

五、生物技術在安全農業發展上之應用

台灣水產重要病原菌及衛生菌快速檢測套組之研發— 親水性產氣單胞菌快速檢測套組

張錦宜、吳嘉哲、林金榮
水產養殖組

發展快速、靈敏、省力的檢驗試劑為全世界疾病防治的重要研究方向。近年來，由於生物技術的日新月異，世界各國亦紛紛投入眾多研究人力，開發出若干水產動物疾病檢驗試劑。美國與日本已發展出準商品化的魚病檢測生物晶片，中國與台灣目前仍以實驗室級的核酸聚合酶鏈鎖反應系統為主。台灣投入此一領域的研究人力並不多，對研發成果商品化的市場仍有疑慮，惟各國的魚病主要病原菌有其區域性，即使美日研發成熟的產品並不一定適用於台灣。

根據各縣市動物疾病防治所的統計資料，台灣水產養殖的細菌性疾病，以親水性產氣單胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 檢出率最高，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，本組乃於 98 年科技計畫中，致力於「親水性產氣單胞菌快速檢測套組」(以下簡稱 A-kit) 之研發。本檢測套組原型採用「一點靈」簡單試劑 (Easy kit) 的極簡設計風格，每一管中預置 40 μL 之試劑，檢測時滴加 40 μL 之檢體，於室溫 (28 $^{\circ}\text{C}$) 反應 6–24 小時，若試劑從無色變為紅色 (圖 1)。則表示檢體中有親水性產氣單胞菌。

以 84 株台灣水產常在菌標準菌株及養殖環境分離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 *A. hydrophila* 檢體會出現紅紫色之呈色反應，此呈色反應可輕易以肉眼判別。與標準微生物學方法比較，本套組檢測靈敏度可達 100 CFU/mL。A-kit 不僅可以專一性地檢測病原菌，還能根據呈色反應的時間，推定檢體中 *A. hydrophila* 的數量；若檢體中 *A. hydrophila* 的數量 $> 10^8$ CFU/mL，A-kit 會在 6 小時以內變色；若介於 $10^6 - 10^8$ CFU/mL，變色時間為 12 小時以內；介於 $10^3 - 10^5$ CFU/mL，則 A-kit 會在 24 小時以內變色。此外，在 A-kit 內預置不同濃度的抗生素藥物即可製成 A-kit 藥物敏感性檢測套組 (A-kit plus susceptibility assay)，其操作方法與 A-kit 相同，只需添加 40 μL *A. hydrophila* 懸浮液於套組內，24 小時內出現紫紅色呈色反應者，為無效藥物 (圖 2)。以 A-kit 藥物敏感性檢測套組所得的試驗結果亦與 NCCL 標準方法結果相符。

本套組可準確地檢測並推估出檢體中 *A. hydrophila* 的數量，並可快速篩選出有效藥物，提供菌株抗藥性的警訊；又因為不需使用到繁雜的技巧或特殊的儀器設備，故適合實際應用於養殖現場之健康管理。善用此一簡易、快速的病原菌檢測工具，當可真正落實「預防勝於治療」的健康管理原則。

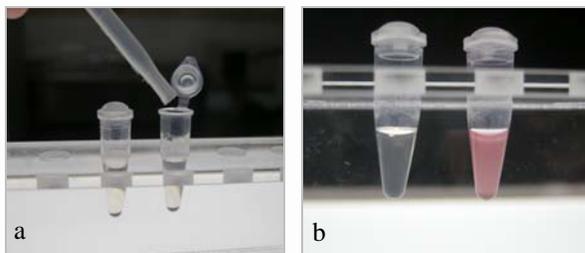


圖 1 使用「親水性產氣單胞菌檢測套組(A-kit)」的標準步驟。(a)以吸管取檢體 40 μL 添加於 A-kit 中；(b)於 6-24 小時後觀察，若 A-kit 變為紅紫色表示檢體有 *A. hydrophila*

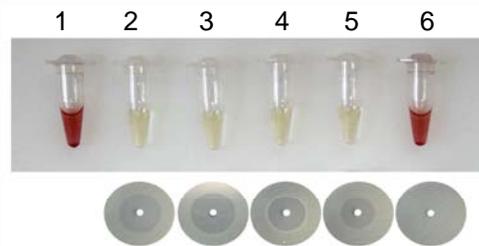


圖 2 A-kit 藥物敏感性試驗(上圖)與 NCCL 標準方法(下圖)所得結果之比較。1 為對照組，2-6 管分別為氟甲磺氯黴素、氟滅菌、歐索林酸、羥四環黴素、磺胺一甲氧嘧啶