

JCRR



魚病研究專集(II)

Reports on Fish Disease  
Research (II)

JCRR FISHERIES SERIES No. 34

# 魚病研究專集(II)

Reports on Fish Disease  
Research (II)



Taipei, Taiwan, Republic of China

December 1978

## 序 言

近年來本省養殖漁業發展至為迅速，單位面積放養量及生產量隨之增加。然而，隨着集約養殖的進展，魚病問題日趨嚴重。一般養殖業者缺乏對魚病發生，預防及治療知識，故養殖魚罹病日增，藥物使用不當情形時有所聞。農復會有鑒於此，自六十三年起開始資助臺灣大學漁業生物試驗所，獸醫系，師範大學生物研究所，臺灣養豬科學研究所，屏東農專，輔仁大學生物系，以及臺灣省水產試驗所等研究機構共同進行魚病防治研究工作。數年來經各機構研究人員之共同努力，魚病防治基礎研究已略具規模，初步研究成果亦經於六十六年彙編為魚病研究專集第一集出版。

魚病專集之問世已普遍引起國內外學者對本省魚病防治研究之關注與重視，原有研究人員，亦孜孜不倦，加強研究，時隔一年研究成果陸續發表，經郭光雄博士收集彙編成冊，是為魚病研究專集第二集欣見其成，對魚病研究人員之辛勞至感欽佩，更冀望以此為基礎進一步在魚病研究學理及應用方面有進一步的成就。

農復會漁業組 袁柏偉

# 魚病研究專集 (II)

## 目 錄 Contents

頁 數  
Page

- 1 水產養殖抗藥細菌之研究—I, 養殖鰻抗藥菌之抗藥性…………… 陳宏遠·郭光雄  
Studies on Bacterial Drug-Resistant in Aquaculture-I. Drug Resistance of  
Bacteria in Pond-Reared Eels (*Anguilla japonica*)  
Houng-Yung Chen and Guang-Hsiung Kou
- 15 養殖鰻細菌分佈之研究…………… 陳昭德·郭光雄  
Studies on Bacterial Distribution in Pond-Cultured Eels  
Jau-Der Chen and Guang-Hsiung Kou
- 33 水產藥物對於鰻魚毒理學之研究…………… 劉朝鑫·王金和  
Toxicological Studies of Some Drugs in Cultured Eels (*Anguilla japonica*)  
C. K. Liu and C. H. Wang
- 45 養殖鰻鰓病之病理研究…………… 劉正義  
The Pathological Study on Gill Diseases in Eel  
Chen-I Liu
- 59 新竹區養殖文蛤病原菌 *Vibrio parahaemolyticus* 之分離…楊美桂·羅竹芳·扈伯爾·郭光雄  
Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from Cultured Hard Clam, *Meretrix*  
*lusoring* in Hsin-Chu Areas  
Mei-Kwei Yang, Chu-Fang Lo, Rev. F. Huber and Guang-Hsiung Kou
- 69 Sodium Sulfamonomethoxine 藥浴之鰻體內吸收情形…………… 李明仁·郭光雄  
Absorption of Sulfamonomethoxine by Eels in Medicated Bath  
Min-Jin Lee and Guang-Hsiung Kou
- 77 文蛤寄生蟲 *Tylocephalum* 之球形幼蟲之研究…………… 羅竹芳·王重雄·扈伯爾  
The Coracidium of the Cestode *Tylocephalum* in Hard Clam, *Meretrix*  
*lusoring*  
Chu-Fang Lo, Chung-Hsung Wang and Rev. F. Huber
- 83 日本鰻 (*Anguilla japonica*) 的黴菌 *Ichthyophonus* sp. 感染…………… 簡肇衡·余廷基  
Infection of *Ichthyophonus* sp. (Fungus) in Japanese Eel (*Anguilla japonica*)  
Chau-Heng Chien and Ting-Chi Yu
- 89 Panfuran-S 藥浴對虱目魚苗活存及其成長之影響試驗 (預報) …… 廖一久·楊富榮·羅秀婉  
Preliminary Report of Effect of Panfuran-S Bath on the Survival and  
Growth of Milkfish Fry  
I-Chiu Liao, Fu-Rong Yang and Shou-Wan Lou

- 97 臺灣鰻魚黴菌性鰓病 (Branchiomycosis) 之組織病理所見……簡肇衡·宮崎照雄·窪田三朗  
The Histopathology of Branchiomycosis of Eel in Taiwan  
Chau-Heng Chien, Teruo Miyazaki, Saburoh S. Kubota
- 99 臺灣養殖黑鰻爛尾病原菌 *Aeromonas hydrophila* 之分離……陳林揚·簡秋源  
Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a Tail Rot Disease of Cultured  
Black Porgy in Taiwan  
Ling-Yang Chen and Chiu-Yuan Chien
- 105 南非及美國東北岸產鰻線寄生蟲病之初報……王元隆·余廷基  
A Preliminary Report on Parasitic Diseases of South Africa's Glass Eels  
(*Anguilla mossambica*) and Northeastern America's Glass Eels (*Anguilla  
rostrata*)  
Yuan-Loong Wang and Ting-Chi Yu

# 水產養殖抗藥細菌之研究—I 養殖鰻抗藥菌之抗藥性

陳宏遠\* · 郭光雄\*\*

Studies on Bacterial Drug-Resistant in Aquaculture—I  
Drug Resistance of Bacteria in Pond-Reared Eels (*Anguilla japonica*)

Houng-Yung Chen\* and Guang-Hsiung Kou\*\*

## Abstract

The occurrence of drug-resistant bacteria isolated from internal organs of cultured eel (*Anguilla japonica*) was surveyed by plate counting and their conjugative drug resistant plasmid was detected to estimate the drug resistant status in eel farms in Taiwan. Sulfamonomethoxine(Su), tetracycline (Tc), chloramphenicol(Cm) and nitrofurantoin(Nf) were applied to select resistant bacteria. Microflora in every organ, regardless when and where the fishes were sampled, were composed of a certain quantity of resistant bacteria. In average, 10 percent of total population was resistant to Su, 8-6 percent resistant to Cm and Tc, only 1 percent was resistant to Nf.

Among the 649 drug-resistant strains randomly examined, 39 percent belonged to Enterobacteriaceae, 18.2 percent to *Aeromonas* and 10.2 percent to *Pseudomonas*. *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* and other G(-) rods were also detected. 145 strains (22.4%) were found to have carried R factors. 45 percent of Su-resistant bacteria, 24 percent of Cm-resistant bacteria, 8 percent of Tc-resistant and 2 percent of Nf-resistant bacteria were R<sup>+</sup> strains. 33.9 percent of *Aeromonas*, 24.1 percent of Enterobacteriaceae and 16.7 percent *Pseudomonas* examined carried R factor. All the evidences studied in this research indicated that high incidence of drug-resistant and R factor-carrying bacteria in cultured eel was encountered and was assumed to have resulted from the abundant and frequent use of antibiotics and chemotherapeutics.

## 緒 言

細菌對各種抗菌劑產生抗性，其機制不外乎產生各種藥劑之分解酶（如 penicillinase），改變生化代謝之途徑，或降低細胞壁對抗菌劑之通透性（permeability）(Pollock, 1967; Anderson, 1968)。

---

\* 國立臺灣大學海洋研究所海洋生物及漁業組  
(Institute of Oceanography, National Taiwan University)  
現址：竹南23信箱，臺灣養豬科學研究所病理系  
(Present address: Department of Pathology, PRIT, P.O. Box 23, Chunan, Miaoli, Taiwan.)

\*\* 國立臺灣大學動物學系  
(Department of Zoology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.)

這種生理或形態的改變是由於細菌本身分子層次 (molecular level) 之突變，同時突變後之抗藥性具有遺傳性，可以代代相傳。1940 年代初期，細菌產生抗藥性的事實初次被發現 (Abraham & Chain, 1940) 以來，各種新抗生素及化學療劑之迅速發展及廣泛使用，使抗各種藥劑之細菌大量產生。此種抗藥菌之抗藥基因能藉著細菌之結合 (conjugation) 與噬菌體的傳遞 (transduction)，進入新的細菌體中，而造成新抗藥菌的產生。

1959 年日本研究者 (Watanabe, 1963) 發現抗藥決定基因羣 (drug-resistant determinant gene)，能藉抗藥傳遞因子 (Resistant Transfer Factor, RTF) 之攜帶，將抗藥性自 *Shigellae* 傳至原無抗藥能力之 *E. coli*，並將此基因羣與傳遞因子合稱為 R 因子 (Resistant Factor, R factor)。R 因子為攜帶抗藥基因之質體 (plasmid)，由雙螺旋 DNA 所構成，獨立存在於細胞質中，使細菌產生藥物抗性，並控制菌毛 (pili) 之生成。R 因子之傳遞是藉著細菌接合時，進行複製並沿菌毛由給與菌 (donor) 進入受容菌 (recipient) 造成受容菌的「被感染」 (Watanabe, 1967)。

目前，各種抗菌劑除已廣泛被使用於人類疾病之預防與治療外，畜牧業及水產養殖的疾病控制上，也大量使用它們。除此之外，亦有添加於飼料中，以促進動物之生長 (Stokstad, 1954)，此種大量並長期使用抗藥劑的結果，遂導致具多種抗藥性細菌 (multiple drug-resistant bacteria) 的產生 (青木, 1974)。根據 Aoki *et al.* (1971, 1973) 對日本各種淡水及海水魚類所做的廣泛調查，發現日本養殖魚類及野生魚類攜帶 R 因子之抗藥菌比率相當高，認為是由於經常及大量使用藥物的緣故。Shotts (1976) 亦調查自東南亞輸往美國之熱帶魚體及池水之細菌，也發現分離之 *Aeromonas hydrophila* 菌株中，有 22.5% 具一種或多種藥劑之抗性，而其中 14.1% 之菌株為 R<sup>+</sup> 菌株。本省畜產水產養殖有關資料則完全缺如。

本省位處亞熱帶，水溫經年皆很高，養殖魚類疾病時常發生，養殖業者多不諳藥理，又缺乏對疾病診斷之知識，常常不適當的濫施藥物 (林和蕭, 1977)。被業者使用之抗菌藥劑種類很多，其中以磺胺藥劑 (sulfa drugs)，四環黴素 (tetracycline)、氯黴素 (chloramphenicol) 及呋喃劑 (Nitrofurans) 等四者最為普遍。本研究即選擇此四種抗菌劑為研究對象，除調查養殖鰻魚體內細菌對此四種抗菌劑產生抗性 & 抗藥菌在各器官之分布情形外，並研究 R 因子出現之頻率，以了解本省養殖魚類之重要細菌對常用抗菌藥劑產生抗性之情形，供防治疾病時藥劑使用及藥劑管制時之參考。

## 材料及方法

### 一、養殖場與鰻

自 1977 年 5 月至 1978 年 3 月，分別自鹿港地區 3 家 (L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> 和 L<sub>3</sub>)，高雄地區 1 家 (K<sub>1</sub>) 和屏東地區 2 家養殖場 (K<sub>2</sub> 和 K<sub>3</sub>) 採取鰻魚樣本，每家採樣之月份略有不同，每次採樣均以外觀正常之鰻為主，若採樣時有病鰻發現亦同時採樣 (Table 1)。每次每家各取 4—5 尾鰻魚，放置於塑膠袋或塑膠桶中，充分灌入氧氣後，2 小時內携回實驗室進行細菌分離。分離前，先詳細觀察，記錄魚體外觀是否具有異狀，解剖檢視各內臟組織是否發生病變。除此之外，並詳記各養殖場使用藥劑之情形 (Table 2)。

Table 1. Sampled fishes from six culturists

Month	Culturist					
	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>
May, 1977	0/5*	—	—	0/5	—	—
Jun	0/5	—	—	0/5	—	—
Jul	0/5	—	—	—	—	—
Aug	0/5	—	—	0/5	0/5	0/5
Sep	1/5 <sup>r**</sup>	0/5	0/5	5/5 <sup>w</sup>	0/5	0/5
Oct	5/5 <sup>r</sup>	—	—	4/4 <sup>t</sup>	0/4	0/1
Nov	1/4 <sup>r</sup>	0/4	0/4	1/5 <sup>r</sup>	0/5	0/3
Dec	0/4	—	0/5	0/3	0/5	0/4
Jan, 1978	5/5 <sup>r,w</sup>	0/5	0/2	5/5 <sup>r</sup>	0/5	0/5
Feb	0/5	—	—	5/5 <sup>r,t</sup>	0/5	0/6
Mar	1/5 <sup>p</sup>	1/5 <sup>p</sup>	0/5	0/4	0/4	0/4

\* Number of diseased fish/Number of experiment fish

\*\* Symptoms of apparently diseased fish

p: plistophorosis

r: red-fin disease or Edwardsiellosis

t: tail-rot

w: water mold

Table 2. Prophylactic and remedial drugs administrated by six culturists

Culturist	prophylactic drugs	Remedial drugs										
		1977 May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	1978 Jan.	Feb.	Mar.
L <sub>1</sub>	Nf, Tc	—	Nf	—	—	—	Nf, Tc	Nf, Tc	Nf, Tc	Nf, Tc	—	Tc
L <sub>2</sub>	—	*	*	*	*	—	—	—	*	—	*	—
L <sub>3</sub>	—	*	*	*	*	—	*	—	—	—	*	—
K <sub>1</sub>	Nf	—	Tc	—	—	Tc	Nf	—	Cm	Tc	—	Cm
K <sub>2</sub>	Cm	*	*	*	—	—	—	Tc, Su	—	—	—	—
K <sub>3</sub>	—	*	*	*	Nf, Tc	—	—	—	—	—	—	—

Abbreviations: Nf, Nitrofurantoin

Tc, Tetracycline and its derivatives

Cm, Chloramphenicol

Su, Sulfa drugs (mainly sulfamonomethoxine)

—, No drug treatment

\*, No sampling in that month

## 二、培養基和抗菌劑

本研究所使用分離抗藥性細菌之抗菌劑為本省水產養殖常用之 Sulfamonomethoxine (Su), Tetracycline (Tc), Chloramphenicol (Cm) 及 P-7138 (Nf) 等四種藥劑。Nf 須先溶於 Dimethylformamide, Cm 則先溶於微鹼性無菌蒸餾水，而後四種藥劑再各自溶入無菌蒸餾水中，做成貯備溶液 (stock solution)，取其定量加入已滅菌之 60°C Nutrient Agar (Beef extract 5g, Peptone 15g, NaCl 5g, Agar 15g, Distill water 1000 ml, pH 7.0-7.2)，使藥劑濃度分別為 Su 500 μg/ml, Tc 25 μg/ml, Cm 25 μg/ml, Nf 12.5 μg/ml (青木和渡邊, 1973; 青木, 1974; Petersdore & Sherris, 1965)，充份混合後，分別注入直徑9公分之塑膠平板中，厚度約為0.4公分，待培養基凝固烘乾後，即可供使用。

### 三、抗藥菌之分離與計數

各養殖場採得之 4~5 尾鰻為一組材料，以 urethane 或 MS-222 麻醉後，在無菌操作下，取出腸、腎、肝及脾等四臟器，將此 4~5 尾鰻之臟器分別合在一起，每 1 g 重量加 10 ml 無菌生理食鹽水 (0.85% NaCl)，而後以均質機 (Homogenizer) 打碎 3 分鐘，均勻混合，取 1 ml 臟器懸浮液作 5 階段之 10 倍稀釋 (ten-folds serial dilution) 系列，所使用之稀釋液為無菌生理食鹽水，取每階段稀釋液 0.1 ml，接種於預備好的含藥與不含藥的平板培養基上，以 conradi's stick 均勻塗抹，置於室溫下或 28°C 之恒溫箱中，經 48 小時培養後，以肉眼計算培養基上之菌落，求出 1 g 內臟含抗藥菌與一般菌之個數。每個平板培養基上生長之菌落若超過 400 個，則不予計算平均。此外，分別觀察培養基上形態不同之菌落並鉤出轉培養於斜面培養基上保存，以供各種試驗之用。

### 四、分離菌之鑑定

依水生細菌測定法，測定分離菌之形態及生化特性，參考 Bergey's manual (Krieg, 1974)，Davis *et al.* (1973)，鍾與郭(1973)等之分類基準，將分離菌分為 Enterobacteriaceae, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* 及 Unidentified G(-)rods 等七類菌羣。

### 五、R 因子

將分離菌接種於 penassay broth (Difco) 上，於 37°C 下培養至透光度 (O.D.) 為 0.4，並在相同情況下培養受容菌 (*Escherichia coli* K12 之 substrain RC 85: lac<sup>+</sup>\*, Nal<sup>r</sup>, Tc<sup>s</sup>, Cm<sup>s</sup>, Su<sup>s</sup> Nf<sup>s</sup>) 之 Penassay broth 菌液。取等量 (1~2 ml) 分離菌與受容菌之培養液，於 37°C 下混合培養 24 小時後，以白金線鉤將此混合培養液接種於含有 nalidixic acid 100 μg/ml 和各該分離菌之抗菌劑 (藥劑濃度與前述相同) 之 MacConkey 平板培養基 (Difco) 上，置於 37°C 恒溫箱中培養 24 小時，觀察發育在培養基上菌落之顏色。若分離菌為 lactose positive，而 MacConkey 平板上菌落顏色為磚紅色，則將該等菌落接種於 EMB 平板培養基 (Difco) 上，37°C 下培養 24 小時，觀察菌落，此時若其表面出現金屬光澤，則判定該分離菌為 R<sup>+</sup>，若分離菌為 lactose negative 且 MacConkey 培養基上菌落為磚紅色時，則無需 EMB 培養基之培養觀察，即可判定分離菌為 R<sup>+</sup> 菌。其他在 MacConkey 培養基上菌落不為磚紅色或在 EMB 培養基上不呈金屬光澤者均判斷為不具 R 因子 (R<sup>-</sup>) (Shotts, 1976)。抗藥分離菌 649 株中，有二株在實驗時失去，故進行 R 因子檢出者僅為 647 株。

## 結 果

### 一、抗藥菌之出現與分布

將 6 家養殖場鰻魚之全年各器官所含一般細菌與抗藥菌菌數 (每 g 內臟器官所含活菌的數目)，轉換成對數值後，經複因子變方分析 (Factorial analyses of variance)，其結果如 Table 3 所示。各場鰻魚之含菌量在器官間，各月份間，及抗菌劑間均有顯著的不同，即鰻之腸，腎，肝與脾四臟器間單位重量含菌量 (包括抗藥菌) 有顯著差異，而且隨著月份之不同，器官之含菌量亦呈現明顯的變化。一般菌、抗 Su 菌、抗 Tc 菌、抗 Cm 菌與抗 Nf 菌間出現率亦呈顯著之差異。

器官與藥劑間之交感 (Organ × Drug)，除了 L<sub>3</sub> 養殖場外之 5 家鰻場均不顯著，表示一般菌及各抗藥菌在各器官的數目變化趨勢相似。而 L<sub>3</sub> 養殖場之器官與藥劑之交感在 5% 水準下呈顯著差異

\* +: Positive; r: Resistant; s: Sensitive; RC85 菌株係日本宮崎大學水產學科青木吉博士所提供

Table 3. Factorial analyses of variance for logarithmic numbers of drug-resistant bacteria per gram of viscera from six sampling culturists' eels during 1977-1978

Culturist	Analysis of variance				
	Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	F
L <sub>1</sub>	Organ	3	289.27	96.42	102.48**
	Drug	4	173.66	43.42	46.14**
	Month	10	104.55	10.45	11.11**
	Organ × Drug	12	23.57	1.96	2.09
	Organ × Month	30	109.58	3.65	3.88**
	Drug × Month	40	138.05	3.45	3.67**
	Residual	120	112.90	0.94	
L <sub>2</sub>	Organ	3	53.05	17.68	21.23*
	Drug	4	32.18	8.04	9.65*
	Month	3	32.82	10.94	13.13*
	Organ × Drug	12	22.42	1.87	2.24
	Organ × Month	9	31.27	3.48	4.17*
	Drug × Month	12	13.30	1.11	1.20
	Residual	36	29.99	0.83	
L <sub>3</sub>	Organ	3	130.19	43.40	30.07**
	Drug	4	46.51	11.63	8.06*
	Month	5	48.84	9.77	6.77*
	Organ × Drug	12	43.05	3.59	2.49*
	Organ × Month	15	79.82	5.32	3.69**
	Drug × Month	20	19.08	0.95	0.66
	Residual	60	86.59	1.44	
K <sub>1</sub>	Organ	3	85.38	28.46	14.23*
	Drug	4	197.04	49.26	24.63**
	Month	8	105.31	13.16	6.58**
	Organ × Drug	12	47.08	3.92	1.96
	Organ × Month	24	101.74	4.24	2.12*
	Drug × Month	32	83.53	2.61	1.31
	Residual	96	181.46	1.89	
K <sub>2</sub>	Organ	3	350.27	116.75	107.47**
	Drug	4	74.35	18.59	17.11**
	Month	6	52.56	8.76	8.06**
	Organ × Drug	12	29.02	2.42	2.22
	Organ × Month	18	99.02	5.50	5.06**
	Drug × Month	24	39.91	1.66	1.53
	Residual	72	78.22	1.09	
K <sub>3</sub>	Organ	3	134.11	44.70	18.21*
	Drug	4	107.19	26.80	10.92*
	Month	7	203.42	29.06	11.84**
	Organ × Drug	12	40.24	3.35	1.36
	Organ × Month	21	315.91	15.04	6.13**
	Drug × Month	28	53.30	1.90	0.77
	Residual	84	206.17	2.45	

\* P < .05; \*\* P < .01.

，說明該場鰻魚之一般菌及各抗藥菌在各器官之變化並無相同的傾向。器官與月份之交感 (Organ × Month) 在各場均顯著，此即顯示在各月份各器官含菌量的變化，隨著器官而有顯著的不同。除了 L<sub>1</sub> 養殖場下，其他 5 場藥劑與月份之交感 (Drug × Month) 均呈現不顯著，這種不顯著說明了月份間，4 種抗藥菌和一般菌之出現率無顯著差異。

鰻之四種臟器中，以腸管之含菌量最高 (Table 4)，由鄧肯氏新多變域測驗 (Duncan's new multiple range test) 結果可推知鰻魚的腸管含菌量較其他器官高很多。腎臟的含菌量次多，但有時與肝臟之含菌量相較，並無顯著差異 (如養殖場 L<sub>1</sub> 與 K<sub>1</sub>)，在養殖場 K<sub>1</sub>，脾臟之平均含菌反而比腎臟高。肝臟與脾臟之含菌量並無明顯的差異，6 養殖場中有 4 家脾臟含菌量較高，有 2 家肝臟含菌量較高，經測驗結果後，發現 L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> 與 K<sub>3</sub> 3 場之肝與脾含菌量並無顯著差別。由上述結果可知鰻體臟器中之抗藥菌與一般菌之含量，以腸管最多，腎、肝及脾等 3 器官而言，則大部分情況，以腎之含菌量為最高，肝、脾兩器官之差別並無一定的傾向。

Table 5 指出各養殖場鰻魚所含一般菌與抗藥菌間的關係。鄧肯氏新多變域測驗結果顯示，除了 L<sub>1</sub> 與 K<sub>1</sub> 兩場外，其餘各場之抗 Su 菌、抗 Tc 菌、抗 Cm 菌與抗 Nf 菌之出現率並無顯著

Table 4. Results of Duncan's new multiple range tests for logarithmic numbers of bacteria from intestine, kidney, liver and spleen

Culturist	Mean logarithmic no. of bacteria in			
	Intestine	Kidney	Liver	Spleen
L <sub>1</sub>	4.245	1.979	1.971	1.171
L <sub>2</sub>	2.960	1.333	0.868	1.156
L <sub>3</sub>	3.358	2.095	0.752	0.946
K <sub>1</sub>	2.672	1.186	0.872	1.830
K <sub>2</sub>	4.846	2.186	0.732	1.243
K <sub>3</sub>	3.488	1.957	1.475	1.071

Any two means underscores by the same line are not significantly different.

Table 5. Duncan's new multiple range tests for logarithmic numbers of bacteria under the selection of Sulfamonomethoxine(Su), Tetracycline(Tc), Chloramphenicol(Cm), P-7138(Nf) and no drug selection (Nt).

Culturist	Mean logarithmic no. of bacteria resistant to				
	Nt	Su	Tc	Cm	Nf
L <sub>1</sub>	3.783	2.880	1.952	1.829	1.263
L <sub>2</sub>	2.641	1.756	1.603	1.122	0.777
L <sub>3</sub>	2.934	1.735	1.788	1.354	1.129
K <sub>1</sub>	3.642	1.018	1.712	1.017	0.811
K <sub>2</sub>	3.662	2.158	2.025	1.711	1.691
K <sub>3</sub>	3.548	1.852	1.922	1.468	1.198

Any two means underscored by the same line are not significantly different.

的不同，抗 Su 菌平均約佔總菌數的10%弱，但有的時候可達總菌數之94%（養殖場 L<sub>1</sub>，6 月份），抗 Tc 菌受四環黴素及其衍生物大量施用的影響，在各場之出現率有時並不比抗 Su 菌少。又，該二抗藥菌出現率之差距在統計上並不顯著。抗 Nf 菌之出現率較低，平均約佔總菌數之數 1%，但亦曾達總菌數之37%，比率相當高。抗 Cm 菌出現率與抗 Tc 菌相近，二者的出現率約在抗 Su 菌與抗 Nf 菌出現率之間。

由 Table 3-5 之變方分析及其擬說測驗的結果顯示：各種抗藥菌數之月份變化，就總菌數而言，並非獨立變異的因子，而是隨著總菌數之增減呈正相關。但藥物之局部處理會使抗藥菌之出現率在短期內發生明顯的波動，例如在1977年 5月及10月，L<sub>1</sub> 場抗 Nf 菌之出現率顯著的增加，則因該兩月份大量添加 Furanzolidone 以控制疾病（Table 2）而使該時期之抗 Nf 菌有激增的現象。

## 二、抗藥菌的種類

由含抗菌劑的平板培養基逢機取得各種抗藥菌，計649菌株，其中抗 Su 菌204株，抗 Tc 菌162株，抗 Cm 菌 156株，抗 Nf 菌127株（Table 6）。抗 Su 菌 204株中，有 27%為 *Aeromonas*，抗 Tc 菌中亦有 27%為 *Aeromonas*，然而，抗 Cm 菌與抗 Nf 菌中 *Aeromonas* 只佔 7%；*Pseudomonas* 佔抗 Su 菌之 5%，佔抗 Tc 菌之9%，然而却佔抗 Cm 菌之15%，抗 Nf 菌之13%。*Enterobacteriaceae* 佔抗 Su 菌之 31%，佔抗 Tc 菌之35%，佔抗 Cm 菌之43%，佔抗 Nf 菌之 51%。這些結果說明 *Aeromonas* 對 Su 與 Tc 之藥物敏感性 (sensitivity) 比對 Cm 與 Nf 要低些，亦即 Cm 與 Nf 兩藥劑在處理 *Aeromonas* 引起的疾病上比較有效。相反的，*Pseudomonas* 對 Su 與 Tc 之敏感性比對 Cm 與 Nf 要高些。*Enterobacteriaceae* 對於抗菌劑之敏感性隨 Su, Tc, Cm, Nf 之次序漸次減低。

Table 6. Bacteria groups of drug-resistant bacteria selected by Sulfamonomethoxine(Su), Tetracycline(Tc), Chloramphenicol(Cm) and P-7138(Nf)

Groups of bacteria	Number (percentage) of isolates resistant to			
	Su	Tc	Cm	Nf
<i>Aeromonas</i>	55( 27)	43( 27)	11( 7)	9( 7)
<i>Pseudomonas</i>	10( 5)	15( 9)	24( 15)	17( 13)
<i>Flavobacterium</i>	16( 8)	10( 6)	12( 8)	8( 6)
<i>Enterobacteriaceae</i>	64( 31)	57( 35)	67( 43)	65( 51)
<i>Achromobacter</i>	13( 6)	9( 6)	11( 7)	8( 7)
<i>Alcaligenes</i>	4( 2)	3( 2)	3( 2)	3( 2)
Other G(-) rods	42( 21)	25( 12)	28( 18)	17( 13)
Total number	204(100)	162(100)	156(100)	127(100)

若將各養殖場之四種抗菌劑合併考慮（Table 7）具抗藥性 *Aeromonas* 佔全部抗藥菌之 18%，*Pseudomonas* 約佔 10%，*Enterobacteriaceae* 約佔 39%，其他菌約佔 32%。這種比例與未經藥劑篩選之一般菌略有差距，一般菌中 *Aeromonas* 佔 21.7%，*Pseudomonas* 佔 8.6%，而 *Enterobacteriaceae* 只佔15%左右。

Table 7. Occurrence of major drug-resistant groups of bacteria isolates from six culturists

Groups	Culturist						Total
	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	
<i>Aeromonas</i>	45( 18.4)*	15( 36.6)	11( 14.7)	10( 13.3)	16( 16.7)	21( 17.9)	118( 18.2)
<i>Pseudomonas</i>	30( 12.2)	3( 7.2)	7( 9.3)	8( 10.7)	6( 6.3)	12( 10.3)	66( 10.2)
<i>Flvobacterium</i>	13( 5.4)	0	5( 6.7)	9( 12.0)	10( 10.4)	9( 7.7)	46 (7.1)
Enterobacteriaceae	107( 43.7)	17( 41.6)	33( 44.0)	23( 30.7)	33( 34.4)	40( 34.2)	253( 39.0)
<i>Achromobacter</i>	14( 5.7)	1( 2.4)	3( 4.0)	8( 10.7)	7( 7.2)	8( 6.8)	41( 6.3)
<i>Alcaligenes</i>	7( 2.9)	1( 2.4)	1( 1.3)	0	4( 4.2)	0	13( 2.0)
Other G(-) rods	29( 10.2)	4( 9.8)	15( 20.0)	17( 22.8)	20( 20.8)	27( 23.1)	112( 17.3)
Total	245(100.0)	41(100.0)	75(100.0)	75(100.0)	96(100.0)	117(100.0)	649(100.0)

\* Number of isolates (percentage)

### 三、抗藥性 R 因子

自210尾鰻分離所得之647株抗藥菌中，有141株 (22%) 為攜帶 R 因子之 R<sup>+</sup> 菌株 (Table 8)。其中，抗 Su 菌204株中有91株 (45%) 攜帶 R 因子，約佔所有 R<sup>+</sup> 菌株中之 62.8%，為四種抗藥菌中比例最高者，抗 Tc 菌162株中有13株 (8%) 為 R<sup>+</sup> 菌株，抗 Cm 菌156株中有38株 (24%) 攜帶 R 因子，抗 Nf 菌之 R<sup>+</sup> 菌株出現率最低，在127株抗 Nf 菌中僅有3株 (2%) 為 R<sup>+</sup> 菌株。

由各場 R 因子出現之頻率來看，施藥頻度較多之 L<sub>1</sub>, K<sub>1</sub>, 及 K<sub>2</sub> 三家養殖場抗藥菌中 R<sup>+</sup> 菌株出現率分別為26%，30%，25% (Table 8)，比施藥頻度較少之 K<sub>3</sub> 及 L<sub>3</sub> 2 養殖場之 11%與 17% 為高。從未施用抗菌藥物之 L<sub>2</sub> 養殖場，雖 R 因子之出現率為24%，與其臨近之 L<sub>3</sub> 場 (17%) 比較，以二項分布測驗分析，顯示 t 值為0.91，小於5%之顯著界限，說明其差異並不顯著。又對 Su 等四種抗藥劑而言，除 L<sub>2</sub> 與 K<sub>2</sub> 2 養殖場外，其餘4場均是抗 Su 之R<sup>+</sup> 菌出現比率高於其他抗藥菌。K<sub>2</sub> 與 L<sub>2</sub> 養殖場之 R<sup>+</sup> 抗藥菌則以抗 Cm 菌之出現率為最高。

Table 8. Incidence of R<sup>+</sup> bacterial strains selected by Sulfamonomethoxine(Su), Tetracycline(Tc), Chloramphenicol(Cm) and P-7138(Nf)

Culturist	Bacterial strains selected by,				Subtotal
	Su	Tc	Cm	Nf	
L <sub>1</sub>	41/65*	7/68	12/57	3/54	63/244(25.8%)
L <sub>2</sub>	5/13	1/15	4/9	0/4	10/41 (24.4%)
L <sub>3</sub>	11/34	0/13	2/15	0/13	13/75 (17.3%)
K <sub>1</sub>	18/34	2/16	2/9	0/15	22/74 (29.7%)
K <sub>2</sub>	9/25	3/21	12/30	0/20	24/96 (25.0%)
K <sub>3</sub>	7/33	0/29	6/34	0/21	13/117(11.1%)
Subtotal	91/204(44.6%)	13/162(8.0%)	38/154(24.4%)	3/127(2.4%)	145/647(22.4%)

\* Number of R<sup>+</sup> isolates/Number of isolates examined

按照月份來考察，6養殖場 R<sup>+</sup> 菌出現之頻率，各場間之變異頗大 (Fig. 1)，但仍可看出1977年10月份與11月份間，6場均呈高的趨勢，及1978年，有4家養殖場1月份出現率為最高。

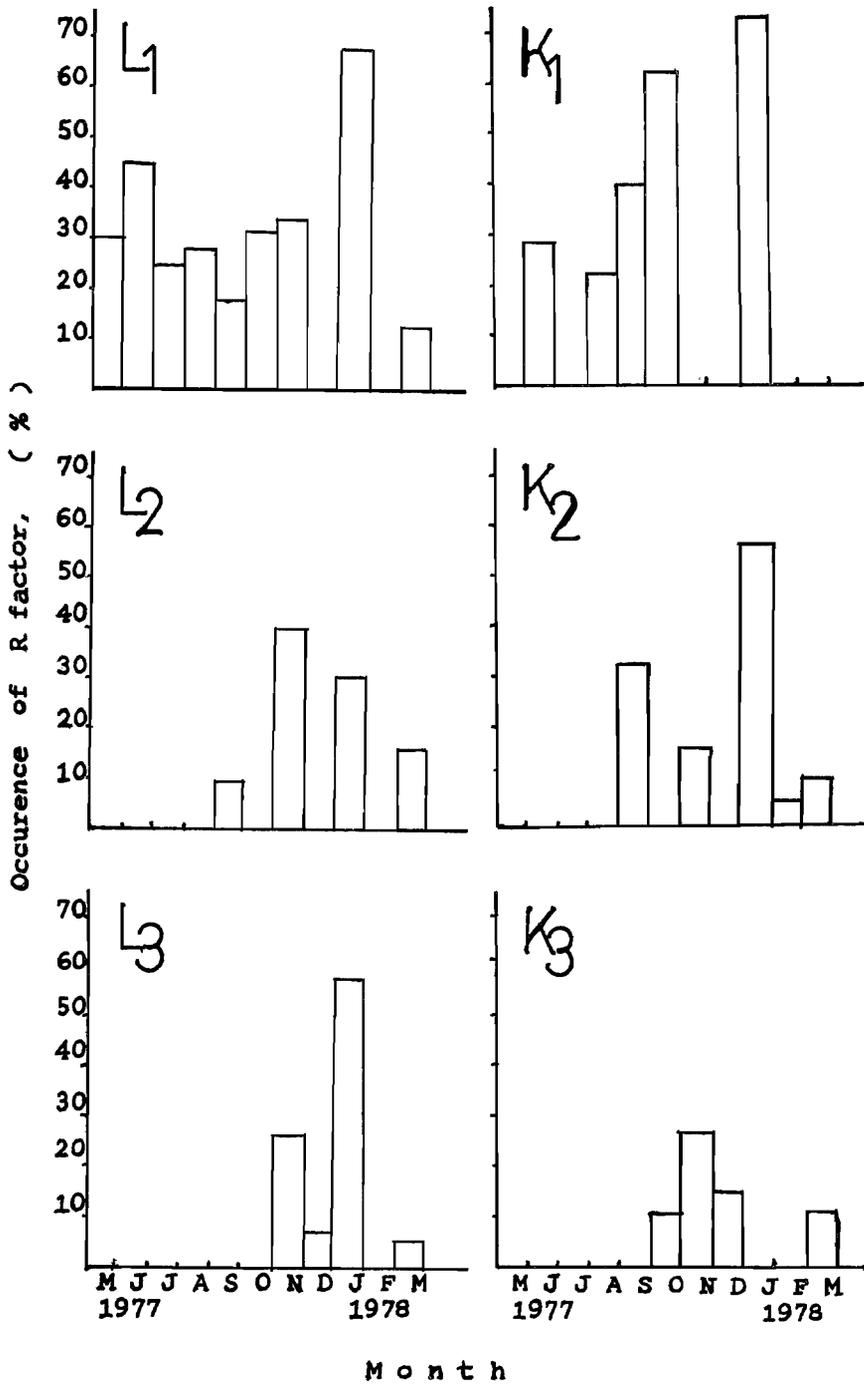


Fig. 1: Incidence of R<sup>+</sup> drug-resistant bacteria strains isolated from six culturists, 1977-1978.

不同種類的抗藥菌，攜帶 R 因子的比率不同 (Table 9), *Aeromonas* 携 R 因子之比率最高，在118株具抗藥性 *Aeromonas* 菌中有40株 (33.9%) 携帶 R 因子；Enterobacteriaceae 次之，253株抗藥菌中有61株 (24.1%) 為 R<sup>+</sup> 菌株，再其次為 *Pseudomonas* 之16.7%，66株抗藥菌中有11株具有R因子。*Flavobacterium*, *Achromobacter* 與 *Alcaligenes* 等3菌種中，無一菌株携帶R因子。

Table 9. Incidence of R plasmid in major groups of bacteria isolated from eels of six culturists

Groups	Culturist						Total
	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	
<i>Aeromonas</i>	19/45*(42)	4/15(29)	4/11(36)	4/10(40)	4/16(25)	5/21(24)	40/118(34)
<i>Pseudomonas</i>	10/30 (33)	0/3	0/7	1/8 (13)	0/6	0/12	11/66 (17)
<i>Flavobacterium</i>	0/13	0/0	0/5	0/9	0/10	0/9	0/46
Enterobacteriaceae	27/107(25)	3/17(18)	5/33(15)	9/23(40)	11/33(33)	6/40(15)	61/253(24)
<i>Achromobacter</i>	0/14	0/1	0/3	0/8	0/7	0/8	0/41
<i>Alcaligenes</i>	0/7	0/1	0/1	0/0	0/4	0/0	0/13

\* Number of R<sup>+</sup> strains/Number of strains examined (Percentage of R factor incidence)

## 討 論

本省養殖鰻腸管和其他器官內抗藥菌之分布，均具有相當的規則，通常抗 Su 菌最多，約佔總細菌羣數目的十之一，抗 Nf 菌最少，只佔百分之一，抗 Tc 菌抗 Cm 菌之出現率則介於上述二者之間。在施放藥物的魚池，魚體抗施用藥物的細菌數有顯著的增加，但藥物處理中止後，抗藥菌數會漸漸減低，此現象與 Richmond (1972) 指出相同，即藥物的處理把不具抗藥性的細菌淘汰，因此，抗藥菌所佔的比率增加，一旦藥物的壓力移去，則非抗藥菌漸次繁殖，同時抗藥菌漸失其抗藥力，使抗藥菌的出現率又慢慢下降。青木與渡邊 (1973) 調查日本鰻魚腸管內抗 Tc 菌與抗 Cm 菌之分布指出抗 Tc 菌與抗 Cm 菌約佔總菌數的十分之一，與本研究之結果相比，高出很多，此可能是由於日本鰻魚養殖歷史悠久，各種藥物之使用相沿已久之故，同時顯示日本之 Tc 及 Cm 之使用於鰻養殖之頻率及數量較本省為劇。

青木與渡邊同時指出抗 Cm 菌出現率比抗 Tc 菌低，且抗 Cm 菌中 R 因子之出現率也較抗 Tc 菌者為低。本研究之結果顯示，抗 Tc 菌與抗 Cm 菌之出現率無顯顯著的不同。按理本省水產養殖上 Tc 之使用比 Cm 普遍，抗 Tc 菌之出現率應較抗 Cm 菌為高。這可能與本省抗 Cm 菌携帶 R 因子的比率比抗 Tc 菌者為高，有密切的關連。因 R 因子具有抗 Cm 藥性之 Cm marker (即 Cm determinant) 出現率可能比 Tc marker 要高出很多，因此致使抗 Tc 菌與抗 Cm 菌之出現率，不因 Tc 之使用頻率及數量較 Cm 多，而有顯著的差異。又，R 因子 Cm marker 與 Tc marker 之基因不穩定 (genetic instability) (Abe *et al.*, 1966)，或 Cm marker 在聯會與圖 (linkage map) 上之相對位置較 Tc marker 接近藥抗傳遞因子(RTF) (Watanabe, 1967)，亦會導致如此的結果。日本的結果，Watanabe *et al.* (1972) 認為是R因子 Cm marker 比較少出現的緣故。因此，本省 R 因子抗藥樣態 (drug-resistant pattern) 究竟如何，實有待進一步的探討。

抗 Su 菌中有 27% 為 *Aeromonas*，抗 Tc 菌中亦有 27% 為 *Aeromonas*，而抗 Cm 菌中却只有 7% 為 *Aeromonas*，抗 Ni 菌者亦只有 7%。又，而抗 Su 及抗 Tc 菌之具有 R 因子者，除抗 Nf 菌僅有 3 株菌，可以忽視外，抗 Su 及抗 Tc 之 *Aeromonas* 均佔 30.7% 為最大。這些結果可能與本省每年由日本進口大量鰻線及黑仔 (每公斤 500 尾左右) 有關。青木與渡邊 (1973) 和 Aoki *et al.* (1971) 分離鰻魚 (*Anguilla* spp.)，香魚 (*Plecoglossus altivelis*) 和鯉魚 (*Cyprinus carpio*) 等魚

體之 *Aeromonas hydrophila* 指出分離菌普遍携有具 Su 與 Tc 兩 marker 之 R 因子，但具 Cm, Nf marker 之 R 因子却很少出現。因此本省每年自日本進口鰻苗時，同時也將具有 Su 與 Tc marker R 因子之 *A. hydrophila* 引入，廣泛流通至全省各地。

比較 Enterobacteriaceae 與 *Aeromonas* 二者，在一般菌與抗藥菌中所佔的比率，及携帶 R 因子的情形時，可以了解此兩類細菌抗藥性的發生，R 因子所扮演的地位有所差異。Enterobacteriaceae 約佔全部抗藥菌之39%，而佔一般菌的百分比却僅為 15%~18%，又抗藥之 Enterobacteriaceae 中有24%携帶 R 因子，另一方面，*Aeromonas* 在抗藥菌中約佔18%，一般菌中之出現率為 22%，其抗藥菌中 R 因子菌株之出現率約為34%。由此可推測 *Aeromonas* 抗藥性的產生，R 因子所佔的地位較其在 Enterobacteriaceae 中的地位重要。此與青木等 (1972) 的指摘一致。而對携 R 因子比率較小，却有大量抗藥菌存在的 Enterobacteriaceae 而言，其抗藥性之產生，則可能源於母族羣基因庫 (population gene pool) 具有較多抗藥決定基因 (resistance determinant)，亦即 Enterobacteriaceae 的抗藥性多為自然抗藥性 (natural resistance) (Aoki *et al.*, 1971) 是以 R 因子傳遞所佔的比重，便居於次要的地位。

R 因子出現率與養殖場使用抗菌劑之頻度有明顯的關係，在使用藥物較頻繁之 L<sub>1</sub>, K<sub>1</sub> 與 K<sub>2</sub> 三家養殖場，R 因子出現率分別為26%，30%，25%，很明顯的高於較少以藥物處理的 L<sub>3</sub> (17%) 與 K<sub>3</sub> (11%) 兩場，至於從未處置藥物之 L<sub>2</sub> 場，R<sup>+</sup> 株出現率達24%，此可能是抗藥性 *Aeromonas* 的出現率，比其他養殖場高出甚多所引起的。因 *Aeromonas* 本身携帶 R 因子的比率相當高。抗 Nf 菌中 R 因子出現頻度相當低，僅有2%，這和多數研究報告的結果 (Watanabe *et al.*, 1971; 青木等, 1972) 相同。L<sub>1</sub> 養殖場顯示携帶 R 因子之抗 Nf 菌出現率較高，應是該場常使用 Nf 藥劑之故。本省鰻體抗菌以具 Su marker, Cm marker 及 Tc marker 之 R 因子為多，Nf marker 很少出現。因此，今後在魚類細菌性感染之防治上，似可以 Nf 為主，以減少因抗藥菌產生所造成疾病治療上的困難。

由各養殖場各月份 R 因子出現的情形顯示各養殖場出現高頻度 R<sup>+</sup> 菌株，均為藥物處理較頻繁時期。在1977年10月份及11月份間，6家養殖場均有偏高的趨勢，而在1978年1月份也有3家養殖場 R 因子出現率達全年最高點，考其原因，當是10月份氣溫不穩定，而一月份氣溫太低，致各養殖場疾病常發生，藥物添加頻繁所導致。

日本的報告指出由養殖魚類所分離出之抗藥 *Pseudomonas* 中，很少發現携帶 R 因子的情形 (Watanabe, 1971)。本實驗却發現本省抗藥 *Pseudomonas* 中，有17%携帶 R 因子，此可能由於近年來中南部地區，養殖鰻發生嚴重的 *Pseudomonas anguilliseptica* 感染症，尤其是與1977年春季大量流行 (郭等，未發表)，各養殖場均大量投放抗菌劑有密切的關連性，換言之，本研究分離之携帶 R 因子之 *Pseudomonas* 可能為過去流行抗藥之殘留 (Richmond, 1972)。

R 因子能將藥物抗性 marker，貯存於 R 因子的基因庫 (gene pool) 中，從而長期影響細菌族羣之抗藥性。又，多種抗藥性 (multiple drug-resistance) 可藉 R 因子傳遞，由無害於人類之細菌感染給人類疾病之病原菌上，因此使常用之廣效性抗菌劑失去效用，造成治療上嚴重的困擾 (渡邊1972<sup>b</sup>)。但防止 R 因子之傳遞，除了消極的減少藥物的使用之外，並無積極可行的辦法 (Brinton, 1971) 針對此點，英國在最近已採取立法之程序，強制將動物用藥與人類醫學用藥加以分隔 (渡邊 1972<sup>a</sup>)，使動物用藥所產生之抗藥性，雖經 R 因子的傳遞，亦不致影響人類疾病的治療。

本省的水產養殖環境中，曾一再發現多種抗藥性的病原菌株 (徐和郭, 1977; 郭等, 1976; 郭等, 1977; 郭和郭, 未發表)，造成這種現象的原因，是否由於 R 因子的感染所致，尚未敢加以斷言，而由本報告所顯示的結果，却使吾人不得不相信，本省鰻魚養殖的環境中，抗藥菌出現頻度之高，可能是受到 R 因子及廣泛使用抗菌劑之影響。因此，不管從公共衛生的立足點，或是水產養殖魚類疾病防治的觀點而言，對於 R 因子所具之抗藥樣態 (pattern) 有待進一步的探討，長期對細菌抗藥性之檢查，能給吾人充份資料以檢討各種抗菌藥劑的使用，而達到雖多而不濫的境界。

## 摘 要

自1977年5月至1978年3月，進行研究及檢討本省6家養鰻場，鰻魚體中磺胺劑 (Su)，四環黴素 (Tc)，氯黴素 (Cm) 及呋喃劑 (Nf) 四種藥劑之抗藥性細菌之出現，及分離出之抗藥菌 649株中，R 因子之出現情形。得下列之結果：(1)各種抗藥菌就數目而言，隨魚體內之總細菌數呈正相關變化；就藥劑的種類而言，以抗 Su 菌出現率最高，抗 Tc 菌與抗 Cm 菌次之，抗 Nf 菌最少；就細菌種類而言，抗藥菌中有39%為 Enterobacteriaceae 為最高，比一般菌中 Enterobacteriaceae 所佔 15%之比率高出甚多，其次為 *Aeromonas* 之 18.2%，再其次為 *Pseudomonas* 之 10.2%，以 *Alcaligenes* 之 2%為最低。(2)各養殖場抗藥菌及其 R 因子之出現率依藥物使用頻度提高及施用時間之增長，有增大的趨勢。(3)抗 Su 菌中有45%為 R<sup>+</sup> 菌株，抗 Cm 菌有24%，抗 Tc 菌有8%，而抗 Nf 菌只有2%攜帶 R因子。(4)具抗藥性之 *Aeromonas* 攜帶 R 因子的比率最高，為33.9%，其次為 Enterobacteriaceae 有 24.1%，再其次為 *Pseudomonas* 的 16.7%，其他如 *Flavobacterium*, *Achromobacter* 和 *Alcaligenes* 等三類抗藥菌中無 R 因子檢出的情形。

## 謝 詞

本研究蒙農復會 78-ARDP-5-3-0-158 計劃之經費支持。省水試所鹿港分所及東港分所慷慨場地設備及諸位同仁的幫忙，臺大魚病室郭上卿小姐、黃欣汝小姐給予鼎力協助，臺大動物系李玉玲小姐對統計分析及電腦操作提供寶貴意見，謹致以最大謝忱。

## 參 考 文 獻

- 1) Abe, H., S. Goto and S. Kuwabara. 1966. Transmission of multiple drug-resistance from *Shigella* to *Aeromonas* and non-agglutinable *Vibrio* through conjugation. *Japan J. Bacteriol.*, 21: 266-273.
- 2) Abraham, E. P., and E. Chain. 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*, Lond. 146: 837.
- 3) Aoki, T., S. Egusa, T. Kimura and T. Watanabe. 1971. Detection of resistance factors in fish pathogen *Aeromonas liquefaciens*. *J. Gen. Microbiol.*, 65: 343-349.
- 4) Aoki, T., S. Egusa and T. Watanabe. 1973. Detection of R<sup>+</sup> bacteria in cultured marine fish, yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Japan J. Microbiol.*, 17 (1): 7-12.
- 5) Anderson, E. S. 1968. The ecology of transferable drug resistance in Enterobacteriaceae. *Ann. Rev. Microbiol.*, 22: 131
- 6) Brinton, C. C. 1971. The properties of sex pili. the viral nature of conjugal genetic transfer systems and some possible approaches to the control of bacterial drug resistance. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* pp. 105-160.
- 7) Davis, B. D., R. Dulbecco, H. N. Eisen, H. S. Ginsberg and W.B. Wood. 1973. *Microbiology*, 2nd Ed. Harper & Row, Publishers, Hagerstown, Maryland. p. 755.
- 8) Krieg, N. R. 1974. Family Enterobacteriaceae Rahn. In Buchanan and Gibbons (Editors), *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th Ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- 9) Petersdore, R. G. and J. C. Sherris. 1965. Methods and significance of *in vitro* testing of bacterial sensitivity to drugs. *Am. J. Med.*, 39: 766-779.
- 10) Pollock, M. R. 1967. Origin and function of penicillinase: a problem in biochemical evolution. *Bri. Med. J.*, 4: 71-77.

- 11) Richmond, N. H. 1972. Some environmental consequences of the use of antibiotics. *J. Appl. Bact.*, 35: 155-176.
- 12) Shotts, E. B. Jr., V. L. Vanderwok and L. M. Campbell. 1976. Occurrence of R factors associated with *Aeromonas hydrophila* isolates from aquarium fish and waters. *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 736-740.
- 13) Stokstad, E. L. R. 1954. Antibiotics in animal nutrition. *Physiol. Rev.*, 34: 25-51.
- 14) Watanabe, T. 1963. Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bacteriol. Rev.*, 27: 87-115.
- 15) Watanabe, T. 1967. Infectious drug resistance. *Sci. Am.*, 217(6): 19-27.
- 16) Watanabe, T., T. Aoki, Y. Ogata and S. Egusa. 1971. R factors related to fish culturing. *Ann. New York Acad. Sci.* 182: 383-410.
- 17) Watanabe, T., T. Aoki, C. Yada, Y. Ogata, K. Sugawara, T. Saito and S. Egusa. 1972. Fish culturing and R factors. Proc. 1st Internatl Symp. on Infectious Antibiotic Resistance (Smolenice, Czechoslovakia). pp. 131-141.
- 18) 渡邊力, 1972<sup>a</sup>. 醫療以外の分野における化学療法剤の使用と公衆衛生上の問題點, 醫療の門, 12: 135—140。
- 19) 渡邊力, 1972<sup>b</sup>. 抗生物質の飼料添加——スワン, レポートをめぐつて一, 科學, 41: 25—30。
- 20) 青木宙, 1974. コイの養殖池水および腸管より分離された薬剤耐性菌の研究, 日本水産學會誌, 40 (3) : 247—254。
- 21) 青木宙、江草周三、渡邊力, 1972. 水産養殖における薬剤耐性と R 因子, 日本細菌學雜誌, 27 (6) : 762—767。
- 22) 青木宙、渡邊力, 1973. ウナギの養殖池水および腸管より分離された薬剤耐性菌の研究。日本水産學會誌, 39 (2) : 121—130。
- 23) 林耀松、蕭世民, 1977. 漁池生態環境與魚病關係之研究(1)臺灣鰻魚疾病之統計分析, Reports on Fish Disease Research (I), JCRR, Taiwan. pp. 58-61.
- 24) 徐大全、郭光雄, 1977. 魚類病原性黏液細菌 (*Flexibacter columnaris*) 之研究, 臺灣水產學會刊, 5 (2) : 41—54。
- 25) 郭上卿、鍾虎雲、郭光雄, 1976. 淡水養殖香魚之 *Vibrio* 病病原菌 *Vibrio anguillarum* 之分離, 臺灣水產學會刊, 4 (2) : 21—24。
- 26) 郭上卿、鍾虎雲、郭光雄, 1977. 養殖鰻潰瘍病病原菌 *Edwardsiella anguillimortiferum* 之分離。Reports on Fish Disease Research (I), JCRR. Taipei, Taiwan. pp. 1-6.
- 27) 郭上卿、郭光雄, 養殖鰻赤點病病原菌 *Pseudomonas anguilliseptica* 之分離 (未發表)。
- 28) 鍾虎雲、郭光雄, 1973. 魚體常有細菌之研究—— I. 存在於外觀健康之鰻魚之鰓腸血液及內臟之細菌, 臺灣水產學會刊, 2 (2) : 20—25。



# 養殖鰻細菌分佈之研究

陳昭德 · 郭光雄\*\*

Studies on Bacterial Distribution in Pond-Cultured Eels\*

Jau-Der Chen\* and Guang-Hsiung Kou\*\*

## Abstract

The purpose of this study was to understand the bacterial flora in eel-farms and the difference between *Aeromonas* and *Edwardsiella*. Five hundred and thirty-nine strains were isolated from two hundred and four eels and pond-water. The isolates were classified as *Edwardsiella*, Enterobacteriaceae, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* and unidentified Gram-negative rods. The number of isolates from intestine was more than those from viscera and pond-water and the number of isolates from diseased eels was more than that from healthy ones. The distribution of *Aeromonas* and *Edwardsiella* was rather different. The latter, unlike the former, was rarely found in healthy eels as well as in sediments and plankton of rearing pond. The investigation of the origin of *Edwardsiella* and the way it got into eel-pond indicated that feces of birds might be one of the possible infectious pathway, but the isolation of *Edwardsiella* did not succeed.

## 緒 言

近年來養鰻事業因養殖密度的提高，鰻池的老化，及飼料品質之不穩定，使疾病發生之種類及發生率增高，造成的損失也隨著增加，鰻病問題因而日益受人重視。據一九七六年臺灣養鰻戶之鰻病調查統計分析，發現由細菌性引起的赤鰓及潰瘍病為鰻罹病死亡之主因，佔鰻魚所有死亡病因的36%<sup>(1)</sup>，是以引起著者研究鰻池細菌相之興趣。

細菌性疾病中以赤鰓病之發生率及造成之損失為最大。過去赤鰓病係指由病原菌 *Aeromonas hydrophila* 及 *Edwardsiella anguillimortiferum* (*Paracolobactrum anguillimortiferum*) 共同引起或單獨引起之疾病<sup>(2, 3)</sup>，如今 *E. anguillimortiferum* 已被認為是引起潰瘍症之病原菌<sup>(4)</sup>，有關 *A. hydrophila* 的研究很多<sup>(5-9)</sup>，但關於 *E. anguillimortiferum* 之研究則甚少，且自一九五九年 Sakazaki 和 Murata 發現此菌以來，研究者大多著重在細菌之分離及分類上的工作<sup>(10-18)</sup>，而其他方面的研究則甚稀少。由過去之研究報告<sup>(9, 19, 20)</sup>，得知一些引起魚類疾病之病原菌，常存在於水中，由外觀上健康之魚體內，亦常常可以分離出來，如 *A. hydrophila*。因此當魚體內外條件惡化時，如魚體受寄生蟲寄生，營養不良，消化不良，氧氣缺乏，水溫激烈變化等等，此等病原菌容易在

\* 本文為作者臺大動物學研究所碩士論文

(This paper represents a Thesis that was submitted as fulfilment of the M.S. degree at the National Taiwan University)

\*\* 臺灣大學動物學研究所

(Institute of Zoology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, 107)

魚體內繁殖引起疾病，而被稱為條件性病原菌<sup>(21)</sup>，由於此種之了解，對於此等病原菌所引起疾病之防治就有了良策。而 *E. anguillimortiferum* 是否與 *A. hydrophila* 相同為條件性病原菌，且常存於池水中，甚或由外觀上健康鰻魚之內臟中亦可分離出，實有究明之必要。而水域為鰻魚之唯一生活環境，故欲了解此類細菌感染魚體之機制，除了究明此類細菌在魚體內存在之情況外，還得究明其在魚體生活之水域中之種種情況，諸如池水中各菌種之消長，季節變化，地域不同有無差異等。本研究則針對這些問題，特別有關 *E. anguillimortiferum* 之分佈，加以調查研究及分析，所得之一些見解在此提出，以供研究魚病者之參考。

### 材料及方法

使用材料及來源如 Table 1 所示，係自一九七七年四月起至一九七八年三月止，選臺灣中部彰化地區三家及南部高屏地區三家養鰻場，做為固定採樣池，每月採樣一次，除池鰻外，池水、底泥及浮游生物，亦一併採樣，供做細菌分離用。

Table 1. No. of eels examined from April, 1977 to March, 1978

		Southern Taiwan eel-culture ponds		Central Taiwan eel-culture ponds	
		Healthy	Diseased	Healthy	Diseased
1977	APR	4			
	MAY	5		5	
	JUN	5		5	
	JUL			5	
	AUG	15			
	SEP	10	5 (Water-mold)	14	1 (Red-fin)
	OCT	5	4 (Tail-rot)		5 (Red-fin)
	NOV	12	1 (Red-fin)	11	1 (Red-fin)
1978	DEC	12		5	4 (Red-fin)
	JAN	10	5 (Red-fin)	7	5 (Red-fin)
	FEB	11		5	
	MAR	12		13	2 (Plistophorosis)
Total		101	15	70	18

#### 一、鰻體細菌之分離

每家養鰻場任取外觀健康，大小為150-200 g 之鰻魚5尾，用1.5% Urethane 麻醉後進行肝臟、腎臟、脾臟及腸之細菌分離，若採樣時有病鰻發生，亦同時進行採樣分離細菌。麻醉後再以70%的酒精棉花擦拭體表面，在無菌操作下解剖魚體，先由動脈球以滅菌針筒將血抽乾，然後取出肝臟、腎臟及腸，再將各組織分別合在一起，精確稱重後，加入十倍於組織重量之滅菌食鹽水(0.85% NaCl)，再以均質機(Homogenizer) 研磨5分鐘，使成組織懸浮液，然後以滅菌食鹽水稀釋五階段，每階段皆為十倍稀釋，自每階段稀釋液中吸取0.1 c.c. 接種在細菌培養基上(Pepton 15g, Beef extract 7.5g, NaCl 5g, Agar 15g, dist. H<sub>2</sub>O 1000 c.c. pH 7.0-7.2)，用滅菌之玻璃棒均勻塗抹培養基之表面後，置於28°C 培養箱中培養48小時，將發育在培養基上形態不同之菌落(Colony) 鈎出，轉培養於斜面培養基上保存，供各種實驗用，同時計算不同形態菌落之數目，求出每1g之內臟器官中所含各菌之菌數。

#### 二、池水細菌之分離

以針筒式採水器由鰻池投餌場之水面下15 cm 處採水，將採取之池水5 c.c.-10 c.c. 注入經高



2 之分類表，分出 *Edwardsiella*, *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* 及 *Unidentified Gram-negative rods* 等八菌羣。

## 六、病原性試驗

將鑑定為 *Edwardsiella anguillimortiferum* 之分離菌，於 28°C 下，培養於普通培養基上 48 小時後取 10 mg 之培養菌溶入 1 c.c. 之滅菌食鹽水中，使成活菌懸浮液，依每 100 g 魚體接種 4 mg 濕菌之比例，以腹腔接種方式，接種於腹腔中，即每 100 g 魚體重，接種 0.4 c.c. 之菌液。每一菌株接種兩尾，大小為 150-200 g 之鰻，接種後之鰻收容含水 30 公升之方形水箱內觀察，每天換水一次，觀察兩星期，觀察期間不給餌，水溫與室溫同 (20-25°C)。同時以食鹽水腹腔接種法，接種兩尾鰻，同樣收容於含水 30 公升方形水箱內觀察，做為對照組。

## 結 果

自 1977 年 4 月起至 1978 年 3 月止，在臺灣中部彰化地區及南部高屏地區養鰻場進行鰻魚之腸，內臟及池水之細菌分離，總共採樣 204 尾鰻魚，分離到 539 株菌，另由浮游生物及底泥分離到 160 株菌，茲將所得資料加以整理，分述如下：

### 一、季節變化

依 Table 2 分離菌可分成八個菌羣，南部養鰻場之每月各菌羣之出現分佈情況如 Table 3 所示，*Edwardsiella* 僅 12 月和 3 月由腎臟分離到，*Enterobacteriaceae* 及 *Aeromonas* 採樣幾乎都分離到，*Pseudomonas* 從 11 月起至 6 月止被分離到，*Achromobacter* 僅 3 月時被分離到，*Flavobacterium* 在 9 月、12 月及 3 月被分離到，*Alcaligenes* 在 5 月、11 月、2 月及 3 月被分離到。中部養鰻場之情形如 Table 4 所示，和南部養鰻場略有差異，*Edwardsiella* 僅在 5 月被分離到，*Enterobacteriaceae* 及 *Aeromonas* 與南部相同，採樣幾乎都有分離到，*Pseudomonas* 在 3 月至 7 月被分離到，*Achromobacter* 在 7 月、1 月及 3 月被分離到，*Flavobacterium* 在 7 月、11 月及 3 月被分離到，*Alcaligenes* 則在 5 月、7 月及 11 月被分離到。

腸、內臟及池水之總分離菌數之年分佈如 Table 5 所示，南部養鰻場之腸內菌數，每 1 g 之含菌量除 1 月在  $10^5$  cells，10 月及 12 月為  $10^6$  cells 外，其餘月份均達  $10^7$  cells，內臟 1 g 之含菌量 5 月及 1 月最少為  $10^4$  cells，10 月份高達  $10^7$  cells，其餘皆在  $10^{5-6}$  cells，中部養鰻場之腸內菌以 2 月為最低，每 1 g 之含菌量在  $10^3$  cells，5 月及 12 月達  $10^7$  cells 外，餘均在  $10^{4-6}$  cells，內臟 1 g 之含菌量 7 月及 9 月為最低僅  $10^3$  cells，6 月為最高達  $10^6$  cells，餘均在  $10^{4-5}$  cells。池水之含菌量，中部養鰻場除 12 月及 3 月每 c.c. 之含菌量在  $10^8$  cells 外，餘和南部養鰻場一致皆達  $10^4$  cells 以上，而南部養鰻場在 6 及 9 月為最高達  $10^5$  cells，中部養鰻場則在 6 月及 3 月為最高達  $10^5$  cells，由此可見不拘是內臟，腸內或池水之含菌量，中部之養鰻場有較南部者為低之現象。

比較腸、內臟與池水之總分離菌數，由 Fig. 1 可看出南部養鰻場之腸內及內臟之含菌數以 1 月為最低，中部則以 2 月份為最低，整年之最高及最低月平均水溫亦以 1 月至 2 月為最低。以每 1 g 相等於 1 c.c. 之單位來比較，除南部 10 月及 12 月，中部 11 月及 3 月，腸內之含菌數較內臟含菌數為低或略低外，其他月份皆腸內含菌數較內臟含菌數為高，池水之含菌數除南部 5 至 6 月，中部 9 月及 3 月較內臟及腸含菌數為高或略高外，其他各月皆較低 (Table 5)，又比較中南部之鰻魚體總分離菌數，如 Fig. 2 所示，南部養鰻場含菌數最高的月份為 2 月至 4 月及 9 月至 12 月，中部則為 5 月及 12 月，恰值水溫變動最劇之春初及秋初，而水溫最高之 7 至 8 月含菌數，反而不是最高。

### 二、*Aeromonas*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* 及 *Edwardsiella* 之出現

由鰻魚體及池水分出之 539 株菌如 Table 6 所示，除 *Unidentified Gram-negative rods*

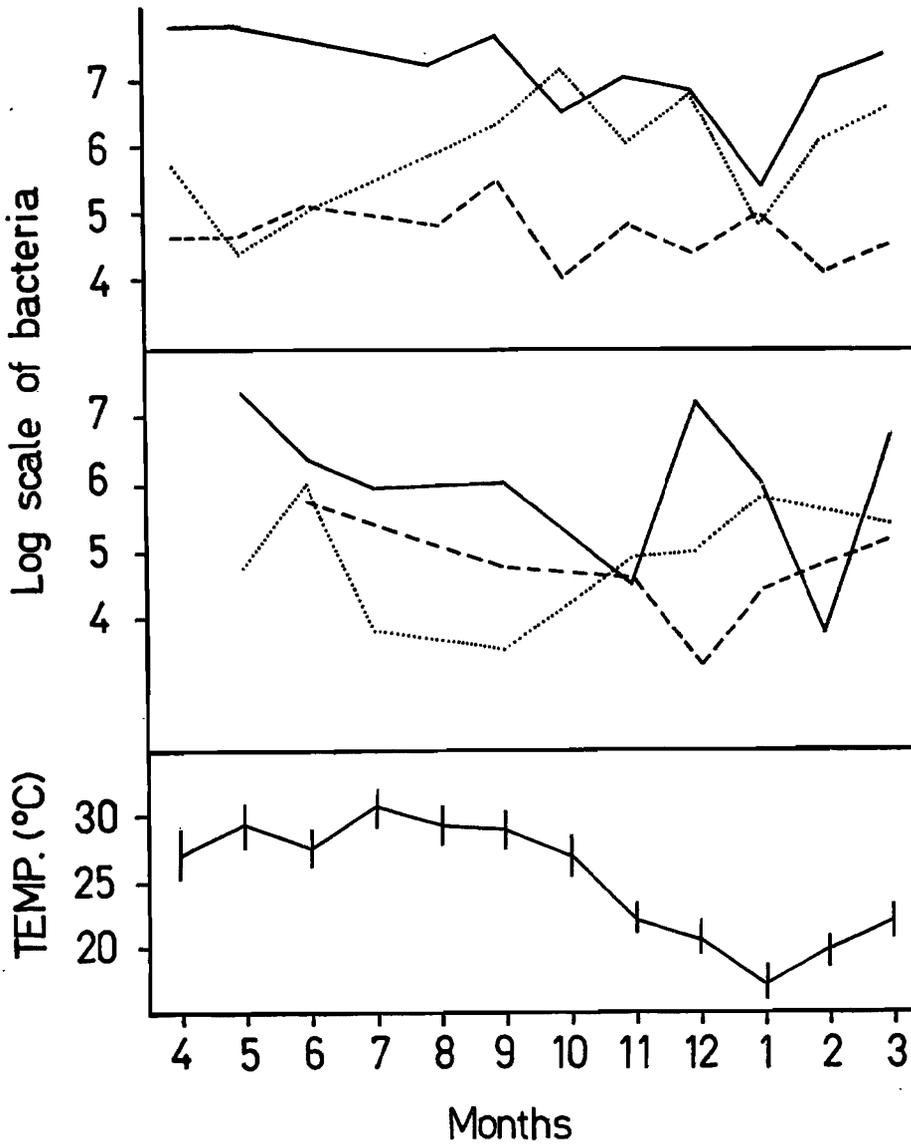


Fig. 1. The comparison of bacteria among Intestine——Viscera..... and Pond-water -----  
Upper: Southern Taiwan eel-culture ponds.  
Middle: Central Taiwan eel-culture ponds.  
Lower: Annual fluctuation of water temperature.

Table 3. The annual distribution of isolated bacteria ( $10^8$  cells/g) from Southern Taiwan eel-culture ponds

	Organ	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEB	MAR
<i>Edwardsiella</i>	{ I S K K L }									7.5			746
Enterobacteriaceae	{ I S K K L }	73	530			5673.3		520	710		180.95	319	15060
			10 10 54	28		26 23.9		3.5	12				
<i>Aeromonas</i>	{ I S K K L }	1500				10000	1520 6900	61.95	26			10560	
			3.7				47 7.63	14	150 208	67 55		2304 6.5	
<i>Pseudomonas</i>	{ I S K K L }		11000	310					598	96	100		508 1228
<i>Achromobacter</i>	{ I S K K L }											1.65	
<i>Flavobacterium</i>	{ I S K K L }						40620	30000	4204.35				
							0.39		386.5 35.65	21020			
<i>Alcaligenes</i>	{ I S K K L }		61000						8.7			1503.7	1228
Unidentified G -, rods	{ I S K K L }	75080	10				4600	3000	6600		153	957	6058
		180	6.5 0.1			1000 2200 24		15415	180	1800 3.2	6350 120 300 280	121.25	

I: Intestine    S: Spleen    K: Kidney    L: Liver

Table 4. The annual distribution of isolated bacteria ( $10^8$  cells/g) from Central Taiwan eel-culture ponds

	Organ	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	FEB	MAR
<i>Edwardsiella</i>	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	2.7										
Enterobacteriaceae	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	1400				370		14	18000	605		
	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	1.9	2490	0.71		117.6		6.75			5.37	579
<i>Aeromonas</i>	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	14		360						1000		
	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	1.9 0.6		6.335 2.7 4.85								
<i>Pseudomonas</i>	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	3359.5		39.4								418.4 27.4
	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	4.5	2031	2.63 0.78								138
<i>Achromobacter</i>	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$			111.1						0.028		
	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$			1.6 1.6 0.525								
<i>Flavobacterium</i>	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$							4.5 230 2.334				69.6
	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	3		0.33				3.2				
<i>Alcaligenes</i>	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	0.23		0.22								
	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$	20337.87 143.25 7.05 9.4		386.3		660		18		443.75	1.54	53
Unidentified G -, rods	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$					10.8		0.084 0.22	362	1000		
	$\begin{Bmatrix} I \\ S \\ K \\ L \end{Bmatrix}$		16 1131 8.2	0.6								

I: Intestine S: Spleen K: Kidney L: Liver

Table 5. The annual distribution of isolated bacteria ( $10^8$  cells/g or c. c.) among intestine (I), viscera (V), and pond-water (W)

		APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP
Southern Taiwan eel-culture pond	I	75080	72540	—		16673.3	46740
	V	584.33	28.1	112.666		757.966	2318.34
	W	52	52.06	134.6		76.83	349.5
Central Taiwan eel-culture pond	I		25111.375	2490	896.8		1147.6
	V		58.176	1062.066	7.626		3.6
	W			610.8			70.95
Max. H <sub>2</sub> O Temp.		29.40	31.05	29.22	32.39	30.98	30.92
Min. H <sub>2</sub> O Temp.		25.46	28.05	26.80	29.40	28.59	28.19

		OCT	NOV	DEC	JAN	FEB	MAR
Southern Taiwan eel-culture pond	I	3591.95	11437.05	6446	333.95	11836	22126
	V	15204.166	1101.783	7822.166	73.75	1271.95	1508.55
	W	12.75	30.5	28		13.5	33.3
Central Taiwan eel-culture pond	I		32.45	18000	1048.75	6.91	58.79
	V		82.212	120.666	666.676		217.8
	W		47.5	2.2	31	7	450
Max. H <sub>2</sub> O Temp.		28.75	23.58	22.39	19.31	21.55	23.92
Min. H <sub>2</sub> O Temp.		26.34	21.69	20.15	16.96	19.58	21.51

外，以 *Aeromonas* 佔20.22%為最多，Enterobacteriaceae 佔12.98%次之 *Psuedomonas* 佔10.94%又次之，而以 *Edwardsiella* 佔 1.85%為最少。檢討 *Aeromonas* 及 Enterobacteriaceae 之出現，不拘健康魚或病魚之腸、內臟及池水皆可分離到，其出現之月份全年都可分離到，而 *Psuedomonas* 之出現也是不拘健康魚或病魚之腸、內臟及池水皆可分離到，但出現之月份則在11月至7月，而8月至10月則未分離到。*Edwardsiella* 之出現單就被分離出之器官來看，健康魚之脾臟分離出1菌株，腎臟分離出2菌株，由病鰻之脾臟分離出1菌株，腎臟2菌株及腸1菌株，不論由健康魚或病魚之肝臟均未分離出 *Edwardsiella*。再就出現的月別來看，分別在5月中部養鰻場健康鰻魚之脾臟 ( $2.7 \times 10^8$  cells/g)，9月南部養鰻場感染水黴菌之病鰻之脾臟 ( $85 \times 10^8$  cells/g)及腎臟( $120 \times 10^8$  cells/g)，中部養鰻場外觀呈現赤鰭病徵之腎臟 ( $30 \times 10^8$  cells/g) 腸 ( $11000 \times 10^8$  cells/g) 及同池池水 ( $2 \times 10^8$  cells/c.c.)，12月南部養鰻場之健康鰻魚之腎臟 ( $7.5 \times 10^8$  cells/g) 及中部養鰻之正常池水 ( $0.4 \times 10^8$  cells/c.c.)，2月南部養鰻場之正常池水 ( $0.3 \times 10^8$  cells/c.c.)，及3月南部養鰻場之健康鰻之腎臟 ( $746 \times 10^8$  cells/g) 出現，總共10菌株，此點顯示 *Edwardsiella* 和 *Aeromonas* 之生態分佈不同，前者非常存於池水中及健康鰻魚體內之常見細菌，且無一定在某月份特別佔優勢，又由健康鰻或非罹患潰瘍症之病鰻都可能分離出 *Edwardsiella*。

### 三、病魚之分離菌

如 Table 7 所示，南部養鰻場9月被水黴菌感染之病鰻被分離出 *Edwardsiella*, *Aeromonas*

Table 6. The no. of isolated strain and its range (10<sup>8</sup> cells/g or c. c.) from pond water (W) and intestine (I), spleen (S), kidney (K), and liver (L) of 33 diseased fishes (D) and 171 healthy fishes (H)

	I	S	K	L	W	TOTAL
<i>Edwardsiella</i>	{ H D	1 ( 2.7- ) 1 ( 85- )	2 ( 7.5-746 ) 2 ( 30-120 )		2 ( 0.3-0.4 ) 1 ( 2- )	10
Enterobacteriaceae	{ H D	8 ( 10-4242 ) 2 ( 38-740 )	6 ( 3.5-26 ) 2 ( 113-240 )	6 ( 0.71-54 ) 3 ( 1.7-8.76 )	18 ( 0.2-524 )	69
<i>Aeromonas</i>	{ H D	3 ( 0.67-6900 ) 1 ( 2.5- )	15 ( 2.7-1500 ) 5 ( 3.6-94.6 )	16 ( 0.1-550 ) 4 ( 0.73-12 )	23 ( 0.1-90 ) 8 ( 42-100 )	109
<i>Pseudomonas</i>	{ H D	2 ( 100-1228 ) 4 ( 780-4300 )	8 ( 0.43-2031 )	5 ( 0.78-310 ) 3 ( 0.057-32.8 )	20 ( 0.5-180 ) 8 ( 0.1-110 )	59
<i>Achromobacter</i>	{ H D	3 ( 1.6-4912 )	4 ( 0.4-2.7 ) 1 ( 43.5- )	1 ( 0.28- )	4 ( 0.3-400 ) 2 ( 100-990 )	20
<i>Flavobacterium</i>	{ H D	8 ( 1.6-30000 ) 2 ( 29-1694.9 )	8 ( 0.084-730 ) 1 ( 7.6- )	6 ( 0.3-69.6 ) 3 ( 0.28-2.75 )	8 ( 1-26 ) 7 ( 0.2-20 )	51
<i>Alcaligenes</i>	{ H D	2 ( 3-1228 )	2 ( 0.22-1503.7 )	1 ( 0.23- ) 2 ( 1.6-44 )	3 ( 0.2-8 )	13
Unidentified G <sup>-</sup> , rods	{ H D	16 ( 4.8-3000 ) 6 ( 2.5-1100 )	27 ( 0.084-1800 ) 8 ( 5.4-470 )	21 ( 0.22-440 ) 6 ( 0.028-148.7 )	62 ( 0.1-1800 ) 14 ( 0.1-130 )	208
TOTAL	138	53	91	77	180	539

Table 7. The isolated bacteria ( $10^8$  cells/g) of intestine (I), spleen (S), kidney (K), and liver (L) from diseased fish

	Organ	Southern Taiwan eel-culture ponds				Central Aaiwan eel-culture ponds								
		SEP	OCT	NOV	JAN	SEP	OCT	NOV	DEC	JAN	MAR			
<i>Edwardsiella</i>	I S K L	85 120				11000 30	10							
Enterobacteriaceae	I S K L					460	8.76	240	410	120 740			188 3.15 113 1.7	
<i>Aeromonas</i>	I S K L		9400					66000	410	78			1187.5	
<i>Pseudomonas</i>	I S K L	2.1 780	50		169.5		4300	0.73	9.4 4.9	3.6 12 79			98.9 1.2	
<i>Actinobacter</i>	I S K L				0.057								48.4	
<i>Flavobacterium</i>	I S K L			29	1694.9									43.5
<i>Alcaligenes</i>	I S K L				0.028		7.6	0.043						275
Unidentified G <sup>-</sup> , rods	I S K L		1100	232 297 5.4	508 337 77.4 0.055	690		470	820	44 120			679.5 6.95 130.3 1.3	
Symptoms		Watermold	Tail-rot	Red-fin*	Red-fin*	Red-fin*	Red-fin*	Red-fin	Red-fin	Red-fin	Red-fin	Red-fin	Red-fin	Plistophorosis

\* Approximate to red fin disease

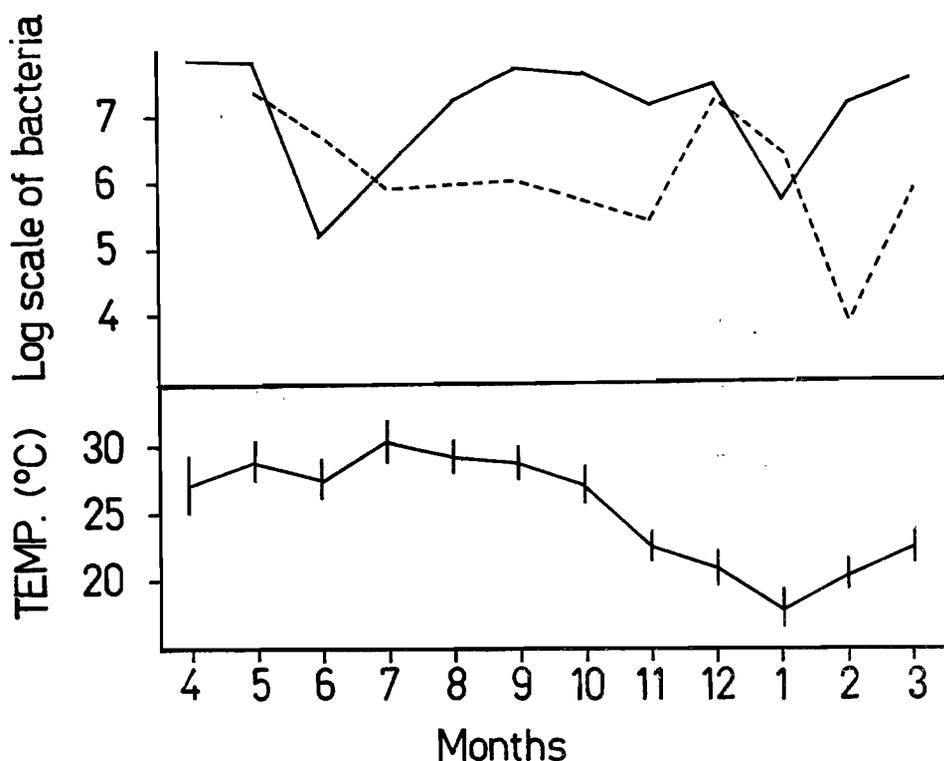


Fig. 2. The comparison of total bacteria between Southern Taiwan eel-culture ponds—— and Central Taiwan eel-culture ponds…….

及 *Pseudomonas*，10月患爛尾病之鰻魚被分離出 *Aeromonas*，11月及1月外觀呈現赤鰭病徵之病鰻，被分離到 *Pseudomonas* 及 *Flavobacterium*，中部養鰻場9月外觀呈現有赤鰭病之病鰻被分離到 *Edwardsiella*，*Enterobacteriaceae* 及 *Alcaligenes*，10月外觀呈現赤鰭病徵之病鰻被分離到 *Enterobacteriaceae*，*Pseudomonas* 及 *Flavobacterium*，11月至1月所採到的皆為典型赤鰭病病鰻，主要分離菌為 *Aeromonas* 及 *Enterobacteriaceae*，3月份採到之病鰻為患凹凸病(*Plistophorosis*)之病鰻，非細菌性疾病，除 *Edwardsiella* 及 *Alcaligenes* 外，各菌羣皆曾分離到。

比較健康魚與病魚之總分離菌數如 Fig. 3 所示，除南部養鰻場9月及11月與中部養鰻場之12月及1月為健康魚之含菌量較病魚為高外，病魚之含菌數要比健康魚之含菌數為高，不拘健康魚或病魚腸內含菌比內臟之含菌數為高。

#### 四、底泥、浮游生物及鳥糞之細菌分離

自1977年7月起至1978年2月止，由中部養鰻場之底泥分離出28株菌，南部養鰻場之底泥分離出60株菌，合計88株菌，又浮游生物之細菌分離由中部養鰻場分離出27株菌，南部養鰻場分離到45株菌，合計72株菌，經鑑定結果如 Table 8 所示，由底泥可分離到 *Enterobacteriaceae*，*Aeromonas*，*Pseudomonas*，*Achromobacter*，*Flavobacterium* 及 *Alcaligenes*，由浮游生物可分離到 *Enterobacteriaceae*，*Aeromonas*，*Pseudomonas*，*Achromobacter* 及 *Flavobacterium*，而未能鑑定的細菌則佔大多數，但無任一菌株為 *Edwardsiella*，又由南部養鰻場收集新鮮鳥糞，以 RS medium 分離細菌，亦無 *Edwardsiella* 之發現。

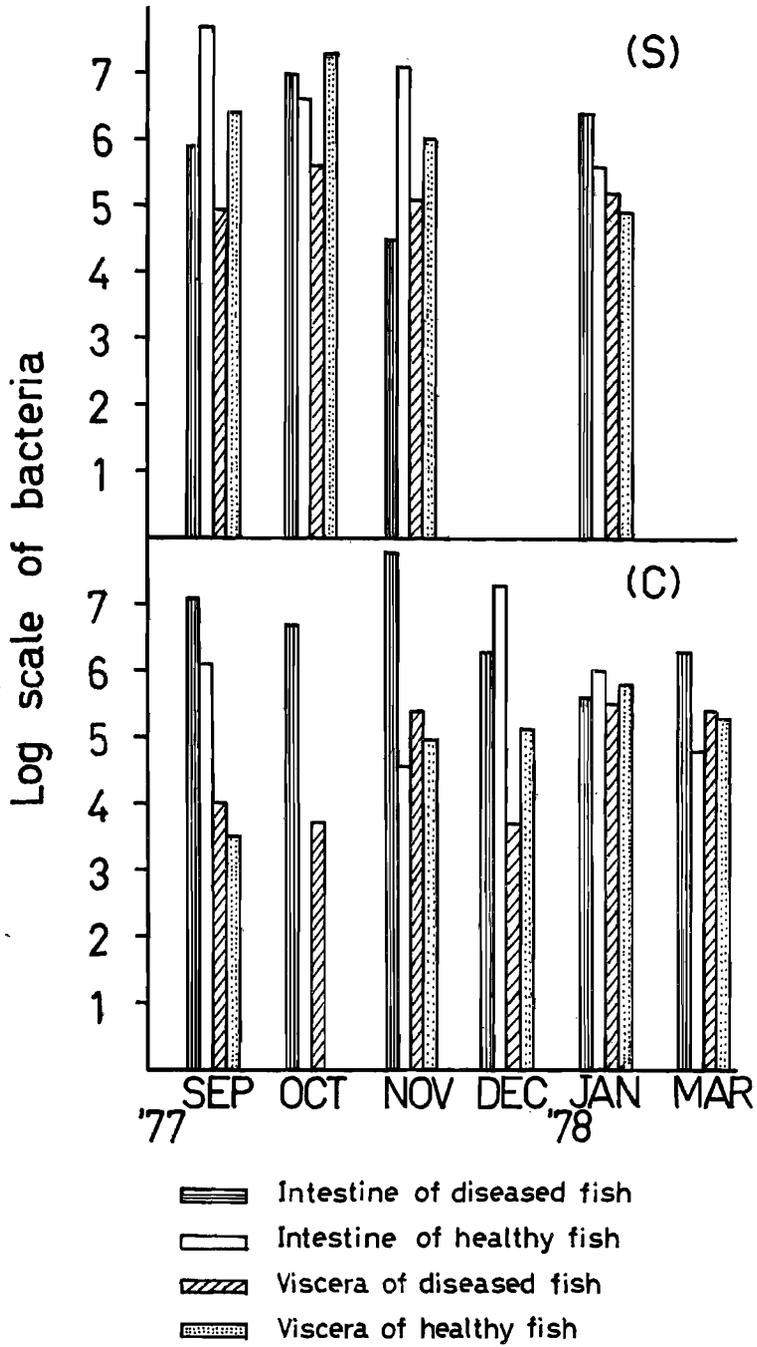


Fig. 3. The comparison of total bacteria between healthy and diseased eels of Southern (S) and Central (C) Taiwan eel-culture pond.

Table 8. The no. of isolates from sediments and plankton

	Sediments	Plankton		Sediments	Plankton
<i>Edwardsiella</i>	0	0	<i>Achromobacter</i>	2	14
Enterobacteriaceae	4	6	<i>Flavobacterium</i>	6	6
<i>Aeromonas</i>	7	19	<i>Alcaligenes</i>	2	0
<i>Pseudomonas</i>	13	14	Unidentified G- rods	54	23
Total				88	72

### 五、*Edwardsiella* 之病原性

由鰻魚之腸、脾、腎及池水分離出之10株 *Edwardsiella* 菌，經病原性試驗後，除9月份由南部養鰻場被水黴菌感染之病鰻的脾臟分離出 *Edwardsiella*，經腹腔注射外觀健康之鰻，於接種後24小時至第4天，體表出現微小紅斑，但於第5天就消失回復正常外，其餘9株菌於接種後兩週內皆未造成任何症狀，顯示分離之 *Edwardsiella* 無病原性。

## 討 論

鍾等 (1973, 1974) 提出有關本省淡水養殖魚類魚體常有細菌之研究報告，指出外觀健康之魚體不拘腸內或內臟之分離菌，以 *Aeromonas*, *Pseudomonas*, Enterobacteriaceae 及 *Flavobacterium* 最為常見<sup>(19,20)</sup>。郭 (1974) 調查日本之細菌相時，亦指出 *Aeromonas*, *Pseudomonas*, Enterobacteriaceae 及 *Flavobacterium* 為較常見之菌羣<sup>(9)</sup>。又鍾與郭將分離菌分為 *Aeromonas*, *Pseudomonas*, Enterobacteriaceae, *Flavobacterium*, *Achromobacter-Alcaligenes*, *Paracolobactrum (Edwardsiella)* 及 Unidentified Gram-negative rods 等7個菌羣，指出各菌皆有常年出現之趨勢。本研究結果顯示分離菌為 *Aeromonas* 等8菌羣，其中以 *Aeromonas*, *Pseudomonas*, Enterobacteriaceae 及 *Flavobacterium* 為最常見之菌，與上述鍾及郭之研究結果相同。但月份變化而言，本研究之結果顯示 *Aeromonas* 等8菌羣之出現，除1978年3月南部養鰻場及1977年7月中部養鰻場各菌羣皆可分離到外，其餘月份不拘南部或中部則時有某些菌羣未能分離出，與郭之調查結果不同。此種差異可能是地域不同所造成的。又分離菌中有38.38%為 Unidentified Gram-negative rods 所佔之比例相當高，若林等 (1976) 之研究報告，指出鰻池中未能鑑定之分離菌亦高達36%<sup>(28)</sup>，因此對於水中細菌之鑑定基準實有再詳細研討之必要。

本實驗所分離到的細菌全為革蘭氏陰性菌，鍾等 (1973) 進行本省鰻魚體細菌相之研究亦指出分離菌皆為革蘭氏陰性菌<sup>(19)</sup>，此可能魚體內細菌相受外界水域細菌相之支配，而外界水域存在之細菌幾乎全為革蘭氏陰性菌所致。早於1946 ZoBell 便指出細胞構造和生態環境有很密切的關係，池水中的環境適於對乾燥較敏感 (sensitive) 的革蘭氏陰性菌生存，且細菌成桿狀之表面積要比圓形之表面積為大，更有利其吸收養份，故水中菌幾乎全為革蘭氏陰性桿菌<sup>(29)</sup>。Bisset (1946, 1948) 進行 perch 及 powan 之鰻蓋腔的腹腔腔之菌分離，指出魚體內細菌相係受外圍環境水域中之細菌相支配<sup>(30, 31)</sup>。

比較外觀健康鰻的腸與內臟之分離菌，除少數之例子外，每1g所含菌數而言，腸比內臟高，與過去之研究結果相同，<sup>(19)</sup> 此可能因腸內有餌料富於營養，菌較易繁殖所致，內臟出現較高菌數之個體，腸內幾乎無餌料存在可為明顯的佐證，反町等 (1971) 研究絕食鰻之腸內存在菌之消長，指出腸內菌數因絕食而漸減，以致於幾乎達於零的地步<sup>(22)</sup>。又比較中部與南部之分離菌數，一般而言，不拘腸內或內臟，中部皆比南部略低，此可能因採樣的時間不一致，池水的更換等原因，或是和地理差異有關，則需做更多的調查比較才能了解。若比較健康魚與病魚之內臟分離菌數，除少數之例子外，

病魚皆比健康魚高，此可能因病魚之抵抗力較低，易受細菌之侵入，同時侵入內臟之細菌亦易繁殖所致。由鍾等 (1974) 所提出 *Aeromonas hydrophila* 在鰻體內消長之研究報告<sup>(20)</sup>，可明白侵入魚體內細菌消長之機制，即細菌侵入魚體內後，若魚體之防禦機能無法控制及消滅之，則侵入菌會繁殖，達到某一菌數時 (腎臟及脾臟每 1 g 達  $10^7$  cells 而肝臟及血液每 1 g 或 1 c.c. 達  $10^6$  cells) 魚體會致病死亡。至於少數之例子，病魚內臟之分離菌數較健康魚者為低，此與病魚發生之魚池撒佈及投與抗菌劑有密切的關連，因此時魚體內吸收入相當濃度之抗菌劑，使侵入體內繁殖之細菌受到控制及消滅。

Sakazaki 和 Murata (1959) 首先發現 *Edwardsiella* 菌，並暫定名為 *Asakusa group*<sup>(10)</sup>，後來 Hoshina (1962) 由病鰻分離出此菌，並定名為 *Paracolobactrum anguillimortiferum*<sup>(11)</sup>，至 1965 年 Ewing 才正式命名為 *Edwardsiella tarda*<sup>(12)</sup>，1975 年 Sakazaki 又根據命名法則之優先權重新定名為 *Edwardsiella anguillimortiferum*<sup>(13)</sup>，並為臺灣之研究者所採用<sup>(4)</sup>。此菌最早見於人類之臨床病例當為 1959 年有自腦膜炎之患者分離到此菌之報告<sup>(14)</sup>，而後 Bockemühl 等 (1971) 提出 *Edwardsiella* 和 Salmonellosis 有關之報告<sup>(17)</sup>，而引起許多研究者對此菌的重視。除此之外，1967 年 Sakazaki 證實此菌為蛇之常在細菌<sup>(15)</sup>，1970-1972 White 等在 Florida 的 Gainesville 四十公里半徑內的湖泊和溪流的水，分離出 *Edwardsiella*，並由生病的鱷 (*Alligator mississippiensis*) 鵜鶘 (*Pelecanus occidentalis carolinensis*) 禿鷹 (*Haliaeetus leucocephalus*) 海鷗 (*Larus delawarensis*) 蒼鷺 (*Ardea herodias*) 鶴 (*Grus canadensis*) 及普通水鳥 (*Gavia immer*) 和鱸 (*Micropterus salmoides*) 分離出此菌<sup>(16)</sup>，Dwight 等 (1974) 由豬的腸內分離出此菌<sup>(33)</sup>，Berg 等 (1972) 在 Oregon 的海岸檢查海鷗鳥糞之污染情形時，亦分離到 *Edwardsiella*<sup>(18)</sup>。至於此菌引起魚病研究者之注目，可謂自 Hoshina (1962) 提出報告指出此菌與 *Aeromonas hydrophila* 同為鰻赤鰓病之病原菌開始<sup>(28)</sup>，近年來本省養殖鰻受此菌之侵襲，發生很大的損失，更受到本省魚病研究者的重視，且 *Edwardsiella* 已被證實為引起潰瘍症之病原菌<sup>(4)</sup>。有關鰻池 *Aeromonas* 之分佈已有詳細的研究<sup>(9)</sup>，而 *Edwardsiella* 則甚少，郭 (1970) 調查日本愛知縣豐橋地區鰻池細菌相時，由池水分離到 *Edwardsiella*<sup>(9)</sup>，若林等 (1973—1975) 調查靜岡縣吉田地區之正常鰻池細菌相時，却僅於 1973 年 7, 9, 11 等 3 個月及 1974 年 5 月由池水分離到 9 株 *Edwardsiella* 菌<sup>(29)</sup>，彼等 (1976—1977) 調查發生潰瘍症狀之鰻魚池時，亦僅在 1976 年 8, 12 兩個月及 1977 年 2 月由池水分離<sup>(34)</sup>，由此可見本研究之結果與過去報告有共同的特徵，即不論正常或是發病池之池水，健康鰻或是非罹患潰瘍症之病鰻體，皆很少能分離到 *Edwardsiella*。此點與 *Aeromonas* 在鰻池之生態分佈，不論池水或是健康鰻皆可容易分離到有顯著的不同。又若林等 (1976) 由鰻池之底泥及浮游生物可分離出 *Edwardsiella*，並認為此菌似乎存活於池底及浮游生物中，因此不容易由池水分離到此菌<sup>(34)</sup>，此種認定似乎很牽強，採其分離細菌之方法，實無法排除池底底泥及池中浮游生物不受池水之影響。又本研究利用 7  $\mu$ m 之 millipore 過濾池水，由池水能分離到此菌，由浮游生物反而無法分離到，因此著者認為 *Edwardsiella* 非如 *Aeromonas* 一樣為常存於鰻池之常見細菌。

既然 *Edwardsiella* 並非如 *Aeromonas* 常存於池水中，因此 *Edwardsiella* 菌如何進入鰻池則有究明之必要，推測此菌進入鰻池之原因，可能為水源及飼料受到污染而含有此菌，或是蛇及飛鳥排泄物中含有此菌而被排入池中等等，著者就其中最可能引入此菌入池中之飛鳥排泄物，先加以探討，因 Berg 等 (1972) 提出報告，指出飛鳥之排泄物中含有此菌<sup>(18)</sup>，同時著者發現有許多的飛鳥停棲於池邊，且池邊走道及排水溝等處散佈許多乾涸的鳥糞，因此著者便試由養鰻場採取飛鳥之排泄物進行細菌分離，自 1977 年 10 月起至 1978 年 2 月止，觀察南部養鰻場之飛鳥活動狀態，發現每天落日前 1 小時左右，飛鳥成羣飛來，或停留電線桿或低掠池面，待日落則全部飛離，僅留下四處可見的鳥糞，但由於池邊通常寬 30-40 cm 當作走道，因此鳥糞絕大部份皆落入池水中，可是細菌分離之結果却顯示無 *Edwardsiella* 存於鳥糞中，此可能由於種種之原因而無法分離到此菌，譬如採樣之數目太少，

採樣之時間不對，鳥糞已過乾 *Edwardsiella* 菌已死滅，或使用之 RS medium 不適於鳥糞中 *Edwardsiella* 之分離等等，或者鳥糞中根本無 *Edwardsiella* 菌存在，有關此些問題以及其他可能引入 *Edwardsiella* 之可能性，實有待將來進一步詳盡的探討。

Sneiszko (1964) 指出魚類的病原菌可分成兩種，一為絕對性病原菌(Obligate pathogen)<sup>(21)</sup>，另一為條件性病原菌 (Facultative pathogen), *Aeromonas hydrophila* 已經被許多研究者認為是條件性病原菌<sup>(19)</sup>，而 *Edwardsiella* 是否亦為條件性病原菌便成為魚病研究者探討之課題。依本研究之結果，10 株 *Edwardsiella* 菌，以郭 (1975—1976) 所提出之病原性試驗所需接種量之兩倍，接種鰻魚腹腔<sup>(4)</sup>，僅有 1 株 *Edwardsiella* 於注射鰻體 24 小時後至第 4 天，體表微顯紅斑至第 5 天消失外，其餘菌株注射後，供試鰻魚無任何的症狀出現，因此可認定此 9 株 *Edwardsiella* 菌為非病原性菌株。若林等 (1973, 1975) 分別自患潰瘍症之病鰻分離出 *Edwardsiella* 並證實具有病原性<sup>(28, 35, 36)</sup>，郭等 (1975—1976) 自罹患潰瘍症之病鰻分離出之 *Edwardsiella* 菌亦具有病原性<sup>(4)</sup>，因此可推斷 *Edwardsiella* 菌可分為病原性菌株及非病原性菌株兩種，至於本研究由鰻脾臟分離出而僅能引起接種鰻體表出現紅斑之 *Edwardsiella* 菌株，可否視為準病原性菌株，則有待進一步的探討，但郭 (1968) 由金魚分離到之 *Edwardsiella* (*Paracolobactrum*) 能引起接種金魚之接種部位組織崩壞，甚至使脊椎骨露出，而接種魚仍能活存之報告<sup>(37)</sup>，可推想準病原性菌株存在之可能極大，此點與 *Aeromonas* 可分為病原性菌株，準病原性菌株及非病原性菌株相似<sup>(6)</sup>。至於 *Edwardsiella* 是否與 *Aeromonas* 相同為條件性病原菌，則有待將來詳細的探討。又宮崎等 (1976) 報告潰瘍症之組織病理時，指出肝臟之病變最為明顯<sup>(38, 39, 40)</sup>，然本實驗僅從鰻魚之腸、脾臟、腎臟及池水分離出 *Edwardsiella*，由肝臟却未能分離到，其原因何在，實有待詳盡的探討。

## 摘 要

自 1977 年 4 月起至 1978 年 3 月止，自臺灣中部彰化及南部高屏兩地區各三家養鰻場採集大小約 150-200 g 罹病及外觀健康之鰻魚，進行腸、內臟、池水、底泥、浮游生物及鳥糞之細菌分離及分析，得下列之結果。

1. 由 204 尾鰻魚及池水共採 539 株菌，分成 *Edwardsiella*, *Aeromonas*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* 及 Unidentified Gram-negative rods 等八菌羣，其中以 *Aeromonas* 佔 20.22% 為最多。
2. 腸、內臟及池水之含菌數而言，以腸為最高，內臟次之，池水最低。又不拘腸、內臟或池水，中部養鰻場之分離菌數有較南部者為低之現象。
3. 每克腸及內臟之含菌數，外觀健康鰻較罹病鰻低。
4. *Edwardsiella* 和 *Aeromonas* 之生態分佈不同，前者非常存於池中及健康鰻魚體內之常見細菌。
5. 由底泥及浮游生物共分離到 160 株菌，無一株為 *Edwardsiella*，此與若林等 (1977) 由底泥及浮游生物皆可分離到 *Edwardsiella* 之結果不同。
6. 10 株 *Edwardsiella* 經病原性試驗結果，其中一株由鰻魚脾臟分離出之 *Edwardsiella*，於注射健康鰻後 24 至 96 小時內，體表呈現微小紅斑外，其餘 9 菌株，皆無病原性。

## 謝 辭

本實驗承指導教授郭光雄博士之殷切指導，研究標本之採集及部份生物化學特性的試驗，得臺大動物系魚病研究室黃欣汝小姐之協助，得以順利完成，謹致以最大之謝忱。

参 考 文 献

- 1) LIN, Y. S. and S. M. HSIAO (1977). The statistic analysis of eel disease in Taiwan. J. J. R. R. Reports on Fish Disease Research (I) 57-61. (In Chinese)
- 2) HOSHINA, T. (1962). ウナギの鰭赤病に関する研究。東京水産大学特別研究報告 6(1): 1-104.
- 3) WAKABAYASHI, H. and S. EGUSA (1973). *Edwardsiella tarda* (*Paracolobactrum anguillimortiferum*) associated with pond-cultured eel disease. Bull. Jap. Soc. Fish. 39(9): 931-936.
- 4) KUO, S. C., H. Y. CHUNG and G. H. KOU (1977). *Edwardsiella anguillimortiferum* isolated from edwardsiellosis of cultured eel (*Anguilla japonica*). J. J. R. R. Reports on Fish Disease Research (I) 1-6. (In Chinese)
- 5) EGUSA, S. (1967). On the motile Aeromonads. Fish Path. 2(1): 36-49. (In Japanese)
- 6) KOU, G. H. (1972). Studies on the occurrence and biochemical properties of virulent and avirulent strains of freshwater fish pathogen, *Aeromonas liquefaciens*. J. Fish. Soc. Taiwan 1(2): 8-13. (In Chinese)
- 7) KOU, G. H. (1973). Studies on the pathogenicity of the fish pathogen, *Aeromonas liquefaciens*-III. Variation of pathogenicity caused by inoculation into fish. J. Fish. Soc. Taiwan 2(2): 16-19. (In Chinese)
- 8) CHUNG, H. Y. and G. H. KOU (1974). Studies on the change in number of cells of fish pathogen, *Aeromonas hydrophila* inoculated intramuscularly in eels. J. Fish. Soc. Taiwan 3(2): 15-20. (In Chinese)
- 9) KOU, G. H. (1974). Studies on the bacterial flora in eel-culturing ponds with special reference to *Aeromonas*. J. Fish. Soc. Taiwan 3(2): 21-27. (In Chinese)
- 10) SAKAZAKI, R. and Y. MURATA (1962). The new group of the Enterobacteriaceae, the Asakusa group. Japan. J. Bact. 17: 616-617.
- 11) HOSHINA, T. (1962). On a new bacterium, *Paracolobactrum anguillimortiferum* new species. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 28(2): 162-164.
- 12) EWING, W. H., A. C. MCWHORTER, M. R. ESCOBAR and A. H. LUBIN (1965). *Edwardsiella*, A new genus of Enterobacteriaceae based on a new species, *E. tarda* Internatl. Bull. Bact. Nomencl. Taxon. 15(1): 33-38.
- 13) SAKAZAKI, R. and K. TAMURA (1975). Priority of the specific epithet *anguillimortiferum* over the specific epithet *tarda* in the name of the organism presently known as *Edwardsiella tarda*. Internatl. J. Syst. Bacteriol. 25(2): 219-220.
- 14) SONNENWIRTH, A. C. and B. A. KALLUS (1968). Meningitis due to *Edwardsiella tarda*. Amer. J. Clin. 49(1): 92-95.
- 15) SAKAZAKI, R. (1967). Studies on the Asakusa group of Enterobacteriaceae (*Edwardsiella tarda*). Japan. J. Med. Sci. Biol. 20: 205-212.
- 16) WHITE, F. H., C. F. SIMPSON and L. E. WILLIAMS (1973). Isolation of *Edwardsiella tarda* from aquatic animal species and surface water in Florida. J.

- Wild. Dis. 9: 204-208.
- 17) BOCKEMÜHL, J., R. P. URAI and F. BURKHARDT (1971). *Edwardsiella tarda* associated with human disease. Path. Microbiol. 37: 393-401.
  - 18) BERG, R. W. and A. W. ANDERSON (1972). Salmonellae and *Edwardsiella tarda* in gull feces: a source of contamination in fish progressing plants. Appl. Microbiol. 24(3): 501-503.
  - 19) CHUNG, H. Y. and G. H. KOU (1973). Studies on the bacterial flora of fish body—I. Bacteria in gill, intestine, blood and viscera of apparently healthy pondcultured eels. J. Fish. Soc. Taiwan 2(2): 20-25. (In Chinese)
  - 20) CHUNG, H. Y. and G. H. KOU (1974). Studies on the bacterial flora of fish body—II. Bacteria isolated from viscera and blood of pond-cultured diseased eels. J. Fish. Soc. Taiwan 3(1): 23-28. (In Chinese)
  - 21) SNIESZKO, S. F. (1964). Remarks on some factors of epizootology of bacterial fish disease. Rev. Ind. Microbiol. 5: 97-100.
  - 22) NAEGELI, V. (1957). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7th ed., Williams and Wilkins Co. p. 33.
  - 23) GIBBS, B. M. and F. A. SKINNER (1969). Identification method for microbiologist part A. Academic Press. London and New York.
  - 24) SHEWAN, J. M., G. HOBBS and W. HODGKISS (1960). A determinative scheme for the identification of certain genera of Gram-negative with special reference to Pseudomonodaceae. J. Appl. Bact. 23: 379-390.
  - 25) DAVIS, B. D., R. DULBECCO, H. N. EISEN, H. S. GINSBERG and W. B. WOOD (1974). Microbiology 2nd ed., Harper & Row, Publishers. Hagerstown, Maryland. pp. 755-758.
  - 26) EMMETT, B. S. and G. L. BULLOCK (1976). Rapid diagnostic approaches in the identification of Gram-negative bacterial disease of fish. Fish Path. 10(2): 187-190.
  - 27) 飯塚廣、駒形和南 (1967). *Pseudomonas* 屬細菌なちびにその関連菌の分類検索について、第一回合連合微生物学シンポジウム報告、日本学術会議微生物学研究連絡委員会。
  - 28) WAKABAYASHI, H., K. KANAI and S. EGUSA (1976). Ecological studies of fish pathogenic bacteria in eel farm—I. Isolation of aerobic bacteria from pond water. Fish Path. 11(2): 63-66. (In Japanese)
  - 29) ZOBELL, C. E. (1946). Marine Microbiology. Chronica Botanica Co. Waltham, Mass. p. 240.
  - 30) BISSET, K. A. (1946). The effect of temperature on non-specific infections of fish. J. Path. Bact. 58: 251-258.
  - 31) BISSET, K. A. (1948). Seasonal changes in the normal flora of fresh water fish. J. Hyg. Camb. 46: 94-97.
  - 32) SORIMACH, M. and S. EGUSA (1971). Aerobic bacteria in the intestines of pond-cultured eels. Fish Path. 6(1): 1-7. (In Japanese)
  - 33) DWIGHT, R. O., S. L. NELSON and J. B. ADDISON (1974). Isolation of *Edwardsiella tarda* from swine. Appl. Microbiol. 27(4): 703-705.

- 34) 若林久嗣、山下潤、江草周三 (1977). 養鰻における魚病細菌の生態に関する研究 — II *Edwardsiella tarda* について昭和52年度日本水産學會春季大會演講要旨集。
- 35) WAKABYASHI, H. and S. EGUSA (1973). Seasonal changes of bacterial infections among pond-cultured eels (*Anguilla japonica*). Fish Path. 8(1): 91-97. (In Japanese)
- 36) WAKABYASHI, H. and S. EGUSA (1975). Seasonal changes of bacterial infections among pond-cultured eels, second series. Fish Path. 9(2): 193-198. (In Japanese)
- 37) KOU, G. H. and S. EGUSA (1968). A paracolony isolated from eels and gold fish. Fish Path. 3(1): 58-61. (In Japanese)
- 38) MIYAZAKI, T. and S. EGUSA (1976). Histopathological studies of edwardsiellosis of the Japanese eel (*Anguilla japonica*)—I. Suppurative interstitial nephritis form. Fish Path. 11(1): 33-43. (In Japanese)
- 39) MIYAZAKI, T. and S. EGUSA (1976). Histopathological studies of edwardsiellosis of the Japanese eel (*Anguilla japonica*)—II. Suppurative hepatitis form. Fish Path. 11(2): 67-75. (In Japanese)
- 40) MIYAZAKI, T. and S. EGUSA (1976). Histopathological studies of edwardsiellosis of the Japanese eel (*Anguilla japonica*)—III. Elvers and anguilletes. Fish Path. 11(3): 127-131. (In Japanese)

# 水產藥物對於鰻魚毒理學之研究

劉朝鑫\* · 王金和\*\*

Toxicological Studies of Some Drugs in Cultured  
Eels (*Anguilla japonica*)

C. K. Liu\* and C. H. Wang\*\*

## Abstract

Acute and chronic toxicity of Chloramphenicol, Chlortetracycline hydrochloride, Spectinomycin, Neomycin sulfate, Nifurpirinol and Nitrofurazone to cultured eels was studied.

The tolerant dose and safety period of the drugs in cultured eels are as follows: Chloramphenicol, 180 ppm for 6 days; Chlortetracycline hydrochloride, 7 ppm for 3 days; Spectinomycin, 100 ppm for 30 days; Neomycin sulfate, 280 ppm for 30 days; Nifurpirinol, 0.4 ppm for 6 days; Nitrofurazone, 8 ppm for 30 days.

## 前 言

目前鰻魚養殖業對於疾病的防治，尚無有效的生物製劑可供應用，端賴水產藥物防治疾病。因此隨着我國養鰻事業之發展，水產藥品在臺灣之製造及銷售，無論是藥物種類及數量，均有極快速的增加。我國對於水產藥品，尚無適當的管制，且我國民族性向來喜愛用藥，以致養殖業者可以自由購用水產藥物，無論以多高的濃度，或多長的期間使用，隨心所欲，毫無限制。因此常發生藥物中毒問題。

本研究曾就 6 種水產藥物，檢討其對鰻魚之急性毒性及慢性毒性，求出其 50% 致死濃度，安全濃度及安全使用期間，以供有關當局及業者之參考。

## 材 料 及 方 法

### (一) 材 料：

(1) 使用藥物：Chloramphenicol, Chlortetracycline hydrochloride, Spectinomycin, Neomycin sulfate 等 4 種抗生素及 Nifurpirinol 及 Nitrofurazone 2 種呋喃類藥物。

(2) 使用鰻魚：使用鰻魚為日本鰻 (*Anguilla japonica*)，每尾重 10~20 g 左右，購自行政院國軍退除役官兵輔導委員會魚殖管理處。

### (二) 方 法：

(1) 急性毒性試驗：求各種藥物對於鰻魚之半數致死濃度 TLm (median tolerance limit)，其方法係依據日本農林省之方法<sup>(1)</sup> 及 Van der Waerden 之方法<sup>(2)</sup> 混合使用。即先做預備試驗，求大概的上限 (百分之百致死濃度) 及大概的下限 (百分之百生存濃度)。預備試驗時每一濃度使用 2 尾

\* 臺灣大學獸醫學系 (Dept of Vet. Medi, Nat, Taiw. Univ.)

\*\* 中區病理中心 (Pathology Center, Central Taiwan)

鰻魚。

求出大概的上限及下限後，即進入正式試驗，即在所獲得的上限及下限之間，依幾何級數分成 5~6 種濃度，每一濃度使用 10 尾鰻魚。無論預備試驗或本試驗，均依規定計算 48 小時的死亡鰻。

試驗進行時水溫為 20°~28°C，水溫變化盡量保持在 ±2°C 以內。供試藥液量約為每 1 g 供試鰻魚與每 1 ℓ 之比。同時設有用於稀釋藥液的水的對照組。

在 48 小時以前死亡之供試鰻魚均做病理學肉眼及組織切片之檢查。組織切片之製法，包埋切成厚度約 6 μ，然後以 Hematoxylin-Eosin 染色。

在 48 小時試驗結束時仍然存活之供試鰻，均做血液學之檢查。其項目包括紅血球計數，白血球計數及分類計數，血紅素以及血球形態變化之觀察。

(2) 慢性毒性試驗：以各種藥物之 TLm 值為基礎，分別乘係數 0.1 及 0.2，所獲得濃度做為試驗組，另設 1 組對照組，各組均由 20 尾鰻魚組成。試驗組藥浴於一定濃度的藥液中，對照組則浸浴於清水中，定期撈取 2 尾鰻魚，做血液學及病理學檢查。在試驗期間死亡者，均做病理學的檢查。

試驗進行時水溫夏季約在 28°C 左右，冬季則在 20°C 左右，水溫變化盡量保持在 ±2°C 以內。供試藥液量與鰻魚體重之比，與急性毒性試驗相同。在慢性毒性試驗期間，不飼餵飼料。

## 結 果

### (一) 急性毒性試驗

#### (1) TLm 值

##### a. 氯黴素 Chloramphenicol

本藥物之 TLm 值之測定在 20°C 水溫中進行，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	1000	1300	1690	2197	2856
死 亡 率	0/10	1/10	3/10	8/10	10/10

$$d = \log 1.3$$

$$\begin{aligned} L &= \sum X_n - (h_1 + h_2 + \dots + h_{n-1})d - \frac{1}{2}d \\ &= \log 2856 - \log 1.3 \left( \frac{1}{10} + \frac{3}{10} + \frac{8}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.3 \\ &= 3.4557 - 0.1139 \times 1.2 - 0.05695 \\ &= 3.4557 - 0.13668 - 0.05695 = 3.2621 \end{aligned}$$

$$TLm = \text{anti log } L = 1828 \text{ (ppm)}$$

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \sum \frac{h_i(1-h_i)}{n-1} = (0.1139)^2 \times \frac{0.09+0.21+0.16}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.1139}{3} \times \sqrt{0.46} = 0.0257$$

$$\mu_u = L + t \sqrt{V(m)} = 3.2621 + 1.96 \times 0.0257 = 3.3125$$

$$\mu_L = L - t \sqrt{V(m)} = 3.2621 - 1.96 \times 0.0257 = 3.2117$$

故信賴界限為 1628~2053 ppm (P=0.05)

##### b. 氯四環素鹽酸 Chlortetracycline HCl

本藥物之 TLm 值之測定，在水溫 20°C 中進行，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	40	52	68	88	114	149
死亡率	0/10	1/10	3/10	8/10	10/10	10/10

$$d = \log 1.3$$

$$\begin{aligned} L &= \log 114 - \log 1.3 \left( \frac{1}{10} + \frac{3}{10} + \frac{8}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.3 \\ &= 2.0569 - 0.1139 \times 1.2 - 0.05695 \\ &= 2.0569 - 0.1367 - 0.05695 = 1.8633 \end{aligned}$$

$$\text{TLM} = \text{anti log } L = 73 \text{ (ppm)}$$

信賴界限：

$$\begin{aligned} V(m) &= d^2 \sum \frac{h_i (1-h_i)}{n-1} = (0.1139)^2 \times \frac{0.09+0.21+0.16}{10-1} \\ \sqrt{V(m)} &= \frac{0.1139}{3} \times \sqrt{0.46} = 0.0257 \end{aligned}$$

$$\mu = L + t \sqrt{V(m)} = 1.8633 + 1.96 \times 0.0257 = 1.9137$$

$$m_L = L - t \sqrt{V(m)} = 1.8633 - 1.96 \times 0.0257 = 1.8129$$

故信賴界限為 65~82 ppm (p=0.05)

c. 觀黴素 Spectinomycin

本藥物之 TLM 值，是在 25°C 水溫中進行測定，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	1000	1050	1102	1157	1215	1276
死亡率	0/10	2/10	4/10	8/10	9/10	10/10

$$d = \log 1.05$$

$$\begin{aligned} L &= \log 1276 - \log 1.05 \left( \frac{2}{10} + \frac{4}{10} + \frac{8}{10} + \frac{9}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.05 \\ &= 3.1058 - 0.0128 \times 2.3 - \frac{1}{2} \times 0.0128 = 3.0700 \end{aligned}$$

$$\text{TLM} = \text{anti log } L = 1175 \text{ (ppm)}$$

信賴界限：

$$\begin{aligned} V(m) &= d^2 \sum \frac{h_i (1-h_i)}{n-1} = (0.0128)^2 \times \frac{0.16+0.24+0.16+0.09}{10-1} \\ \sqrt{V(m)} &= \frac{0.0128}{3} \times \sqrt{0.65} = 0.0034 \end{aligned}$$

$$\mu = L + t \sqrt{V(m)} = 3.070 + 1.96 \times 0.0034 = 3.0767$$

$$m_L = 3.0700 - 1.96 \times 0.0034 = 3.0633$$

故信賴界限為 1157~1193 ppm (p=0.05)

d. 硫酸新黴素 Neomycin sulfate

本藥物之 TLM 值是在 25°C 水溫中測定，所獲數據如下：

濃度 (ppm)	1100	1430	1859	2416	3141	4083
死亡率	0/10	1/10	1/10	2/10	5/10	10/10

$$d = \log 1.3$$

$$\begin{aligned}
 L &= \log 4083 - \log 1.3 \left( \frac{1}{10} + \frac{1}{10} + \frac{2}{10} + \frac{5}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.3 \\
 &= 3.6110 - 0.9 \times 0.1139 - \frac{1}{2} \times 0.1139 \\
 &= 3.6110 - 0.1025 - 0.0569 = 3.4516
 \end{aligned}$$

TLm = anti log L = 2829 (ppm)

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \Sigma \frac{h_i (1-h_i)}{n-1} = (0.1139)^2 \times \frac{0.09+0.09-0.16+0.25}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.1139}{3} \times \sqrt{0.59} = 0.0292$$

$$\mu = L + t \sqrt{V(m)} = 3.4516 + 1.96 \times 0.0292 = 3.5088$$

$$m_L = L - t \sqrt{V(m)} = 3.4516 - 1.96 \times 0.0292 = 3.3944$$

故信賴界限為 2480~3227 ppm

e. Nifurpirinol

本藥物之 TLm 值，是在 20°C 水溫中測定，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	2.00	2.80	3.90	5.50	7.70	10.78
死亡 率	0/10	3/10	4/10	8/10	10/10	10/10

$$d = \log 1.4$$

$$\begin{aligned}
 L &= \log 7.70 - \log 1.4 \left( \frac{3}{10} + \frac{4}{10} + \frac{8}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.4 \\
 &= 0.8865 - 0.1461 \times 1.5 - \frac{1}{2} \times 0.1461 = 0.5942
 \end{aligned}$$

TLm = anti log L = 3.93 (ppm)

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \Sigma \frac{h_i (1-h_i)}{n-1} = (0.1461)^2 \times \frac{0.21+0.24+0.16}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.1461}{3} \times \sqrt{0.61} = 0.0380$$

$$\mu = 0.5942 + 1.96 \times 0.0380 = 0.6550$$

$$m_L = 0.5942 - 1.96 \times 0.0380 = 0.5198$$

故信賴界限為 3.31~4.52 ppm (p=0.05)

f. Nitrofurazone

本藥物之 TLm 值，是在 25°C 水溫中測定，獲得數據如下：

濃度 (ppm)	15	23	35	53	80	120
死亡 率	0/10	0/10	2/10	2/10	6/10	10/10

$$d = \log 1.5$$

$$\begin{aligned}
 L &= \log 120 - \log 1.5 \left( \frac{2}{10} + \frac{2}{10} + \frac{6}{10} \right) - \frac{1}{2} \log 1.5 \\
 &= 3.0792 - 0.1761 \times 1 - 0.00880 = 2.8943
 \end{aligned}$$

TLm = anti log L = 78.40 (ppm)

信賴界限：

$$V(m) = d^2 \sum \frac{h_i (1-h_i)}{n-1} = (0.1761)^2 \times \frac{0.16+0.16+0.24}{10-1}$$

$$\sqrt{V(m)} = \frac{0.1761}{3} \times \sqrt{0.56} = 0.0439$$

$$\mu = 2.8943 + 1.96 \times 0.0439 = 2.9803$$

$$m_L = 2.8943 - 1.96 \times 0.0439 = 2.8083$$

故信賴界限為 64.3~95.6 ppm (p=0.05)

(2)病理變化

6 種供試藥引起鰻魚急性中毒之病理變化，大都類似，只是程度不同。最多見的病變為鰓薄板細胞的增生過盛 (hyperplasia)，因而使鄰近薄板互相融合 (fusion)。鰓的這種病變 (表示於圖 1)，6 種供試藥物急性中毒死亡的鰻魚，均曾發生。

肝的病變，以肝細胞之空胞化 (Vacuolization) 最多，6 種供試藥均引起這種病變 (圖 2)。氯

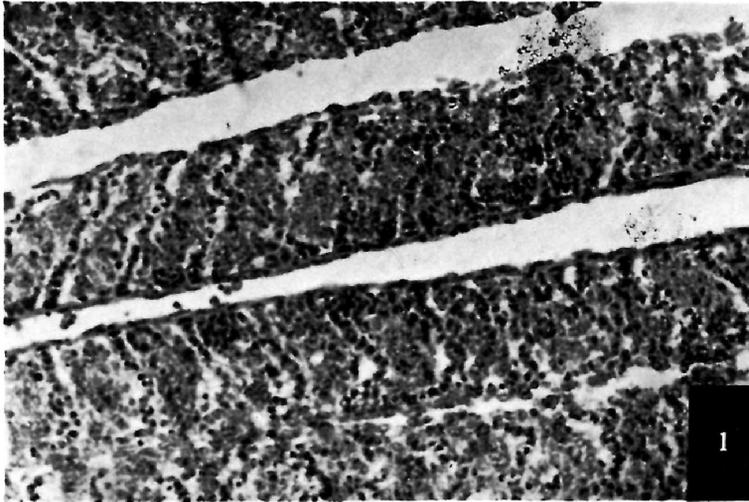


Fig. 1. Hyperplasia and fusion of gill lamellae. H & E  $\times 200$

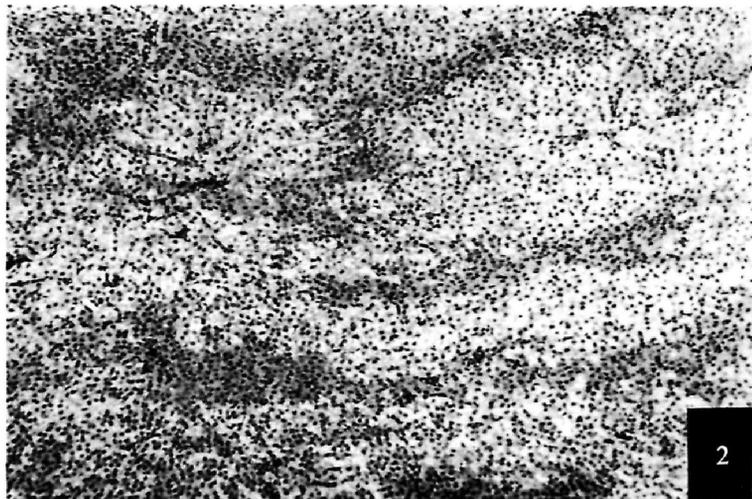


Fig. 2. Vacuolization of liver cells. H&E  $\times 100$

黴素，氯四環素及觀黴素均能引起肝的局限性壞死 (Focal necrosis) (圖3)。氯黴素，Nifurpirinol 及 Nitrofurazone 則引起 triaditis (圖4)。

6 種供試藥均能引起腎小管的擴張 (圖5) 及 hyalinedegeneration (圖6)。Nifurpirinol 及 Nitrofurazone 則會引起腎的 massive necrosis (圖7)。Nitrofurazone 引起腎小管的 hydropic change。

至於心臟的病變，氯黴素，硫酸新黴素及 Nitrofurazone 會引起心肌出血 (圖8)。Nifurpirinol 則會引起心肌及心包膜的淋巴球浸潤。

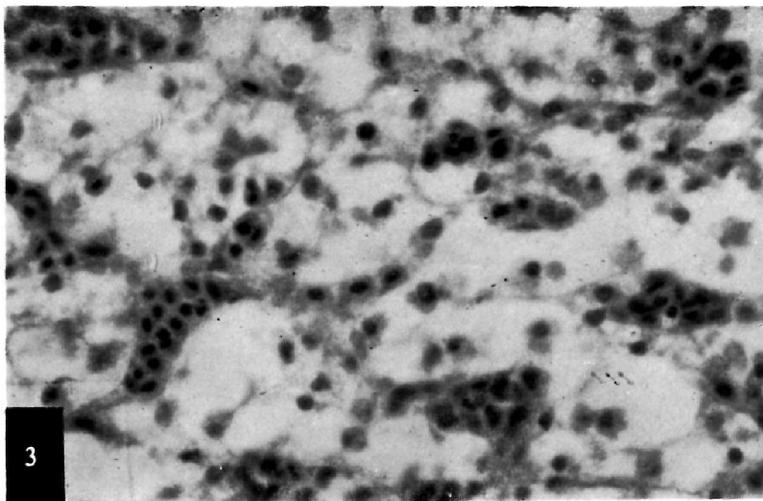
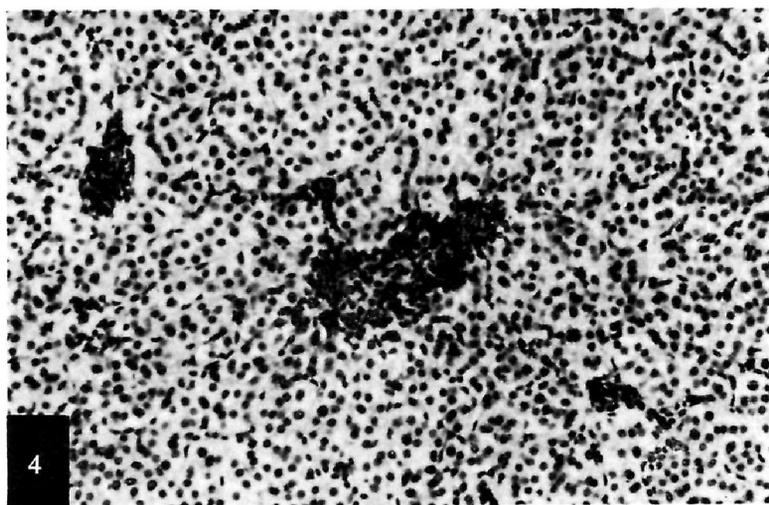


Fig. 3. Focal necrosis of liver cells. H&E  $\times 450$

Fig. 4. Triaditis in liver. H&E  $\times 100$



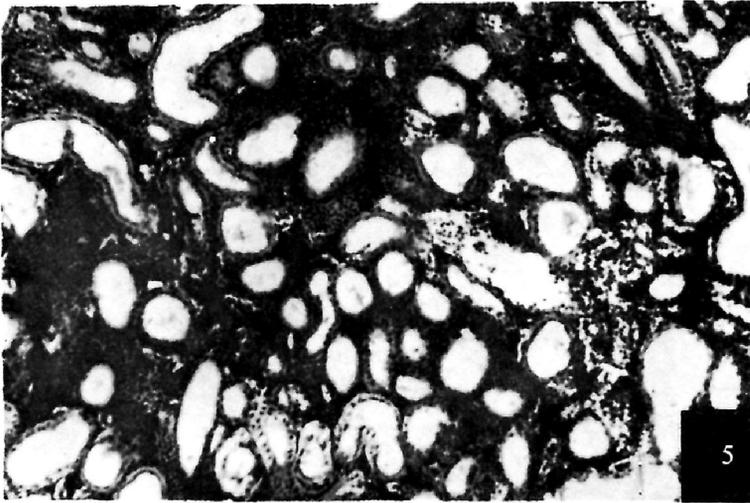


Fig. 5. Tubular dilation of kidney. H&E  $\times 100$

Fig. 6. Hyaline degeneration of renal tubules. H&E  $\times 100$

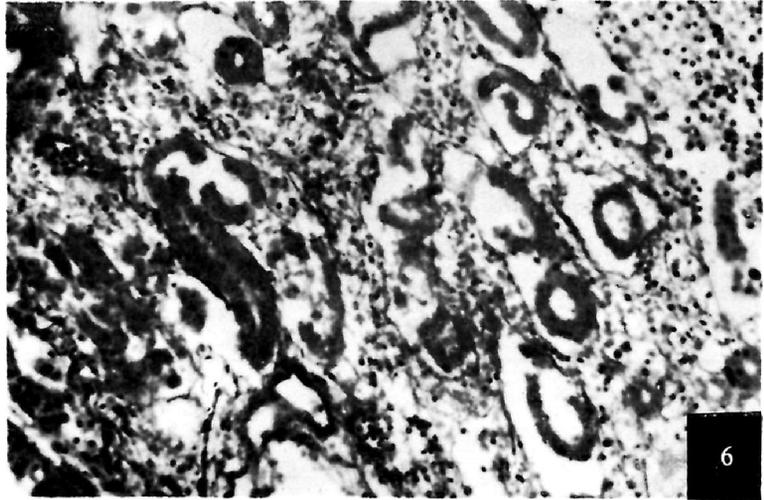
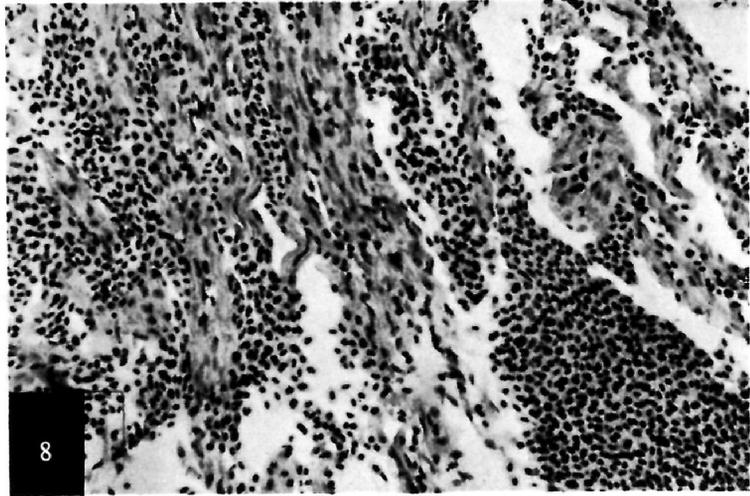


Fig. 7. Massive necrosis of kidney. H&E  $\times 40$

Fig. 8. Hemorrhage in myocardium.  
H&E ×200



6 種供試藥均能引起脾臟的 hemosiderosis 及充血。前者的程度以氯黴素最為顯著，後者則以 Nitrofurazone 最嚴重。

6 種供試藥均能引起皮膚上皮細胞的變形，粘液細胞增生而變大。

### (3) 血液學檢查

鰻魚經 6 種供試藥藥浴 48 小時後的血液學之變化，表示於表 1。如表 1 所示，所有 6 種供試藥，均能使鰻魚紅血球數目減少，但血紅素量則除 Nitrofurazone 外，均維持正常量。至於白血球數目，硫酸新黴素能顯著增加，Nitrofurazone 畧能增加外，其餘 4 種均減少。至於白血球分類計數，6 種供試藥均使中性球增加，而使淋巴球減少。

Table 1. Hematological effects of drugs to eels.

Drugs	R B C 10 <sup>6</sup>	Hb g%	W B C	Differential leucocyte count in %		
				Neut.	Lymph.	Mono.
Control	3.16	12.00	3,950	16.00	75.25	8.75
Chloramphenicol	2.64	14.00	3,150	41.00	49.00	10.00
Chlortetracycline hydrochloride	2.85	11.00	3,350	46.00	54.00	0
Spectinomycin	2.95	11.00	2,600	23.00	73.00	4.00
Neomycin sulfate	2.42	11.50	22,100	66.00	23.67	10.33
Nifurpirinol	2.87	12.00	3,200	48.00	50.00	2.00
Nitrofurazone	2.91	7.00	4,683	25.57	67.85	6.58

## (二) 慢性毒性試驗

### (1) 氯黴素

氯黴素之 TLm 值為 1828 ppm，故以 180 ppm，360 ppm 及對照組進行試驗。每 3 天撈取 2 尾鰻魚進行血液學及病理學檢查。

藥浴在 360 ppm 濃度的鰻魚，在第 3 天時血液學及病理學檢查均正常，但在第 6 天時紅血球減少為 2,180,000，血紅素降低為 10，白血球 2,100，而於第 8 天時全部死亡。病理學檢查，在第 6 天時

鰓薄板細胞增生，鄰近薄板互相融合，肝細胞空胞化，脾有 hemosiderosis，腎小管擴張及 hyaline degeneration。第 8 天後的病理變化，除與第 6 天相似外，尚有肝細胞的局限性壞死。

藥浴在 180 ppm 氯黴素水溶液中的鰻魚，在第 3 天及第 6 天血液學及病理學均屬正常。但在第 9 天時紅血球，血紅素及白血球均降低，鰓，肝，脾及腎均出現與 360 ppm 濃度組類似的病變。第 12 天時亦呈相似變化，剩餘的鰻魚於 14 天全部死亡。

#### (2) 氯四環素鹽酸

氯四環素鹽酸對於鰻魚的 TLm 為 73 ppm，故以 7 ppm，14 ppm 及對照組進行試驗。每 3 天撈取 2 尾鰻魚進行血液學及病理學檢查。

藥浴在 14 ppm 組鰻魚，血液學檢查在第 3 天時正常，第 6 天時紅血球，血紅素及白血球畧為減少，而於第 9 天時紅血球減少至 1,960,000，血紅素降低為 9，白血球為 2,000。病理變化則於第 3 天呈現輕度的鰓的細胞增生，第 6 天時鰓呈現充分的細胞增生及鰓薄板的融合，肝的局限性壞死，腎小管擴張。第 5 天時有 1 尾鰻魚死亡，第 8 天時有 2 尾死亡。第 13 天時全部死亡。

藥浴在 7 ppm 組鰻魚，血液學變化於第 9 天時出現，而於 15 天時呈現明顯降低。病理組織學變化於第 6 天時出現鰓病變，其後至試驗結束，未出現別的病變。

#### (3) 觀黴素

觀黴素的 TLm 為 1,175 ppm，故以 100 及 200 ppm 進行慢性毒性試驗。

200 ppm 組血液學的變化出現於第 6 天，病理變化則在第 12 天出現鰓病變，肝局限性壞死。21 天時全部死亡。

100 ppm 組在試驗結束前，未發現血液學及病理學的變化。

#### (4) 新黴素硫酸

新黴素硫酸的 TLm 為 2,829 ppm，因此以 280 及 560 ppm 進行慢性毒性試驗。

560 ppm 組在試驗過程中未發現血液學的變化。病理學變化則在第 9 天時發現鰓的病變以外，在試驗過程中未發現其他病變。280 ppm 組則於試驗過程中未發生任何變化。

#### (5) Nifurpirinol

Nifurpirinol 的 TLm 值為 3.93 ppm，所以以 0.4 ppm 及 0.8 ppm 進行慢性中毒試驗。

0.8 ppm 組於第 6 天時開始出現貧血現象。病理變化則於第 3 天出現鰓的細胞增生及肝細胞空胞化。第 6 天時引起腎的 massive necrosis。而於第 11 天時全部死亡。

0.4 ppm 組在試驗過程中未發生血液學的變化，但在第 9 天時發現肝細胞的空胞化。

#### (6) Nitrofurazone

Nitrofurazone 的 TLm 為 78.4 ppm，故以 8 及 16 ppm 進行慢性毒性試驗。但在 16 及 8 ppm 組試驗過程，均未發現血液學及病理學的變化。

Table 2. TLm and tolerant doses of drugs to eels

Drugs	TLm (ppm)	Tolerant dose (ppm)
Choramphenicol	1828	180
Chlortetracycline hydrochloride	73	7
Spectinomycino	1175	100
Neomycin sulfate	2829	280
Nifurpirinol	3.93	0.4
Nitrofurazone	78.4	8

## 討 論

工業廢水及農藥對於魚類急性毒性的表現方法，通常測定 TLm (Median Toleranc Limit) 表示。關於水產藥物對於魚類的急性毒性的表現方法，亦借用 TLm<sup>(2)</sup> 表示。TLm 之測定是將供試魚藥溶於各種濃度的毒物或藥物溶液中，在一定時間內計算供試魚生存50%的濃度，一般所定的時間為 24 小時，48 小時及 96 小時<sup>(2)</sup>。但日本農林省的標準為 48 小時<sup>(1)</sup>。本研究即以 48 小時為標準，測定氯黴素，氯四環素鹽酸，觀黴素，新黴素硫酸，Nifurpirinol 及 Nitrofurazone 等 6 種水產藥物之 TLm。

Doudoroff<sup>(4)</sup> 提倡以作圖法求出 TLm，但著者以一般藥理學中常用的 Van der Waerden 法<sup>(3)</sup> 計算 TLm，兩者結果一致，但以電子計算器普遍使用之今日，使用後者較為簡便。

藥物的 TLm 與對魚類的安全濃度之間的關係，有各種換算方法，但以俄亥俄水質基準<sup>(5)</sup> 受到廣泛的應用。其方式是以所獲得的 48 小時 TLm 乘安全係數 0.1。

本研究中各水產藥物對於鰻魚的 TLm 值及乘 0.1 之安全濃度如表 2 所示。依據表 2 所示，目前在臺灣所使用的濃度，均在安全濃度範圍。

至於以 TLm 乘安全係數 0.1 所獲得的安全濃度，其安全使用期間，即以慢性毒性試驗，不發生血液學及病理學的變化的期間，各種藥物之間有很大的差異。氯黴素 180 ppm 在藥浴 6 天以前不發生血液學及病理學的變化，但第 9 天以後即發生變化，故其安全期間為 6 天。氯四環素鹽酸的安全濃度 7 ppm，第 9 天時可引起鰻魚血液學的輕度變化，而第 6 天時可引起鰓病變，故其安全期間為 3 天。觀黴素的安全濃度 100 ppm 在 30 天的試驗期間，均未引起鰻魚血液學管及病理學的變化，故其安全期間至少為 30 天。新黴素硫酸的安全濃度 280 ppm 的安全期間，至少亦為 30 天。Nifurpirinol 的安全濃度 0.4 ppm，在試驗過程中雖未引起血液學的變化，但在第 9 天時引起鰻魚肝細胞的空胞化，故其安全期間為 6 天。Nitrofurazone 的安全濃度 8 ppm，在 30 天內未引起鰻魚血液學及病理學的變化，故其安全期間為 30 天。

本研究結果明瞭了 6 種水產藥物，對於鰻魚的 TLm，安全濃度及安全使用期間，可提供業者及有關當局做為參考。

## 摘 要

本研究曾就 6 種水產藥物，檢討其對於鰻魚之急性及慢性毒性，以求出 TLm，安全濃度及安全使用期間如下：

氯黴素之 TLm 為 1,828 ppm，安全濃度 180 ppm，安全使用期間 6 天；氯四環素鹽酸之 TLm 為 73 ppm，安全濃度 7 ppm，安全使用期間為 3 天；觀黴素之 TLm 為 1,175 ppm，安全濃度 100 ppm，安全使用期間為 30 天；新黴素硫酸之 TLm 為 2,829 ppm，安全濃度 280 ppm，安全使用期間為 30 天；Nifurpirinol 之 TLm 為 3.93，安全濃度 0.4 ppm，安全使用期間為 6 天；Nitrofurazone 的 TLm 為 78.4 ppm，安全濃度 8 ppm，安全使用期間為 30 天。

## 謝 辭

本研究是農復會支持的 78 (ARDP)-5.3-0-158 魚病防治研究延續，謹申謝意。並感謝方美蓉小姐的協助。

## 參 考 文 獻

- 1) 日本農林省 (1965). 魚類に對する毒性試驗法，日本農林省告示，昭和 40 年 11 月 25 日 B 第 2735 號：153~155。

- 2) 田端健一 (1964). 魚類による産業廢水の急性毒評價法, 水處理技術. 5: 37~44。
- 3) 高木敬次郎, 小澤光編 (1960). 藥物突驗132—133 南山堂。
- 4) Doudoroff, P. (1951). Bioassay methods for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish. Sewage and Ind. Wastes. 23: 1380。
- 5) ORSANCO (1955). Aquatic life water quality criteria, first progress report. Sewage & Ind. Wastes. 27: 1。



# 養殖鰻鰓病之病理研究

劉 正 義\*

The Pathological Study on Gill Diseases in Eel

Chen-I Liu\*

## Abstract

Several kinds of gill diseases of eel were carried out by gross and microscopical studies in order to obtain the disease picture for the diagnostic purpose. The presented data were selected from the collection of more than 1,000 diagnostic cases in Fish Disease Diagnostic Center, Taiwan Provincial Pingtung Institute of Agriculture, from July 1977 to April 1978.

The eel diseases affected gill principally in Kaohsiung-Pingtung areas are list as following:

1. Columnaris disease: *Flexibacter columnaris*.
2. Myxobacterial gill disease: *Myxobacterium* sp. (eg. *Cytophaga psychrophila*)
3. Mycotic gill disease: *Branchiomyces* sp.
4. Myxidial gill disease: *Myxidium* sp.
5. Cyclochaetiasis: *Cyclochaeta (Trichodina)* sp.
6. Gill fluke disease: *Dactylogyru* sp.

Among them, the mycotic gill disease caused by *Branchiomyces* sp. is initially reported in Taiwan.

## 摘 要

筆者於一九七七年七月迄一九七八年四月間，由屏東農專「魚病診療服務中心」之總數超過一千例之送檢病鰻標本中，選就其中主要引起鰓部病變之疾病，分別研討其肉眼及組織病理學變化以爲診斷之憑據。

本報告指出高屏地區主要引起鰻魚鰓部病變之疾病計有：

1. 腐鰓病 (Columnaris disease): *Flexibacter columnaris*
2. 黏液細菌性鰓病 (Myxobacterial gill disease): *Myxobacterium* sp. (eg. *Cytophaga psychrophila*)
3. 黴菌性爛鰓病 (Mycotic gill disease): *Branchiomyces* sp.
4. 黏孢子蟲性爛鰓病 (Myxidial gill disease): *Myxidium* sp.
5. 車輪蟲症 (Cyclochaetiasis): *Cyclochaeta (Trichodina)* sp.
6. 指環蟲症 (Gill fluke disease): *Dactylogyru* sp.

其中由 *Branchiomyces* sp. 引起之黴菌性爛鰓病係本省首次之報告例。

---

\* 省立屏東農專魚病診療服務中心

## 緒 言

近年來本省亟力發展水產養殖事業，已有顯著成就；其中尤以養鰻業之蓬勃發展，已成為本省最重要的水產養殖事業，在加速農村經濟成長上扮演著極重要角色。但隨著鰻魚養殖頭數之增加，鰻病之危害亦愈來愈嚴重，已直接威脅到養殖戶之經濟收益。因此，有關機構將魚病之研究與防治列為當前之急務。在農復會及其他有關魚病研究機構之鼎力協助下，乃於去年七月一日在省立屏東農專成立「魚病診療服務中心」，由著者主持本中心業務，以為養鰻業最發達之高屏地區進行魚病診療服務工作。

鰓為魚類之重要呼吸器官，相當於高等動物之肺臟，其組織構造纖細、精巧而脆弱。因為鰓直接與外界接觸，故容易受各種病原諸如：細菌、黴菌及寄生蟲等之侵害。有些病原菌侵入鰓部血流後引起全身性敗血症，有些移行於其他親和性內臟器官增殖而造成危害；但是有許多病原體則以鰓部為主要寄生器官，破壞鰓部組織，造成嚴重傷亡。本報告所提出之鰓病係從去年七月迄今年四月間從本中心受委託總數超過1,000 檢體之病例中，選就其中有關引起鰓魚鰓部病變之疾病，研討各種疾病之肉眼及組織病理學變化以為診斷之憑據；並提供為將來在研究病原學及致病原理 (Pathogenesis) 方面之參考。

鰻魚一旦罹病，除主要病原外，常有一種以上之其他病原併發感染，造成所謂併發感染病徵。本報告所陳述各種鰓病之病理變化乃根據單一病原感染而致成之特徵病變。

## 材料與方法

### 1. 材料：

從一九七七年七月至一九七八年四月間，於高屏地區養鰻戶之送檢病鰻檢體中，以罹患鰓部病變之病例為材料。

### 2. 鰓部寄生蟲檢查：

送檢病鰻若未死亡，則以 0.04% MS-222 (tricaine methane sulfonate) 水溶液麻醉或以電擊法將病鰻昏昏。將魚麻醉後，取一小片鰓瓣做壓片及塗抹片並鏡檢。

### 3. 細菌分離及同定：

上述魚體麻醉後，用 70% 酒精棉花擦拭魚體表面及鰓部，然後自鰓部取一小塊組織做 Gram-stained smear，並塗抹於 Cytophaga agar 上，以分離 *Myxobacteria* 屬細菌。(本實驗室為診斷之目的，對一般檢體之細菌分離除應用 Cytophaga agar 外，尚使用 Trypticase soy agar 以為其他水中 Gram-negative 細菌之分離。細菌分離材料除鰓部外，尚包括肝、腎及其他有病變之組織。) 若在 Cytophaga agar 之培養基上出現淡黃色之菌落，且周圍呈不規則之隆突，則再用白金耳鉤菌行抹片及鏡檢。*Myxobacteria* 屬細菌從形態上可看出係 Gram-negative 之長桿菌(圖1)。但為區分此黏液細菌係屬 *Flexibacter Columnaris* 或其他 *Myxobacteria* (如 *Cytophaga psychrophila*) 可利用其對 Congo red 之反應以鑑別之。*F. columnaris* 為 Congo red 陽性，其他 *C. psychrophila* 則為陰性。

### 4. 組織病理學檢查：

剪取鰓瓣及其他重要或有病變之內臟器官固定於10%福馬林液。固定標本行石臘包埋及切片。切片組織以蘇木紫——伊紅染色 (Hematoxylin—eosin stain; H & E)，鏡檢、攝影及描述其鏡下變化。

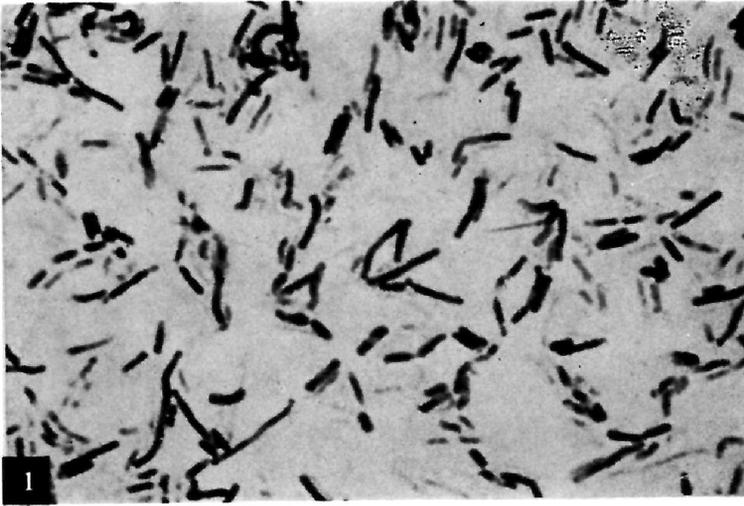


Fig. 1. *Flexibacter columnaris* found in Columnaris disease. Numerous Gram-negative long slender rods were cultured from gill. Gram-stained smear.  $\times 1,000$ .

## 觀 察

### 一、腐鰓病 (Columnaris disease)

本病可從鰓部組織由 *Cytophaga* agar 分離病原，並應用 Congo red 之陽性反應而確定係病原菌 *Flexibacter columnaris*。為高屏地區經年皆可發生之重要細菌性鰓病，但易發生於夏季，若水溫低於  $15^{\circ}\text{C}$  則不易發生本病。

#### (i) 肉眼病理學變化：

病魚在外觀上無特殊病徵；或可見皮膚黏液分泌增加以及在鰭，特別是尾鰭部皮膚引起鰭部組織之爛斑及脫落（圖 2）。打開病魚之鰓蓋則可見鰓瓣潰損，且常附着黃色之塊狀物。鰓瓣之潰損由先端開始，並隨著病情之發展，由小而大，由一個鰓瓣擴展為二個而全部，顏色亦由原來之鮮紅而逐漸褪色，終成蒼白之貧血狀態（圖 3）。除鰓外亦可於肝臟見輕度到中等度腫脹，色黃。

#### (ii) 組織病理學變化：

本病引起鰓之急性壞死性及纖維素性炎為主要特徵。嚴重病例其鰓瓣先端，即鰓絲 (Gill filaments) 上端及其鰓薄板 (Gill lamellae) 呈嚴重壞死，組織崩壞而脫落。其下方隣接部則可見炎症滲出物堆積於排列零亂之鰓薄板之組織間隙及鰓腔內（圖 4），炎症反應亦波及鰓瓣基部。炎症滲出物主要是粉紅色、晶質性、無構造之水腫液及成絲狀或塊狀之纖維素 (fibrin)，並含血管外紅血球及白血球。鰓絲近基部部位則可見輕度之上皮細胞增生，淋巴樣細胞 (lymphoid cells) 浸潤，及黏液細胞 (slime cells) 增生及過度分泌現象。部分病例亦可從病變部見長桿狀之本病病原菌（圖 5）。若細菌侵入血流，尚可在其他器官如腎、肝等組織內見此特殊之長桿菌。但出現細菌之其他組織大多不見病理變化。鰓之其他無肉眼病變區則僅呈充血變化。除鰓外，大部分病例皆可於肝見以脂肪變性為主之病理變化，肝細胞之胞質內填充大小不等，單一或多個空泡樣物。肝脂肪變性之程度與鰓病變之嚴重性成正比；即鰓破壞愈甚，則呈明顯之脂肪肝。

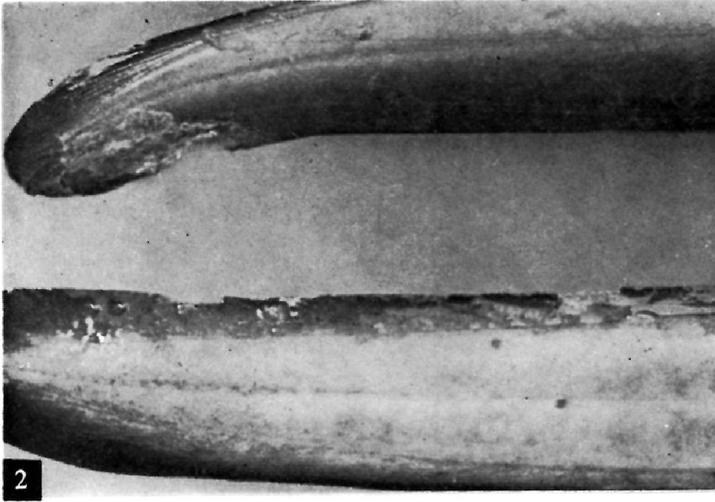


Fig. 2. Columnaris disease. Showing the lesions of tail-and fin-rot.

Fig. 3. Columnaris disease. The most upper portions of gill filaments were pale and sloughy.



Fig. 4. Columnaris disease. The gill lamellae (top end) were destroyed and replaced by fibrinous exudates. Hemorrhage was also noticed in the inflamed area. H & E.  $\times 100$ .

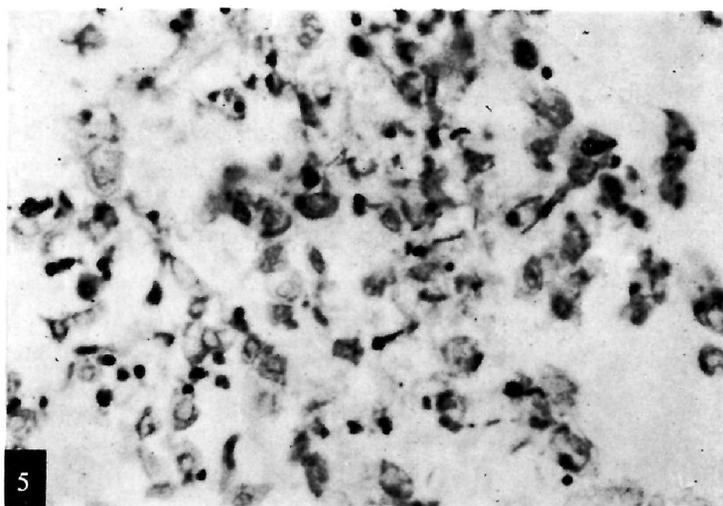


Fig. 5. Higher magnification of Fig. 4. Some rod-shaped bacilli found in the desquamated tissue debris of the gill. H & E.  $\times 400$ .

## 二、粘液細菌性鰓病 (Myxobacterial gill disease)

本病係由 *Flexibacter columnaris* 以外之其他黏液細菌所引起之鰓魚鰓病。在高屏地區春秋兩季，水溫  $20^{\circ}\text{C}$  左右時常見發生。本病病原以 *Cytophaga psychrophila* 為主，在形態上無法與 *Flexibacter columnaris* 區別 (圖 1) 須應用對 Congo red 之陰性反應以鑑別之。

### (i) 肉眼病理學變化：

本病肉眼最大特點在鰓部的變化。感染鰓鰓絲變形而肥厚，色暗紅，並雜以具黏液性之污穢物 (圖 6)。病情嚴重病例，則鰓薄板完全癒着，使鰓瓣呈棍棒狀；但無腐鰓病之鰓瓣先端潰損及褪色之現象。

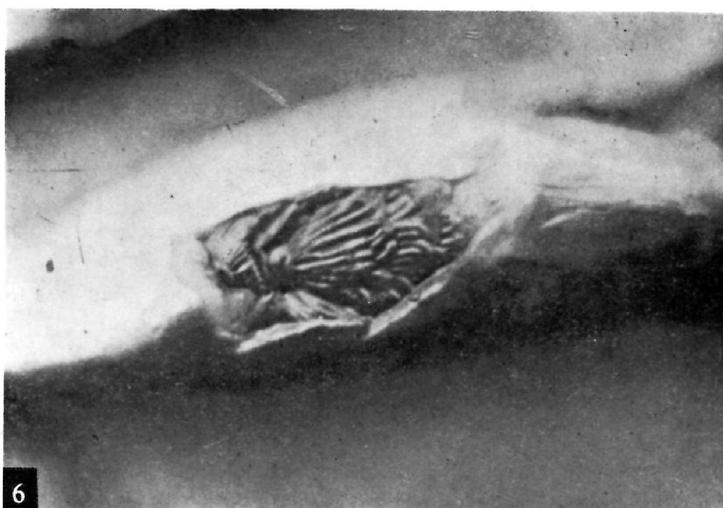


Fig. 6. Myxobacterial gill disease. Fushing and clubbing of gill filaments associated with excessive mucus discharge.

除鰓部病變外，其他內臟器官無特殊病變，有些病例則偶可見腎臟腫脹，尤其後腎腫脹時，從肛門外面就可見隆突狀。

(ii) 組織病理學變化：

鰓部之鏡下變化以鰓薄板之上皮增生與黏液分泌增加，造成彼此黏連為特徵。增生之殼狀上皮細胞呈行列狀排列，其間隙充滿脫落之細胞碎片及炎症滲出物。尤其上端黏連，而使中端之上皮分泌物無法排除而成囊腔狀，腔內懸浮脫落上皮及細胞碎片（圖7、8）。基部之增生細胞排列零亂，微血管及連絡血管充血顯著，偶亦可見小壞死灶（圖8）。除鰓薄板之黏連病變外，鰓絲之基部則可見顯著之黏液細胞呈過度分泌黏液現象。

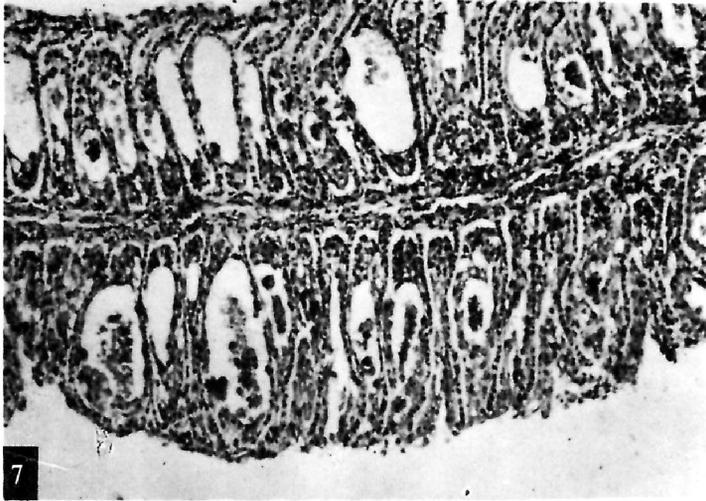


Fig. 7. Myxobacterial gill disease. Thickening of gill epithelium led to the fusing of gill lamellae and formed cyst-like structures underneath the sealed lamellae top end. H. & E.  $\times 100$ .

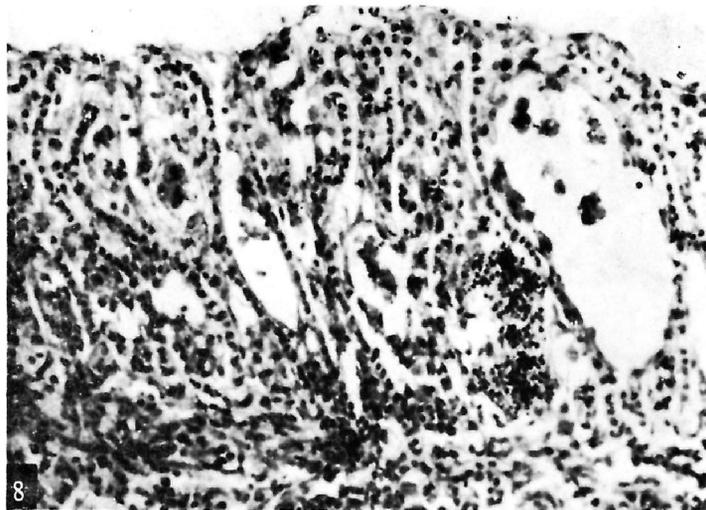


Fig. 8. Higher magnification of Fig. 7. with lesion of focal necrosis. H. & E.  $\times 200$ .

腫脹之腎臟大多可見腎小管呈晶質球滴樣變性 (hyalin-droplets degeneration)，細胞腫脹，胞質解離、脫落，並見紅色之晶質樣小球沉澱其中。

### 三、黴菌性爛鰓病 (Mycotic gill disease)

這是由 *Branchiomyces* sp. 感染所引起之鰓魚爛鰓病。本病發生於高水溫期，尤其是池水中含多量之腐敗有機質時較易發生。一旦病鰓出現病徵，病情進展快速，很快就死亡。

#### (i) 肉眼病理學變化：

病鰓鰓部爛斑累累，大塊鰓絲脫落，邊緣呈不整齊之鋸齒狀，且污點斑斑。鰓瓣部分褪色蒼白，部分則呈暗紅色，紅、白雜陳，壁壘分明。除鰓部病變外，其他器官無特殊病變。

#### (ii) 組織病理學變化：

鰓組織隨黴菌寄生程度之不同而有異。同一病鰓有鰓絲及鰓薄板之組織構造尚完整，僅在血管內見菌體者 (圖 9)；亦有組織壞死嚴重，鰓薄板排列零亂，到處散佈細胞碎片者 (圖10、11)。本病之寄生黴菌產生分枝狀之菌絲 (hyphae)，在壓片標本上即可看出。從切片標本之組織構造尚完整部可看出菌體與菌絲存於血管內，且產生合胞體 (Syncytia)，合胞體或呈圓形或具管狀，內含球形，直徑約 10-14  $\mu\text{m}$  之孢子 (spores) 數個 (圖9、11)。在組織嚴重受損區，菌體與菌絲雖隱約可見存於血管中，然是否有突起於血管外者，常因組織壞死顯著而難以確定。

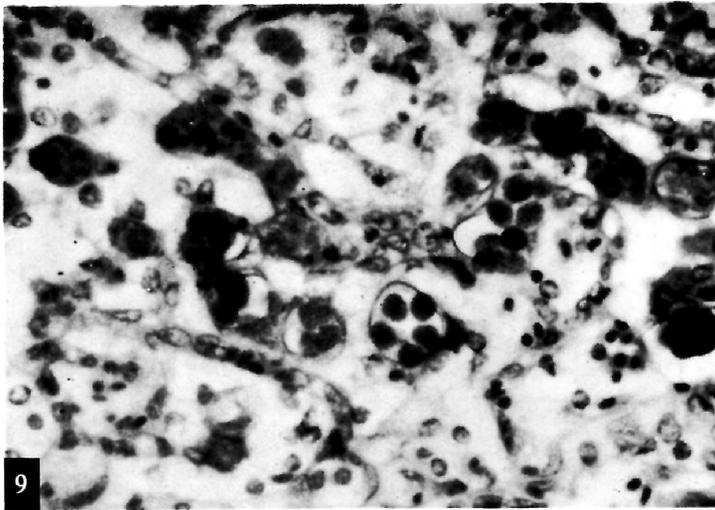


Fig. 9. Mycotic gill disease caused by *Branchiomyces sanguinis*. Note the syncytia and hyphae were confined in blood vessels. The syncytia contained several globular-shaped spores. H. & E.  $\times 400$ .

### 四、粘孢子蟲性爛鰓病 (Myxidial gill disease)

這是經年皆可見於養殖鰓之由粘孢子蟲 *Myxidium* sp. 感染而引起之爛鰓病。

#### (i) 肉眼病理學變化：

罹患粘孢子蟲之病鰓，通常在鰓無明顯之病變，但嚴重感染例可從鰓瓣見許多細小如芝麻之白點密發。鰓絲變粗糙，先端斷裂呈爛斑 (圖 12)。除鰓部病變外，其他組織如肌肉、肝、腎等亦時常見此類粘孢子蟲，特別是腎，因孢子蟲寄生而引起腎臟腫脹。

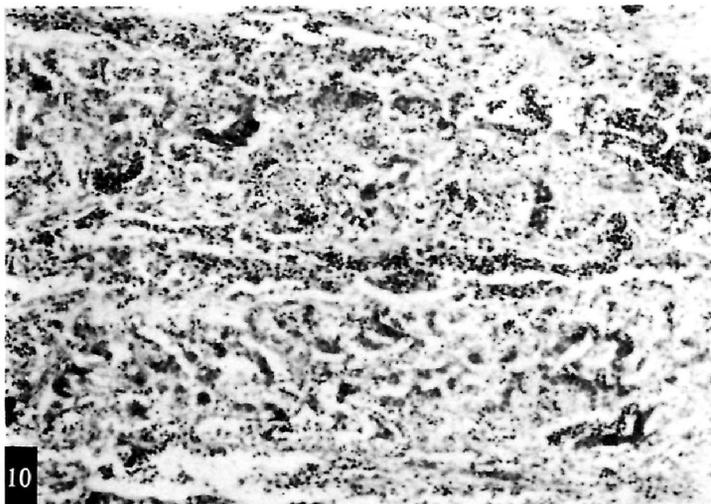


Fig. 10. Mycotic gill disease. Marked necrotic change of the gill. Fragments of *B. sanguinis* were distinctly seen within the blood vessels. H. & E.  $\times 100$ .

Fig. 11. Mycotic gill disease. *B. sanguinis* deposited in the blood vessels of the deformed gill lamellae. H. & E.  $\times 200$ .

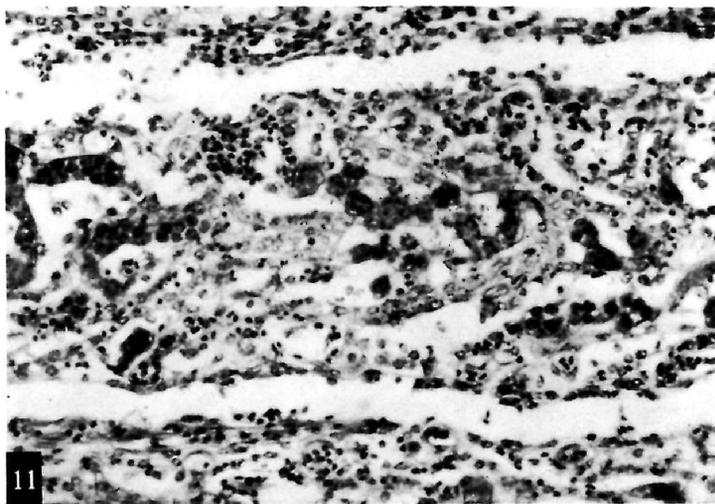


Fig. 12. Myxidial gill disease. Note the irregular denuded gill filaments.

(ii) 組織病理學變化：

組織切片下之黏孢子蟲寄生於鰓上皮皮下組織內，形成孢囊 (pansporoblasts)。孢囊呈圓形或卵圓形，外有被膜，大小不等 (圖 13)。孢囊中充滿許多孢子 (spores)，呈梭形，兩端鈍圓，長約  $10\ \mu$ ，寬約  $5\ \mu$ ，兩端各有極囊一個，極囊之間尚可見孢質核，被蘇木紫染成藍色小點 (圖 14) 病鰻之鰓薄板粗短，頂端裸露，基部結締組織增生，微血管充、出血顯著 (圖 13)。部分鰓絲則見嚴重壞死及纖維素性炎。黏孢子蟲囊胞散見於壞死組織碎片中 (圖 15)。

許多有或無鰓部黏孢子蟲寄生之送檢病例，在其他組織或血管內，仍可發現黏孢子蟲寄生現象，尤其在腎臟中黏孢子蟲之寄生率甚高。在腎臟，黏孢子蟲寄生於腎小管及鮑氏囊外之組織間隙，寄生部位可見許多褐色至深褐色粗細不等之色素顆粒沉澱。

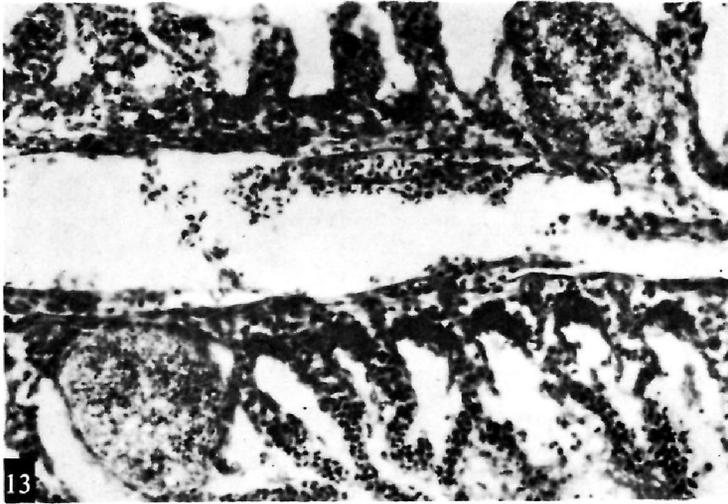


Fig. 13. Myxidial gill disease. Two round-shaped pansporoblasts of *Myxidium* sp. which contained several spores were found in the gill lamellae. H. & E.  $\times 200$ .

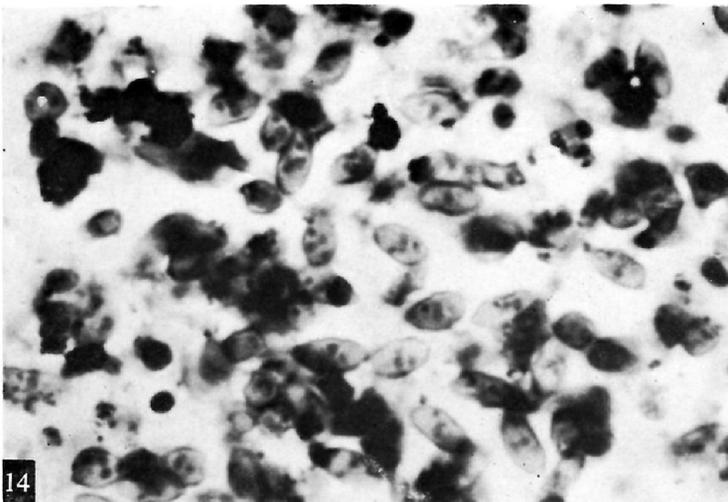


Fig. 14. Higher magnification of Fig. 13. The spore was fusiform in shape with a spherical polar capsule in both tapered ends. H. & E.  $\times 1,000$ .

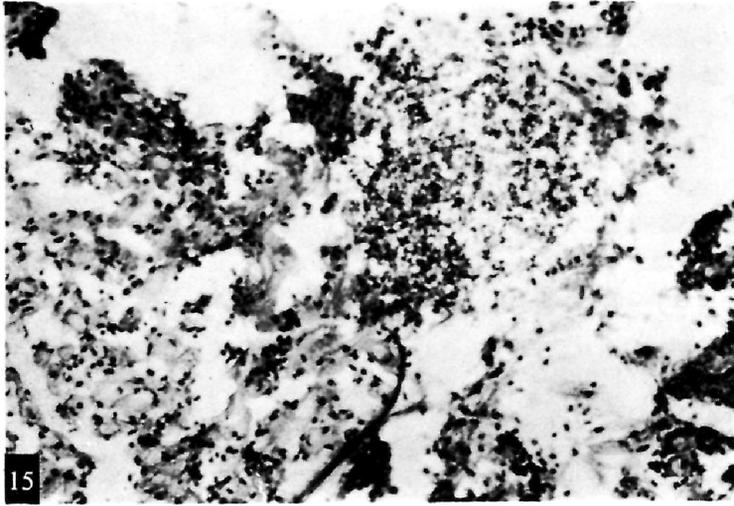


Fig. 15. Myxidial gill disease. A ruptured pansporoblast was found in the gill and accompanied with marked fibrinous inflammatory reaction. H. & E.  $\times 100$ .

#### 五、其他鰓部之寄生蟲病

在一般鰓部壓片檢查標本，經常可發現寄生於鰓之寄生蟲。較重要的有屬原生動物纖毛蟲類之車輪蟲 (*Cyclochaeta* sp.; *Trichodina* sp.) 及屬扁形動物吸蟲類之指環蟲 (*Dactylogyrus* sp.) 等。

(i) 車輪蟲 (*Cyclochaeta* sp.; *Trichodina* sp.)

車輪蟲寄生於鰓、鰭，及體表，但並不侵入體內；於鰻線及幼鰻主要寄生體表，但是較大之鰻則多見寄生鰓部。由於蟲體具有鈎環 (rings of hook)，故寄生時蟲體吸附在鰓板上皮，造成刺激而使大量分泌黏液及細胞壞死 (圖 16)。罹病鰻魚通常不見外觀之異常；惟大量寄生時，則在外觀上見

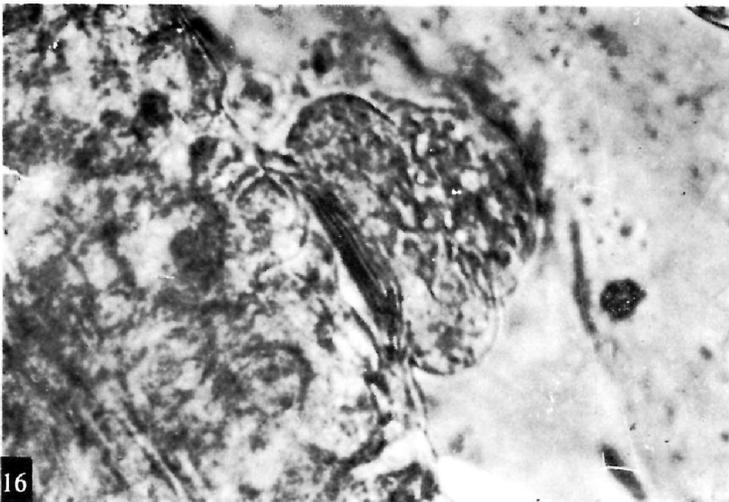


Fig. 16. A bell-shaped *Trichodina* attached to the lamellae epithelium of the gill. Crushed sample.  $\times 1,000$ .

鰓瓣沾附黏稠樣物質。顯微鏡下，從蟲體之上端觀之呈圓盤狀，具有特別顯著之車輪狀鈎環，數目約在20個以上，鈎環外圍有許多輻射狀之纖毛（圖 17），若從側面觀之，則蟲體有如鐘形，並行伸縮運動；一旦吸在組織上則鐘形樣體型較扁（圖 16）。



Fig. 17. A saucer-shaped *Trichodina* found in crushed gill tissue.  $\times 1,000$ .

(ii)指環蟲 (*Dactylogyrus* sp.)

指環蟲為鯉魚之重要鰓蛭 (Gill fluke)。在高屏地區全年皆可發生，危害性大。指環蟲屬吸蟲類，其蟲體特徵為體軀扁平，長約 0.1-0.8 mm，頭部背側有眼點 4 個。活動時頭端向前伸展而呈分葉狀（有四葉）。蟲體後端為圓盤狀之吸盤，有大錨鈎一對及 14 個形狀相同，但略短之小鈎（圖 18）。指環蟲吸附在鰓薄板，破壞或刺激上皮細胞使分泌多量黏液。嚴重感染病例，在外觀上，鰓部顯著附蓋多量黏稠物，且鰓瓣呈暗灰色。



Fig. 18. A *Dactylogyrus* was identified by the presence of eye spots (4) on the head and a pair of anchor hooks with some marginal hooklets on the end part of the body. Crushed gill tissue.  $\times 100$ .

## 討 論

自從 Ordal 與 Rucker<sup>(12)</sup> 於一九四四年首次分離到 *Chondrococcus columnaris* (後來更名為 *Flexibacter columnaris*) 以來,許多溫水性與冷水性魚類相繼在世界各地被發現受本菌之感染而造成嚴重之損失<sup>(8)</sup>。本菌可引起鰻魚腐鰓及爛尾之病徵,而有腐鰓病<sup>(3,7)</sup> 與爛尾病<sup>(3,7)</sup> 之稱。

本中心所蒐集之 *F. columnaris* 感染例,甚少發現單獨在尾鰭有爛尾之病例,反而在多數爛尾病例中分離到 *Aeromonas* sp.<sup>(6)</sup>。徐與郭 (1977)<sup>(1)</sup>,曾從自然感染例之分離株行泥鰍、鯽、鯉與鰻之人工感染實驗,發現鰻比其他魚類對 *F. columnaris* 之感受性低。因之,本病之自然感染可能需要先有 *Aeromonas* 等水中常在菌之感染及其他緊迫 (Stress) 之素因<sup>(11)</sup>。*F. columnaris* 所引起之鰓部病變以壞死性及纖維素性炎為主,且鰓絲之上端鰓薄板容易因壞死而脫落,其病理變化不同於其他黏液細菌性鰓病;後者係以鰓薄板之上皮增生及過度分泌粘液而造成鰓絲粘連,因而妨碍血流之暢通,造成感染鰻之死亡。然而此兩類鰓病之初期病變類似,鑑別困難,須行細菌分離及同定。一九六九與一九七〇年越冬期,日本曾發生鰻魚之所謂「鰓腎炎」大流行。以靜岡縣、燒津、大井川等地方鰻魚死亡最劇,爾後,每年皆有該病之發生,並有從病鰻分離出病毒而懷疑可能係一種病毒性疾病之說<sup>(7)</sup>。「鰓腎炎」之病理變化與粘液菌鰓病極為相似,除鰓絲粘連,鰓瓣成棍棒狀之變化外,腫脹之腎臟其腎小管呈晶質球滴樣變性。一九七六至一九七七年越冬期,本省南部亦傳聞普遍感染了「鰓腎炎」;本中心當時尚未成立,但筆者基於興趣曾在養鰻池現場採集數例標本,行組織病理學檢查,發現與後來我們在實驗室確認係粘液細菌鰓病之病例無法在組織病理學變化上區別。因此,在臺灣所懷疑為「鰓腎炎」之病例是否即為粘液細菌性鰓病,尚屬未明。抑或真有「鰓腎炎」,而其究竟是屬病毒或其他病因而引起之疾病,有待今後之注意觀察及病原學之研究。

臺灣一向缺乏 *Branchiomyces* sp. 引起鰻魚爛鰓病之病例報告。郭 (1977)<sup>(4)</sup> 曾在鹿港之送檢病例中發現此類黴菌感染鰓部之病例。由於本中心第一年之主要工作是疾病診斷,故病材未行需應用特殊培養基之黴菌分離工作。

*Branchiomyces* sp. 在分類上屬於 *Phycomycetes* 門, *Archimycetes* 亞門。引起魚類爛鰓之 *Branchiomyces* 屬 (genus) 有 *B. sanguinis* 及 *B. demigrans* 兩種 (species)。此兩種皆能產生寬約 9-15  $\mu\text{m}$  之菌絲,並寄生於鰓之靜脈及微血管內,因而使得血行靜止,致使鰓部之氣體交換受阻,病鰻缺氧、窒息而死亡<sup>(14)</sup>。*B. demigrans*. 在鰓組織不僅寄生於血管中,其菌絲亦伸展至鰓之表面外,與 *B. sanguinis* 僅局限於血管中有別<sup>(14)</sup>。本報告所見病例,在鰓組織未破壞之部位,可以清楚看見菌體及菌絲局限於血管內,似傾向於 *B. sanguinis* 之感染例,惟仍須進一步探討。

本省有關黏孢子蟲 (*Myxidium* sp.) 在鰻魚皮膚<sup>(2,10)</sup>、腎臟<sup>(5,10)</sup>,及鰓<sup>(10)</sup> 之感染情形已有報告。在鰓部見黏孢子蟲感染病例,亦常在除皮膚以外之其他組織發現到同一形之黏孢子蟲體寄生。尤其是腎臟之寄生例甚多。據初步統計,所有送檢病例 (不管有無鰓病),約70%皆可在腎臟發現此蟲體<sup>(6)</sup>。在腎臟所見之黏孢子蟲係浸潤寄生於間質,且見明顯之寄生蟲色素沉澱。此與黃等 (1977)<sup>(5)</sup> 所見之腎臟黏孢子蟲在病變及蟲體之形態上均相似。由於 *Myxidium* 在 species 之鑑別須見其營養體,故無法知道究竟是那一屬。又從腎臟之普遍有黏孢子蟲寄生,以及其他如肝、肌肉等組織常見黏孢子蟲栓子 (parasitic emboli),或在肌肉纖維內寄生,但無病理變化等,可推測鰓係黏孢子蟲侵入體內之徑路之一,其最終之寄生組織可能是腎臟。若因粘孢子蟲在鰓部大量寄生,則可導致鰓組織之嚴重傷害。此項推測仍需再深入研究。

車輪蟲與指環蟲是鰻魚鰓部常見之寄生蟲。其他如三代蟲 (*Gyrodactylus*) 則偶可見之。近年來,由於養鰻戶已知道應用福馬林及氯仿等驅蟲藥劑預防寄生蟲病,故單純且嚴重之鰓部寄生蟲病已較少發生。Egusa (1970)<sup>(9)</sup> 在他的研究裡曾認定車輪蟲並不能直接傷害鰓組織,而是由於刺激而使粘液過量分泌,以及蟲體本身阻礙了鰓部之呼吸作用,促使病鰻窒息而死亡。比較起來,指環蟲比車

輪蟲之發生更爲普遍，且危害亦較大。由於指環蟲吸盤上之大錨鈎及邊緣小鈎深入鈎住寄生之鰓組織，並且不斷地移動，故能引起鰓組織之較重大潰損。

本報告所提出各種病原造成鰓組織之病變，不外乎是組織壞死，炎症反應及組織增生等基本病理變化。雖然有關魚病研究之歷史已經持續整個二十世紀，但是魚病病理學與哺乳動物或禽病病理學比較仍然顯得較落後；大部分之魚病工作者都是病原學家，以及水中動物之較不易進行疾病之研究是其理由。然而魚類之缺乏較顯著之組織反應則可能是最重要的理由。事實上，魚類對於傷害之細胞防禦機轉 (cellular response mechanism) 與哺乳動物並無太大之不同，較顯著的可能係對於病原體之反應不像哺乳動物那樣能經久持續地進行細胞防禦反應。譬如說對於黴菌感染 (mycotic infection)，一般哺乳動物皆能顯現慢性肉芽腫病變 (granulomatous lesion)，但是在魚類則否。<sup>(13)</sup> 急性滲出性炎症反應常見之於動物之細菌性疾患，其中又以多核性白血球爲主要之反應細胞，但是在魚類則鮮見這一類細胞之反應，反而以單核性細胞之浸潤爲主。魚類之單核性白血球 (如 macrophage 及 lymphocyte) 顯然具有如同中性白血球之吞噬能力<sup>(13)</sup> 這在於本報告的病例所觀察到的病理反應現象，似乎是應該同意的觀點。

## 謝 詞

本研究承農復會漁業組之資助得以完成，謹此致謝。又關於病原鑑定方面，特別是 *Branchiomyces* 及 *Myxidium* 承郭光雄博士之指導並賜以寶貴意見，特爲誌謝。

## 參 考 文 獻

- 1) 徐大全、郭光雄，1977. 魚類病原性黏液細菌 (*Flexibacter columnaris*) 之研究。臺灣水產學會刊第五卷第二期 p. 41-54。
- 2) 徐興鏞、張文發，1977. 鰻孢子蟲白點病之病理研究 JCRF Fisheries Series 29: 47-49。
- 3) 郭光雄，1966. 臺灣魚病介紹國立臺灣大學三十週年校慶專刊 p. 30-36。
- 4) 郭光雄，1977. 私下交換消息。
- 5) 黃仲嘉、羅竹芳、王重雄、扈伯爾，1977. 鰻腎黏孢蟲之組織病理和組織化學研究。JCRF Fisheries Series 29: 7-12。
- 6) 劉正義，1978. 未發表之資料。
- 7) 江草周三等，1974. 魚病診斷指針ユイ・ウナギ・ハマチ p. 89-93。
- 8) Anderson, J. I. W. and D. A. Conroy. 1969. The Pathogenic Myxobacteria with special reference to fish disease. J. Appl. Bacteriol. 32: 30-30.
- 9) Egusa, S. 1970. Some problems in the culture of European eel. Fish Culture 7(5): 40-43.
- 10) Li, Y. P. and Chen, S. N. 1972. Some parasites found in pond fishes of Taiwan (1). JCRF Fisheries Series. 12: 54-65.
- 11) Meyer, F. P. 1970. Seasonal fluctuations in the incidence of disease on fish farm. Am. Fish. Soc. Symp. Special publication 5, 21-29.
- 12) Ordal E. J. and R. R. Rucker, 1944. Pathogenic Myxobacteria. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 56: 15.
- 13) Peter Finn, J. 1970. The protective mechanisms in diseases of fish. Veterinary Bulletin, 12: 873-885.
- 14) Van Duijn, C. 1976. Disease of Fishes 3rd. ed. p. 121-122 Lond.:Iliffe Books Ltd.



# 新竹區養殖文蛤病原菌 *Vibrio parahaemolyticus* 之分離

楊美桂\* · 羅竹芳\* · 扈伯爾\* · 郭光雄\*\*

Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from Cultured Hard Clam,  
*Meretrix lusoring* in Hsin-Chu Areas

Mei-Kwei Yang\*, Chu-Fang Lo\*, Rev. F. Huber\* & Guang-Hsiung Kou\*\*

## Abstract

An asporogenous, Gram-negative, short, curved bacillus was isolated in pure culture from numerous moribund hard clams, *Meretrix lusoring* in the Hsin-Chu areas. Morphological and biochemical characteristics of 8 isolates conform to those described for the *Vibrio parahaemolyticus* in the literature. All isolates grow well on general culture media and were active in the production of gelatinase, indole, cytochrome oxidase and starch hydrolysis. Acid but no gas was produced from fermentation of carbohydrates. Very sensitive to a vibriostatic agent and novobiocin and chloramphenicol. Growth occurred at 10°C-45°C and the optimum temperature appeared to be 20°C-37°C. Optimum salt concentration for growth was 3% and 5% NaCl and growth occurred at the concentration range of 0.5-15% NaCl. Growth occurred at the PH range of 5.0-10.0.

Another study was also performed to determine the pathogenicity of all isolates of *Vibrio Parahaemolyticus* on healthy clams. Clam mortality occurred after inoculation with this pathogen for 90 hrs at 28°C.

## 前 言

一九七七年四月與十二月在臺灣北部新竹香山海邊之貝類養殖場，曾連續發生養殖文蛤之大量死亡，造成重大的損失，極受各方的注意，著者於是進行詳細的調查與研究。雖然造成貝類死亡的可能原因很多，但不外乎外界環境的改變，如氧的缺乏、溫度與鹽度過度或急驟的提高、海水污染，或寄生蟲、黴菌及細菌、病毒體之感染所致。(3)

有關臺灣貝類大量死亡原因之研究，目前已有多篇報導。曾文陽(1) 將一九七四年四月本省西南沿海一帶養殖場貝類大量死亡之原因歸為以下四點：(1)放養密度過高致使環境突變時，導致大量死亡。(2)海水污染。(3)種苗養殖區先天條件不良亦或人工施肥不當、氧氣不足、泛池等。(4)種苗由於長途搬運與棲息環境之改變，造成放養數日後即開始死亡。鄭森雄於一九七五年指出自一九六九年以來，臺灣西南部淺海地區每年養殖貝類死亡之主要原因，是由於未經處理的工業廢水造成水質污染所引起的(2)。香山文蛤養殖場已有七年之歷史，據漁民所言，在此七年中，雖偶有死亡發生但情況都不嚴重，但一九七七年所放養之貝類其密度極高，貝類生長迅速，原指望豐收，却不意發生大量死亡。香山

\* 輔仁大學生物學系 (Department of Biology, Fu-Jen Catholic University)

\*\* 臺灣大學動物學系 (Department of Zoology, National Taiwan University)

地區與臺灣西南部之環境不同，死亡原因顯然有所差異，因此著者由疾病方面著手研究。

關於細菌性疾病，在魚類疾病中被研究得很多，但到目前為止，吾人對於養殖貝類之細菌性疾病所知有限。Takeuch 等<sup>(4)</sup> 於一九六〇年曾發現一種革蘭氏陰性、具運動性之小桿菌，大小約為1—3毫米的 *Achromobacter*，是造成日本廣島 (Hiroshima) 海灣的太平洋牡蠣 (*Pacific Oyster*) 大量死亡的主因，指出在將死的牡蠣體內會有細胞浸出 (cell filtration) 細菌繁殖與組織潰瘍 (tissue necrosis) 等現象。Numachi等<sup>(5)</sup> 於一九六五年發現，造成一九六〇年代日本松島 (Matsushima) 海灣之牡蠣大量死亡，百分之二十是由一種革蘭氏陽性細菌引起的，稱這種疾病為 multiple abscesses，由於不是造成大量死亡之主因，故未加以詳細的研究。而在一九五九年，Guillard<sup>(6)</sup> 由臨死之貝類 *Venus mercenaria* 幼體培養池中分離出幾種病原菌，分別屬於 *Pseudomonas* 與 *Vibrio*。同樣的，在一九六五年，Tubiash<sup>(7)</sup> 也由 Milford 實驗室之貝類 *Mercenaria mercenaria* 幼蟲培養池中分離出多種細菌，分別屬於 *Aeromonas* 與 *Vibrio*，是造成培養貝類幼體死亡之原因，他稱之為 Bacillary Necrosis。一九七三年 Brown<sup>(8)</sup> 由將死之美國牡蠣 (*Crassostrea Virginia*) 幼體中分離出165種菌株，發現其中大部份屬於 *Pseudomonas* 與 *Vibrio*，發現其中有二十種菌株可影響幼蠔之死亡率並引起明顯的型態異常及生長遲緩。

為明瞭細菌性疾病造成香山地區貝類大量死亡之可能性，於是進行病原菌之分離工作，並配合病原性試驗、以及其形態、生理及生化特性之研究，將所得之結果在此提出報告，以供研究者之參考。

## 材料與方法

### 甲、細菌之分離 (Isolation of bacteria)

由香山貝類死亡區取回罹病頻臨死亡之文蛤，以清水洗淨外殼後，在無菌操作下以刀子小心將外殼剝開，以無菌棉花棒吸取體液於乾淨玻片上做塗抹，同時做革蘭氏染色，以觀察細菌之存在情形。並吸取少量體液並取一小片鰓絲及消化道組織於 Tryptic Soy Broth (Bacto-Typtone, 15 g; Bacto-Soytone, 5 g; Sodium Chloride, 5 g; Sea Water, 1 l; pH=7.4) 中培養，將培養液置於 28°C 溫度下培養 24 小時後，取少許菌液於 Tryptic Soy Agar (以下簡稱 TSA 培養基) 上做塗抹，同樣於 28°C 下培養 24 小時至 48 小時，觀察菌落之形成，選取外形、顏色上形態不同之菌落，分別以三區劃線法多次分離以得純培養，然後再接種至斜面培養基上保存，供病原性、生化特性及藥物感受性試驗之用。

除外也將體液與組織接種於 Thioglycollate 培養基中 (D-glucose, 5 g; Sodium thioglycollate, 1 g; 1% aqueous Methylene Blue, 0.2 ml; Tryptic Soy Broth, 1 l PH=7.2) 利用 Gas Pak 裝置，於無氧狀態下做厭氧培養，以分離出絕對厭氧菌。

### 乙、病原性試驗 (Pathogenicity test)

將供試菌接種於 Tryptic Soy Broth 中於 28°C 培養 24 小時後，經離心法除去培養液及新陳代謝產物，再以無菌海水洗三次，最後配成一定濃度之細菌懸浮液備用。實驗時取健康文蛤 (4×3 cm)，由外套腔注射 0.2 ml 之菌液，其濃度分別為每毫升含有 10<sup>7</sup> 10<sup>8</sup> 及 10<sup>9</sup> 個菌數三種，每種濃度注射 25 隻文蛤。對照組分為兩組，對照組 I 是以等量 (0.2 ml) 之無菌海水取代菌液，依同法注射，對照組 II 則完全不注射。注射後，將文蛤收容於塑膠盤中，上下覆以濕的紗布以保持濕潤環境，放於 28°C 培養箱內，每隔一定時間觀察死亡情形，外殼張開死亡之文蛤，則先除去，以免干擾其他未死者。

### 丙、病原菌之鑑定 (Identification of pathogen)

#### (1) 形態與培養特性之觀察 (Morphological examination)。

將分離菌於普通液體培養基中培養 24 小時後，取少量塗抹於玻片上，在顯微鏡下觀察其運動性，同時以 Leifson 方法做鞭毛染色<sup>(9)</sup>，觀察鞭毛所在之位置及分佈情形，利用革蘭氏染色法觀察其形狀，大小與染色特性。並培養於 TSA 固體培養基上，觀察其菌落之形狀、顏色、大小等外表特性。

(2) 生化特性試驗 (Characteristics of biochemical test)。

將分離菌接種於 Hugh & Leifson 培養基中，測其利用葡萄糖情形，依照 Harrigan 方法<sup>(9)</sup>測定其他特性，如氧化酶試驗 (cytochrome oxidase test)，硝酸鹽還原性 (nitrate reduction)，明膠之液化性 (gelatin liquefaction)，吲哚之形成 (indole formation)，醣類之發酵性 (carbohydrate fermentation)，澱粉及酪蛋白之分解性 (starch and casein hydrolysis) 等。利用 Brooker 方法<sup>(10)</sup>測離氨酸羧酶 (lysine decarboxylase) 之存在。以 Fay 方法<sup>(11)</sup>測鳥氨酸之脫羧酶 (ornithine decarboxylase)。並接種於 Simmon's citrate agar 上，觀察其利用檸檬鹽 (citrate) 的情形，利用 TSI (Triple Sugar Iron) 培養基測定是否有硫化氫之產生。

(3) 耐鹽性試驗 (Tolerance of NaCl)

將經 24 小時培養之分離菌，接種於含不同濃度氯化鈉之 peptone yeast Extract Broth (內含 1% proteose peptone, 1% yeast Extract, pH=7.2) 中，氯化鈉之濃度分別為 1%，3%，5%，8%，10%，15% 與 20%，於 28°C 下培養 24 小時，由培養液之混濁度可知其生長情形，而判斷其對不同鹽度之忍受力。

(4) pH 之忍受範圍試驗 (Tolerance of pH)。

將 PYE 培養液以 1% 之氫氧化鈉與 1 N 之氯化氫調成各種不同酸鹼度之培養液，其 pH 值分別為 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0 與 11.0。將經過 24 小時培養之新鮮菌 1 白金耳量接種於內，於 28°C 溫度下培養，隔天觀察其生長情形。

(5) 溫度忍受度試驗 (Tolerance of temperature)

將 24 小時培養之新鮮菌 1 白金耳量接種於 PYE 培養液中，於 5°C, 10°C, 25°C, 28°C, 37°C, 42°C 與 45°C 溫度下培養，隔天觀察其生長情形。

(6) 藥物感受性試驗 (Drug Sensitivity Test)。

為試驗分離而得之病原菌，對於藥物之感受性程度，將菌接種於 TSA 培養基上，於上灑上少許 Vibriostatic agent (9/129-2, 4-diamino-7-diisopropylpteridine)，觀察其抑制細菌生長的情形，同時以各種不同之抗生素紙環置於已接種菌的 TSA 培養基上，隔天觀察抑制環的產生，所用抗生素有：Chloramphenicol, Kanamycin, Neomycin, Penicillin, Novobiocin, Tetracycline, Erythromycin, 及 Streptomycin。

## 結果與討論

### 甲、細菌之分離 (Isolation of the bacteria)

由患病之文蛤體腔與組織中，可分離出 11 種不同菌株之革蘭氏染色陰性之桿菌，經過病原性試驗知其中 8 種菌株皆可造成文蛤之死亡。經染色觀察，其大小均為 1—2 微米 × 0.5 微米之短桿菌，略微彎曲，具有端鞭毛運動性強，有時彎度不明顯，而呈直狀、球狀甚或菌體膨大，亦即表現出多形性 (pleomorphic)。通常為單個體存在，有時會成對在一起，不產生芽胞 (endospore)。於 TSA 培養基上，在 28°C 下經過 24 小時之培養，產生菌落呈灰黃色、黏狀、圓形突起、光滑而周圍完整，直徑約為 2 到 3 毫米，生長快速，很快彌散整個培養基，若以側光照射，可見綠色之發亮現象；若於 PYE 液體培養 24 小時後，菌液混濁，並有白色菌體沉澱下來。於 TSA 培養基內加入定量之 crystal violet 及 sodium azide 試驗分離菌之感受性<sup>(9)</sup>的結果，顯示於含 2.5ppm 濃度之 crystal violet 的培養基內還可生長，但在含 sodium azide 250 ppm 濃度下則不生長，同時革蘭氏染色為紅色，而判定分離菌確屬革蘭氏陰性菌。分離菌於無氧狀況下 Thioglycollate 培養基上之良好生長

可認定為一種兼性需氧菌。

另外有可產生芽胞，革蘭氏陽性，不發酵醣類，於 TSA 培養基上形成白色黏狀菌落，類似 *Bacillus*，由於不具病原性，故未做詳細的鑑定。同時亦分離出一種革蘭氏陰性，具運動性，不具芽胞的短桿菌，於 TSA 固體培養基上呈現鮮黃色的菌落，較乾不具黏性，圓形、光滑而突起，依初步鑑定，可能為 *Flavobacterium*，但自分離後，經幾次培養就不容易再維持，由於此一特性，未能做更進一步之鑑定，依著者的看法，分離而得之 *Bacillus* 與 *Flavobacterium* 可能存在於文蛤體內或海水內之原有非病原菌，由於缺乏貝類體內及其生活環境水域之常有菌叢之生態的資料，無法做深入之研討，關於此一問題，有待將來進一步的探討。

### 乙、形態、生理及生化學之特性 (Morphological、physiological and biochemical characteristics)

分離菌之形態、生化學特性及醣類利用性如表一及表二所示，即具有運動性，可利用醣類不產生氣體，不產生硫化氫，可產生氧化酶 (Oxidase) 並有觸酶 (Catalase) 之存在，可將明膠液化，並分解澱粉與酪蛋白，不具有 Arginine dihydrolase，可將硝酸鹽還原為亞硝酸鹽，對抑制劑 (Vibriostatic agent,  $\frac{0}{129}$ ) 有感受性，可產生吡嗪。可利用多種醣類，但不利用 Xylose, Inositol, Lactose 與 Raffinose。

分離菌對於鹽度的忍受力很強，為 0.5%~15%，最適鹽度為 3%~5%。於 pH 值 5.0—10.0 範圍內皆可生長，可在 10°C~45°C 下生長，但最適溫為 20°C~37°C。

Table 1. Physiological Characteristics of *Vibrio parahaemolyticus*  
Isolated from Moribund Bivalves

---

Catalase: Weakly positive
Cytochrome oxidase: positive
Hugh-Leifson's medium (O/F medium): Fermentation of glucose
Ammonia: Not produced from peptone water, urea or Thornley's semi-solid arginine medium
Nitrate reduction: Nitrite produced from nitrate
Urease: Negative
Litmus milk: Slight acid production but no other visible change
Indole: is produced
Methyl-red test: Negative
Voges-Proskauer test: Positive
Simmon's Citrate agar: Sodium citrate may be utilized as sole source of carbon
Hydrogen sulfide: Not produced
Hydrolysis of starch: Positive
Gelatin liquified: Positive
Gas from carbohydrate: Negative
Hydrolysis of casein: Positive
Hydrolysis of Tween 80: Positive
Lecithinase: Is produced
Relation to free oxygen: Aerobic or Facultatively anaerobic
PH range: PH 5.0-10.0, scant growth at PH 5.0 and 10.0
Tolerance to NaCl: Good growth in 3% and 5% NaCl, scant growth in 15% NaCl
Temperature relation: Range 10°C-45°C, optimum 20°C-37°C

---

Table 2. Utilization of Carbohydrate of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Moribund Bivalves

Carbohydrate	Result	Carbohydrate	Result	Carbohydrate	Result
Glucose	+	Sucrose	+	Inulin	+
Maltose	+	Xylose	-	Inositol	-
Lactose	-	Mannitol	+	Glycogen	+
Dextrin	+	Mannose	+	Raffinose	-
Fructose	+	Cellubiose	+	Rhamnose	+
Galactose	+	Arabinose	+	Trehalose	+

Table 3. Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Moribund Bivalves to Antibacterial Agents

Drug	Sensitivity	Drug	Sensitivity
Chloramphenicol	‡	Novobiocin	+
Streptomycin	+	Neomycin	+
Penicillin	-	Kanamycin	+
Erythromycin	+	Vibriostatic Agent (0/129)	‡
Tetracycline	+		

—: Negative +: Positive ‡: High sensitivity

### 丙、細菌之鑑定 (Bacterial identification)

依 Harrigan<sup>(9)</sup> 及 Shotts<sup>(12)</sup> 之革蘭氏陰性反應菌之分類基準，知分離菌屬於 *Vibrio*，即此菌具氧化酶，可分解明膠，非腸內細菌羣 (Enterobacteriaceae) 或 plesiomonas 屬，可產生鳥氨酸脫羧酶與離氨酸脫羧酶 (Ornithinase decarboxylase & Lysine decarboxylase)，對 Novobiocin 及 Vibriostatic agent 0/129 極為敏感，非 Aeromonas 或 pseudomonas，而應屬於 *Vibrio*。

依照 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 一書之第八版<sup>(14)</sup> 之分類為基準，並參考 Vanderzant 之分類法<sup>(15)</sup>，由於分離菌可產生吲哚 (Indole)，利用檸檬酸鹽，於不含鹽之狀況下不易生長，於 42°C 下還可生長良好，但 5°C 時則不長，可產生卵磷脂酶 (lecithinase)，分解 Tween 80 等特性，加上以上描述之生化特性，可鑑定為 *Vibrio parahaemolyticus*。

### 丁、病原性之判定 (Determination of pathogenicity)

當以培養之菌液，進行外套腔之注射，結果顯示所有供試菌皆可造成貝體之死亡，經過重覆六次實驗的結果，發現注射後時間與累積死亡率有一定關係，可以劃出一死亡曲線，如圖一所示。即當以每一毫升含有 10<sup>9</sup> 個菌數之濃度進行注射時，18 小時後就有百分之八左右的貝體死亡，繼續觀察 42 小時，發現死亡速率緩慢，其死亡率並不十分顯著。但在 42 小時之後，則死亡個數呈直線上升，90 小時的累積死亡率已達百分之五十以上。對照組 II- 亦即完全未經注射者，於一星期內發現死亡，對照組 I- 注射 0.2ml 之人造海水於外套腔中，接種後 42 小時內未發現任何具體之死亡，直到 42 小時後，始偶有少數個體之死亡，唯其累積死亡曲線並不顯著，可見注射入之菌液，確實可造成具體之損害，引起其死亡。

而以不同濃度之菌液注射，觀察其造成死亡之差異時，發現含菌量為每一毫升中有 10<sup>7</sup> 個細菌之濃度對具體影響較慢，而 10<sup>9</sup> 個菌液次之，需要五十小時後才有明顯損害出現，可見注射之菌量可以影響病原性試驗之結果。

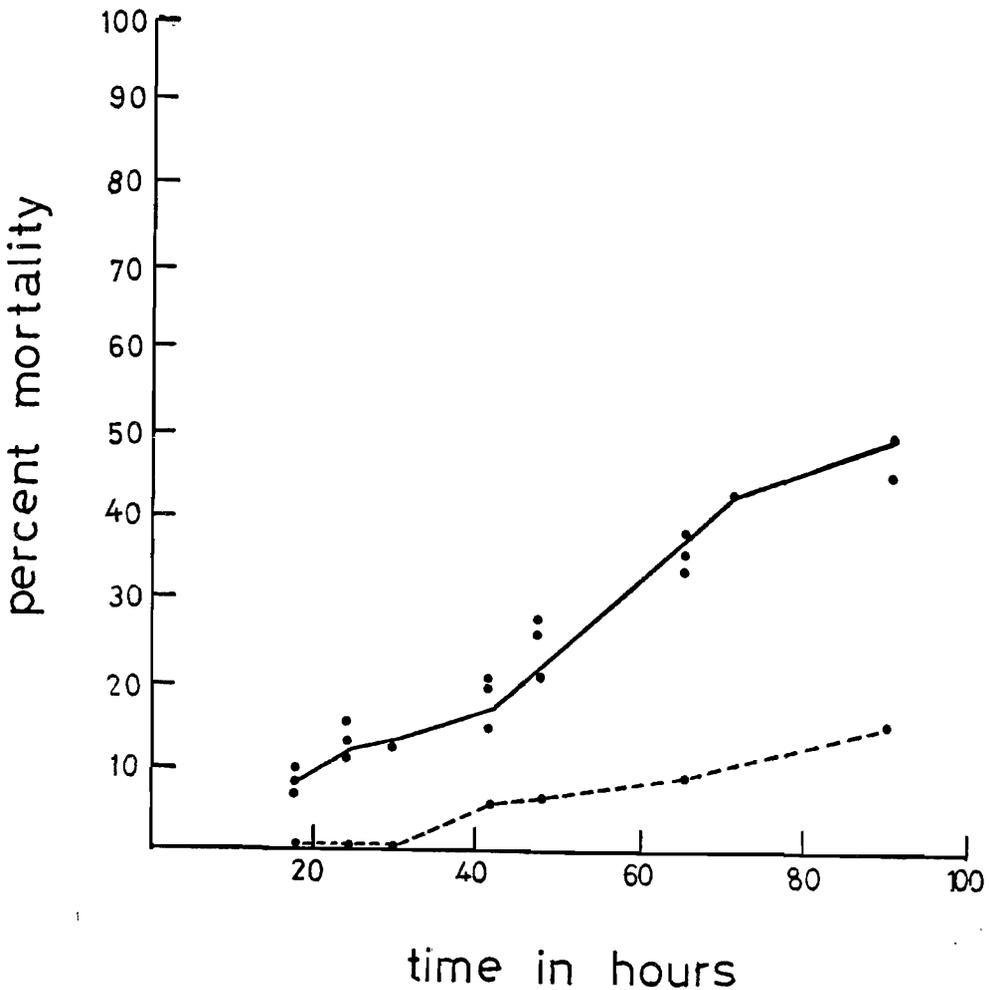


Fig. 1. Mortality of bivalve after challenge with pathogen *Vibrio parahaemolyticus*. Note first signs of mortality on 18 hours inoculation. Solid line,  $1 \times 10^9$  organisms/ml; broken line, sterilized sea water.

由分離出之八菌株之病原性試驗的結果及其他特性，依照“Bergey's Manual of Determinative Bacteriology”一書之第七版及第八版<sup>(13,14)</sup>所敘述，將之歸於 *Vibrio parahaemolyticus*。此菌一般皆認為來自海洋，許多微生物學家曾做各方面研究，想探討其在自然界之分佈範圍。最先由日本一羣科學家在日本東京灣附近，由海水及海中生物體內分離出此菌，而在美國也有多人做這方面的研究，如 Baross 與 Liston 兩人曾在美國華盛頓州沿岸及太平洋西北岸之海水、海中沈積物及貝類體內分離出此菌<sup>(16,17)</sup>；Kaneto 與 Colwell 兩人亦曾做一連續的研究，調查 *Vibrio parahaemolyticus* 於 Chesapeake Bay 之沿岸及外海中之分布狀況<sup>(18,19,20)</sup> Krantz 甚至由罹病之蟹類 (Blue Crabs) 分離出此菌<sup>(21)</sup>；另外佛羅里達州、阿拉斯加等地亦有此菌之分離報告<sup>(22,23)</sup>；Bartley 於一九七一年曾由美國新罕斯州 (New Hampshire) 海岸中之海水及牡蠣體中分離出 *V. parahaemolyticus*<sup>(24)</sup>；而在一九七五年，Earle 也曾由軟殼貝類 (*Mya arenaria*) 分得這種海中病原菌<sup>(25)</sup>，由此可推想 *Vibrio parahaemolyticus* 是廣泛存在於海水中，但其感染海中生物造成疾病，却可能由於生物生活環境的改變，導致此菌大量的繁殖或生物受到壓迫 (Stress) 降低了抵抗力所引起的，

例如溫度的突然變化，海水含鹽度的改變或其他物理因素如含氧量的降低。根據 Kaneto 氏指出<sup>(20)</sup> 冬季時 *V. parahaemolytica* 存在於 Chesapeake Bay 中羅得河 (Rhode River) 出海口處之河底沈積物上，但當四月左右，水溫上升至 14°C 15°C 時，此菌還能存在於海中浮游動物 (zooplankton) 上，此時由於細菌數目不很多，不易測得；若溫度再上升至 19°C~20°C，則菌體大量繁殖，充滿於海水中，這種菌數的消長，於一年中有一定的週期性，被稱之為年週期 (annual cycle)，除溫度是主要決定因素外，水中含鹽度的變化也具有相同的影響作用。

由實驗結果知分離菌 *Vibrio parahaemolyticus* 可忍受溫度之範圍很廣，水溫達攝氏 45 度之狀況下還能生長；含鹽度達 15% 亦能存在，而 pH 雖高至 10 或低至 5.0 也不受影響；而在有氧、無氧狀態下生長一樣快速，換句話說，外界環境之變化不影響此菌生長，有時反而促進其繁殖，但另一方面，環境改變所造對貝類等生物之壓迫 (stress) 却使貝類降低了抵抗力，此可能是貝類受本菌感染，造成死亡之原因之一。至於此菌藉由何種途徑侵入貝體，造成貝類那一部位之損害，產生何種病變，需做更進一步有關組織病理學的研究。又感染之機制，究竟是菌體本身之增殖，造成貝類生理之不平衡，或因為此菌繁殖後其代謝產物或毒素所作用的結果，亦有待更進一步的探討。

Tubiash 等人<sup>(7)</sup>，由患病之貝類幼體分離出 *Vibrio* 與 *Aeromonas* 兩種病原菌之報告中，指出幼體會受此二種病原菌之感染而罹病，但成體則不受影響，可能成體外有硬殼保護，雖經 24 小時之浸泡，病原菌亦不易進入。因此本實驗進行病原性試驗時，採取直接注射外套腔 (Mantle cavity) 法，並且連續做數日的觀察，或許侵入之細菌，須經過一段時間的繁殖，當達到一定數目後才能致使貝類罹病，使之呈現病徵。又，病原性有無之判定，在以成體為供試材料時，僅能由其外殼之開啓情況而判定其死亡，而以幼體為材料時，除藉外殼之開啓情況來判定死亡與否外，還可藉閃爍現象 (scintillation) 來判定貝體是否受病原菌的感染。Tubiash 與 Guillard<sup>(6,7)</sup> 於貝類幼體之培養池中加入欲試之病原菌，幾小時後可見大量細菌聚積於貝體四周，他稱之為 "Swarming of bacteria"，於一百倍放大下觀察，可見幼體組織受病原菌侵入後會有閃爍現象 (Scintillation) 產生。

由於一般海中生存之貝類，雖離開海水，但仍可維持一段時間而不死，如文蛤於濕潤環境下，仍可生存一星期以上，利用此一特性，當進行病原性試驗時，取定量欲試菌液注射後，將之放於塑膠盤內，保持一定濕度以觀察其存活狀況。此法所得效果較將文蛤泡於一定濃度之菌液內所做試驗為好，因為健康之文蛤泡於不加處理之海水中，亦時時可見死亡情形，因此易造成實驗之誤差。同時實驗時為避免可能造成貝體之直接損害，很小心地將外殼打開一小縫，使注射針插於外套腔內而不觸及體內任何部位，以期儘可能保持原有之生理狀況。對照組注射同量海水做比較時，發現注射人造海水之死亡率較未經注射者為高，其原因可能是因為文蛤對實驗中所注射入之人造海水有所反應，或因注射時，外殼打開後使保存於外套腔內之海水流失，造成外套膜所餘水份太少，因而影響其生長，但確實原因值得做更進一步的研究。

觀察分離菌 *Vibrio parahemolyticus* 之致病力時，發現注射 42 小時後，文蛤之累積死亡率相當高，而對照組雖亦有死亡，但累積死亡率相當低；但在 90 小時的時候，對照組之累積死亡率已接近百分之十，雖仍較處理組之累積死亡率為低，但已影響著者對病原性有無之判定，有關病原性之判斷基準，實有待進一步的探討。

### 戊、藥物之感受性 (Drug Sensitivity)

分離菌對藥物之感受性如表三所示，除對青黴素 (penicillin) 具有抗性外，對多種藥劑皆有感受性，其中對氯黴素 (Chloramphenicol) 最敏感，其次為 Erythromycin, Tetracycline, Kanamycin, Novobiocin, Neomycin 及 Sareptomycin。由此顯示大部份的抗生素皆有抑制此菌生長的效果，尤其是氯黴素。因此，香山地區文蛤大量死亡之原因純為 *V. parahaemolytica* 之感染所引起的話，即可投放藥劑以收防治之效果。祇是要以投藥方式防治此菌引起的疾病，於自然狀況下尤其

是廣大海水中，實在有其難點，如果能够對此菌侵犯貝類之途徑及引起病變的原因有所瞭解，或許能找出較為切合實際之防治方法。

## 摘 要

由新竹香山地區貝類養殖場，文蛤大量死亡時採回之標本，分離出一種不帶芽胞、革蘭氏陰性具運動性之桿菌，經形態、生理及生化特性之研究鑑定為 *Vibrio parahaemolyticus*。此菌可在普通培養基內生長，具有產生明膠酶、吲哚、氧化酶，及分解澱粉之特性，當發酵醱類時產酸不產氣體，對於抗弧菌劑如  $\frac{0}{129}$  及抗生素 Novobiocin 與氯黴素極為敏感，可在  $10^{\circ}\text{C}\sim 45^{\circ}\text{C}$  下生長，但最適溫為  $20^{\circ}\text{C}\sim 37^{\circ}\text{C}$ 。可忍受鹽度之範圍很大，為  $0.5\sim 15\%$ ，但最適當濃度是  $3\%\sim 5\%$ 。於  $\text{pH}=5.0\sim 10.0$  範圍內皆可生長。

以健康文蛤做病原性試驗時，發現所有分離之 *Vibrio parahaemolyticus* 菌株皆具病原性，90 小時內可造成試驗貝類嚴重的死亡。

## 謝 詞

本研究承農復會漁業組之資助得以完成，實驗期間，承輔大生物系王重雄副教授之協助，提供資料，因是有成，將誌於此，以表謝忱！

## 參 考 資 料

- 1) 曾文陽 臺灣海產養殖貝類大量死亡之調查。中國貝誌 1: 76—85 (1974)
- 2) 鄭森雄 養殖貝類之大量死亡。科學月刊第六卷第七期民國64年7月
- 3) Rosenfield, A. (1969). Oyster Diseases in North America and Some Methods for their Control. Proc. Conf. Artificial Progr. Comm. Valu. Shellfish. October 22-23, 67-78.
- 4) Takeuchi, T., Takeuchi, Y., and Natsubara, T. (1960). Haematological Study of Bacterial Affected Oysters. Rept. Hiroshima Prefect. Fish. Expt. Sta. 22, No. 1, 1-7.
- 5) Numachi, K., 1965. Studies on the Mass Mortality of the Oyster in Matsushima Bay. III. The Pathological Changes of the Oyster Caused by G(+) Bacteria and the Frequency of their Infection. Bull. Tohoku. Regional Fisheries. Res. Lab. 25, 39-48.
- 6) Guillard, R. R. L. (1959). Further Evidence of the Destruction of Bivalve Larvae by Bacteria. Biol. Bull. 117, 258-266.
- 7) Tubiash, H.S., Chanley, P.E., and Leifson, E. (1965). Bacillary Necrosis, a Disease of Larval and Juvenile Bivalve Mollusks. I. Etiology and Epizootiology. J. Bacteriol. 90, 1036-1044.
- 8) Brown, C. (1973). The Effects of Some Selected Bacteria on Embryos and Larvae of the American Oyster, *Crassostrea virginica*. J. Invertebr. Patho. 21, 215-223.
- 9) Harrigan, W. F., and McCance. Laboratory Methods in Microbiology. Academic Press, New York, 1966.
- 10) Brooker, D. C., Lund, M. E., and Blazevic, D. J. (1973). Rapid Test for Lysine Decarboxylase Activity in Enterobacteriaceae. Appl. Microbiol. 26, 622-623.

- 11) Fay, G.D., and Barry, A. L. (1972). Rapid Ornithine Decarboxylase Test for the Identification of Enterobacteriaceae. *Appl. Microbiol.* 23, 710-713.
- 12) Shotts, E.B., and Bullock, G. L. (1975). Bacterial Diseases of Fishes: Diagnostic Procedures for Gram-Negative Pathogens. *J. Fish. Res. Bd. Canada.* 32(8), 1244-1247.
- 13) Breed, R.S., Murray, E. G. D., and Smith, N. R. (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* 7th ed. Williams and Wilkinsons Co.,
- 14) Buchanan, R. E., and Gibbons, N.E. (1974). *Bergey's manual of Detdrminative Bacteriology.* 8th ed. Williams & Wilkinsons Co.,
- 15) Vanderzant, C., and Nickelson, R. (1972). Procedure for Isolation and enumeration of *Vibrio parahaemolyticus*. *Appl. Microbiol.* 23, 26-33.
- 16) Baross, J., and Liston, J. (1968). Isolation of *Vibrio paralacmolyticus* from the Northwest Pacific. *Nature (London)* 217, 1263-1264.
- 17) Baross, J., and Liston, J. (1970). Occurrence of *Vibrio parahacmolyticus* and Related Hemolytic Vibrioss in the Marine Environments of Washington State. *Appl. Microbiol.* 20, 179-186.
- 18) Kaneko, T., and Colwell, R. R. (1973). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *J. Bacteriol.* 113, 24-32.
- 19) Kaneko, T., and Colwell, R. R. (1974). Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* and Related organisms in the Altantic Ocean of South Carolina and Carolia. *Appl. Microbiol.* 28, 1009-1017.
- 20) Kaneko, and Colwell, R. R. (1975). Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *Appl. Microbiol.* 30, 251-257.
- 21) Krantz, G. E., Colwell, R. R., and Lovelace, E. (1969). *Vibrio parahaemolyticus* from the Blue Crab, *Callinectes sapidus*, in Chesapeake Bay. *Science* 164, 1286-1287.
- 22) Koburger, J. A., and Lazarus, C. R. (1974). Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from Salt Springs in Florida. *Appl. Microbiol.* 27, 435-436.
- 23) Vasconcelos, G. J., Stang, W. J., and Laidlaw, R. H. (1975). Isolation of *Vibrio parahemolyticis* and *Vibrio alginolyticus* from Estuarine Areas of Southeastern Alaska. *Appl. Microbiolo.* 29, 557-559.
- 24) Bartley, C. H., and Slanetz, L.W. (1971). Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in Estuarine Waters and Oysters of New Hampshire. *Appl. Microbiol.* 21, 965-966.
- 25) Earle, P. H., and Crisley, F. D. (1975). Isolation and Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from Cape Cod Soft-Shell Clams (*Myu arenaria*). *Appl. Microbiol.* 29, 635-640.
- 26) Udey, L. R., Young, E., and Sallman, B. (1977). Isolation and Characterization of an anaerobic bacterium, *Eubacterium tetrantellus* sp. nov., associated with striped Mullet (*Mugil cephalus*) motality in Biscayne Bay, Florida. *J. Fish. Res. Bd. Canada.* 34(3), 402-409.



# Sodium Sulfamonomethoxine 藥浴之鰻體內吸收情形

李明仁\* · 郭光雄\*\*

## Absorption of Sulfamonomethoxine by Eels in Medicated Bath

Min-Jin Lee\* and Guang-Hsiung Kou\*\*

### Abstract

Absorption and distribution of Sulfamonomethoxine were determined in eels bathed in Sodium Sulfamonomethoxine solutions. Factors affecting the absorption were examined.

The concentration of Sulfamonomethoxine was higher in the visceral organs than in blood, and the lowest in the muscles. The amount of Sulfamonomethoxine absorbed was increased 35%—51% when the temperature of the bath was elevated from 10°C to 35°C. There was a 11%—44% increase in absorption with the supplement of 1% NaCl to the medicated bath. Therapeutic concentrations of Sulfamonomethoxine in blood and tissues were maintained for more than four days after the fish were bathed in the concentration of 600 ppm at 25°C for three hours. Acetylation ratio of Sulfamonomethoxine in eels did not increase in proportion to the concentration of the drugs absorbed.

### 緒 言

本省水產養殖事業，特別是鰻魚，由於發展迅速，單位蓄養量年年增加，疾病的為害也日趨嚴重，損失頗鉅。為了控制及預防魚病，各種化學藥劑均被廣泛使用。而養殖業者使用藥物時，多半只依據藥商提供之資料或經驗，因此常常誤用藥物，甚至濫用藥物，造成抗藥性<sup>(1, 2)</sup>及藥物副作用之發生。水產藥品中，磺胺劑佔了很重要的地位，除了細菌性的感染症外，對於多種原蟲病也有治療的效果。本省養殖鰻界所使用的磺胺劑中又以 Sodium Sulfamonomethoxine 最常被養殖者採用，因而這種藥劑的正確使用也就成了吾人所關切的課題。

磺胺劑用於魚病的防治，但是到目前為止，有關之研究多限於經口投藥之實驗<sup>(7-20)</sup>，即磺胺劑混合於餌料中投給飼養之魚，探討魚之體內組織吸收濃度而已，對於魚體藥浴之研究資料則相當缺乏<sup>(20, 21)</sup>。可是每當魚罹病時，不管是寄生蟲、細菌或其他原因所引起的，病魚的食慾便大為減低，甚至不攝餌，此時以磺胺劑治療，除藥浴方法外，就是利用注射方法，但注射方法在操作上有種種困難，不切實際，藥浴方法在此種情況下便成為唯一切合實驗的方法。因此，藥浴時需採的藥劑濃度，藥浴時間，水溫及其他可以促進藥物吸收的因子，即成為實際工作時不可或缺的資料。另一方面，藥浴時，藥劑有效治療濃度之持久性，亦是吾人判斷該方法可行性之重要依據。本文即針對這二點，以鰻魚為材料，進行磺胺劑 Sodium Sulfamonomethoxine 藥浴，藥劑吸收及殘留情況之探討，俾使業者在用藥時，能有可靠而經濟的方法可循。

\* 東京大學農學部水產學科  
(Department of Fishery, University of Tokyo, Tokyo, Japan.)

\*\* 國立臺灣大學動物系  
(Department of Zoology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.)

## 材料與方法

### 一、鰻之藥浴

外觀健康的鰻魚購自養殖場，體重平均約為 100g。每 6 尾鰻為一組，以不同濃度之 Sodium Sulfamonomethoxine (SMM-Na) 之水溶液藥浴，其濃度分別為 100, 200, 300, 600 ppm。又、分添加 1% NaCl 及不添加兩種方式進行實驗。除 600 ppm 藥浴組進行 10°C 與 25°C 實驗外，各組均在 25°C 下進行。藥浴後，每隔 1, 3, 6, 12, 24, 48 小時分別取出 1 尾，測定組織中 SMM 之濃度，以決定鰻對 SMM-Na 吸收之情形。另取鰻 10 尾於 25°C 及 SMM-Na 600 ppm 下藥浴 48 小時後，取出置於流水式清水槽中，每隔 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 小時各取 1 尾，測定體內 SMM 之含量，以觀察藥物殘留之情形（每組實驗進行 10 次）。

### 二、血液及組織抽出液：

藥浴後之鰻魚於適當時間取出，以 2.5% Urethane 麻醉 10 分鐘，解剖後，從動脈球抽取全血 1 ml，以蒸餾水 7 ml 稀釋後，加入 15% Trichloroacetic acid (TCA) 2 ml，振盪混勻，離心 (10,000 rpm, 0°C) 30 分鐘，取其上清液測 SMM 之濃度。同時取出肝、脾、腎及背鰭基部肌肉，分別稱重並加水 5 至 20 倍，以均質機打碎，取打碎液 1 ml，以蒸餾水 7 ml 稀釋，再加入 2 ml 之 15% TCA，離心後，並以東洋 No. 2 試紙過濾上清抽出液，測 SMM 之濃度。

### 三、SMM 之定量分析：

SMM 之測定方法為 Modified Bratton & Marshall method<sup>(22, 23)</sup> 的改良法。

1) SMM 總量之測定：取血液或組織抽出液 3 ml，先加入 0.35 ml 之 4N HCl，於 92°C-95°C 中水浴 30 分鐘，冷卻後加 4N HCl 0.35 ml 混勻，再加入 0.3 ml 之 0.1% Sodium Nitrite，放置 3 分鐘，加 0.5% Ammonium Sulfamate 0.3 ml，經 2 分鐘後，加入 0.1% 津田試驗液 0.3 ml，均勻混合後，在 5 至 30 分鐘內，測其在波長 550m $\mu$  之吸光度，並換算為磺胺劑之濃度（單位為 mg/dl）。

2) 游離型 SMM 之測定：除最初二個步驟（0.35 ml 之 4N HCl 和 92°C-95°C 之熱水浴）省略外，其餘步驟與上述測總量時相同。

3) 乙酰化比 (Acetylation ratio) 之計算：

$$\text{Acetylation ratio} = \frac{\text{組織中磺胺劑總量} - \text{組織中游離型濃度}}{\text{組織中磺胺劑總量}} \times 100\%$$

## 結 果

### 一、藥物之吸收：

由 Table 1 可以明顯看出各組織對各濃度藥浴之吸收，脾臟最高，肌肉最低，內臟高於血液，

Table 1. Concentrations of free type Sulfamonomethoxine (SMM) in eels at 25°C after 12 hrs bath.

Conc. of SMM-Na (ppm)	Concentration of free type SMM, mg/dl				
	Blood	Liver	Spleen	Kidney	Muscle
100	3.66	4.56	6.59	6.18	2.05
200	4.02	6.77	13.10	8.15	2.13
300	4.79	13.03	20.76	12.32	2.79
600	19.56	32.33	41.06	16.12	11.71

血液高於肌肉。內臟方面除脾臟外，在 100 及 200 ppm 下，腎臟高於肝臟，但在 300 及 600 ppm 下，則相反。各組織的吸收變為一曲線，隨著時間的增長，進入魚體的藥量隨著增加 (Fig. 1)，但血液及組織中藥量達一濃度時，吸收即趨於緩和。若以藥浴時間相同，藥浴濃度不同看來，100, 200 和 300 ppm 藥浴，血液及組織之吸收量呈線性增加的趨勢，即血中及組織中藥劑濃度幾乎依一定的比例，隨著藥浴濃度增加而增大，600 ppm 下，其吸收量增加的幅度更加明顯 (Fig. 1)。

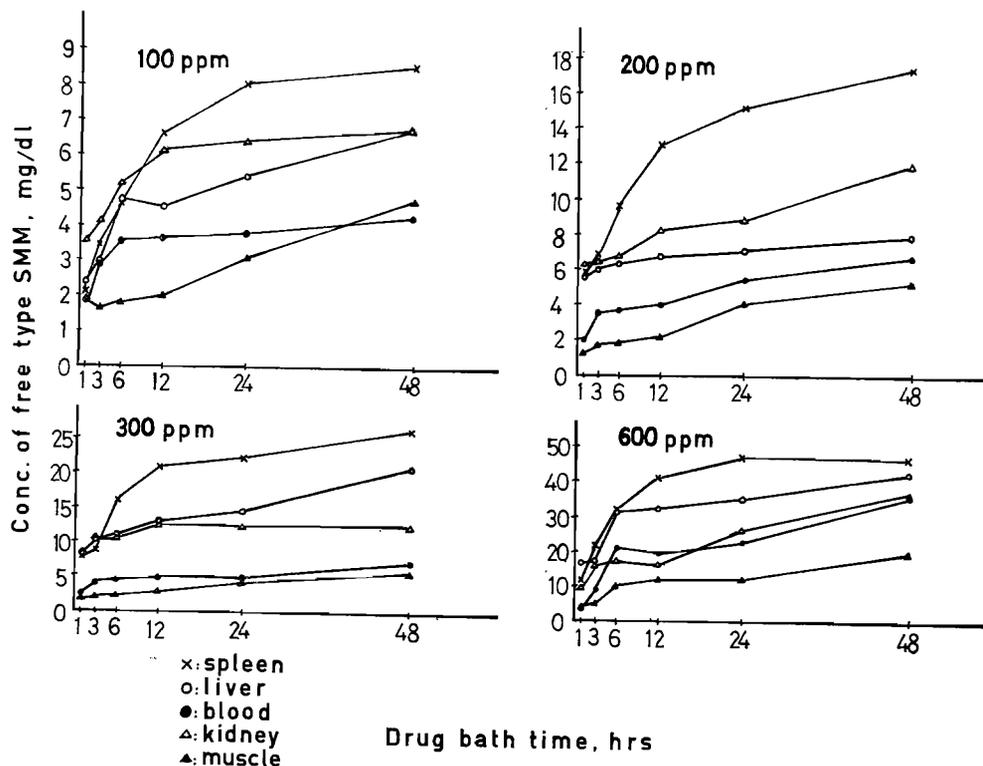


Fig. 1. Absorption of Sulfamonomethoxine (SMM) in blood and organs of eels bathed in different concentrations of Sodium Sulfamonomethoxine solutions at 25°C.

## 二、添加食鹽對藥物吸收的影響：

由 Table 2 可以看出，食鹽對藥物吸收的影響頗大，增加幅度在 10% 至 40% 之間，其中以 200 ppm 及 300 ppm 藥浴組的影響比較明顯。

Table 2. Increment of systemic Sodium Sulfamonomethoxine (SMM-Na) in eels by adding 1% NaCl to drug bath which lasted for 48 hrs at 25°C. These were mean value of 6 trials

Conc. of SMM-Na in water bath (ppm)	Increment, %				
	Blood	Liver	Spleen	Kidney	Muscle
100	11.82	17.35	19.95	15.11	14.59
200	13.68	44.19	10.97	38.19	26.22
300	25.83	10.66	24.44	31.20	25.90
600	24.12	14.58	14.90	11.93	19.64

$$\text{Increment (\%)} = \frac{\text{Conc. of SMM-Na with NaCl} - \text{Conc. of SMM-Na without NaCl}}{\text{Conc. of SMM-Na with NaCl}}$$

三、水溫對藥物吸收的影響：

藥浴水溫對藥物吸收的影響，如 Fig. 2 所示，25°C 時各組織的吸收量比 10°C 時的吸收量高出許多，增幅平均為 21.83%—48.02%。當藥浴 48 小時後，10°C 下各組織濃度僅為 25°C 下之 34.25%—50.84%。其中肌肉受水溫變化的影響最大，肝臟最小。

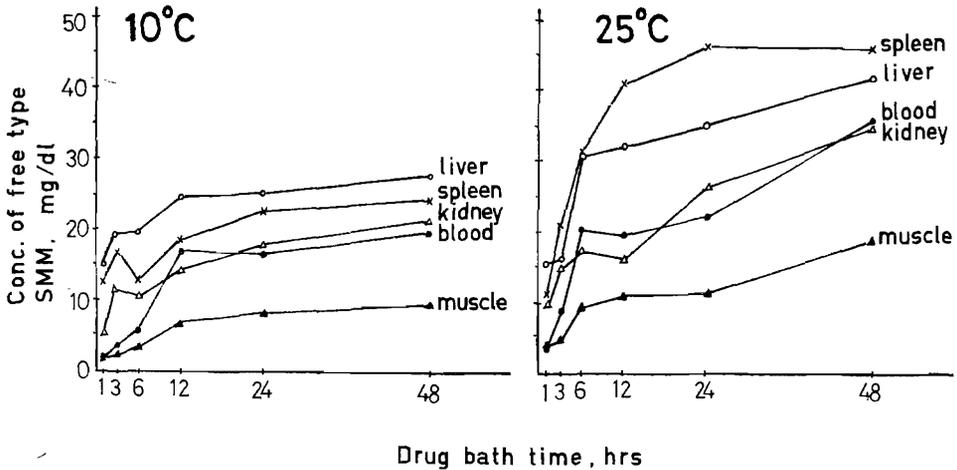


Fig. 2. The effects of temperature on the absorption of Sulfamonomethoxine (SMM) in eels treated with 600 ppm SMM-Na bath

四、SMM在各組織中之殘留：

25°C 600 ppm SMM-Na 藥浴 48 小時後，將魚移至清水，隔一段時間，取出鰻魚，測組織及血中之含藥濃度之結果如 Table 3 所示。除血液外，各臟器及肌肉之含藥量，在魚體移入清水後，仍繼續升高。至 6 小時後，才開始下降。至 48 小時時，藥物濃度均已降至 1 小時之 60% 左右。至 144 小時，各組織已將大部分藥物排除，殘存於脾臟與血液中之藥物均已降至 10% 以下。此時，殘存於各臟器之 SMM 之總量(包括游離型與乙酰化型)分別為：血液 3.99 mg/dl，肝臟 13.05 mg/dl、脾臟 6.28 mg/dl、腎臟 10.73 mg/dl 和肌肉 1.84 mg/dl。

Table 3. The depletion of Sulfamonomethoxine (SMM) by eels after 600 ppm drug bath for 48 hrs at 25°C

Time after water bath (hrs)	Percentage of drug retention				
	Blood	Liver	Spleen	Kidney	Muscle
1	100.0 (33.83)*	100.0 (35.20)	100.0 (39.72)	100.0 (46.65)	100.0 (18.60)
3	95.7	125.6	120.2	109.7	101.7
6	95.9	136.4	107.3	112.2	84.8
12	88.5	69.3	96.0	113.7	78.9
24	75.8	80.6	83.2	106.0	62.9
48	65.4	62.2	67.0	69.4	57.1
72	19.6	56.3	55.3	40.2	49.9
96	18.5	43.5	29.7	19.1	33.5
120	11.6	28.1	11.3	16.6	19.2
144	11.0	26.5	8.6	10.3	18.3

\* The concentration of free type SMM. Unit: mg/dl

### 五、磺胺劑 SMM 之乙酰化：

各組織中 SMM 乙酰化比 (Acetylation ratio) 隨著藥浴濃度之增加而減少 (Table 4)。尤其以 600 ppm 藥浴時，乙酰化比值最低，磺胺劑幾乎均以游離狀態存在。

Table 4. Systemic acetylation ratio of Sulfamonomethoxine(SMM) in eels through drug bath for 12 hrs at 25°C

Conc. of SMM-Na in water bath (ppm)	Acetylation ratio*, %				
	Blood	Liver	Spleen	Kidney	Muscle
100	32.12	25.30	11.13	20.26	41.87
200	27.21	25.33	10.72	15.86	34.15
300	22.33	28.74	9.94	17.12	33.76
600	7.65	2.51	3.24	4.41	2.51

$$* \text{ Acetylation ratio} = \frac{\text{Total conc. of SMM-Na} - \text{Conc. of free type SMM-Na}}{\text{Total conc. of SMM-Na}}$$

## 討 論

藥浴之藥劑濃度為 0-100 ppm 間，各組織之吸收率之增幅較 100-300 ppm 間者較大，而 300-600 ppm 間之吸收率增幅與 0-100 ppm 間者相近，此在血液及肌肉中較為明顯。由此結果可以推測鰻魚在外界 SMM-Na 300 ppm 以內，魚體本身有控制 SMM-Na 進入體內的能力，而外界之 SMM-Na 達 600 ppm 之時，魚體控制不住 SMM-Na 之進入魚體內。由上述的結果，可知 100-300 ppm 間藥劑吸收率幾乎無差異。因此進行鰻魚之 SMM-Na 之藥浴治療時，在效果上而言，100 ppm 與 300 ppm 藥浴是相同的，但在經濟上而言，則 100 ppm 比 300 ppm 藥浴要來得經濟。

水溫對藥劑之影響甚大，因為魚是變溫動物，溫度的升高或降低可直接影響到魚體本身代謝速率之增高或減低，間接地影響到對藥物的吸收，這個問題在經口投藥實驗明顯地被指證出。井上<sup>(20)</sup>以 yellowtail 二年魚，進行 Sulfamonomethoxine 經口投藥實驗時，水溫分為 25°C，20°C，15°C 三組，結果 15°C 組之血中濃度約為 25°C 組之一半。而本研究之藥浴實驗亦有此現象，10°C 組之血液及各組織中含藥的濃度為 25°C 組的 21.38%—48.02%。因此可以推論，不拘藥浴或經口投藥，魚對藥的吸收情況與本身代謝速率有密切的關係。

關於磺胺劑有效之治療濃度，傍士<sup>(5)</sup>指出血中有效濃度為 5 mg/dl，但 Snieszko<sup>(6)</sup>主張為 7 mg/dl，又，井上<sup>(20)</sup>提出組織中有效濃度為血中濃度之二分之一。由本實驗的結果可以看出在 25°C 600 ppm 藥浴，需 3 小時血中濃度才能達到 8.8 mg/dl，25°C 300 ppm 藥浴需 48 小時，才能達到 7.3 mg/dl，在更低的藥浴濃度時，血中濃度即不易達到有效的治療濃度。但若依井上所提出的理論，則藥浴時，各組織在低藥劑濃度下，短時間內即可達到有效治療濃度。此種差異可能因所使用之材料為虹鱖與鰻之不同的關係，有關此問題需進一步的究明。

井上<sup>(20)</sup>以虹鱖為對象進行 SMM-Na 之藥浴實驗，分海水藥浴及淡水藥浴兩組，結果顯示，海水藥浴時虹鱖各組織對 SMM-Na 之吸收約為淡水藥浴時之二倍，同時以 Sodium Sulfadimethoxine (SDM-Na) 分兩組藥浴亦有同樣明顯的差異。依本研究之結果，可觀察出鰻魚體內各組織的吸收值，在加 1% NaCl 時比不加 NaCl 時增加 10.66%—44.19%，換言之，鹽水藥浴可以促使魚體在較短的時間內即吸收了有效治療濃度的藥劑。因此在進行藥浴治療時，魚若屬於廣鹽性魚類，如鰻魚、鱒魚、香魚或烏魚等之藥浴治療時，應採用海水藥浴，或加食鹽以求魚對藥物吸收率之增加。應用 SMM-Na 藥浴時，可按照情況不同，而採取不同條件之藥浴，例如水溫與鹽度之狀況外，可以

採取低濃度藥劑做較長時間的藥浴或者高濃度藥劑做較短時間之藥浴，如井上<sup>(20)</sup>在進行香魚或虹鱒之幼魚的藥浴治療，即採高濃度，較短時間者（1% SMM-Na 10分鐘或20分鐘），但一般養魚池之用藥，宜採取低濃度較長時間，若是病情較嚴重，爲了爭取時效，則高濃度短時間，比較具有時效性。

藥劑殘留實驗的結果，指出鰻魚在25°C, 600 ppm時藥浴48小時移入清水中，到96小時(4天)還保持治療所需的濃度（血液爲6.28 mg/dl），因此一般魚池在連續使用本劑做防治時，應注意使用的濃度，以及連續使用藥的間隔時間之關係，以免藥劑超量進入體內，造成魚體藥物中毒。雖然本劑之毒性比其他的磺胺劑低<sup>(5)</sup>，但多量進入魚體內仍然會傷害魚體而造成意外的損失。至於藥浴濃度與連續使用之間隔的關係，有待將來做進一步研究的必要。又鰻魚被移入清水後，在6小時內，腎臟、肝臟、脾臟中之SMM量，呈增加的現象，在6小時後才顯出減少，不過血液及肌肉却無此現象，這可能是鰻魚被移入清水後，由於血液無SMM之進入，所以血液中藥的濃度開始下降，但存於血液中之SMM仍被繼續輸送到各組織，而被分離各組織之SMM量比由血液進入者爲低，所以組織中之SMM濃度才繼續增加，但經過6小時後，血液中之SMM濃度已降至某一程度，此時被分離至各組織之SMM量已大於血液進入的藥量，因此各組織之濃度才開始下降，至於肌肉一開始即下降，可能是一部份清水經由體表，進入體內而沖淡了藥量呈下降之趨勢。

磺胺劑之乙醯化(Acetylation)依藥浴濃度之增加而減低的事實，說明了SMM進入魚體內與體內蛋白質結合，發生乙醯化的速率是一定的。當進入魚體之藥劑連續增加時，乙醯化比(Acetylation ratio)即因游離型藥劑增加，乙醯化速率不變而漸漸降低。傍士<sup>(22)</sup>指出乙醯化之磺胺劑不具制菌作用，從實驗結果可以推測高濃度藥浴可在短時間達成有效治療濃度，減少被乙醯化的比率，這點在使用藥浴時亦應詳加考慮。

## 謝 辭

本研究得中國農村復興委員會之支持始得完成，又臺灣大學動物系系主任黃仲嘉教授，獸醫系副教授劉朝鑫先生之繕改，臺北市林大成貿易公司總經理李飛鶴先生之提供藥品及文獻，臺大魚病研究室同仁之鼓勵，得以順利完成，特此深致衷心之謝意。

## 參 考 文 獻

- 1) 青木宙、江草周三、渡邊力 (1972). 水産養殖における藥劑耐性とR因子，日細誌，27，762—767.
- 2) 青木宙、渡邊力 (1973). ウナギの養殖池水および腸管より分離された藥劑耐性菌の研究，日水誌，39 (2)，121—130.
- 3) 窪田三朗、田中二良、原武史 (1967). 魚類の細菌性疾病，4. 病害除，日水誌，34 (3)，353—362.
- 4) 窪田三朗、小島清一、石田昭夫 (1970). サルファ劑の副作用，魚病研究，4 (2)，98—101.
- 5) 傍士和彦 (1971). 獸醫畜産家のためのサルファ劑の基礎知識，社團法人日本動物藥事協會シリーズ5.
- 6) 吉田文三、今井重之、井上進一 (1966). サルファ劑魚體內濃度に關する研究—I，サルファ劑水溶液中で金魚體內への吸收およびその毒性について，日水誌，32 (7)，573—578.
- 7) Gutsell, J. S., and S. F. Snieszko (1949). Dorsage of Sulfamerazine in the Treatment of Furunculosis in Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). Trans. Am. Fish. Soc., 76, 82-96.

- 8) Snieszko, S. F., and S. B. Friddle (1949). Prophylaxis of Furunculosis in Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) by Oral Immunization and Sulfamerazine. *Prog. Fish-Cult.*, 11(3), 101-168.
- 9) Snieszko, S. F., and S. B. Friddle (1951). Tissue Levels of Various Sulfonamides in Trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 80, 240-250.
- 10) Snieszko, S. F., and S. B. Friddle (1952). Further Studies on Factor Determining Tissue Levels and Sulfamerazine in Trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 81, 101-110.
- 11) 保科利一、國峯一聲、高橋猛 (1957). ニジマス の ビブリオ菌 の 被害 防除 に 関する 研究 予報 , 日水誌 , 23(5) , 241—244 。
- 12) 保科利一 (1958). ニジマス に サルアジン を 経口 投與 した 時 の 組織 内 濃度 に ついて , 日水誌 , 24(2) 。
- 13) 保科利一 (1959). ウナギ に サルファ剤 を 與えた 時 の 組織 内 濃度 に ついて , 日水誌 , 24(11) , 881—884 。
- 14) 保科利一 (1962). ウナギ の 鰭 赤病 に 関する 研究 , 東京水産大學特別研究報告 , 1—105 。
- 15) 原武史、井上進一、今井重之、吉田文三 (1966). サルファ剤 を 連続 投與 した 時 の ニジマス 組織 内 濃度 に ついて , 魚病研究 , 1 (1) , 10—14 。
- 16) 原武史、井上進一 (1967). スルファモノメトキシンをニジマス経口投與した時の組織内濃度の維持投薬量について , 魚病研究 , 1 (2) , 35—40 。
- 17) 原武史、井上進一 (1967). 各種サルファ剤をニジマスに経口投與した時の組織内濃度について , 日水誌 , 33 (7) , 618—623 。
- 18) 原武史、井上進一、齋藤實 (1967). サルファ剤のナトリウム鹽をニジマスに経口投與した時の組織内濃度について , 日水誌 , 33 (7) , 624—627 。
- 19) 原武史、井上進一 (1969). スルファモノメトキシンをニジマスに経口投與した時の血液中の分布について , 魚病研究 , 3 (2) , 9—13 。
- 20) 井上進一 (1971) (1972). 魚と薬 , 養殖8(7)—8(13) , 9(2)に連載 。
- 21) 大上皓久 (1969). 海産稚アユのビブリオ病に對するスルファモノメトキシソ薬浴の效果。魚病研究 , 3 (2) , 9—13 。
- 22) Bratton, A. C. and E. K. Marshall (1939). A New Coupling Component for Sulfanilamide Determination. *J. Biol. Chem.*, 128, 537-550.
- 23) 津田添介、松永勢實 (1942). I—(B-Diethylamino-ethylamino)-Naphthalin に由るスルファミン其他芳香族第一級アミノ化合物の定量 (有機微量分析に關する知見 , 第十一報) , 藥學雜誌 , 62 , 362—364 。



# 文蛤寄生蟲 *Tylocephalum* 之球形幼虫之研究

羅竹芳\* · 王重雄\* · 扈伯爾\*

The Coracidium of The Cestode *Tylocephalum* in Hard Clam,  
*Meretrix lusoring*

Chu-Fang Lo\* · Chung-Hsung Wang\* · Rev. F. Huber\*

## Abstract

Specimens of the hard clam *Meretrix lusoring* collected from clam cultural fields of Changhua were found to harbor larval cestodes. Each infected clam contained 1-20 cysts. The parasite was identified as coracidium of the lecanicephaloid cestode *Tylocephalum*. The majority of coracidia in clams was found encapsulated by a fibrous cyst wall. The cyst wall was comprised of the innermost layer of fibroblastlike cells, the inner layer of dense eosinophilic fibers and the outer layer of loose eosinophilic fibers intermingled with leukocytes. A detailed study of histological sections of these parasites in *Meretrix lusoring* has revealed that their primary sites of infection are in the regions of the intertubular tissue of the digestive gland and the loose connective tissue between the digestive tract and the digestive gland.

The possible routes of infection of *Tylocephalum* in *M. lusoring* may be through the digestive tract or by direct penetration from the exterior.

The economic and public health importance of *Tylocephalum* has been discussed in this paper.

## 緒 言

1976年於檢視臺灣地區文蛤是否有微小病原體感染時，發現部分發育不良之文蛤消化腺有許多白點，直徑大約0.5~1 mm。將此有病變之貝體經顯微鏡術處理後發現，該文蛤感染一種很小具纖毛之病原體。這些病原體被纖維質囊鞘所包圍，因此在寄生部位可見有白色隆起。當時由組織切片無法確定它的分類地位。1977年12月自鹿港採亦屬生長遲緩之文蛤33隻，經檢視此文蛤白點發生率為100%。由此次鹿港文蛤中採到許多活的白點病原體，經鑑定為條蟲(Cestode) *Tylocephalum* 屬之球形幼蟲(Coracidium)。此幼蟲體表被纖毛，且其前部具特殊可伸縮之吸附器官(Myzorhynchus)，因此極易識別<sup>(1,2)</sup>。

過去曾有多篇有關貝及蝦類受條蟲幼蟲感染之報導<sup>(2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9)</sup>。Spark (1963)，Cheng (1966)及Rifkin和Cheng (1968)，曾報導美國夏威夷珍珠港之美國牡蠣(*Crassostrea virginia*)感染*Tylocephalum*之情形<sup>(2, 3, 4)</sup>。又Cheng和Rifkin (1968)在日本小頸貝(*Tapes semidecu-*

\* 輔仁大學生物學系 (Department of Biology, Fu-Jen Catholic University)

ssata) 亦發現 *Tylocephalum* 之寄生<sup>(5)</sup>。Rosenfield (1969) 在其有關牡蠣現有疾病之報導中提及美國東部沿岸，墨西哥灣沿岸及夏威夷等水溫較高地區之牡蠣以及自日本及臺灣進口之太平洋牡蠣 (Pacific Oyster) 都有 *Tylocephalum* 之寄生<sup>(6)</sup>。因此 *Tylocephalum* 寄生在貝類體內是相當普遍。

本篇報導除描述寄生於文蛤體內之 *Tylocephalum* 之新鮮蟲體外，並應用組織學方法研究蟲體之構造，寄主之反應，及其主要寄生之部位及可能之感染途徑。

### 材料及方法

文蛤 (*Meretrix lusoring*) 採自線西，新竹養殖場 (數目未計)，及鹿港文蛤養殖場33枚，帶回實驗室後，依目的之不同做如下之處理：

#### 甲、新鮮蟲體之構造觀察：

將文蛤之閉殼肌切斷，置貝體於解剖顯微鏡下，取出白點放於玻片上，加一滴生理食鹽水 (0.75% Nacl)，以探針撕開其纖維囊鞘，加上蓋玻片，再以複合光學顯微鏡觀察。

#### 乙、蟲體之組織構造及寄主反應之觀察：

將感染之文蛤以 Zenker 氏固定液固定後，經脫水，包埋及切成  $5\mu$  厚度之連續切片，並以下列三種染色法染色，以觀察蟲體及寄主之組織構造。

(1)蘇木紫—伊紅 (Haematoxylin-Eosin, 簡寫為 H-E 染色法)複染法，用以觀察一般組織構造。

(2)過碘酸，錫佛—不褪綠 (Periodic Acid-Schiff-Fast green stain, 簡寫為 P A S 染色法)特殊染色法，以觀察多醣類及醣蛋白之分佈。

(3)馬樂禮三染法 (Mallory trichrome stain 簡寫為 Mallory 染色法)，用以觀察結締組織之分佈與變化。染色片以複合光學顯微鏡觀察並攝影。

### 觀察與討論

#### 甲、新鮮蟲體之構造：

蟲體約為 0.2 毫米長，0.14 毫米寬。其前端有一凹陷約佔身體前端三分之一之位置，在此凹陷之中央具有一可突出之伸縮性構造。Cheng (1966) 稱此構造為吸附器 (Myzorhynchus)，蟲體全身被有濃密纖毛，運動時除纖毛擺動外，蟲體之形狀亦隨運動而有所改變 (圖 1 a, b, c)。球形幼蟲並無任何鈎狀構造。中實組織 (Parenchyma) 充滿空泡狀構造約佔身體後部之三分之二位置。

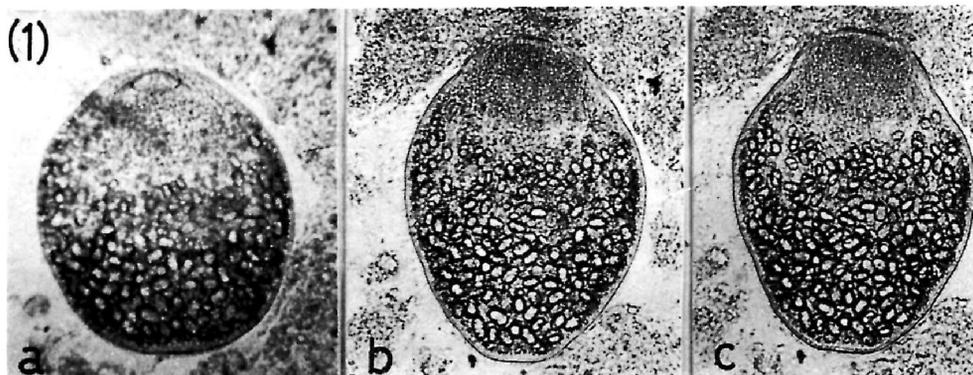


Fig. 1. a, b, c. Photographs of one living larval *Tylocephalum* teased from a cyst, showing its changing body shape while moving. (200X)

乙、組織學之研究：

(1) 寄生之部位：

由文蛤之整體切片，發現文蛤體內之 *Tylocephalum* 的球形幼蟲 (Coracidium) 多被厚薄不定之纖維囊鞘 (Fibrous Capsule) 包圍而形成囊胞狀 (Cyst)。球形幼蟲在文蛤體內寄生部位極廣。由切片可清楚地顯示出，此蟲體不但侵襲蛤類之消化腺管間組織，並且在消化道與消化腺之間的疏鬆結締組織亦時可發現囊胞 (圖2, 3)。Cheng 和 RifKin (1968) 曾報導 *Tylocephalum* 侵襲日本小頸貝 *Tapes semidecussata* 之主要位置是在消化道周圍，而甚少在消化腺管間組織。但在本實驗室內所發現寄生文蛤之 *Tylocephalum* 的球形幼蟲絕大部份發生於消化腺管間組織中。一隻文蛤可發現球形幼蟲寄生數目為 1 至 20 隻。

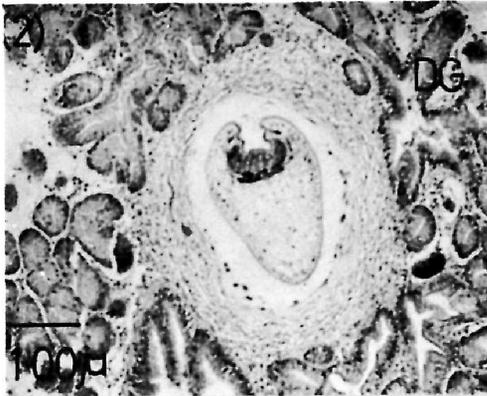


Fig. 2. A coracidium of *Tylocephalum* encapsulated in the intertubular space of the digestive gland (DG).

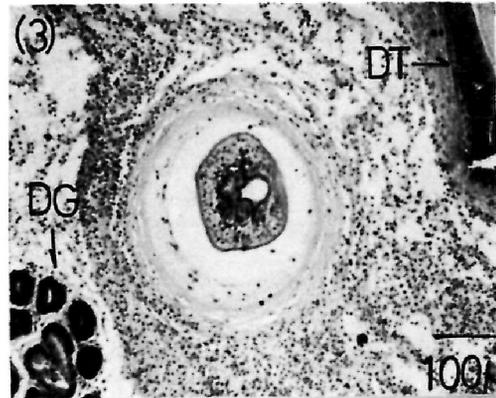


Fig. 3. A coracidium of *Tylocephalum* encapsulated in the loose connective tissue between the digestive gland (DG) and digestive tract (DT).

(2) 蟲體之構造：

蟲體之體表為單層之合體細胞 (Syncytial Cell) 所組成，細胞層約為 20 $\mu$  高，細胞質有嗜酸性之顆粒，經 Mallory 染色法染色呈藍色，對 PAS 染色法為負反應。細胞質內有許多空泡，圓形細胞核排列在合體細胞層之中央部分 (圖4, 5)。體表覆蓋無數等長纖毛，唯吸附器無纖毛之分佈。圖

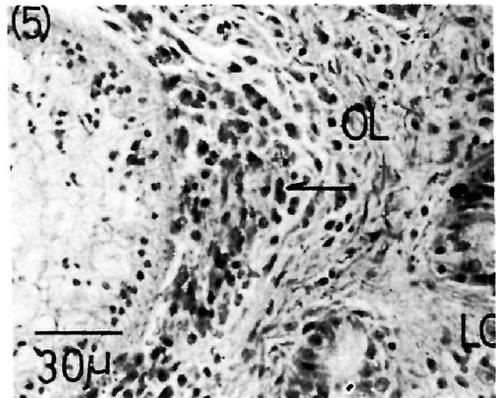
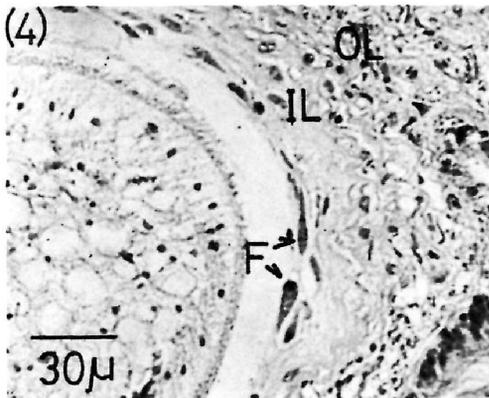


Fig. 4. Photograph showing the structure of a cyst.

OL: outer layer of fibrous cyst which is comprised of rough and irregular fibers.

IL: inner layer of fibrous cyst which is comprised of homogenous fibers.

F: fibroblastlike cells with a spindle-shaped nucleus in the innermost layer of the cyst.

Fig. 5. Photograph showing the early stage of the cyst formation. There are many fibroblastlike cells (arrow) accumulated near the parasite.  
LC: Leydig cells.

6 為球形蟲體之縱切面，在其身體前端有一U形凹陷，部分切片中還可發現在U形凹陷之兩側中央部分有向體內形成褶皺 (Folds) 的現象。根據橫切面之觀察，共有 8 個向內之褶皺，並圍繞U形凹陷成一星形構造，每一褶皺靠體內之頂端左右各有牽引肌肉 (Retractor m.) 分佈，圖7為一稍斜橫切面，只見 5 個褶皺，然而自連續切片之觀察可以確定該區橫切面應有 8 個褶皺，並在每個褶皺可見有輻射狀構造之肌肉排列。因此由上述構造，可推測當牽引肌肉收縮時U形底部當可推出而形成吸附器 (圖1a 和圖6)。緊臨凹陷之靠體內側周圍有大型肌肉細胞成輻射狀分佈，其中間雜著一些腺體細胞 (Gland Cell)。這些腺體細胞之細胞質有嗜鹼性顆粒分布，對 PAS 染色法為負反應，而 Mallory 染色法染成深藍色，因此其分泌物極可能為蛋白質之物質。

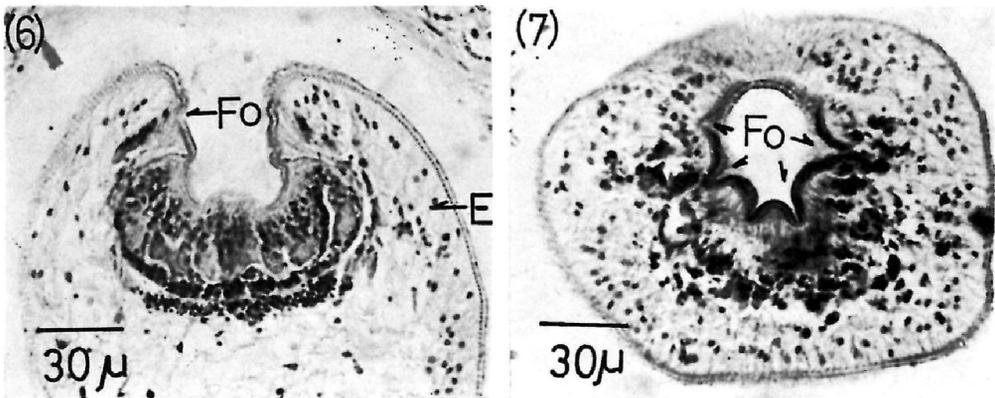


Fig. 6. Photograph of a longitudinal section of anterior end of coracidium showing two folds at the middle region of anterior invagination. Bundle of retractor muscles are attached to each fold.

E: Syncytial epidermal cell  
FO: Fold

Fig. 7. Photograph of oblique cross section at the middle region of anterior invagination showing 5 folds in this region.

中實組織 (Parenchyme) 在新鮮材料中顯示出許多空泡之構造 (圖1a, 1b, 1c)，該構造在 H-E 染色法和 Mallory 染色法仍為空泡，而 PAS 染色法則其外圍為強正反應。空泡之間即空泡之邊緣處有核之構造，極似高等動物之脂肪細胞。目前無法確知該構造為細胞或非細胞，但該構造確是此蟲體之極重要特徵<sup>(1, 9, 10)</sup>。中實組織內亦有一些燒杯狀之腺體細胞 (Flask shape gland cells)，不規則地分佈，數目並不多。

### (3) 包圍蟲體之纖維囊鞘之組織構造：

囊胞 (Cyst) 直徑為 0.3 到 0.6 毫米，纖維囊鞘之厚度約為  $50\mu$  到  $70\mu$  厚，可以分成三層。外層 (Outer layer of cyst) 為稀疏不規則之嗜伊紅性 (Eosinophilic) 纖維所構成，其中有許多空泡，粗顆粒嗜伊紅性白血球及細顆粒嗜伊紅性白血球充斥其間。除此外尚可見一些細胞質少細胞核緻密之淋巴球。囊胞一般位於消化腺或消化道之基膜附近，在此區中與囊胞所接觸之寄生組織有大量粗、細顆粒嗜伊紅性白血球聚集，且其周圍之組織亦時有壞死之現象。內層纖維質囊鞘較薄，嗜伊紅性纖維排列規則且緊密而呈均質狀，此層細胞較少，較常見的為具梭狀核之似纖維母細胞 (Fibroblast like cell)，偶而也可見一些粗、細顆粒之嗜伊紅白血球侵入此層。纖維囊鞘之最內層，亦即靠蟲體之一面，圍繞著一至數層細顆粒嗜伊紅性之大細胞，與細顆粒之嗜伊紅性白血球相似，但是否相關則尚無法

確定。此大型細胞有分裂之現象，有時形成多核細胞，細胞核之形狀不定由圓形至梭狀，依細胞質延伸之程度而定，細胞質延伸愈長則其核亦較接近梭狀，細胞質延伸時還可形成許多分枝（圖4）與 Cheng (1966), Cheng 和 Rifkin (1968) 及 Rifkin 和 Cheng (1968) 所發表之梭狀核纖維母細胞極相似<sup>(3, 4, 5)</sup>。如圖知5可見許多與似纖維母細胞染色性質相同的細顆粒嗜伊紅白血球聚集，則可能將形成囊胞之情形，亦即該細胞可能為形成纖維母細胞之前期細胞。

#### (4) 感染之途徑及對文蛤和人類之影響

根據 Cheng (1966) 觀察被 *Tylocephalum* 之球形幼蟲所寄生之牡蠣 (*C. virginica*) 時認為此蟲感染途徑有二：一為經消化道而後穿過此消化道壁而達寄生之部位。另為其可穿透 *C. virginica* 之鰓上皮胞而寄生於鰓<sup>(3)</sup>。Cheng 和 Rifkin (1968) 發現日本小頸貝 (*T. semidecussata*) 之感染途徑與上述不同，是經由外套腔而後直接穿入體內而達消化腺之位置<sup>(5)</sup>。*Tylocephalum* 對文蛤之感染途徑似乎不經由鰓，因截至目前為止並未見文蛤鰓部有任何感染現象，其感染之可能途徑極可能是經由口至胃、腸道，穿過腸壁、胃壁上皮細胞，而後遷移至消化腺與消化道之間的疏鬆結締組織中，消化腺之間組織或緊臨消化腺之管壁位置。它亦可能由入水管 (Incurrent siphon) 而進入文蛤外套腔 (Mantle cavity)，然後直接穿入體內而達上述寄生部位。這兩種感染途徑可能同時發生。但無論何種感染方式，對文蛤皆有不良之影響，況且球形幼蟲進入體內尚需遷移一段路程才達其寄生之部位，因此在其穿越腸壁，體壁及其他組織時會造成文蛤體內之傷害，再則其在文蛤內寄生之部位佔據極大之空間而對組織產生壓迫及破壞，終而造成文蛤生長遲緩。因此被寄生之文蛤皆發育不良，體輕肉薄。大多被寄生嚴重之貝體有遷移至砂面的情況。Spark 和 Chew (1966) 亦發現被條蟲 *Echeneibothrium* sp. 寄生之蛤類亦有相同的情形<sup>(7)</sup>。因此使這些被寄生之貝，易被掠食者如鯊，鱸及其他肉食性魚類所捕食而完成其生活史。至於其防治法，唯有時常除去砂面之文蛤亦或防止掠食性魚類侵入，即可打斷條蟲之生活史而達防治之目的。

Cheng (1968) 報導寄生日本小頸貝 *T. semidecussata* 之 *Tylocephalum* 的囊胞，常被很厚的白血球細胞層所包圍，並漸將此蟲體消化吸收，而牡蠣體內較少見此現象，所以認為 *T. semidecussata* 並非 *Tylocephalum* 之適當寄主<sup>(5)</sup>。在本實驗中，被寄生之文蛤內 *Tylocephalum* 球形幼蟲並未見有大量白血球細胞層包圍囊胞，更未見蟲體有被吸收消化之現象，而且無論囊胞外之纖維囊鞘多厚，其內蟲體甚為健康，沒有被分解之現象。*Tylocephalum* 屬於 *Lecanicephaloidea* 目，該目之各種類截至目前為止確定是寄生於板鰓類之腸道和其螺旋瓣中<sup>(2)</sup>，因此對人健康之觀點而言，此種條蟲之幼蟲似乎對人體無害。

### 摘 要

檢視彰化地區文蛤養殖場之文蛤嚴重地受條蟲 *Tylocephalum* 之球形幼蟲 (Coracidium) 所感染。被感染之文蛤體內可發現 1 至 20 隻蟲體。幾乎每一蟲體都被纖維質囊鞘所包圍，而形成囊胞。

纖維質囊鞘之組織構造可分成三層：最內層為似纖維母細胞，內層為排列整齊之緻密嗜伊紅纖維，而外層則為疏鬆嗜伊紅纖維所構成。纖維之間常有一些白血球分佈。

由組織切片觀察 *Tylocephalum* 之球形幼蟲主要寄生於文蛤之消化腺管間組織以及介於消化道和消化腺之間的疏鬆結締組織中。

至於感染之途徑可能經由消化道感染亦或直接由外套腔穿透體壁而達感染之部位。

文中亦討論 *Tylocephalum* 之球形幼蟲對文蛤生長之影響以及對人體健康之關係。

### 謝 辭

本篇實驗承農復會漁業組之資助得以完成，標本之採集承彰化區漁會黃清賢總幹事，線伸漁會陳漢欽主任和行政院國軍退除役官兵輔導會彰化魚殖管處分場徐朝倫主任和劉文御先生之鼎力協助，謹此深表謝意。

參 考 文 獻

- 1) Wardle, R. A. & McLeod, J. A. (1952). The zoology of Tapeworm. Univ. Minnesota Press Minneapolis, 780 pp.
- 2) Sparks, A. K. (1963). Infection of *Crassostrea virginica* Gmelin from Hawaii with a larval tapeworm, *Tylocephalum*. J. Insect Pathol. 5, 284-288
- 3) Cheng, T. C. (1966). The coracidium of the cestode *Tylocephalum* and the migration and fate of this parasite in the American oyster, *Crassostrea virginica*. Trans. Am. Microscop. Soc., 85, 246-255
- 4) Rifkin, E. and Cheng, T. C. (1968). The origin, structure, and histochemical characterization of encapsulating cysts in the oyster, *Crassostrea virginica*, parasitized by the cestode *Tylocephalum* sp. J. Invertebrate Pathol., 10, 54-64.
- 5) Cheng, T.C. and Rifkin, E. (1968). The occurrence and resorption of *Tylocephalum* metacestodes in the clam *Tapes semidecussata*. J. Invertebrate Pathol., 10, 65-69
- 6) Rosenfield, A. (1969). Oyster diseases in North America and some methods for their control. Comm. Valu. Shellfish, October 22-23, 67-78.
- 7) Spark, A. K. and Chew, K. K. (1966). Cross infestation of the littleneck clam (*Venerupis staminea*) with a larval cestode (*Echeneibothrium* sp). J. Invertebrate Pathol., 8, 413-416
- 8) Spark, A.K. and Fontain C. T. (1973). Host response in white shrimp, *Penaeus setiferus*, to infection by the larval Trypanorhynchid cestode, *Prochristianella penaei*. J., Invertebrate Pathology, 22, 213-219.
- 9) Sindermann, C.J. (1970). Principal diseases of marine fish and shellfish. Academic Press, New York and London, 107-148pp.
- 10) Malek, E. A. and Cheng, T. C. (1974). Medical and Economic malacology Academic Press, New York and London, 167-194 pp.

# 日本鰻 (*Anguilla japonica*) 的黴菌 *Ichthyophonus* sp. 感染

簡肇衡\* · 余廷基\*\*

Infection of *Ichthyophonus* sp. (Fungus) in Japanese Eel (*Anguilla japonica*)

Chau-Heng Chien\*, Ting-Chi Yu\*\*

## Abstract

This is the first report that Japanese eel, *Anguilla japonica* is a new host for *Ichthyophonus* sp. The morphology of this fungus in eel was similar to *Ichthyophonus hoferi* reported in other fishes. The infected eels had swollen liver and kidney externally, some eels were dotted with many transparent cysts on their abdominal wall. Large or small cysts appeared in gills, liver, kidney, spleen, alimentary duct, pancreas and musculature etc. The mortality of the diseased fish was very high. The taxonomical position of this fungus was discussed.

## 緒 言

半世紀以來，歐洲和北美學者斷續研究中，發現為害海魚和淡水魚最嚴重的黴菌病首推 *Ichthyophonus* (*Ichthyosporidium*) *hoferi* (Plehn & Mulsow, 1911)。最著名之病例如西北大西洋所產之鱈魚 *Clupea harengus* 及一些其它魚類自一八九八年以來約有半數之族羣是因感染了此症而致死。現今約有八十種左右的魚受感染之報導<sup>(1)</sup>；如 alewife, *Alosa pseudoharengus*<sup>(2)</sup>；rainbow trout, *Salmo gairdneri*<sup>(3)</sup>；yellowtail flounder, *Limanda ferrugihea*<sup>(4)</sup>；longhorn sculpin, *Myoxocephalus octodecemspinosus* 和 Atlantic cod, *Gadus morhua*<sup>(5)</sup>；及無數種歐洲之海魚和淡水魚<sup>(6)</sup>。而本篇為第一次報導 *Ichthyophonus* sp. 在養殖鰻魚 (*Anguilla japonica*) 身上發現。

雖然 *Ichthyophonus* 發現至今已相當長時間，且研究的學者已很多，但仍留存很多未解決的問題。最初的屬名 (generic name) *Ichthyosporidium* Caullery & Mesnil, 1905 產生了兩個原始種 (original species)。其中之一可能為黴菌而另一為原生動物，且沒有任一被作為型種；故一個屬名被用來做為兩種不同的生物的命名，如此被混用數十年，至一九六五年才由學者定下：*Ichthyosporidium* 為原生動物的屬名，*Ichthyophonus* 為此黴菌之屬名<sup>(7)</sup>。*Ichthyophonus* 有複雜的形態及生活史，目前此屬黴菌中只有單一種 *I. hoferi* 被認定。至於此屬的分類位置仍無定論。有的學者主張它較近於藻狀菌類的 Entomophthoraceae<sup>(8)</sup>。也有主張先將其置於不完全菌 Imperfecti<sup>(9)</sup>。另有人將其置於壺菌 Chytridiaceae<sup>(10)</sup>等。

\* 日本三重大學水產學部  
(Faculty of Fisheries, Mie University, Japan)

\*\* 臺灣省水產試驗所鹿港分所  
(Lu-Kang Branch, Taiwan Fisheries Research Institute.)

過去危害臺灣水族生物的主要黴菌是以 Saprolegniaceae 中的 *Saprolegnia* 及 *Achlya* 兩屬為最<sup>(11, 12)</sup>。此類黴菌多為淡水及外生性，很易由外觀辨認。而 *Ichthyophonus* 大多發現於海洋生物，且為內生性，外表較不易辨認。最近日本亦有此類黴菌感染虹鱖及 yellow tail 的報導<sup>(13, 14)</sup>，同時病原菌亦已分離成功。

此黴菌因初次發現於本省，目前尚無適當的中文名，今暫以「魚孢黴」稱之。依外國的報導，此黴菌之最主要感染經路是來自餌料，且人工感染試驗亦已成功，同時水蚤會攜帶這種黴菌亦已被報導<sup>(2, 10)</sup>。

本試驗的重點在於 *Ichthyophonus* sp. 之鑑定，病鰻在外觀及解剖學上之診斷，魚孢黴在鰻魚各器官或組織出現的頻度，參考以往學者之研究報告並和鰻魚體上所發現之魚孢黴作一比較，以為今後研究之參考。

### 材料與方法

受「魚孢黴」感染之病鰻標本採集自一九七六年三月，地點為鹿港附近。由一家私人養鰻場採得九尾約 7—10 尾/公斤病鰻，依體表黏液外溢，虛弱，肝、腎部隆起為對象，帶回做鏡片檢查並做成切片。材料以 Bouin 液固定，石臘包埋，切 4-5 $\mu$  厚，Haematoxylin-Eosin, Periodic Acid Schiff 液染色。

### 結 果

取出鰻魚之鰓部做鏡片檢查時發現，鰓葉上滿佈大小不等之孢囊 (cysts)，直徑約 30-60 $\mu$ ，有些呈靜止狀，有的已萌芽 (Fig 1)。孢囊呈圓球形，外有透明的薄膜包住，萌芽管能延伸至相當長度，萌芽管前端常呈雙分叉狀，分支少但亦呈雙分叉 (Fig 2)。長的萌芽管呈絲狀，可行碎裂增殖 (fragmentation) 或內出芽增殖 (endo-budding) 等。

九尾病鰻中有七尾受「魚孢黴」感染，其中一尾固定在福馬林液中做標本，其外觀上多為肝、腎隆起 (Fig. 3)。有些腹部尚有透明的孢囊散佈 (Fig 4)。內臟各器官滿佈孢囊或結節，孢囊出現在肝、腎、心、脾 (Fig 5)、消化道、胰和肌肉。「魚孢黴」在組織切片上亦多呈圓球形，好鹽基性 (basophilic)，細胞質濃染或淡染，多核，核 1-3 $\mu$  (Fig 6)。最小的孢囊可以單核存在。「魚孢黴」孢囊分佈在各器官之頻度見 Table I。

Table 1. Cysts found in organs of diseased eel

Organ No. of infected	gill	liver	spleen	heart	kindey	stomach	intestine	pancrease	muscle
1	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+
2	+	+	+	+	+	+	—	—	—
3	+	卅	卅	卅	卅	+	卅	卅	+
4	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	卅
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	+	卅	卅	卅	卅	+	+	+	0
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	+	卅	+	卅	+	+	+	+	0

0: no sections    —: none    +: rare    卅: common    卅: many

### 討 論

發現於鰻魚體上的是否即為 *Ichthyophonus hoferi* 有待更進一步研究後再予確定，此暫以

*Ichthyophonus* sp. 表之。「魚孢黴」所出現於鰻魚體上的形態和出現於它種魚體大同而小異。其主要的繁殖法藉孢囊萌芽後延伸，再行碎裂生殖成爲很多小孢囊，再由小孢囊長大。另外亦有形成內孢子，再放出很多小的孢子者，或藉內出芽成爲兩個小孢囊。雖曾發現有一孢囊上有孔，但不見有孢子放出。魚孢黴出現於鰻體上是以肝、脾、心、腎和消化道較多，鰓及肌肉較少，此和出現於 yellow-tail flounder 相似<sup>(15)</sup>。

「魚孢黴」雖然已用 Sproston 定爲藻狀菌 (phycomycetes)<sup>(8)</sup>。但因很多基本的分類要件仍未圓滿解決，故仍無定論。筆者以爲此菌最好照 Hoffman 之主張，暫置於不完全菌 Imperfecti，並非其具有子囊或擔子，而是其缺少足夠合理的證據<sup>(9)</sup>。

鰻魚之受魚孢黴感染，最主要之途徑亦可能來自餌料，因感染此病的業者都是以下雜魚來餵食鰻魚。至於此病在臺灣的流行期應密切注意，由一九七六，一九七七所發現的病例都在氣溫及水溫較低時發病。至於鰻魚之鰓部常發現「魚孢黴」之孢囊，故經鰓感染之路徑亦不容忽視，有待更進一步研究。

「魚孢黴」之厚壁顯然不只一層，常呈多層且透明，尤其在萌芽時清楚可見。此黴菌曾以 Sabouraud's medium 及 Emerson's medium 培養，雖能生長但效果不佳，生長速率相當遲緩，對氧氣則爲嫌氣性。

## 謝 詞

本研究幸賴農復會加速計劃經費支持得以完成。又承水產試驗所故所長鄧火土先生熱心鼓勵，水產試驗所技士胡興華先生及師大生物研究所教授簡秋源先生提供寶貴意見，及臺灣大學動物系黃仲嘉教授，郭光雄教授之指正，謹此致謝。

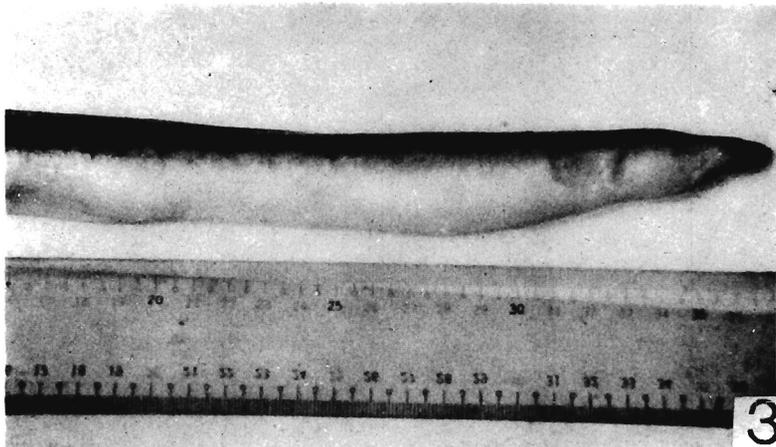
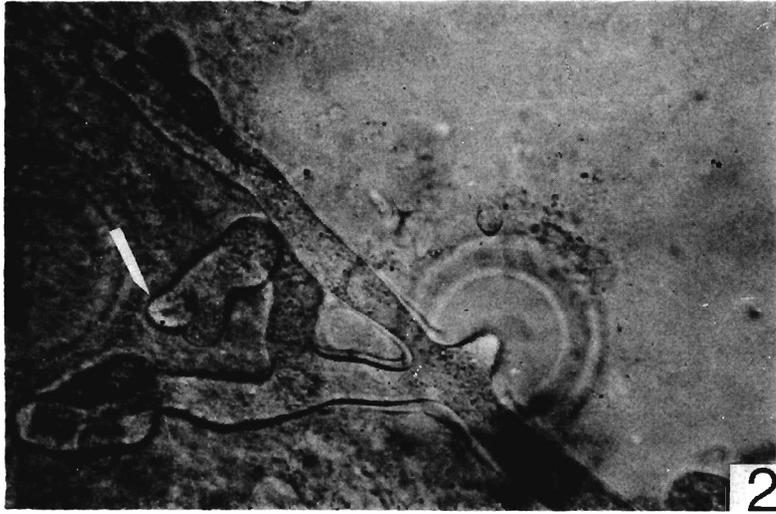
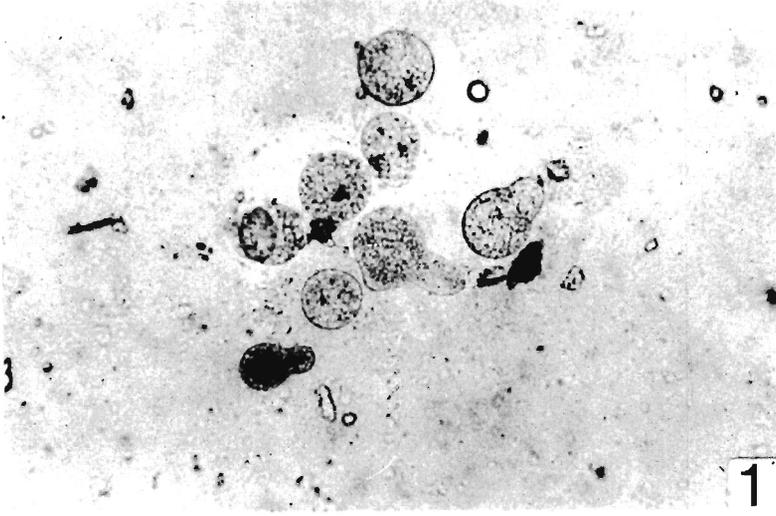
## 參 考 文 獻

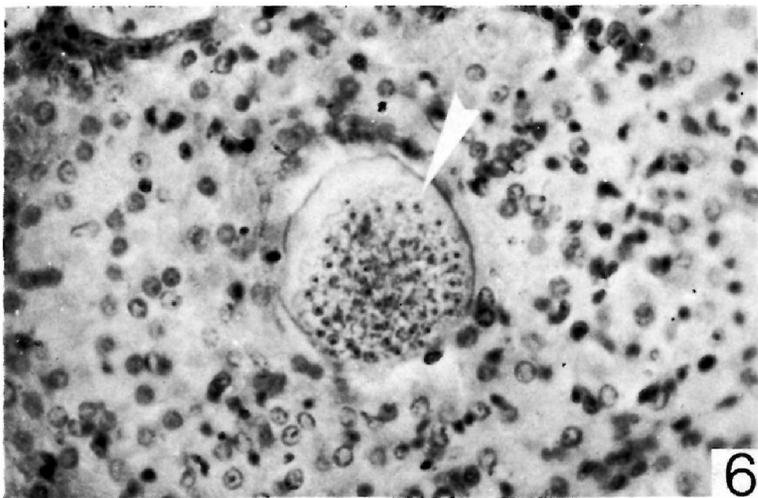
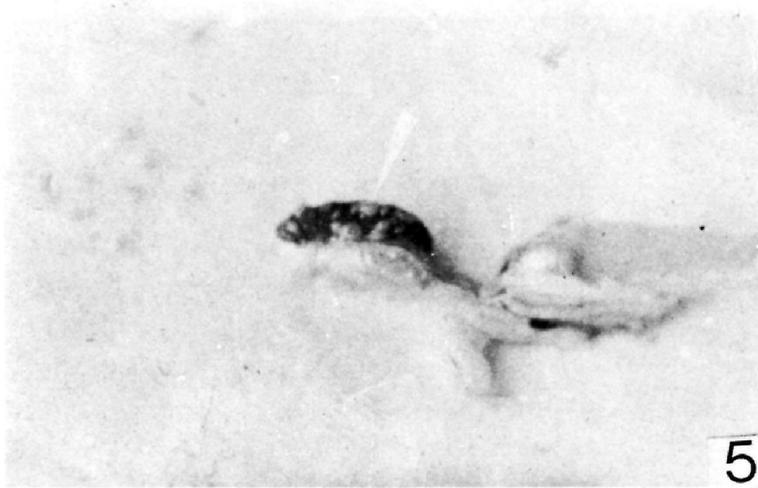
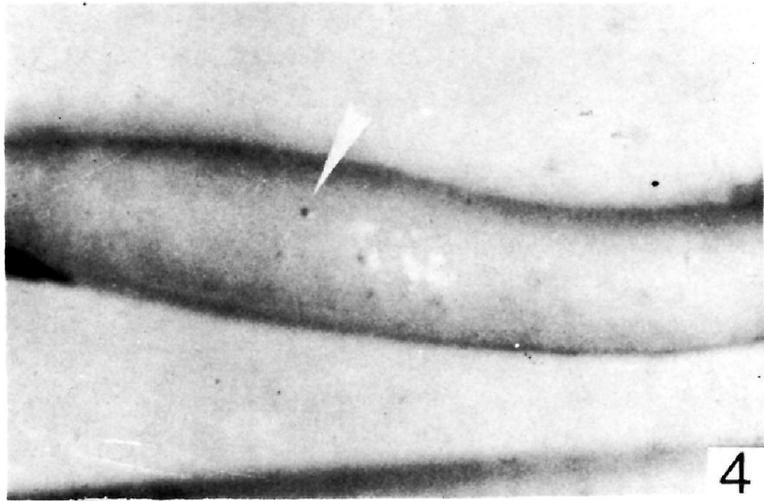
- 1) Sinderman, C. J. 1970. Principal diseases of marine fish and shellfish. Academic Press, New York. p. 310
- 2) Fish, F. F. 1934. A fungus disease in fishes of the Gulf of Maine. Parasitology 26: 1-16.
- 3) Rucker, R. R., and P. V. Gustafson. 1953. An epizootic among rainbow trout. Progr. Fish-Cult. 15: 179-181.
- 4) Powles, P. M., D. G. Garnett, G. D. Ruggieri, S. J. Nigrelli, and R. F. Nigrelli. 1968. *Ichthyophous* infection in yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*) off Nova Scotia. J. Fish. Res. Bd. Canada 25: 597-598.
- 5) Hendricks, J. D. 1972. Two new host species for the parasitic fungus *Ichthyophonus hoferi* in the Northwest Atlantic. J. Fish. Res. Bd. Canada 29: 1776-1777.
- 6) Duijn, C. Van 1967. Disease of Fish, London Iliffe books. p. 217-219.
- 7) Sprague, V. 1965. *Ichthyosporidium* Caullery and Mesnil, 1905, the name of the genus of fungi or a genus of sporozoan? Syst. Zool 14: 110-114.
- 8) Sproston, N. G. 1944. *Ichthyosporidium hoferi* (Plehn and Mulsow, 1911), an integral fungoid parasite of the mackerel. J. Marine Biol. Assoc. U. K. 26: 72-98.
- 9) Hoffman, G. L. 1970. Parasites of North American Freshwater Fishes. Univ. of California Press. Berkeley and Los Angeles. p. 20.

- 10) Duijn, C. Van 1971. Disease of Fishes (third edition) p. 255
- 11) C. Y. Chien 1976 Preliminary survey on the Saprolegniaceous fungi Parasites of Fresh water Shrimps (Crustaceans) in Taiwan. National Science Council No. 9, Part 2 R.O.C.
- 12) 鐘虎雲 1973, 臺灣淡水魚類水黴病之初步研究。臺灣水產學會刊 Vol. 2, No. 1, p. 47-55.
- 13) Takeshi ONO, Mikihiro KANEKO, Teruhiko AWAKURA and Akinori AOMI. 1966. Pathological Studies on *Ichthyosporidium* Disease in Rainbow Trout (*Salmo gairdnerii irideus* GIRRONS). Scientific Reports of the Hokkaido Fish Hatchery No. 21. 43-53.
- 14) 松下友成 1974, 魚病診斷指針 p. 120-121 新水產新聞社。
- 15) Ruggieri G. D., S. J. Nigrelli, R. F. Nigrelli, P. M. Powles, and D. G. Garnett. 1970. Epizootics in yellowtail flounder, *Limanda ferruginea* STORER, in the western North Atlantic caused by *Ichthyophonus*, an ubiquitous parasitic fungus. Zoologica (New York) 55: 57-62, pl. I-X.

照片說明：

- Fig. 1. Resting and budding cysts of *Ichthyophonus* sp. fresh specimen.
2. The globose cyst germinating with dichotomous branches. fresh specimen.
  3. External symptoms, swellings at the liver and kidney.
  4. Transparent cysts dotted on abdomen of victim.
  5. The infected spleen with cysts and nodules.
  6. Cyst in liver with multinucleus. Haematoxylin-Eosin stain.





# Panfuran-S 藥浴對虱目魚苗活存及其 成長之影響試驗 (預報)\*

廖一久\*\* · 楊富榮\*\* · 羅秀婉\*\*

## Preliminary Report of Effect of Panfuran-S Bath on the Survival and Growth of Milkfish Fry\*

I-Chiu Liao\*\*, Fu-Rong Yang\*\* and Shou-Wan Lou\*\*

### Abstract

In Taiwan, lots of milkfish fry for culture are imported from Southeast Asia. The imported milkfish fry are not allowed to get through customs unless they have been treated with Panfuran-S bath. However, according to culturists' experiences, those treated fry do not grow well. Thus in 1976 and in 1977 this study was undertaken with the purpose to find out the effect of Panfuran-S bath on milkfish fry. The 24-hr TLm of Panfuran-S for milkfish fry is 6.4 ppm. The results also indicate that the health condition of milkfish fry seems to be related to the effect of Panfuran-S bath.

### 前

每年本省由菲律賓、印尼等東南亞地區輸入多達八千萬尾左右的虱目魚苗 (*Chanos chanos*) 以供養殖。這些魚苗產地隨時有可能發生霍亂之虞，因此為做好防疫措施，魚苗規定均須經 Panfuran-S\*\*\* 藥浴 (以 0.4 ppm 藥浴 4 小時) 始可放行<sup>(1)</sup>。經過 Panfuran-S 藥浴處理者，經民間飼養之結果，有成長不良之現象。本試驗即針對此項問題，於1976年及1977年虱目魚苗汛期，仿照進口魚苗之檢疫措施，用不同濃度之 Panfuran-S 藥浴後，再行飼育，以探討 Panfuran-S 對虱目魚苗之活存及其成長之影響，同時亦探討其 TLm (Median tolerance limit)。

### 材料與方法

#### 1. Panfuran-S 藥浴對虱目魚苗之活存及其成長之影響試驗：

本試驗於1976年及1977年之虱目魚苗汛期實施，魚苗採自東港沿岸漁民所撈捕者。

\* 東港分所研究報告 A-38 號

(Contribution A No. 38 from the Tungkang Marine Laboratory).

本報告之主旨已於1977年2月14日於66年度加強魚病研究及防治計畫研討會發表。

(An outline of this article was presented in the annual meeting of fish pathology in Taipei, Feb. 14, 1978).

\*\* 臺灣省水產試驗所，東港分所。

(Tungkang Marine Laboratory, Taiwan Fisheries Research Institute, Pingtung, Taiwan, 916).

\*\*\* Panfuran-S 係商品名 (又稱 Dihydroxymethylfuralazine)，其化學式為 3-Di (hydroxymethyl) amino-6- (5-nitro-2 furylethenyl) -1, 2, 4-triazine.

第一次之飼育試驗，Panfuran-S 僅以水為溶劑，充分攪拌，經肉眼觀察已無顆粒後，依次稀釋至所需各濃度。魚苗之選別則儘量使大小平均分配於各組（平均體重  $0.0081 \pm 0.0014$  g）。本次試驗共分 7 組（Table 1），每組 100 尾虱目魚苗。除對照組外，另三組濃度即 0.1、0.2 與 0.4 ppm 之試驗組各重複一次。藥浴係仿照進口虱目魚苗之方式，各組魚苗裝在雙層 PE 袋內，浸於 2 ℓ 之藥浴水中並灌入氧氣，置於陰暗處，4 小時後，解開對照組 0.1、0.2 與 0.4 ppm 之試驗組，8 小時後再解開其餘三組。解袋後，魚苗連同藥浴水輕輕倒入預備好之海水中沖稀，充分換水後，檢視各組魚苗之活存率，再將魚苗放養於室外水泥池（2.0m×1.5m×1.0m）。飼育期間添加綠水維持水色於綠色下飼育，實際水深保持 30 cm 左右，並投予人工飼料作為補充飼料。每日上、下午予以定時記錄各池之水溫及鹽分濃度，並儘量調整各池之飼育水質情況使之一致。飼育 60 日後，測定體重，並檢視其活存率。

Table 1. Treatment and rearing condition of milkfish fry (1976)

Tank No.	Treatment concentration of Panfuran-S (ppm) / bathing time (hr)	Water temperature (°C)	Salinity (‰)	Number of fry
1	Control	25.2~32.5	18.9~28.5	100
2	0.1 ppm/4 hrs			100
3	0.1 ppm/8 hrs			100
4	0.2 ppm/4 hrs			100
5	0.2 ppm/8 hrs			100
6	0.4 ppm/4 hrs			100
7	0.4 ppm/8 hrs			100

由於 Panfuran-S 難溶於水，因此 1977 年進行第二次試驗時，先以二甲基甲醯胺 (Dimethylformamide) 為溶劑<sup>(2)</sup> 加以溶解 Panfuran-S，然後配成 10,000 mcg/ml 濃度之濃溶液，再以海水稀釋成所需之各組濃度。此次試驗共分 10 組（Table 2），每組選取 90 尾（平均體重  $0.0036 \pm 0.0021$  g），並仿照上法進行藥浴。藥浴後，檢視其活存率，經充分換水沖稀後，放入水泥池中飼育 60 日，結束時測定體重，並檢視其活存率。

Table 2. Treatment and rearing condition of milkfish fry (1977)

Tank No.	Treatment concentration of Panfuran-S (ppm) / bathing time (hr)	Water temperature (°C)	Salinity (‰)	Number of fry
1	Control	20.8~33.0	10.0~26.3	87
2	0.1 ppm/4 hrs			87
3	0.1 ppm/8 hrs			88
4	0.2 ppm/4 hrs			89
5	0.2 ppm/8 hrs			86
6	0.4 ppm/4 hrs			87
7	0.4 ppm/8 hrs			83
8	0.8 ppm/4 hrs			88
9	0.8 ppm/8 hrs			85
10	1.5 ppm/4 hrs			81

## 2. Panfuran-S 對虱目魚苗 TLm 之探求：

本項試驗係參照 Doudoroff 法<sup>(3)</sup>。魚苗購入後，至少絕食 1 日，才進行生物檢定。Panfuran-S 亦以二甲基甲醯胺為助溶劑。各組 10 尾魚苗（平均體重  $0.0055 \pm 0.0027$  g）。供試魚苗先收容於外罩黑布之玻璃燒杯（5 ℓ 容量）中，並加海水至 3.5 ℓ 左右，再加 Panfuran-S 濃溶液之同時立刻加入

海水至標線 4 ℓ 處，以配製所需之各組濃度。本項試驗係在室溫 (28.4~29.6°C) 不打氣之情況下實施，又為避免水質之惡化，檢定期間均不予投餌，但每隔24小時更換試水一次，同時隨時留意若有死魚立刻取出，並記下各組之死亡半數時間 (Time to 50% mortality,  $LT_{50}$ )，以求出4小時、8小時、24小時及48小時之  $TLM$ 。

## 結果與討論

### 1. Panfuran-S 藥浴對虱目魚苗之活存及其成長之影響：

以Panfuran-S 藥浴4小時及8小時之活存率，如 Fig. 1 所示。第一次，即1976年試驗時之活存率，無論4小時或8小時均為100%。第二次，即1977年藥浴時之活存率則均比第一次為低。又，除了最高濃度 1.5 ppm 組之活存率較低外，在試驗濃度範圍內，藥浴濃度與活存率之間似無明顯的關係，但藥浴8小時者比4小時者活存率稍低。不過，由下述之生物檢定試驗中獲知，在上述濃度，即0.1~1.5 ppm 濃度範圍內若不封袋，則藥浴4~8小時虱目魚苗均無死亡之虞，因此，前述藥浴8小時者比4小時者活存率稍低之原因，可能為封袋，水中氧氣稍欠，又，此批之供試魚苗之健康情形不佳所致。

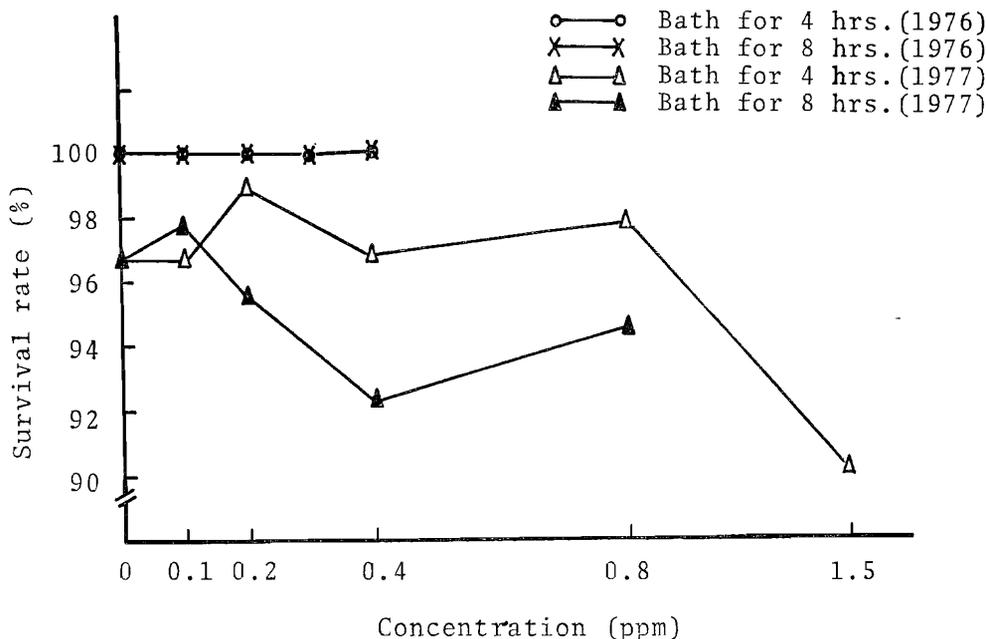


Fig. 1. Survival rate of milkfish fry just after various Panfuran-S bath treatments.

至於經過藥浴之魚苗在室外水泥池飼育60日之活存率則示如 Fig. 2。就同一次試驗中藥浴濃度相同之兩兩試驗組之活存率相比較，經過藥浴8小時者比4小時者活存率高些，不過在兩次試驗之濃度範圍內，相同藥浴時間下之 Panfuran-S 之濃度與活存率之間似無關係，但第二次試驗之濃度 0.4 ppm 時之活存率，顯然比其他濃度時為低。有關藥浴8小時者比4小時者活存率為高之原因，1977年度者因為健康情形不佳者可能已先受淘汰所致，不過，有關1976年度之原因則無法推測。至於飼育結束時測定之體重則示如 Tables 3 & 4。1976年度之飼育結果經 t-test 顯著性測驗，顯示各試驗組平均體重與對照組之間無顯著差異。1977年度者，亦行 t-test 結果示如 Table 5，藥浴4小時，濃度為0.1、0.4 及 1.5 ppm 之試驗組，飼育60日後之平均體重與對照組之間均無顯著差異，但藥浴4小時，濃度 0.2 與 0.8 ppm 之試驗組與對照組之間則有顯著差異。至於藥浴8小時者除濃度 0.2 ppm 之試

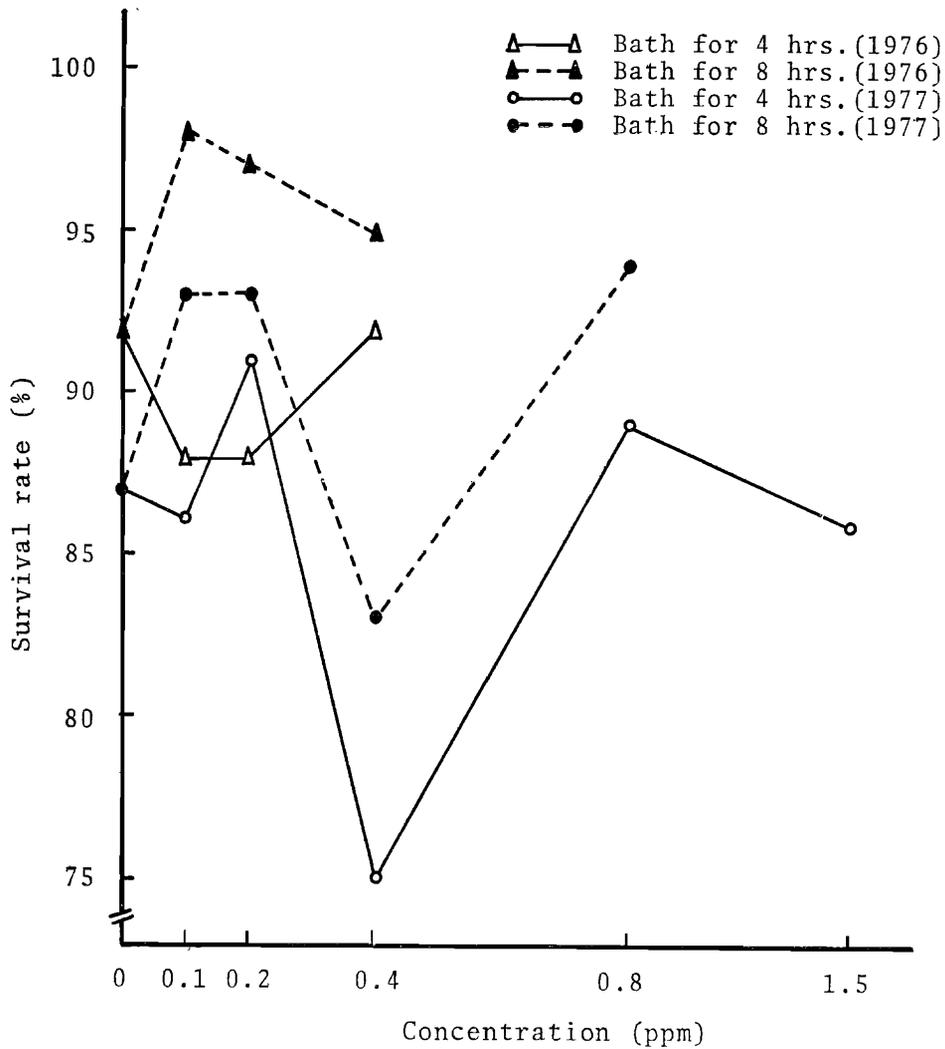


Fig. 2. Survival rate of milkfish fry 60 days after Panfuran-S bath treatments for 4 or 8 hours. (Number of dead fry during bathing was excluded)

Table 3. Mean body weight and standard deviation of milkfish fry 60 days after Panfuran-S bath treatments (1976)

Tank No.	Mean body weight (g)	Standard deviation	Tank No.	Mean body weight (g)	Standard deviation
1	3.6619 (93)*	1.5176	5	3.3339 (97)	1.8793
2	3.7186 (88)	1.8658	6	5.5020 (92)	2.2300
3	3.4731 (98)	2.2071	7	3.9942 (95)	2.0171
4	3.7357 (88)	2.0191			

Initial mean body weight:  $0.0081 \pm 0.0014$  g.

\* Number of survived fry in each tank was indicated in parentheses.

Table 4. Mean body weight and standard deviation of milkfish fry  
60 days after Panfuran-S bath treatments (1977)

Tank No.	Mean body weight (g)	Standard deviation	Tank No.	Mean body weight (g)	Standard deviation
1	1.9603 (76)*	1.1401	6	1.5091 (65)	0.9879
2	1.4999 (75)	0.7945	7	1.3126 (69)	1.1271
3	1.2951 (82)	0.6308	8	1.3358 (78)	0.9373
4	1.2900 (81)	0.7035	9	1.1946 (80)	0.6638
5	1.4789 (80)	0.8033	10	1.4094 (70)	0.7495

Initial mean body weight:  $0.0036 \pm 0.0021$  g.

\* Number of survived fry in each tank was indicated in parentheses.

Table 5. The results of t-test for the difference of mean body weight  
between control and various Panfuran-S bath treatments (1977)

Treatment concentration of Panfuran-S (ppm) / bathing time (hr)	t	Treatment concentration of Panfuran-S (ppm) / bathing time (hr)	t
0.1 ppm/4 hrs	1.4036	0.4 ppm/8 hrs	1.9612*
0.1 ppm/8 hrs	2.2063*	0.8 ppm/4 hrs	1.9858*
0.2 ppm/4 hrs	2.2006*	0.8 ppm/8 hrs	2.5566*
0.2 ppm/8 hrs	1.4840	1.5 ppm/4 hrs	1.6853
0.4 ppm/4 hrs	1.2851		

\* Significant at 5% level.

驗組外，濃度0.1、0.4與 0.8 ppm 之試驗組與對照組之間均有顯著差異。

綜觀上述試驗之結果，第二次，即1977年度供試之虱目魚苗，不論對藥浴之耐力、飼育60日之成長及其活存率均比1976年度，即第一次所供試之虱目魚苗較易於受到 Panfuran-S 藥浴之影響。比較兩次試驗所供試之魚苗之平均體重 (Tables 3 & 4) 以及第二次試驗供試之虱目魚苗較為瘦弱之事實，可初步推測，魚苗藥浴前之大小及其健康狀況或許會影響虱目魚苗對 Panfuran-S 藥浴之感受性。

## 2. Panfuran-S 對虱目魚苗 TLm 之探求：

依據生物檢定試驗結果，在全對數座標上，以 Panfuran-S 各濃度 (ppm) 對相應之半數死亡時間 (min.) 作圖 (Fig. 3)，並作直線迴歸分析結果 ( $t < 0.01$ )，其關係式為  $\log Y = 4.5527 - 1.7292 \log X$ ，推算24小時及48小時之 TLm 結果，分別為6.4與 4.3 ppm，又由外插法求得4小時及8小時之 TLm，列于 Table 6。

依據許與劉之報告<sup>(4)</sup>，Panfuran-S 在海水中含有 0.2 mcg/ml 在室溫 (28~30°C) 4小時，即有殺死霍亂菌之效力。此種 Nitrofurantoin 衍生物之 Panfuran-S 比其他藥劑殺菌力強，因此藥量可少，殺菌時間也可短，並且對一些抗生素具抗藥性之霍亂菌亦有效，但對於魚苗之毒性反應則未明。因而，此次筆者等以生物檢定法及模擬進口時之藥浴法探討 Panfuran-S 對虱目魚苗之影響結果，初步瞭解，若按目前進口魚苗檢疫措施所採用之藥浴濃度與時間，對虱目魚苗之毒性不大，但藥浴前之魚苗之健康情況可能與藥浴後之活存及其成長有關。至於影響程度，則有待今後進一步的探討。

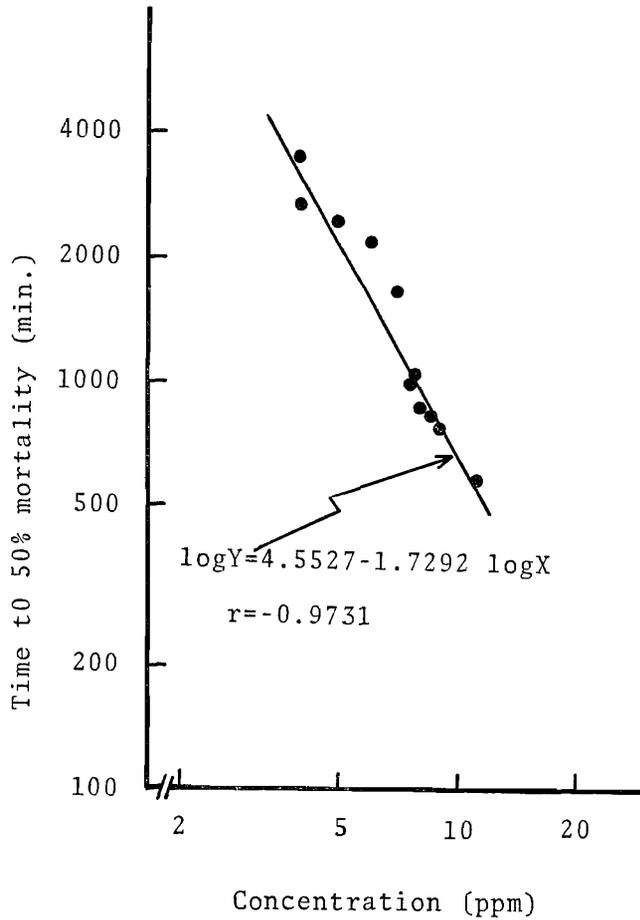


Fig. 3. The relationship between concentration of Panfuran-S and time to 50% mortality of milkfish fry.

Table 6. Estimated TLm in various bathing time for milkfish fry

Bathing time (hr)	4	8	24	48	96
TLm (ppm)	18.0	12.1	6.4	4.3	2.9

### 摘 要

為瞭解 Panfuran-S 藥浴對虱目魚苗活存及其成長之影響，於1976年及1977年虱目魚苗汛期，進行生物檢定及模擬進口時之藥浴試驗，而得下述之初步結果：

1. 依據生物檢定試驗結果，推算24小時之 TLm 為 6.4 ppm。
2. 若按目前進口魚苗檢疫措施所採用之藥浴濃度與時間（以 0.4 ppm 藥浴 4 小時），對虱目魚苗之毒性不大，但藥浴前之魚苗健康狀況可能與藥浴後之活存及其成長有關。

### 謝 辭

本篇預報乃承東港分所同仁，尤以潘麗雪小姐及蔣美芳小姐協助收購虱目魚苗，趙乃賢技正、曾

金菊小姐和李宜珊小姐等給予鼎力協助，以及劉忠和先生提供文獻及 Panfuran-S 藥品，因是有成，謹此致謝。

又，本報告係中央加速農村建設重要措施補助計劃之加強魚病防治研究延續計畫 [77 (ARDP)-1.4-0-117] 及 [78 (ARDP)-5.3-0-158] 項下完成，謹此誌之。

### 參 考 文 獻

- 1) 劉忠和 (1976). 私信。
- 2) “Panfuran-S” 文獻集 (1973). Toyama Chemical Co., 2nd ed., Tokyo.
- 3) Doudoroff, P. *et al.* (1951). Bioassay methods for evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish. *Sewage Ind. Wastes* 23, 1380-1397.
- 4) 許書刀、劉忠和 (1974). 病原菌污染魚苗之消毒法研究—— I. 理想霍亂殺菌劑之探求，*臺灣水產學會刊*，3 (2)，77—83.



## 臺灣鰻魚黴菌性鰓病 (Branchiomycosis) 之組織病理所見

簡肇衡\* · 宮崎照雄\* · 窪田三期\*

The Histopathology of Branchiomycosis of Eel in Taiwan

Chau-Heng Chien\*, Teruo Miyazaki\*, Saburoh S. Kubota\*

### Abstract

Infection of *Branchiomyces* was reported in the eel farms located in central and southern Taiwan. Symptoms of branchiomycosis were described. Spores and hyphae were located in some visceral organs.

1977 年春夏兩季，流行於臺灣中、南部之養鰻場，引起養殖鰻鰓部腐爛 (gill rot)，缺損甚至病鰻死亡之病害，業經筆者等鑑定為斷續發生於歐、美及日本等地之 *Branchiomyces* 屬黴菌所造成。

此黴菌主要侵入鰻魚之鰓部，尤其是鰓薄板 (gill lamella)，大多以菌絲及孢子等形態出現。菌絲無隔板 (aseptate)，長短不一，直徑約 7-25  $\mu$ ，菌絲內可形成無數之孢子，如 Fig 1。孢子大多呈圓形約 5-13 $\mu$ 。(以上所敘述之形態，大小等是依組織切片之觀察)。

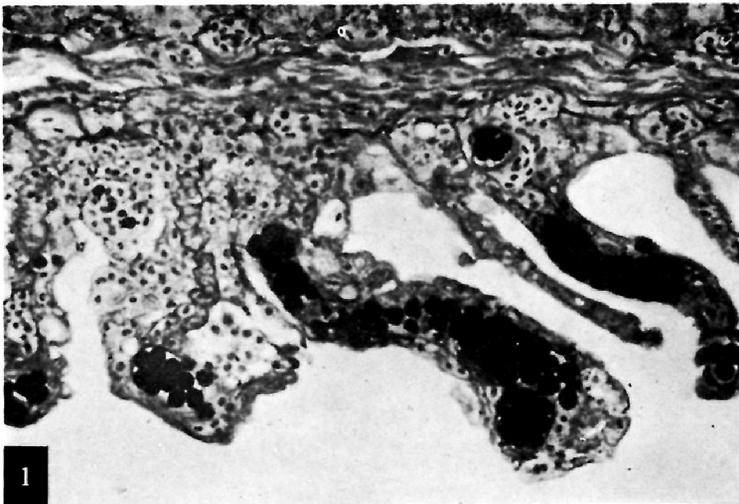
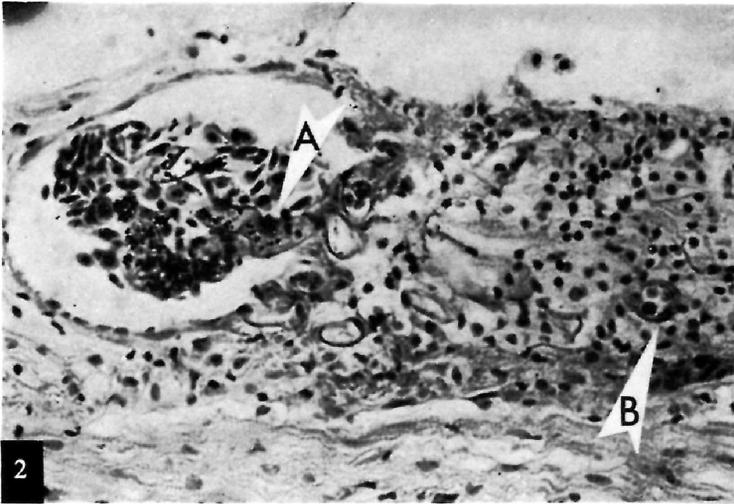


Fig. 1. *Branchiomyces* showing spore formation in gill lamella. PAS reaction, X320.

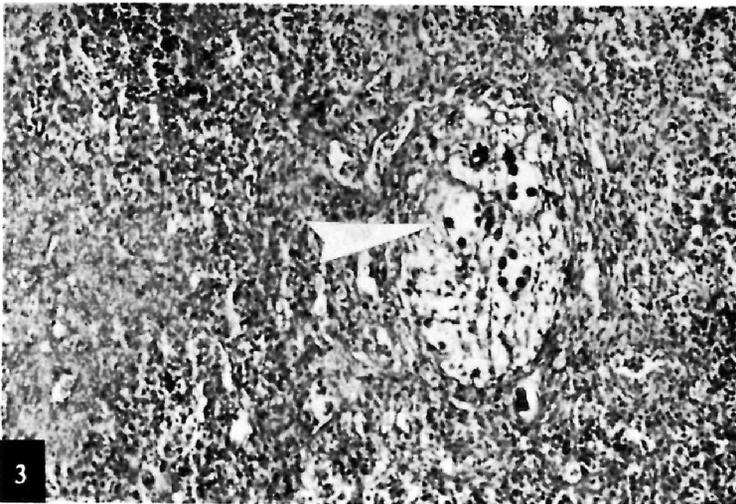
\* 日本三重大學水產學部  
(Faculty of Fisheries, Mie University, Japan)

*Branchiomyces* sp. 之菌絲或孢子等寄生於鰻魚鰓薄板之毛細管後，於其內成長或延伸，造成黴菌栓塞 (fungal embolism)，而引發循環障礙及血行靜止 (hemostasis)。由於循環障礙引起毛細血管之擴張及支柱細胞 (pilaster cell) 之崩壞，接著部份鰓薄板上皮剝離及部份上皮增生，並於較劇烈增生部位發生相鄰鰓薄板癒合之現象。此外由於血行靜止造成紅血球之變性 (erythrocytes degeneration) 及壞死。而受黴菌侵入之鰓薄板毛細管基底膜顯現出類纖維變性 (fibrinoid degeneration)。至於黴菌侵入鰓絲之鰓絲動脈及周圍之結締組織亦引發類纖維變性及鰓絲上皮增生。

病鰻之心臟及脾臟還出現黴菌之轉病巢，黴菌轉移至心外膜之細動脈，引起栓塞，並侵入血管周圍之結締組織，於病巢部出現炎症性細胞浸潤 (inflammatory cells infiltration)，如 Fig 2。脾臟內因外來之菌絲侵入而形成胞囊，但界線不明，其內細胞膜已有被溶解之現象，如 Fig 3。



2. Metastatic lesion showing fungal embolism (arrow A) and epicarditis in the heart. Hyphae growing into the epicardium showing spore formation (arrow B). H-E stain, X320.



3. Hyphae forming spores in the spleen. PAS reaction, X200.

# 臺灣養殖黑鯛爛尾病病原菌 *Aeromonas hydrophila* 之分離

陳林楊\* · 簡秋源\*\*

Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a Tail Rot Disease of Cultured Black Porgy in Taiwan

Ling-Yang Chen\* and Chiu-Yuan Chien\*\*

## Abstract

Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a tail rot disease of cultured black porgy was studied. All isolated strains were only highly sensitive to neomycin among antimicrobial agents including chloramphenicol, furazolidin, gentamicin, kanamycin, neomycin, novobiocin, penicillin G, streptomycin, and tetracycline. The optimum conditions for its growth were detected: salinity 0‰~45‰, pH 5~9. The rampency of this epidemic disease was occurred from Summer to Fall in 1977.

## 概 說

一九七七年八月至十二月，本省桃園縣觀音鄉發生體長 10~15 公分，體重 10~45 公克，約為五月齡左右之養殖黑鯛<sup>(4)</sup>大量死亡，病魚失去正常游泳能力，擱淺於池邊有水草處，不攝食、反應遲鈍、體色變黑、尾鰭腐爛，病情較嚴重者軟條組織亦腐爛，甚至膽囊腫大，鰓絲末端脹大。<sup>(5)</sup>

由罹病魚可以分離出一種桿菌，經病原性試驗結果知此菌可引起相同之病變，判定為病原菌，本文就此病菌之形態、病原性、生化學性狀、藥劑感受性及生理學性狀等方面所做的研究、結果，在此提出報告以供參考。

## 材 料 與 方 法

### 一、菌株的由來

自一九七七年十月至十二月，三次分別從桃園縣觀音鄉帶回瀕臨死亡的病魚，在實驗室中進行細菌之分離，先將患部以 70% 酒精擦拭表皮後，將患部剪下，放在普通液體培養基中<sup>(9, 10, 11)</sup> (peptone 10g, beef ext. 5g, NaCl 5g, pH 7.5, dist. H<sub>2</sub>O 1000ml) 在 28°C 下經 24 小時培養，然後將培養液接種於普通平板培養基，在 28°C 下經 24 小時培養後，檢取培養基上不同形態之菌落分別接種於斜面培養基上保存，以供形態、病原性、生化學性狀、藥劑感受性及生理學性狀等之檢查。

### 二、生化學性狀之檢查

各種生化學性狀之檢驗，乃採用一般腸內細菌鑑定之方法，即利用生長於 Rimler-Shotts 培養

\* 臺灣省立海洋學院水產養殖學系

(Department of Aquaculture, Taiwan Provincial College of Marine Science and Technology)

\*\* 國立臺灣師範大學生物研究所

(Institute of Biological Sciences, National Taiwan Normal University)

基上菌落之顏色，配合其對 Cytochrome oxidase 之反應，初步確定該菌是否為腸內菌羣，以 SIM 培養基測出  $H_2S$  之產生，利用 One-tube O-F test<sup>(8)</sup> 測定其是否為厭氣性，利用 Brooker 的快速方法測出 Arginine dehydrolase, Lysine decarboxylase 之產生，各種醣類分解性乃利用測定醣類分解性之基礎培養基加上各種醣類 0.5~1.0% 以測定其醣類利用情形及是否有氣泡之產生。其餘生化學特性均按常法測定之，又各試驗均在 28°C 下進行。

### 三、病原性測驗

取在 28°C 下經 24 小時培養之濕菌溶於 0.85% 之無菌生理食鹽水中，使成菌懸浮液 (6mg/ml)，按每 100g 魚體重接種 6mg 濕菌重之比例，將菌之懸浮液接種入健康鯛魚之腹腔內，供試魚之大小與病魚同，注射前先用呋喃劑 10 ppm 藥浴 15 分鐘，並使用 Urethane 5g/l 之劑量做成水浴實施麻醉以利注射。注射後之鯛魚收容於 66×30×36 cm 之水槽中並注入海水後觀察 10 天，每天記錄病情發展，實驗期間不換水且不給餌料，充分打氣，水溫 14~17°C，實驗魚每組 6 隻，共 3 組。

### 四、藥劑感受性試驗

所使用之藥片為 DIFCO Dispens-O-Discs (Bacto-sensitivity discs)，利用 Kirby-Bauer method<sup>(1, 2)</sup> (Surface-Swab method)，測定分離菌對於 Chloramphenical 等九種藥劑之感受性。

### 五、生理學性狀試驗

1. 鹽度：將 NaCl 加入普通培養液中，NaCl 之濃度為 0%，10%，20%，……100% 經 28°C 下培養 24 小時。

2. pH：將普通培養液之 pH 調成 3, 4, ……12 之不同值，經 28°C 下培養 48 小時。

3. 溫度：將普通培養液置於 12, 20, 27, 37, 40°C 不同溫度下觀察細菌繁殖情形。

以上三種測定均以肉眼採用比濁法判定其生長情形，每根試管供試菌液均為 10 ml。

## 結 果

### 一、形態學及生理學性狀

由外觀判定為病魚之患部分離出一種革蘭氏染色陰性，大小為  $1\mu m \times 2.3\mu m$  之短桿菌，具有運動性，於 28°C 下培養 24 小時之菌落為白色、圓形，其周邊平整，直徑約為 0.5mm，其生長之範圍為：pH 5~9，鹽度 0%~45%，溫度 20~37°C。

### 二、病原性測驗

將 3 株分離菌 (TC-1, TC-2, TC-3) 分別接種於鯛魚後，經 5~8 天，於接種部位起開始呈現紅塊，似出血狀，逐漸延及臀鰭，使臀鰭的軟條腐爛而與自然感染之病魚尾鰭腐爛之情形相同，在未擴及尾鰭前魚體即已死亡。由發病之魚體患部可以分離出與接種菌性狀相同之細菌。

### 三、生化學性狀

TC 等 3 株病原菌均呈相同之生化反應，如表 1 所示，其顯著的特性為：

極易產生  $H_2S$ ，產生 Cytochrome oxidase，可分解 Glucose 並產生氣體，不分解 Gelatin, 2-3-butanediol，呈陰性反應，對 0/129 沒有感受性，Arginine 會被加水分解，硝酸鹽可被還原，有 Indole 之產生，MR-VP、Simmon citrate、Catalase 均呈陽性反應。對醣類的分解如 Glucose, Salicin, Meso-inosit, Galactose, Fructose, Dextrin, Maltose, D-Mannose, Xylose, p(-)-Sorbit, Saccharose 均具有分解性。

表1. 菌株的生化學性狀

Test	Result	Test	Result
Kligler test (H <sub>2</sub> S)	-/A(H <sub>2</sub> S)	Lactose	-
Cytochrome oxidase	+	Meso-Inositol	+
Hugh-Leifson's Glucose test	F	Raffinose	-
Hydrolysis of starch	+	Rhamnose	-
Gas production		L(+)-Arabinose	-
2, 3-butanediol	-	Galactose	+
0/129 sensitivity test	-	Fructose	+
Hydrolysis of gelatin	-	Dextrin	+
Arginine dihydrolase	+	Maltose	+
Lysine decarboxylase	-	D-Mannose	+
Nitrate Reduction	+	L-Sorbose	-
Production of Indole	+	Xylose	+
Methyl Red test	+	Mannitol	-
Voges-Proskauer test	+	Dulcitol	-
Simmon citrate	+	P(-)-Sorbitol	+
Catalase	+	Saccharose	+
Utilization of carbohydrate		DEAE-Cellulose	-
Glucose	+	Salicin	+

Key: +, positive. -, negative. g, gas production. F, Fermentative.

四、藥劑感受性

檢驗九種藥劑中，僅有 Neomycin 對 TC-1 等 3 株病原菌具有顯著的抑制效果，其餘 Chloromphenical、Furadantin、Gantrisin、Kanamycin、Novobiocin、Penicillin、Streptomycin、Tetracyclin 等均無效果。

討 論

本研究所得結果諸性狀與 Davis, B. D. *et al* Microbiology 2nd ed. (1974) 及 Bergey's Manual 8th ed. (1974) 對 *Aeromonas hydrophila* 所列之檢索，比較如表 2 所示：

表 2. Davis, Bergey's 檢索與研究所得結果性狀對照表

Characteristic	D	B	R	Characteristic	D	B	R
Growth in nutrient broth at 37°C		+	+	Lysine decarboxylase	-		-
Growth in nutrient broth containing 7.5% NaCl		-	-	Arginine hydrolase	+		+
Gram stain		-	-	gas from glucose	+ or -		+
Shape		SR	SR	Fermentation of Lactose	- or +		-
Size(μm)		1.0~4.4	1~2.2	Inositol	-		+
Motility		+	+	Raffinose	-		-
Pathogenic		+	+	Rhamnose	-		-
Temp. (°C)		20~30	20~37	Arabinose	+ or -		-
pH		5.5~9.0	5.0~9.0	Mannitol	+		-
Oxidase test	+		+	Dulcitol	-		-
Indole Production	+		+	Salicin	+		+
Methyl Red	+		+	Sorbitol	- or +		+
Voges-Proskauer	- or +		+	Nitrat to Nitrite	+		+
Citrate Utilized	+ or -		+	Glucose metabolism	F		F

Key: D, Davis. B, Bergey. R, Result. +, Positive. -, Negative. F, Fermentative. SR, Short Rod.

由表 2 可知，本分離菌株 (TC-1, TC-2, TC-3) 在諸性狀與上述兩氏之檢索完全一致，故 TC 等 3 菌株病原菌被鑑定為 *Aeromonas hydrophila*<sup>(6)</sup>。

從藥劑感受性試驗顯示，本菌僅對 Neomycin 有很高的被抑制效果，因此可望利用 Neomycin 對本病原細菌進行預防和治療，有待將來進一步的探討。

本分離菌株係使用一般病原細菌分離培養基 (含 0.5% NaCl) 所獲者，其與 Shotts 和 Rimler (1973)<sup>(9)</sup> *Aeromonas hydrophila* 分離培養基中所含氯化鈉之百分率相同。

從生理學性狀顯示，本分離菌株之最適生長條件，以鹽度為 0 到 45% 和酸鹼度為 5 到 9，即其耐鹽度偏高，然而此菌從海水中被分離之報導却不多。

病原性測驗期間實施不換水亦不給餌料，並做充分之打氣，水溫亦保持在 18°C 左右。結果實驗組 (每組六尾) 均在初期呈現紅腫，出血，然後逐漸延及臀鰭。末期呈現腐爛而與自然感染之魚鰭腐爛之情形相同，且在未擴及尾鰭前魚體即已死亡，即發病到魚體死亡期間未曾超過 48 小時。根據 Groberg 等 (1978)<sup>(8)</sup> 曾經報告鮭及鱒魚在致病性測驗時水溫對 *Aeromonas hydrophila* 和 *A. salmonicida* 二種病原菌在人工感染發病時其死亡率隨著水溫之升高而增加，又死亡天數以高溫時為較短，反之，低溫時為較長。筆者等極為同意上述之提議而特別重視致病性測驗期間水溫之保持和記錄。按桃園縣觀音鄉內養殖黑鯛為本省首見者。從本次調查顯示，罹病魚初期遇逢夏季高溫時期，使得其死亡加快而呈嚴重，後期適遇秋季較低溫時期，其死亡呈緩慢而不甚嚴重。由此可以推測黑鯛爛尾病之發生與水溫似有其密切之關係。

一般認為 *Aeromonas* 和 *Vibrio*<sup>(7)</sup> 兩屬之生化學性狀極為相似，但本分離菌株具有下面數點特徵予以區別之；(1) 其對  $O_{129}$  沒有感受性，(2) Voges-Proskauer 測驗為(-)並極易產生  $H_2S$  和 (3) 有產生 Indole。再者，該菌株依 Kligler 測驗結果顯示培養基上部之顏色未改變，然而其下半部之顏色轉為黃色。

## 摘 要

本省養殖黑鯛爛尾病之病原菌為一種對  $O_{129}$  具有感受性，Voges-Proskauer 測驗陰性，產生 Indole 及硫化氫之桿菌，初步鑑定為 *Aeromonas hydrophila*。本菌對 Chloramphenical 等九種藥劑除 Neomycin 外，感受性皆很低。在鹽度 0~45% 和酸鹼度 5~9 之範圍內皆可生長。

## 謝 詞

本研究工作承獲中國農村復興委員會在中央政府加強農村建設——魚病研究計劃 (編號 78-ARDP-5.3-0-158 號) 補助得以完成。研究期間承蒙臺灣大學理學院動物學系郭博士光雄教授之殷切指導，謹此致謝。又實驗進行中承獲臺灣大學動物學系魚病研究室諸位研究助理的協助一併申謝。

## 參 考 文 獻

- 1) Barry, et al. (1970). An improved single-disc method for testing the antibiotics susceptibility of rapidly growing pathogens. Amer. J. Clin. Path. 53: 149-158.
- 2) Bauer et al. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Amer. J. Clin. Path. 45: 493-496.
- 3) Groberg, W. J. Jr., R. H. McCoy, K. S. Pilcher, and J. L. Fryer. (1978). Relation of water temperature to infections of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), Chinook salmon (*O. tshawytscha*), and steelhead trout (*Salmo gairdneri*) with *Aeromonas salmonicida* and *A. hydrophila*. Jour. Fish. Res. Board Can. 35: 1-7.
- 4) JCRR, (1971). Common food fishes of Taiwan. Fisheries Ser. No. 10, 60 p. (in Chinese with English summary)

- 5) JCRR, (1977). Reports on fish disease research (I) Fisheries Ser. No. 29, 61 pp.
- 6) Kou, G. H. (1975). The effects of some factors on the pathogenic test of *Aeromonas hydrophila*. J. Fish. Soc. Taiwan 4: 1-6.
- 7) McCarthy, D. H. (1976). Vibrio disease in eels. J. Fish. Biol. 8: 317-320.
- 8) Porres, J. M., and R. E. Stanyon. (1974). One-tube oxidation fermentation test. Amer. J. Clin. Path. 61: 368-374.
- 9) Shotts, E. B., and R. B. Rimler. (1973). Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. Appl. Microbiol. 26: 550-553.
- 10) Shotts, E. B., and G. L. Bullock. (1975). Bacterial disease of fishes: Diagnostic procedures for Gram-Negative pathogens. J. Fish. Res. Board Can. 32: 1243-1247.
- 11) Shotts, E. B., and G. L. Bullock. (1976). Rapid diagnostic approaches in the identification of Gram-Negative bacterial diseases of fish. Fish. Pathol. 10: 187-190.



# 南非及美國東北岸產鰻線寄生蟲病之初報

王元隆·余廷基\*

## A Preliminary Report on Parasitic Diseases of South Africa's Glass Eels (*Anguilla mossambica*) and Northeastern America's Glass Eels (*Anguilla rostrata*)

Yuan-Loong Wang and Ting-Chi Yu\*

### Abstract

Parasitic diseases of elvers imported from Northeastern America and South Africa were reported. Two Ciliates, one sporozoan, one tremetode and one copepode were responsible for these diseases. None of these parasites were endemic. Strick quarantine measurement is suggested for future procuration of elvers from these areas.

### 緒 言

近年來，本省養鰻業者曾不斷地自國外地區引進日本鰻 (*Anguilla japonica*) 以外品種之鰻線供行試養<sup>(1, 2)</sup>，期能克服省產鰻線日益匱乏之困境。筆者曾對由美國東北岸波士頓地區進口之 *Anguilla rostrata* 鰻線，及自南非開普敦地區進口之 *Anguilla mossambica* 鰻線抽樣詳加檢查，發現大多數均於原產地即感染寄生蟲疾病。如未能及時施以適當之治療處理，往往因病況蔓延及週環境上的突然變化，而引起罹病體弱之鰻線大量死亡，造成損失。

### 材 料 與 方 法

*Anguilla mossambica* 和 *Anguilla rostrata* 之鰻線分別於 1978 年 3 月由南非開普敦和同年 6 月由美國波士頓空運來臺。上述鰻線甫運抵本分所，即進行檢疫之工作。鰻線體形大小在 *A. mossambica* 為每公斤 6,000 尾，*A. rostrata* 每公斤為 5,000—6,000 尾。以逢機取樣方式各取 20 尾，進行寄生蟲之檢驗工作。原生動物以新鮮標本直接觀察，或以甲基藍、苦味酸等染料行染色觀察；甲殼類及吸蟲類由外型直接觀察，並根據 Hoffman<sup>(3)</sup>，佐野德夫<sup>(4)</sup> 及江草周三等<sup>(5)</sup> 諸文獻判斷其屬名。

### 結 果

*Anguilla mossambica* 鰻線普遍發現感染白點蟲 (*Ichthyophthirius multifiliis*)、車輪蟲 (*Trichodina* sp.)、粘孢子蟲 (*Myxidium* sp.) 及長頸蟲 (*Clavella* sp.) 等寄生蟲。*Anguilla rostrata* 鰻線亦普遍發現感染白點蟲 (*I. multifiliis*)、車輪蟲 (*Trichodina* sp.)、指環蟲 (*Dactylogyrus* sp.) 及粘孢子蟲 (*Myxidium* sp.) 等寄生蟲。

茲將其病徵及防治方法分述於下：

\* 臺灣省水產試驗所、鹿港分所  
(Lu-kang Branch, Taiwan Fisheries Research Institute.)

### 一、原生動物 (Protozoa) 寄生蟲：

(1) 白點病原蟲 (*Ichthyophthirius multifiliis*)：白點病原蟲為圓形全毛類纖毛蟲 (holotrichous ciliates)，它主要侵襲鰻線的皮膚和鰓。此種纖毛蟲活動力強，能破壞鰓部微血管組織及吸食血液<sup>(6)</sup>，並使鰻線體表呈疣狀的囊胞體。如遇水溫連續數天降低到 22°C 以下，則病況更形嚴重，往往形成大量死亡。

防治對策：以孔雀綠 0.1 ppm 加福馬林 15 ppm 實施隔日藥浴法<sup>(7)</sup>，每次連續 12 小時，共藥浴二次，治療效果甚佳。另以 1% 食鹽水浸浴 5—7 天，對白點蟲之驅逐亦有效。

(2) 車輪蟲 (*Trichodina* sp.)：車輪蟲主要寄生在鰻線之鰓部，其纖毛的轉動靈活，蟲體運動非常活潑。該蟲寄生常造成鰓部組織的破壞，粘液分泌異常，導致呼吸困難，因此病重者常浮於水面，終至死亡。

防治對策：使用福馬林液 25-32 ppm 藥浴治療。

(3) 粘孢子蟲 (*Myxidium* sp.)：於鰻線體表潰爛處往往能發現大量的粘孢子蟲及其梭形孢子，並於鰓薄板形成栓狀孢子囊。

防治對策：尚無有效的治療方法，宜於日常清池後施放漂白粉等消毒劑將魚池徹底消毒，以減低罹病的可能性。

### 二、吸蟲類 (Trematoda) 寄生蟲：

在部分鰻線之鰓部有指環蟲 (*Dactylogyrus* sp.) 寄生 (Fig. 1)，扁平蟲體的頭部有四個眼點呈方形排列，尾部具吸盤，用以吸住寄主鰓部組織作尺蠖式之移動。能破壞鰓部組織，並以鰓部之粘液及血液為食物。感染指環蟲之鰻線常呈呼吸困難之現象。



Fig. 1. Adult organisms of *Dactylogyrus* sp. ×100

防治對策：以福馬林液 25-32 ppm 藥浴治療，或以地特松 0.3-0.5 ppm 施以藥浴。

### 三、撓腳類 (Copepoda) 寄生蟲：

長頸蟲 (*Clavella* sp.) 寄生於鰓部，雌蟲之頭胸部延伸成管狀，與軀幹成V字型彎曲因以得名。(Fig. 2) 體長約為 1.6 mm，軀幹後端生殖孔附近有一對卵囊，長約 0.4 mm。此種寄生蟲在本省為初次發現。

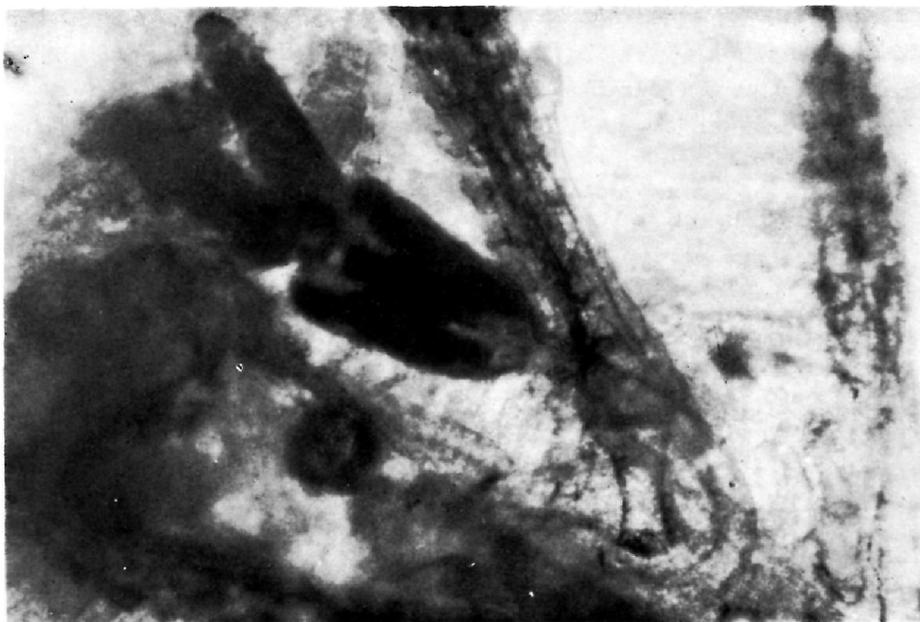


Fig. 2. Microscopic view of *Clavella* sp. on the gill glass eel. x40

防治對策：經數次大量更換淡水後，即不再發現此種寄生蟲之存在。

### 討 論 與 建 議

長頸蟲 (*Clavella* sp.) 於日本沿岸洄游性魚類身上常被發現，其頭部前端有一對顎角用來銜住宿主組織並吸食血液。較著名的有寄生虎河魨的 *Clavellopsis hugu* (YAMAGUTI, 1939)，及寄生於嘉鱖魚之 *Clavellopsis sargi* (KURZ, 1877)<sup>(8)</sup>。Polyanskii (1955) 曾報導蘇俄巴倫支海所產之鱈魚鰓部，口部及鰭條上有 *Clavella uncinata* (Müller) 寄生。Wares (1971) 曾報導 *Clavella* sp. 寄生蟲對美國奧立岡州 Yaquina Bay 一年以下的“pile perch” (*Rhacochilus vacca* (Giard)) 造成危害<sup>(9)</sup>。Dr. Z. Kabata (1970) 亦曾報導底棲性的 *Macrourous berglax* (鼠尾鱈科 Macrouridae) 鰓部發現 *Clavella adunca* (Strom) 寄生蟲<sup>(9)</sup>。但迄今仍無對淡水魚構成大量危害之報導。

在水溫連續數天低於 22°C 之情況下，常對感染白點蟲之鰻線的生存構成很大的威脅；此時若再遇車輪蟲，指環蟲、粘孢子蟲等同時發生，往往造成鰻線大量死亡。故日後於冬季或春初氣溫不穩定之際，自外國進口鰻線應特別注意此等疫病之傳入。一旦發現則應立即採取有效的治療處理，以防蔓延。

此次由南非及美國等地進口鰻線均經機場海關之檢疫處理，惟檢疫僅針對霍亂疾病之病原菌，顯示現行之進口檢疫措施亟有待加強檢討與改進，否則因此一疏忽而致每年耗費外匯自國外進口鰻線及各種魚苗，却同時引進各種外來的疫病，將會造成本省魚病防治上的莫大困擾。

## 摘 要

本報告記載1978年3—6月間由南非及美國東北岸所進口至本省之鰻線，所發現之寄生性疾病及其防治對策。

於南非產鰻線*Anguilla mossambica* 經發現感染白點蟲 (*Ichthyophthirius multifiliis*)、車輪蟲 (*Trichodina* sp.)、粘孢子蟲 (*Myxidium* sp.) 及長頸蟲 (*Clavella* sp.)。於美國東北岸產鰻線 *Anguilla rostrata* 經發現感染白點蟲 (*I. multifiliis*)、車輪蟲 (*Trichodina* sp.)、指環蟲 (*Dactylogyrus* sp.) 及粘孢子蟲 (*Myxidium* sp.) 等寄生蟲。

## 謝 辭

本試驗係賴農復會加速計劃之經費得以完成。並承臺灣大學動物系郭光雄博士之指導，省水產試驗所所長李燦然博士熱心鼓勵及本分所技正郭河先生提供寶貴意見，謹此誌謝。

## 參 考 文 獻

- 1) 郭河 (1977). 鰻線之調查鑑定, 養魚世界 No. 8: 23-26.
- 2) 農復會漁業組 (1978). 進口美國種鰻苗 (*Anguilla rostrata*) 養殖實況調查, 漁牧科學5 (9) : 13—17。
- 3) Hoffman, G. L. (1976). Parasites of North American freshwater fishes.
- 4) 佐野徳夫 (1968). 魚類寄生蟲 (原生動物篇)
- 5) 江草周三等 (1974). 魚病診斷指針コイ、ウナギ、ハマチ。
- 6) \_\_\_\_\_ (1975). 魚病診斷指針サケ、マス類、アユ、タイ。
- 7) \_\_\_\_\_ (1976). 魚病診斷指針 (追補篇) 金魚、車工ビ、スシボン、その他、日本水産資源保護協會。
- 8) Duijn, C. V. (1973). Diseases of fishes. 3rd ed. p. 36-51.
- 9) 李媽彬 (1977). 美國鰻白點病治療法, 中國水產 No. 294: 14-15.
- 10) 岡本亮 (1970). 魚の病氣と治療法, p. 115-126.
- 11) Rvssell, F. S. and M. Yonge (1973). Advances in marine biology. p. 141-169.

行政院農委會圖書室



0014499