

台灣水禽雷氏桿菌血清型別之調查

陳燕萍*、李淑慧

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

摘要 為了解台灣地區 RA 血清型別流行狀況，利用平板凝集試驗分析自 2004 年 8 月至 2007 年 9 月由中區、嘉南與南區家禽保健中心送檢之 277 鵝分離株與 294 鴨分離株，其中鵝分離株中除去 30.3% 菌株為未知血清型外，以第 2 血清型（19.9%）為最高，其次分別為第 1（15.9%）與第 12（8.7%）血清型；鴨分離株中除去 23.8% 菌株為未知血清型外，以第 2 血清型（26.2%）為最高，其次分別為第 D（15.9%）與第 12（12%）血清型。綜合鵝與鴨分離株共 571 株，除 26.9% 為未知血清型外，以第 2 血清型（23.1%）分離率最高，其次為第 12（10.3%）與第 D（9.3%）血清型。本調查結果顯示台灣地區至少有 16 種 RA 血清型存在，這些結果可作為 RA 感染症防疫上之參考。

關鍵詞：水禽、雷氏桿菌、血清型、調查

緒言

雷氏桿菌（*Riemerella anatipestifer*；RA）感染症過去稱為傳染性漿膜炎，在台灣水禽產業一直是嚴重的問題。其具有高度傳染性與高死亡率，且恢復禽隻有明顯失重、生長遲緩之現象，因此水禽場一旦發生此病，常造成重大之經濟損失。

RA 感染症主要發生在 1-8 週齡的水禽，特別好發於 3-4 週齡雛鴨，其感染率幾近 100%，五週齡以下的小鴨常於症狀出現後 1-2 天即死亡，可造成急性或慢性敗血症、纖維素性心包炎、肝包炎、氣囊炎、輸卵管炎與腦炎，致死率可高達 75%。而在成年鴨隻則常呈不顯性感染，或引起輸卵管炎而導致產蛋率下降[10]。

根據 1995 年 Pathanasophon 等人凝集試驗所鑑定出的 RA 血清型在全球共 21 種，即第 1 至第 21 型，除了第 5 血清型與第 2 血清型、第 9 血清型之間有輕微交叉反應外，各血清型之間並無交互作用[5]。RA 血清型眾多，而各國流行之血清型多有所不同，美國以第 1、2、5 血清型居多 [8,9]；新加

坡以第 1、10、15 血清型最多 [10] 而泰國則以第 1、6、7 血清型最多 [6]。洪在 1996 年研究中指出該研究室所分離之台灣 RA 分離株中，以第 2 血清型最多[1]。

RA 感染症之治療以投與抗菌劑治療為主，在國外亦有單價或多價不活化或活菌疫苗用以預防本病，疫苗對相同血清型之菌株均有良好之保護效力，但對不同血清型之交叉保護效力微弱，患 RA 感染症之鴨隻在恢復後即對同種血清型細菌有抗性[2,3]，RA 各血清型之間並無交互作用，使得本病在防疫上相當之困難。本研究主要目的為了解近年台灣 RA 於水禽流行之血清型別，以作為本病防疫上之參考。

材料與方法

菌株

2004 年 8 月至 2007 年 9 月由中區、嘉南與南區家禽保健中心送檢 RA 鵝分離株 277 株、鴨分離株 294 株，共 571 分離株。

*抽印本索取作者

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

高度免疫血清之製作

參考 Rimler 等 (1998) 之方法[7]，以採購自農委會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所之 SPF 紐西蘭成兔為實驗動物，將第 1~8 型、10~12 型與未知血清型別之 RA 菌株自行命名為 A~D 型之菌株培養於血液培養基，置入 37℃ 中培養 18~24 小時後，將菌落刮下，置於 10 mL 磷酸鹽緩衝液 (phosphate-buffered saline; PBS; 0.01 M Na_2HPO_4 , 2.5 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.1 M NaCl, pH 7.4) 中，以震盪器混勻，以形成均勻的菌液，將此菌液以 3500 rpm 離心 10 分鐘。再將上清液吸出丟棄後，加入 10 mL 之 0.3% 福馬林混勻並置於室溫 18 小時以將細菌去活化。去活化後之菌液以 10 mL PBS 重複清洗三次。洗菌完成後，以 PBS 調整其濃度至 0.2 OD₅₂₅，依此製成之懸浮菌液即為供免疫兔子所用之抗原。將此懸浮液注射於成兔之耳靜脈，每間隔 3~4 日注射一次，其劑量依次提升為 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mL，在最後一次免疫後，再隔 6~7 日，將成兔犧牲，犧牲方法是以 sodium thiopental (20 mg/kg) 自耳靜脈注射麻醉後，自心臟採血，於室溫靜置使其產生血清，經離心後之血清，再經 56℃ 水浴 30 分鐘非動化後，保存於 -20℃ 之冰箱備用。

平板凝集試驗

將待檢測之 RA 菌株以血液培養基進行增菌後，鈎取其單一菌落，於載玻片上以 20 μL PBS 塗開，待其形成一均勻之懸浮小滴時，加上 20 μL 之兔源高度免疫血清，再以鈎菌環將二者混勻攪動二十秒，觀察其是否有雲絮狀凝集產生。

結果

鵝分離株

2004 年 8 月至 12 月 34 分離株中，扣除 23.5% 為未知血清型外，以第 2 血清型佔 47.1% 為最高；2005 年 63 分離株中，扣除 42.9% 為未知血清型外，以第 1 與第 2 血清型各佔 11.1% 為最高；2006 年 96 分離株中，扣除 18% 為未知血清

型外，以第 2 血清型佔 28% 為最高，第 12 血清型佔 17% 次之；2007 年 1 月至 9 月 84 分離株中，扣除 38% 為未知血清型外，以第 1 血清型佔 31% 為最高。2004 年 8 月至 2007 年 9 月共計 277 鵝分離株中，除去 30.3% 菌株為未知血清型外，以第 2 血清型 (19.9%) 為最高，其次分別為第 1 (15.9%) 與第 12 (8.7%) 血清型，如表一與圖一。

鴨分離株

2004 年 8 月至 12 月 19 分離株中，扣除 15.8% 為未知血清型外，以第 2 血清型佔 63.2% 為最高；2005 年 155 分離株中，扣除 7.1% 為未知血清型外，以第 2 血清型佔 31% 為最高，第 D 血清型佔 29.7% 次之；2006 年 106 分離株中，扣除 49% 為未知血清型外，以第 12 血清型佔 23% 為最高，第 2 血清型佔 11% 次之；2007 年 1 月至 9 月僅 14 分離株中，29% 為未知血清型，其餘第 2 與第 12 血清型各佔 36%。2004 年 8 月至 2007 年 9 月共計 294 鴨分離株中，除去 23.8% 菌株為未知血清型外，以第 2 血清型 (26.2%) 為最高，其次分別為第 D (15.9%) 與第 12 (12%) 血清型，如表二與圖一。

鵝與鴨所有分離株

2004 年 8 月至 12 月 53 分離株中，扣除 20.8% 為未知血清型外，以第 2 血清型佔 52.8% 為最高；2005 年 218 分離株中，扣除 17.4% 為未知血清型外，以第 2 血清型佔 25.2% 為最高，第 D 血清型佔 22% 次之；2006 年 202 分離株中，扣除 34.1% 為未知血清型外，以第 12 血清型佔 19.8% 為最高，第 2 血清型佔 19.3% 次之；2007 年 1 月至 9 月 98 分離株中，扣除 36.7% 為未知血清型外，以第 1 血清型佔 26.5% 為最高，第 2 血清型佔 10.2% 次之。2004 年 8 月至 2007 年 9 月共計 571 鴨分離株中，除 26.9% 為未知血清型外，以第 2 血清型 (23.1%) 分離率最高，其次為第 12 (10.3%) 與第 D (9.3%) 血清型，如表三與圖一。

討論

RA 血清型眾多，至今全球至少有 21 種血清型，除了第 5 血清型與第 2 血清型、第 9 血清型之間有輕微交叉反應外，各血清型之間並無交互作用[5]，因此了解田間流行之血清型別為 RA 感染症之防治上不可或缺之要項之一。洪在 1996 年指出該研究室分離之台灣 RA 分離株中，以第 2 血清型最多，其次為第 6 血清型[1]。本研究結果顯示，於 2004 至 2007 年間，仍以第 2 血清型分離株最多，顯示第 2 血清型 RA 菌株於本病之發生扮演著重要的角色，本研究結果可作為 RA 感染症防疫上之參考。

檢測用血清包括第 1 ~ 8, 10 ~ 12, 與 A ~ D 型 RA 抗血清，由於目前實驗室中之 RA 標準菌株僅第 1 ~ 8, 10 ~ 12 型，因此將未知血清型別之 RA 菌株自行命名為 A ~ D 型。調查結果中總計 571 株鴨鵝分離株包括第 1 ~ 8, 10 ~ 12, 與 A ~ D 型 RA 菌株，顯示台灣 RA 發生的血清型眾多，至少有 16 種 RA 血清型存在，但是仍有 154 株(26.%)為未知血清型別，推測台灣水禽場中存在所有 21 種血清型別 RA 菌株，由於不同 RA 血清型菌株之間並無交叉保護作用，因此台灣 RA 感染症之預防最重要的應為良好的飼養管理與禽場衛生，避免過度擁擠、過冷和過熱，減少緊迫的發生，以降低本病發生的危險。

在未來，應收集所有 21 種血清型別之 RA 標準血清，更進一步完成所有 RA 菌株血清型別之檢測。

參考資料

1. 洪伯懿。 *Riemerella anatipestifer* 之生物學特性。國立台灣大學獸醫學研究所碩士論文，台北，台灣，1996
2. Asplin FD. A septicemic disease of ducklings. *Veterinary Research* 67: 854-858, 1955
3. Higgins DA, Henry RR, Kounev ZV. Duck immune responses to *Riemerella anatipestifer* vaccines. *Developmental & Comparative Immunology* 24: 153-167, 2000
4. Loh H, Teo TP, Tan HC. Serotype of *Pasteurella anatipestifer* isolate from ducks in Singapore: a proposal of new serotype. *Avian Pathology* 21: 453-459, 1992
5. Pathanasophon P, Sawada T, Tanticharoneyos T. New serotypes of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand. *Avian Diseases* 24: 195-199, 1995
6. Pathanasophon P, Tanticharoneyos T, Sawada T. Physiological characteristics, antimicrobial susceptibility and serotypes of *Pasteurella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand. *Veterinary Microbiology* 39: 179-185, 1994
7. Rimler RB, Sandhu TS, Glisson JR. *Riemerella anatipestifer* infection. In: Swayne DE, Glisson JR, Jackwood MW, Pearson JE, Reed WM. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens 4th Ed. Rose Printing, The American Association of Avian Pathologists, 22-23, 1998
8. Sandhu TS, Harry EG. Serotypes of *Pasteurella anatipestifer* isolated from commercial white Pekin ducks in the United States. *Avian Diseases* 25: 497-502, 1981
9. Sandhu TS, Leister ML. Serotype of *Pasteurella anatipestifer* isolate from poultry in different countries. *Avian Pathology* 20:233-239, 1991
10. Sandhu TS, Rimler RB. *Riemerella anatipestifer* infection. Diseases of poultry, 10th ed. In: Calnek BW, Barner HJ, Beard CW, Reid WM, Yoder HW Jr., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 161-166, 1997

Table 1: The serotypes of RA isolates from goose during August 2004 to September 2007.

time serotype	2004.8 ~	2005	2006	~ 2007.9	2004.8 ~ 2007.9
1	2 (5.9%)	7 (11.1%)	9 (9.4)	26 (31%)	44 (15.9%)
2	16 (47.1%)	7 (11.1%)	27 (28)	5 (6%)	55 (19.9%)
3	0	2 (3.2%)	0	0	2 (0.7%)
4	0	1 (1.6%)	2 (2.1%)	0	3 (1.1%)
5	0	0	10	7 (8.3%)	17 (6.1%)
6	0	4 (6.3%)	2 (2.1%)	6 (7.1%)	12 (4.3%)
7	0	0	3 (3.1%)	0	3 (1.1%)
8	0	1 (1.6%)	4 (4.2%)	0	5 (1.8%)
10	5	4 (6.3%)	0	3 (3.6%)	12 (4.3%)
11	1	5 (7.9%)	0	1 (1.2%)	7 (2.5%)
12	2	2 (3.2%)	16 (17%)	4 (4.8%)	24 (8.7%)
A*	0	0	1 (1%)	0	1 (0.4%)
B*	0	1 (1.6%)	0	0	1 (0.4%)
C*	0	0	0	0	0
D*	0	2 (3.2%)	5 (5.2%)	0	7 (2.5%)
others	8 (23.5%)	27 (42.9%)	17 (18%)	32 (38%)	84 (30.3%)
sum	34	63	96	84	277

* Named by ourselves

Table 2: The serotypes of RA isolates from duck during August 2004 to September 2007.

year type	2004.8 ~	2005	2006	~ 2007.9	2004.8 ~ 2007.9
1	0	6 (3.9%)	0	0	6 (2%)
2	12 (63.2%)	48 (31%)	12 (11%)	5 (36%)	77 (22.2%)
3	0	0	0	0	0
4	0	1 (0.6%)	2 (1.9%)	0	3 (1%)
5	0	1 (0.6%)	2 (1.9%)	0	3 (1%)
6	1 (5.3%)	1 (0.6%)	3 (2.8%)	0	5 (1.7%)
7	0	9 (5.8%)	0	0	9 (3.1%)
8	0	0	3(2.8%)	0	3 (1%)
10	0	3 (1.9%)	2 (1.9%)	0	5 (1.7%)
11	1 (5.3%)	2 (1.3%)	1 (0.9%)	0	4 (1.4%)
12	2 (10.5%)	4 (2.6%)	24 (23%)	5 (36%)	35 (12%)
A*	0	0	0	0	0
B*	0	6 (3.9%)	5 (4.7%)	0	11 (1.4%)
C*	0	17 (11%)	0	0	17 (5.8%)
D*	0	46 (29.7%)	0	0	46 (15.6%)
others	3 (15.8%)	11 (7.1%)	52 (49%)	4 (29%)	70 (23.8%)
sum	19	155	106	14	294

* Named by ourselves

Table 3: The serotypes of RA isolates from goose and duck during August 2004 to September 2007.

year type	2004.8 ~	2005	2006	~ 2007.9	2004.8 ~ 2007.9
1	2 (3.8%)	13 (6%)	9 (4.5%)	26 (26.5%)	50 (8.7%)
2	28 (52.8%)	55 (25.2%)	39 (19.3%)	10 (10.2%)	132 (23.1%)
3	0	2 (0.9%)	0	0	2 (0.4%)
4	0	2 (0.9%)	4 (2%)	0	6 (1.1%)
5	0	1 (0.5%)	12 (5.9%)	7 (7.1%)	20 (3.5%)
6	1 (1.9%)	5 (2.3%)	5 (2.5%)	6 (6.1%)	17 (3%)
7	0	9 (4.1%)	3 (1.5%)	0	12 (2.1%)
8	0	1 (0.5%)	7 (3.4%)	0	8 (1.4%)
10	5 (9.4%)	7 (3.2%)	2 (1%)	3 (3.1%)	17 (3%)
11	2 (3.8%)	7 (3.2%)	1 (0.5%)	1 (1.1%)	11 (1.9%)
12	4 (7.5%)	6 (2.8%)	40 (19.8%)	9 (9.2%)	59 (10.3%)
A*	0	0	1 (0.5%)	0	1 (0.2%)
B*	0	7 (3.2%)	5 (2.5%)	0	12 (2.1%)
C*	0	17 (7.8%)	0	0	17 (3%)
D*	0	48 (22%)	5 (2.5%)	0	53 (9.3%)
others	11 (20.8%)	38 (17.4%)	69 (34.1%)	36 (36.7%)	154 (26.9%)
sum	53	218	202	98	571

* Named by ourselves

Serotyping of *Riemerella anatipestifer* isolates from waterfowls in Taiwan

Y.P. Chen*, S. H. Lee

Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan

To understand the serotypes of RA in Taiwan, 277 strains of goose isolates and 294 strains of duck isolates from Poultry Health Medical Center were determined their serotypes by slide agglutination test during August 2004 to September 2007. In goose isolates, serotype 2 (19.9%), serotype 1 (15.9%) and serotype 12 (8.7%) were most prevalent and 30.3% isolates were untypable. In duck isolates, serotype 2 (26.2%), serotype D (15.9%) and serotype 12 (12%) were most prevalent and 23.8% isolates were untypable. In combination of 571 isolates from goose and duck, serotype 2 (23.1%), serotype 12 (10.3%) and serotype D (9.3%) were most prevalent and 26.9% isolates were untypable. According to the results, there were at least 16 serotypes of RA in Taiwan. These results could be applied to control the outbreaks of RA infection in Taiwan.

Keywords: *Waterfowl, Riemerella anatipestifer, serotype, serotyping*

* Corresponding Author
Animal Health Research Institute

