

# 在本省定期檢查雞白痢陽性鷄之 *Salmonella Pullorum* 分離試驗

謝竹茂 高光炎 江良興

臺灣省家畜衛生試驗所

## 一、緒 言

早於1899年 Rettger 氏報告雞白痢症在北美已有存在，1935年小倉氏報告在本省鷄隻分離到白痢菌迄今該病在臺灣養鷄業中已有30多年之感染歷史，而本省鷄隻每年遭受本病的損失雖未曾作詳細統計，但因其傳播方法的特殊及撲滅之不易，故養鷄業者常遭受莫大損失，1946年 Edwards and Brnuer 曾報告 *S. Pullorum* 由於菌株抗原構造之不同，而分為標準型，變異型，與中間型等三種菌型。1964年青木氏等報告孔雀綠着色雞白痢診斷液中存有非特異性凝集反應因子，此非特異性凝集反應之因子經 80°C 熱水感作30分鐘即消失，本所自 1959年改製結晶紫着色多價診斷抗原（以標準型菌株之 #222，#11 及變異型之 L60131，日本株製造）以來已有數年為明瞭本省陽性鷄隻與細菌分離的情形以資今後對於所製結晶紫着色多價診斷抗原應用上參考起見，而進一步作此項試驗謹將試驗所得結果報告於後敬請賜教。

## 二、供試材料

### 1. 供試鷄

由農林廳及各縣市技術人員檢出雞白痢陽性鷄70隻帶回本所重新由日本（家衛試）美國（Salsburys 製）或本國製（淡水 No.70）診斷液等作全血凝集反應比較試驗，供試鷄隻經解剖後不論有無肉眼病變均立刻做細菌學的檢查，供試各臟器是心臟、肝臟、肺臟、脾臟、腎臟、卵巢、輸卵管、膽囊、胰臟、睪丸、及雞白痢陽性鷄所產之蛋等。

### 2. 培養基

使用之培養基是，YCC Agar，YCC Broth，Salenite Broth，DHL 培地，SIM 培地及 Kligler 培地等，上述之各種培地均係日本營養化學株式會社出品者。

## 三、試驗方法及成績

### 1. 陽性鷄臟器之細菌分離試驗

各材料鷄經解剖後不論有無病變均即行細菌學的檢查，即將上述各種臟器以滅菌剪刀細切後（0.5~1.0g）小塊分別培養於 YCC Broth 中增菌培養48—72小時或先用 Salenite Broth 進行增菌培養18小時後再鈎一白金耳塗於 YCC Agar，DHL Agar 同時行分離培養後再將分離之細菌移植於 Kligler 及 SIM 確認培地等，各種培地上並檢查其形態菌落性狀 Gram 染色性及運動性等，經檢查結果如 Gram 為陰性，Indol 陰性，Glucose 陽性，乳糖分解性陰性，瓦斯產生性疑陽性，H<sub>2</sub>S 產生性疑陽性，與 *Salmonella D* 羣血清於20秒內呈急速凝集反應者即判定為雞白痢菌 *Salmonella Gallinarum Pullorum* 其成績如表 I。

表一

供試隻數	細菌分離陽性	細 菌 分 離 部 位								
		心	肝	脾	卵 巢	腎	肺	胰	胆 囊	輸卵管
70隻	44隻	10	13	17	23	4	11	14	11	12

由表一 所示雛白痢陽性雞70隻其中各種臟器雛白痢菌的分離率以卵巢為最高其餘為脾臟、胰臟、肝臟、膽囊、輸卵管、肺臟、心臟依序次之。

### 2.三種抗原之凝集反應比較試驗

#### A.急速凝集反應比較試驗

從農林廳定期檢查而判定為雛白痢陽性反應保菌雞70隻以本國美、日製之抗原施行急速凝集反應比較試驗所得成績如表二。

表二

被檢隻數	抗原別		本國	日本	美國	三種抗原	二種抗原	一種抗原
	反應	別						
70 隻 來亨雞	陽	性	32 45.7%	33 47.2%	44 62.9%	22 31.4%	13 18.6%	17 24.2%
	陰	性	38 54.3%	37 52.9%	26 37.2%	48 62.6%	57 81.4%	53 75.8%

由表二 所示三種抗原中本國抗原呈陽性反應者32隻佔45.7%，日本抗原呈陽性反應者33隻佔47.2%，美國抗原呈陽性反應者44隻佔62.9%，三種抗原均呈陽性反應者22隻，中、美、日佔31.4%，二種抗原呈陽性反應者13隻即中、美2隻佔2.9%，中、日8隻佔11.4%，日、美3隻佔4.3%，一種抗原陽性反應者17隻（美）佔24.2%

#### B.試管內凝集反應比較試驗

筆者等再將上述之供試雞隻以三種抗原作試管凝集反應所得成績如表三。

表三

被檢隻數	抗原別		本國	日本	美國	三種抗原	二種抗原	一種抗原
	反應	別						
70 隻 來亨雞	陽	性	23 32.9%	19 27.2%	35 50%	12 17.2%	9 12.9%	23 32.9%
	陰	性	47 67.2%	51 72.9%	35 50%	58 82.9%	61 87.2%	47 67.2%

由表三 所示，雛白痢陽性雞 70 隻以三種抗原行試管內凝集反應結果，本國抗原呈陽性反應者 23 隻佔32.9%，日本抗原呈陽性反應者19隻佔27.2%，美國抗原呈陽性反應者35隻佔50%，三種抗原均呈陽性反應者中、美、日12隻佔17.2%，二種抗原呈陽性反應者 9 隻即中、美3隻佔4.3%，中、日4隻佔5.8%，日、美 2 隻佔2.9%，一種抗原呈陽性反應者23隻即本國4隻佔5.7%，美國18隻佔25.7%，日本 1 隻佔1.4%

### 3.雛白痢陽性雞所產蛋之 S. Pullorum 分離試驗

將上述供試雞隻所產之雞蛋 162 粒作 S. Pullorum 分離檢查，首先用碘酒消毒卵殼破開後，將卵黃培養於200cc裝YCC Broth 增菌48—72小時，然後鈎菌1白金耳塗於 YCC Agar，或 DHL Agar 所得成績如表四

表四

母號	雞碼	供蛋	檢數	陽性	陰性	母號	雞碼	供蛋	檢數	陽性	陰性
	1		2	0	2	28		6	3	3	
	2		3	0	3	29		5	0	5	
	4		1	0	1	30		4	0	4	
	5		5	1	4	31		6	1	5	
	6		7	0	7	32		4	0	4	
	7		5	1	4	34		2	0	2	
	8		1	0	1	35		9	2	7	
	9		3	0	3	36		5	1	4	
	10		2	0	2	37		7	1	6	
	11		1	0	1	39		4	0	4	
	12		1	0	1	42		3	1	2	
	13		3	0	3	43		3	0	3	
	15		1	0	1	44		2	0	2	
	16		2	0	2	47		3	0	3	
	17		4	1	3	48		5	0	5	
	18		3	2	1	50		4	0	4	
	19		2	1	1	51		3	0	3	
	20		6	0	6	53		3	0	3	
	22		4	1	3	55		5	0	5	
	23		2	0	2	56		3	0	3	
	25		4	1	3	57		8	0	8	
	26		4	0	4	60		1	0	1	
	27		1	0	1						
合 計		162		17	145						

由表四 所示，雞白痢陽性雞所產之蛋 162粒其中行細菌分離結果檢出白痢菌者17粒佔10.5%，即由供檢母雞45隻中13隻分離到白痢菌佔28.9%。

#### 4. 雞白痢陽性雞之解剖變狀

將陽性雞70隻行解剖結果所得肉眼變狀如表五。

表五

雞號碼	卵	巢	肝 臟	脾 臟	胆 囊	其 他
1	小指頭大黑褐色異常卵胞數個				腫脹約2倍	
2	米粒大乃至豆粒大黃綠色異常卵胞4—5個		中等度腫脹	腫脹約較常3倍		
3	正常		正常	正常	正常	
4	灰白之粟粒大至黃豆大之異常卵胞		褪色			
5	黑褐色之異常卵胞數個		褪色	輕度腫脹		
6	粟粒大黃褐色異常卵胞十數個		褪色並脆弱			
7	黃褐色異常卵胞2—3個					
8			腫脹中等度	腫脹2—3倍		

9	米粒大至黃豆大之黃褐色異常卵胞十數個		中等度腫脹	輕微腫脹	
10	粟粒大之黃褐色異常卵胞數個		輕微腫脹		
11	黃豆大之黑褐色異常卵胞十數個				
12		肝臟褪色脆弱			
13	豆粒大黃褐色之異常卵胞4—5個		中等度腫脹		
14	小指頭大綠色異常卵胞數個	褪色脆弱		中等度腫脹	
15	粟粒大至豆粒大褐色異常卵胞2—3個				
16	黑綠色卵胞1粒				
17	粟粒大黃褐色異常卵胞十數			中等度腫脹	
18	不正形異常卵胞2—3粒	褪色脆弱		輕度腫脹	
19	黃豆大不正形卵胞2粒	褪色			
20	黃褐色異常卵胞十數粒	褪色脆弱		輕度腫脹	
21	粟粒大至大豆大之異常卵胞數粒	褪色		輕度腫脹	
22	指頭大異常卵胞1粒				
23	綠色小指頭大卵胞2粒	褪色實質脆弱			
24		褪色實質脆弱	腫脹	中等度腫脹	
25	小指頭大之褐色不正形卵胞3粒		中等度腫脹	輕度腫脹	
26	大豆大黃褐色異常卵胞3粒	褪色實質脆弱		中等度腫脹	
27	米粒大黃褐色卵胞數粒				
28	小指頭大不正形卵胞1粒				
29	小指頭大不正形卵胞2粒	實質脆弱			
30	母指頭大不正形黃褐色卵胞2粒	褪色實質脆弱	輕度腫脹		
31	大豆大不正形異常卵胞2粒				
32	小指頭大不正形卵胞1粒	褪色實質脆弱			
33	粟粒大黃褐色卵胞8—9粒				
34	大豆大黃綠色不正形異常卵胞2粒		肝臟中等度腫脹		
35	小指頭大不正形卵胞2粒	褪色實質脆弱			
36	豆粒大乃至小指頭大不正形卵胞點發				
37	綠褐色不正形異常卵胞很多				
38	正常				
39	正常				
40	粟粒大乃至大豆大黑褐色異常卵胞數粒			萎縮	輸卵管膨大
41	小指頭大不正形異常卵胞密發		中等度腫脹		
42	豆粒大乃至大豆大不正形異常卵胞密發				
43	小指頭大不正形綠色卵胞十數粒	褪色實質脆弱		中等度腫脹	
44	指頭大綠色不正形卵胞2—3粒				
45	大豆大不正形黃褐色卵胞數粒			中等度腫脹	
46	豆粒大乃至大豆大黑褐色卵胞數粒		中等度腫脹		
47	豆粒大黑褐色卵胞十數粒			萎縮	
48		褪色		中等度腫脹	
49	米粒大黑褐色卵胞4粒			腫脹	
50	豆粒大乃至小指頭大黃色不正形卵胞3粒	褪色實質脆弱			
51	正常				
52	粟粒大至黃豆大黃褐色卵胞密發	褪色實質脆弱			
53	大豆大乃至小指頭大之黃綠色不正形卵胞4粒			中等度腫脹	

54		褪色實質脆弱	中等度腫脹	極度萎縮	
55		褪色實質脆弱		極度萎縮	
56	豆粒大至大豆大黃褐色異常卵胞2—3粒		中等度腫脹		
57	黃豆大不正形之異常卵胞數粒		中等度腫脹		
58	粟粒大至大豆大不正常異常卵胞4—5粒				
59	正常				
60	正常				
61	豆粒大至大豆大綠色卵胞4—5粒				
62	小指頭大黑褐色卵胞2—3粒			中等度腫脹	
63	大豆大至小指頭大不正形卵胞2粒	褪色實質脆弱			
64	大豆大至小指頭大之不正形卵胞5粒				
65	粟粒大之黃褐色異常卵胞極多	褪色		中等度腫脹	
66	正常				
67	大豆大不正形之異常卵胞4粒				
68	畢丸萎縮				↑
69	大豆大不正形之異常卵胞2—3粒				
70	大豆大不正形之異常卵胞2粒			高度腫脹	

## 5. 雛白痢陽性雞分離細菌之形態學的性狀

將上述70隻陽性雞行細菌分離獲得之55菌株經作形態學上之性狀檢查結果如表六。

表六

菌 株	培 養 基				形 態	運 動 性	染 色			
	DHL Agar	YCC Agar	Kligler 培 地	SIM 培 地			Gram	芽 胞	夾 膜	鞭 毛
一號——五五號	黃褐色微小菌落	灰白色半透明之菌落	斜面紅色高層部呈黃色	白痢菌雖穿刺培養可發育 呈黑色 Indol 陰性 但不呈漏濁硫化氫產生菌	短桿菌	陰 性	陰 性	陰 性	陰 性	陰 性

## 6. 雛白痢陽性雞之血清與血液之瓊脂內沈降反應試驗

實施方法

抗 原 雛白痢急速凝集用診斷液

寒天處方	精製寒天粉末 (Difco)	15g
	食 鹽	50g
	Methyl orange	0.002g
	Merzonin	0.02g
	蒸 餾 水	1000ml

以 IN 之 NaOH 修正 PH 如使用滷紙測定 PH 時最好在 Methyl orange 未加前行之，否則由於加上 Methyl orange 之關係色調不易判別而 PH 測定妥善後再加 Methyl orange 對 PH 不會有很大影響。

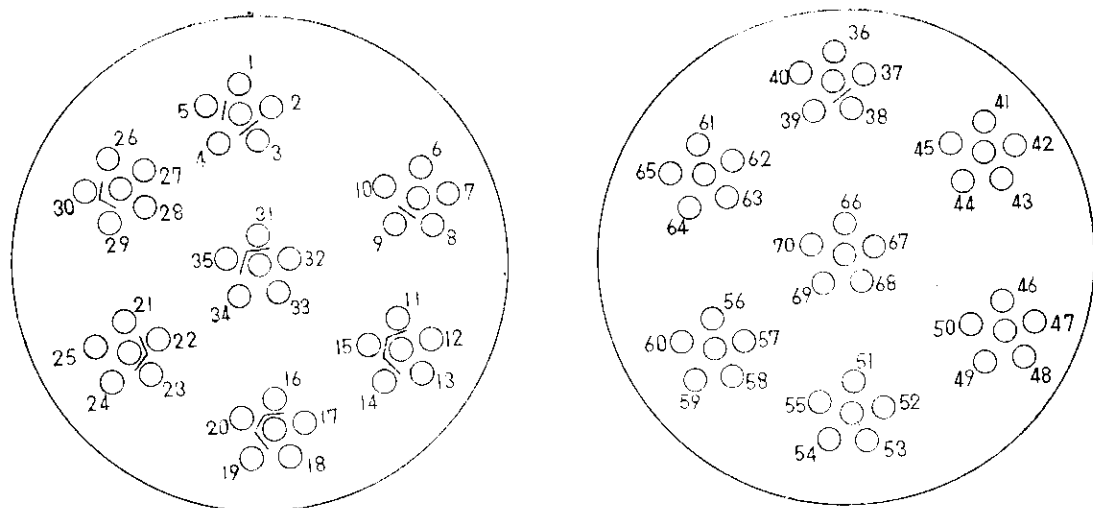
平板寒天之製法

將上述之滅菌寒天以30ml分注於直徑 8.5cm之滅菌玻璃皿中等寒天凝固後以特製直徑5mm之金屬鐵管鑽成5—6個圓洞每洞間隔為2mm然後再用1滴寒天滴於洞而製妥寒天在4—5 C處可存放2—3星期

操作：中間之圓洞滴下抗原從翼下所採之血液或血清等被檢物以7之針頭滴下2滴（約0.06ml）於其周圍之圓洞內，然後放於37°C之孵育器內培養18—24小時取出測定，爲了防止寒天之乾燥孵育器內應放盛水盤。

判定：此種沈降反應不受外界氣溫之影響而抗原與被檢血清之間呈白色沈降帶者則判爲陽性，雞白痢陽性雞70隻之血清與血液之瓊脂內沈降反應試驗結果所得成績如表七

表七



由表七所示檢查70隻其中陽性者16隻佔22.9%

### 四、檢 討

以全血凝集反應試驗與解剖變狀及細菌檢查之結果觀之，一般凝集反應呈強陽性（卅）之陽性雞臟器經由YCC Broth 或 Salenite Broth 增菌後雞白痢菌之分離率較高，反之凝集反應呈弱陽性（十）之陽性雞之分離率則較低，剖檢時以肉眼觀察病變較顯著之臟器其細菌分離率亦較高，至各臟器別之雞白痢菌的分離率則以卵巢爲高，其餘爲脾臟、胰臟、肝臟、輸卵管、胆囊、肺臟、心臟依序次之，然而根據表一以同羣供試雞隻中使用本國製，日本製及美國製三種抗原施行急速凝集反應比較成績所示三種抗原之檢出陽性率都不能一致，本國製與日本製抗原較爲接近而美國製抗原之陽性率較高，這些被檢雞羣中有的對上述三種抗原均呈陽性，有的二種，有的僅對一種抗原呈陽性反應究其原因何在？尙不得而知，至於依表二成績以上述三種抗原施行試管凝集反應成績觀之，試驗結果亦與急速凝集反應成績同樣，三種抗原之陽性檢出率都有差異，其原因何在？尙屬不明，今後筆者等仍將繼續檢討既與岩森氏所謂內眼的無病變感染雞相同。由上述幾點可知雞白痢保菌雞之全血凝集反應試驗與試管內凝集反應試驗及瓊脂內沈降反應試驗以及解剖變狀細菌分離之結果並不能完全相符。

### 五、結 論

1. 經農林廳定期以急速凝集反應檢查而判定爲雞白痢陽性雞70隻以美、日及本國製等三種抗原再行急速凝集反應結果，本國抗原呈陽性反應者32隻佔45.7%，日本抗原呈陽性反應者33隻佔47.2%，美國抗原呈陽性反應者44隻佔 62.9%其中三種抗原均呈陽性反應者22隻，中、美、日佔31.4%，二種抗原呈陽性及反應者13隻即中、美2隻佔2.9%，中、日8隻佔11.4%，日、美3隻佔 4.3%，一種抗原呈陽性反應者17隻（美）佔24.2%，三種抗原均呈陰性反應者18隻佔25.7%。

2. 雛白痢陽性雞70隻以三種抗原行試管內凝集反應結果，本國抗原呈陽性反應者23隻佔32.9%，日本抗原呈陽性反應者19隻佔27.2%，美國抗原呈陽性反應者35隻佔60%，三種抗原均呈陽性反應者，中、美、日12隻佔17.2%，二種抗原呈陽性反應者9隻，中、美3隻佔4.3%，中、日4隻佔5.8%，日、美2隻佔2.9%，一種抗原呈陽性反應者23隻本國4隻佔5.7%，美國18隻佔25.7%，日本1隻佔1.4%。

3. 雛白痢陽性雞70隻行瓊脂內沈降反應結果陽性者僅16隻佔22.9%。

4. 雛白痢陽性雞70隻經解剖檢查結果呈現雛白痢病變者63隻佔90%，主要變狀為卵巢略型，卵胞呈黑綠色或褐色，肝臟褐色且實質脆弱，脾臟腫脹等。

5. 雛白痢陽性雞70隻中能由臟器分離白痢菌者44隻佔分離例數之62.9%。

6. 將雛白痢陽性雞計45隻所產之蛋試行細菌培養分離結果檢出白痢菌者13隻佔24.5%，即供檢蛋共16粒檢出白痢菌者17粒其檢出率為10.5%，由陽性雞臟器及其所產蛋分離得到之55株菌株，經以形態學的性狀及生物學的性狀檢查並實施血清反應結果判定為 *S. Pullorum*。

本試驗承蒙農復會之經費補助，日本農林省家畜衛生試驗場青木博士等之指導，本所王所長及林課長之懇切指導與鼓勵謹此致謝。

### 參考文獻

1. 小倉喜佐次郎 臺灣の重要家畜傳染病 臺灣畜產會報第二卷第一號。
2. 小倉喜佐次郎 臺灣に於ける細菌性雛白痢に就いて。臺灣總督府中央研究所農業部彙報
3. 渡邊正本 *Salmonella pullorum* の型變異と診斷上の意義について 1954家畜衛生試驗場。
4. 岩森秀夫、島倉省吾 雛白痢症に關する研究 II 產卵期中の成鶏體內に於ける雛白痢菌の消長について 日本獸醫學雜誌第14卷第6號。
5. 勝野正則 星重義 白痢保菌鶏の長期觀察 野外に於ける保菌鶏の檢出について 日本獸醫學雜誌第14卷第6號。
6. 岩森、島倉 有關雛白痢防疫之理論與實驗 日本後藤養化場出版「繁榮中之養鶏」別冊。
7. 青木貞治 ひな白痢の新しい診斷法「寒天內沈降反應」とそのやり方。畜產の研究第18卷第3號1964。
8. 青木貞治 養鶏家のための正しいひな白痢の診斷法畜產の研究第18卷第3號1964。
9. 青木貞治、柏崎守、佐藤靜夫、渡瀬弘、吉田孝、坂本ひさ 加熱抗原によるひな白痢の急速凝集反應 家畜衛生試驗場研究報告No49. 1—6別冊1964年8月

# Study on Isolation of Salmonella Pullorum from Positive Reactors Detected by Rapid whole-blood Agglutination Test under the Periodical Examination Program in Taiwan

T.M. Shieh, K.Y. Kau and L.H. Chiang

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health

## ENGLISH SUMMARY

The 70 positive reacted birds were collected from local poultry farms on which the periodical examination for Pullorum disease had been performed by rapid whole-blood agglutination test using Pullorum stained K antigen prepared in this Institute. They were first retested with the US, Japan and domestic made antigens as a comparative study of the three antigens, and lastly tempting isolation of *S. pullorum* were made. The results obtained are summarized as follows:

1. of the 70 positive birds retested by rapid whole-blood method, 32 birds (45.7%), 33 birds (47.1%) and 44 birds (62.9%) were reacted with the domestic, Japan or US made Pullorum antigens respectively. That is, 22 birds (31.4%) showed positive reactions for all of the three antigens, and 13 birds (18.5%) for 2 kinds and 17 birds (24.3%) for only one kind of the antigens, while 18 birds (25.7%) showed negative reactions for either antigen.
2. of the 70 positive birds retested by the tube-serum method, 23 birds (32.9%), 19 birds (27.1%) and 35 birds (50%) were positive ( $\leq 50x$ ) by using the three antigens respectively. That is, 12 birds (17.1%), 9 birds (12.9%) and 23 birds (32.9%) were positive for 3, 2 or only one kind of the 3 antigens, while 26 birds (37.1%) were negative to any of the antigens.
3. The serum of the 70 positive ~~react~~-reactors, only 16 Cases (22.9%) showed positive by agar gel precipitation test.
4. The definite lesions for Pullorum disease on organs were found in 63 birds (90%) among the 70 positive reactors. The most common finding among those birds were misshapen, discolored ovary, black-greenish or brownish ovary, pale colored liver and swollen bile ducts etc.
5. Among the 70 positive birds, *S. pullorum* organisms were successfully isolated from 44 birds. The isolation rate was 62.9%.
6. The isolation of *S. pullorum* was also performed on their eggs totally 162 eggs, and only 17 eggs of them (10.5%) ~~of them~~ were positive. That is only from 11 birds' eggs (4.4%) were successfully isolated with *S. pullorum*.  
All of the 55 strains isolated from the positive birds' organs or their eggs were identified to be *S. pullorum* by biological characteristics and serological test.