

台灣水產重要病原菌及衛生菌快速檢測套組之研發— 「水產病原性弧菌檢測套組」

張錦宜、吳嘉哲、林金榮
水產養殖組

弧菌是常見的海水細菌性病原，在台灣，不論是養殖海水魚、蝦、貝類，弧菌病 (vibriosis) 的感染與盛行率始終居高不下，每年都造成相當程度的經濟損失，因此，養殖業者亟需一種可以有效檢測此一病原的現場實用工具。

本所曾於 2007 年開發出準商品化的「溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 快速檢測套組」，但因只能專一性地檢測溶藻弧菌，雖然在實驗室裡可以協助快速診斷病原，但因致病的弧菌種類繁多，此一特定病原檢測試劑對養殖現場的健康管理，反而助益有限。有鑑於此，本組乃於 2010 年科技計畫中，致力於「水產病原性弧菌檢測套組」(Total *Vibrio* detecting kit 以下簡稱 TV-kit) 之研發。本檢測套組原型採用「一點靈」簡單試劑 (Easy kit) 的極簡設計風格，檢測時只要先取 1 滴檢體添加於接種液中，以手搖晃混合後，再滴 1 滴於 TV-kit 中，若 6—48 小時後試劑從無色變為藍紫色 (圖 1)，則表示檢體中有水產病原性弧菌，可檢測的種類包括：*Vibrio aestuarianus*、*V. alginolyticus*、*V. anguillarum*、*V. campbellii*、*V. fluvialis*、*V. furnissii*、*V. harveyi*、*V. mimicus*、*V. natriegens*、*V. nereis*、*V. parahaemolyticus*、*V. pelagia*、*V. proteolyticus*、*V. salmonicida*、*V. tubiashi*、*V. vulnificus* 及 *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*，計 17 種。

以 92 株台灣水產常在菌標準菌株及養殖環境分離菌株，逐一測試 TV-kit 的專一性，結果只有上述 17 種弧菌會出現藍紫色之呈色反應，此呈色反應可輕易以肉眼判別，靈敏度可達 100 CFU/mL。

TV-kit 不僅可以專一性地檢測病原菌，還能根據呈色反應的時間，推定檢體中弧菌的數量；若以 28°C 為培養溫度，TV-kit 於 24 小時之內變色，表示檢體中總弧菌的數量 $> 4.2 \times 10^6$ CFU/mL；若 TV-kit 在 24—30 小時期間內變色者，表示檢體中總弧菌的數量介於 $4.2 \times 10^6 - 1.1 \times 10^5$ CFU/mL；若 TV-kit 在 30—36 小時期間內變色，表示檢體中總弧菌的數量介於 $1.1 \times 10^5 - 6.7 \times 10^3$ CFU/mL；若 TV-kit 超過 42 小時之後才變色，則表示檢體中總弧菌的數量少於 2.1×10^1 CFU/mL。

TV-kit 可準確地檢測出 17 種水產病原性弧菌，並可推估出檢體中弧菌的平均數量，快速篩選出有效藥物，並提供菌株抗藥性的警訊；又因為不需使用到繁雜的技巧或特殊的儀器設備，故適合實際應用於養殖現場之健康管理。若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。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。



圖 1 使用水產病原性弧菌檢測套組的標準步驟。(a)以吸管取檢體 1 滴添加於接種液中，(b)再以吸管自混合後的接種液取 1 滴添加於 TV-kit 試劑中(c)於 6-48 小時後觀察，若 TV-kit 變為藍紫色表示檢體有水產病原性弧菌