

大牡蠣的微生物感染症

溫秋明

前言

大牡蠣 (*Crassostrea gigas*) 是全世界牡蠣養殖中，養殖最多的品種。大牡蠣原產於東亞至東南亞等沿海，而今，澳洲、北美和歐洲都有大量生產。在 1987 年，大牡蠣的總產量超過 100 萬公噸，由此可見大牡蠣的經濟價值。為此，有必要對大牡蠣會罹患的疾病及經營管理方式作檢討。本論文的目的，主要是歸納大牡蠣微生物感染症的特性、病原學、重要性及管理方式。

牡蠣面盤病毒病 (Oyster Velar Virus Disease, OVVD)

牡蠣面盤病毒病只發現於孵化場幼生期的大牡蠣，Elston 在 1979 年首先報告此疾病，之後，Elston 和 Wilkinson 在 1985 年更詳細的描述其病徵。

病徵

本病主要危害幼生期大牡蠣的面盤上皮組織。受感染的面盤上皮細胞會先失去纖毛，而後壞死脫落，脫落的上皮細胞在面盤上看起來似「面盤起胞」。隨著感染細胞逐漸增加，幼生漸漸失去浮游的能力。

組織切片可見到面盤纖毛上皮細胞的細胞質內含有 $1.2 \sim 2.4 \mu\text{m}$ 的包涵體。感染早期的包涵體呈球形，緻密且為嗜鹼性，當病毒顆粒形成後，包涵體的形狀變得不規則，且嗜鹼性降低。感染的細胞、細胞核及粒線體會伴隨細胞質內病毒質 (viroplasm) 的形成而脹大。由於在病毒粒子形成前，上皮細胞就開始脫落，因此隨著疾病的進展，失去纖毛的上皮細胞越來越多，脫落於外套腔的細胞也越來越多。

病原學

病原體經形態上的觀察，

病毒樣顆粒為 20 面體對稱，直徑約 $288 \pm 7 \text{ nm}$ ，似乎是虹彩病毒 (iridovirus)。病毒顆粒在形成包涵體的病毒質中組合，先形成的缺少核 (core) 的顆粒，再形成完整的病毒顆粒。病毒的形成，首先由兩重二層膜先略為觸及病毒質，接觸到病毒質後形成病毒外鞘，外鞘完成後，逐漸遠離病毒質並成熟。成熟的病毒顆粒，有一電子緻密的核，核與外鞘之間是一稍微緻密的區域。

流行病學上和經濟上的重要性

雖然牡蠣面盤病毒病只在美國華盛頓州的大牡蠣孵化場發現，但透過貿易，有可能會波及世界各地的大牡蠣。幼生期的大牡蠣是僅知會罹患 OVVD 的牡蠣及時期。此疾病由於曾在孵化場的大牡蠣幼生發現，因此野生的大牡蠣幼生也有可能罹患。

畜養在 $25 \sim 30^\circ\text{C}$ 的大牡

蠟幼生罹患此病後，通常在10天大，殼長大於150 μm 時會陸續死亡。在北半球，雖然此病通常發生於3月至5月，但疾病流行時，也曾持續至夏末。發現OVVD的孵化槽，其死亡率將近100%。至於影響OVVD發生的環境因子為何，目前仍不清楚。

預防和管理

雖然此疾病在太平洋圈的分布，可能比已知範圍更廣，仍應禁止罹患此疾病的大牡蠣幼生，被運往其他沒有發現此疾病的區域。目前不可能根除此疾病。假如感染大牡蠣幼生的病毒是源自成貝，那麼就可以選出一批沒有病毒(virus-free)的種貝，免除此疾病的危害。假如此疾病的自然感染路徑及步驟確立，才可施行有效的管理方法，減少孵化場的交叉污染。一旦確定感染此疾病，孵化槽便該立刻消毒，將大牡蠣幼生銷毀，設立嚴格的步驟，防止槽對槽散布。此步驟可使受感染的孵化場，控制在症狀不顯著的(subclinical)情況下。

類疱疹病毒感染

Hine, Wesnwy 和 Hay

於1992年，報告在紐西蘭 Mahurangi 孵化場的大牡蠣幼生發生疾病，在其損傷處，經電顯觀察可見到疱疹病毒樣的顆粒。

病徵

3~4天後的大牡蠣幼生，活力、進食及生長速率都變低，甚完全至停止。死亡率在第6天略高於60%，而第11天可達100%。遭感染的細胞有肌細胞、成纖細胞和體腔細胞(coelomocyte)，其細胞核脹大，細胞核的外型及染色質的分布都不正常。垂死的幼生，約有50%，其吞噬細胞內可見到退化的病毒粒子。

病原學

經電子顯微鏡的超微觀察，Hine 等人認為此疱疹病毒屬於 *Betaherpesvirinae* 亞科。遭感染的細胞，其細胞核內可見到卵圓形或六角形，直徑約 $97 \pm 4 \text{ nm}$ ，無被膜的

外鞘。細胞外，有被膜的病毒顆粒，直徑為 $131 \pm 9 \text{ nm}$ 。

流行病學和經濟上的重要性

雖然沒有關於此疾病感染後，經濟損失狀況的報告，但顯然的，此病有可能大量侵蝕孵化場的大牡蠣幼生。

預防和管理

預防和管理方法和OVVD

一樣，必須將遭感染的幼生銷毀，配合完善的操作步驟，可避免此疾病的危害。

弧菌病

弧菌病是條件性疾病，幾乎所有二枚貝的幼生都會罹患弧菌病。除了 *Vibrio tubiashii* 所造成的疾病是流行外，弧菌病大都是管理失當所致。

病徵

由於細菌侵入及其外毒素所造成的疾病。罹患弧菌病的大牡蠣幼生，其面盤破裂，浮游失常，常浮游於槽底，以弧菌攻擊大牡蠣幼生的

中，48小時後就可使幼生全數死亡。對於美國牡蠣，罹患弧菌病的幼生的面盤上皮細胞會出現纖毛掉落或細胞脫落的現象，弧菌沿著殼表侵入外套膜，造成進食困難及活力降低。

病原學

雖然弧菌病被認為是發生於集約養殖二枚貝的條件性疾病，然而 *Vibrio tubiashii*，尤其是從美國東北岸及英國東南岸分離出的菌株，被證實確實是二枚貝的病原菌。*Vibrio tubiashii* 在每毫升海水達 10^5 個細菌時，對大牡蠣的幼生危害嚴重。雖然有些弧菌培養液，煮沸後仍有毒性，但毒力還是以活菌較強。

其他弧菌屬或非弧菌屬的細菌，也曾在瀕臨死亡的大牡蠣幼生分離出來，這些細菌對某些區域或在某些情況下，也是致病性很强的病原菌。

Garland 等人 (1983) 以 5 株弧菌和 2 株 *Alteromonas* 的細菌實驗感染大牡蠣的幼生，證實這些細菌對大牡蠣的幼生有病原性。海水弧菌為革蘭氏陰性、兼性厭氧、非產氣、

含氧化酶的桿菌，在菌體的一端通常有鞭毛。Jeffries (1982) 和 Elston (1984) 都指出，發生弧菌病的孵化槽，行蔗糖發酵的弧菌的菌數指數都很高。以細胞外分解黃嘌呤的能力，可區分 *Vibrio tubiashii* 的各分離株。此弧菌為直形或弧形的短桿菌，在固體培養基上不會滑走，體側有短波狀的鞭毛，在 TCBS 瓊脂上，菌落平滑、圓形、呈黃色，要維持細胞最適合的生長條件，須添加 1.5~3% W/V 的氯化鈉。

流行病學上和經濟上的重要性

由於造成弧菌病的病原菌一弧菌在海水中是很普遍的細菌，因此在所有大牡蠣的孵化場都可能發生弧菌病。弧菌病的發生和水溫有關，通常發生於夏天，水溫較高時。假如大牡蠣孵化場的管理得當，一般來說，就不會發生弧菌病。雖然也試著用各種抗生素治療弧菌病，然而，由於抗生素對大牡蠣幼生有害且效用有限，因此用處不大。

預防和管理

假如種貝、藻類培養及海水進水系統等引進污染細菌的管道能妥善管理的話，就可防止疾病發生。在管理上，可以 TCBS 培養基（一種弧菌的選擇性培養基）監測這三種污染管道的弧菌數。要減少孵化槽的弧菌數，藻種及繁殖藻類時需培養在無病原菌的系統，建立良好的過濾設備和適當的換水率，以及維持這些設備的衛生。

蝶鰒病

蝶鰒病是很多二枚貝稚貝會罹患的疾病。此病最常發生於集約養殖的大牡蠣稚貝，而野生牡蠣是否也會發生，並不清楚。

病徵

牡蠣的蝶鰒為覆膜上皮組織 (pallial epithelium) 分泌的蛋白質組成的，雖然健康牡蠣的蝶鰒上也會有細菌堆積，但很少有腐蝕的現象。Dungan 和 Elston (1988)

發現罹患蝶鰆病的大牡蠣，蝶鰆之彈性部分，有緻密的噬纖維菌樣 (cytophaga-like) 的細菌形成的菌落，嚴重時會造成蝶鰆腐蝕穿孔，且細菌菌落都排列在腐蝕部分的右側。蝶鰆的組織切片顯示，侵入的細菌排列成柱狀，使牠們看起來像許多平行排列的細長的嗜鹼性細胞。蝶鰆受損的稚貝，常可見到覆膜下層的上皮組織遭細菌侵入。覆膜遭細菌侵襲後，會導致外套膜脫離外殼，而球形的死細胞和侵入的細菌一起排列在殼內側。蝶鰆被破壞後，可能會造成稚貝不能開殼，以致無法進食和呼吸。

病原學

罹患此病的大牡蠣稚貝的蝶鰆部分，可分離出噬纖維菌樣的細長滑走菌。以蝶鰆培養這些細菌，顯示可利用蝶鰆的成分為碳和氮原。這些細菌，在 10 ~ 20 °C 時，不但可在蝶鰆的表面增殖，也會侵入蝶鰆導致蝶鰆毀損，甚至將蝶鰆完全液化。

這些細菌培養於噬纖維菌瓊脂上，其菌落呈扁平、乾性

且邊緣有透明的根狀伸出。為黃色、革蘭氏陰性、含氧化酶且在固體培養基上能滑走的細菌，不僅可水解澱粉、酪蛋白和明膠，也可將明膠及瓊脂液化，其 G + C 的值在 32.4 ~ 32.9 之間。

流行病學上和經濟上的重要性

北美東岸及西岸養殖的大牡蠣稚貝都曾發現此疾病，且似乎所有的養殖二枚貝都可能罹患此病。雖然沒有記錄牡蠣稚貝罹患此病後的死亡數目，但仍可確定其死亡率很高。罹病的對象從著床期至殼高 1 cm 的稚貝都可以，越小越嚴重。由於稚貝都畜養在可調溫的環境，因此全年都可發生此病。

預防和管理

可以管理家畜的技術預防減少此疾病的發生。以 25 ppm 的次氯酸鈉每天消毒殼表 3 分鐘，可有效防止疾病發生。然而對於蝶鰆腐蝕嚴重之稚貝，由於次氯酸鈉無法深入殺死細菌，因此無效。

土壤絲菌病 (Nocardiosis)

大牡蠣的土壤絲菌病，

先由 Friedman 和 Hedrick 在 1991 年發表，為屬於土壤絲菌屬 (*Nocardia*) 的放線菌感染所造成的。此病先前被 Sindermann 和 Rosenfield (1967) 稱為「局部死」；Elston 等人 (1987) 稱為「毀滅性發炎細菌症」 (fatal inflammatory bacteremia)，後來 Friedman 等人 (1991) 定名為大牡蠣土壤絲菌病 (Pacific Oyster Nocardiosis, PON)。Imai 等人於 1966 年發表的「多樣性膿腫」 (multiple abscesses) 可能也是土壤絲菌病。Friedman 等人認為，造成美國太平洋西北岸的養殖牡蠣夏天大量死亡的，就是此病。

病徵

此病可造成圓的、黃白色、扁平或突起的損傷，此傷一般都大於 3 mm，位於外套膜和鰓表面。通常隨著晚

的進展，會在接近心臟和閉殼肌的附近，形成大又深的孔。損傷處，細菌、浸潤的血球和變死的組織形成膿腫。

組織切片可在靠近胃部、肝晶囊和腸道的結締組織的間隙及生殖腺的濾泡和生精管，發現深染的嗜鹼性、革蘭氏染色陽性、PAS陽性的分枝狀細菌形成的菌落。此細菌可誘發寄主血球細胞的浸潤。在組織切片上，可見到許多血球細胞聚集在失去外鞘的細菌周圍。嚴重感染的牡蠣，會在結締組織、鰓組織、唇瓣、心腔、濾泡、閉殼肌及外套膜上皮組織下層等區域，形成多樣性壞死。在感染末期，血球浸潤並佔滿整個結締組織。在組織學上，泡狀結締組織因血球的聚集，而變得深染。黃色球狀的囊腫的超微構造上，可見到浸潤於結締組織的血球的細胞質內，積聚了許多肝糖顆粒。

病原學

Friedman 和 Hedrick (1991) 以多種細菌學常用的培養基，包括腦肉汁瓊脂，無菌操作，自罹病的大牡蠣

的血淋巴中分離出病原菌。病原菌的生長相當慢，約 3 週至 3 個月後，才可見到菌落。細菌有分枝、絲狀並帶有珠狀物，Acid-fast 染色和 PAS 染色均呈陽性。

穿透電子顯微鏡的觀察，證實此細菌有類似土壤絲菌屬 (*Nocardia*) 的細菌特有的磷酸鹽儲存顆粒。細胞壁的肽聚糖層與細胞膜間，有一層電子較稀疏的區域隔著；細胞壁的外層與胞壁質層之間，為半透明的區域。由罹患此病的大牡蠣分離出的細菌，有假分枝。

抗血清的交叉反應顯示，和土壤絲菌屬的細菌有相同抗原性。雖然以罹病的牡蠣與健康的牡蠣共同養殖，並沒有發現有傳染性，但以分離出的細菌打入健康的牡蠣時，確實可造成此疾病。

流行病學上和經濟上的重要性

此病曾發生於在北美西岸沿海，並仍持續由此散布至其他區域。在日本也曾發生此病例。此疾病之發生是條件性的，由於發生此病的地理區域廣

泛和病原菌為環境性細菌，因此世界各地養殖的大牡蠣都可能罹患此疾病。

雖然未統計此病所造成的死亡率，然而由於此病對牡蠣會造成嚴重的傷害，且在某些牡蠣養殖區也曾流行，因此可能會造成很高的死亡率。由於水溫升高和水中有機物質的增加，與此病的發生相關，因此本疾病主要發生於夏、秋季。罹患本病的牡蠣，雄性比雌性多。Elston 等人 (1987) 發現雄性牡蠣罹病的比例為雌性牡蠣的 9 倍，而性別尚未分化的比例為雌性的 2.5 倍。

Friedman 等人 (1991) 的調查則發現，牡蠣罹患本病之所以有性別差異，是由於雌性牡蠣罹病後，會提早或不正常排卵，濾泡再吸收後，變為性別尚未分化的牡蠣。

預防和管理

本疾病確實的地理分布情況，尚不清楚。然而可確定，本病的分布很廣，且病原菌為環境中的常態菌。由於罹病的牡蠣不可能移植，因此日本或北美西部沿海的病例，不可能

來自其他區域。懸吊養殖可減少本疾病的危害，如果可能的話，把牡蠣從淺海移養至其他較深的養殖區，可進一步減少損失。

巨立克次菌感染

Azevedo 和 Villaba，在 1991 年報告在大牡蠣成貝的鰓組織發現「細胞外巨立克次菌」。

病 菌

鰓纖毛上皮組織的纖毛基部可見到多形性的立克次菌，纖毛上皮細胞破裂。感染早期，以穿透式電子顯微鏡觀察，可見到鰓上皮細胞的細胞質密度降低，纖毛和微絨毛受破壞。

病原學

此多形性細菌的革蘭氏染色呈陰性，有三重構造的細胞膜和細胞壁。此菌含有核糖體和核質，長度一般都在 5~7 μm ，但有時可達 9 μm 。

流行病學和經濟上的重要性

此病例僅發生於西班牙的大西洋岸沿海的養殖大牡蠣，並沒有發病率、死亡率或流行病學的相關文獻。

預防和管理

尚未有預防或管理的文獻。

。◆



全信製藥有限公司

CHUAN SHIN
PHARMACEUTICAL CO., LTD.

本公司為 G. M. P. 之優良製藥廠，專製動物用藥品：包括豬、牛、羊、雞、鴨、狗、鵝等家禽、家畜和鰻、魚、蝦等水產生物之飼料及治療疾病藥品，共計 120 餘種，希望在東南亞等地區徵求經銷商，若有任何疑問，請與本公司聯絡。

公司：宜蘭市康樂路 114 號 (039) 322403
工廠：宜蘭市力行街 4-4 號 (039) 322059
FAX: (039) 351873

We are not only veterinary pharmaceutical company but also a G.M.P. factory in TAIWAN.
We have more than 25 years experience for Agriculture livestock and poultry.
Our products including injection, feed additives and some special for shrimp.
We need agent in SOUTH EAST AREA (THAILAND, MALAYSIA, PHILIPPINES, SRILANKA, INDIA, PAKISTAN, etc...)
If you have any question, Please do not hesitate to contact with us.

COMPANY: CHUAN SHIN PHARMACEUTICAL CO., LTD.
OFFICE: NO. 114 KANG LO RD, 1-LAN CITY, TAIWAN
FACTORY: NO. 4-4 LI SHING ST, 1-LAN CITY, TAIWAN
TEL: (039) 322403 MOBIL TEL: 090259556
TEL: (039) 322059 FAX: (039) 351873