

溶藻弧菌快速檢測套組之研發

張錦宜、吳嘉哲、林金榮
水產養殖組

近年來國內養殖九孔病害愈趨嚴重，疾病防治及健康管理已成為影響產業之重要課題，其中尤以幼苗附板初期發生之大量脫落死亡情形最為嚴重，一度造成九孔種苗來源匱乏，影響產業甚鉅。養殖業者因為無法研判九孔的死亡是否因特定病原引起，胡亂投藥的結果，不但無法提高存活率，反讓水產品蒙上藥物殘留的陰影，更讓產業雪上加霜、無以為繼。

根據國內外專家學者的研究，養殖九孔的細菌性病原中以溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 危害最烈，但養殖業者缺乏可以有效檢測此一病原的現場實用工具。有鑑於此，本組乃致力於「溶藻弧菌快速檢測套組」之研發。本檢測套組原型利用市售 96 孔微量血清盤 (96 well microtiter plate) 為容器，每一孔中預置 150 μ l 之試劑，檢測時滴加 40 μ l 之檢體，於 40°C 反應 6–24 小時，若試劑從無色變為藍紫色 (圖 1)，則表示檢體中有溶藻弧菌。

以 25 株台灣水產常在菌標準菌株懸浮液為試驗檢體，逐一以上述檢測方法測試本套組

之呈色反應，結果只有溶藻弧菌檢體會出現藍紫色之呈色反應，腸炎弧菌 (*V. parahaemolyticus*) 則呈現淡紫色，不過此兩種顏色可以輕易以肉眼區別。將分離自嘉義鰻魚養殖池、台東九孔養殖池及澎湖牡蠣養殖場之 30 株淡水常在菌及 30 株海水常在菌，分別以 16S rDNA 技術及本套組進行鑑定。結果顯示，自田間分離出的 5 株溶藻弧菌，使用本套組鑑定時均呈現與 16S rDNA 鑑定結果相符的陽性反應，但所分離到的 3 株腸炎弧菌，其中有 1 株 (自澎湖分離所得) 亦在本套組出現偽陽性反應，至於其他 52 株經鑑定不屬於上述兩種弧菌的淡、海水常在菌，在本套組中均呈現陰性反應。

「溶藻弧菌快速檢測套組」不僅可以專一性地檢測病原菌，還能根據呈色反應的時間，推定檢體中溶藻弧菌的數量 (圖 2)，因為兼具定性與定量的功能，可以長期監測養殖環境中病原菌的數量變化，適合在現場操作，不怕污染，將可成為協助養殖業者建立自主健康管理措施的絕佳工具。

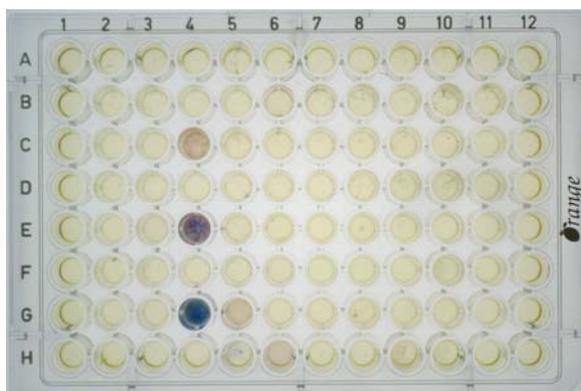


圖 1 溶藻弧菌檢測套組(VA-kit)原型外觀及檢測到溶藻弧菌後之呈色反應(E4 & G4)，腸炎弧菌則為淡紫色(C4)

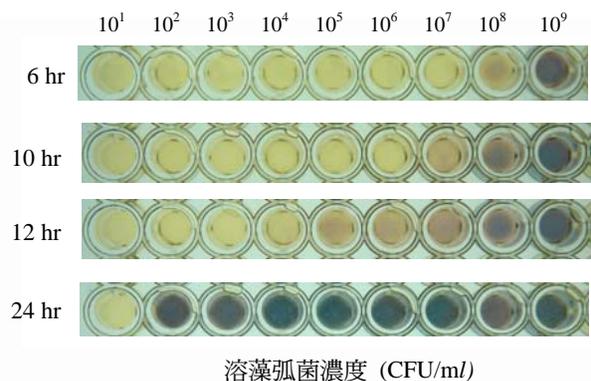


圖 2 檢體中溶藻弧菌數量與本套組呈色反應時間之關係