

# 法朗西斯菌 (*Francisella* spp.)— 全球養殖漁場重要病原菌

鄧晶瑩、蔡惠萍、林金榮

水產試驗所水產養殖組

## 前言

法朗西斯菌感染魚隻的首例報告為1970年；2006年大西洋鱈魚養殖場曾因感染法朗西斯菌，造成挪威水產養殖業的嚴重經濟損失 (Hanne et al., 2011)。此菌亦可感染慈鯛科魚類，台灣於1992年於高雄首次發現由立克次體樣細菌感染引致吳郭魚大量死亡。本病多發生於冬季或春初，病魚之臟器抹片以劉氏染色法處理後，在單核球之細胞質內可見到立克次體樣病原。近年研究發現，本病原菌可能為 *Francisella*-like organism (李等，2005)。

法朗西斯菌感染症 (Francisellosis) 早年又稱為立克次體感染症 (*Rickettsia*-like organism infection)，現已統一將此病原正名為法朗西斯菌 (*Francisella*)。本病在歐洲、美洲及亞洲等地區都曾發生，此菌可同時感染海水及淡水魚，吳郭魚、條紋鱸、觀賞用慈鯛、大西洋鱈魚與大西洋鮭魚等皆有病例報告，但目前尚無魚類法朗西斯菌會感染人類之報告 (Birkbeck et al., 2011)。

## 病原性及分類

屬於 *Francisella* 菌種的細菌，是一種無

運動性，嚴格好氧，絕對細胞內寄生的革藍氏陰性球桿菌 (Foley et al., 2010)。根據 16S rRNA 基因序列，最接近之近親為病原菌 *Piscirickettsia salmonis*，人畜病原菌方面則和 *Coxiella burnetti*、*Legionella* spp. 較接近。早年之研究曾依據其生化特性及毒力，分成四亞種：*F. tularensis*、*F. holaretica*、*F. mediasiatica*、*F. novicida*。*F. tularensis* 為引起人畜共通傳染病之土拉倫斯病病原；*holaretica* 亞種和 *mediasiatica* 亞種常由水生動物及與水有關的感染病例中分離出；*novicida* 亞種則感染免疫系統功能喪失之動物 (劉等，2004)。目前本菌已被確認為 Bacteria 界、Proteobacteria 門、Gammaproteobacteria 綱、Thiotrichales 目、Francisellaceae 科、*Francisella* 屬、又分為 *tularensis*、*philomiragia*、*novicida*、*piscicida*、*hispaniensis*、*noatunensis* 六個種 (Sjodin et al., 2012)。

但從1995年開始，本菌感染不同魚種之病例報告被陸續發表後，發現不同種之法朗西斯菌所感染之魚、貝種類皆不同 (表1)，例如鱈魚會感染 *Francisella philomiragia*，吳郭魚則感染 *F. noatunensis* subsp. *orientalis* 或 *F. asiatica* (Birkbeck et al., 2011)。

## 病原分離及鑑定

法朗西斯菌生長速度較為緩慢，以 Thayer-Martin agar 培養，23°C 時約需 3–6 天，生長的菌落呈現光滑灰白色澤。最適合生長溫度為 23–28°C，35°C 以上無法生長。此菌為絕對需氧菌，不具運動性，nitrate、beta-galactosidase 和 resazurin 還原反應為陰性，可水解 glucoside、ONPG、L-arabinosede、leucine、和 glycine。Catalase 呈弱陽性，但

是對  $\beta$ -lactamase、proline 和 sucrose 反應則呈陽性 (Birkbeck et al., 2011；Hsieh et al., 2006)。因為本菌使用一般之培養基不易分離，通常須另外添加 cysteine、牛血或血鐵素等不同配方的特殊培養基，在適合的溫度下培養，細菌才會生長發育。因此應用 16S rRNA 及 16-23S internal transcribed sequence 方式增幅檢測方法便成為本病臨床常用之診斷方法 (Duncan et al., 2011；Soto et al., 2011)。

已知曾感染過 *Francisella* spp. 的魚貝種類

魚種	國家	海水或淡水	感染魚齡	養殖場或野生	病原菌分離	肉眼及組織病變	分生診斷	參考文獻
亞特蘭大鱈魚	挪威	海水	成魚	兩者皆有	陽性	陽性	陽性	Olsen et al., 2006
大西洋鮭魚	智利	淡水	幼鮭 (降海前)	養殖場	陽性	陽性	陽性	Birkbeck et al., 2007
大西洋鮭魚	北海	海水	成魚	野生	陰性	陽性	陽性	Bucke., 1989
吳郭魚	台灣	兩者	苗~成魚	養殖場	陽性	陽性	陽性	Hsieh et al., 2005
吳郭魚	美國	淡水	苗~成魚	養殖場	陽性	陽性	陽性	Soto et al., 2009a, b
吳郭魚	夏威夷 美國	淡水	苗~成魚	養殖場	陽性 (只有細胞培養)	陽性	陽性	Mauel et al., 2003
吳郭魚	英國	淡水	苗~成魚	養殖場	陰性	陽性	陽性	Jeffery et al., 2010
三線磯鱈	日本					陽性	陽性	Kamaishi et al., 2005
觀賞慈鯛科 (約 11 種)	台灣	淡水	仔魚~成魚	養殖場	陰性	陽性	陽性	Hsieh et al., 2007
加州雜交條紋鱸	加州 美國	淡水	仔魚~成魚	養殖場	陽性	陽性	陽性	Ostland et al., 2006
鮑魚	日本	海水	成魚	養殖場	陽性	陽性	陽性	Kamaishi et al., 2010

譯自 Birkbeck et al., 2011

## 肉眼症狀及組織病變

此病特徵性病變為內臟組織，尤其脾、腎及肝臟可以看到多發、慢性肉芽腫結節，許多病例在鰓亦會有粟粒樣肉芽腫，腹腔中亦會有大量帶血腹水 (Olsen et al., 2006; Chen et al., 2009) (圖 1)。脾臟可見黃白色結節，呈多發至融合的病灶分布於脾臟實質組織中，肉芽腫病灶內已無正常組織結構，結節由巨噬細胞及類上皮細胞所取代 (圖 2)。以革藍氏染色切片觀察，部分吞噬細胞空泡



圖 1 鰓絲黏液增生及多量白色粟粒樣結節，頭腎及肝臟皆可見密發、多量白色肉芽腫結節

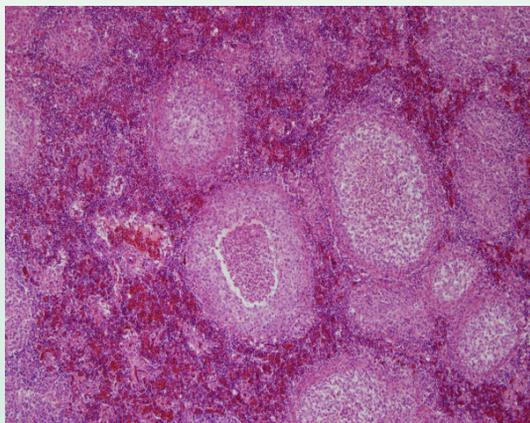


圖 2 以顯微鏡觀察病魚脾臟可見多發至融合的病灶分布，肉芽腫病灶內已無正常組織結構，由巨噬細胞及類上皮細胞所取代 (200 倍)

內有不等量的革藍氏陰性球桿菌 (劉等，2012)。

## 流行病學

挪威學者將不同國家、區域及不同魚種發病魚的肝臟和脾臟所分離的 *Francisella* spp. 細菌株，以腹腔注射方式接種不同魚種魚隻，以研究其細菌毒力、鹽度及溫度與疾病發生之關連，並探討疾病爆發與細菌適宜生長之相關因子 (Marianne et al., 2008)。結果顯示，*F. philomiragia* 在 20–37°C 可生長發育，*F. noatunensis* subsp. *orientalis* 及 *F. noatunensis* 最適宜生長溫度為 15–34°C，37°C 時則不會發育 (Ottem et al., 2009; Mikalsen & Colquhoun, 2010)。Mauel 等 (2003) 將夏威夷吳郭魚飼養於 21.5–26.3°C 的溫度，魚隻較易發生法朗西斯菌感染，若將溫度增加至 26.5–29.2°C 後，魚隻即不再出現死亡。美國中部則發生在魚隻因換池進行搬運，池水濁度增加或水溫遽烈變化後，死亡率顯著增加的情形。由此看來，菌種、魚種和溫度三者關係是決定疾病發生最重要之原因。

台灣吳郭魚病例多爆發於冬春之際，水溫低或寒流影響使溫度遽烈變化時 (劉等，2012)，養殖吳郭魚池水若為循環系統或相互可流通者對此病之感受性較封閉式高，淡水、半鹹水及海水飼養皆會感染 (Hsieh et al., 2006)。根據報告指出，吳郭魚感染法朗西斯菌後，部分養殖池魚隻死亡率可達 95% (Chen et al., 1994; Chern & Chao, 1994)。Wangen 等 (2012) 本來認為，蚌貝類是在海

洋中散播疾病的元兇，經實驗證明，蚌貝類並不會直接傳播疾病給鱈魚，但已感染法朗西斯菌之蚌貝所排遺的糞便，其中所含的細菌是具有感染性的；而此種含菌糞便可經由海洋生物食物鏈傳播疾病，其危害是不可輕忽的。

## 控制及處理

鱈魚或其他魚種之法朗西斯菌感染症，抗生素雖被認為可有效控制疾病蔓延，但報告並不多。Ottem et al. (2007) 測定病原株對抗菌劑的感受性，結果 ceftazidime、tetracycline、gentamycin 和 ciprofloxacin 等藥物對細菌有感受性，而 oxolinic acid 則只對部分細菌有感受性。Soto et al. (2010) 報告指出，florfenicol 可有效治療實驗室感染的吳郭魚，因使用藥物後感染魚隻巨噬細胞內之細菌量有明顯減少。雖然研究結果認為細菌對四環黴素 (tetracycline) 是有感受性，但臨床治療效果不彰；使用羥四環黴素 (oxytetracycline) 添加於飼料中，亦被用於治療出現感染症狀的魚隻 (Mauel et al., 2003)。現在國外可合法使用氟甲磺氧黴素 (florfenicol) 15 mg/kg 魚體重添加於飼料中用於治療本病。至於尚有何種抗菌劑可有效控制本病，是目前有待努力之研究課題。

目前台灣吳郭魚養殖場常見本病之發生，若有寄生蟲或鏈球菌混合感染時，死亡率每日可達數百公斤以上。因該菌為細胞內寄生，所以用藥量常需加倍，治療時間也要加長，臨床上可用羥四環黴素 100 mg/kg/日治療 10 日以上，或以氟甲磺氧黴素 20 mg/kg/

日治療 7 日以上，但冬天魚類食慾降低與病魚不願攝食，常常導致治療效果不如預期 (劉等，2012)。

細胞內寄生之細菌很難使用疫苗防治，但已有使用減毒之 *F. notaunensis* subsp. *orientalis* igIC 變異株菌疫苗接種吳郭魚後，再以病原性 *F. notaunensis* subsp. *orientalis* 細菌株感染吳郭魚，被感染之吳郭魚在感染後 192 小時，體內所有組織都不會有肉芽腫病變出現。因為，變異株菌疫苗會使病原菌在吳郭魚體內無法複製細菌造成組織病變，此發現使得  $\Delta$ igIC 變異株在應用於疾病控制時之效用更被期待，或許不久的未來可應用此種模式而發展為有效疫苗 (Soto et al., 2011; 2013)。

## 結語

歐盟水產基金會等相關機構對本病的清除計畫中載明，法朗西斯菌感染症現在並無有效疫苗可用來治療，部分研究雖認為細菌對四環黴素有感受性，但臨床治療效果不彰。已知本菌在罹病魚隻的皮膚及黏液中可長期活存，並利用水平方式傳播病原，造成疾病快速蔓延。所以選購無病原感染的魚隻養殖並嚴格執行現場的生物安全措施，才是控制本病發生的最有效策略 (www.marine.ie/fishhealth)。對於本病。未來須更進一步探討的議題除加速究明不同種 *Francisella* spp. 所感染之魚、貝種類外，應該對感染疾病後，魚體免疫病理學機轉有更深入的研究，才能對疫苗的開發與疾病的控制策略能有所助益。