



甲魚養殖場環境衛生菌 調查業務報告

鄭劭蕙、黃子鳴、涂堅 本所生物研究組

前言

甲魚俗名鱉（圖 1），為棲息於淡水環境中的爬蟲類動物，分部於非洲、亞洲、北美洲等地區。喜愛爬蟲類動物的人會飼養甲魚當作寵物，而在東亞地區，尤其是華人地區與日韓等國，則將甲魚視為營養豐富的食物，自古以來就是皇族與饕客的名菜之一，本草綱目認為其為上等養生食材，富含膠質與蛋白質等。在臺灣，甲魚養殖業主要分布於中南部，以屏東為最大飼養面積，還包括臺南、彰化、雲林、高雄等縣市，所飼養的甲魚主要以生產甲魚受精蛋（圖 2）提供外銷所用，另國內也有食用甲魚與甲魚蛋的族群，2012 年約有 3 億顆甲魚蛋外銷大陸，創造約 15 億的年產值（一顆蛋以 5 元進行估算）。

由於甲魚可供玩賞與食用，微生物病原可藉此途徑感染人類，在臺灣 1997-2000 年間陸續有 8 例本土霍亂病例，因生食受污染的甲魚蛋或因處理生甲魚時不慎污染其他食材，而感染霍亂弧菌（血清型 O139）。甲魚蛋為兩岸經濟協議早收清單之一，為因應國際與輸出大陸日益嚴格之衛生規範要求，以及提升國際競爭力，本所受委託進行甲魚養殖場衛生菌調查。進行調查的項目為水中可能危害人類健康之病原微生物，包括沙門氏菌（*Salmonella* spp.）與大腸桿菌（*Escherichia coli*）O157:H7 血清型以及霍亂弧菌（*Vibrio cholerae*），甲魚生活於水中，故其活體與甲魚蛋易遭受環境細菌污染，而這些細菌對甲魚本身沒有病原性，不造成甲魚生病，我們利用採取甲魚肛門拭子樣本的方式，來進行甲魚體內衛生菌的分離與鑑定（圖 3）。

大腸桿菌 O157:H7

是屬於一種腸血型大腸桿菌 (*Enterohemorrhagic Escherchia coli* ; EHEC)，可以產生志賀毒素 (Shiga Toxin) 造成人類血痢、凝血功能問題、腎臟衰竭，甚至死亡。大腸桿菌 O157:H7 引起的食物中毒，有源自於絞肉、生牛奶、果汁、菠菜的案例。臺灣沒有本土大腸桿菌 O157:H7 爆發的病例，目前僅在 2001 年曾有自美返國度假幼童出現感染大腸桿菌 O157:H7 所引起之溶血性尿毒症候群病例。國外研究顯示大腸桿菌 O157:H7 的傳染窩 (Reservoir) 主要為牛隻，而臺大獸醫系周晉澄教授研究發現，自北部與東部牧場牛隻分離大腸桿菌 226 株中有兩株為 O157:H7，可知大腸桿菌 O157:H7 存在於臺灣養牛牧場環境中，但比例極低，而在我們 3 年來的監測中，甲魚養殖場至今仍未分離出大腸桿菌 O157:H7。

沙門氏桿菌

沙門氏桿菌廣泛地存在大自然中，可以在脊椎動物的消化道中，同時也可以存在池水的沉澱物中，有些原蟲類亦可當作是沙門氏桿菌的傳染窩。沙門氏桿菌可以藉由交叉污染的方式進入食物系統，包括肉品、雞蛋、海鮮以及蔬菜水果等。有時在處理完青蛙或烏龜等寵物後（甚至接觸牠們的水、土壤以及食物後）接觸食物而污染食物，進而將沙門氏桿菌傳播給人類而引起疾病。中興大學獸醫系張照勤教授曾調查臺灣爬蟲類寵物的沙門氏桿菌污染情形，發現沙門氏桿菌在烏龜的分離率為 24.3%。而在調查甲魚養殖場的結果顯示，甲魚養殖場污染沙門氏桿菌的比率極高。在污染場中的甲魚與養殖戶均無任何臨床症狀，但藉糞便與水源污染食物與飲水而感染人類的可能性仍在，故衛生宣導及環境改善仍需加強。

霍亂弧菌

霍亂弧菌為水中常在菌，可生活在淡水中，亦可生活在約 3% 的鹽水中，水中節肢動物、水生植物、原蟲、雙殼類、水鳥，甚至水中的無生物，都可以分離到霍亂弧菌，所以水產動物包括牡蠣、龍蝦、魚類、蝦等常可分離出霍亂



弧菌。霍亂弧菌中有兩個血清型 O1、O139 是有莢膜（Encapsulated）的，可產生霍亂毒素（Cholera Toxin；CT）的 O1、O139 血清型霍亂弧菌，被認為是造成霍亂的病原，過去世界 7 次霍亂大流行，均是產毒性 O1 血清型的霍亂弧菌造成；1992 年孟加拉發現亞洲新型霍亂的爆發，病原則是產毒性 O139 血清型霍亂弧菌。非 O1/O139 血清型霍亂弧菌通常不會產生霍亂毒素，但美國曾報告產霍亂毒素的 O141 與 O75 血清型霍亂弧菌，會造成類似霍亂的症狀，而在我們調查甲魚養殖場的結果也發現，些許非 O1/O139 血清型霍亂弧菌仍會產生霍亂毒素。美國疾管局公告資料中認為，此類霍亂弧菌會造成腸胃的症狀，僅有少數慢性病患與免疫抑制者才會發生腸胃道以外的感染，例如：敗血症。這與會造成世界性流行的產毒性 O1、O139 血清型霍亂弧菌相差甚遠，故在進行霍亂弧菌分離與鑑定時，確認血清型與是否產生霍亂毒素是重要的。我們利用多重聚合酶鏈鎖反應的方式，來分辨霍亂弧菌是否為 O1、O139 血清型以及是否攜帶產生霍亂毒素的基因 *ctxA*（圖 4），之後血清型的部分再用抗血清進行確認。甲魚養殖場分離出的霍亂弧菌大部分都是不產霍亂毒素且非 O1/O139 血清型的霍亂弧菌，僅有 4% 的甲魚養殖場檢出產毒性 O1、O139 血清型霍亂弧菌。

甲魚養殖場環境衛生菌分離

除了甲魚肛門拭子可以分離到衛生菌外，養殖場環境中亦可以分離到霍亂弧菌與沙門氏桿菌，我們進行底泥、池水與下雜魚飼料衛生菌調查，以底泥和池水污染率較高，所以養殖場需要注意養殖池的消毒以及水源的管控，避免誤用到其他養殖池的排放水或是被病原污染的水源，也需要確實進行空池時翻池曝曬的工作。此外用來餵食甲魚的下雜魚飼料也檢出霍亂弧菌與沙門氏桿菌，為避免衛生菌藉下雜魚污染養殖場，應選擇新鮮高品質的魚隻做為飼料，或研發人工合成甲魚飼料，或以加熱方式處理下雜魚，以達到降低污染或殺死霍亂弧菌與沙門氏桿菌的效果。

結語

以執行 3 年的甲魚養殖場衛生菌調查，了解沙門氏菌在甲魚養殖場的污染比例高，而霍亂弧菌雖有分離到，但以不會造成霍亂流行的不產毒非 O1/O139 血清型霍亂弧菌為主，利用此項調查結果進行乾淨甲魚養殖場的篩選與登記，可以促進甲魚蛋快速地通關主要貿易國，亦可了解養殖場衛生菌污染的狀況，提供甲魚養殖戶進行改善的動力，且在這些衛生菌尚未影響至人類造成公共衛生問題前，受到關注且獲得改善。



圖 1、甲魚（俗名鱉）。

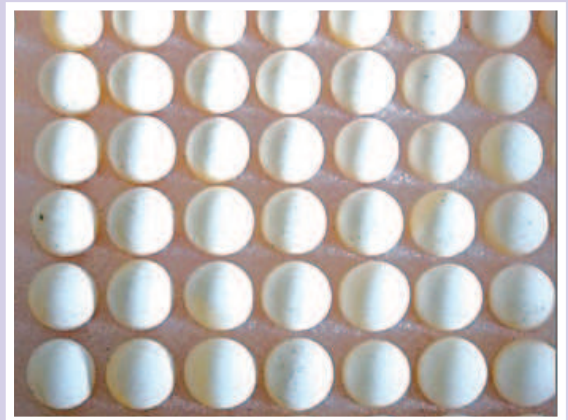


圖 2、甲魚蛋。



圖 3、採取甲魚肛門拭子，利用此樣本進行衛生菌的分離與鑑定。

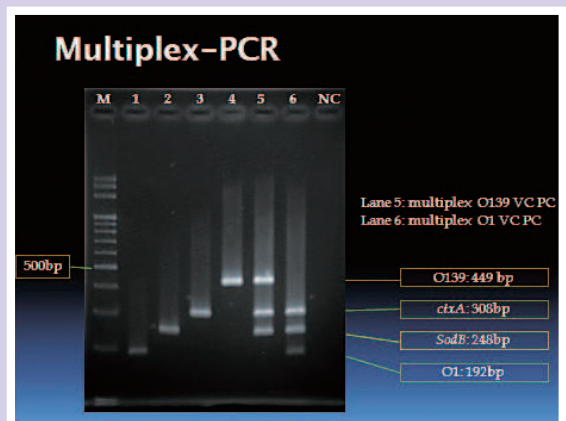


圖 4、多重聚合酶鏈鎖反應 (multiplex PCR) 確認霍亂弧菌分屬於 O1 或 O139 血清型以及是否具有毒素基因 *ctxA*。



參考文獻

1. Chen CY, Chen WC, Chin SC, Lai YH, Tung KC, Chiou CS, Hsu YM, and Chang CC. Prevalence and antimicrobial susceptibility of salmonellae isolates from reptiles in Taiwan. *J Vet Diagn Invest* 22: 44-50, 2010.
2. Kaysner CA and Depaola A. U.S. Food & Drug Administration. *Vibrio Bacteriological analytical manual* chapter 9, 2009.
3. Petsaris O, Nousbaum JB, Quilici ML, Coadou GL, Payan C, and Abalain ML. Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* bacteraemia in a cirrhotic patient. *J Med Microbiol* 59: 1260-1262, 2010.
4. Yang CC, Lee BJ, Yang SS, Lin YH, and Lee YL. A case of non-O1 and non-O139 *Vibrio cholerae* septicemia with endophthalmitis in a cirrhotic patient. *Jpn J Infect Dis* 61: 475-476, 2008.
5. Hoshino K, Yamasaki S, Mukhopadhyay AK, Chakraborty S, Basu A, Bhattacharya SK, Nair GB, Shimada T, and Takeda Y. Development and evaluation of a multiplex PCR assay for rapid detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 and O139. *FEMS immunology and medical microbiology* 20: 201-207, 1998.
6. Wong HC, Liu DP, Liu SH, Chung YC, and Shimada T. Characterization of *vibrio cholerae* O139 isolated in Taiwan. *Food Microbiol* 19: 653-661, 2002.
7. Son MS, Megli CJ, Kovacicova G, Qadri F, and Yaylor RK. Characterization of *vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *J Clin Microbiol*: 3739-3749, 2011.
8. Hin-Chung Wong, Ding-Ping Liu, Shu-Hui Liu, Yu-Chun Chung and Toshio Shimada. Characterization of *Vibrio cholerae* O139 isolated in Taiwan. *Food Microbiol* 19: 653-661, 2002.
9. Onifade TJM, Hutchinson R, Zile KV, Bodager D, Baker R, and Blackmore C. Toxin producing *Vibrio cholerae* O75 outbreak, United States, March to April 2011.
10. Tarr CL, Patel JS, Puhr ND, Sowers EG, Bopp CA, and Strockbine NA. Identification of *Vibrio* isolates by a multiplex PCR assay and *rpoB* sequence determination. *J Clin Microbiol*: 134-140, 2007.
11. Vezzulli L, Pruzzo C, Huq A, and Colwell RR. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae* and their role in cholera. *Environmental microbiology reports* 2: 27-33, 2010.
12. 衛生福利部疾病管制署，傳染病介紹，霍亂（Cholera）。
13. 行政院衛生署疾病管制局傳染病標準檢驗方法 - 霍亂弧菌弧菌分離與鑑定，305-317。