

# 103年第二次強化動物疾病 檢診體系會議



## 題目：苗栗地區紅螯螯蝦之 螯蝦瘟疫情病例調查

單位：苗栗縣動物防疫所

孫吉銓、潘翊誠、黃世穎



# 大綱

1. 前言
2. 病例報告
3. 疫情調查及後續防疫宣導
4. 討論





# 前言



# Crayfish plaque

- 由 *Aphenomysces astaci* (*A. astaci*) 感染所引起
- 主要感染對象以淡水龍蝦為主。
- 本病在1860年代引入歐洲，造成歐洲淡水螯蝦的嚴重死亡。
- 目前區分A、B、C、D四種基因型別



Astacidae (正螯蝦科 ; 蟹蝦科)



Cambaridae (螯蝦科 ; 螯蛄科)



Parastacidae (擬螯蝦科)

# Crayfish plaque

- 在不同物種螯蝦之間的感受性頗具差異
- 主要攜帶病原真菌之物種
  - 北美克氏螯蝦(*Procambarus clarkii*)
  - 中華絨螯蟹(Chinese crab, 俗稱大閘蟹)
- 歐洲、新幾內亞、日本及澳洲等地之淡水螯蝦對本病具有高度感受性





# 病例報告



# 病史

102年11月27日起陸續接獲業者通報死亡例，3場澳洲小龍蝦殖場爆發死亡疫情

- 公館鄉
- 頭屋鄉



# 養殖場位址概況

## 3場發病澳洲小龍蝦養殖場

- A場 → 公館鄉
- B場 → 頭屋鄉
- C場 → 頭屋鄉

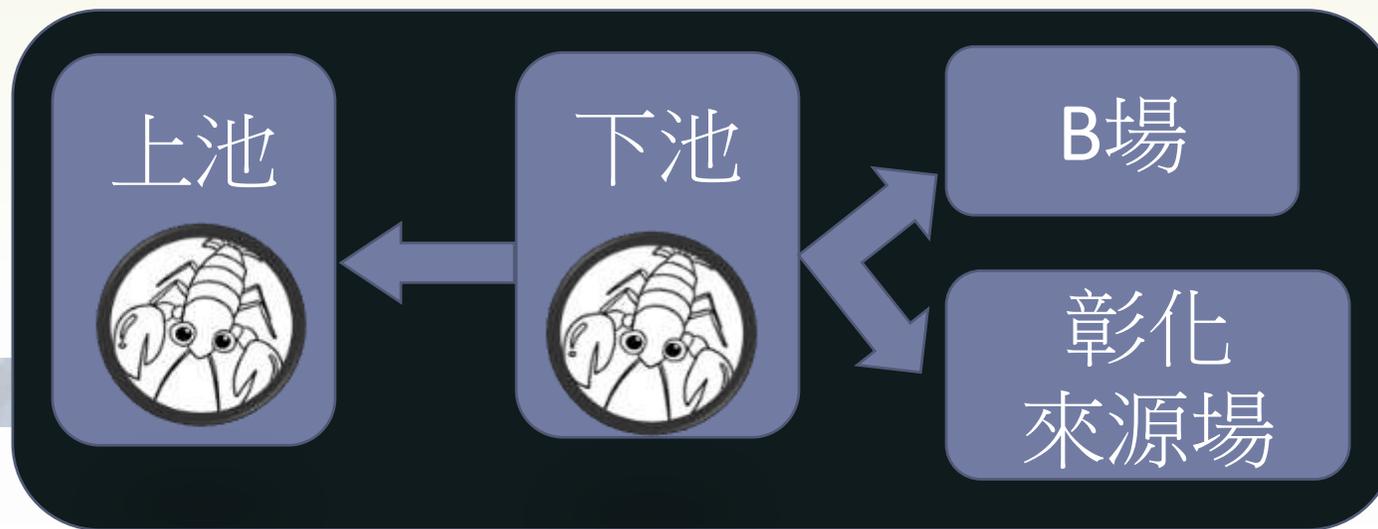
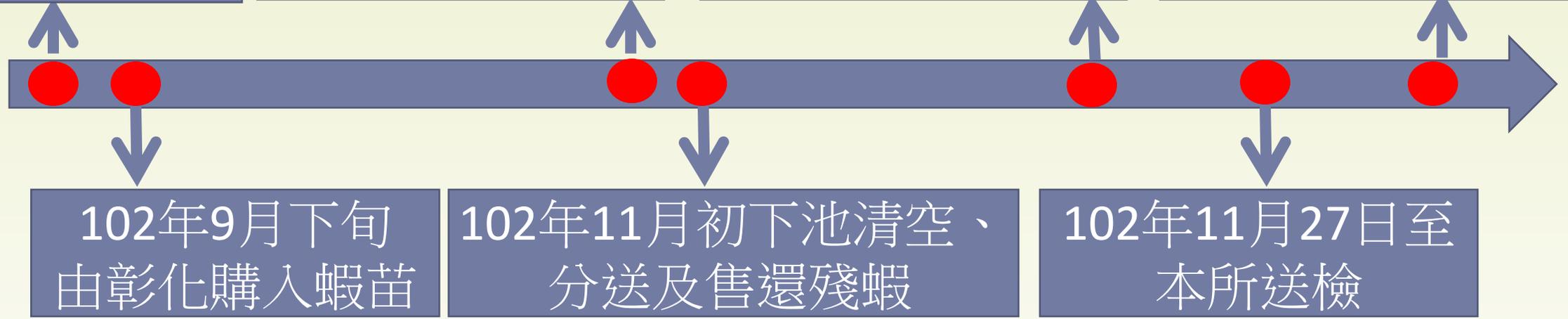


A場  
飼養大閘蟹

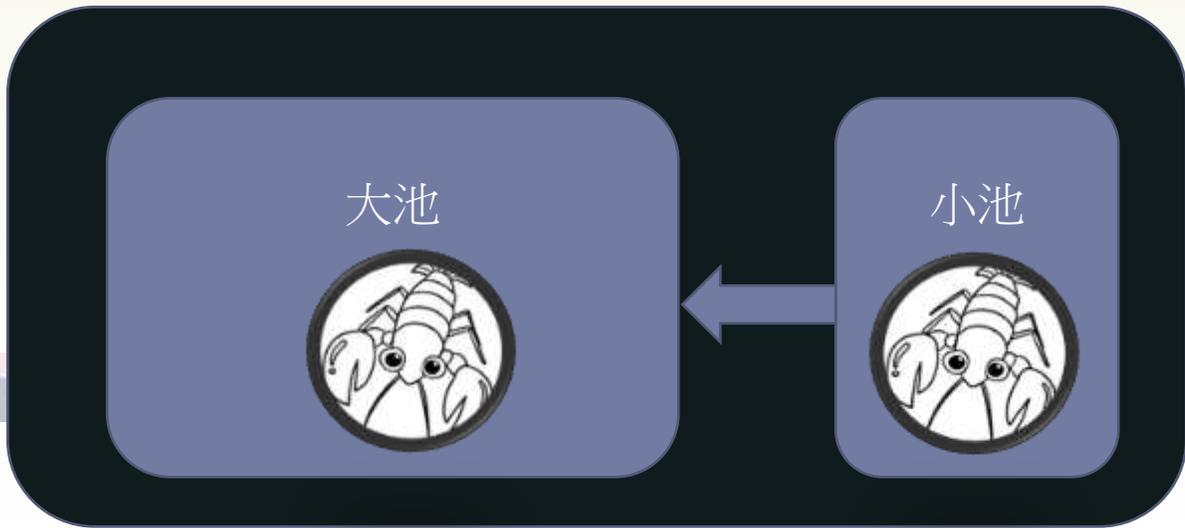
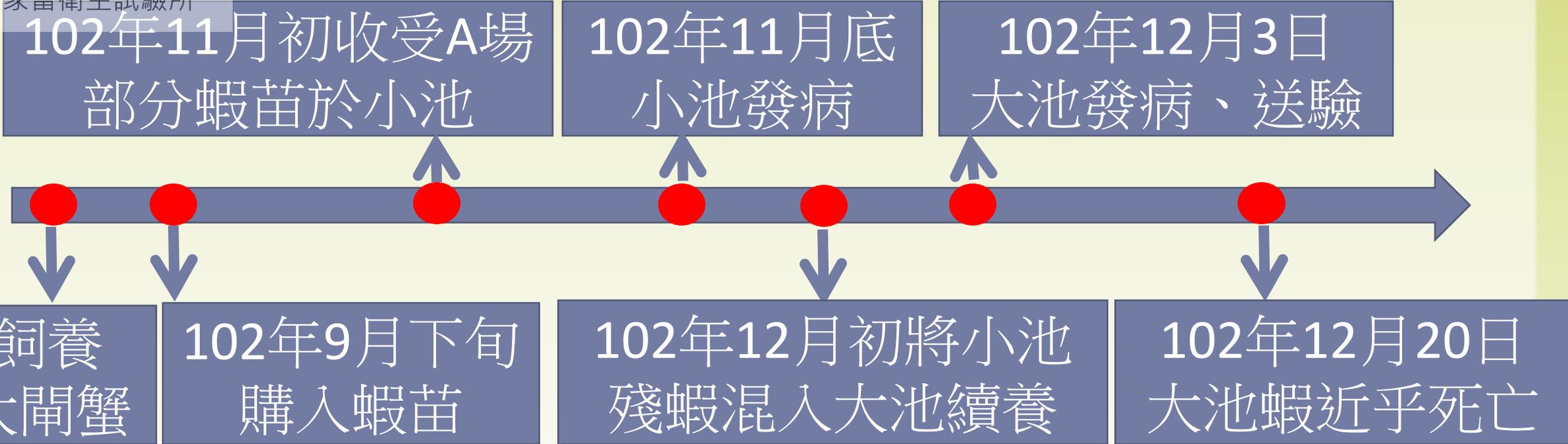
102年11月初  
下池發病

102年11月25日  
上池發病

102年11月底上池  
近全數死亡



# B場

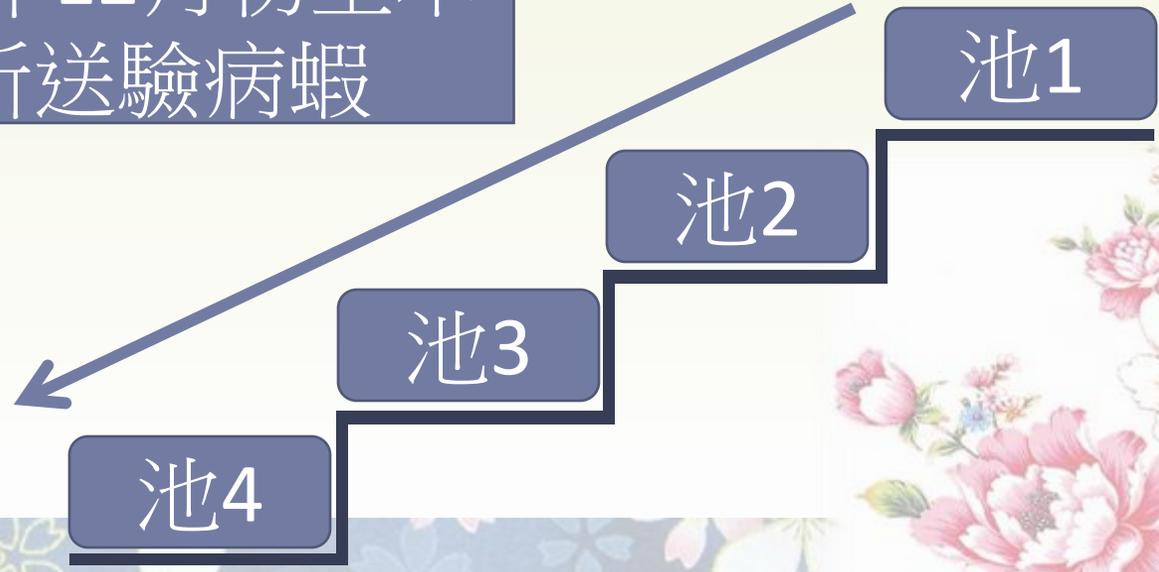


102年11月中旬  
發現蝦隻異常、死亡

102年12月6日止  
僅剩池4尚有部分蝦苗



102年12月初至本  
所送驗病蝦





# 臨床症狀



# 臨床症狀

- 病蝦白日靠岸
- 活力下降
- 側躺
- 喪失翻正反射

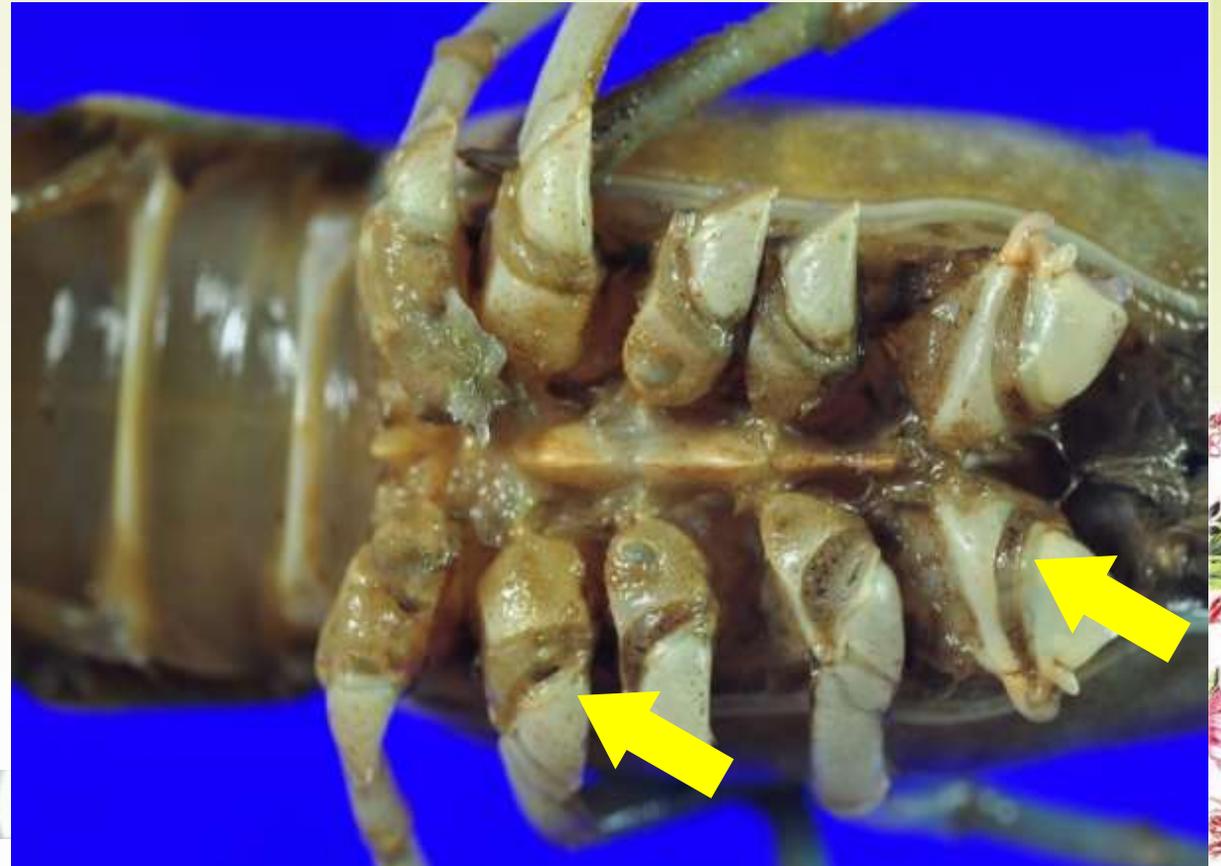
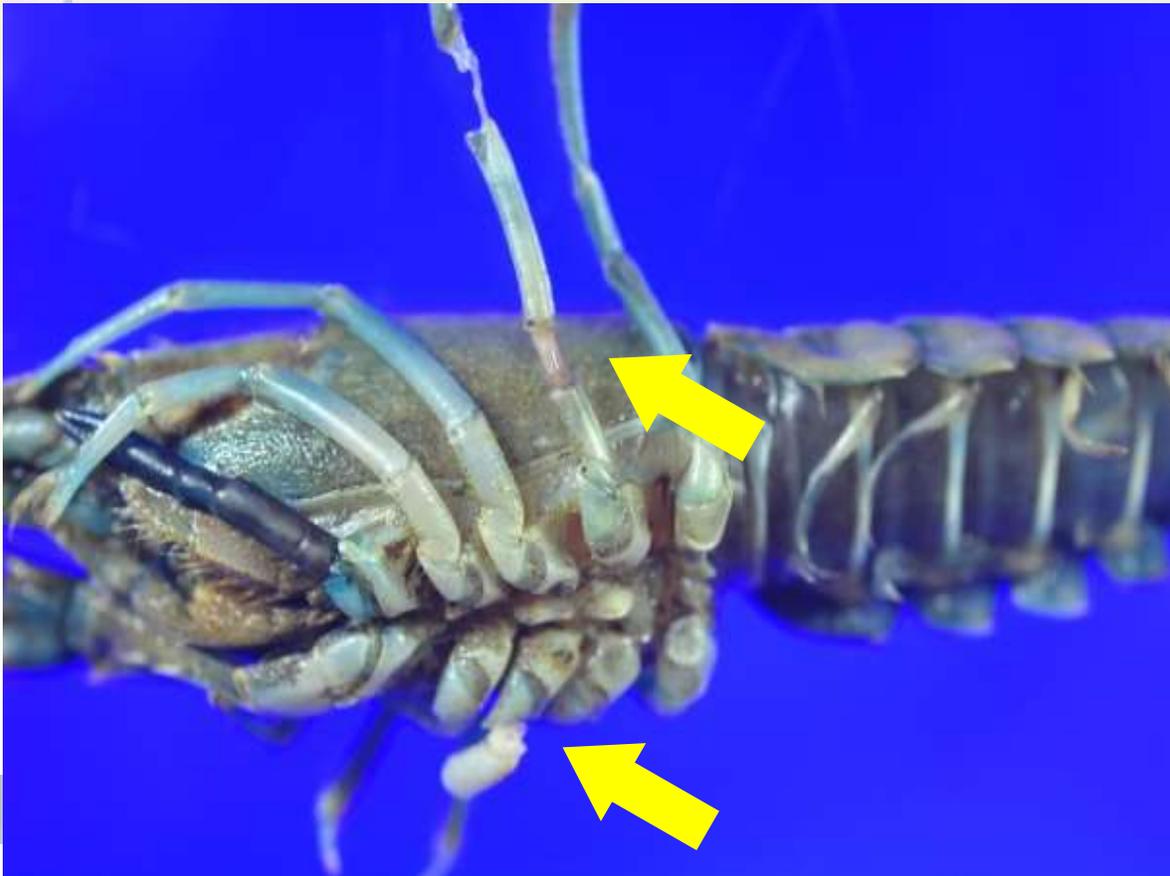


# 肉眼病變



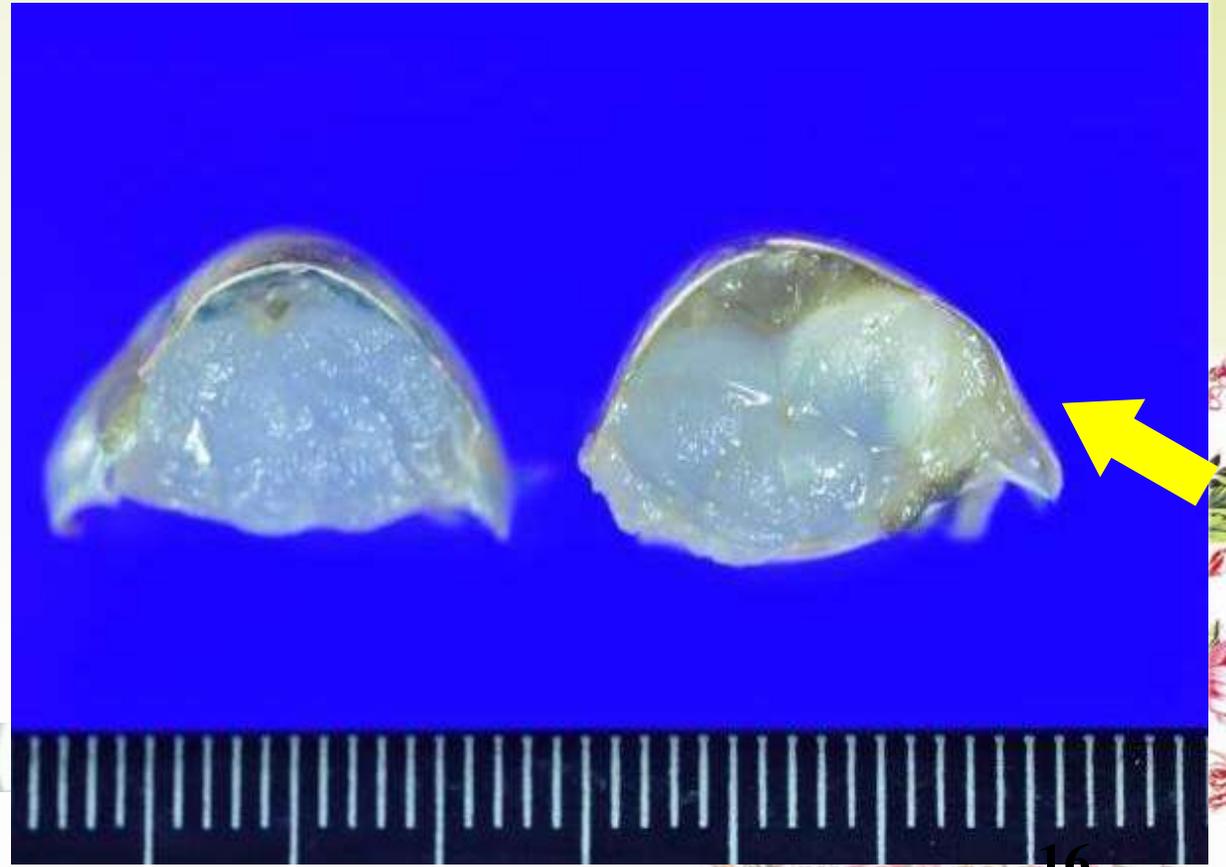
# 肉眼病變

螯、胸步足斷裂或脫落、黑色素沉積病變



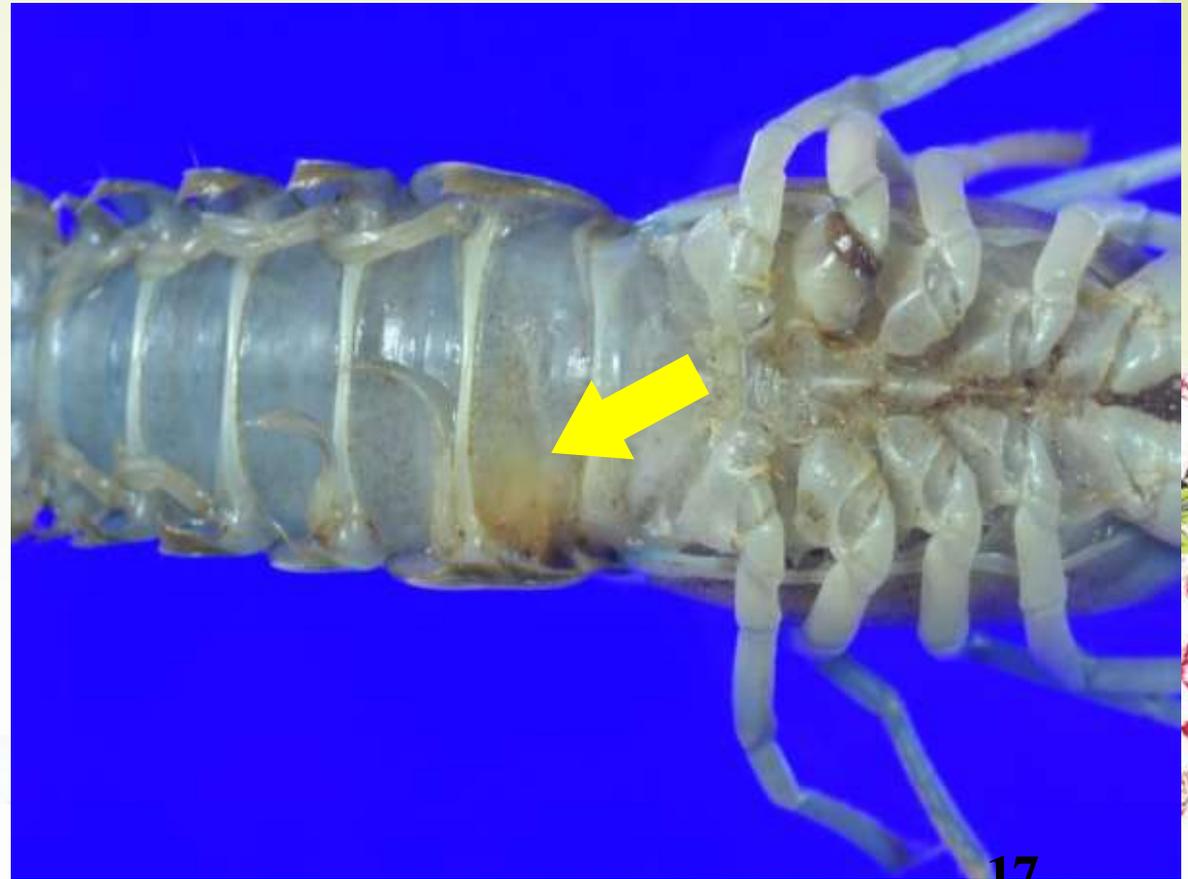
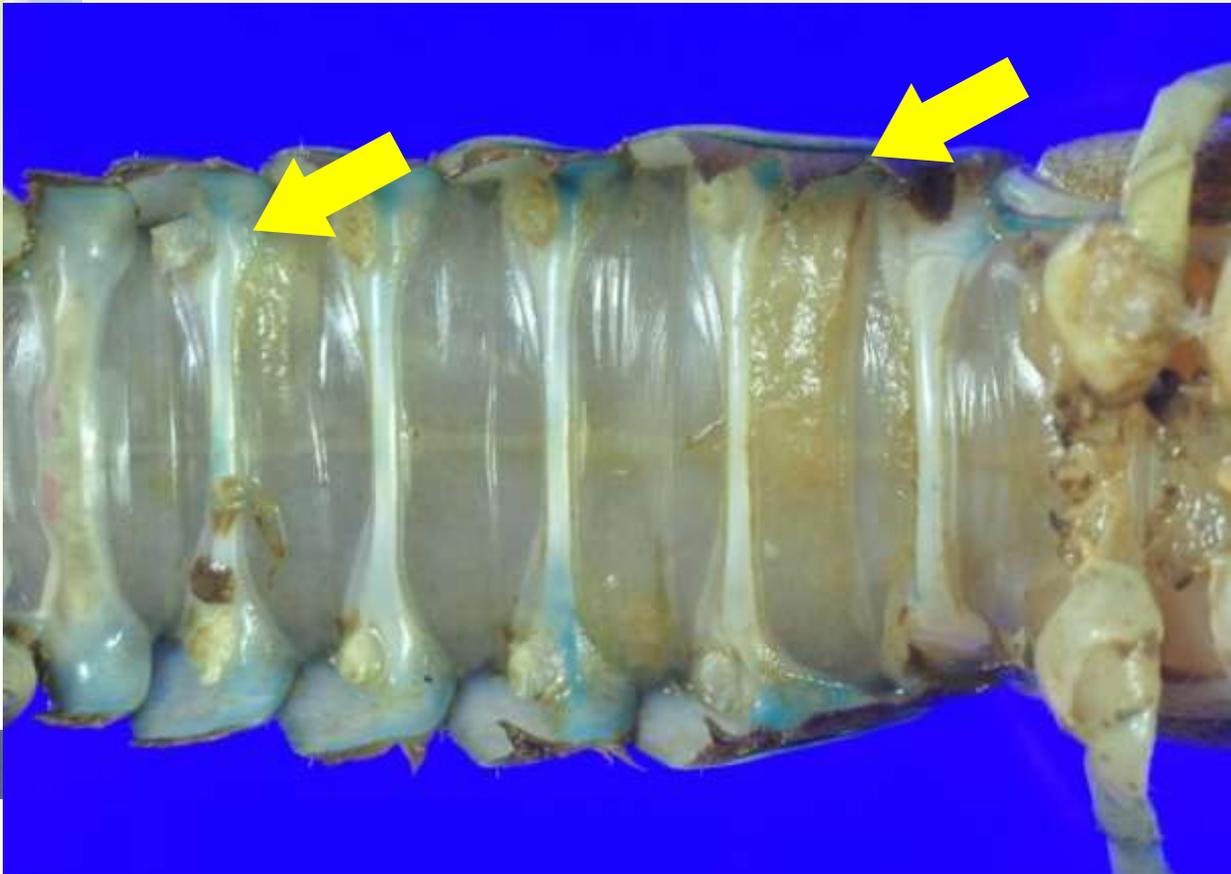
# 肉眼病變

步足部肌肉壞死、腹部肌肉呈現灰白色壞死灶



# 肉眼病變

腹足斷裂、腹部體節可見到黃白色病灶



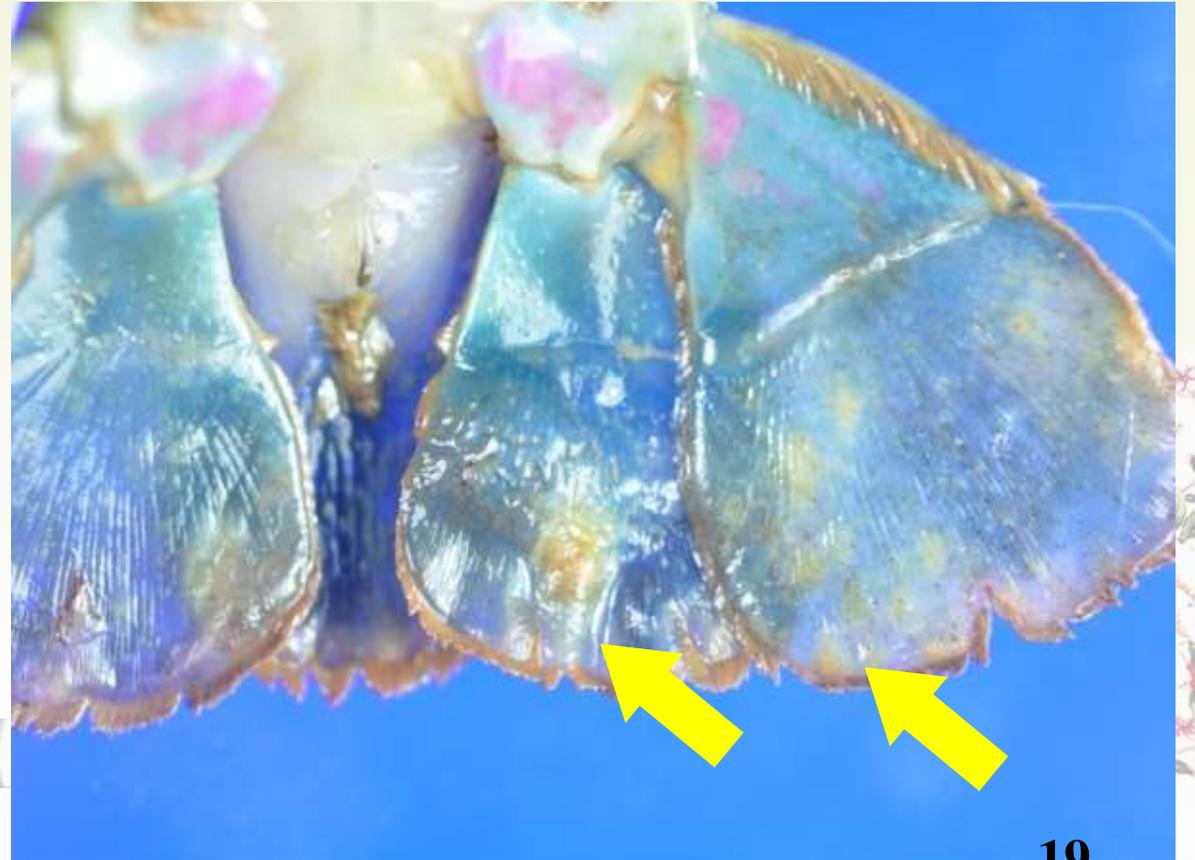
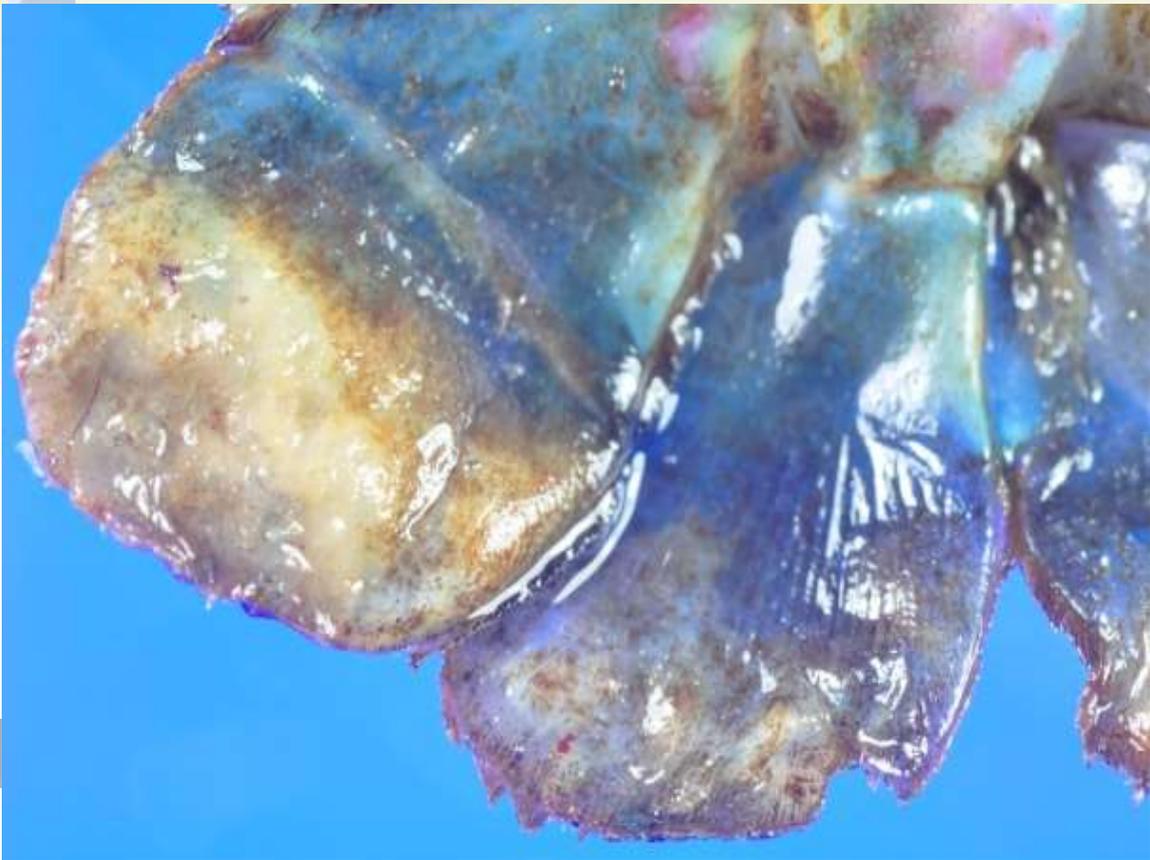
# 肉眼病變

尾扇腹側則可見明顯水泡樣之糜爛病灶



# 肉眼病變

尾扇破損與糜爛病變、尾扇可見大小不一的水泡



# 溼壓片檢查



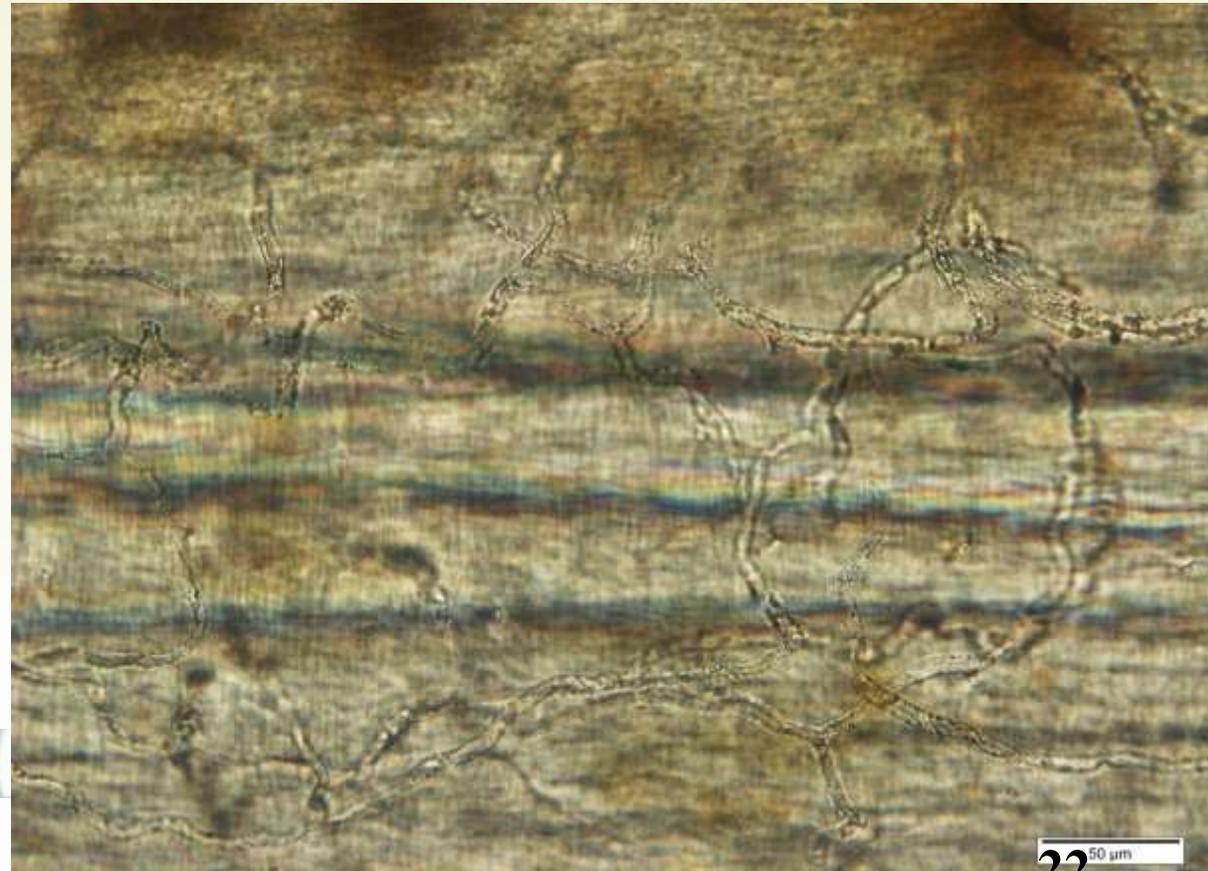
# 溼壓片檢查

鰓部及體表可見少量鐘形蟲寄生



# 溼壓片檢查

鰓絲及下腹部軟殼可見真菌菌絲



# 溼壓片檢查

尾扇水疱樣病變處之糜爛病灶，鏡檢可見黃褐色黴菌菌絲分布



# 初步診斷

## 水生黴菌及少量鐘形蟲混合感染症



# 實驗室診斷

## 微生物學檢查

使用白金吊菌環以無菌方式操作

- 採取病蝦腹部肌肉濁白病處分離細菌
- 血液瓊脂培養基
  - 25°C 環境
  - 培養24小時

未分離出有意義之細菌感染



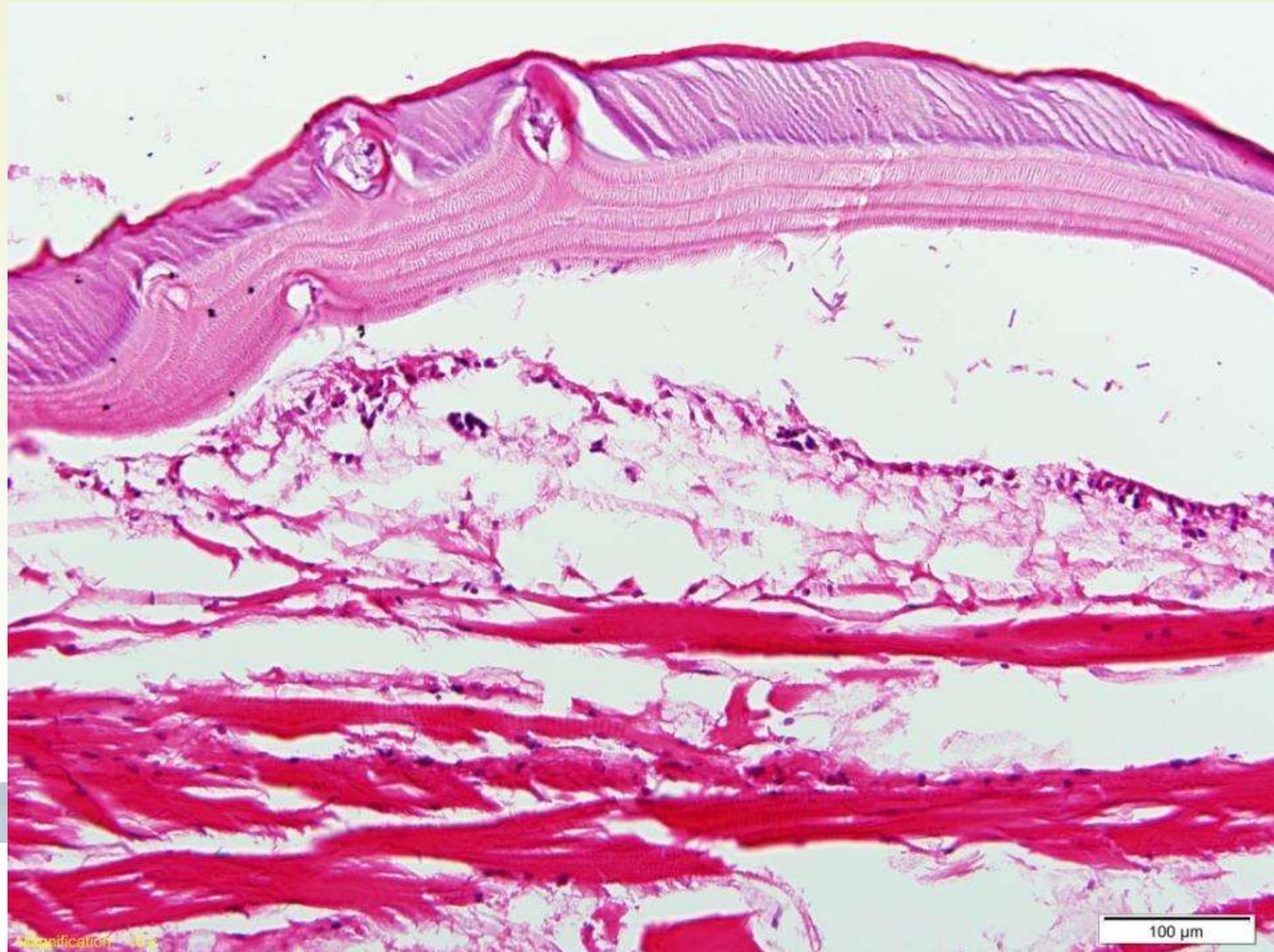
# 實驗室診斷

組織病理學檢查--胸腹甲軟殼部可見真菌菌絲



# 實驗室診斷

組織病理學檢查--胸腹甲軟殼部可見真菌菌絲



# 實驗室診斷

組織病理學檢查--胸腹甲軟殼部可見真菌菌絲



# 實驗室診斷

分子生物學檢查--PCR

病材

- 眼睛
- 鰓絲
- 胸足
- 腹部殼膜
- 腹足
- 尾扇
- 肝胰腺
- 血淋液



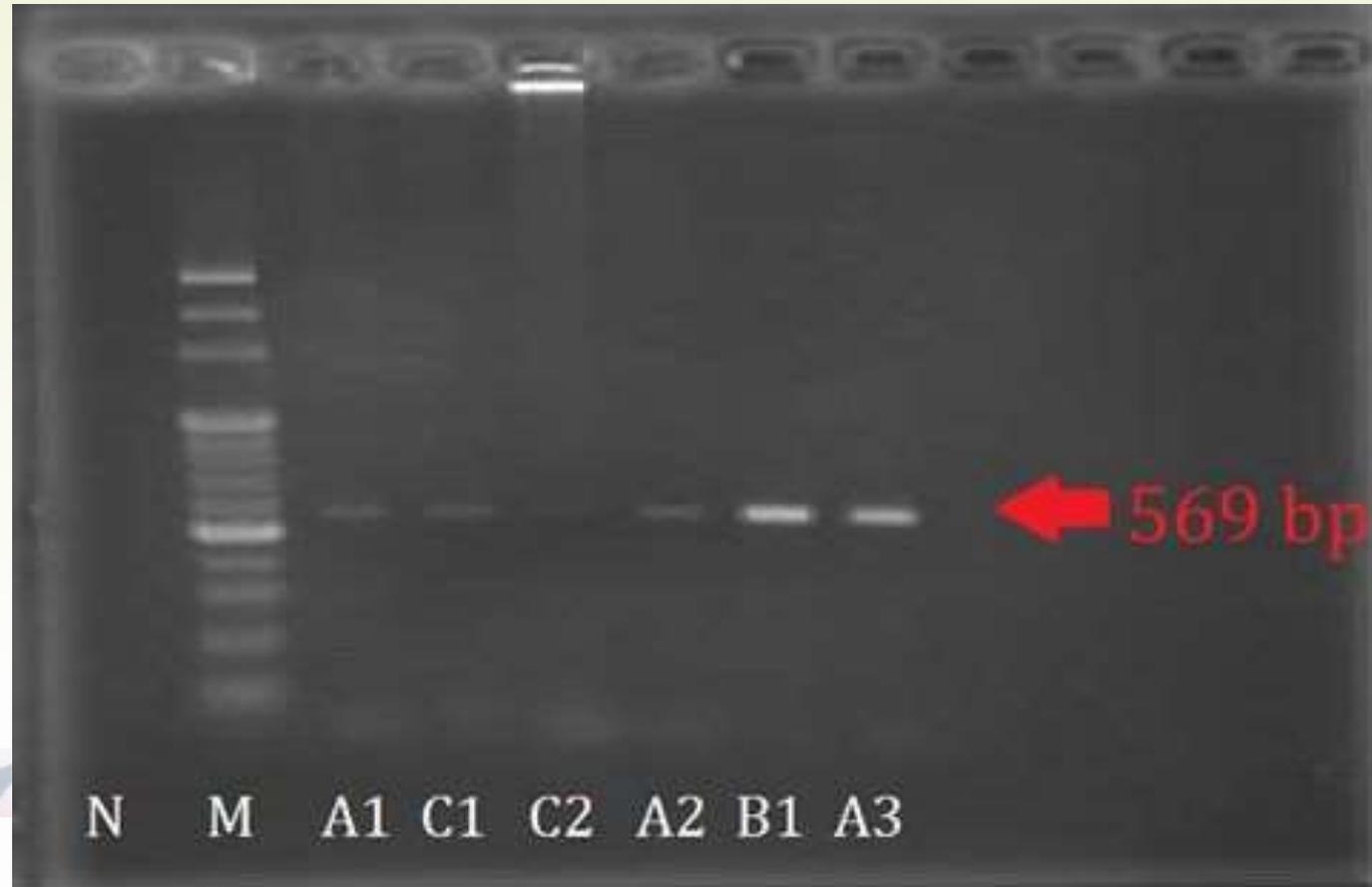
# 實驗室診斷

分子生物學檢查—PCR測結果皆為陽性

Primer (OIE) (BO42) 5'-GCT-TGT-GCT-GAG-GAT-GTT-C-3'

(BO640) 5'-CTA-TCC-GAC-TCC-GCA-TTC-TG-3' [Tuffs & Oidtmann, 2011]

500 bp



569 bp

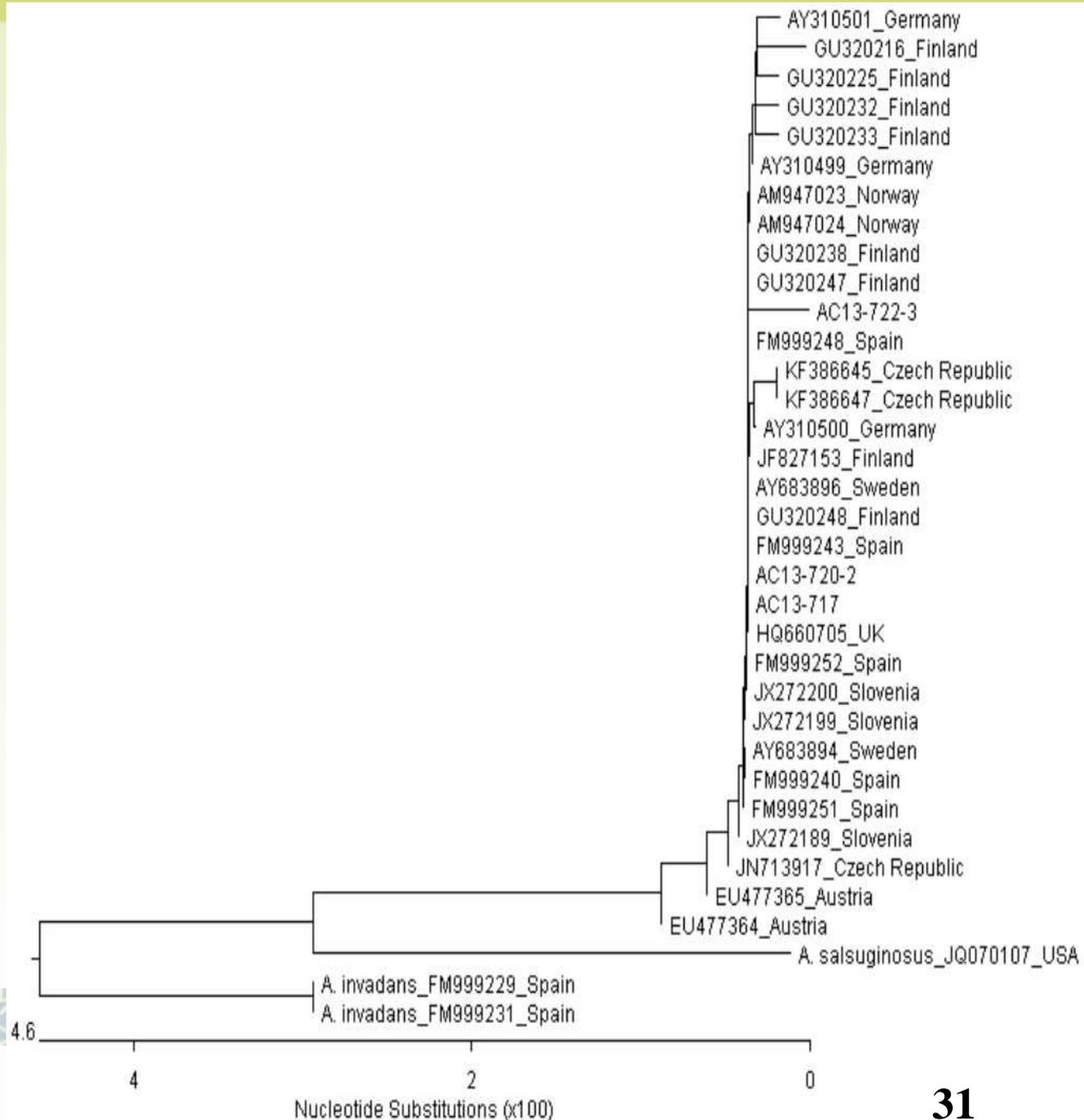


# 實驗室診斷

分子生物學檢查—PCR

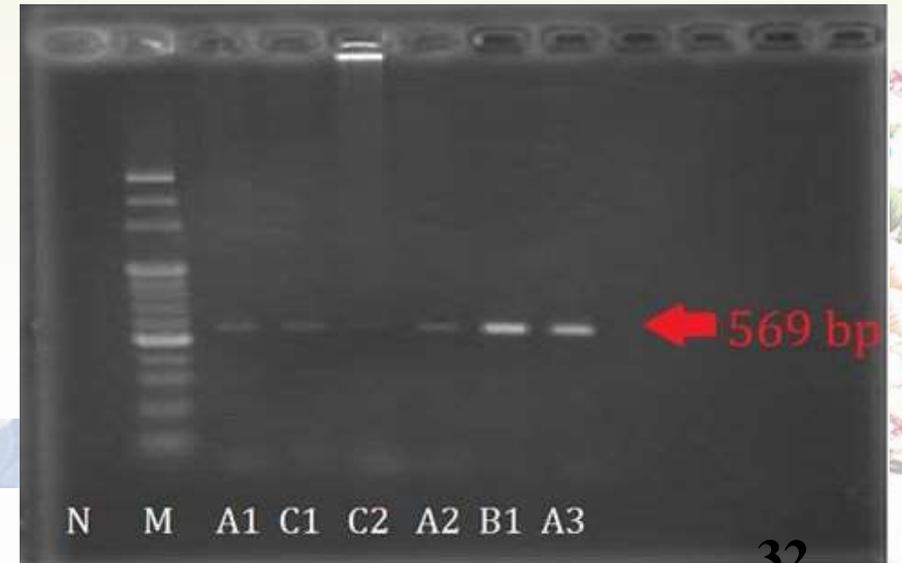
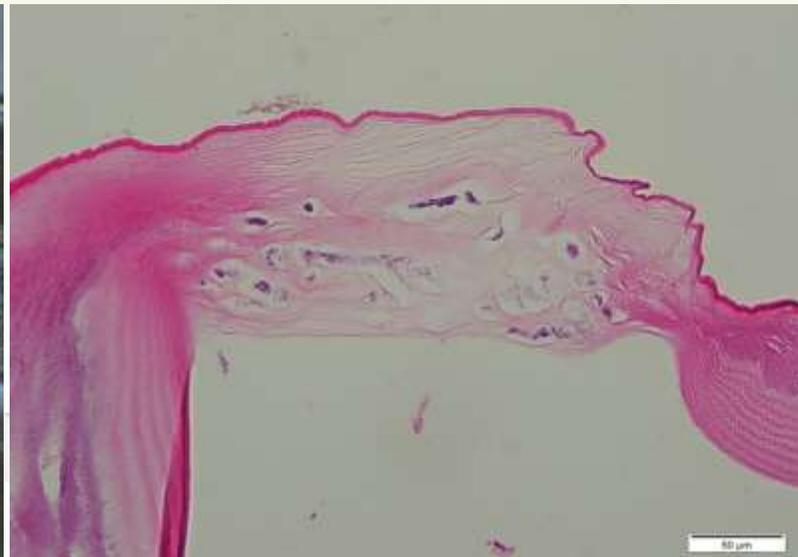
基因親源分析

- 與各國螯蝦瘟疫真菌(*A. astaci*)
- 相似度可達99.9~100%



# 最終診斷

## 紅螯螯蝦之螯蝦瘟



# 處置及預防控制



# 處置及預防控制

## 輔導自衛防疫措施

- 空池
  - 生石灰或漂白粉消毒空池
  - 曝曬2天以上
- 虛弱病蝦
  - 建議業者直接銷燬
  - 飼養池內的水源應互相獨立



# 疫情調查及後續防疫宣導



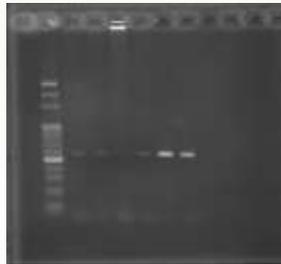
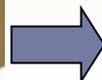
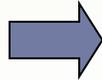
# 疫情追蹤調查及後續



⋮

11/27  
接獲病例

12/9  
現勘



# 疫情追蹤調查及後續

103年12月9日

- 謝博士於親赴現場訪查疫情
- 受感染之養殖場所有感染螯蝦瘟之病蝦幾乎全數死亡



# 疫情追蹤調查及後續—A場



# 疫情追蹤調查及後續—B場



# 疫情追蹤調查及後續—C場



# 疫情追蹤調查及後續

## 水質監測

- 12月9日下午疫情訪視 (2時到5 PM)
- 氣溫約21-23°C，當日氣溫平均20.9°C、當日最低溫16.3°C
- 水質檢測結果如下：

	水溫 (°C)	ph值	NO <sub>2</sub>	NH <sub>4</sub>
A場	18.5	7.8	0.05	0.2
B場	19.4	7.5	0.05	0.4
C場	20.2	7.6	0.06	0.3

# 疫情追蹤調查及後續



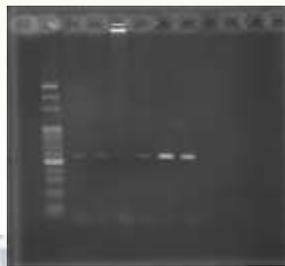
11/27  
接獲病例

12/9  
現勘

防疫宣導

1/2  
池底採樣

防疫宣導



確認病原殘留  
→檢驗池底溪蝦與底泥  
→均為陰性



# 檢驗池底溪蝦與底泥→均為陰性



防疫固然重要  
同仁仍須注意安全



# 疫情追蹤調查及後續



11/27  
接獲病例

12/9  
現勘

防疫宣導

1/2  
池底採樣

防疫宣導

1/21  
水源採樣

確認病原殘留  
→ 檢驗池底溪蝦與底泥  
→ 均為陰性

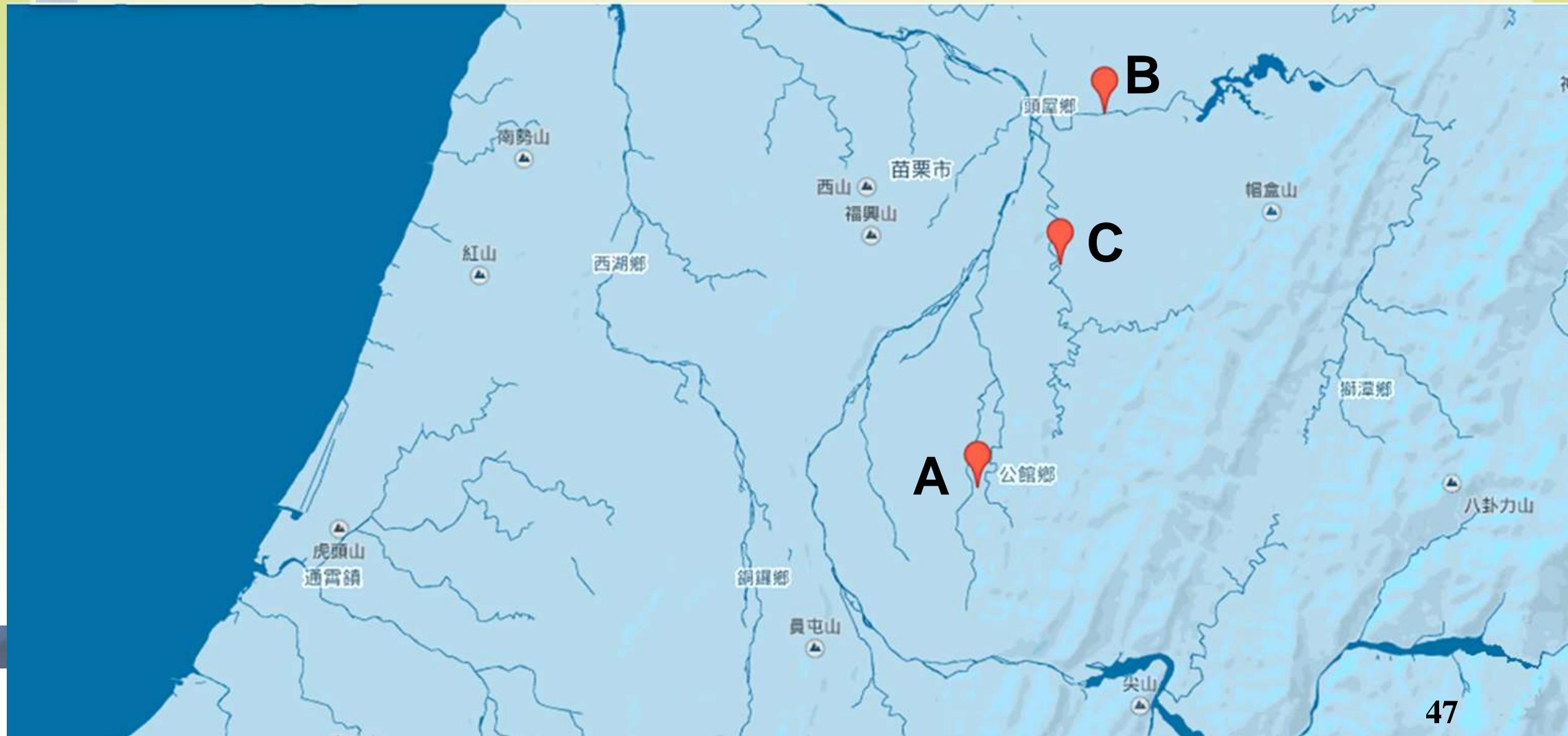
確認來源與擴散  
→ 水源、入水口、出水  
下游放置濾紙採樣  
→ 均為陰性

# 水體檢測

- 103年1月21日
- 本所至各養殖場之水源、入水口及出水下游等處放置濾紙，收集水體樣本檢驗是否有黴菌孢子存在，檢測結果均為陰性。



# 河水流域圖



# 水體檢測—A場



# 水體檢測—B場



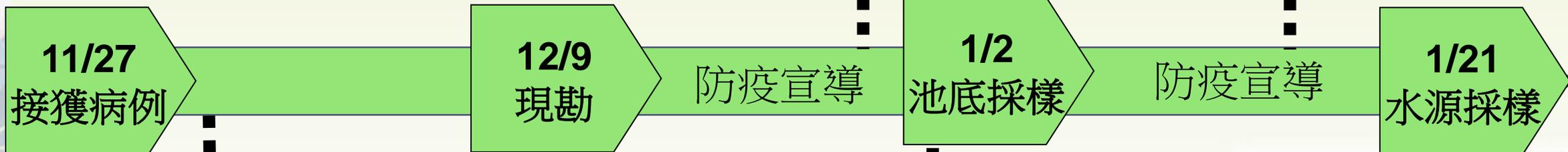
# 水體檢測—C場



# 疫情追蹤調查及後續



- 避免使用表層水水源—防止疫病擴大
- 宣導加強自主消毒—曝池、投予生石灰等
- 宣導防疫觀念—避免養殖池管路連通、不可混池
- 會同漁業科進行訪視



確認病原殘留  
→ 檢驗池底溪蝦與底泥  
→ 均為陰性

確認來源與擴散  
→ 水源、入水口、出水  
下游放置濾紙採樣  
→ 均為陰性

# 討論

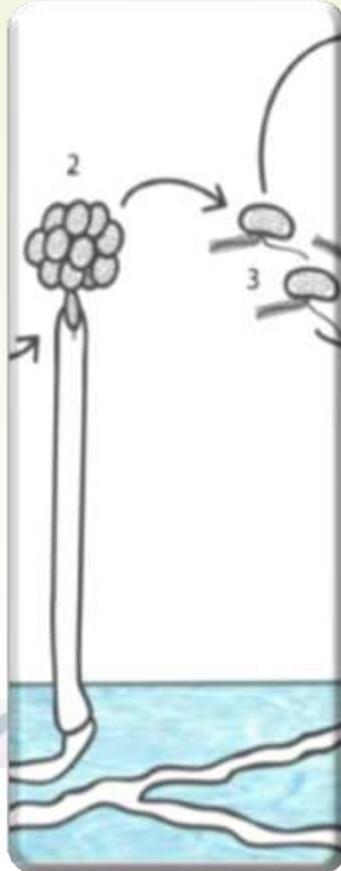


# 討論

病因  
及  
流行病學



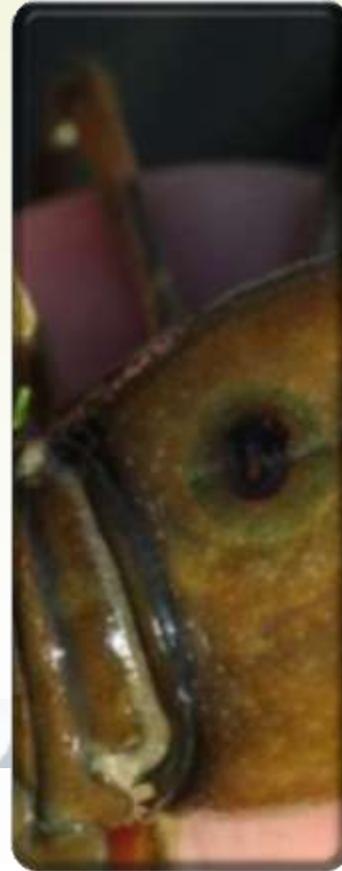
傳播途徑



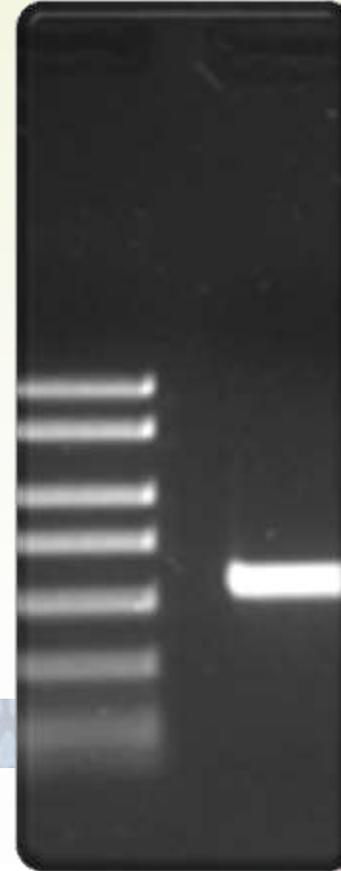
臨床症狀



病變  
及  
致病機轉



診斷  
及  
區別診斷

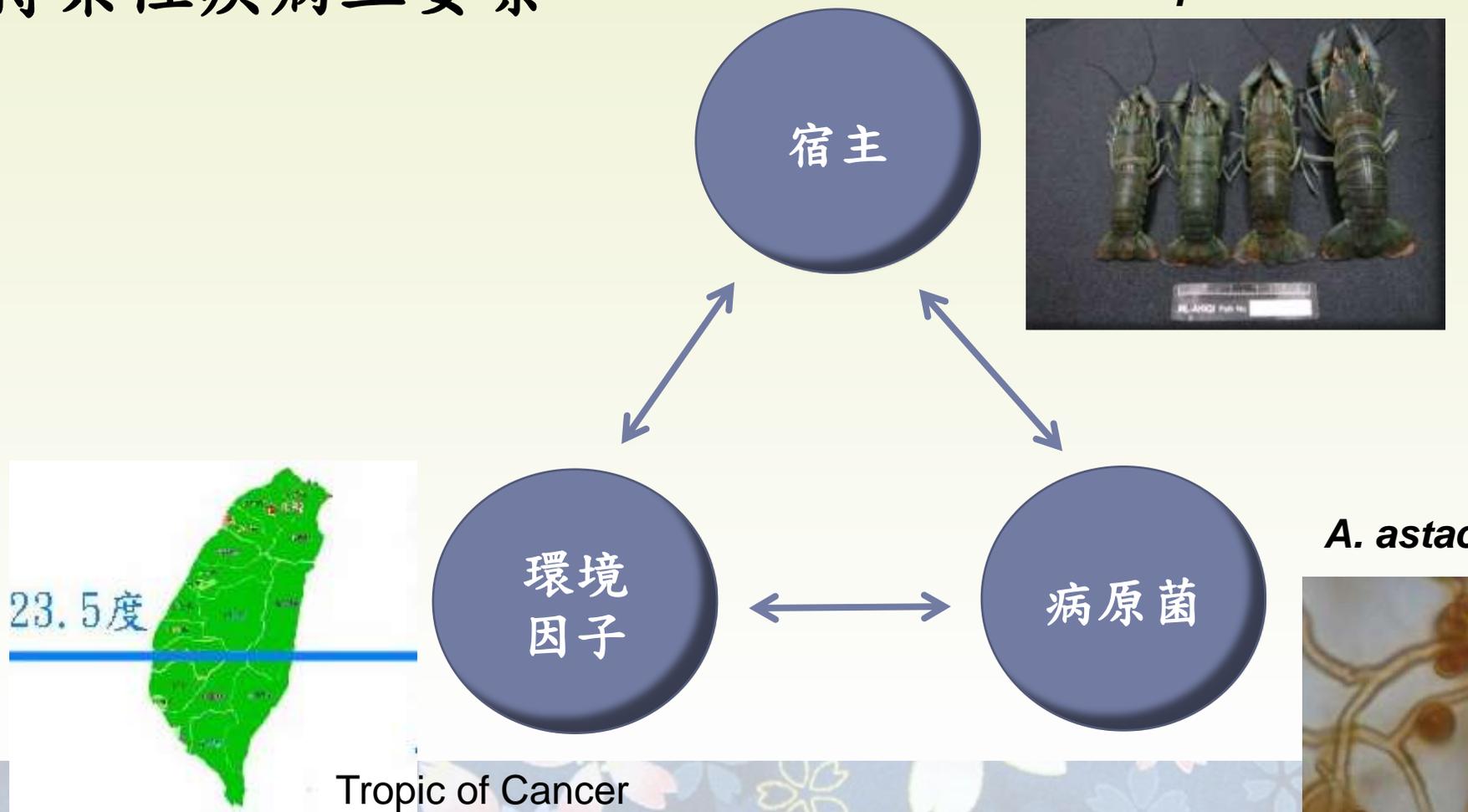


治療  
及  
預防控制



# 病因

## 傳染性疾病三要素

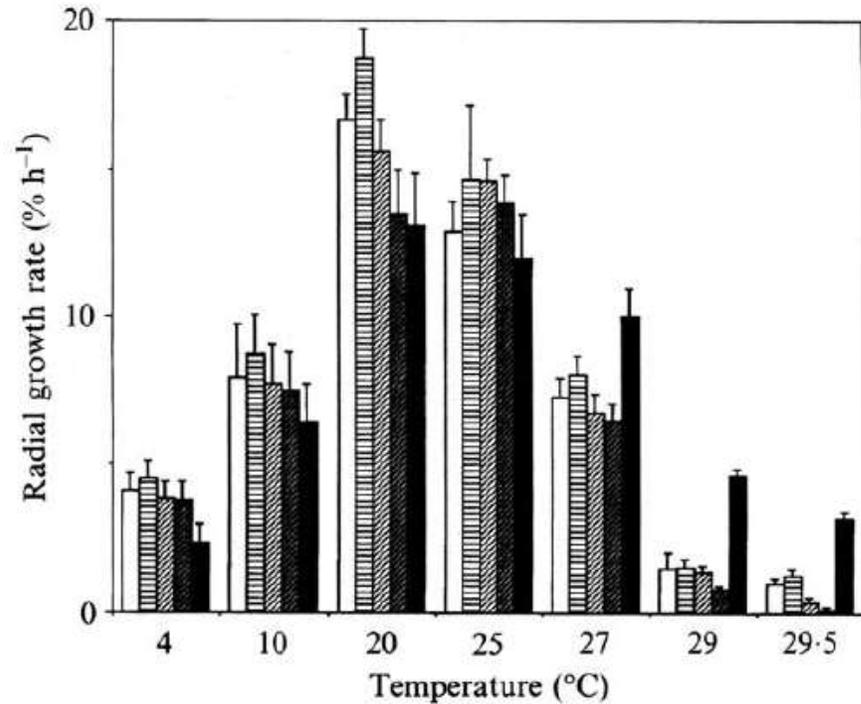


# 病因 -- *Aphanomyces astaci*

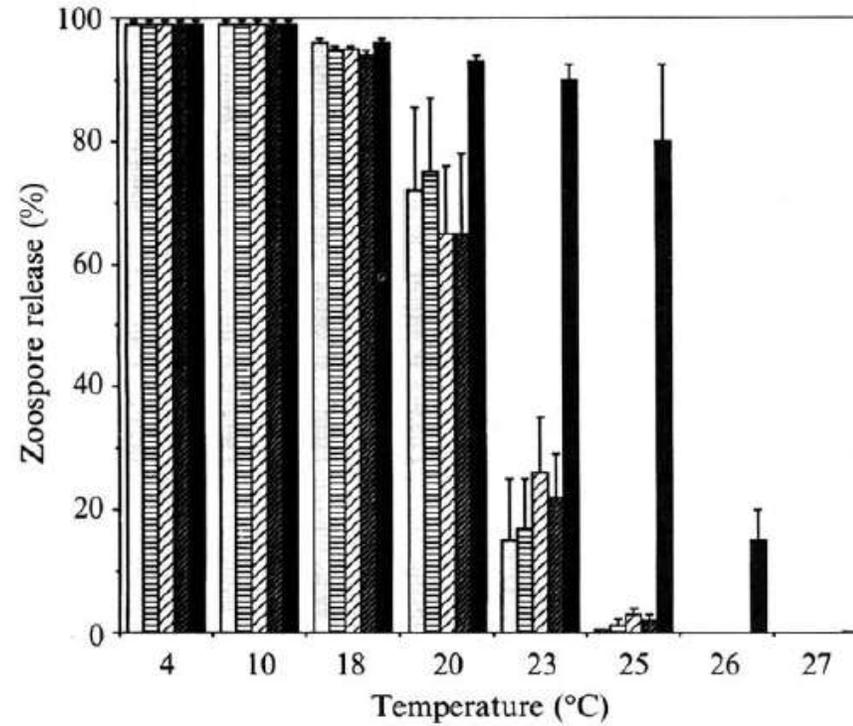
- 螯蝦瘟(*Crayfish Plaque*)是由卵菌綱(*Oomycetes*)水黴目(*Saprolegniales*) *Leptolegniaceae*科 *Saprolegnia*屬之 *Aphanomyces astaci* (*A. astaci*)所引起
- 高致死性傳染性水生黴菌
- 釋放大量幾丁酶 (chitinases)
- 病原真菌適合生長於4-25°C環境，傳播時於水中產生游離孢子

[Andersson et al., 2002]

# 病因—環境溫度

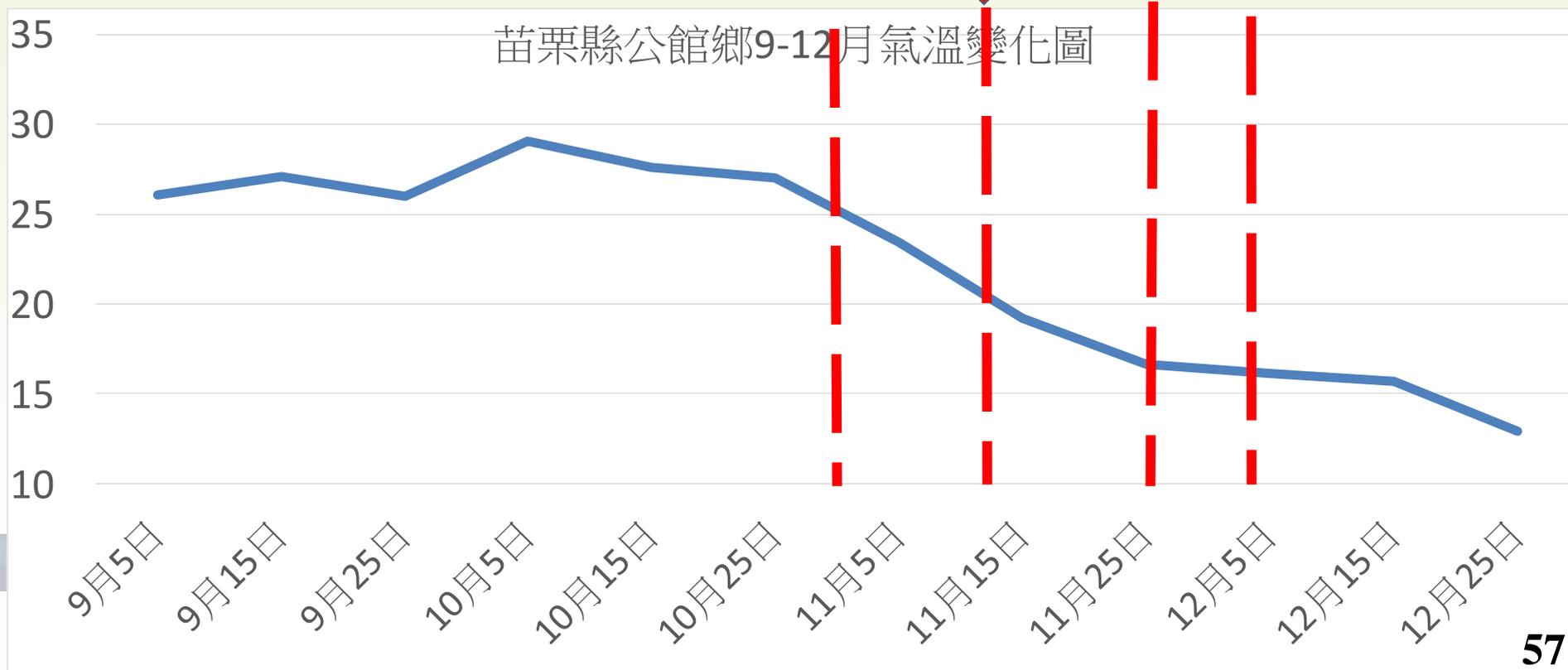
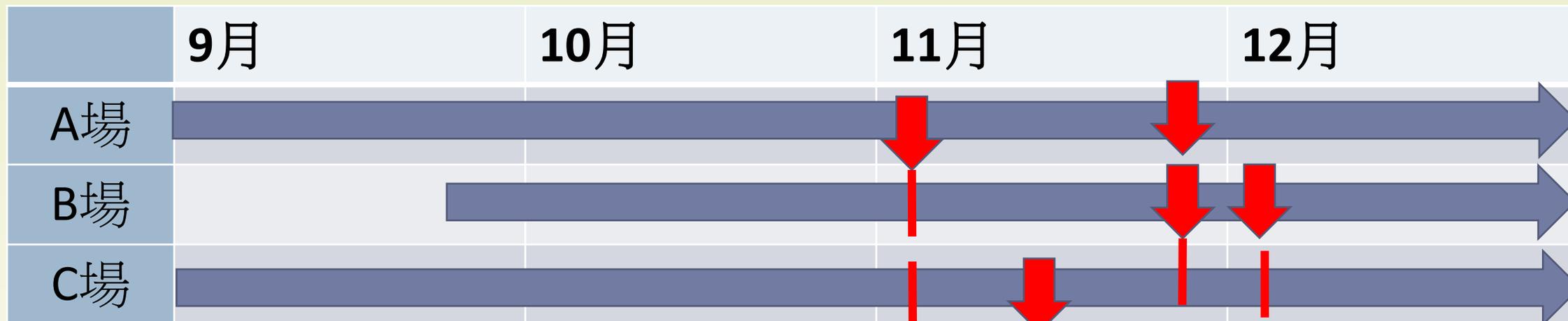


**Fig. 1.** Radial growth rates of *A. astaci* strains [Pc (■), Kv (▣), SA (□), Al (▤), Da (▥)] on PG-1 agar at different temperatures. Values are means of five independent experiments. Vertical bars represent s.d. of the mean.



**Fig. 3.** Percentage of motile spores, i.e. zoospores, at different temperatures in different *A. astaci* strains [Pc (■), (Kv (▣), SA (□), Al (▤), Da (▥)]. Values are means of five independent experiments. Vertical bars represent s.d. of the mean.

[Diéguez-Uribeondo *et al.*, 1995]



# 病因－宿主

## 具敏感性宿主

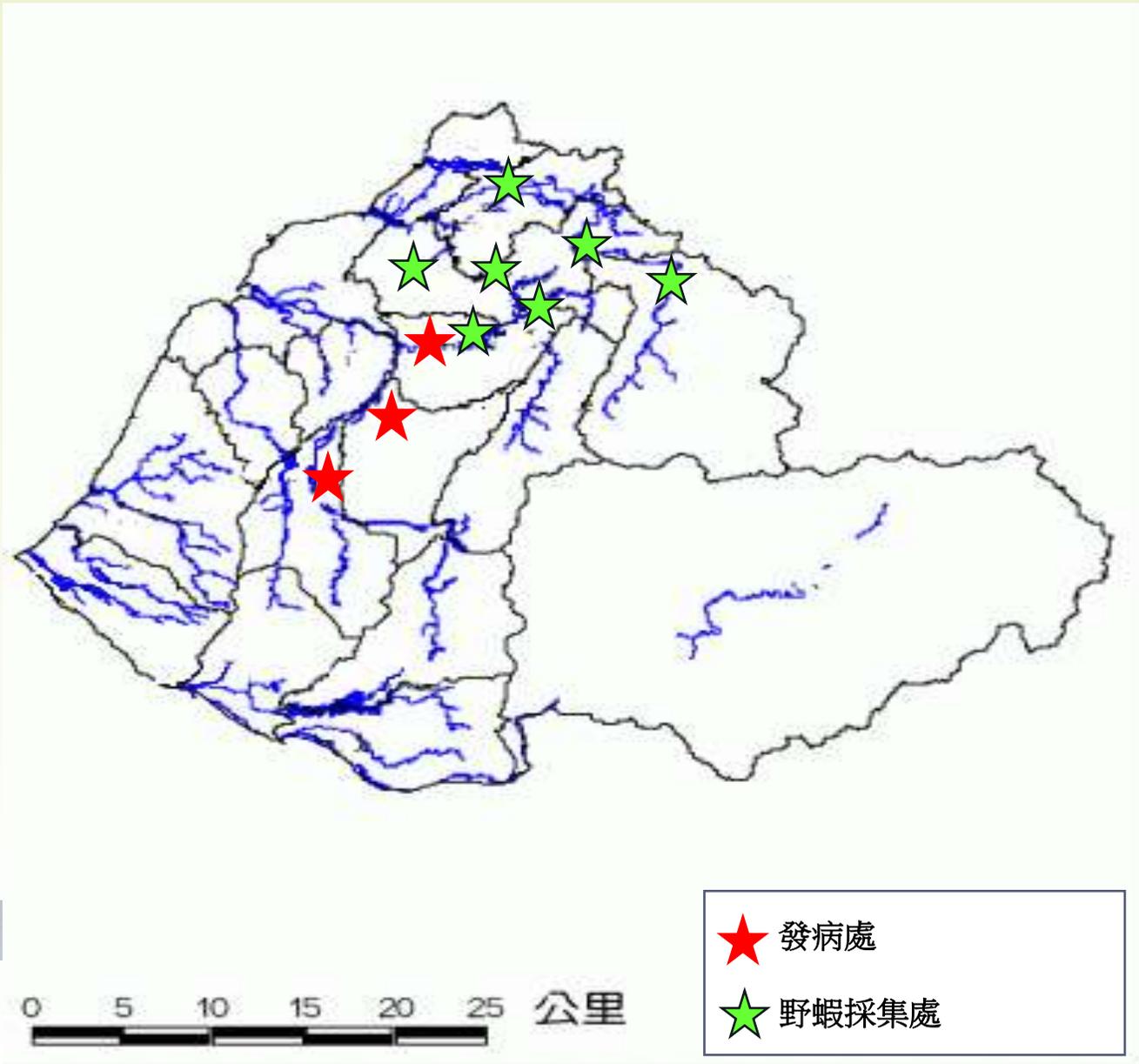
- 澳洲小龍蝦

## 具抗性之帶原宿主

- 依據國外文獻及近年養殖發展概況推測較可能將本病攜入之帶原者
  - 北美小龍蝦(養殖業者於縣內溪流中見過為數不少之北美小龍蝦)
  - 大閘蟹(目前沒有證據顯示疫情與大閘蟹養殖有直接相關)

[Nylund *et al.*, 2000]

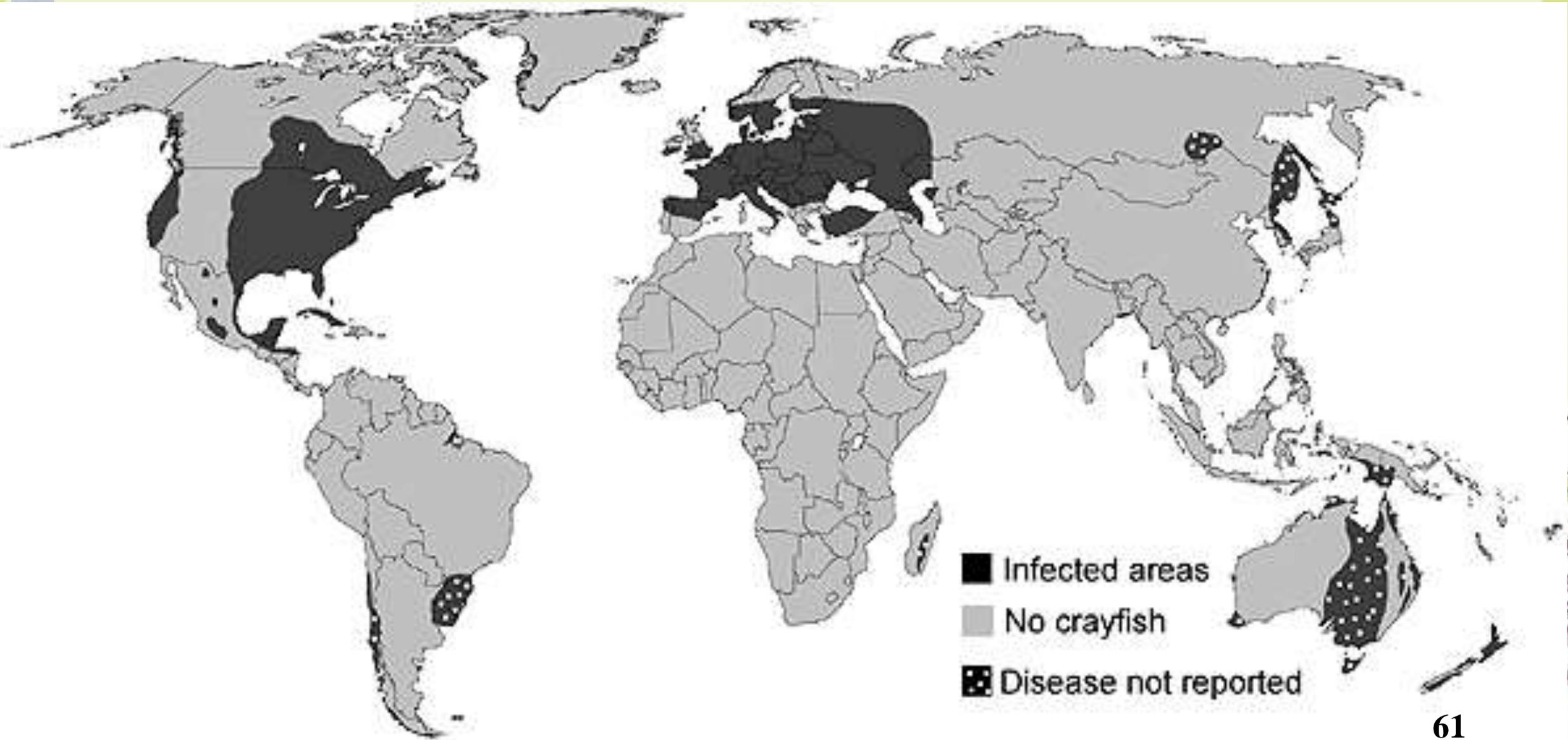
# 病因--宿主(環境物種追蹤)



# 病因--宿主(環境物種追蹤)

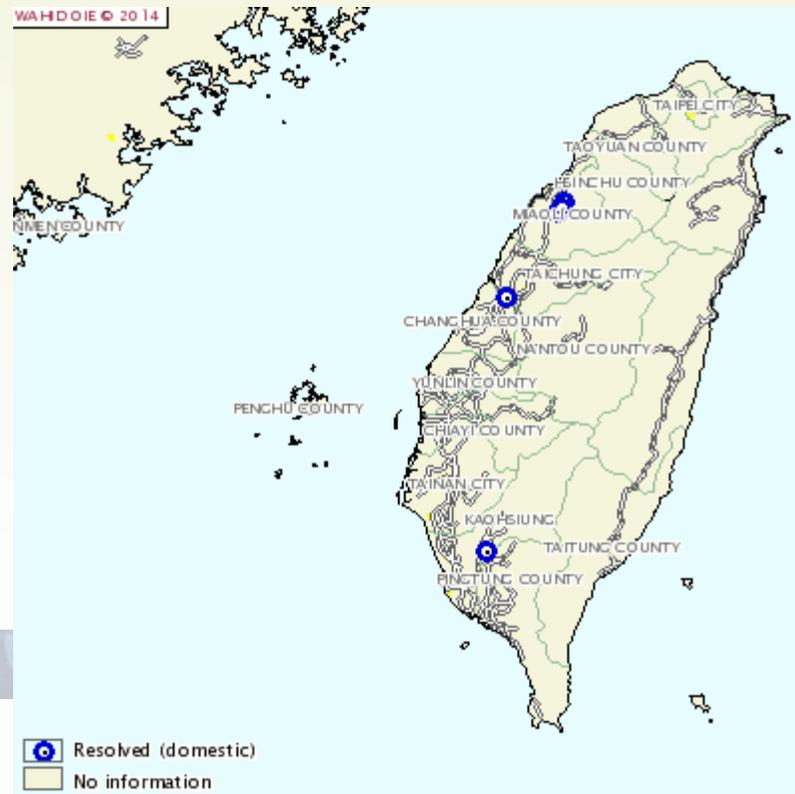


# 流行病學



# 流行病學

- 本次疫情確診為螯蝦瘟感染症
- 2014年2月份通報世界動物衛生組織 (World Organisation for Animal Health, OIE) 正式列為螯蝦瘟感染疫區
- 為亞洲首報



# 傳播途徑



# 傳播途徑

傳播形式：

- 魚類
- 螯蝦
- 受汙染的水源
  - 上游→水中移動生物載體
  - 下游→順水流下

任意棄置美國螯蝦



將開罰



**A場**

上池



下池



**B場**

大池



小池



**彰化來源場**

**C場**

池1

池2

池3

池4

本次病歷疫情傳播擴散歷程

# 臨床症狀



# 臨床症狀

不具特異性或不具明顯症狀

- 白日出沒於池邊
- 癱瘓、麻痺及失去翻正反射等



# 病變



# 病變

- 體表有黑斑形成
  - 黑變作用--Prophenoloxidase(ProPo) system可減緩病菌感染的毒力及將病原菌限制於宿主體表之有限範圍內，防止菌絲生長蔓延，能有效降低病原菌對自身所造成的傷害，將病程轉化為慢性感染，但同時也使宿主成為最佳的疾病帶原者。
- 尾扇有缺損
- 螯胸腹足斷落
- 腹部肌肉白化

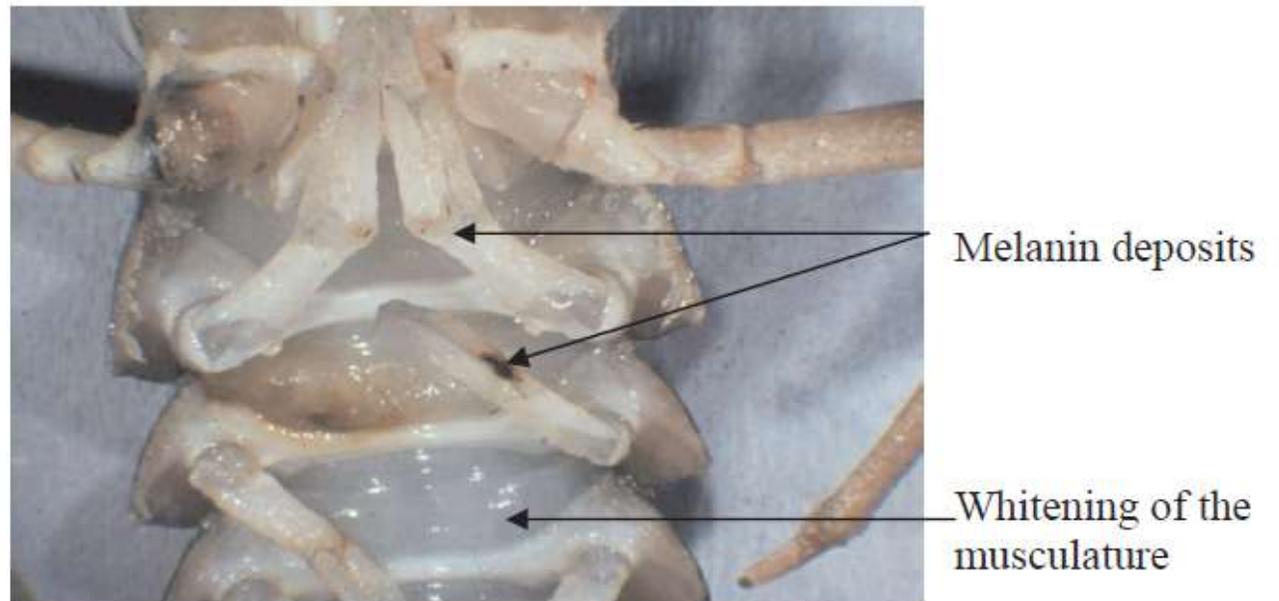
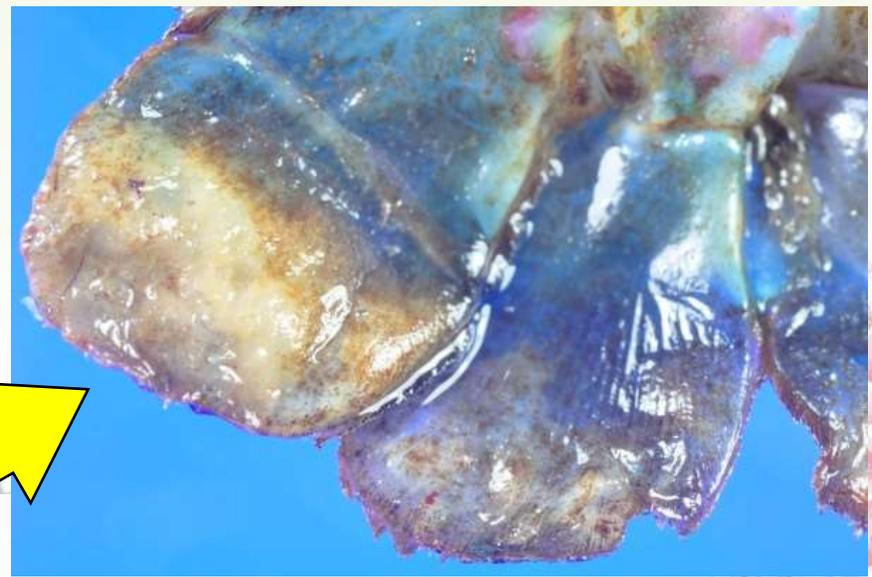
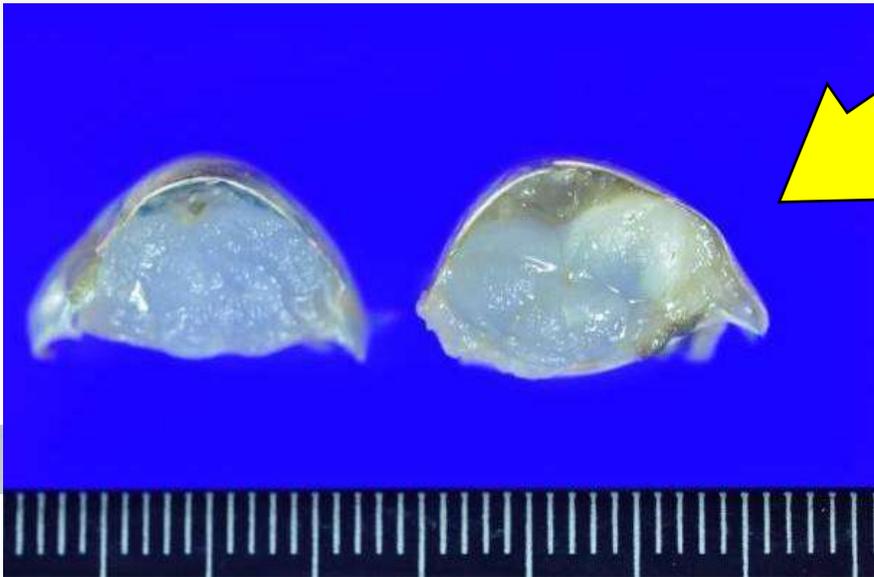
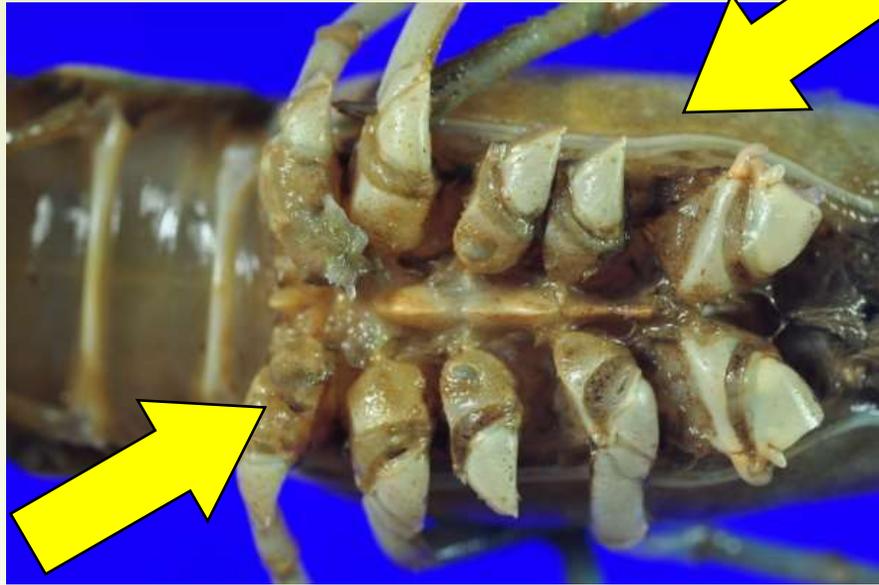


Figure 1. Infected white-claw crayfish showing areas of whitening of the musculature and melanin deposits

[Nicky et al., 2008]

# 病變



# 致病機轉

孢子囊

游動孢子

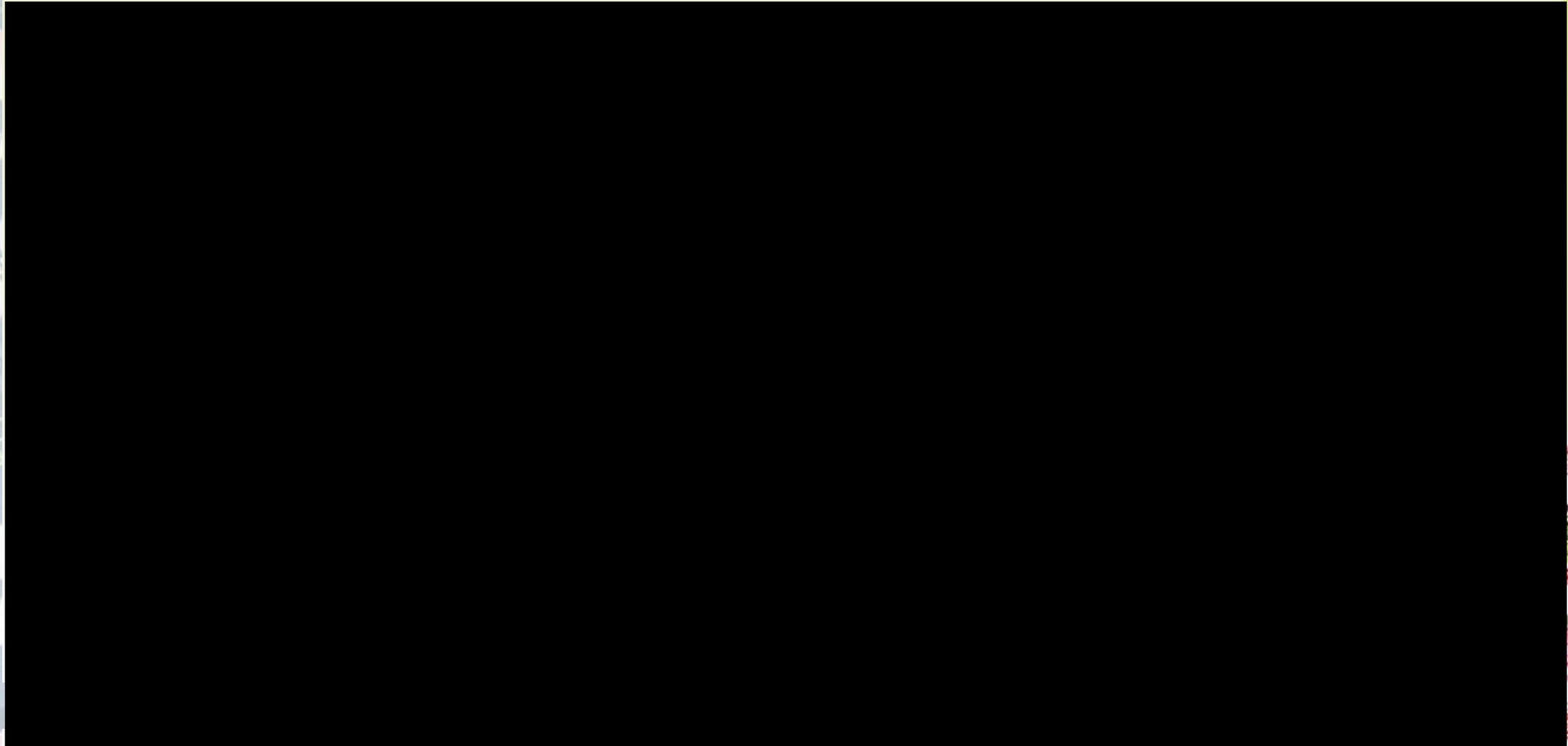
趨化作用--螯蝦腹部的表皮

釋放幾丁酶--AaChil1

菌絲

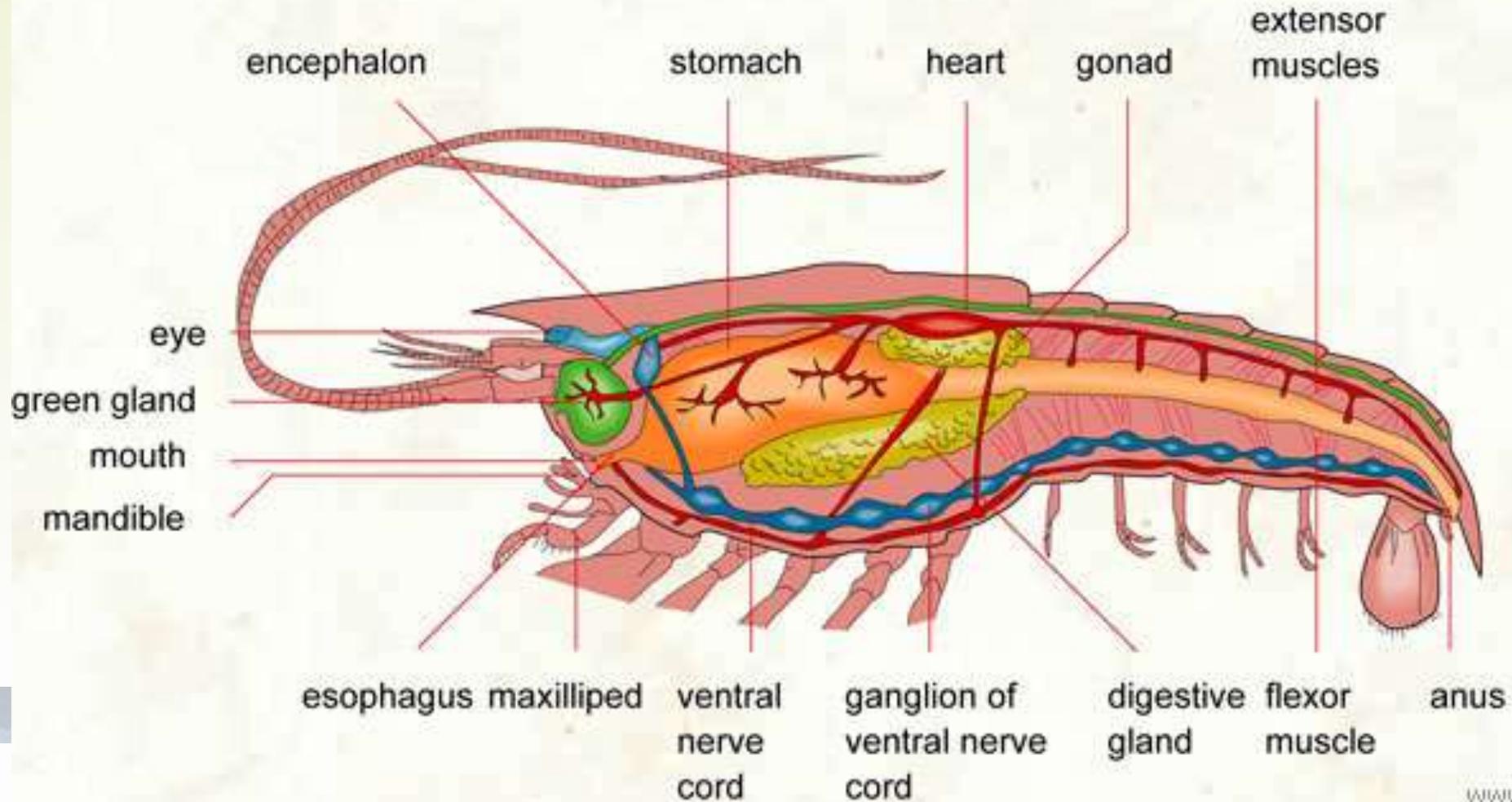


# 傳播途徑



# 致病機轉

## INTERNAL ANATOMY OF A CRAYFISH



# 診斷

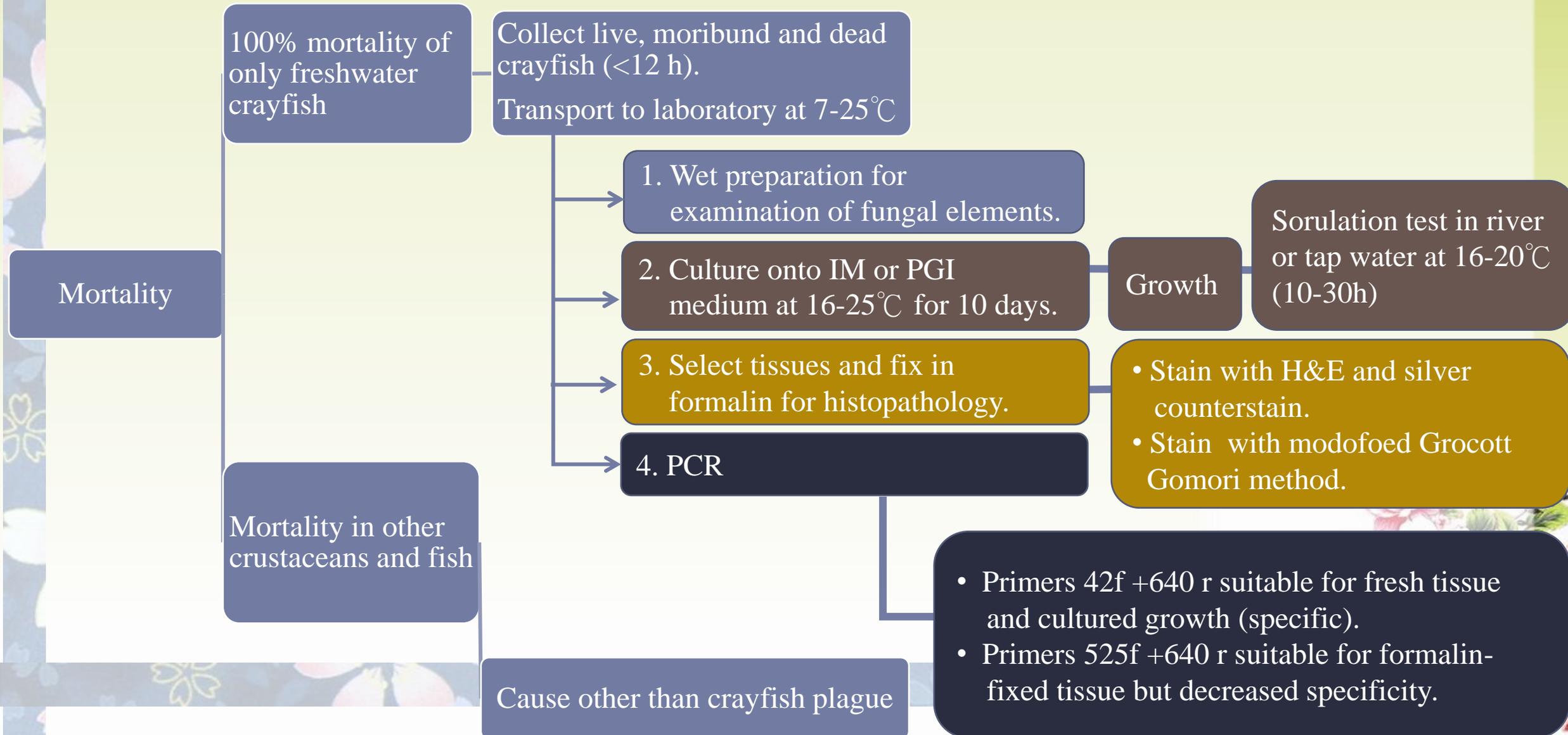


# 診斷

- 不易從其非特異性臨床症狀做診斷
- 感染蝦隻易受其他二次性病原感染，使診斷受干擾



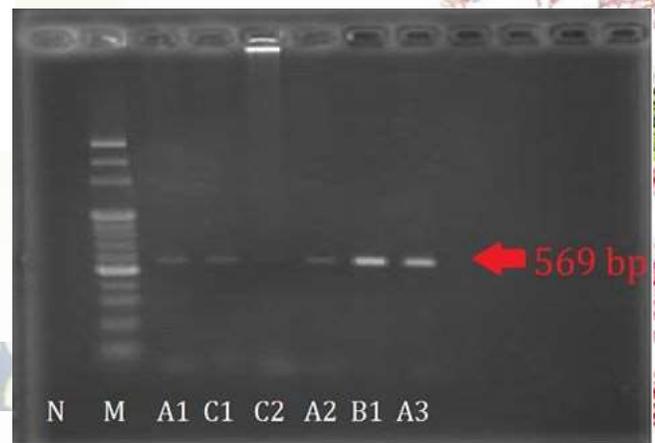
# Flowchart for diagnosis of crayfish plague



# 診斷

Test Method	Sensitivity	Specificity
Wet preparation	M	L
Culture	M	L
Sporulation	H	H
Histopathology	M	L
PCR using Primers 42f + 640r on fresh tissue and cultured growth. Not suitable for paraffin-embedded sections	H	H
Primers 525f + 640r on formalin-fixed tissue.	H	M (weak cross-reaction against <i>A. invadans</i> and <i>A. frigidophilus</i> )

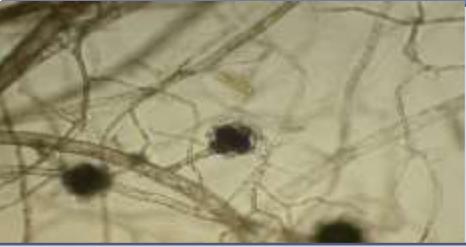
H = High; L = low; M = medium



# 區別診斷



# 區別診斷

病名	溼壓片檢查	臨床症狀與病變
	<p>可見水黴菌絲及孢子囊</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 尾部及其附肢基部有不透明白色斑點，嚴重時遍及全身而致蝦死亡。</li> <li>• 為伺機繼發感染，通常以幼蝦感受性較為強烈。</li> </ul>
	<p>表皮及鰓可見蟲體聚集形成聚落</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 附著於魚蝦體表或鰓組織上，嚴重時造成體表潰瘍、影響鰓呼吸功能。</li> <li>• 外傷後細菌二次性感染。</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 非特異性臨床症狀，急性期蝦隻呈現灰紅色。</li> <li>• 組織病理學檢查：             <ul style="list-style-type: none"> <li>• 壞死外殼上皮細胞及鰓上皮細胞，可見特異性”散彈槍擊發所造成碎片”的病理變化。</li> </ul> </li> </ul>
	<p>肝胰腺內脂肪顆粒降低或消失，伴隨著變黑的小管</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 非特異性臨床症狀</li> <li>• 組織病理學檢察：             <ul style="list-style-type: none"> <li>• 感染的肝胰線小管上皮細胞肥大、脫落</li> <li>• 細胞質內充滿嗜鹼性顆粒，由多形性立克次體樣細菌組成。</li> </ul> </li> </ul>

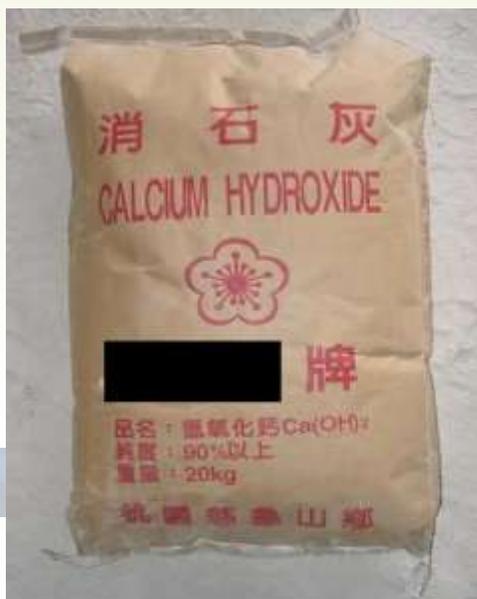
# 治療及預防控制



# 治療及預防控制

本次病例各养殖场感染病蝦全數死亡

- 目前尚無藥物可提供有效治療
- 本所預防控制方面著重自衛防疫及空池之消毒
  - 對已清空之養殖池投予生石灰消毒並進行曝曬48小時



# 治療及預防控制

## 針對空池病原清除

- 次氯酸鈉(漂白粉)200ppm
- 有效碘100ppm，作用30分鐘以上
- 氯化鎂20ppm可抑制孢子的產生
- 乾燥方式處理器械、機具等物品24小時以上



# 疾病控制與防疫措施

接獲病蝦

送驗

現場訪查疫情

防疫  
宣導

- 輔導發病養殖場清池消毒
- 會同漁業科至相關養殖戶訪視
- 訪視相關養殖戶宣導防疫觀念

生態  
追蹤

- 採集池底泥及池底溪蝦
- 發病場上下游水源
- 追蹤野生蝦隻狀況

- 截至目前入冬之際氣溫逐漸降低，並未再有相關疾病案例之發生。
- 本病於縣內應無擴大蔓延之虞

# 致謝

本報告承蒙屏東科技大學獸醫院水產動物科謝嘉裕博士、台中市動物保護防疫處黃振瑋技士於本病例之診斷及各方面所提供諸多協助與寶貴意見





感謝您的聆聽！

苗栗



苗栗縣

20-29

苗栗縣圓夢計畫

防疫研習現正報名中

103年 12月4日、5日 圓夢苗栗系列活動防疫研習





表4. 一般消毒殺菌方法截切蔬果之微生物之影響

殺菌處理	產品	對微生物之影響	文獻出處
氯	萵苣	沙門氏菌及李斯特菌減少1.7 and 2.5 log	Beuchat <i>et al.</i> , 1998
氯清洗	甜瓜	假單胞菌減少0.12 and 1.5 log	Sapers <i>et al.</i> , 1998
二氧化氯	萵苣絲	李斯特菌減少1.1 log	Zhang <i>et al.</i> , 1996
二氯異氰酸鹽	蔬菜	減少1.69-2.42 log	Nicholl <i>et al.</i> , 1998
二氧硫代氰酸鹽	冰萵苣	大腸桿菌O157 : H7最大可減少8 log	Lin <i>et al.</i> , 2000
Electrolyze water	截切蔬菜	減少0.4-1.8 log	Izumi, 1999
過氧化氫	甜瓜	假單胞菌減少0.68 log	Sapers and Simmons, 1998
過氧化氫 (5%)	蔬果	滅菌3 log	Cherry, 1999
臭氧(1.3nM)	萵苣絲	總菌數減少2 log	Kim <i>et al.</i> , 1999
過氧乙酸	蔬果	滅菌2 log	Cherry, 1999

動物及動物產品輸入檢疫條件第五點附件二之二 活甲殼類及軟體動物之輸入檢疫  
條件第一點

附表一

活甲殼類動物應施檢疫之種類及其指定檢疫疾病

動物種類之 英文名稱或學名	動物種類之 中文名稱	指定檢疫疾病
Cambaridae	螯蛄科所有蝦種	Crayfish plague
		White spot disease
Astacidae	螯蝦科所有蝦種	Crayfish plague
		White spot disease
Parastacidae	擬螯蝦科所有蝦種	Crayfish plague
		White spot disease
<i>Caridina</i> spp.	米蝦屬所有蝦種	Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis
		Taura syndrome
		White spot disease



# 北市公園美國螯蝦肆虐 動保處：隨意放生可處5-25萬罰款



中廣新聞網 – 2012年10月7日 下午2:33

民眾在台北市公園，常可以發現許多「美國螯蝦」，台北市議員李慶鋒今天(七號)前往富陽公園會勘，發現這種「美國螯蝦」越來越多，已經危害本土原生種生態平衡，而這種「美國螯蝦」在水池肆虐，主因是民眾隨意放生，北市動保處表示，會持續清除及控管，也提醒民眾如果隨意放生，依照野生動物保育法，可處五到二十五萬元罰鍰，如果還造成生態破壞，最重可處兩百五十萬元罰款。(林麗玉報導)

台北市富陽生態公園，原本豐富的生態資源，卻因為一種外來種「美國螯蝦」大量繁殖，已經嚴重危害到生態平衡，尤其這種「美國螯蝦」適應力強、繁殖速度相當快，已經有民間團體在這三個月來，在台北市許多公園、溝渠，抓到了兩千多隻，甚至這種美國螯蝦又極具攻擊性，讓許多原生物種滅絕。台北市議員李慶鋒批評，台北市許多公園池塘生態，已經被這種外來種破壞殆盡。

對於台北市許多公園池塘生態，遭這種美國螯蝦肆虐，台北市動保處表示，這種外來種的美國螯蝦，俗稱小龍蝦，早期在1980年，由養殖業及水族觀賞業者引進，不過因為肉質不佳、欠缺觀賞價值，就陸續被任意棄置河川、水塘、及溝渠，已經造成原生種水生植物根、莖及水稻葉片遭啃蝕破壞，池塘小魚、小蝦、蝌蚪生物等嚴重減少，動保處呼籲，民眾千萬不要隨意棄置放生，對於民眾隨意將外來種生物不當放生，依照野生動物保育法第32條及第46條，將處5萬元以上、25萬元以下罰鍰，如果導致生態破壞，可處新臺幣50萬元以上、250萬元以下罰鍰。動保處也會持續清除及追蹤控管，維持生態水池的生態平衡。

# 診斷

## 實驗室診斷

- 組織病理切片
- 分子生物學診斷

## 採樣部位

- 腹部殼膜、胸腹足、尾扇、眼睛、鰓絲、肝胰腺與血淋液

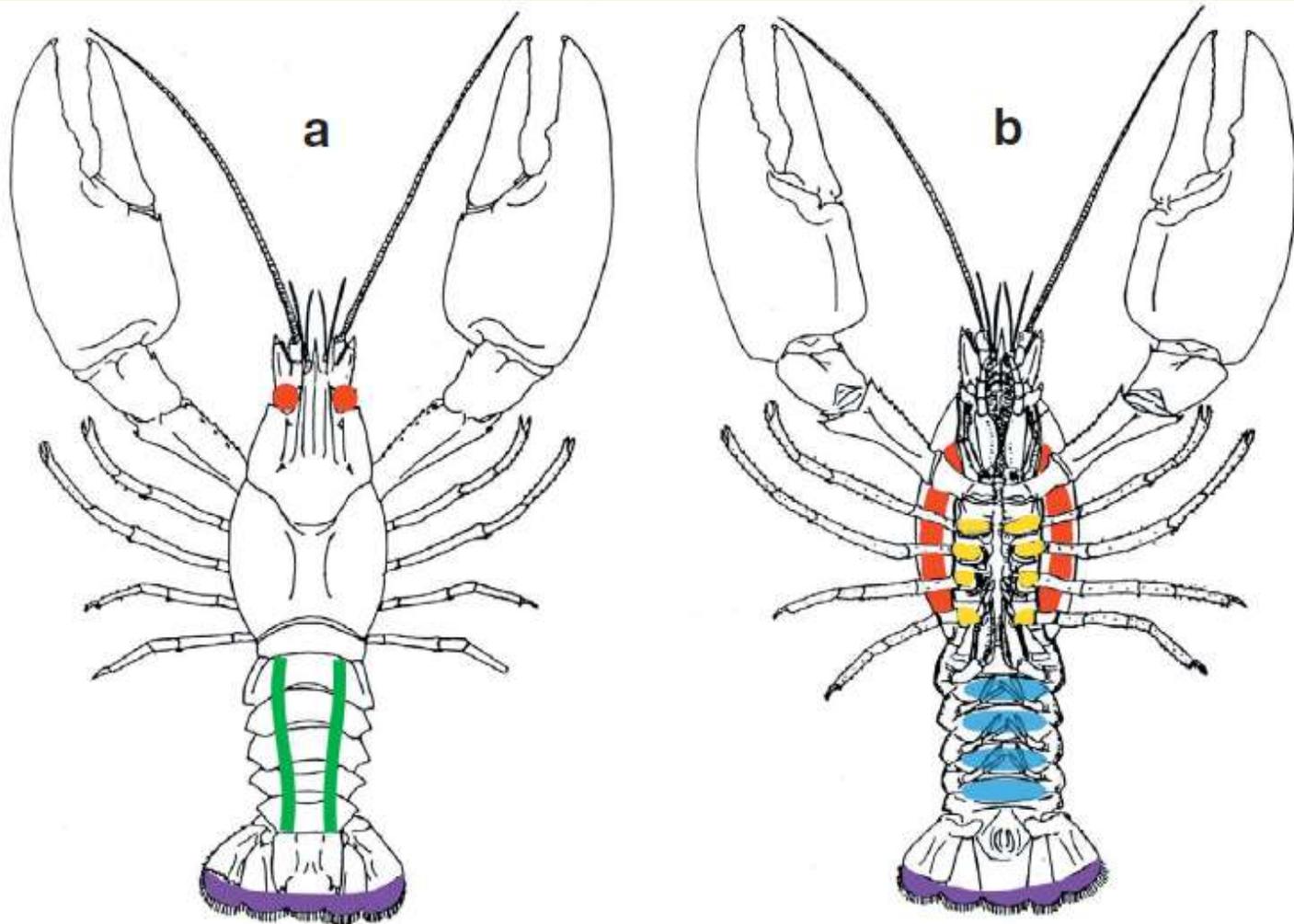


Fig. 1. Sampling sites of crayfish cuticle. (a) Dorsal view of crayfish: red, eyestalks; green and lilac, sampling areas on dorsal abdomen and telson respectively. (b) Ventral view: blue, red and yellow, sampling areas on soft abdominal cuticle, cephalothorax and walking legs respectively [Oidtmann et al., 2006]

# 診斷—組織病理切片

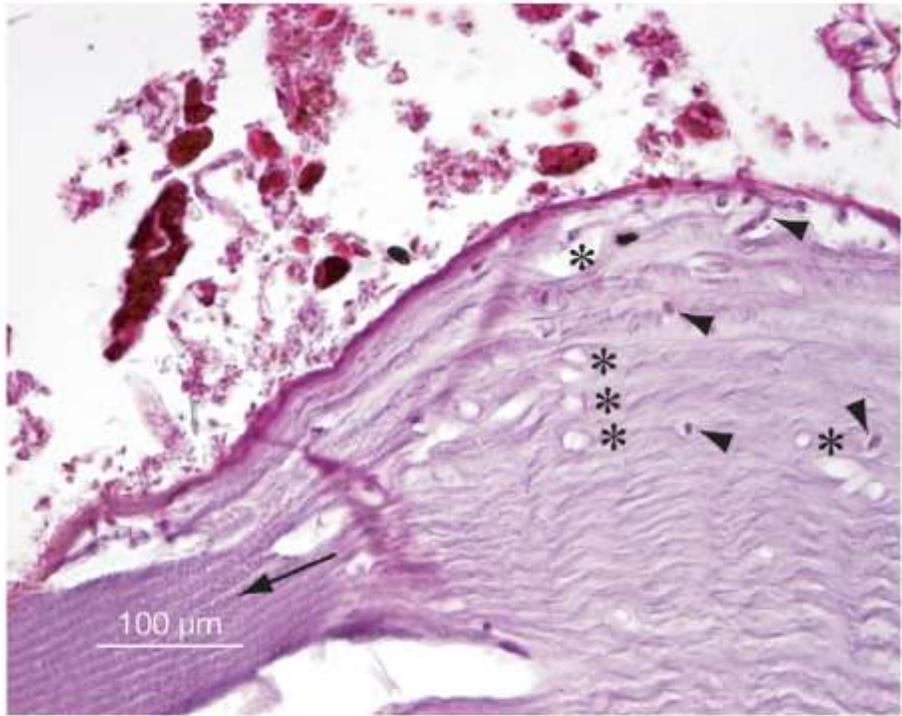
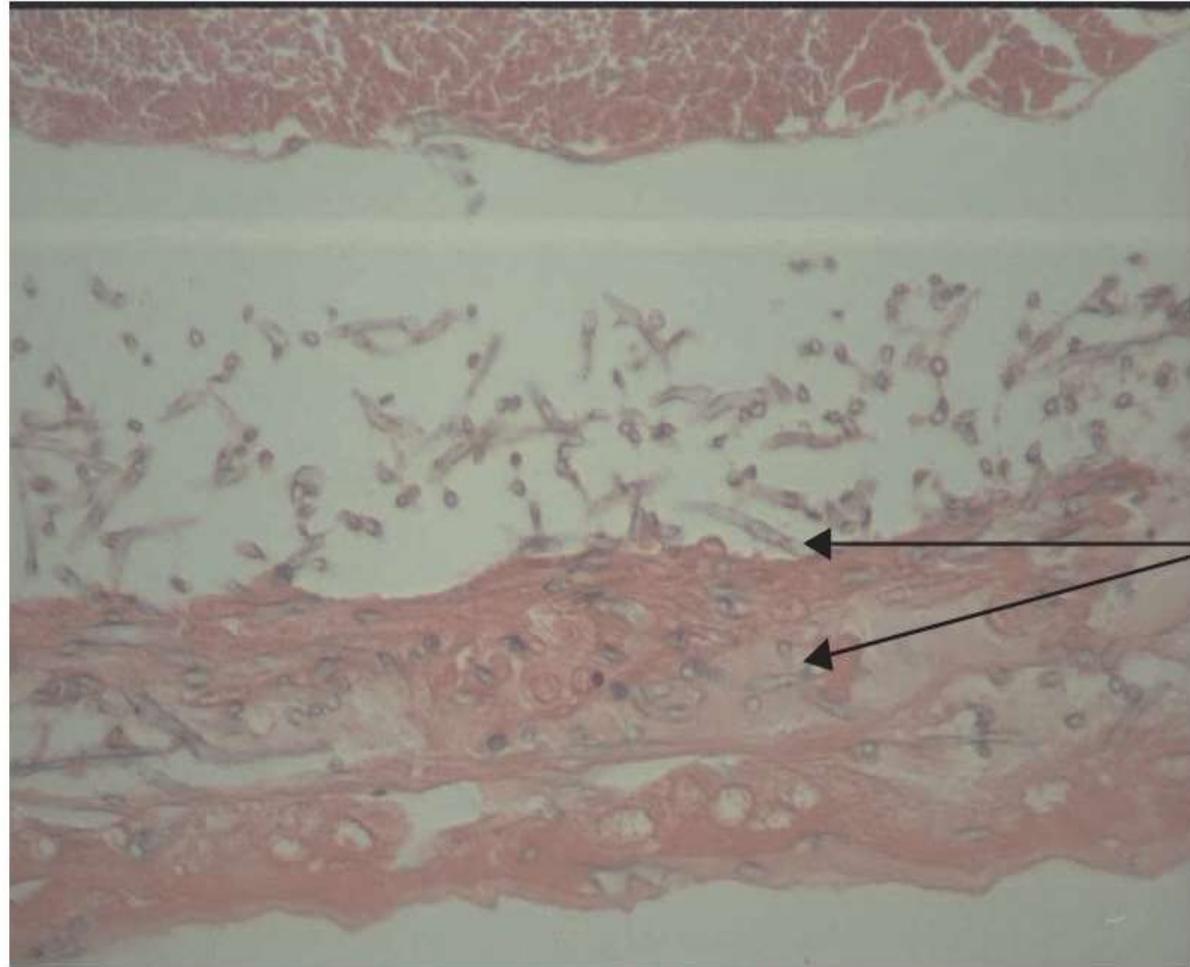


Fig. 2. *Austropotamobius pallipes*. Histological examination. Severe hyphal infiltration in the soft abdominal cuticle of a dead crayfish. Arrow: undamaged exoskeletal area; asterisks: paths carved out by hyphae; arrowheads: hyphae within paths. Periodic acid-Schiff stain [Camma *et al.*, 2010]



Hyphae

[Nicky *et al.*, 2008]

Figure 5. Grocott silver stain combined with a haematoxylin and eosin counter stain showing fungal hyphae in connective tissue

# 診斷--組織病理切片



# 診斷

- 分子生物學診斷

500 bp

