



Formosan Entomologist

Journal Homepage: entsocjournal.yabee.com.tw

Control Effects of Oxytetracycline on American Foulbrood, *Paeniacillus larvae larvae*, of Honey Bee, *Apis mellifera* 【Research report】

經四環素防治蜜蜂美洲幼蟲病的效果【研究報告】

Yue-Wen Chen and Jui-Shen Liu, Kai-Kuang Ho and Chung-Hsiung Wang, and James An*
陳裕文、劉瑞生、何鏡光、王重雄、安奎*

*通訊作者E-mail: kan@eden.tpm.gov.tw

Received: 2001/05/15 Accepted: 2001/08/07 Available online: 2001/09/01

Abstract

In vitro tests, oxytetracycline (OTC) showed a highly inhibitory effect on spores of *Paeniacillus larvae larvae* isolated from colonies of honey bee (*Apis mellifera*) in Taiwan (MIC = 0.125 mg/ml), but showed no sporicidal effect. In field tests, honey bee colonies were medicated with OTC syrup to determine its effectiveness in prevention of American foulbrood (AFB) in young larvae. Results showed that two doses of OTC syrup, 125 mg/colony and 50 mg/colony, prevented AFB signs for a period of, at least, 9 days and 3 days, respectively. Colonies with a mild AFB infection treated with hive replacement recovered from the disease, and no AFB recurrence was seen in an investigation period of 15 weeks. In addition to hive replacement, colonies with a heavy infection should also be medicated with 125 mg of OTC on the 5th day post-replacement.

摘要

台灣本土分離的幼蟲芽孢桿菌 (*Paeniacillus larvae larvae*) 對經四環素(oxytetracycline, OTC) 非常敏感，室內培養基試驗顯示OTC對孢子的最低抑制濃度 (MIC) 為0.125 mg/ml，但不具殺滅孢子的效果。田間試驗的結果顯示西洋蜂群餵飼1次含125 mg OTC的糖漿，可完全抑制美洲幼蟲病 (American foulbrood) 的發生至少達9日 (施藥前2日 + 施藥後7日)；50 mg OTC劑量則可完全抑制至少達3日 (施藥後)。輕微感染美洲幼蟲病的西洋蜂群 (病徵數 < 50)，可藉換箱處理保留成蜂，新蜂群至少可達15週不會再復發疾病；嚴重感染的蜂群 (病徵數 > 500)，蜂群必須先經換箱處理，並於換箱5日後餵飼1次含125 mg OTC的糖漿，才能達到相同的防治效果。

Key words: oxytetracycline, American foulbrood, *Paeniacillus larvae larvae*, control.

關鍵詞: 經四環素、美洲幼蟲病、幼蟲芽孢桿菌、防治

Full Text: [PDF\(0.18 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

羧四環素防治蜜蜂美洲幼蟲病的效果

陳裕文 劉瑞生 國立宜蘭技術學院應用動物系 宜蘭市 260 神農路 1 號
何鎧光 王重雄 國立台灣大學昆蟲學系 台北市 106 羅斯福路 4 段 1 號
安 奎* 國立台灣博物館 台北市 100 襄陽路 2 號

摘 要

台灣本土分離的幼蟲芽孢桿菌 (*Paeniacillus larvae larvae*) 對羧四環素 (oxytetracycline, OTC) 非常敏感, 室內培養基試驗顯示 OTC 對孢子的最低抑制濃度 (MIC) 為 0.125 $\mu\text{g/ml}$, 但不具殺滅孢子的效果。田間試驗的結果顯示西洋蜂群餵飼 1 次含 125 mg OTC 的糖漿, 可完全抑制美洲幼蟲病 (American foulbrood) 的發生至少達 9 日 (施藥前 2 日 + 施藥後 7 日); 50 mg OTC 劑量則可完全抑制至少達 3 日 (施藥後)。輕微感染美洲幼蟲病的西洋蜂群 (病徵數 < 50), 可藉換箱處理保留成蜂, 新蜂群至少可達 15 週不會再復發疾病; 嚴重感染的蜂群 (病徵數 > 500), 蜂群必須先經換箱處理, 並於換箱 5 日後餵飼 1 次含 125 mg OTC 的糖漿, 才能達到相同的防治效果。

關鍵詞: 羧四環素、美洲幼蟲病、幼蟲芽孢桿菌、防治。

前 言

美洲幼蟲病 (American foulbrood, 以下簡稱 AFB) 是西洋蜂 (*Apis mellifera*) 最嚴重的病害, 染病蜂群若無妥善處理, 除了該染病蜂群會滅亡外, 還會藉由人為管理或蜂群間的盜蜂與迷巢蜂等途徑 (Goodwin *et al.*, 1994), 迅速蔓延整個蜂場, 造成重大損失。目前, 全世界主要養蜂地區皆有 AFB 的發生 (Matheson, 1995); 由於病原孢子具有很高的環境抗逆性, 在養蜂技術十分進步的美國, 蜂群仍有 1.8% 的發生率 (Shimanuki *et al.*,

1992); 阿根廷於 1989 年首度發生 AFB, 由於缺乏適當的防治措施, AFB 迅速蔓延, 造成養蜂者幾乎血本無歸, 估計每年約損失 1 仟萬美元 (只估算蜂群的死亡與蜂蜜的減產值), 損失約佔該國蜂蜜年產值的 1/5 (Alippi, 1996), AFB 的嚴重性可見一斑。台灣, 無可避免的, 於 1967 年首度發現 AFB 後 (Yen and Chyn, 1971), 至今仍嚴重發生於西洋蜂群。

引發 AFB 的病原為幼蟲芽孢桿菌 (*Paeniacillus larvae larvae*), 本菌只有孢子期具有感染力, 工蜂、雄蜂和後蜂的幼蟲皆會

*論文聯繫人
e-mail: kan@eden.tpm.gov.tw

感病 (Rinderer and Rothenbuhler, 1969)。病原對蜜蜂幼蟲的致病力與齡蟲的大小關係密切，對西洋蜂 1 日齡幼蟲 LD_{50} 為 21 個孢子， LD_{95} 為 442 個孢子；對 2 日齡幼蟲的致病力大為減低，接種 4.5×10^4 個孢子只引起 37.2% 的死亡率 (Chen *et al.*, 1997)，而東方蜂 (*A. cerana*) 對本病則具有抗性 (Chen *et al.*, 2000)。感病的幼蟲通常於進入封蓋期 (capping stages) 後才會呈現典型美洲幼蟲病的病徵，但接種高劑量孢子會造成部分幼蟲無法進入封蓋期。

AFB 的傳染力很高，而且病原孢子可於土壤中維持達 35 年，故最有效的防治策略為將罹病蜂群併同巢脾、蜂箱全部燒燬 (Ratnieks, 1992; Matheson and Reid, 1992)，但 AFB 感病初期不易察覺，一旦發現典型 AFB 病徵時，通常已蔓延多數蜂群，因此全面燒燬蜂群的作法通常不為養蜂者採行。

許多抗生素藥劑具有控制 AFB 蔓延的效果 (Moffett *et al.*, 1970)，其中使用最廣泛且被研究者深入探討者為氧四環素 (oxytetracycline, 以下簡稱 OTC)。在美國，OTC 是唯一被許可使用於防治 AFB 的藥劑，蜂群餵飼 OTC 甚至已成為春、秋季時蜂群管理的工作項目 (Delaplane and Lozano, 1994)。OTC 在水中極易分解，34℃ (蜂群巢溫) 時的半衰期只有 2 天 (Gilliam and Argauer, 1981)，因此蜂農常不自覺地加重防治劑量，除了 OTC 可能殘留於蜂產品中 (Lehnert and Shimanuki, 1981; Hwang, 1989; Chiu and Chu, 1990; Matsuka and Nakamura, 1990)，Miyagi *et al.* (2000) 已在美國的養蜂場分離出高抗 OTC 的品系。本研究旨在探討幼蟲芽孢桿菌台灣分離株對 OTC 的感受性，並探討不同劑量 OTC 的防治效果，以建立適合本土的蜜蜂美洲幼蟲病防治

策略。

材料與方法

一、幼蟲芽孢桿菌接種源製備

於 1996 年 8 月取自台大蜂場自然罹患 AFB 的蜂群，以小刮勺取出 50 隻罹病蟲體，加入適量的無菌水以振盪器混勻成懸浮液。懸浮液以 500 rpm, 4℃ 離心 10 分鐘去除蟲體碎片，上清液再以 5000 rpm, 4℃ 離心 30 分鐘，捨棄上清液，沉澱物則加入 10 ml 無菌水，並以振盪器重新混勻後，保存於 4℃。抑菌試驗前取 1 ml 孢子懸浮液，於 80℃ 加熱 10 分鐘以殺死營養體和雜菌，再取出混於 250 ml BHIT (DIFCO, brain-heart infusion supplemented with 0.1 ppm thiamine) 培養液中，於血球計數器估算孢子濃度為 2×10^6 spores/ml。

二、氧四環素抑菌試驗

參考 Tsai (1993) 的方法，進行 2 倍連續性稀釋試驗，使每管 BHIT 培養液中均含 1×10^6 spores/ml 濃度的 *P. I. larvae*，氧四環素 (Sigma) 的濃度則為 0.031–8.0 $\mu\text{g/ml}$ ，每個濃度均進行 3 重複。試管置於 37℃, 100 rpm 旋轉器上培養 60 小時。判讀時先行汰除混濁樣生長者，位於澄清–混濁臨界點的試管則取少許培養液塗於血球計數器，移至光學顯微鏡下觀察之，以確認 OTC 對 *P. I. larvae* 孢子的最低抑制濃度 (minimum inhibitory concentration, 以下簡稱 MIC)。高於 MIC 以上的試管，再以 10 μl 的定量塑膠移菌環 (DIFCO) 移取培養液塗劃於 BHIT 平板，平板則置於 37℃ 培養 4 天，以 CFU (colony forming units) 值低於接種源 0.1% 者做為殺菌的標準，以判讀 OTC 的最低殺菌濃度

(minimum bactericidal concentration, 以下簡稱 MBC)。

三、 羥四環素對成蜂的影響

製作 10 × 10 × 15 cm (L × W × H) 的木製成蜂飼養盒，盒中黏著一塊 5 × 5 cm 的巢脾，逢機從 3 個蜂群取初羽化工蜂 30-40 隻放入飼養盒，各飼養盒分別供應含 OTC 125 ppm 的糖漿 (蔗糖:水 = 1:1, w/w)，各處理均進行 4 重複，對照組則供應純糖漿。成蜂飼養盒置於室溫全暗的環境，每日記錄各處理的成蜂死亡數，直至成蜂全數死亡，糖漿則每 2 日更換一次，以探討 OTC 對成蜂壽命的影響。

四、 羥四環素的防治效果

參考 Chen *et al.* (1997) 的方法，選取台大蜂場內 8 群健壯的西洋蜂，蜂群以可容 10 片蜂的單箱飼養。試驗蜂群各餵飼 1 kg 含 OTC 的糖漿 (蔗糖:水 = 1:1, w/w) 1 次，糖漿中分別含有 OTC 50 mg 與 125 mg 二種劑量，各劑量均餵飼 4 群 (4 重複)。為探討 OTC 的防治效果，分別於餵食 OTC 前 14 和 2 日，餵食後 0、3、7 和 10 日，選取 1 日齡工蜂幼蟲分別以微量吸量管 (Gilson, P2) 滴加 1 μ l 孢子懸浮液於幼蟲食物池中，使幼蟲分別接種得 21 個孢子或 442 個孢子，二者分別為 LD₅₀ 和 LD₉₅ 的劑量 (Chen *et al.*, 1997)；每劑量各接種 30 隻，對照組則接種無菌水，以探討 OTC 對 AFB 的防治效果和藥效的持續性。

五、 罹病蜂群的防治策略

選取台大蜂場內 17 群工蜂族群為 8-9 片的西洋蜂，分別放入 1 片嚴重感染 AFB 的巢脾，約 1-1.5 個月後，蜂群已嚴重感染 AFB，且出現典型 AFB 病徵的幼蟲可達 500 隻以上。此時準備一新的蜂箱，蜂箱中放入 2 片新

巢礎和 4-5 片從健康蜂群移入的封蓋幼蟲脾或蜜脾，新蜂箱備妥後將罹病群的成蜂全數抖入，原有巢脾則於記錄 AFB 罹病數後全部移除，僅保留成蜂於新蜂箱中繼續飼養。蜂群換箱處理後，分別進行下列 4 種不同的處理：

1. 換箱 5 日後餵飼蜂群 1 kg 含 OTC 125 mg 的糖漿，共餵食 4 群。
2. 換箱 5 日後餵食含 OTC 50 mg 的糖漿，共餵飼 5 群。
3. 換箱當日即餵食含 OTC 50 mg 的糖漿，共餵飼 4 群。
4. 換箱後僅餵飼純糖漿，共餵飼 4 群。

試驗蜂群經上述處理後，每週定期檢視蜂群 1 次，檢視時將各群的巢脾逐一取出抖去成蜂，先以肉眼仔細觀察是否出現體色變黃且呈腐爛狀的末齡幼蟲或封蓋被成蜂咬開的封蓋幼蟲。試驗蜂群如出現上述徵狀的蟲體，則取蟲體製作抹片標本，於光學顯微鏡下檢視是否遭 *P. I. larvae* 感染，蜂群如連續 2 週出現 5 個以上的感染蟲體，則判定蜂群再度復發 AFB。此再復發的蜂群，1 週後再次進行換箱處理，並於換箱 5 日後餵飼含 OTC 50 mg 糖漿 1 次或僅餵飼純糖漿，繼續進行 AFB 再復發的檢查，直至第 15 週。此外，試驗期間蜂場中另有 4 群無 AFB 發病記錄的西洋蜂，做為對照組，以監測 AFB 在蜂群間的傳佈。

結 果

羥四環素對台灣本土分離的幼蟲芽孢桿菌孢子的 MIC 為 0.125 μ g/ml，但不具有殺滅孢子的能力 (MBC > 8.0 μ g/ml)。為進一步探討 OTC 防治 AFB 的適用性，將初羽化的西洋蜂工蜂幽禁於成蜂飼養盒中，供應含 OTC 糖

漿，對照組則供應純糖漿，發現兩組成蜂的第 5 日與 15 日累積死亡率、平均壽命（表一）均無顯著差異 ($P > 0.05$)，顯示 125 ppm OTC 對成蜂壽命並無顯著的影響。

蜂群餵飼 1 kg 含 125 mg OTC 糖漿 (125 ppm) 的結果 (圖一)，可發現施藥前 14 日接種孢子的幼蟲，因取食期未接觸藥劑，因此接種 15 日後的蛹存活率分別為 $5.8 \pm 2.8\%$ (442 spores) 與 $47.5 \pm 6.6\%$ (21 spores)，對照組則為 $89.7 \pm 4.2\%$ ，換算得幼蟲校正死亡率分別為 $93.7 \pm 3.1\%$ 與 $46.8 \pm 7.2\%$ ，此數值分別與 Chen *et al.* (1997) 估算所得之 95% 與 50% 死亡率數值接近。施藥前 2 日接種者，於 3-6 日齡幼蟲期仍有機會接受 OTC，可發現接種 LD₉₅ 劑量孢子 (442 spores) 的蛹存活率大幅提升至 $89.9 \pm 7.2\%$ ，LD₅₀ 劑量孢子 (21 spores) 為 $95.8 \pm 3.2\%$ ，對照組則為 $96.7 \pm 2.7\%$ (圖一 A)，三者均無顯著差異 ($P > 0.05$)。在幼蟲移除率方面，2 種接種處理組皆大幅減低 (圖一 B)，而且均未出現 AFB 者 (圖一 C)，這些現象已和接種水的對照組無顯著差異 ($P > 0.05$)，顯示此 OTC 劑量可以完全防治已經感染孢子的幼蟲。施藥當日，施藥後 3 和 7 日感染 2 種劑量孢子的幼蟲，其蛹存活率達 91.7-99.2%，而且均未出現 AFB 罹病體，這些結果顯示 125 mg OTC 可以完全防治高劑量孢子感染至少達 9 日 (施藥前 2 日 + 施藥

後 7 日)。施藥後 10 日接種者，125 mg OTC 對 2 種劑量孢子感染的幼蟲仍有很高防治的效果，其蛹存活率分別為 $96.7 \pm 2.7\%$ (442 spores) 與 $94.1 \pm 5.2\%$ (21 spores)，二者均與對照組 ($98.3 \pm 2.0\%$) 無顯著差異 ($P > 0.05$)；而且二者的幼蟲移除率也與對照組無顯著差異 ($P > 0.05$)，但是二者在 120 隻接種孢子的幼蟲中，均出現 1 隻 AFB 罹病體，而對照組則無，顯示其藥效已呈下降的趨勢。

蜂群餵飼含 50 mg OTC 糖漿的結果 (圖二)，可發現施藥前 14 日接種孢子者，蛹存活率分別為 $6.7 \pm 2.7\%$ (442 spores) 與 $53.3 \pm 9.0\%$ (21 spores)，對照組則為 $94.2 \pm 4.2\%$ ，換算得幼蟲校正死亡率分別為 $93.1 \pm 3.2\%$ 與 $45.5 \pm 10.1\%$ ，此數值也分別與 Chen *et al.* (1997) 估算所得之 95% 與 50% 死亡率數值接近。施藥前 2 日接種者，封蓋蟲體均未出現 AFB (圖二 C)，但幼蟲移除率並未大幅減低 (圖二 B)，接種 LD₉₅ 劑量孢子者仍達 $30.7 \pm 6.4\%$ ，LD₅₀ 劑量者為 $17.3 \pm 7.0\%$ ，而對照組則僅為 $0.8 \pm 1.7\%$ ；因此接種 LD₉₅ 劑量孢子者的蛹存活率雖增加至 $69.3 \pm 6.7\%$ (圖二 A)，LD₅₀ 劑量者增加至 $82.7 \pm 7.0\%$ ，二者仍顯著低於對照組的蛹存活率 ($99.2 \pm 1.7\%$, $P < 0.05$)。這些結果顯示 50 mg OTC 無法防治已嚴重感染的幼蟲，故幼蟲移除率並未降低，但可抑制感病較輕者於封蓋期出現病徵。50

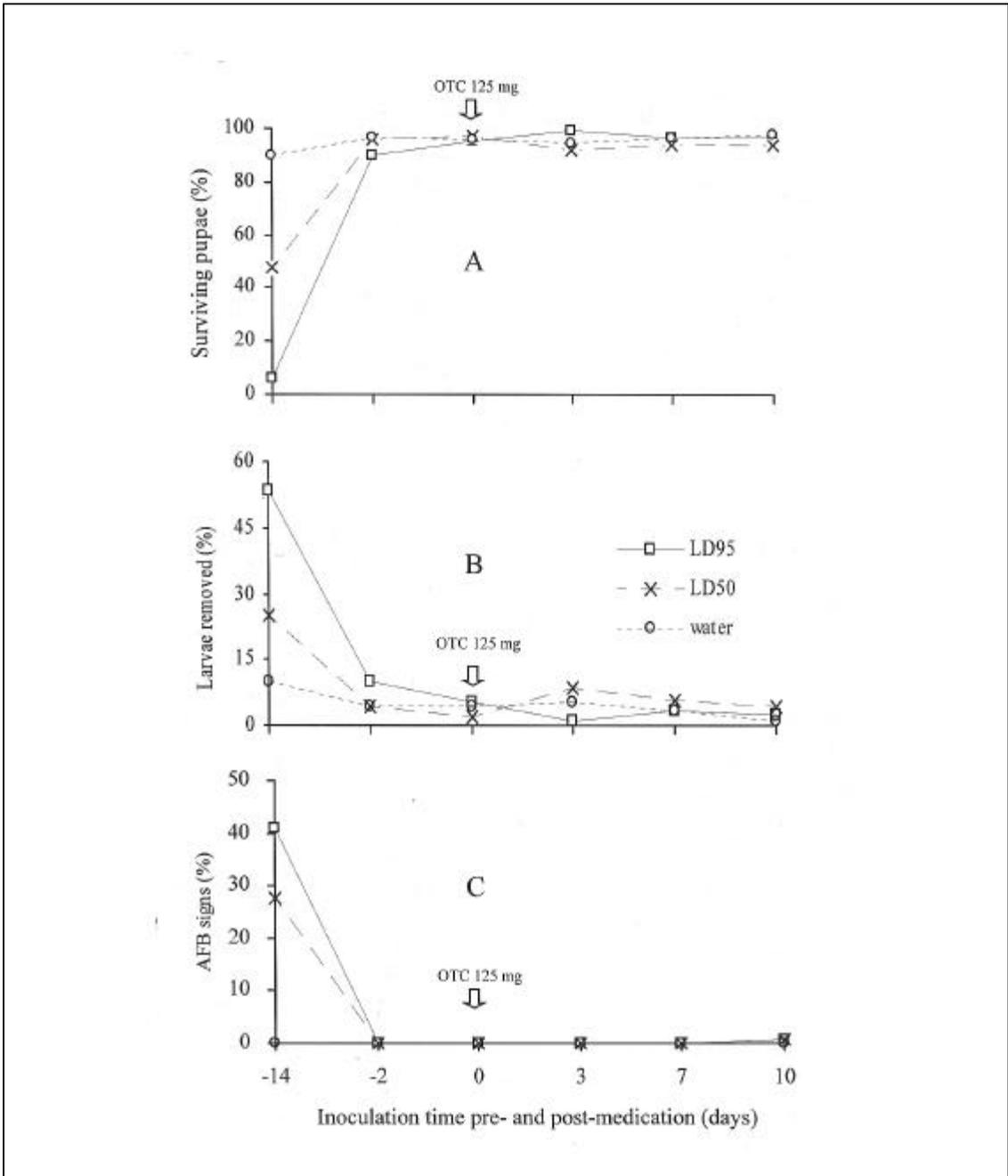
表一 初羽化工蜂餵食含 125 ppm 經四環素糖漿的累積死亡率與平均壽命

Table 1. Accumulative mortality and mean longevity of newly emerged adult workers fed on 125 ppm oxytetracycline syrup

Treatment	N ¹⁾	Mortality (%)		Longevity (days)
		Day 5	Day 15	
Oxytetracycline	137	1.5a ²⁾	46.7a	16.3a
Control	135	0.7a	40.0a	17.5a

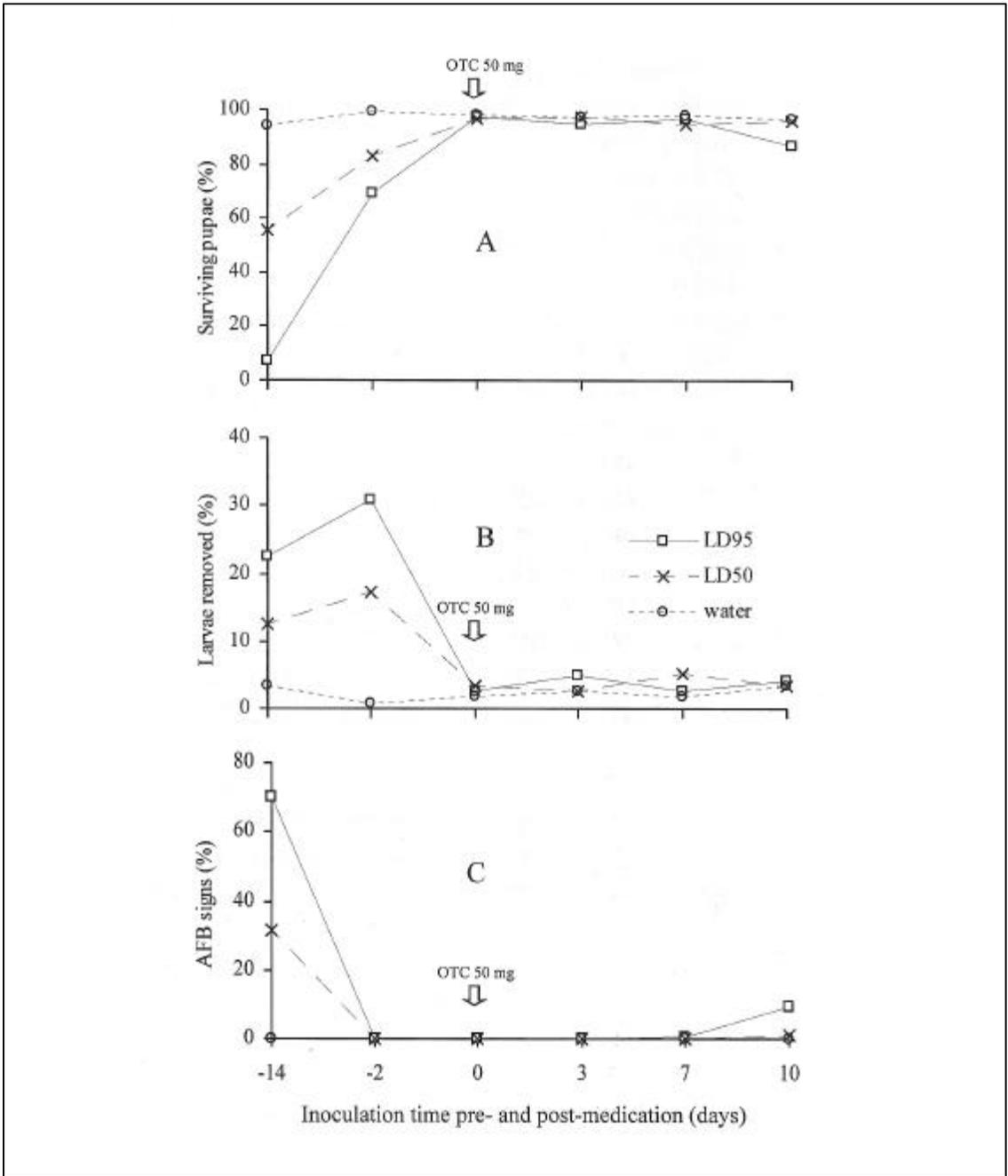
1) Each assay contained 29-43 adult workers in a cage and was performed with four cages.

2) Means in the same column followed by the same letter do not significantly differ by Student's *t*-test ($P < 0.05$).



圖一 蜂群餵飼含 125 mg OTC糖漿對感染幼蟲芽孢桿菌之1日齡工蜂幼蟲的防治效果。接種劑量為LD₉₅ (442 spores) 和LD₅₀ (21 spores)。(A) 幼蟲接種孢子15日後的存活率；(B) 接種幼蟲封蓋前的移除率；(C) 幼蟲接種孢子15日後的AFB感病率。

Fig. 1. Effects of 125 mg OTC syrup on 1-day-old larvae infected with *Paeniacillus larvae larvae* spores. The inoculating doses were LD₉₅ (442 spores) and LD₅₀ (21 spores). (A) Surviving pupae at 15-day post-inoculation; (B) Larvae removed before the capping stage; (C) AFB signs at 15 days post-inoculation.



圖二 蜂群餵飼含 50 mg OTC糖漿對感染幼蟲芽孢桿菌之1日齡工蜂幼蟲的防治效果。接種劑量為LD₉₅ (442 spores) 和 LD₅₀ (21 spores)。 (A) 幼蟲接種孢子15日後的存活率； (B) 接種幼蟲封蓋前的移除率； (C) 幼蟲接種孢子15日後的AFB感病率。

Fig. 2. Effects of 50 mg OTC syrup on 1-day-old larvae infected with *Paeniacillus larvae larvae* spores. The inoculating doses were LD₉₅ (442 spores) and LD₅₀ (21 spores). (A) Surviving pupae at 15-day post-inoculation; (B) Larvae removed before the capping stage; (C) AFB signs at 15-day post-inoculation.

mg OTC 可以完全防治施藥當日和施藥後 3 日感染孢子的幼蟲，但施藥 7 日後接種者，則於 LD₉₅ 劑量出現 1 隻 (0.8%) AFB 罹病體；施藥 10 日後接種者，LD₉₅ 劑量的幼蟲移除率 (4.2 ± 1.7%) 雖然沒有明顯增加，但出現 11 隻 AFB 罹病體 (9.2%)，使其蛹存活率 (86.7 ± 7.9%) 顯著低於對照組 (96.7 ± 2.7%, $P < 0.05$)；而且，LD₅₀ 劑量亦出現 1 隻 (0.8%) AFB 罹病體。這些結果說明 50 mg OTC 的防治效果比 125 mg OTC 低，前者提早於施藥後 7 日即出現藥效下降的現象，而且無法完全防治施藥前 2 日已遭感染的幼蟲。

對於已經嚴重罹病的蜂群 (AFB 發病數 > 500) 可藉由更換無病的巢片與蜂箱，並於換片處理 5 日後餵飼含 125 mg OTC 糖漿 1 次，則蜂群於 15 週內皆未復發 AFB (表二，蜂群 P₁₋₄)，相同的狀況若改餵飼 50 mg OTC 糖漿，則 5 群蜜蜂中有 3 群未復發 AFB (蜂群 O₇₋₉)，但有 2 群於換片處理 9 週後再度發生

AFB (蜂群 O_{5,6})。倘若餵飼 50 mg OTC 與換片同時進行，則防治效果更差，4 群中有 2 群分別於 6 週 (蜂群 O₁) 和 7 週 (蜂群 O₂) 後復發；只作換片處理而未施藥劑的效果最差，有 3 群於換片 3 週後即再度發生 AFB (蜂群 C₁₋₃)，只有 1 群未發病 (蜂群 C₄)。上述結果顯示，嚴重發生 AFB 的蜂群，必須完全更換巢片與蜂箱，並於換片處理 5 日後餵飼含 125 mg OTC 的糖漿，則蜂群於 15 週內不會再復發 AFB。若蜂群發生 AFB 的程度較輕 (AFB 發病數 < 50)，則換箱處理後僅餵飼純糖漿 (蜂群 C_{5,8}) 和 5 日後餵飼 50 mg OTC 糖漿 (蜂群 O₁₀₋₁₂) 的處理，皆可使其在 15 週內不復發疾病。

討 論

AFB 防治策略的擬定，最重要的是必須根據當地的養蜂型態特性，訂定最佳的防治策

表二 罹患美洲幼蟲病蜂群經換片處理和 OTC 糖漿餵飼後疾病再復發的時間

Table 2. Time of AFB recurrence of infected colonies after comb replacement and OTC syrup treatment

Hive no.	Treatment ¹⁾	AFB class before treatment ²⁾	Time of AFB recurrence (weeks)
P ₁₄	125 mg OTC + R	++	- ³⁾
O ₁	50 mg OTC (1) + R	++	6
O ₂	50 mg OTC (1) + R	++	7
O ₃₄	50 mg OTC (1) + R	++	-
O ₅₆	50 mg OTC (2) + R	++	9
O ₇₉	50 mg OTC (2) + R	++	-
C ₁₃	R	++	3
C ₄	R	++	-
O ₁₀₋₁₂	50 mg OTC (2) + R	+	-
C ₅₈	R	+	-
C ₉₁₂	N	-	-

1) R, all combs were replaced with disease-free combs; 125 mg OTC, fed 125 mg of OTC on day 5 after R; 50 mg OTC (1), fed OTC at the same time of R; 50 mg OTC (2), fed OTC on day 5 after R; N, no treatment (control).

2) Evaluation categories of AFB: +, AFB signs < 50; ++, AFB signs > 500; -, AFB free.

3) No AFB recurrence in a 15-week investigation period.

略。目前本省推薦的防治方法為燒燬罹病蜂群，但真正採行者極微：美國紐約州曾執行燒燬計劃達 15 年才將原來 7% 發生率降低為 1% (Ratnieks, 1992)，而本省養蜂者多半對蜜蜂懷有深厚的情感，一則於心不忍，再則燒燬損失太大，因此他們寧願選擇藥劑控制病情，儘管目前本省並未許可使用任何藥劑防治 AFB。

在美國 (Hoopingartner and Nelson, 1988) 和部分澳洲地區 (Oldroyd *et al.*, 1989)，OTC 是目前唯一被許可使用以防治 AFB 的藥劑，美國蜂農長期使用 OTC 的結果，Miyagi *et al.* (2000) 已分離出高抗 OTC 的品系 (UCD P-MN-98)，其 MIC 超過 32 $\mu\text{g/ml}$ ，而台灣蜂農使用四環素類抗生素估計已有 15 年，根據 Hwang (1989) 檢測台灣產蜂王漿殘留四環素類抗生素的結果，發現殘留高出輸入國標準 (0.1 ppm, 日本) 的樣品達 28%，可見本省蜂農經常使用四環素類抗生素；惟根據本文的結果，OTC 對本土分離的幼蟲芽孢桿菌孢子，MIC 為 0.125 $\mu\text{g/ml}$ ，相較於 Okayama *et al.* (1996) 以瓊脂稀釋法 (agar dilution method) 分析模式種 (ATCC 9545) 與日本分離株對 OTC 的感受性，MIC 分別為 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 與 0.78 $\mu\text{g/ml}$ ；Miyagi *et al.* (2000) 分析另一感性品系 NRRL B-3650 的 MIC 1.0 $\mu\text{g/ml}$ ，因此本土的分離株尚屬於感性株，OTC 仍適用於本土蜂群防治美洲幼蟲病。

OTC 的施用方式雖然廣為研究者探討 (Wilson and Elliott, 1971; Wilson *et al.*, 1971; Wilson *et al.*, 1973; Wilson *et al.*, 1973; Gochnauer and Bland, 1974; Hornitzky *et al.*, 1988; Oldroyd *et al.*, 1989)，但多未精確地評估 OTC 的防治效果，其評估藥效乃以“蜂群”的角度作為標準，將

OTC 施用於罹病蜂群或 OTC 與孢子同時餵飼正常蜂群，再觀察試驗蜂群中 AFB 的病徵數，以評估防治效果與藥效持續的時間；惟此方法無法得知因罹病而遭移除者，無法精確評估藥效。本論文評估 OTC 則以蜜蜂“個體”的角度評估之，將含 OTC 糖漿餵飼正常蜂群，再於 OTC 處理前、後直接接種 LD_{50} 和 LD_{95} 劑量孢子於標的幼蟲，因此只要觀察標的幼蟲的存活率，即可精確地評估防治效果與藥效持續的時間。如此評估的結果，可發現蜂群餵飼 1 次含 OTC 125 mg 的糖漿後 (圖一)，立即出現防治藥效，而且可完全抑制 AFB 的發生至少達 9 日 (施藥前 2 日+施藥後 7 日)，這段時期接種孢子的幼蟲皆未出現 AFB，且其幼蟲移除率和蛹存活率皆與對照組無顯著差異 ($P > 0.05$)；雖然，OTC 125 mg 施用 10 日後仍具防治很高的效果，其幼蟲移除率和蛹存活率皆與對照組無顯著差異 ($P > 0.05$)，但卻出現 1 隻 (0.8%) AFB 罹病體，這 1 隻 AFB 罹病體會產生 2.5×10^9 spores (Sturtevant, 1932)，AFB 可能會再次蔓延，因此吾人認為此時的防治效果已然下降。OTC 50 mg 的防治效果較低，提前於施藥後 7 日接種者即出現 0.8% AFB (圖二)。因此，Delaplane and Lozano (1994) 建議每群施用 OTC 200 mg，間隔 4-5 日連續施用 3 次，此劑量對本省養蜂型態顯然太高。根據本試驗結果，如使用 125 mg 劑量則 10 日後再追加 1 次，藥效則至少可達 17 日；50 mg 劑量則間隔 7 日連續施 3 次，藥效亦可達 17 日。

台灣地區 7-8 月外界普遍缺乏蜜粉源，此時蜂群必須密集地餵飼糖水和花粉才能安然渡夏，而且多數蜂農因為此時期的蜂王漿產量較低而停止採收。以蜂群預防 AFB 的角度而言，此時餵食含 OTC 50 mg 糖漿 1 次應可達到良好的效果。對於已經出現 AFB 病徵的蜂

群，汰去全部巢脾並更換新蜂箱是必要的措施，此時補充的蜂片應以新巢礎為主，因為保留的成蜂體上仍有病原孢子 (Oldroyd *et al.*, 1989)，從他群移入的巢脾最好只含封蓋幼蟲而不可有卵或 3 日齡以下的幼蟲，以避免幼蟲立即感染孢子。透過上述換箱處理，如果處理蜂群只是輕微感染 (AFB 病徵數 < 50)，則蜂群毋須用藥亦可達到防治效果；當然，換箱 5 日後餵飼一次含 OTC 50 mg 糖漿，則更能確保防治效果 (表二)。如果處理蜂群已嚴重感染 AFB (病徵數 > 500)，則僅以換箱處理的蜂群多數會於 3 週後再度出現 AFB，因此必須於換箱處理 5 日後餵飼一次含 OTC 125 mg 糖漿，如此處理蜂群至少可於 15 週內不會再度發生 AFB。當然，蜂場內如出現此種嚴重感染的蜂群，AFB 可能已在蜂場內蔓延，此時應立即仔細檢視全場的蜂群，並採取適當的防治措施，以避免疾病繼續惡化。蜂群餵飼 OTC 糖漿後，建議必須有 4 週的停止生產期 (Delaplane and Lozano, 1994)，而且於恢復生產前需將儲蜜取出，以避免蜂產品殘留 OTC。

引用文獻

- Alippi, A. M.** 1996. World news. International Workshop on American Foulbrood. *Bee World* 77: 112-115.
- Chen, Y. W., C. H. Wang, and K. K. Ho.** 1997. Pathogenicity of *Bacillus larvae* to the larvae of honeybee (*Apis mellifera*). *Chin. J. Entomol.* 17: 23-32 (in Chinese).
- Chen, Y. W., C. H. Wang, J. K. An, and K. K. Ho.** 2000. Susceptibility of the Asian honey bee, *Apis cerana*, to American foulbrood, *Paenibacillus larvae larvae*. *J. Apicult. Res.* 39: 169-175.
- Chiu, C. S., and L. K. Chu.** 1990. Dissipation of oxytetracycline residue in royal jelly. *J. Agric. Res. China* 39: 339-346.
- Delaplane, K. S., and L. F. Lozano.** 1994. Using Terramycin® in honey bee colonies. *Amer. Bee J.* 134: 259-261.
- Gilliam, M., and R. J. Argauer.** 1981. Oxytetracycline residues in surplus honey, brood nest honey, and larvae after medication of colonies of honey bees, *Apis mellifera*, with antibiotic extender patties, sugar dusts, and syrup sprays. *Environ. Entomol.* 10: 479-482.
- Gochnauer T. A., and S. E. Bland.** 1974. Persistence of tetracycline activity in medicated syrup stored in honeybee colonies in late spring. *J. Apicult. Res.* 13: 153-159.
- Goodwin, R. M., J. H. Perry, and A. T. Houten.** 1994. The effect of drifting honey bees on the spread of American foulbrood infections. *J. Apicult. Res.* 34: 209-212.
- Hoopingarner, R., and K. Nelson.** 1988. American foulbrood cleanup rate using three Terramycin® treatments. *Am. Bee J.* 128: 120-121.
- Hornitzky, M. A. Z., S. Karlovskis, and A. L. Hallstrom.** 1988. Oxytetracycline activity in honeybee larvae following hive treatment with various oxyte-

- tracycline preparations. *J. Apicult. Res.* 27: 239-244.
- Hwang, W. I.** 1989. Bioautography and bioassay of tetracycline residues in royal jelly. *J. Chin. Agric. Chem. Soc.* 27: 46-56 (in Chinese).
- Lehnert, T., and H. Shimanuki.** 1981. Oxytetracycline residues in honey following three different methods of administering the antibiotic. *Apidologie* 12: 133-136.
- Matheson, A.** 1995. World bee health report. *Bee World* 76: 31-39.
- Matheson, A., and M. Reid.** 1992. Strategies for the prevention and control of American foulbrood. *Am. Bee J.* 132: 399-402, 471-475, 534-547.
- Matsuka, M., and J. Nakamura.** 1990. Oxytetracycline residues in honey and royal jelly. *J. Apicult. Res.* 29: 112-117.
- Miyagi, T., C. Y. S. Peng, R. Y. Chuang, E. C. Mussen, M. S. Spivak, and R. H. Doi.** 2000. Verification of oxytetracycline-resistant American foulbrood pathogen *Paenibacillus larvae* in the United States. *J. Invertebr. Pathol.* 75: 95-96.
- Moffett, J. O., J. D. Hitchcock, J. J. Lockett, and J. R. Elliott.** 1970. Evaluation of some new compounds in controlling American foulbrood. *J. Apicult. Res.* 9: 111-119.
- Okayama, A., T. Sakogawa, C. Nakajima, and T. Hayama.** 1996. Biological properties and antibiographical susceptibility of *Bacillus larvae* originated from American foulbrood of honeybee in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 58: 439-441.
- Oldroyd, B. P., R. D. Goodman, M. A. Z. Hornitzky, and D. Chandler.** 1989. The effect on American foulbrood of standard oxytetracycline hydrochloride treatments for the control of European foulbrood of honeybees (*Apis mellifera*). *Aust. J. Agric. Res.* 40: 691-697.
- Ratnieks, F. L. W.** 1992. American foulbrood: the spread and control of an important disease of the honey bee. *Bee World* 73: 177-191.
- Rinderer, T. E., and W. C. Rothenbuhler.** 1969. Resistance to American foulbrood in honey bees. X. Comparative mortality of queen, worker, and drone larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 13: 81-86.
- Shimanuki, H., D. A. Knox, B. Furgala, D. M. Caron, and J. L. Williams.** 1992. Diseases and pests of honey bees. pp.1083-1151 *In: J. M. Graham, ed. The Hive and the Honey Bee.* Dadant & Sons, Hamilton, IL.
- Sturtevant, A. P.** 1932. Relation of commercial honey to the spread of American foulbrood. *J. Agric. Res.* 45: 257-285.
- Tsai, W. C.** 1993. Dilution methods. pp. 1061-1086. *In: W. C. Tsai, ed. Practical Clinical Microbiology.* Gor-

Chou Press, Taipei (in Chinese).

Wilson, W. T., and J. R. Elliott. 1971.

Prophylactic value of antibiotic extender patties in honey-bee colonies inoculated with *Bacillus larvae*. Am. Bee J. 111: 308-309.

Wilson, W. T., J. R. Elliott, and J. D.

Hitchcock. 1971. Low recurrence of American foulbrood in honey-bee colonies previously treated with drugs. Am. Bee J. 111: 430-431.

Wilson, W. T., J. R. Elliott, and J. D.

Hitchcock. 1973. Treatment of American foulbrood with antibiotic

extender patties and antibiotic paper packs. Am. Bee J. 113: 341-344.

Wilson, W. T., G. H. Rose, J. R. Elliott, and

J. J. Lockett. 1973. Antibiotic paper packs: another method of prolonging drug treatment in honey bee colonies. Am. Bee J. 113: 338-340.

Yen, D. F., and L. C. Chyn. 1971. Studies on a bacterial disease of honeybee in Taiwan. Plant Prot. Bull. 13: 12-17 (in Chinese).

收件日期：2001年5月15日

接受日期：2001年8月7日

Control Effects of Oxytetracycline on American Foulbrood, *Paeniacillus larvae larvae*, of Honey Bee, *Apis mellifera*

Yue-Wen Chen and Jui-Shen Liu Department of Animal Science, National Ilan Institute of Technology, Ilan 260, Taiwan, R.O.C.

Kai-Kuang Ho and Chung-Hsiung Wang Department of Plant Pathology and Entomology, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan, R.O.C.

James An* National Taiwan Museum, Taipei 100, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

In vitro tests, oxytetracycline (OTC) showed a highly inhibitory effect on spores of *Paeniacillus larvae larvae* isolated from colonies of honey bee (*Apis mellifera*) in Taiwan (MIC = 0.125 µg/ml), but showed no sporicidal effect. In field tests, honey bee colonies were medicated with OTC syrup to determine its effectiveness in prevention of American foulbrood (AFB) in young larvae. Results showed that two doses of OTC syrup, 125 mg/colony and 50 mg/colony, prevented AFB signs for a period of, at least, 9 days and 3 days, respectively. Colonies with a mild AFB infection treated with hive replacement recovered from the disease, and no AFB recurrence was seen in an investigation period of 15 weeks. In addition to hive replacement, colonies with a heavy infection should also be medicated with 125 mg of OTC on the 5th day post-replacement.

Key words: oxytetracycline, American foulbrood, *Paeniacillus larvae larvae*, control.