

出國報告(出國類別：研究)

研習抗沙門氏菌家禽之育種模式

服務機關：行政院農業委員會畜產試驗所

姓名職稱：劉秀洲 副研究員

洪哲明 副研究員

蔡銘洋 助理研究員

派赴國家：法國

出國期間：97年10月18日至97年10月28日

報告日期：97年12月22日

摘要

研習抗沙門氏菌家禽之育種模式計畫之目的，係赴法國相關機關研習抗沙門氏菌家禽之育種模式，包括有關養禽場環境沙門氏菌病原監控與採樣、分離與鑑定技術及抗沙門氏菌雞隻之育種技術等。行程至法國食品安全局(AFSSA)參觀實驗室設備並研習沙門氏菌分離與鑑定課程、獸醫服務研究所(DDSV)學習環境採樣送檢之方法、都蘭實驗室討論抗沙門氏菌雞隻之免疫相關基因表現、法國國家農業研究院(INRA) Tours研究分院研習有關沙門氏菌帶原雞抗病研究近況、抗沙門氏菌雞隻QTL與沙門氏菌感染雞隻宿主反應與機制等、及國立南特獸醫大學討論豬雞沙門氏菌感染分佈模式最新研究情形等。

目次	頁碼
壹、目的	3
貳、過程	4
參、心得	22
肆、建議事項	23

壹、目的

根據歐盟 2003 年的法規，從 2010 年起歐盟範圍內將禁止銷售沙門氏菌雞群產下的蛋品，故生產無沙門氏菌污染的家禽產品已成為歐美等先進國家做為降低人類食物中毒率的重要指標。沙門氏菌為透過食物傳播的一種病原菌，其血清型別極為複雜，其中禽肉及蛋品的 *Salmonella enteritidis*(SE)及 *S.typhimurium*(ST)污染均是引起人類發生食物中毒的主要來源之一，近年來 SE、ST 的中毒一直增加，人類因沙門氏菌污染食物中毒其中三分之一與家禽產品有關，從源頭的種雞、蛋雞、肉雞、飼料、飲水到末端的蛋品、屠體等都是可能的污染來源。禽場的沙門氏菌污染，可能造成雞蛋污染、雞群孵化率降低、雛雞白痢、育成率差及死亡等損失，因此生產無沙門氏菌污染的家禽產品已成為歐美等先進國家做為降低人類食物中毒率的重要指標。參考歐美先進國家研究發展得知，禽場沙門氏菌的控制需要國家有計畫性地長期投資監控下，才能得到明顯的改善成果。國內禽場目前對於沙門氏菌尚缺乏有效率的清除策略，爰此赴法國研習家禽場沙門氏菌採樣與監測方法、沙門氏菌之實驗室分離與鑑定方法、抗沙門氏菌雞隻之育種及相關研究進展，藉由抗沙門氏菌品系之選拔將可進一步提供做為抗沙門氏菌的機制研究及找尋影響抗沙門氏菌之抗病能力基因，期能應用於本所之種雞群，進而輔導國內養雞產業生產健康、安全、無藥物殘留禽品之雞隻飼養模式，並配合生產履歷制度與檢疫認證措施，行銷世界各國，創造產業及消費者雙贏局面，並能與法國食品安全局及法國國家農業研究院建立長期而穩固之實質合作關係。

貳、過程

本次出國研習為結合 97 年度本所執行之「研習抗沙門氏菌家禽之育種模式」計畫與行政院農業委員會家畜衛生試驗所執行之「建立抗沙門氏菌雞隻育種技術及養禽場沙門氏菌監控」計畫，研習過程如下表。

2008 年畜產試驗所赴法研習抗沙門氏菌家禽之育種模式研習表			
日期	地點	內容	拜訪人員
10/18	去程 Taiwan 至 Hong Kong	啓程法國，香港轉機	
10/19	抵達 Hong Kong 至 Paris Paris 至 Saint-Brieuc	抵達法國轉乘火車 TGV 至 Saint-Brieuc	
10/20	法國食品安全局(AFSSA) 獸醫服務研究所(DDSV)	討論雞場沙門氏菌採樣與診斷方法。由獸醫服務研究所(DDSV)派員陪同下鄉至蛋雞舍，實地學習於雞舍環境採樣送檢之方法。	Dr. Gilles Salvat Dr. Marianne Chemaly
10/21	法國食品安全局(AFSSA) 家禽與豬肉產品品質衛生研究所(HQPAP)	參觀法國食品安全局實驗室並討論沙門氏菌鑑定步驟。	Dr. Marianne Chemaly
10/22	都蘭實驗室 (Laboratoire de Touraine) 法國國家農業研究院(INRA) 公共衛生及動物感染研究所	討論雞隻帶原沙門氏菌免疫反應與基因表現相關問題並參觀實驗室。參訪 INRA Tours 研究分院內 L2-3 等級之攻毒設備、隔離雞舍及剛落成的牛海綿狀腦病國家研究保護中心(INPREST)。	Dr. Anne-Christine Lalmanach Dr. Jose Delaval Dr. Catherine Beaumont
10/23	法國國家農業研究院(INRA) 家禽研究所	討論抗沙門氏菌雞隻育種相關問題。參訪 INRA Tours 研究分院內 L2-3 等級之實驗室參訪 INRA Tours 研究分院內 L2-3 等級實驗室。	Dr. Catherine Beaumont Fanny Calenge Nadine Sellier Dr. Philippe Velge
10/24	法國國家農業研究院南特獸醫 學院(National Veterinary College)	與 Dr. Catherine Belloc 及 Dr. Henri Seegers 討論沙門氏菌流行病學模式研究，隨後參觀試驗設施與獸醫學院。	Dr. Henri Seegers Dr. Catherine Belloc
10/25	Nantes 返回 Paris	文獻研讀、討論	
10/26	Paris	文獻研讀討論及資料整理	
10/27	巴黎至香港	回程	
10/28	香港至台北	香港轉機，抵台	

研習內容：

- 一、本所產業組洪哲明、蔡銘洋及宜蘭分所劉秀洲等三人與家衛所鄭明珠、陳燕萍等二人，於 97 年 10 月 18 日搭乘港龍航空班機至香港轉機；10 月 19 日抵達法國巴黎，轉搭子彈列車 TGV 前往位於 Saint Briec 之 AFFSA(Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments)。於傍晚入住旅館準備 10 月 20 日研習內容。
- 二、10 月 20-21 日參訪法國食品安全局(Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, AFFSA)

10月20日研習首站為位於法國Saint-Brieuc之Ploufragan食品安全局(AFSSA)，由局長 Dr. Gilles Salvat(圖1)及沙門氏菌檢測鑑定專家Dr. Marianne Chemaly女士等接待簡介並解說研究近況，AFSSA主要致力於維護動物健康、食品安全、動物福利及獸醫學研究，並提供科學鑑定、技術支援、風險評估以及對流行病之監控警戒，而且擁有被OIE列為A級動物傳染病的參考實驗室。第二站由獸醫服務研究所(Direction Départementale des Services Vétérinaires, DDSV)，隸屬於法國農業和環境部門，主要任務為維護食品安全、動物健康包含疾病控制、動物、福利、輸出入活體動物檢疫、動物來源的食品(屬於公共衛生範疇)、野生動物捕捉管理等。DDSV派員陪同下鄉至飼養2萬7千隻蛋雞舍，實地學習於雞舍環境採樣送檢之方法(圖2)。法國對於蛋雞場之沙門氏菌監測方法如表一，在雛雞輸送到達當天即進行蛋箱的採樣，檢測項目包括SE、ST、*Salmonella* Hador (SH)、*Salmonella* Infartis (SI)與*Salmonella* Virchow (SV)；於4週齡平飼雞場採集2雙鞋套拭子 (bootswab) 與2個環境樣本，籠飼雞場則採集2個糞便拭子 (swab)、1個籠子拭子與1個環境拭子進行SE與ST檢測；於產蛋前2週雞隻採樣檢體種類與4週齡時相同，但檢測項目為所有的沙門氏菌。於產蛋雞，需經2次採樣確定是否有SE或ST，為採集地面上的60糞便樣本或1個糞便拭子或2個雞群拭子或1雙鞋套樣本以及5個環境樣本，該2次採樣需由獸醫負責進行；在24週齡以及之後每15週，平飼雞場採集2雙鞋套樣本與1個(在養隻數1,000-20,000隻)或2個(在養隻數20,001-50,001隻)或3個(在養隻數50,001-80,000隻)或4個(在養隻數大於80,001隻)糞便拭子，若在養隻數超過80,000隻，需再採集500 g飼料檢體，而籠飼雞場則採集2個150g糞便檢體與1個(在養隻數1,000-20,000隻)或2個(在養隻數20,001-50,001隻)或3個(在養隻數50,001-80,000隻)或4個(在養隻數大於80,001隻)糞便拭子，若在養隻數超過80,000隻，需再採集500 g飼料檢體進行SE或ST檢測；在平飼雞場，於產蛋結束前6週採集2雙鞋套樣本與1個(在養隻數1,000-20,000隻)或2個(在養隻數20,001-50,001隻)或3個(在養隻數50,001-80,000隻)或4個(在養隻數大於80,001隻)糞便拭子，若在養隻數超過80,000隻，需再採集500 g飼料檢體，以檢測所有沙門氏菌；而籠飼雞場，於產蛋結束前10週採集2個150g糞便檢體與1個(在養隻數1,000-20,000隻)或2個(在養隻數20,001-50,001隻)或3個(在養隻數50,001-80,000隻)或4個(在養

隻數大於80,001隻)糞便拭子，若在養隻數超過80,000隻，需再採集500 g飼料檢體進行所有沙門氏菌的檢測；產蛋結束後需由獸醫進行採樣，檢體包括250 ml 的塵土、150 g 糞便檢體或1個糞便拭子，以檢測是否有SE或ST。

環境樣本由採樣者於雙手戴上滅菌手套後(如圖3)，手持一特製棉布拭子於禽場四處走動，將雞籠、輸糞帶、輸蛋帶等設備或雞舍牆壁之粉塵隨機擦拭(如圖4)後，將該棉布拭子或灰塵直接置入保存桶(如圖5)後送至實驗室進行檢驗。而另種採樣方法中之鞋套拭子 (bootswab) 法，則為由採樣者於鞋子外面再套上一特製棉襪(如圖6)，於禽場四處隨機走動後，將該棉襪置於原開啓之滅菌袋內送至實驗室進行檢驗。

10月21日參觀家禽與豬肉產品品質衛生研究所(L'unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Procins, HQPAP)實驗室設備、安排指導沙門氏菌檢測鑑定技術課程，由沙門氏菌檢測鑑定專家Dr. Marianne Chemaly女士等親自解說沙門氏菌實驗室分離鑑定方法(圖7-8)；由禽場採集的檢體進入實驗室後，依據檢體項目的不同而使用不同方法進行沙門氏菌的分離鑑定，家禽屠體、養禽場飼料、養禽場飲水、商用蛋等檢體為依據ISO 6579:2002程序進行，而禽場動物糞便與環境檢體部分則依據ISO 6579:2002/Amd.1:2007(E)程序進行檢驗，步驟流程圖可見圖9與圖10，二者皆包括預先增菌 (pre-enrichment)，使受損的沙氏桿菌復活，接著再以含抑制其它細菌的增菌培養基 (enrichment media) 及可區別沙門氏菌和其它細菌之選擇性瓊脂培養基 (selective plating agars) 培養等，分離到的病原菌可以各種不同的生化學和血清學的試驗作確認。二種檢驗方法最大的不同在於增菌培養部分，ISO 6579:2002為使用Rappaport- Vassiliadis medium with soy (RVS broth)與Muller-Kauffmann tetrathionate/ novobiocin broth (MKTTn broth)培養基，而ISO 6579:2002/Amd.1:2007(E)為使用Modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis (MSRV) agar。在純化細菌步驟中，除了使用XLD培養基外，尚須使用第二種選擇性培養基，一般可以是Brilliant green agar (BGA)、bismuth sulfite agar等，於AFSSA實驗室為使用Rambach agar培養基(圖11~圖14)。確認步驟的目的為鑑定所分離的菌株是否為沙門氏菌，可先進行生化性狀測試確認為沙門氏菌屬 (genus) 後，再進行血清學檢驗。AFSSA實驗室利用TSI agar與API 20E商業生化鑑定套組進行沙門氏菌生化反應測定(圖15)。沙門氏菌的抗原可以分為體抗原 (O)、鞭毛抗原 (H) 和Vi，它們可以用特異性血清來分類辨別，血清學的變異情形可以按照 Kauffman-White 體系裡的抗原來分類鑑別。許多實驗室將所分離的病菌送至參考實驗室做全部血清學的確認。

此外，AFSSA 實驗室於操作糞便與環境檢體時，在增菌培養步驟同時使用 MSRV agar 與 MKTTn broth，因 MSRV agar 為半固體培養基，適合用於培養具運動性的菌株，但是 *S. Pullorum* 與 *S. Gallinarum* 無週鞭毛不具運動性，並不適合以 MSRV 進行分離，故增

加 MKTTn broth 步驟，以增加沙門氏菌的分離率。而 INRA 實驗室除了使用前述方法分離沙門氏菌外，仍使用 SMS 法（預先增菌後以 SMS 培養基進行培養，再檢視是否有沙門氏菌）與分子生物學方法（預先增菌後以 real-time PCR 檢視是否有沙門氏菌核酸）以加快檢驗速度，傳統用於分離鑑定沙門氏菌的方法，整個流程需要至少 4 天，而 SMS 法與分子生物學方法則僅約需要 2 天即可知道檢體中是否存在沙門氏菌。



圖1、法國食品安全局(AFSSA) 局長Dr. Gilles Salvat (右二) 與參訪人員合照。



圖2、DDSV派員陪同下鄉實地學習於雞舍環境採樣送檢之方法。



圖3、採樣者於雙手戴上滅菌手套後開始環境採樣本。



圖4、手持一特製棉布於禽場四處走動，將雞籠、輸糞帶、輸蛋帶等設備或雞舍牆壁之粉塵隨機擦拭。



圖5、將採樣棉布或灰塵直接置入保存桶後送至實驗室進行檢驗。



圖6、鞋套拭子法，採樣者於鞋子外面再套上一特製棉襪，於禽場四處隨機走動採樣。



圖7、Dr. Marianne Chemaly女士等親自解說沙門氏菌實驗室設備

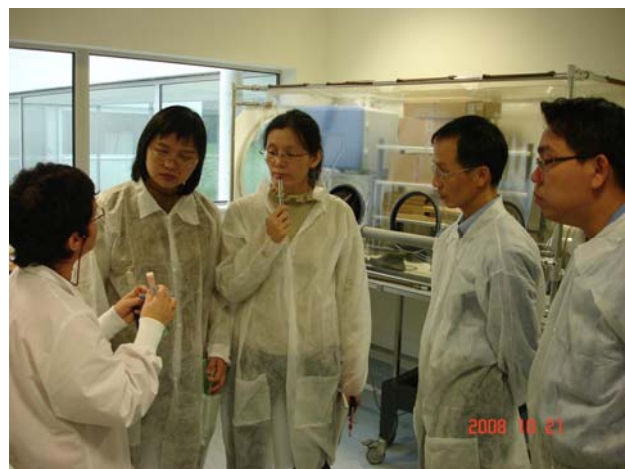


圖8、AFSSA實驗室人員解說沙門氏菌分離鑑定流程與培養基介紹。

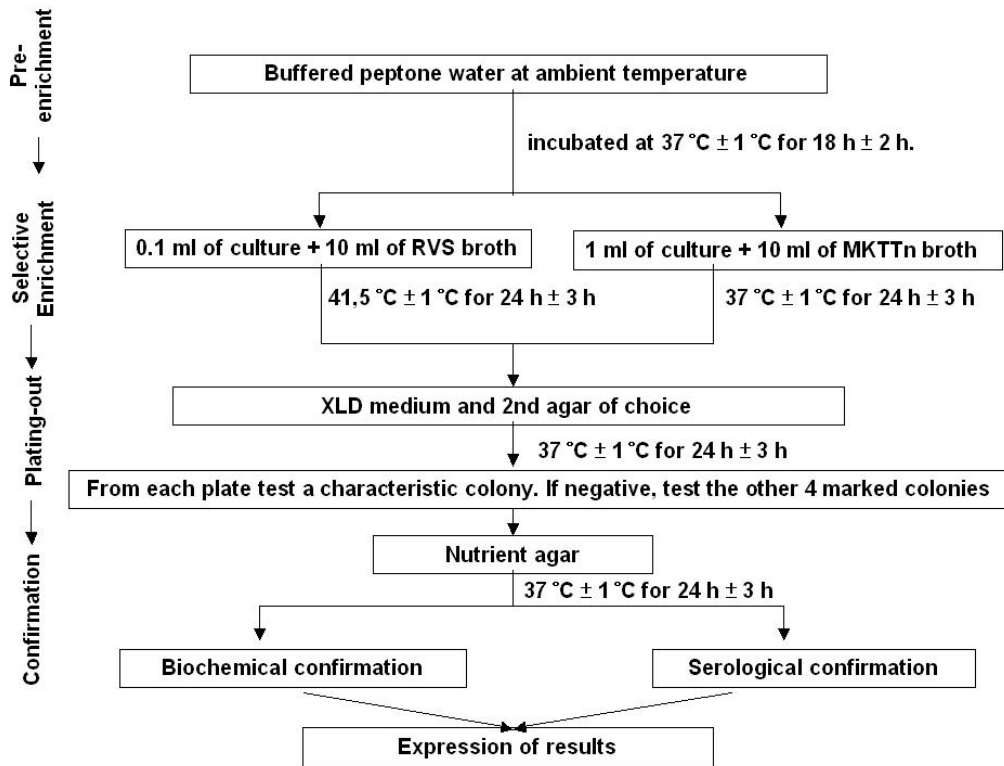


圖9、ISO 6579: 2002程序流程圖

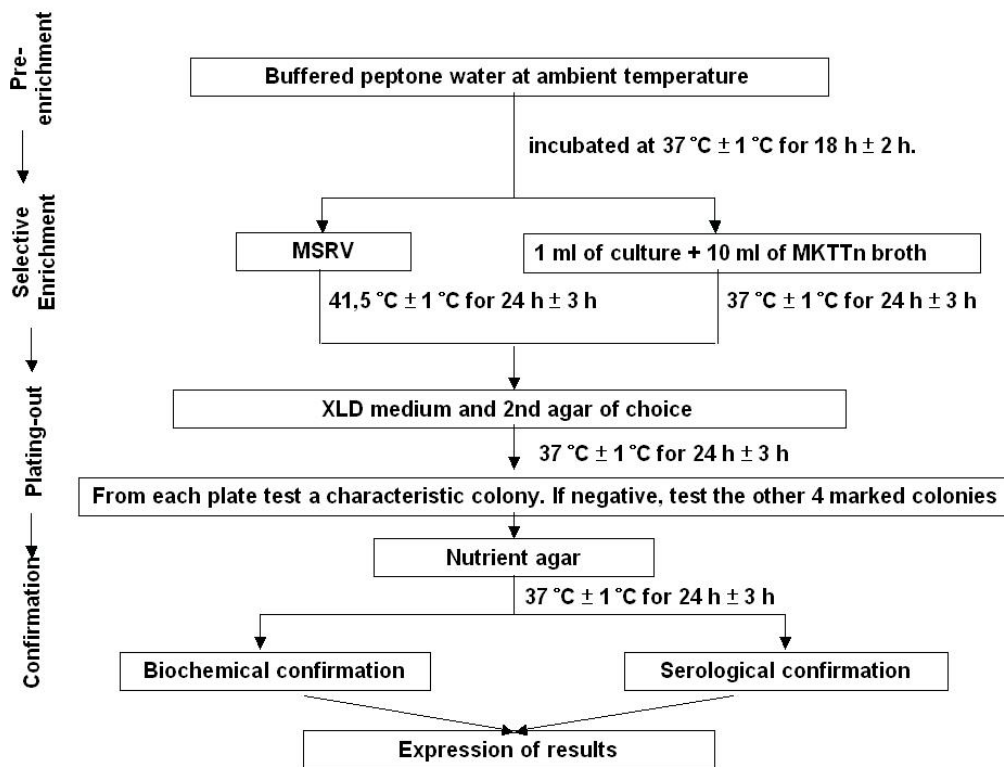


圖10、ISO 6579: 2002/Amd.1:2007(E)程序流程圖

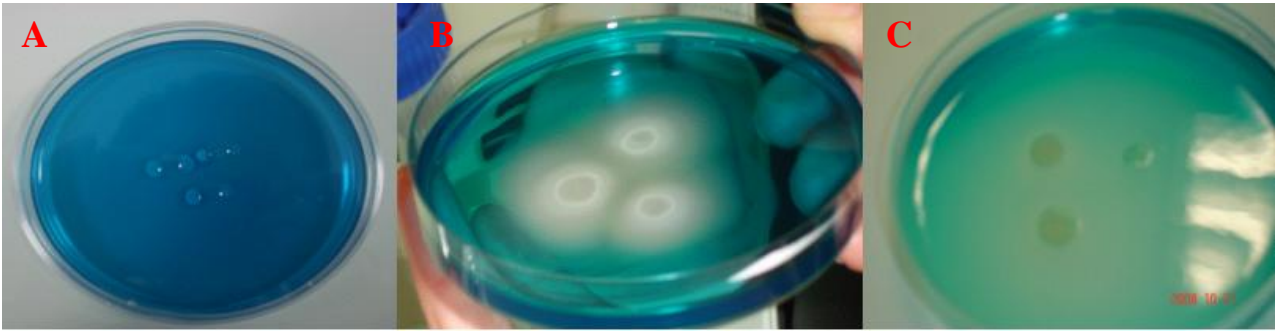


圖11、增菌培養基MSRV。A為剛接種來自預先增菌的檢體，未培養前；B、C為培養後，呈現沙門氏菌陽性之不同樣貌。

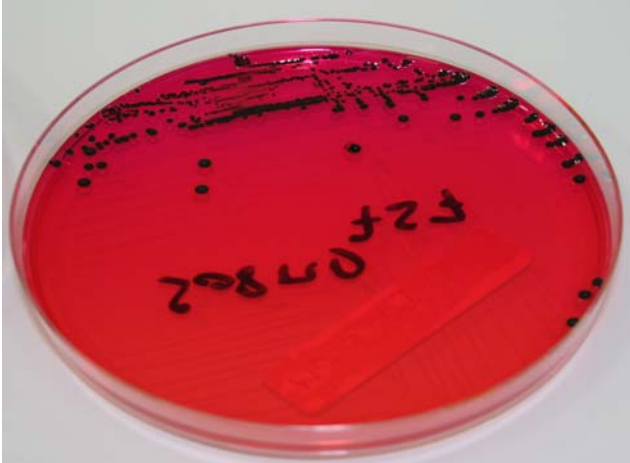


圖12、選擇性培養基XLD agar。沙門氏菌於XLD agar菌落為黑色金屬光澤。

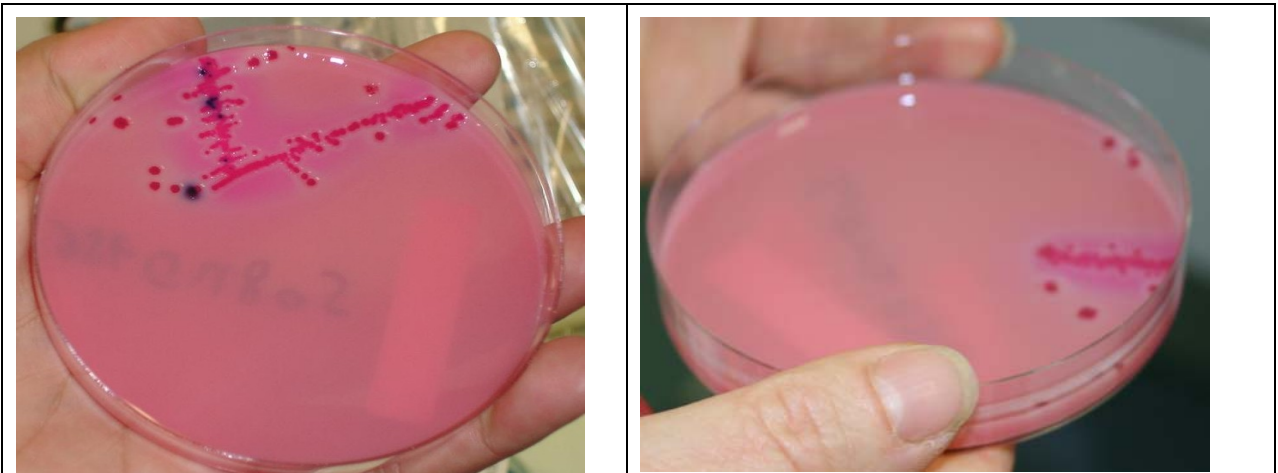


圖13、選擇性培養基Rambach agar。沙門氏菌於Rambach agar 的菌落為粉紅色，大腸桿菌（E. coli）則為綠色。



圖14、TSI agar。TSI agar 為用於測定細菌之生化性狀，沙門氏菌可發酵乳糖，但不發酵葡萄糖，且會產生硫化氫，故 TSI agar 接種沙門氏菌培養後，呈現斜面紅色、底部黃色或黑色。

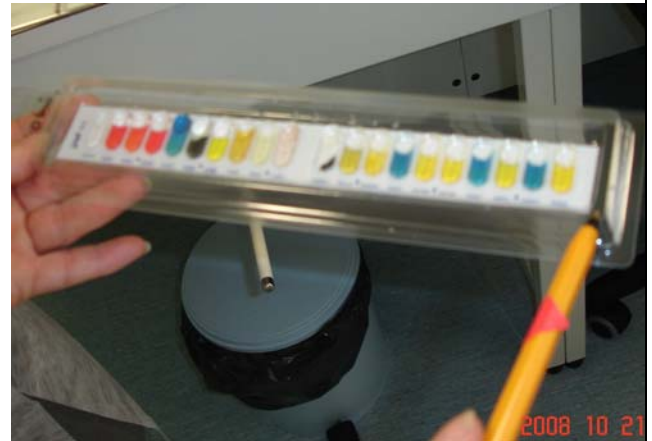


圖15、API 20E。商業化生化鑑定套組，用於進行沙門氏菌生化反應之測試。

表一、法國針對產蛋雞隻沙門氏菌採樣措施

階段	年齡或頻率	採樣點	採樣單位	採樣者	樣本種類	欲檢測之沙門氏菌血清型	採樣數
飼養	1日齡	禽舍	每批	畜主或孵化者	5個運送雞盒底紙墊+5個運送雞盒底紙墊保存8週	SE、ST、SI、SH、SV	1
	4週齡	平飼禽舍	雞群	畜主	2雙鞋套拭子	SE、ST	2
					2個環境拭子	SE、ST	2
		籠飼禽舍	雞群	畜主	2糞便拭子	SE、ST	2
					與1籠子拭子	SE、ST	1
					與1環境拭子	SE、ST	1
	產蛋前2週	平飼禽舍	雞群	畜主	2雙鞋套拭子	S. spp.	2
					2個環境拭子	S. spp.	2
		籠飼禽舍	雞群	畜主	2糞便拭子	S. spp.	2
	與1籠子拭子	S. spp.	1				
與1環境拭子	S. spp.	1					
飼養確認	第1次確認	禽舍 禽舍	雞群	獸醫 獸醫	地面上的60糞便樣本或1個糞便拭子或2個雞群拭子或1雙鞋套樣本以及5個環境樣本	SE、ST	6
	第2次確認						36或6
繁殖—產蛋雞	24週齡與之後每15週	平飼禽舍	雞群	畜主	2雙鞋套樣本	SE、ST	1
					與1個（1000-20000） 或2個（20001-50001） 或3個（50001-80000） 或4個（>80001）糞便拭子	SE、ST	1至4
					500g飼料檢體（>8000）	SE、ST	0或1
		籠飼禽舍	雞群	畜主	2個150g糞便檢體	SE、ST	1
					與1個（1000-20000） 或2個（20001-50001） 或3個（50001-80000） 或4個（>80001）糞便拭子	SE、ST	1至4
					500g飼料檢體（>8000）	SE、ST	0或1
	結束前6週	平飼禽舍	雞群	畜主	2雙鞋套樣本	S. spp.	1
					與1個（1000-20000） 或2個（20001-50001） 或3個（50001-80000） 或4個（>80001）糞便拭子	S. spp.	1至4
					500g飼料檢體（>8000）	S. spp.	0或1
	結束前10週	籠飼禽舍	雞群	畜主	2個150g糞便檢體	S. spp.	1
					與1個（1000-20000） 或2個（20001-50001） 或3個（50001-80000） 或4個（>80001）糞便拭子	S. spp.	1至4
					500g飼料檢體（>8000）	S. spp.	0或1
	結束	禽舍/圈飼	雞群	獸醫	250 ml 的塵土	SE、ST	1
					150 g糞便檢體或1個糞便拭子	SE、ST	1

SE (*Salmonella* Enteritidis)、ST (*Salmonella* Typhimurium)、SH (*Salmonella* Hador)、SI (*Salmonella* Infantis)、SV (*Salmonella* Virchow)、S. spp. (*Salmonella* spp.)

三、10月22-23日參訪法國國家農業研究院 (Institut National de la Recherche Agronomique, INRA)

10月22日上午參訪都蘭實驗室(Laboratoire de Touraine) 與免疫學專家 Dr Anne-Christine Lalmanach 座談討論抗沙門氏菌雞隻之免疫相關基因表現中(圖 16)，以 *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis 為例，特別強調在成雞時，抗病品系 6₁ (Resistant line 6₁) 不論在脾臟或是盲腸的細菌數均比易感品系 15I (Susceptible line 15I) 為減少(表 2)。但在雛雞時，抗病品系 6₁ 在盲腸的細菌數卻比易感品系 15I 為多(圖 17)；這受年齡影響之表現型可能的原因在免疫系統例如腸道聯合淋巴組織(gut-associated lymphoid tissue, GALT)是否成熟有關。至於免疫反應相關基因表現方面，在成雞時，抗病品系 6₁ 不論在 chemokine, anti-infectious cytokine, bacterial receptor, antimicrobial mediator 及 defensin 等基因表現量均顯著高於易感品系 15I。但在雛雞時，抗病品系 6₁ 與易感品系 15I 在免疫反應相關基因表現則無相關性。接著再由主管 Jose Delaval 先生接待及解說實驗室設備及沙門氏菌鑑定技術(圖 18)。

下午到 INRA Tours 研究分院，由副分院長 Dr. Catherine Beaumont 安排家禽研究所等研究人員簡介後，派員帶我們至今年 7 月 8 日剛落成的牛海綿狀腦病國家研究保護中心 (L'installation nationale protégée pour la recherche sur les encéphalopathies spongiformes transmissibles, INPREST)之新畜禽舍參觀(圖 19)，由於法國缺乏大型動物試驗設備，在國外發生狂牛病後，更具急迫性完成 INPREST。該中心嚴格管制人員參訪，我們在更換防護衣、帽及鞋後准予進入。本建築主結構為地下一層，地上 2 層；地上一樓是動物飼料區(圖 20、21)，可飼養豬、牛、羊、雞、鴨等家畜與家禽，各動物區設置玻璃窗提供訪客外圍參觀。2 樓為中央過濾空調(各動物區均獨立空調)、不斷電系統與各動物區飼料放入口(圖 22)。地下一層為人員動線與糞尿處理槽。然後，下一站帶我們參訪 INRA Tours 研究分院內試驗感染用限制舍(experimentally infected in a confinement unit) (圖 23、圖 24)，特地趁空舍期，入內觀摩示範 L2-3 等級之攻毒操作暨飼養感染沙門氏菌雞設備(隔離箱)；從舊式(圖 25)與新型(圖 26)設備的差異及缺失改進，使操作飼養感染沙門氏菌雞設備更具安全與方便性。試驗感染用限制舍採取小棟制負壓空調，每棟 4 套飼養感染沙門氏菌雞負壓空調操作設備(隔離箱)，可拆解滅菌雙重保障，加上棟與棟間保持安全距離，方便輪流感染試驗使用，輪流清洗消毒後保持空舍。

10月23日至 INRA Tours 研究分院家禽研究所，由副分院長 Dr Catherine Beaumont 主持座談會，與 Fanny Calenge 等研究人員分別做簡報後(圖 27)，討論有關抗沙門氏菌雞隻之育種技術及抗沙門氏菌雞隻數量性狀基因座(quantitative trait loci, QTL)研究近況等；法國自 1935 年起已開始做抗病研究，為了增進食品安全，必須重視沙門氏菌帶原狀態抗病性之研究，若

是以肉品安全考量，可以選擇小雞做接種沙門氏菌的試驗模式，其優點為花費較少且實際上操作較易，而作法是將 1 週齡小雞口服 10^5 SE，接種後 5 週後測盲腸沙門氏菌落數目。若是以蛋品安全考量，可以選擇產蛋雞做接種沙門氏菌的試驗模式，其優點為蛋是控制感染沙門氏菌主因，但花費較昂貴，而作法是在產蛋高峰期口服 10^9 SE，接種後 4 週後測(1)盲腸(2)肝脾(3)卵巢之沙門氏菌落數目；利用雙向選拔，育成抗病型與易感型兩品系，兩品系沙門氏菌感染率之差異，足以探討哪些基因與機制所產生差異。實際上育種選拔是相當費時費力，所以最好方法是用標記基因(marker gene)來育種；但控制沙門氏菌抗病基因會依據品系研究、評估性狀、雞齡等因素而有所不同，雖然研究不同的模式將導致更複雜的結果，但也提供更精確且完全的疾病描述。QTL 在沙門氏菌抗病基因上研究，如果要有細微的圖譜或基因確認的選拔，則最好使用多種 QTL 搭配 microarrays 等功能性研究，而且在選拔之前就必須考慮基因需經不同的條件下測試後才算確定；目前尚無法確認沙門氏菌抗病基因，但以 SLC11A1(Solute carrier family 11 member 1) (coding the protein NRAMP1)、TLR4(Toll-like receptor 4)、MHC(Major Histocompatibility complex)、SAL1 四種作為候選基因且可以有更深入之研究價值。

接著由 Nadine Sellier 女士帶我們參訪 INRA Tours 研究分院內 Experimental breeding unit 飼養感染沙門氏菌雞舍(圖 28)及孵化室(圖 29)外觀摩，雖然因防疫期間無法進入內部參觀，但雞舍動線規劃管理，尤其是內部工作人員均有確實著隔離服裝(圖 30)與清潔衛生的環境讓人印象深刻。Nadine Sellier 女士提供本區試驗雞隻生產業者疾病防疫計畫(表 3)與鴨、雞翼號(圖 31、圖 32)供參，比較特別的是在孵出前 4 天，需使用益生菌噴霧在雞舍室內墊料或牆壁上，以控制環境中沙門氏菌。

下午到 INRA Tours 研究分院公共衛生與動物感染研究所(圖 33)，由微生物專家 Dr. Philippe Velge 做沙門氏菌感染雞隻宿主反應與機制之簡報，並參訪其 L2-3 等級之實驗室(圖 34)。強調此研究是結合許多單位及各種學者專家分工合作才有至今成果。而感染沙門氏菌雞隻之重要觀念；例如使用 100 隻口服 5×10^4 SE 混合飼養雞群，在接種後 7 天，可達 100% 感染率(10^4 - 10^6 SE/g 糞)。但如果將 10 隻雞口服 5×10^4 SE 隔離飼養，在接種後 7 天，只達 20% 感染率(10^4 - 10^6 SE/g 糞)，20% 未感染。



圖 16、免疫學專家 Dr. Anne-Christine Lalmanach與參訪人員座談



圖18、法國都蘭實驗室(Laboratoire de Touraine) 主管Jose Delaval先生(左三)、INRA Tours 研究分院副院長 Dr. Catherine Beaumont(左四)與參訪人員合照



圖19、INPREST之新畜禽舍外觀，各動物區 設置玻璃窗提供訪客外圍參觀



圖20、INPREST牛動物飼料區



圖21、INPREST家禽動物飼料區



圖22、INPREST2樓為中央過濾空調、不斷電 系統區域

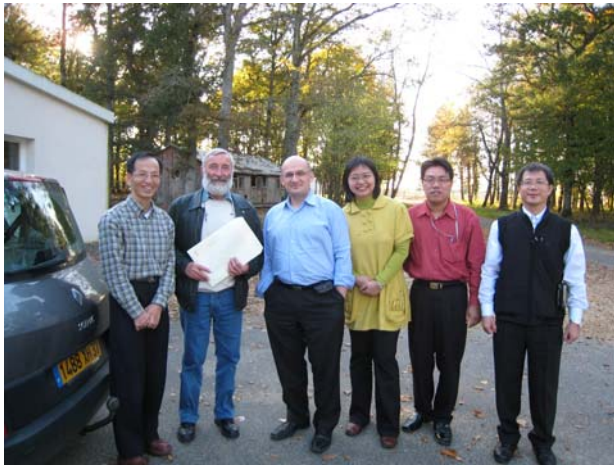


圖23、參訪INRA Tours研究分院內試驗感染用限制舍



圖24、INRA Tours研究分院內試驗感染用限制舍外觀



圖25、L2-3等級之舊型攻毒操作暨飼養感染沙門氏菌雞設備(隔離箱)

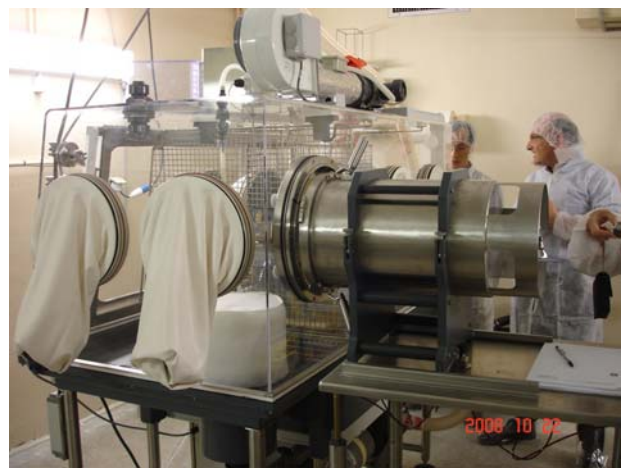


圖26、L2-3等級之新型攻毒操作暨飼養感染沙門氏菌雞設備(隔離箱)



圖27、副分院長Dr Catherine Beaumont主持座談會，與Fanny Calenge等研究人員分別做簡報



圖28、INRA Tours研究分院內飼養感染沙門氏菌雞舍外觀



圖29、Nadine Sellier女士帶我們參訪INRA Tours研究分院內孵化室外觀



圖30、孵化室內部工作人員確實著隔離服裝



圖31、鴨翼號



圖32、雞翼號



圖33、INRA Tours研究分院公共衛生與動物感染研究所L2-3等級之實驗室內



圖34、公共衛生與動物感染研究所微生物專家 Dr. Philippe Velge (左二)與參訪人員合照

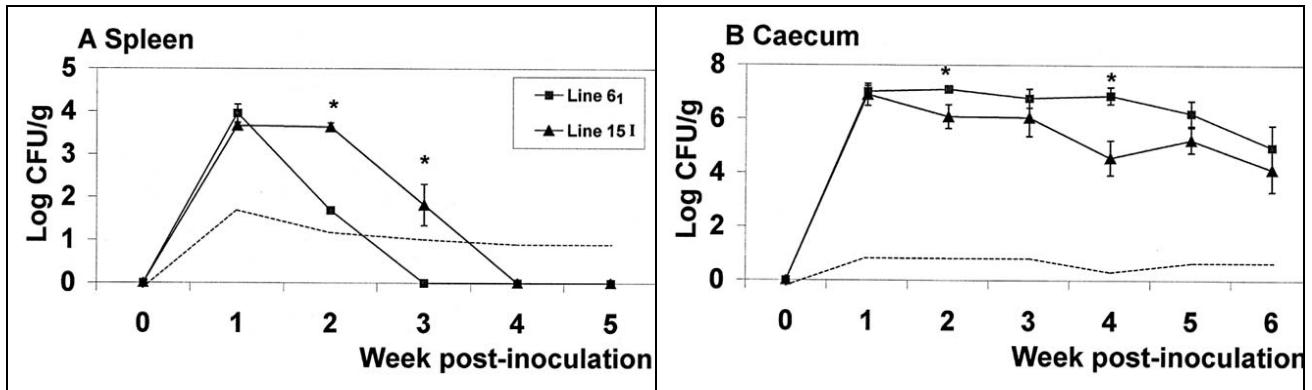


Fig. 17. Kinetics of *Salmonella* colonisation in the spleen (A) and in the caeca (B) of chicken from two different inbred lines 61 and 15I. Animals were orally inoculated with 5×10^4 CFU of *S. enterica* serovar Enteritidis. Results are expressed as the mean of the log (CFU per g of tissue) \pm S.E.M. ($n = 7$). Asterisk (*) indicates a significant difference between lines ($P < 0.01$) according to the Student's *t*-test. Dotted lines correspond to the detection threshold.

Table 2

Kinetics of *Salmonella* colonization in the spleen and in the caeca of hens from inbred lines 61 and 15I orally inoculated with 10^8 colony-forming units of *S. enterica* serovar Enteritidis in two separate similar experiments A and B

Weeks	Spleen				Caecal tonsils			
	Line 61		Line 15I		Line 61		Line 15I	
	Log (CFU/g)	Positive animals	Log (CFU/g)	Positive animals	Log (CFU/g)	Positive animals	Log (CFU/g)	Positive animals
Experiment A								
1	1.63 ± 0.33^a	6/7 ^b	2.17 ± 0.18	7/7	4.37 ± 0.53	7/7	5.03 ± 0.50	7/7
2	ND*	0/6	ND	3/8	0.96 ± 0.14^c	6/6	2.25 ± 0.44^d	8/8
4	ND	0/8	ND	0/6	ND	0/8	ND	4/6
Experiment B								
1	0.87 ± 0.41^a	3/8 ^b	1.68 ± 0.40	6/6	0.99 ± 0.57^e	8/8	3.34 ± 0.94^f	6/6
2	ND	0/7	ND	2/7	1.14 ± 0.23^g	6/7	1.87 ± 0.37^h	7/7
4	ND	0/6	ND	0/8	ND	1/6	ND	4/8

The letters c, e and g are significantly different from d, f and h, respectively ($P < 0.05$ according to the Student's *t* test).

*ND: not detected because not measurable.

^a Results obtained are expressed as the mean of the log (colony-forming units per g of tissue) \pm SEM.

^b Ratio of number of positive animals to number of inoculated animals.

表 3、雞隻生產業者疾病防疫計畫

年齡/日齡	週齡	疾病	藥品或疫苗	應用方式
-10	-2		TH4 或福馬林	噴霧或燻煙
-4	-1	表面正常菌叢	益生菌 Frontaris(Cobiotex)	噴霧在室內墊料或牆壁
1	0	馬立克病	Lyomarex(HVT)或 Nobilis Rismavac(CVI988)	孵化室/肌肉注射
		傳染性支氣管炎	Nobilis H120	孵化室/噴霧
1-2-3-4	1	消化道正常菌叢	FLORYLEX 或相似	飲水投與, 2.5ml/L
7-8			綜合維他命	飲水投與
14	2	傳染性支氣管炎	Nobilis IB 4-91	噴霧
16-17-18 三天(產蛋雞)	3	黴漿菌和壞死性腸炎	Tylosin	飲水投與 0.5g/L
19	2	甘保羅病	Poulvac Bursine 2 或	噴霧
21	3	甘保羅病	Nobilis Gumboro D78	
24	4	新城雞病	Pestos HB1	噴霧
30-31	5		維他命和微量元素	飲水投與
42	6	甘保羅病	Bursine 2	飲水投與
56	8	新城雞病	Clone 30	飲水投與
		傳染性支氣管炎	Nobilis IB 4-91	飲水投與
77	11	腫頭症候群	AVIFFA RTI	飲水投與
91-92	13		維他命	飲水投與
	14	腦脊髓炎	Encephalo Nobilis	飲水投與
在雞移動之前或孵化的 24 小時內		驅藥治療	THELMISOL	飲水投與
移至種雞舍				
在 18-20 週移舍時	新城雞病 傳染性支氣管炎 產蛋下降徵候群 腫頭症候群		Gallimune 407 ND+IB+EDS+ART	肌肉注射
	甘保羅病		Gumboriffa	

四、11月24日參訪國立南特獸醫學院(National Veterinary College of Nantes)

11月24日上午由Dr. Catherine Belloc副教授驅車帶領我們前往國立南特獸醫學院參訪，並由Dr. Henri Seegers進行有關動物健康之生物侵害、流行病學及危機分析團隊(Bioaggression, Epidémiologie et Analyse de Risques, BIOEPAR)的簡介(圖35、36)，該學院係屬法國四所獸醫學學院之一(分設於巴黎郊區之阿爾佛(Alfort)、里昂、圖魯斯、南特)。該團隊目前進行有關牛、豬及魚生產系統中地方性動物疾病及地方性病源菌帶原者研究，希望藉由科學的研究基礎能夠設計出適當且經濟有效的疾病控制計畫，降低消費者食物中毒的機率。第二部份由Dr. A. Lurette 及 Dr. C. Belloc針對目前的沙門氏菌流行病學模式研究進行簡介，模式研究主要希望能找出關鍵步驟以降低屠宰週齡時沙門氏菌的流行率。該部分目前多針對豬的模式進行研究，至於家禽的沙門氏菌流行病學模式研究則較少著墨。

下午進行試驗設施、獸醫學院現場參觀(圖 37-40)，由於係屬於學術機構，所以南特獸醫學院主要仍以教學為主，國際研究夥伴如英國、荷蘭、丹麥及中國，多有交換學生互訪。參訪的動物醫院，也以教學為主，教導獸醫學院學生如何診斷、用藥、治療動物，如有相關試驗，其動物來源亦以農戶為主，試驗結束後再行歸還農戶，或至農戶農場進行試驗。南特獸醫學院中 BioEpAR 有研究人員 19 人、2 位博士後研究、博士生 11 位以及 6 位來自法國國家農業研究院的研究人員；同時有 22 位分別隸屬獸醫學院及法國國家農業研究院的技術人員。目前與 AFSSA、CEA、CIRAD、CNRS、法國四所獸醫學學院、EHESP、EPHE、Inserm、Institute Pasteur、波爾多第二大學、里昂第一大學及杜爾大學形成法國的研究群體，同時與法國國家研究院形成緊密的研究網，主要提供沙門氏菌的相關模式研究。



圖 35. 與 Dr. Henri Seegers 及 Dr. Catherine Belloc 於南特獸醫學院合影。



圖36.與Dr. Henri Seegers及Dr. C. Belloc討論情形。



圖37.獸醫學院的藥房



圖38.附設動物醫院



圖39.獸醫學院一隅



圖40.獸醫學院一隅

參、心得

本次之法國研習參訪行，除了參訪官方之機構在抗沙門氏菌之研究進展；亦至私人之養禽場實地採樣，了解法方之採樣步驟及流程。在整個參訪過程中，不論在私人養禽場或官方機構內之實驗室、飼養場之環境都非常乾淨整潔，入內參訪均需登記並更換服裝，其飼養或實驗之環境均令人覺得舒適，而工作人員或參訪人員在自衛防疫措施上，滴水不漏之防護作為均令人印象深刻。雞舍環境之監控與沙門氏菌分離與鑑定，均按部就班執行，相當值得我們學習。沙門氏菌為透過食物傳播的一種病原菌，禽肉、蛋品均是引起人類感染的主要來源之一，根據歐盟 2003 年的法規，從 2010 年起，歐盟範圍內將禁止銷售沙門氏菌雞群產下的蛋，我國肉雞沙門氏桿菌的陽性檢出率仍高，導致人類食物中毒的關係已引起普遍的重視。然而我國有關養禽場環境沙門氏菌病原監控、沙門氏菌檢測鑑定技術及抗沙門氏菌雞隻之育種技術等尚未成熟，有必要借助先進國家這些方面之技術與經驗，法國在這方面發展起源甚早，近年擴及多數歐盟國家共同參與；同時亦為因應食品安全的需求，進行有關家禽沙門氏菌的抗病育種工作，確值我國借鏡。希望藉由本次參訪所獲得之抗沙門氏菌相關資訊及研究發展方向，持續與家衛所合作推動我國沙門氏菌之環境監控，進而建立抗沙門氏菌雞隻育種模式，邁向優質農業。本次研習及參訪，因機構及人員眾多，特別要感謝本所鄭副所長裕信及法國 Dr Jean-Paul Poivey 大力安排及協助得以順利完成本次研習，冀望此次研習可提升本所研究人員之國際觀及研究水平。

肆、建議事項

1. 法國不論在私人養禽場或官方機構內之實驗室、飼養場之內外環境都非常乾淨整潔，令人覺得舒適。在自衛防疫之防護措施，均按部就班執行，相當值得我國學習。
2. 本次研習中實地參訪法國私人蛋雞舍，全棟使用自動化豐富化籠(enriched cage) 飼養2萬7千隻蛋雞，其重視動物福祉的精神，使用合理的空間與管理方式飼養蛋禽，將是未來之思考方向，值得我們借鏡。
3. 參考法國與歐洲許多國家對於沙門氏菌監控的成功經驗，建立適合本國之沙門氏菌監控計畫：沙門氏菌的控制係經由密集的血清學及細菌學檢測，然後經由屠宰與淘汰陽性雞隻而達成。歐盟根據不同國家所調查的沙門氏菌盛行率，給予合乎該國進行沙門氏菌監控計畫後的陽性率標準值，而法國目前種雞場SE、ST陽性率相當低（約1.5% ），現階段僅對於蛋雞場進行沙門氏菌的監控計畫。我國禽場目前對於沙門氏菌尚缺乏有效率的監控策略，法國與歐洲許多國家對於沙門氏菌監控的成功經驗，值得我們參考。