

兩種微生物製劑 (*Enterococcus faecium* 及 *Bacillus cereus*) 對防治養殖歐洲鰻潰瘍症之效力評估

張錦宜、劉文御

行政院農業委員會水產試驗所水產養殖系

7-10

一、前言

早年對於水產動物消化系統的研究多偏向形態構造或生理機制，例如食道、胃、小腸、幽門垂等的細胞、組織及其構造，或是該等器官的分泌消化酵素種類及其功能的研究。事實上細菌在水產動物的腸道中扮演了極為重要的角色，這些細菌被認為不僅與消化吸收，甚至與成長都有密切的關係。由於高密度養殖的方式不斷蓬勃發展，疾病不斷發生，腸內細菌與水產動物疾病間的關係遂成為研究之重點；在此之同時，由於抗藥性細菌的不斷增加，控制水產生物的疾病日益困難，研究利用微生物控制特定的疾病於焉開始。魚類腸道內的細菌以革蘭氏陰

性的兼性或好氧性菌為優勢種，如 *Vibrio*、*Achromobacter*、*Pseudomonas*、*Flavobacterium*、*Micrococcus*、*Bacillus*、*Aeromonas*、*Coryneform*、*Achromobacter* 及 *Flavobacterium* 等種類居多。腸道內細菌的功能有分解纖維、蛋白質、水解醣類合成維生素等，此外也有分解幾丁質的功能。腸道中也有部份細菌具有抗病能力，如：*Clostridium*。

愛德華氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 感染症係國內養殖鰻魚最主要之細菌性疾病，其典型症狀是消化道發炎、肛門紅腫、鰭部充血、體表呈現點狀出血灶。嚴重感染之鰻魚則有腸炎、肝及腎潰瘍或壞死，鄰近肝臟體側與肛門周圍

之肌肉壞死、潰瘍及穿孔等蝦病癥，是造成養殖鰻魚大量死亡的主要病症之一。現今水產業界對愛德華氏症之防治以抗生素投餵為主，不過抗生素使用於養殖食用魚有藥物殘留的問題，由於受到停藥期的嚴格規範，某些藥品甚至已被禁止使用，此外，長期使用抗生素不可避免地將面臨產生抗藥性菌株的問題。存在於健康魚體腸道內的正常菌叢能抵抗病原菌入侵，也能提供部份魚類生長不可或缺的維生素及酵素，因此，口服抗生素除殺滅病原菌外，也會殺死大量的腸內正常菌，此對健康魚反而有負而的影響。

口服生物製劑應用人類及家畜動物的消化道疾病防治已行之有年，其中，針對人類開

發的腸內菌 *Enterococcus faecium* SF68 (Bioflorin®) 經證實對細菌性急性下痢及口服抗生素導致之腹瀉均有顯著療效。另一方面，適用於家畜動物的桿菌 *Bacillus toyoi* (TOYOCERIN®) 生物製劑則被證實能排除牛、豬、雞等動物腸道內的有害菌，使有益菌如 *Lactobacillus* spp. 等形成穩定菌叢，可減少畜動物的死亡率，並可有效的促進成長。上述兩種生物製劑均已在市場流通多年，對其適用對象亦有可性且穩定的成效，但對水產動物而言，迄今未見有系統的評估報告。

由於愛德華氏菌係自鰻魚的消化道開始感染，因此利用口服微生物製劑的方式，建構一無害甚至有助於腸道消化吸

收的細菌相，使侵入鰻魚腸道內的 *E. tarda* 不致快速增殖。本試驗即針對兩種不同型態的生物製劑對愛德華氏菌之防治效力進行評估，以確定此一防治模式之可行性。

二、材料與方法

(一) 試驗用魚及蓄養條件

本試驗使用之歐洲鰻 (*Anguilla anguilla*) 購自花蓮某養殖場，平均體重約 30g，每 30 尾蓄養於 60 × 30 × 20cm 之玻璃水槽內，每槽使用獨立之沉浸式人造海綿過濾器，不再另予打氣。所有鰻魚均以市售鰻魚人工配合飼料 (DAN-EX 2848, DANA FEED A/S Ltd.) 飼養。

(二) 微生物製劑

本試驗選用兩種微生物製劑，其一為分離自人類嬰兒腸道，以微膠囊方式保存的 *Enterococcus faecium*，另一種為分離自土壤，以該菌自然形成之芽孢保存的 *Bacillus cereus*。

三、結果

(一) 鰻魚腸道菌內生菌數之變化

以不同生物製劑添加飼料投餵鰻魚，每兩天取樣一次檢測腸道菌相變化，適續 14 天，結果餵食 *E. faecium* 組，鰻魚腸道總生菌數保持穩定，而自第 4 天起 *E. faecium* 逐漸在腸道內形成菌叢，至 14 天時腸道內 *E. faecium* 生菌數為

Table 1. 餵食不同生物製劑之歐洲鰻腸道生菌數變化

生物製劑	生物製劑菌種生菌數 (10 ⁵ CFU/g) / 腸道總生菌數 (10 ⁵ CFU/g)						
	餵食天數						
	2D	4D	6D	8D	10D	12D	14D
<i>Enterococcus faecium</i>	0/2.92	0.09/1.87	0.16/0.98	0.34/0.96	1.79/2.67	1.30/1.73	1.63/2.23
<i>Bacillus cereus</i>	0/3.02	0/2.63	0/1.79	0/1.03	0/0.69	0/0.28	0/0.33

Table 2. 餵食不同生物製劑添加飼料之歐洲鰻 (*Anguilla anguilla*) 以 *Edwardsiella tarda* 進行人工感染試驗 (7×10^6 CFU/g bw) 後之存活率

Diet group*	Trial	Daily survival rate %								Mean survival rate ^a %
		2	3	4	5	6	8	10	14	
C	C1	78	63	56	52	48	44	44	44	45 ^b
	C2	93	79	66	59	55	52	52	52	
	C3	87	77	63	57	50	47	43	40	
E	E1	96	84	80	76	72	72	72	72	73 ^a
	E2	100	90	87	83	77	77	77	77	
	E3	97	87	80	77	73	70	70	70	
B	B1	93	86	72	66	55	45	38	38	43 ^b
	B2	97	90	83	70	57	50	47	47	
	B3	93	79	68	61	57	50	46	43	

*C : control diet, E : diet added *Enterococcus faecium*, B : diet added *Bacillus cereus*

^a: Means within a column not sharing the same superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

1.63×10^5 CFU/g，佔腸道總生菌數的 73% (Table 1)。

餵食 *B. cereus* 組，腸道內總生菌數逐漸減少，至 14 天時減為初始總生菌數的 1/10。*B. cereus* 並不能在鰻魚腸道內形成穩定菌叢，在 14 天的連續採樣中，均無法於本實驗鰻魚

腸道內 (空腹) 檢出。

(二) 病原性試驗

在抗病效果方面，以 *E. tarda* 7×10^6 CFU/g.bw 進行肛門注射的人工感染試驗，並於感染後 48 小時繼續投餵微生物製劑添加飼料，每日觀察並

記錄鰻魚死亡情形共 14 天 (Table 2)，結果鰻魚存活率以餵食 *E. faecium* 組 73% 最高，對照組及餵食 *B. cereus* 組存活率則分別為 45% 及 43%。◆

TILAPIA
2001
KUALA LUMPUR

2001 年吳郭魚養殖技術及貿易研討會

2001 年 5 月 28-30 日

馬來西亞吉隆坡

Shangri-La Hotel 香格里拉飯店

主辦單位：INFOFISH-TILAPIA 2001

郵箱：P O BOX 10899, 50728 Kuala Lumpur, Malaysia

電話：+603-26914614. 26914466 傳真：+603-26916804

E-mail：infish@tm.net.my