

# 家禽霍亂菌田間病例及人工感染鴨之病理變化

陳素貞\*<sup>1</sup> 王金和<sup>2</sup> 吳義興<sup>1</sup> 李淑慧<sup>1</sup>

1. 台灣省家畜衛生試驗所
2. 國立台灣大學獸醫系

**摘要** 1993年7月至1994年6月調查全省鴨隻家禽霍亂21場爆發場，其發病日齡為58±21日，發病率由2.7至42%，致死率為66±21%，其病變包括心臟出血、肝局部壞死、腸粘膜出血及小腸環狀帶出血。以4株田間分離菌株，由肌肉接種實驗鴨，結果發現巴氏桿菌可單獨引起小腸環狀帶出血，其病變出現比例與菌量有關，菌量越高出現比例越高，由此可知環狀帶出血並非鴨瘟之特異病變。

**關鍵詞：**家禽霍亂，病理變化

## 緒言

雖然家禽霍亂已經被研究了100多年，但直至目前它仍為重要的鴨病之一<sup>(5,4,8,9,10)</sup>，每年死亡鴨隻所造成的損失甚鉅。巴氏桿菌 (*Pasteurella multocida*) 在鴨引起的病變包括肝局部壞死、心肌出血、腸粘膜出血壞死。一般教科書並無提及小腸環狀帶出血，而把小腸環狀帶出血認為是鴨瘟 (Duck Plague) 的特異病變<sup>(3)</sup>。在台灣已有疑似鴨瘟的報告<sup>(3,1,2)</sup>，但本所屢次接到有小腸環狀帶出血的鴨病例皆只分離出巴氏桿菌，而沒有鴨瘟病毒，所以病毒方面未得到最後的確認。因此對環狀帶之出血是否如教科書所言為鴨瘟的特異病變，深感疑惑。為解決此診斷上的困難，除了收集田間的病例之外，預定以人工感染方式感染健康鴨隻，觀察其病變及小腸環狀帶的出血，同時由各臟器分離細菌及病毒，以解決診斷上的困惑是本試驗的目的。

## 材料與方法

### 田間病例之採集

依全省各縣飼養鴨隻總數，分北、中、南三區採取樣本數目，病例之收集乃由本所親自採材或經由防治所人員協助紀錄採材，進行統計分析，紀錄包括鴨隻品種、日齡、發病率、致死率及各臟器的

病變。病鴨解剖後採取肝臟培養於血液培養基，部份病例並採回行鴨瘟病毒分離，日齡、發病率、致死率以ANOVA及Newman-Keuls檢定平均值之間的差異<sup>(12)</sup>。

### 人工感染用菌株

總共使用4株 *Pasteurella multocida*：HA2-L株（本所疫學系分讓，再經鴨接種而由肝分離得），Pingtong-2株（屏東防治所分離，PT-2），PRIAH-36株（本所疫學系分讓，血清型3:A），PRIAH-97株（本所疫學系分讓，血清型1:A），生化性狀皆符合 *Pasteurella multocida*。人工感染前，菌株皆經鴨隻（6週齡土番鴨）繼代以回復毒力。接種之細菌塗抹於DSA (Dextrose starch agar) 於37°C培養20小時後，懸浮於滅菌 tryptose broth，菌量以600nm波長光電比色計調整為O.D.=0.3，再經100×連續稀釋4次供接種之用。所接4株菌皆稀釋並以平板培養計數。

### 實驗鴨

102隻6~8週土番鴨購自宜蘭某種鴨場，在本所實驗動物舍籠子中飼養，以小鴨粒狀飼料（四健牌未加藥）餵飼每天2次，飲水為自來水隨時供應，每組6隻以不同劑量由肌肉內注射，發病死亡鴨隻隨時解剖，未死亡鴨隻於感染後2週全數解剖，解

\*抽印本索取作者

台灣省家畜衛生試驗所

剖時紀錄心、肝、脾、食道、腸粘膜、滑氏囊及小腸環狀帶的病變，並採取上述諸病材，固定於中性福馬林中行切片及 H&E 染色，觀察顯微病變。解剖的鴨隻皆以無菌採取心血、肝、脾塗抹於血液培養基分離細菌，脾臟另外進行病毒分離。

### 病毒分離

每隻實驗鴨，解剖後皆採脾臟製成乳劑，接種 9 日齡鴨胚胎尿囊腔中盲目繼代 3 代，及鴨胚胎纖維細胞中觀察 CPE，胚胎尿囊液及細胞上清液以 3 % PTA (Postassium phosphotungstate acid) 負染色行電子顯微鏡觀察。

### 結果

#### 田間病例

1993.7-1994.6 採材 21 例，每一病例剖檢數 2 至 12 隻不等，且都經細菌分離確診，各品種間發病的日齡無顯著差異 ( $P > 0.05$ ) 發病率以櫻桃谷鴨最高 ( $P < 0.01$ )，但致死率無差異。病鴨臨床症狀有下痢、精神沉鬱、食慾不振、血便、弱腳、突然死亡。解剖病變有肝、脾密發針狀小白點、心臟點狀出血、小腸粘膜散發點斑狀出血、內容物呈血樣、食道無病變。心、肝、脾、腸病變發生病變比率由 57 % 至 100 % (表 1) 每場解剖鴨隻中發生小腸環狀帶出血由 1/5 至 5/5 不等，一場病例中只要有一隻鴨病變有環狀帶出血，則此病例紀錄為環狀帶出血陽性，16 例土番鴨病例中有 9 例，2 例櫻桃谷肉鴨中有 1 例，3 例蛋鴨中有 2 例。其他病變包括心臟出血、肝局部壞死、脾局部壞死、腸粘膜出血。其發生病變比例分別為 95 %、100 %、81 % 及 57 %。病例皆經細菌分離出 *Pasteurella multocida* 確定，部份病例 (9 個有環狀帶出血的病例) 經鴨瘟病毒分離陰性。

### 人工感染

以不同菌數由肌肉接種鴨隻，4 株菌株毒力皆甚強 HA2-L 及 PT-2 以  $10^7$  菌量接種後 12 小時內死亡， $10^5$  菌量皆種後 1~2 天死亡， $10^3$  菌量 2~3 天死亡， $10^1$  接種組全無發病與死亡；死亡鴨隻解剖後，皆由心血、肝及脾分離到很純之巴氏桿菌，接種 PRIAH-36 及 PRIAH-97 結果與上述 2 菌株相同 (表 2)。人工感染鴨的病理變化結果示，因家禽霍亂菌致死鴨隻之環狀帶出血病變 (圖 1)，隨菌量之增加而增加。 $10^7$  菌量之甚急性死亡病例 100 % 心臟及肋膜見嚴重出血，但僅部分有肝臟局部壞死的病變，脾局部壞死的病變更少 (表 2)。

### 顯微病變

甚急性死亡鴨隻肝無肉眼可見病變者，切片下亦示正常，急性死亡者則可見局部壞死，大量炎症細胞壞死及紅血球聚集 (圖 2) 有些部位僅見細胞壞死及細菌聚集，脾肉眼見紅白相間者切片示淋巴球消失，只見大量吞噬細胞聚集 (圖 3) 有一病例血管周圍有纖維蛋白圍繞。腸粘膜見出血壞死、小腸環狀帶出血切片見粘膜出血，大多數淋巴濾泡沒有病變 (圖 4)，只有少數見淋巴球減少及 1 病例見淋巴濾泡的壞死。滑氏囊切片見淋巴球消失及輕微水腫，食道只有 1 隻有病變，其餘為正常，切片見粘膜下層及漿膜層局部壞死。

### 病毒分離

102 隻人工感染鴨之脾臟乳劑添加抗生素，經 3 代鴨胚胎尿囊腔接種，及細胞培養 3 代，結果未造成胚胎死亡及 CPE。尿囊液及細胞上清液以電子顯微鏡觀察亦未見病毒。

表 1 1993. 7 ~ 1994. 6 台灣地區田間鴨家禽霍亂病例調查表

品 種	病例數	日 齡	發 病 率 (%)	致 死 率 (%)	心 臟 出 血	肝 局 部 壞 死	脾 局 部 壞 死	腸 粘 膜 出 血	腸 環 狀 帶 出 血
土 番	16	62±18	4.6±4a	69± 19	15*	16	13	9	9
櫻 桃 谷	2	39±25	42±3b	50± 35	2	2	2	2	1
蛋 鴨	3	49±38	2.7±3a	75±245	2	3	2	1	2
合 計	21				20	21	17	12	12
百 分 比					95	100	81	57	57
平 均		58±21		66± 21					

\* 有病變的例數，一場有 1 隻病變即紀錄為病變陽性

a,b : 以 ANOVA 及 Newman-Keuls 檢定，不同字母即表示二者有極顯著差異 (P< 0.01)

表 2 鴨家禽霍亂分離株人工感染鴨之死亡及病變情形

菌 株	菌 量	死 亡 數	病 變 隻 數				
			心	肝	脾	腸	環 狀 帶 出 血
HA2-L	1.5×10 <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0
	1.5×10 <sup>3</sup>	4	3	5	1	3	2
	1.5×10 <sup>5</sup>	6	5	4	1	2	2
	1.5×10 <sup>7</sup>	6	6	1	0	4	4
PT-2	0.8×10 <sup>1</sup>	1	1	1	0	0	0
	0.8×10 <sup>3</sup>	5	5	5	0	1	1
	0.8×10 <sup>5</sup>	6	6	4	0	6	3
	0.8×10 <sup>7</sup>	6	6	4	0	6	4
PRIAH-36	1.1×10 <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0
	1.1×10 <sup>3</sup>	6	6	5	2	4	3
	1.1×10 <sup>5</sup>	6	6	3	2	1	4
	1.1×10 <sup>7</sup>	6	6	1	3	2	4
PRIAH-97	0.5×10 <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0
	0.5×10 <sup>3</sup>	6	6	4	2	0	3
	0.5×10 <sup>5</sup>	6	6	3	4	3	3
	0.5×10 <sup>7</sup>	6	6	1	1	1	4
無菌培養液	-	0	0	0	0	0	0

1. 每組接種 6 隻，未死鴨於接種後 2 週解剖，所有死亡鴨隻解剖後皆分離出巴氏桿菌，未死亡 而於 2 週後解剖者則細菌分離為陰性

2. 病變包括心肌出血、肝脾局部壞死腸粘膜出血及小腸環狀帶出血

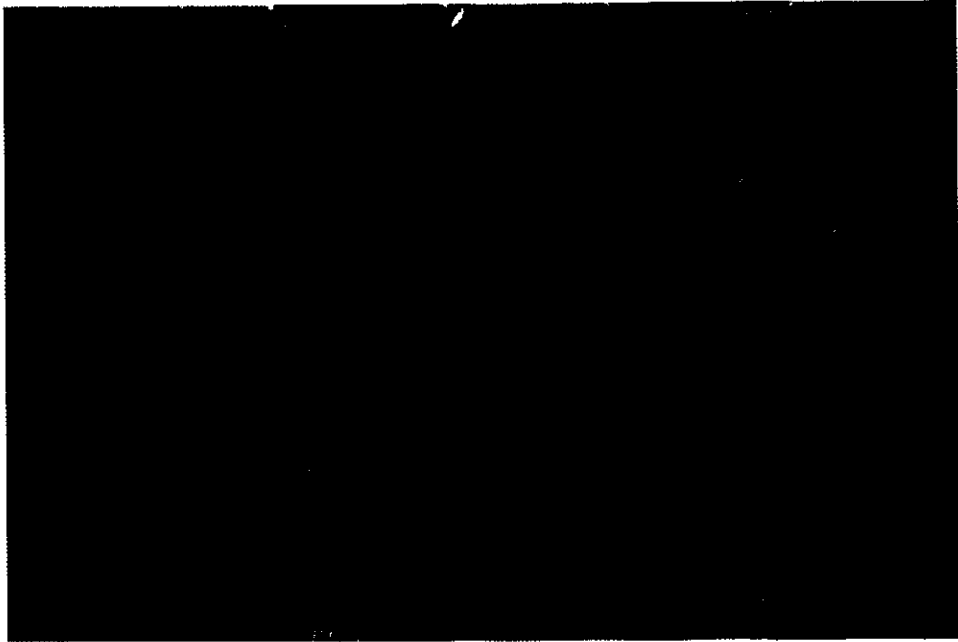


圖 1 PRIAH-97 菌株  $0.5 \times 10^5$  / ml 人工感染後 12 小時內死亡之小腸環狀帶出血病變 (箭頭所指)



圖 2 PT-2 菌株  $0.8 \times 10^5$  / ml 人工感染後 12 小時內死亡之肝切片，見肝局部壞死 (N) 壞死細胞，紅血球及炎症細胞聚集 (No927, H&E, 236 $\times$ )

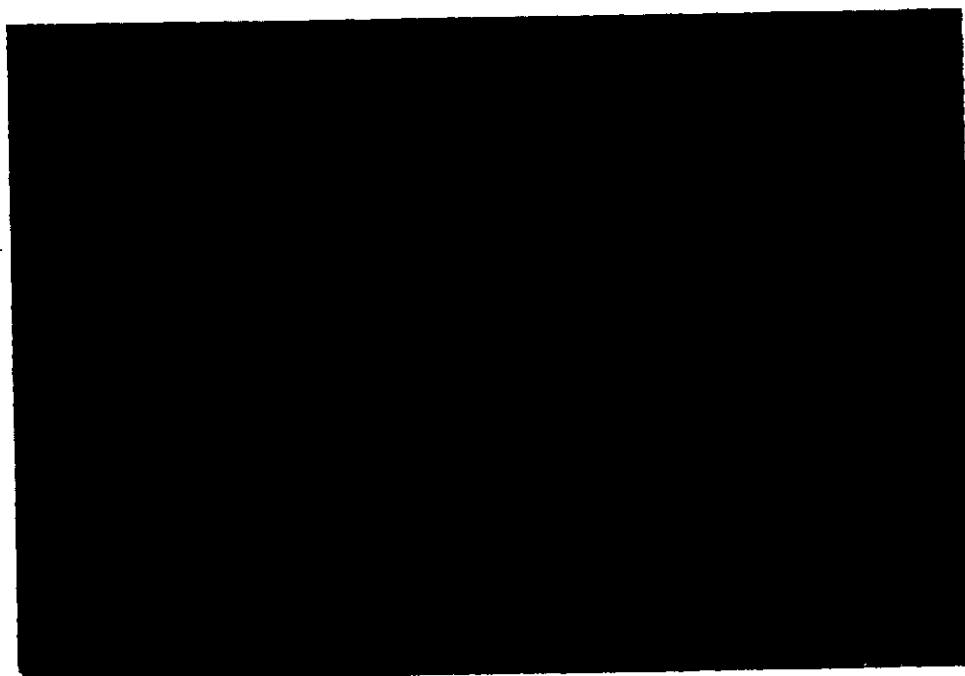


圖 3 PRIAH-97 菌株  $1.3 \times 10^3$ ，人工感染後 12 小時內死亡之脾臟切片，淋巴球消失，吞噬球大量聚集 (M) (No 537, H&E 236 $\times$ )

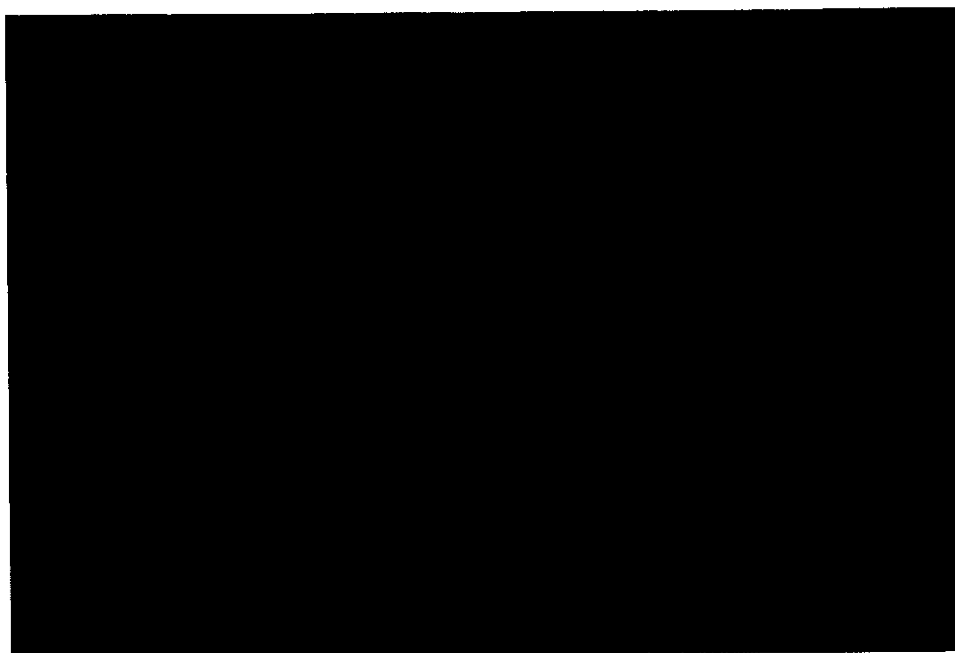


圖 4 HA2-L 菌株， $1.5 \times 10^5$  / ml 人工感染後 12 小時內死亡之小腸環狀帶切片，見粘膜出血 (h)，而淋巴濾泡較完好 (\*) (No 909, H&E, 47 $\times$ )

## 討論

田間病例有小腸環狀帶出血者佔 57% (12/21)，由臨床觀察同一鴨群並非每隻解剖鴨隻皆有此病變，由細菌及病毒分離及人工感染結果得知小腸環狀帶出血的病變可以由 *Pasteurella multocida* 單獨引起，且此病變因菌量之升高而增加，由此推測此病變與菌量有關，只要感染足夠菌量可能每一菌株都會引起此病變。由此次人工感染實驗及病毒分離陰性，我們可以確定小腸環狀帶非鴨瘟的特異病變，由家禽霍亂菌亦可引起

肝臟之病變與時間有關，甚急性者未有型態學上的病變鴨隻即死亡，發病 1~3 天病鴨才示肝之局部壞死，因此田間病例有些無肝病變者，乃因甚急性死亡病例之故。肝局部壞死病變顯係細菌感染而來，有些壞死區內見大量細菌聚集，即可證明；有些壞死只有凝固壞死而無細菌聚集，顯係細菌在局部產生毒素之故。

脾臟淋巴球消失、吞噬細胞聚集及滑氏囊淋巴球消失，乃因細菌敗血症的典型病變<sup>(11)</sup>。

小腸環狀帶出血主要為粘膜壞死出血，淋巴濾泡多較完整此種病變與鴨瘟引起者不同<sup>(7)</sup> 此或可為分辨鴨瘟或家禽霍亂診斷之依據。

本實驗證明小腸環狀帶出血並非鴨瘟之特別病變，現場有環狀帶出血病變要懷疑家禽霍亂的可能性，並製做切片，觀察小腸淋巴濾泡及腸粘膜病變的嚴重程度供診斷的參考。

誌謝 本試驗承黎南榮先生進行電顯觀察及疫學系，各家畜疾病防治所分讓菌株致萬分謝意。

## 參考文獻

- 張照夫。水禽類之巴氏桿菌症。福壽新雜誌 1：52-55，1987。
- 張仙慶、鍾蓮青、劉添源。高雄縣鴨瘟併發家禽霍亂病例報告。動物醫學雜誌 18：33，1982。
- 蔡信雄、林順隆、劉正義。發生於恆春地區之疑似鴨瘟之初步報告，中華獸醫誌 4：65-66，1978。
- Carpenter T. E., D. C. Hirsh, R. W. Kasten, D.W. Hird, K. P. Snipes, and R. H. McCapes. *Pasteurella multocida* Recovered from Live Turkeys : Prevalence and Virulence in Turkeys. Avian Dis. 33 : 12-17, 1989
- Fujihara Y., M. Onai, S. Koizumi, N. Satoh and T. Sawada. An outbreak of fowl cholera in wild ducks ( Rosyibilled pochard ) in Japan. Jpn. J. Vet. Sci. 48 (1) : 35-43, 1985
- Hofacre C.L., J. R. Glisson, S.H.Kleven, J. Brown, and G. N. Rowland. Evaluation of *Pasteurella multocida* Mutants of Low Virulence. I. Development and Pathogenicity. 33 : 270 - 274, 1989.
- Leibovitz L., Duck virus enteritis (Duck plague). In Calnek ed. Disease of poultry, 9th ed. Wolfe Publishing Ltd. p609-618. 1991.
- Rhoades K. R., G. Y. Ghazikhanian and R.P. Chin. Virulence and infectivity of A:14 strains of *Pasteurella multocida* for turkey poults. Avian Pathol. 18 : 597-603. 1989.
- Rhoades K.R. and R.B. Rimler. Pasteurellosis. in Calnek ed. Disease of poultry, 9th ed. Wolfe Publishing Ltd. p145-171. 1991.
- Rhoades K. R. and R. B. Rimler. *Pasteurella multocida* virulence factors : Selection of fowl cholera-inducing and non-inducing strains. Avian Dis. 37 : 11071-1073. 1993.
- Riddel C., Lymphoid system. In Riddel ed. Avian histopathology. 1st ed. Am. Associat. Avian Pathol. Allen Press Inc., Lawrence, Kansas. p7-17. 1987.
- Rosner B., Analysis of variance. In Rosmer ed. Fundamentals of biostatistics, 3rd ed. PWS-KENT Publ. Co. Boston, Massachusetts. p474-526. 1990.
- Tsuji M. and M. Matsumoto. Pathogenesis of Fowl Cholera : Influence of Encapsulation on the Fate of *Pasteurella multocida* after Intravenous into Turkeys. Avian Dis. 33 : 237-247. 1989.

## Pathological Changes of *Pasteurella multocida* infection in Naturally-Occurred and Artificially-Inoculated Ducks.

\*S. J. Chen<sup>1</sup>, C. H. Wang<sup>2</sup>, Y.S. Wu<sup>1</sup>, S. H. Lee<sup>1</sup>

1. Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health

2. Department of Veterinary Medicine, National Taiwan University

**SUMMARY** Twenty-one cases of fowl cholera of ducks were collected in Taiwan from July, 1993 to June, 1994. The average age of these ducks is  $58 \pm 21$  days old. Their morbidity ranges from 2.7 to 42 %, The average fatality is  $66 \pm 231$  %. The pathological lesions include hemorrhage in heart, focal necrosis of liver and spleen, mucosal hemorrhage on intestine mucosa and hemorrhage in intestinal annular bands. Different doses of 4 selected strains of *Pasteurella multocida* (P.m.) were injected intramuscularly into experimental ducks in order to observe the pathological changes, especially the annular band necrosis. The results indicate that the annular band necrosis can be induced by P.m. only, Which is related to bacterial dose. In conclusion, the annular band necrosis not the pathognomonic change induced by duck plague virus.

**Key words:** *Fowl cholera, Pathological change.*

---

\*Corresponding author

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health. Taiwan, R.O.C.