Arch. Virol., 147:1655-1656.
- Mayo, M. A. (2002 b) ICTV, virology division news : ICTV at the Paris ICV:Results of the Plenary Session and the Binomial Ballot. Arch. Virol., 147 :2254-2260.
- Nakano, H., H. Koube, S. Wmezawa, K. Momoyama, M. Hiraoka, M. Inouye and N. Oseko (1994) Mass mortality of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: Epizootiological survey and infection trails. Fish Pathol., 29: 135-139.5.
- Nunan, L. M., B. T. Poulos and D. V. Lightner (1998) Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) used for the detection of Taura Syndrome Virus (TSV) in experimentally infected shrimp. Dis. Aquat. Org., 34: 87-91.
- Nunan, L. M., B. T. Poulos and D. V. Lightner (2000) Use of polymerase chain reaction (PCR) for the detection of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in penaeid shrimp. Mar. Biotechnol., 2: 319-328.
- Nunan, L. M., S. M. Arce, R. J. Staha and D. V. Lightner (2001) Prevalence of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) and white spot syndrome virus (WSSV) in *Litopenaeus vannamei* in the Pacific Ocean off the coast of Panama. J. World Aquat. Soc., 32: 330-3346.
- Spann, K. M., J. E. Vickers and R. J. G. Lester (1995) Lymphoid organ virus of *Penaeus monodon* from Australia. Dis. Aquat. Org., 23: 127-134.

- Spann, K. M., J. A. Cowley, P. J. Walker and R. J. G. Lester (1998) A yellow-head-like virus form *Penaeus monodon* cultured in Australia. Dis. Aquat. Org., 31: 169-179.
- Tu, C., H. T. Huang, S. H. Chuang, J. P. Hsu, S. T. Kuo, N. J. Li, T. L. Hus, M. C. Li and S. Y. Lin (1999) Taura syndrome in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. Dis. Aquat. Org., 38:159-161.9.
- Tung, M. C., C. S. Lee, K. P. Sung, P. C. Chuang and S. S. Tsai (2003) Unpublished data.
- Walker, P. J. and J. A. Cowley (2000) Viral genetic variation : Implications for disease diagnosis and detection of shrimp pathogens. In DNA-based Molecular Diagnostic Techniques: Research Needs for Standardization and Validation of the Detection of Aquatic Animal Pathogens and Diseases (P. J. Walker and R. Subasinghe, eds.), Report and Proceedings of the Expert Workshop on DNA-based Molecular Diagnostic Techniques, Bangkok, Thailand, 7-9 February 1999. FAO Fisheries Technical Paper No. 395, FAO, Rome, Italy, 54-59.
- Wang, C. H., C. F. Lo, J. H. Leu, C. M. Chou, P. Y. Yen, H. Y. Chou, M. C. Tung, C. F. Chang, M. S. Su and G. H. Kou (1995) Purification and genomic analysis of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon*. Dis. Aquat. Org., 23: 239-242.
- Wongteerasupaya, C., J. E. Vickers, S. Sriurairatana, G. L. Nash, A. Akarajamorn, V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul and T. W. Flegel (1995) A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. Dis. Aquat. Org. 21: 69-77.
- Wongteerasupaya, C., V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul and T. W. Flegel (1997) Detection of yellow-head virus (YHV) of *Penaeus monodon* by RT-PCR amplification. Dis. Aquat. Org., 31: 181-186.
- Yu, C. I. and Y. L. Song (2000) Outbreaks of Taura syndrome in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. Fish Pathol., 32: 21-24.