

1993—1994年对虾暴发病的流行病学研究

蔡生力 黄 捷 王崇明 宋晓玲 孙修涛 于 佳 张 岩 杨丛海

(黄海水产研究所, 青岛 266003)

摘 要 研究了山东省1993—1994年对虾暴发性流行病的群体病症及其发展,分析了该病的地区、时间、种间分布及个体差异。结果表明:典型的虾池发病历时一周,死亡率达90%以上;凡虾池密集(>70公顷/公里海岸线)、放苗量大(45—60万/公顷)、投入高(45,000—75,000元/公顷)的地区发病早、损失大。发病时间主要在6—7月。1993年病程短而急,形成一个发病高峰,近似流行病学的偏态分布(对数常态分布);1994年病程长而缓,部分地区形成两个高峰。根据流行病学原理推算了1993年青岛流亭对虾暴发性流行病的平均潜伏期(6.02天)和暴露日期。依据107个样品的切片分析,证实对虾暴发性流行病的病原为皮下及造血组织坏死病毒(Hypodermal and hematopoietic necrosis baculovirus, HHNBV)。还讨论了流行病发生与环境因子,如温度、溶氧、pH、浮游生物、放苗密度以及投饵等之间的关系。

关键词 对虾,暴发性流行病,病毒,流行病学

对虾养殖业是我国沿海经济的重要产业,对我国沿海经济发展起着重要作用。我国养殖对虾产量连续几年位居世界前列[岑 丰, 1993]。1993—1994年我国沿海地区发生了严重的对虾暴发性流行病,山东省与其它沿海省市一样,虾池大面积发病、绝产,损失十分严重[陈宪春, 1994]。自1993年6月山东省出现对虾暴发性流行病以来,我们对该病的流行病学规律进行了调查和研究,现将研究结果报导如下。

1 材料与方法

1.1 对虾的采样、制片与病理学统计

用于光镜组织切片的样品以 Davision's AFA 固定液[Bell, 1988]固定,按常规方法进行制片,经成熟的 Ehrlich 酸性苏木精[刘介眉等, 1983]染色,1%伊红酒精(95%)溶液复染,中性树胶封片,对切片的观察结果进行统计分析。

1.2 对虾流行病病症及发病虾池统计分析

现场观察对虾流行病的群体病症,以走访询问方式了解某一地区的发生进程,统计发病虾池数量,平均潜伏期和暴露日期的推算按耿贯一[1989]的方法进行。

1.3 对虾发病与体长的关系

选取正在发病的虾池,随机取虾样200尾,根据发病、死亡情况分类,分别测量各虾体长,

进行统计分析。

1.4 人工投喂感染试验

6个30L玻璃缸,其中3个缸各放5尾中国对虾,另3个缸各放5尾斑节对虾,每日投喂两次患病死虾,日换水1/2,连续充气。虾发病濒死时用 Davision's AFA 固定,制片同1.1。

2 结果与讨论

2.1 虾群的病症发展

对虾暴发性流行病是一种病程短、死亡率高的疾病。据虾农反映,从发现死虾到全池覆灭只有2~3天时间。细致的观察可发现,在典型的发病池,从发现少量对虾可疑病症到大部份对虾死亡历时约一周(图1)。发病时,首先引起人们注意的是在对虾巡池时离群和浮游的虾增多,并多为空胃,1~2天后池边可见不少虾呈虚弱状、静卧池底、对外界的刺激反应逐渐迟钝、甲壳易被揭开而不粘真皮、部分病虾甲壳上有十分明显的白斑,多的可达20余个,白斑直径0.5~2.5mm。出现以上现象后,对虾死亡数量迅速增加。濒死对虾血液不凝集,部份对虾体表发红,腹节肌肉微泛白,肝胰腺颜色变淡、萎缩乃至溃败。

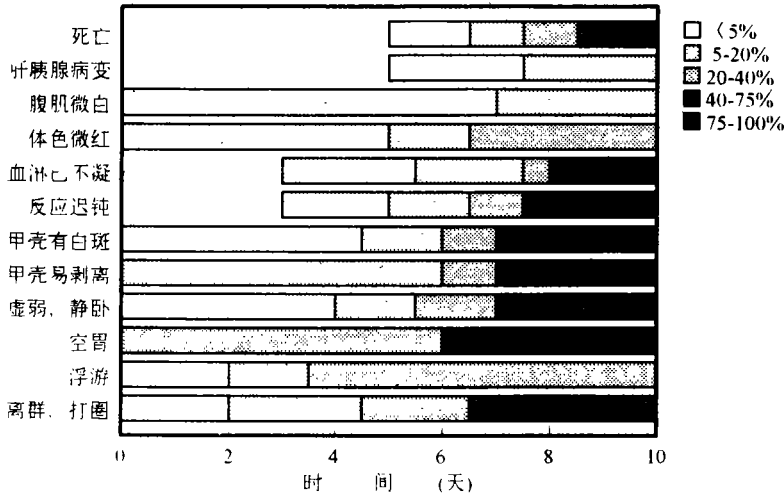


图1 对虾暴发性流行病典型发病池病症发展与发病时间的关系

Fig. 1 The relationship between maladies and time in a typical pond with the explosive epidemic disease of prawn

2.2 对虾暴发性流行病的分布规律

山东省对虾暴发性流行病的发病情况与沿海其它省市尤其是北方诸省市的情况相似。

2.2.1 地区分布

山东省对虾暴发性流行病,南起日照北到滨州,几乎涉及全省各养虾县市,但形成的危

害差异较大。

凡虾池密集拥挤,万亩成片,尤其是往年养虾效益好,产量高的地区发病早,来势猛,面积广,损失大。如莱州湾内的寿光、昌邑、莱州,即墨市的丁字湾,青岛市的胶州湾,日照市的丝山,涛雒等地均属这一类型。这些地区的显著特点是每公里海岸线所承载的面积大,多数在千亩以上,或是虾池位于湾内,或是几千亩甚至上万亩共用进排水渠道,形成一池发病,邻池遭殃的局面。更兼许多地区历年高产,放苗量大(45~60万/公顷),投入高(45,000~75,000元/公顷),大量投喂鲜活饵料,相应的是大换水,一旦对虾暴发性流行病发生,几乎无一幸免。

反之,一些虾池分布稀疏、历年产量低、效益差的地区发病明显轻或晚或基本没发病,如黄河三角洲的滨州地区,大沽河边的胶州地区等。这些地区或是因盐度低,或是水质受污染,换水条件差,只能靠早早蓄水,有限换水来维持低水平养虾,放苗密度低(45,000~75,000尾/公顷),投饵少,换水量小,与外界交换不多,即使邻近地区发病,也不致于很快受感染。

2.2.2 时间分布

1993年山东省对虾流行病的暴发时间主要是6~7月,较早的是寿光,在6月中旬;较晚的是青岛等地,在8月上旬。在同一相对独立的养殖区域内,大部份虾池10~15天内发病出池,形成一个峰值,近似流行病学的偏态分布(对数常态分布)[耿贯一,1989](图2)。1994年发病时间略前移,大部分地区在6月上旬至7月中旬。与1993年比较,同一养殖区域发病期较长,一般迁延一个多月。值得注意的是,有的地区在前一个峰值过后,幸存的虾池到8月底9月初又有一次流行病发生,形成一个较小的峰值(图2),如青岛流亭、胶南泊里等地。

2.2.3 种间分布

山东省沿海地区主要养殖的是中国对虾(*Penaeus chinensis*),部分地区也养殖了少量的日本对虾(*Penaeus japonicus*)或斑节对虾(*Penaeus monodon*)。1993年,普遍反映的是日本对虾易于中国对虾感染病毒,如江苏干榆首先发病的是从福建购进苗种的日本对虾,然后传染给邻池中国对虾,进而南北蔓延。同一现象也发生在山东寿光、昌邑、河北唐山,辽宁大连等地。而1994年山东不少地区如牟平、文登、莱州等地养殖的日本对虾发生流行病的情况比中国对虾明显晚或轻。因此,单按某年或某一

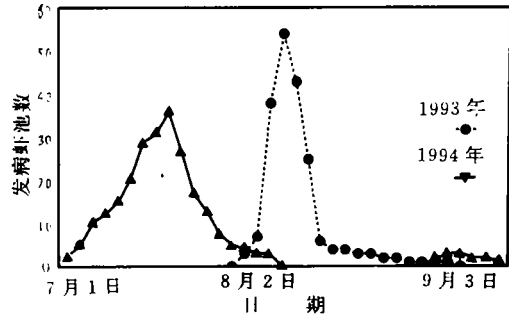


图2 1993—1994年青岛流亭虾病发生时间与池数

Fig. 2 Development of the explosive epidemic disease of prawn at Liutin Qingdao during 1993 and 1994

区域的情况,较难分析哪种虾更易发生对虾暴发性流行病,但1993年日本对虾先发病的主要原因,可能与苗种来源于暴发性流行病早发地区的福建省(3~4月)有很大关系。

1993年青岛流亭等地养殖的斑节对虾,在同样养殖条件下,发病比中国对虾晚近1个月,而发病症状基本相同。在实验室人工投喂病虾感染两个不同品种对虾的试验中,中国对虾死亡率高于斑节对虾(图3)。

2.2.4 个体差异

在虾池发病初期,同一虾池中的大虾先于小虾死亡。1993年随机取样测量牟平一个刚发病虾池214尾虾(其中85尾病虾,75尾死虾,54尾正常虾)的体长发现,平均体长正常虾为5.6

cm, 病虾为6.0 cm, 死亡虾为6.2 cm (图4)。

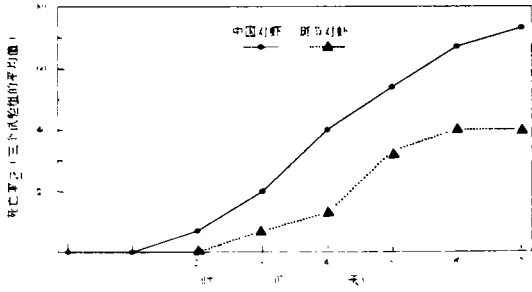


图3 两种不同对虾投喂病虾人工感染试验结果
 Fig. 3 Artificial infection of two kinds of Penaeid prawn by feeding with disease prawn

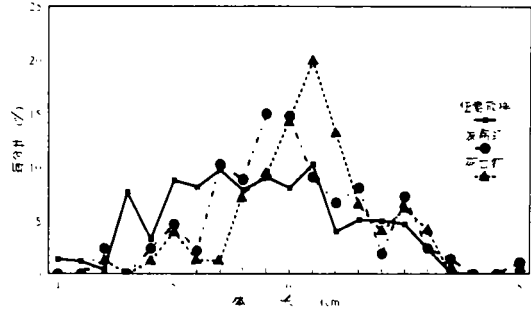


图4 正在发生对虾暴发性流行病虾池中
 对虾的体长分布

Fig. 4 Distribution of prawn length in a pond contracting the explosive epidemic disease of prawn

个体差异还表现为另一普遍现象：一个虾池发生暴发性流行病后，其对虾的累计死亡率一般不是100%。发病后，多数虾池可有一定数量的虾活下来。如1993年，日照石臼一养虾户有4个虾池，共5.3公顷，放苗120万尾，虽然对虾暴发性流行病已发生，但未出池，经半月左右，4个池均有一定数量的虾存活，合并于一池养殖，最后存活12 cm左右商品虾约13万尾，存活率达10%。

2.3 平均潜伏期和暴露日期

1993年，山东省各养殖区域对虾暴发性流行病的发生大多突然而剧烈，基本符合流行病学的偏态分布—对数常态分布规律。

据1993年青岛流亭养殖区的统计资料(表1)，按数理统计百分位数法[耿贯一,1989]计算

表1 1993年青岛流亭对虾暴发性流行病发生时间与发病池数

Table 1 Dates and quantity of ponds on the explosive epidemic disease of prawn at Liutin Qingdao in 1993

日期	发病池数	累计发病率(%)	日期	发病池数	累计发病率(%)
7月28日	0~5	0.70	8月5日	40~50	66.20
7月29日	0~5	1.41	8月6日	20~30	73.24
7月30日	5~10	3.52	8月7日	20~30	80.28
7月31日	5~10	5.63	8月8日	10~20	84.51
8月1日	20~30	12.68	8月9日	0~5	85.82
8月2日	40~50	25.32	8月10日	0~5	86.52
8月3日	50~60	40.85	...	—	—
8月4日	40~50	53.52	8月30日	0~5	100.00

出，从7月27日开始，其16%虾池发病时间(m_1)为第7.26天；50%发病时间(m_0)为第9.72天；84%的虾池发病时间(m_2)为第13.88天；从而按流行病学原理*可推算出该地区流行病发生的

* $X = (m_2 - m_0)(m_0 - m_1) / [(m_2 - m_0) - (m_0 - m_1)]$; 暴露日期 = $m_0 - x$ 。

平均潜伏期(x)为6.02天,暴露日期为第3.7天。所求得潜伏期的结果与人工投喂感染的试验结果相符(黄 健等,1993a)。

从推算的暴露日期看,该地区大部份虾池受感染的日期约为7月28~29日,当时正值流亭连降大暴雨,个别虾池因投喂来自寿光等地发病区的鲜活饵料而开始发病。这些发病虾池排水,很易传播病原感染邻池。

1993年对虾暴发性流行病的剧烈发生,很大程度上是因为虾农对暴发性流行病的传播途径和发病机制了解甚少,盲目投喂鲜饵,大排大灌,促成了该病流行所需条件,使病情加速。当然在后期也有不少虾池出池并不是因病,而是因为对发病的错误判断或恐惧心理。1994年,虾农有一定的思想准备,采取了一定的措施,如少换水,不喂鲜饵等,减少了病原的传播,稳定了虾池的理化环境,该病的流行机制发生了一些变化,病的发生便较为缓和,其规律不完全符合流行病学的偏态分布。由于环境因素影响的不同,导致各地发病虾池的潜伏期有很大程度上的差异。

2.4 病因分析

2.4.1 传染性病原

自1993年6月中旬山东省出现对虾暴发性流行病以来,我们对病虾进行了病理学研究,通过光镜观察,发现对虾皮下组织(包括前肠上皮、后肠上皮、真皮、鳃等)、造血组织、结缔组织、触角腺、血细胞等的胞核内有包涵体样物质。电镜下,该包涵体样物质实际上是病毒发生基质,病变组织的细胞核内存在着大量的杆状病毒。该病毒无包涵体,属C型杆状病毒亚群,通过与已报道的其它对虾病毒的比较,我们认为,这是一种新的对虾病毒,定名为皮下及造血组织坏死杆状病毒(Hypodermal and hematopoietic necrosis baculovirus, HHNBV)(黄 健等,1993b)。

自1991年7月至1993年9月,共采集并切片分析了107个对虾样品(表2),从分析结果可看

表2 1991—1993年所采集的各类发病情况的中国对虾样品的病理学调查

Table 2 Investigation on pathology of *Penaeus chinensis* in different condition of disease collected from 1991 to 1993

	样品数	HHNBV		HPV		细菌性病变	
		阳性数	阳性率	阳性数	阳性率	阳性数	阳性率
1991—1992年	46	0	0%	16	35%	—	—
1993年未发病地区	76	0	0%	2	8%	2	8%
1993年发病地区未发病池	15	1	7%	1	7%	0	0%
1993年发病地区发病池	20	19	95%	3	15%	3	15%

注:样品采自山东省寿光、莱州、牟平、崂山、胶州、日照等地。发病与未发病地区及虾池以采样前后10天内未发现典型暴发性流行病病虾为准。HPV 阳性以细胞核内包涵体的感染率大于1%为准。细菌性病变指病理切片中观察到肉芽肿、菌团等,对虾死亡后,细菌非特异性增殖不算在内。

(1)黄 健等,1993a.对虾暴发性流行病病原的人工感染研究.全国人工养殖对虾疾病综合防治及环境管理学术研讨会。

(2)黄 健等,1993b.杆状病毒的皮下及造血组织坏死——对虾暴发性流行病的病理学.全国人工养殖对虾疾病综合防治及环境管理学术研讨会。

出, HHNBV 感染阳性率与对虾暴发性流行病的发生有极显著的相关性, 而 HPV(对虾肝胰腺细小病毒)及原发性的细菌感染与该病无相关性。这说明 HHNBV 是这场对虾暴发性流行病的病原。

2.4.2 环境因子

对虾暴发性流行病的发生与多种因素的作用有关, HHNBV 感染是其必要条件, 而温度、溶解氧、pH、浮游生物、放养密度、和营养条件等构成了其充分条件。这场流行病从时间上看是由南向北推移的, 福建3~4月份, 浙江4~5月份, 江苏5~6月份, 山东以北6~7月份。这种现象固然有病原从南到北传播的可能, 但与各地温度升到某一范围, 适宜病毒大量繁殖关系更为密切。山东省各地虾病的暴发时间多在6月下旬至7月上旬, 此时水温一般在25℃左右。经过第一次暴发后, 幸存下来的虾一般在8月份高温季节能安全生长, 至9月初, 水温降至25℃左右, 流行病又再次发生, 只是程度较轻。这种现象在胶南泊里和青岛流亭等地均可观察到(图2)。其原因可能与中国对虾的适宜生长温度为25~30℃[王克行等, 1984]有关, 这时对虾体内细胞生长、分裂最旺盛, 给病毒的复制创造了条件, 从而有利于流行病传播和暴发。

调查中观察到, 大雨、暴雨与对虾发病密切相关, 因而虾农怀疑雨水有毒。其实危害主要来自下雨引起虾池理化、生物因子一系列突变。如溶解氧、温度、pH 值等突然降低, 虾池浮游生物种类, 尤其是藻类优势种突然改变或死亡, 使溶解氧和 pH 值进一步降低, 氨氮升高, 池中原本脆弱的生态平衡被突然打破, 水环境失去稳定(表3)。从而造成对虾的应激反应, 引起了对虾正常生理状的改变, 使病毒感染由体内的潜伏状态变成大量扩增, 对虾便突然发病。这种因环境因素突变引起潜伏性病毒暴发的情况在家蚕核型多角体病毒病中已被证实[吕鸿声, 1985]。

表3 天气变化与青岛流亭一虾池环境因子的关系

Table 3 Relationship between the factors of environment in a ponds and change of weather at Luting Qingdao

日期	天气	水温(℃)	溶解氧(mg/l)	pH 值	氨氮(μg/l)
7月13日	晴, 大风	28.1	4.6	8.44	62
14日	小雨	27.5	3.9	8.80	73
15日	中雨	27.3	4.0	8.68	50
16日	小雨	26.8	3.4	8.53	88
17日	小雨	26.8	2.2	8.76	87
18日	中到大雨	26.4	2.2	8.86	125
19日*	晴	27.8	1.0	8.12	93
20日	晴	29.0	2.8	8.20	145
21日**	雾, 晴	29.0	2.2	7.80	131

注:表中数据为早上6:00时测量。*:对虾大量浮头。**:少量对虾空胃, 浮游水面, 巡池时不活跃。

另外, 1993年青岛流亭等地虾池分布过密(>70公顷/公里海岸线), 放苗量过高(30~60万/公顷), 投饵过量, 尤其是投喂不明来源的鲜活饵料, 都为发生对虾暴发性流行病创造了充分条件。

2.5 传播途径

2.5.1 苗种引入

从流行病高发区引入带毒苗种或暂养苗。如1993年从福建省购进未经检疫的日本对虾苗,首先在干榆、昌邑等地引发流行病;昌邑盐业公司对虾养殖场6月上旬从寿光某虾场购进暂养苗,投放后不到一周,即全池发病,此时原虾场也早已因病出池。

2.5.2 鲜活饵料

投喂从发病地区运来的鲜活饵料,如日照丝山和涛雒投喂江苏发病地区运来的鲜活饵料,青岛流亭7月中旬投喂从寿光运来的鲜活饵料,两地虾池均在投喂后一周左右发病,随后周围虾池也暴发该病。

2.5.3 病原的载体宿主

用 HHNBV 的单抗酶联免疫测定方法对浙江、山东、和辽宁等地的虾池及海区样品的检测结果说明,海区及虾池的桡足类浮游生物及一些小型甲壳类生物带毒,与虾池的发病也有密切关系。在一些虾池发病前20~40天,池内桡足类浮游生物及对虾就能检测出阳性(黄 捷等,1994a,b)。说明前期纳水就有可能将海区的病原引入虾池。对虾暴发性流行病发生后,几乎所有的虾池都是越换水越死虾。究其原因,一方面与换水量过大,致使虾发生应激反应,加速死亡有关;另一方面,水体中的病原载体宿主正好借助于水的交换传播病原。

2.5.4 发病或死亡的对虾

对于某一虾池来说,其传播途径除水和水生生物外,更快而有效的是健康虾摄食病虾所引起的链式反应,人工投喂感染试验证实:健康对虾摄食少量的病死虾便可引起典型的杆状病毒的皮下及造血组织坏死症(黄 捷等,1993b)。

本文流行病学数理统计分析得到了青岛医学院流行病学教研室许小幸同志的大力帮助,组织切片工作由本所养殖病害研究室张立敬同志完成,特此致谢!

参 考 文 献

- [1] 王克行等,1984.温度对对虾 *Penaeus orientalis* Kishinouye 生长的影响.海洋湖沼通报,22(4),42-46.
- [2] 吕鸿声,1985.昆虫病毒与昆虫病毒病,193-196.科学出版社(京).
- [3] 刘介眉等,1983.病理组织染色的理论方面和应用,41-120.人民卫生出版社(京).
- [4] 岑 丰,1993.我国水产养殖业的回顾与展望.现代渔业信息,8(1):2-6.
- [5] 陈宪春,1994.运用多米诺骨牌理论分析我国虾病发生机制.现代渔业信息,9(4):21-23.
- [6] 耿贯一主编,1989.流行病学(第三版),38-68.人民卫生出版社.
- [7] Bell, T. A. & D. V. Lightner (eds). 1988. *A handbook of normal Penaeid prawn histology*. p. 2, Baton Rouge, Louisiana.

(3)黄 捷等,1994a,浙江省1994年对虾暴发性流行病及传播途径的初步调查。

(4)黄 捷等,1994b,单克隆抗体酶联免疫对对虾暴发性流行病原检测及传播途径调查。

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES ON THE EXPLOSIVE EPIDEMIC DISEASE OF PRAWN IN 1993—1994

Cai Shengli, Huang Jie, Wang Chongming, Song Xiaoling,
Sun Xiutao, Yu Jia, Zhang Yan and Yang Conghai
(*Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao, 266003*)

ABSTRACT The explosive epidemic disease of prawn (EEDS) in Shandong Province in 1993—1994 was studied. The course lasted about 7—10 days from the appearance of early symptoms to death and the mortality was above 90%. The distributions of EEDS on area, time and species were analysed. The area with crowded prawn ponds (>70 ha/km of sea coast line), high density larvae stocking (450,000—600,000 post-larvae/ha), and big investing (45,000—75,000 yuan/ha) met earlier epidemic disease explosion and suffered greater loss. The EEDS mainly occurred in June to July. The disease course in 1993 was comparatively short but violent and had one distribute peak which was similar to the logarithmic normal distribution in epidemiology. In 1994 it was longer and moderate and in some area had two peaks. The average incubation period (6.02 days) and exposed date of EEDS in Qingdao Luting 1993 were calculated according to the epidemiological fundamentals. The observation of 107 sample slices confirmed that the pathogen of 1993—1994 EEDS was hypodermal and hematopoietic necrosis baculovirus (HHNBV). The relationship between disease and environmental factors such as temperature, dissolve oxygen, pH, plankton, density of prawn larvae, and feeding was discussed in this paper.

KEYWORDS prawn, the explosive epidemic disease, virus, epidemiology