



公開

密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：100801e103

## 行政院農業委員會林務局108年度科技計畫研究報告

計畫名稱： 國立海洋生物博物館海龜疾病監測(2/3) (第  
2年/全程3年)  
(英文名稱) Disease Surveillance of Sea Turtles

計畫編號： 108農科-10.8.1-務-e1(3)

全程計畫期間：自 107年3月1日 至 109年12月31日

本年計畫期間：自 108年1月1日 至 108年12月31日

計畫主持人： 李宗賢  
研究人員： 蔡明安、吳柏諭  
執行機關： 海洋生物博物館



1080678



## 一、執行成果中文摘要：

全球有七種海龜，其中五種海龜都曾在臺灣海域被發現，其分別為綠蠐龜 (Green turtles; *Chelonia mydas*)、玳瑁 (Hawksbill turtles; *Eretmochelys imbricate*)、欖蠐龜 (Olive ridley turtles; *Lepidochelys olivacea*)、赤蠐龜 (Loggerhead turtles; *Caretta caretta*) 以及革龜 (Leatherback turtles; *Dermochelys coriacea*)。這些瀕危海龜面對著各式各樣的人類威脅，例如捕捉、棲地破壞與汙染、海洋垃圾和新興疾病。在海龜多種疾病當中，海龜纖維乳突瘤症是一種會讓動物在外觀出現腫瘤並讓動物虛弱的疾病。該病被認為和ChHV5感染有關。因該病會對海龜族群造成威脅並在全世界許多地方被認為是一種海龜的新興疾病。但該疾病在亞洲報告仍相當的少。且過去有研究指出罹患FP的綠蠐龜其腫瘤程度愈嚴重其血液培養呈現菌血症的比例也愈高。細菌感染治療的首選主要是以抗生素為主，但抗藥性細菌的出現在獸醫學領域當中卻是個日漸嚴重的問題。再者也有研究指出具抗藥性的細菌被從海龜身上分離出來。綜上所述，在這個研究當中研究主軸主要有二部分，分述如下：第一部分為臺灣綠蠐龜纖維乳突瘤症的ChHV5流行病學研究；第二部分為由海龜分離之細菌的抗藥性研究。結果顯示腫瘤組的海龜其體重與體長皆顯著大於非腫瘤組的海龜。血液學分析結果顯示，相較於非腫瘤組的海龜，腫瘤組的海龜有較低的HB、HCT、白血球總數以及淋巴球數。ChHV5的DNA可以成功的在海龜血液樣本中被偵測出來。而 *V. harveyi* 和 *V. vulnificus* 則為綠蠐龜最常分離到的細菌。

## 二、執行成果英文摘要：

Of the seven marine turtles species in the world, five species are found in Taiwan: the green turtle (*Chelonia mydas*), hawksbill (*Eretmochelys imbricata*), olive ridley (*Lepidochelys olivacea*), loggerhead (*Caretta caretta*), and leatherback (*Dermochelys coriacea*) turtles. The globally endangered sea turtle faces various anthropogenic threats, such as bycatch, habitat degradation and pollution, marine debris and emerging diseases manifestations. Among many diseases, the debilitating tumor disease (fibropapillomatosis; FP) of sea turtles, in which tumors develop in external soft tissues in association with Chelonid herpesvirus 5 (ChHV5) infections. FP is threatening the survival of many sea turtle populations. FP has been observed globally and is an emerging disease in marine turtles. However, few reports of FP in Asia exist. Previous reports showed that sea turtles with severe FP were more sensitive to bacteremia. The mainstay of drug therapy for bacterial infections is antibiotic treatment. However, antibiotic resistance in bacteria is a growing problem in veterinary medicine worldwide. Furthermore, previous reports showed that antibiotic resistance of bacteria have been isolated





from sea turtles. Therefore, the aims of this study were as follows: 1) to characterize epidemiology of the ChHV5 from sea turtles with fibropapillomatosis; 2) to determine the resistance to antibiotics of bacteria isolated from sea turtles. Based on the gross observations, it was found that the body weight in green turtles with FP was significantly higher than the ones without FP ( $p < 0.05$ ). The similar phenomenon was also reflected in the significantly longer CCL in green turtles with FP ( $p < 0.05$ ). Regarding the results of hematological profile comparison, green turtles with FP was with a significantly lower value of HB, HCT, WBC and lymphocytes than the ones without FP ( $p < 0.05$ ). ChHV5 was successfully detected by PCR in the blood sample of sea turtles. Additionally, the dominant isolates were *V. harveyi* and *V. vulnificus* in green sea turtles.

### 三、計畫目的：

臺灣傷病擱淺海龜腫瘤疾病的流行現況調查與細菌性病原抗生素瓊膠紙錠擴散試驗。

### 四、重要工作項目及實施方法：

- 1. 細菌性病原分離、培養與鑑定：**由擱淺海龜之鼻腔、洩殖腔或病灶區以無菌棉棒進行微生物採集並培養於選擇與非選擇性培養基(blood agar、MacConkey agar、Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) agar或1.5% NaCl之tryptic soy agar)(圖1)，並置於25°C恆溫培養箱培養24-48小時，取生長優勢的單一菌落進行革蘭氏染色及純化與傳統生化性狀鑑定(圖2)。繼之依結果將標的菌株分別以市售之商品套組API 20NE、API 20E system (Bio Merieux sa, France)或其他生化鑑定套組等進行細菌鑑定與各表現型紀錄分析。
- 2. API 20NE細菌鑑定系統：**將培養18-24小時之菌株，以無菌牙籤取一菌落，塗抹在潮濕之濾紙上，加oxidase試劑一滴，反應1-2分鐘，呈藍色為陽性反應並紀錄之。之後將以無菌棉棒刮取菌落，繼之以0.85% NaCl調成McFarland NO. 0.5的濃度。將调整好濃度之菌液滴入API 20NE strip的1-8孔(NO3~PNG)之凹槽內，其中3、4、5圓孔(GLU、ADH、URE)加滿礦物油。打開一瓶AUX medium，加入200  $\mu$ L菌液，混合均勻，加入9-20孔(GLU、ARA~PAC)之凹槽。25°C培養24小時及48小時。加一滴NIT 1與NIT 2試劑於1孔(NO3)，反應5分鐘，紅色為陽性。若無色，加2mg 鋅粉，反應5分鐘，無色為陽性，粉紅色為陰性。加一滴JAMES試劑於2孔(TRE)，粉紅色為陽性。記錄觀察呈色變化並比對API 20NE的資料庫。
- 3. API 20E細菌鑑定系統：**將培養18-24小時之菌株，以無菌牙籤取一菌落，塗抹在潮濕之濾紙上，加oxidase試劑一滴，反應1-2分鐘，呈藍色為陽性反應並紀錄之。之後將以無菌棉棒刮取菌落，繼之以0.85% NaCl調成McFarland NO. 0.5的濃度，依序將菌落懸浮液分注於反應孔，並根據英文字母下方是否有標示或標示型態



1080678