

魚類免疫與疫苗

林式修

水產試驗所水產養殖組

一、魚類免疫

免疫為維持生物體的恆常性，可以識別自己與非自己組織並排除非自己組織的機制。所有脊椎動物都具有免疫系統，能對體外侵入的大型分子或稱抗原(如細菌、病毒等)產生反應，如產生抗體或刺激活化其白血球，而與此抗原產生非常專一性的反應以消滅它；雖然魚類沒有骨髓或淋巴結，但擁有胸腺、腎臟、脾臟及黏膜免疫組織等，共同組成魚類免疫系統的重要器官。板鰓類、軟骨類及硬骨類等不同形態魚類的淋巴骨髓組織如圖 1 (Roitt, et al., 1996) 所示。

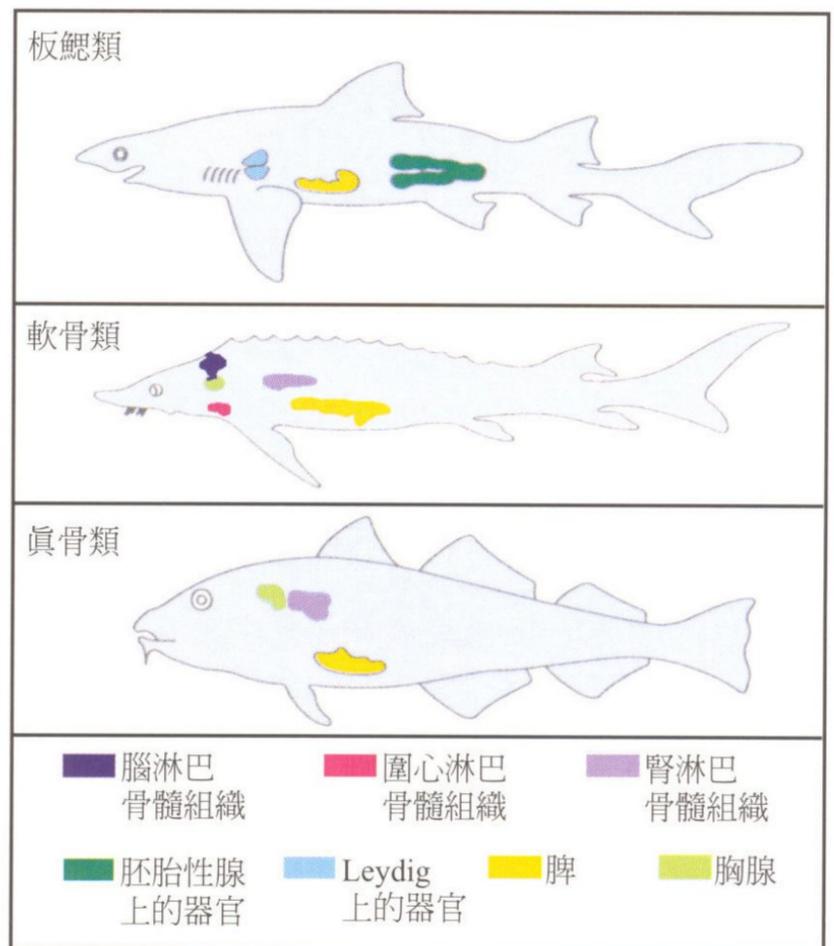


圖 1 不同形態魚類的淋巴骨髓組織

魚類在經由各種抗原刺激後，會產生特異的細胞性與體液性免疫反應 (Iwama and Nakanishi, 1996)，並產生記憶細胞，下次再遇到同一抗原時，能迅速、大量的產生免疫反應而消滅它，此為二次免疫反應。

當魚以抗原浸泡後，抗原成分由鰓中之巨噬細胞 (macrophage) 所攝取，經血液系統送達脾臟、腎臟及心外膜中之黑色素巨噬細胞中心 (melanomacrophage centers)，有些小魚則會到達胸腺，這些免疫器官中的淋巴球 (細胞) 隨後暴露於抗原而開始產生細胞性 (cell-mediated, T 細胞) 或抗體 (體液) 性 (antibody-mediated ; humoral, B 細胞) 免疫反應 (Ellis, 1998)。初級反應來自胸腺 T 細胞，在鱒魚如溫度高於 4°C 即具此活動力且持續時間較長。胸腺可能是 T 細胞及 B 細胞的起源處。硬骨魚類似乎僅有一個種類的凝集性抗體，即免疫球蛋白 IgM，可分為具有四個次單元組成的 IgM 及單一單元的 IgM 等。魚類屬於脊椎動物，具有特異及非特異性免疫系統 (各含體液及細胞性免疫)；蝦貝類則屬於無脊椎動物，僅具非特異性免疫系統 (亦各含體液及細胞性免疫)，但缺乏特異性免疫的抗原—抗體反應 (Anderson, 1992)。

二、魚類疫苗

因為高密度、單一養殖、搬運等導致養殖魚類很容易生病，只要疾病一發生，因在水中環境，傳播容易，速度非常快，是故魚病的控制在養殖業上很重要，其方法有隔離、化學療法、選殖抗緊迫、抗病基因魚及使用疫苗等，使用疫苗可減少抗生素的使用量，可以中止魚病的進行與傳播，對環境及生態的影響最少，是為魚病控制與健康維持的最好選擇之一。

疫苗為用致病性已減弱、消失或已經死亡的細菌或病毒等抗原所製成的一

種懸浮液或萃取成分，當其進入魚體，可刺激魚體產生主動免疫，不會產生副作用，下次再受到同一病原感染時，可立即產生防禦作用，預防傳染病。Duff 在 1942 年於 *Journal of Immunology* 發表第一篇有關使用氯仿 (chloroform) 不活化癩瘡病 (病原：*Aeromonas salmonicida*，病名：Furunculosis) 菌體之有效口服疫苗文章，之後 20 年間係利用新發現抗生素作為疾病控制的主要利器，直到 1976 年美國才先後核准紅嘴病 (病原：*Yersinia ruckeri*，病名：Enteric redmouth, ERM) 及弧菌症 (病原：*Vibrio anguillarum*，*V. ordalii*，病名：Vibriosis) 等抗五種細菌疫苗之上市，且具相當良好保護效果，而奠定了魚類疫苗發展的基礎。癩瘡病疫苗在 50 年後 (1992 年)，正式為英國蘇格蘭及挪威確立具有某種程度保護力的實用疫苗。只發生在挪威養殖大西洋鮭的冷水弧菌症疫苗，最近的田間實驗獲得成功，不久的將來可望商業化上市 (Ellis, 1997)。

不同養殖環境可採用不同的方法以疫苗免疫魚類，目前常採用的方法有浸泡 (含噴灑)、口服或注射的方式進入魚體，商業化疫苗目前已使用於鮭鱒類、鯉魚及龍蝦等。腹腔注射可產生最高之免疫力，口服疫苗只能產生最低之免疫力，而浸泡及噴灑法能產生中等程度的保護作用。實驗顯示體重低於 1 g 之魚若可進行疫苗接種，鮭鱒類可能尚未發展出免疫能力，而體重高於 2.5 g 的魚則可得到較佳的反應；日常處理上之最適大小通常建議採用 4 g 的魚。在疫苗的免疫反應方面，考慮魚體大小比其年齡更

為重要；進行疫苗接種的水溫不可低於 5~6°C，最好在該魚種之最適生活水溫範圍內。接種後達到保護效果之抗體量所需時間依溫度而定，例如以疫苗浸泡 5 秒，魚在 10°C 時於 10 天內產生有效性保護，18°C 時僅需 5 天即可產生有效性保護。一般認為疫苗接種後 14 天，魚體便足以產生有效的免疫 (Ellis, 1998)。

免疫力持續期間顯然是依魚體大小而定。在魚體重 1 g 時施行疫苗接種，其免疫力持續期間約 120 天；魚體重 2 g 時施行接種，則免疫力持續期間約 180 天；而如鮭鱒魚類體重大於 4 g 時施行接種，則免疫力持續期間超過 1 年。

免疫力持續期間也依給予的路徑而定，如表 1 (Gudding, et al., 1997)、表 2 (Ellis, 1998)。在實驗上，雖然浸泡方式的給予路徑，因省人工而成本較低，但魚體最佳免疫表現為腹腔注射的給予路徑。腹腔注射以少量疫苗即可得快速，且較可靠的保護效果，但是比較耗費人力。在蘇格蘭，一個熟練的人員利用半

表1 魚類疫苗使用路徑之比較

	浸泡	注射	口服
操作	容易	中等	簡單
緊迫	輕微	中等	無
大小	不拘	>15 g	不拘
勞力	不貴	密集	無
有效性	佳	極佳	普通
保護期間	3~12月	12~24月	2~4月

表2 疫苗稀釋比率及使用時間

路徑	疫苗稀釋比率	使用時間
浸泡	1:3、1:10、1:100	5~60秒
藥浴	1:500、1:5000	1小時以上
噴灑	1:3、1:10、1:100	2~5秒
注射	不稀釋 (0.1 ml)	直接注射
口服	混入飼料	1週以上

自動注射系統，每小時可注射約 1000~2000 尾 20 g 魚；在較差環境及不熟練工人操作下，每小時至少也可注射約 600~700 尾魚。目前在挪威已經開發使用自動注射系統，速度當可更快，但魚如小於 15 g 則無法注射。

浸泡為使用於每一養殖場的一種成本較低且有效的技術，首先使用者為高張滲入法，此為一兩階段方法：先將魚浸於高滲透壓水液然後轉入對魚會造成緊迫之疫苗水液，接著發展出較不具緊迫性及傷害性的直接浸泡法，幾年後藥浴法、噴灑法及沖洗法等陸續被開發、使用。

口服疫苗應該是養殖業者使用的理想路徑，它無緊迫且不需額外的工作時間，只要將疫苗混入飼料中即可，適合各種大小體型，缺點是需大量疫苗，也不知道每尾魚的攝取量。魚的腸道區域對疫苗的攝取可能在末端部份，鮭鱒類胃的酸性分解傾向會使抗原在通過時不活化。目前已有許多研究者嘗試開發各種保護性口服疫苗。

(一) 魚類疫苗的開發

養殖業者希望使用的疫苗既便宜、易於使用又有效，而製造廠商則須考慮疫苗之市場及利潤，所以疫苗的組成及製備需儘量單純或可考慮多價單劑使用之疫苗，這些都是疫苗在開發上應考慮的問題。現已商業化疫苗可有效防治 *Aeromonas salmonicida*、*Yersinia ruckeri*、*Vibrio anguillarum*、*V. ordalii*、*V. salmonicida* 及 *Rhabdovirus carpio* 等病原菌引起之魚病 (Ellis, 1998)。

(二) 佐劑 (adjuvants)

過去使用在哺乳動物及家禽的大多數疫苗之佐劑皆顯現其重要性，目前已有使用礦油及 glucans 兩種佐劑之魚類疫苗，效果良好。第一個魚病使用的佐劑為 FIA (Freund's incomplete adjuvant)，可使抗 *A. salmonicida* 之抗體在鱒魚體內維持 2 年之久，沒使用本佐劑的鱒其抗體只能維持 6 個月。曾使用之佐劑有 FCA (Freund's complete adjuvant)、Aluminium adjuvants 及 Cholera toxin β -subunit (CTB)。如何減輕副作用，是今後魚類疫苗試驗中佐劑或免疫刺激物應注意及研究之處 (Gudding et al., 1997)。

(三) 免疫刺激 (賦活) 劑 (immunostimulants)

在魚類成功使用的免疫刺激劑，多為使用腹腔注射得到的試驗結果，如已殺死的 *Mycobacterium butyricum* 細胞與佐劑一起使用有相乘效果。某些種類如 β -1,3-glucan 則已經實際用做飼料添加劑或疫苗之佐劑。

酵母菌或黴菌細胞衍生物作為水產生物之免疫刺激劑，此類衍生物在多年前僅小規模地與 levamisole 一起作為佐劑使用，但目前萃取自酵母 *Saccharomyces* spp. 細胞壁的葡聚糖 (β -glucan) 被強烈地主張具免疫刺激功能。目前有些免疫刺激劑也被當成佐劑使用，以輔助疫苗接種之免疫效果。葡聚糖類 (β -glucans) 曾被用做疫苗的佐劑及飼料的添加劑，而且在上述兩種方式中皆被認為可增強抵抗力及反應。其作用機制可能是由於葡聚糖會增加水產生物體內溶菌酵素

(lysozymes)、吞噬細胞 (phagocytes) 及補體 (complement) 的活性，是屬於非特異性防禦能力的增強。最近幾年來，許多研究者試驗以 β -glucans 來增強魚體或蝦體對抗各種疾病的非特異性免疫能力 (Olivier et al., 1986)。目前 β -glucans 之有效成分、劑量、來源形式、給予路徑 (方法) 及作用模式雖然仍未完全明瞭，但大致上認為使用本類產品於水產養殖生物，可輔助疫苗之功效，避免因捕撈、運輸、內因性生理變化 (性成熟、轉型或蛻殼等) 及環境變化等緊迫因子所造成之二次病原感染。

革蘭氏陰性菌細胞壁上的 lipopolysaccharides (LPS, 脂多醣, O-antigen), 被認為是很強的魚類免疫刺激劑，它對哺乳動物是有毒的內毒素，但在高劑量下對魚類仍不具毒性，因為魚體會對它產生特異性及非特異性免疫反應。

(四) 疫苗開發

近年來由於分子生物技術的進步，目前已有將魚類病毒 (IHNV 及 VHSV) capsid glycoprotein (殼醣蛋白, 為免疫注射鱒後, 具免疫保護性之病毒表面抗原) 基因轉殖入不具毒力之癩瘡病原菌 *Aeromonas salmonicida* 變異株中, 再以此轉殖過的菌株生產製備成活菌疫苗, 並於魚體免疫後可有效對抗各相關病原體的試驗報告。

在挪威, 因疫苗之大量接種, 使得用於養殖大西洋鮭魚的抗生素量, 由過去每年約 48 噸降為約 1 噸, 由此可見成功使用魚類疫苗的顯著效應。

三、展望

人類對動物性蛋白質之需求日益增加，隨著人口的不斷成長以及陸地資源逐漸受限而轉向海洋尋求蛋白源。然而海洋漁撈因過漁及環境變遷等因素，產量也日益萎縮，水產養殖遂成爲重要的生產方式。預計 2020 年，水產品之供給量需增爲目前之 7 倍才足夠消費。近年來，海洋環境的各種污染，除了影響生態外，也與各種養殖魚蝦貝類的疾病爆發息息相關，而疾病的頻繁出現，成爲此產業發展的一個重要限制因子。選擇良好水源或海域進行養殖，以及對可能發生的疾病做適切的防治因應，就顯得十分重要。

疫苗只需接種一次，但並不是百分之百有效，必要的時候仍需要一些抗生素補助。無論如何，使用可以減少罹病及死亡率、改善成長情形、減少藥物使用量及更有效利用養殖設備，再將多餘的時間與資源投入於改善養殖效率，良好的養殖場管理，例如維持良好養殖環境及水質、購入健康種苗、避免養殖密度過高、必要時使用有益生物製劑(疫苗、免疫刺激劑或有益菌及相關製劑)及投餵營養均衡與衛生之飼料或餌料等，也就是所謂的「預防勝於治療」，最後能達到最有效的疾病控制與管理模式。當然，不同規模的養殖場、不同的從業人員及不同的國家地區對魚類之保健措施亦不同，但目標都是如何讓養殖成功且確保其利潤，使產業得以永續經營。