

第十五章 鰻魚潰瘍症病原菌快速檢測套組—E! kit

張錦宜

行政院農業委員會水產試驗所水產養殖組

行政院農委會水產試驗所已開發出全球第一個可以由養殖業者自行監測病原菌數量及危險指數的檢測工具 - E! kit(圖 15.1)。檢測對象為造成養殖鰻魚及其他養殖魚類(如鮭、鱒、鯉、鯰、吳郭魚、比目魚等)潰瘍症(圖 15.2)的愛德華氏菌(*Edwardsiella tarda*)。其特色為：

1. 簡易：無附加設備，可由消費者自行操作、自行判讀，不需假手技術人員。
2. 快速：18 小時內可判定可能發生疾病的危險指數。
3. 便宜：一年的檢測費用約只需藥品消費的十分之一。

E! kit 可判定魚體內愛德華氏菌的濃度，也可長期監測養殖環境中愛德華氏菌的數量變化，適合在現場操作，不怕污染。因為成本不高，建議養殖業者每日自行監測魚體內及養殖環境中病原菌的危險指數，將可成為預防養殖鰻魚潰瘍症大量爆發的絕佳工具。

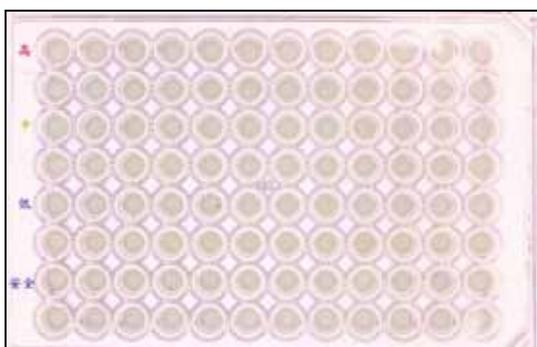


圖 15.1 E! kit 成品外觀



圖 15.2 罹患潰瘍症的鰻魚

一、研究背景

本產品之開發，係經 8 個月長期監測鰻魚養殖環境中常在細菌組成的變化，總計分離純化 1335 株細菌，做為研究的基礎樣本。根據長期監測養殖環境常在菌相的研究結果顯示，在正常的情況下，良好管理的養殖水中，*E. tarda* 數量極少 ($< 10^2$ CFU/mL)，故養殖水中 *E. tarda* 數量增加到 10^4 CFU/mL 以上，係屬不正常且隨時有感染症爆發的危

險。E! kit 的設計有三大重點，其一是正確無誤地篩選出 *E. tarda* 並以肉眼可見的方式呈現。其二是可以提供檢測樣品中 *E. tarda* 的約略數量，做為後續處理的參考依據。其三是採用最低成本設計，日後成品將以一合理的價格問世，讓本套組成為一個人人買得起、願意使用的好工具。

二、使用方法

(一) 採樣 (圖 15.3、15.4)

1. 檢測水中 *E. tarda* : 使用乾淨的吸管，吸取少許養殖用水，滴 1 滴於本套組之培養槽。
2. 檢測魚體內 *E. tarda* : 使用乾淨的牙籤，自魚的肝、腎、腹水或其他有明顯病灶部位穿刺後，再於本套組之培養槽中攪動一下。

(二) 培養

於室溫 (25 - 30) 下靜置、觀察 24 小時。

(三) 結果判讀

1. 培養槽由綠色轉為全黑色為「+」反應。
2. 可依「+」反應出現的時間，判斷 *E. tarda* 的生菌數及危險指數：
3. 高危險指數：12 小時之內變色，檢體中病菌量多於 10^7 個/mL
4. 中危險指數：18 小時之內變色，檢體中病菌量多於 10^5 個/mL
5. 低危險指數：24 小時之內變色，檢體中病菌量多於 10^3 個/mL
6. 安全指數：30 小時之內變色，檢體中病菌量少於 10^2 個/mL (圖 15.5)



圖 15.3 檢測水中 *E. tarda* 的方法



圖 15.4 檢測魚體中 *E. tarda* 的方法：以牙籤穿刺魚的腎臟部位 (上圖)，再於本套組之培養槽中攪動一下 (下圖)

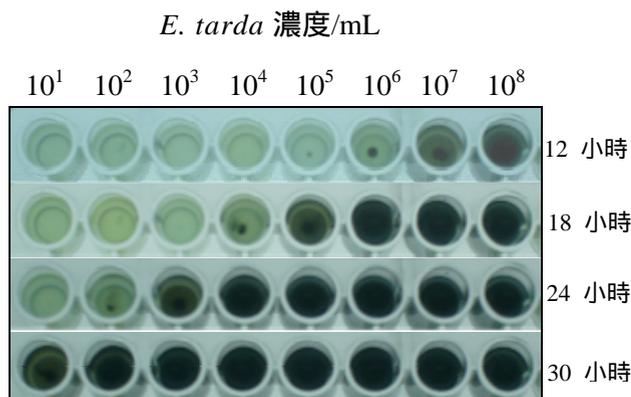


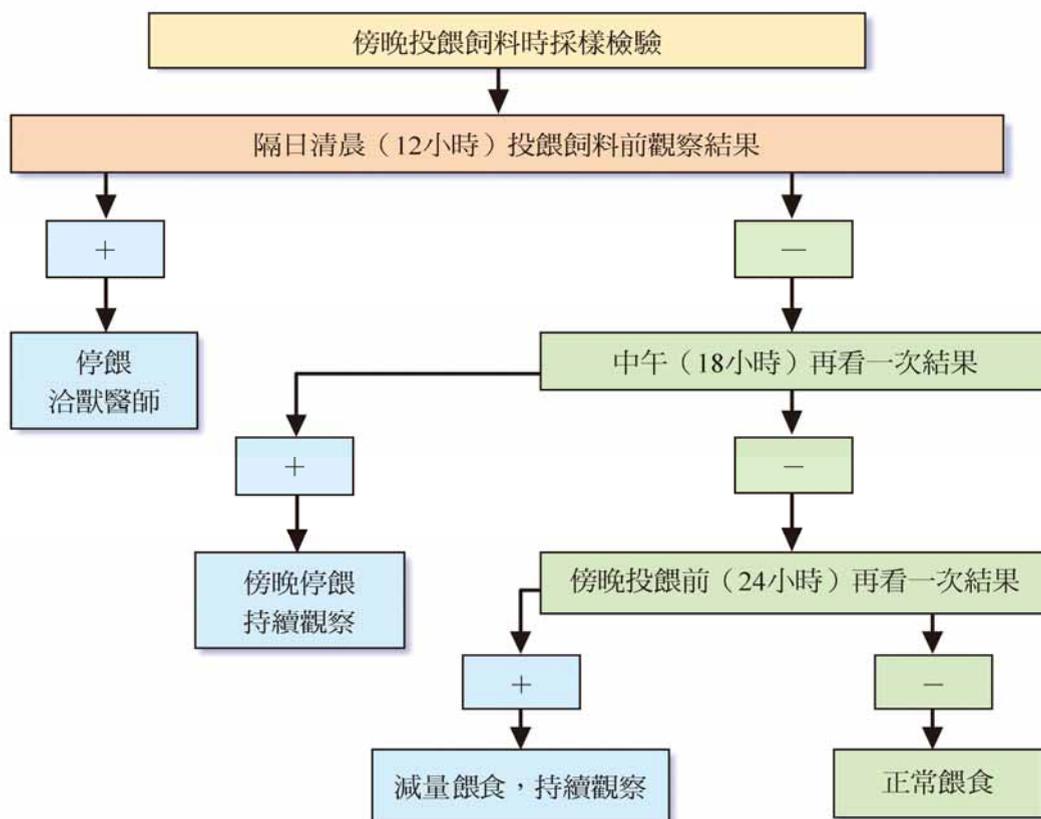
圖 15.5 檢體中 *E. tarda* 數量與本套組成色反應時間之關係

三、應用於養殖健康管理之具體建議

使用本套組，可每日監測養殖環境中 *E. tarda* 的數量變化，再依下表採取適當的措施：

「+」反應出現的時間				
	< 12小時	12–18小時	18–24小時	> 24小時
<i>E. tarda</i> 數/mL	$> 10^7$	10^5	10^3	$< 10^2$
危險指數	高	中	低	安全
鰻魚表現	已發病或即將發病，普遍停止進食	若不予處理，有發病危險。鰻魚可能在1–2日內停止進食	正常	正常
因應措施	停止投餵，施以適當藥物處理	減少投餵量，改善水質及管理，持續以本套組觀察，若病菌數無減少趨勢，應施以適當藥物處理	持續以本套組觀察，若病菌數有增加趨勢，應檢討管理方式，注意水質變化	正常

亦可結合安全養殖的觀念，使 E-Kit 融入日常健康管理措施之中（如下圖），將可在 *E. tarda* 大量繁殖前的 24 小時黃金時間獲得足夠的警訊，將疾病發生的風險降到最低。



四、結論

本套組實際應用於養殖管理時，最好能對每一養殖池均建立長期連續的監測記錄，如此，當水中病原菌數量異常增加時，即可在第一時間做最適當的處理；亦即在鰻魚還未出現食慾減退或者死亡之前，就可有效抑遏環境中病原菌的大量孳生。善用此一簡易、快速的病原菌檢測工具，當可真正落實「預防勝於治療」的健康管理原則。

參考文獻

1. Aoki, T., T. Kitao and M. Fukudome (1989) Chemotherapy against infection with multiple drug resistant strains of *Edwardsiella tarda* in cultured eel. *Fish Pathol.* 24:161-168.
2. Fan, H., Z. Zeng, P. Yu and Z. Li (2000) Study on antibacterial drugs for controlling pathogens of *Anguilla anguilla*. *J. Oceanogr. Taiwan Strait/Taiwan Haixia.* 19: 228-232.
3. Francis, F. R., P. Reed, B. Bolon, J. Estes and S. Mckinney (1993) An epizootic of *Edwardsiella tarda* in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *J. Wildl. Dis.*, 29: 334-336.
4. Han, X., W. Li and G. Cheng (1989) Study on the edwardsilliasis of the eel. *Acta hydrobiologica sinica/Shuisheng Shengwu Xuebao. Wuhan.*, 13: 259-264.
5. Kanai, K., S. Tawaki and Y. Uchida (1988) An ecological study of *Edwardsiella tarda* in flounder farm. *Fish Pathol.*, 23: 41-47.
6. Kusuda, R. and K. Kawai (1998) Bacterial diseases of cultured marine fish in Japan. *Fish Pathol.*, 33: 221-227.
7. Miwa, S. and N. Mano (2000) Infection with *Edwardsiella tarda* causes hypertrophy of liver cells in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Dis. Aquat. Org.*, 42: 227-231.
8. Miyazaki, T. and N. Kaige (1985) Comparative histopathology of edwardsiellosis in fishes. *Fish Pathol.*, 20: 219-227.
9. Suprpto, H., T. Nakai and K. Muroga (1995) Toxicity of extracellular product and intracellular components of *Edwardsiella tarda* in the Japanese eel and flounder *J. Aquat. Anim. Health.*, 7: 292-297.
10. Takashi, A. and H. Ikuo (1995) Detection of the fish-pathogenic bacteria *Edwardsiella tarda* by polymerase chain reaction. *Proceedings of the International Symposium on Biotechnology Applications in Aquaculture, December 5-10th, 1994: Taipei, Taiwan, ROC. Special publication. Asian Fisheries Society. Metro Manila.* 10: 135-146.