

出國報告（出國類別：研究）

家禽抗病力研究之最新進展

服務機關：行政院農業委員會畜產試驗所

姓名職稱：林義福 副研究員

派赴國家：法國

出國期間：98年10月4日至98年10月13日

報告日期：98年11月23日

摘要

本所 98 年台法畜禽科技研究交流計畫，產業組林義福於 98 年 10 月 4 日啓程赴法國國家農業研究院(INRA)圖爾(Tours)分院及久薩斯(Jouy-en-Josas)分院，研習家禽免疫最新進展。圖爾分院距巴黎約一個多小時高速火車(TGV)車程，以家禽研究於國際享有盛名，久薩斯(Jouy-en-Josas)分院位於巴黎近郊，離舉世聞名的凡爾賽宮很近，是 INRA 規模最大研究分院，有來自世界各地的博士生及博士後研究生在此做研究。於圖爾分院主要研習對象有 Dr. A. C. Lalmanach、Dr. A. M. Chausse 及 Dr. P. Quere。Dr Lalmanach 為 defensins 蛋白專家，defensins 與家禽抗病力有關，defensins 的研究可對抗病力機制有近一步了解。Dr. Chausse 為沙門氏菌專家，研究主題為細菌在腸道的致病及宿主對腸道細菌的清除能力機制。Dr. P. Quere 專長為雞黏膜防禦機制及免疫反應。此外，並參觀感染研究試驗平台(Experimental Infectiology Platform)，由該單位主管 Dr Claude Limouzin 及獸醫師 Dr Pierre Sarradin 親自解說，感染研究試驗有極嚴格標準作業程序，設施及操作人員依試驗要求，而有不同層級之清潔消毒程序。拜訪的主管包括副主任 Dr. Nathalie Winter 及分院長 Dr. Catherine Beaumont。於久薩斯(Jouy-en-Josas)分院拜訪 Dr. Bertrand Bed'hom，Dr. Bertrand Bed'hom 目前指導一名來自中興大學博士生張啓聖，研究專長為藉由免疫遺傳方法提高雞群抗病力，對雞隻抗病力研究有獨到見解。於 98 年 10 月 13 日返台，結束緊湊研習行程。

目次	頁碼
壹、目的	4
貳、過程	5
參、心得	12
肆、建議事項	13
伍、附錄	14

壹、 目的

我國高溫多濕環境下，病原菌容易繁衍，常需添加藥物以對抗疾病發生，但由於生活水準提高，消費意識抬頭，無藥物添加之飼養方式為不可避免之趨勢，有鑑於此，要避免藥物添加，除了生物安全防疫措施要確實執行外，治本方法為提高家禽自身抗病能力，法國國家農業研究院(INRA) Tours分院及Jouy-en-Josas分院在家禽抗病研究上享譽盛名，本計畫目的在赴法國國家農業研究院研習家禽免疫與抗病力之最新研究進展，期能提高我國研究水平，並與法國國家農業研究院學術交流，建立長期而穩固之實質合作關係。

貳、 過程

本次赴法研習畜禽科技研究行程表			
日期	研習地點	研習內容	拜訪人員
10/04		去程	
10/05		抵達 Tours	
10/06	INRA-Centre de Tours (法國國家農業研究院 圖爾分院)免疫及病原 感染系(Unite de Pathologie Infectieuse et Immunologie)	拜會副所長 Dr. Nathalie Winter 及研習家禽免疫 最新進展	Dr. Pascale Quere Dr. Nathalie Winter Dr. Anne-Christine Lalmanch Dr.Dominique Buzoni-Gatel
10/07	INRA-Centre de Tours (法國國家農業研究院 圖爾分院)	研習家禽免疫及感染機 制最新進展及拜會分院 長 Dr. Catherine Beaumont	Dr. Pascale Quere Dr. Anne-Christine Lalmanch Dr. Anne-Marie Chausse Dr. Catherine Beaumont
10/08	INRA-Centre de Tours (法國國家農業研究院 圖爾分院)	研習家禽免疫並參觀 Tours 分院之感染研究 試驗平台(Experimental Infectiology Platform)動 物飼養場	Dr. Pascale Quere Dr. Pierre Sibille Dr. Daniel Marc Dr. Dr Claude Limouzin Dr. Pierre Sarradin
10/09	INRA-Centre de Jouy-en-Josas (法國國家農業研究院 久薩斯分院)	與 Dr. Bertrand Bed'hom 討論家禽免疫及遺傳選 拔最新進展	Dr. Bertrand Bed'hom
10/10	巴黎	文獻研讀及資料整理	
10/11	巴黎	文獻研讀及資料整理	
10/12	巴黎至台北	回程	

10/13	台北至台南	回程	
-------	-------	----	--

一、本所產業組林義福於 98 年 10 月 4 日搭乘長榮航空班機於 10 月 5 日上午抵達法國巴黎，隨即轉乘法國郊區鐵路至巴黎，再轉高速鐵路(TGV)至圖爾(Tours)，10 月 5 日下午抵達圖爾並下榻旅館，準備隔天討論內容。

二、10 月 6 日上午法國國家科學院圖爾研究分院研究員 Dr. Pascale Quere 至下榻旅館接送至位於 Nouzilly 之圖爾研究分院，Pascale Quere 隸屬 Immunologic Aviaire (IMAV)及 Infectiologie Animale et Sante Publique (IASP)兩團隊，圖爾研究分院距圖爾市中心約 30 分鐘車程，在 Dr. Pascale Quere 陪同下先拜會動物感染及公共衛生(Infectiologie Animale et Sante Public)研究所副所長 Dr Nathalie Winter，與 Dr Nathalie Winter 討論此次參訪及研習目的。

下午分別與 Dr. Anne-Christine Lalmanch 及 Dr. Dominique Buzoni-Gatel 見面並交換意見，Dr. Anne-Christine Lalmanch 專長為雞免疫及抗病力，研究領域包括沙門氏菌在肉雞之帶菌狀態-對易感及抵抗力強之免疫反應之基因表現之比較，在產蛋母雞之帶菌狀態-對宿主基因表現之進展等研究；遺傳上帶菌狀態之抵抗力之進展，從遺傳到基因圖譜及動物模式之進展；另雞骨髓衍生的 β 抗病蛋白(β -defensins)的主要結構及抗菌活性特性等，近期發表之研究報告：Primary structure and antibacterial activity characterization of chicken bone marrow derived β -defensins，defensins 屬於抗微生物胜肽(antimicrobial peptides)大家族，為先天性免疫(innate immunity)及後天性免疫(adaptive immunity)重要組成份，在脊椎動物， β -defensins 為一種抗菌蛋白，主要分成 α -、 β -及 θ -等三大類，最大家族包含 α -、 β -defensins，於白血球及上皮細胞分泌，defensins 在抗微生物作用不只侷限於宿主及病原體介面上，在哺乳動物 defensins 顯示可藉由吸引抗原呈現細胞(antigen presenting cells)及淋巴細胞來調節後天免疫。Defensins 所以越來越受重視，因為它有做為治療藥物的潛力，未來可以以取代受爭議的抗生素之使用，或做為食品保存的添加劑，對家禽而言，鳥類 defensins 有經濟上的利益，其抗微生物的特性，可生產供家

禽產業使用。目前所知的鳥類 defensins 屬於 β -defensins 家族，在雞， β -defensins 家族包含 14 個基因，大部分已從核酸序列資料中確認。

研究上，骨髓較血液成熟嗜異細胞含有較多的 defensins 分泌細胞前驅物 (precursors)，因此，骨髓為 defensins 基因大量表現地方。Dr. Anne-Christine Lalmanch 研究指出，從雞骨髓萃取物中以色層分析儀分離出具生物活性的 β -defensins，包括 AvBD1、AvBD2 及新分離的 AvBD7。質譜儀分析顯示，從骨髓中而來的 AvBD1、AvBD2 及 AvBD7，以完整的胜肽呈現。Dr. Anne-Christine Lalmanch 研究 β -defensins 的初級結構與抗菌活性特性，屬相當先進研究。另安排與 Dr. Dominique Buzoni-Gatel 會面，Dr. Dominique Buzoni-Gatel 專長為家禽寄生蟲及免疫病理學，探討家禽感染寄生蟲後 T 細胞之免疫反應，及遺傳上得差異性，寄生蟲與腸道細胞之交互作用，腸道黏膜在生理上及免疫上扮演對抗微生物及外來物入侵的角色等。

三、10月7日上午先與 Dr. Pascale Quere 做討論，Dr. Pascale Quere 對球蟲有相當之研究，包括雞腸道細胞以粗 γ -干擾素懸浮物 (crude interferon-gamma supernatants) 活化處理對 *Eimeria tenella* 繁殖之抑制等，後於動物感染及公共衛生研究所會議室，先由本人簡介本所組織架構、附屬單位、研究領域及研究設備等，另說明本所產業組三股動物種類、家禽育種及品種改良、推廣工作項目研究計畫及研究成果等，簡報後開放討論，與會人員對本所畜試土雞之抗病力及烏骨雞之育種深感興趣，提出許多問題討論。

下午由 Dr. Pascale Quere、Dr. Anne-Christine Lalmanch 及 Dr. Anne-Marie Chausse 等三人做專題報告，Dr. Pascale Quere 報告的題目為：家禽免疫 (Avian Immunology)。重點在雞的黏膜防禦系統及免疫反應，與動物及社會大眾健康有關的病毒及其感染模式，如禽流感病毒、腸炎型沙門氏菌等，在遺傳上探討雞 chemokine 及其接受體以及 β -defensins 與先天性、後天性免疫及黏膜樹狀突細胞之影響等。

在禽流感病毒及腸炎型沙門氏菌研究模式上可從下述三方面探討：

1. In vivo 感染模式

(1)生理病理學、先天性免疫反應、試驗病毒脫逃機制致病因子。

(2)禽流感病毒-肺、腸、chemokines。

(3)腸炎型沙門氏菌-盲腸輸送、抗病遺傳模式。

2.呼吸及腸道內皮細胞在免疫上扮演之角色

宿主與病原交互作用 in vitro 研究。

3.雞在遺傳學上趨化(chemotactic)分子及接受體之研究

(1)趨化(chemotactic)分子及接受體-CCL20/CCR6。

(2) β -Defensins- AvBD 1,2。

Dr. Anne-Christine Lalmanch 報告的題目為：家禽 β -defensins 在雞腸道病原菌的控制上的角色(Avian β -defensins in the control of bacterial pathogens of chicken intestine)。在歐盟，食物中毒案例有 60%以上與沙門氏菌有關，腸炎型沙門氏菌為在人類發現的主要血清型，而家禽有易潛藏沙門氏菌導致食物鏈(蛋、肉)的污染，因此，沙門氏菌防治與食品衛生安全息息相關，避免動物感染病原菌方法，包括抗病力物種的遺傳選拔，提昇免疫抵抗力及抗生素的替代物的使用等。與抵抗力有關因子，可探討與免疫有關抗病基因，研究易感(susceptible)及抗病(resistant)品系雞隻的不同基因表現，家禽抗病蛋白 β -defensins 結構與功能關係研究等。

沙門氏菌菌落在脾臟停留時間短，相反的在腸道停留時間長，尤其在泄殖腔，沙門氏菌可在雞群中經由排泄物做水平傳播，亦可經由排卵路徑做垂直傳播，無論是在幼禽或成禽中，在體內形成菌落的程度受到遺傳控制，因使用抗生素尚有爭議，疫苗使用策略及抗沙門氏菌的遺傳選拔為另一個有價值及安全的預防方法。

在脾臟及泄殖腔中血清型腸炎沙門氏菌之測量方法，將臟器在 trypticase soy broth(TSB)均質化，以含鏈黴素(500 μ g/ml)及 nalidixic acid 之志賀氏桿菌(shigella)介質，將沙門氏菌盤做連續 10 倍稀釋，培養 48 小時後計算每一

培養盤上聚落數目，平均腸炎沙門氏菌 CFU 數目以每公克臟器在每一品系的每一計算時間點計算。

在哺乳動物研究顯示，細菌 motif 接受體例如在上皮細胞及巨噬細胞的 toll-like 接受體已被發現與宿主對沙門氏菌感染的反應有關，在別處巨噬細胞抗微生物武器包含抗菌蛋白質(defensin)，誘發的一氧化氮合成酶(iNOS)及容質攜帶家族 11 成員 1(solute carrier family 11 member 1, SLC11A1)，以前所知的 NRAMP1，

免疫反應測定方法，在 INRA 使用近親品系 6₁ 及 15I 雞隻，6₁ 及 15I 雞隻來自美國農業部家禽疾病及發生實驗室(Avian Disease and Oncology Laboratory)(East Lansing, MI, USA)，飼養於法國國家農業研究院試驗育種單位(INRA, Zouzilly, France)無特定病原菌環境下，雞群做經常性肛門拭子檢測以確定未有沙門氏菌排出。每一產蛋品系再分成兩群，在 30 週齡口服 0.2 ml 含有 10⁸ 聚落形成單位(colony-forming units, CFU)腸炎沙門氏菌血清株 1009，這些細菌株對鏈黴素(streptomycin)及 nalidixic acid 有抵抗力，飼養在密閉空間中。一品系(對照組)有 4 隻接種沙門氏菌前犧牲，另每一品系 6 至 8 隻感染雞隻在感染後第 1、2 或 4 週時以二氧化碳吸入方式犧牲。每隻雞在無菌操作下取出脾臟及泄殖腔做細菌量的檢測，取第二泄殖腔扁桃腺做標定基因 RNA 定量。

Dr. Anne-Marie Chausse 報告其所屬細菌的訊息、運送及致病力(Signaling, carriage and virulence of bacteria) 研究團隊。研究重點亦放在沙門氏菌，動物感染沙門氏菌所以不易察覺因在潛伏期間動物並無症狀，糞便排出量高亦是原因，該研究團隊主要目標為探討細菌感染宿主並在腸道存活機制、探討宿主清除細菌機制及宿主與細菌交互作用，包括在細胞層次及在雞體內無症狀發生之潛伏期。

禽類免疫研究開始於 2005 年，重點放在禽類黏膜防禦及免疫反應，包括先天免疫(innate immunity)含細胞及分子層面及機制，並與適應性免疫

(adaptive immunity)連結，病原及感染模式重點放在與動物健康有關及社會大眾關心的議題，例如禽流感病毒在呼吸道之路徑，腸炎沙門氏菌在盲腸輸送等。使用雞做動物模式，運用禽類免疫學專門知識，如在 2004 年首先發表之雞基因體學，禽類免疫學主要進展，在 IASP 的雞近親品系及比較免疫學，展望：遺傳選拔、抵抗力因子鑑定(identification of resistance factors)、免疫調節及疫苗等。

呼吸及消化道抵抗力等於黏膜免疫反應，重點放在雞，病原菌在黏膜表面引發初步先天性發炎反應，有 chemokines 及 β -防禦蛋白(defensins- β)，引發多核球(PMN)單核球及樹狀突(DC)，分泌 Cytokines 及 Chimiokines，接觸抗原後誘發 CD4+CD8+細胞及 LB 細胞執行適應性免疫反應(adaptive response)。

當日下午下班時間前往圖爾分院院長辦公室拜會院長 Dr. Catherine Beaumont, Dr. Catherine Beaumont 曾受邀來本所參訪，對本所留下深刻印象，除了說明此次參訪目的外，並討論未來合作可能項目。

四、10月8日上午與 Dr. Pierre Sibille 會面，Dr. Pierre Sibille 以大鼠為模式，研究腹膜及肝臟的免疫機制。下午參觀 Tours 分院之感染研究試驗平台 (Experimental Infectiology Platform, PFIE)。由該研究試驗平台主任 Dr. Claude Limouzin 及獸醫師 Dr. Pierre Sarradin 帶領及解說，PFIE 硬體設施為法國國家級，也是法國最大的多物種研究平台，有自有的編制及主管，不管歐洲公部門或私人研究機構，有試驗研究需要均可提出需求。PFIE 有一棟新建築在 2009 年年初加入服務，增加 A3 級試驗容量。PFIE 提供多物種的感染試驗服務，包括牛、綿羊、山羊及豬等大動物，及兔、家禽及老鼠等小動物，這些動物房舍可達 A2 至 A3 等級感染試驗設施（2 至 3 級病原及/或基因轉殖動物）。另外，飼養及生產特定衛生及遺傳狀態動物，包括無特定病原(Specific Pathogen Free)兔、老鼠、家禽及雞蛋；衛生狀態控制(Controlled Sanitary Status)牛及綿羊；已知菌群動物 (Animals with known flora)，如無菌或無菌生物學

研究；其他如近親、同源近親、組織相容及基因轉殖品系(綿、羊、豬、家禽、兔及老鼠等)。其它服務有懷疑受感染動物之繫留、感染地區現場勘查、特定品系動物畜禽飼養、產蛋雞抗體生產等。

五、10月9日赴 INRA Jouy-en-Josas 拜會 Dr Bertrand Bed'hom，Dr Bertrand Bed'hom 為免疫遺傳學家，在抗病力研究上有天然抗體及特定抗體的遺傳免疫選拔、新城雞病免疫抗體反應選拔、抗球蟲病數量性狀基因座定位(QTL mapping)等，Dr Bertrand Bed'hom 並共同指導來自台灣中興大學博士班研究生張啓聖。

六、10月10、11日文獻研讀及整理資料，10月12日搭長榮班機返台，10月13日抵台。

參、心得

法國農業研究院(INRA)與本所長期來的合作交流使得本次參訪研習得以圓滿完成，除了安排多位資深專家與研究人員與本人見面及討論外，並安排三場專題報告，對本所可說是相當禮遇。隨著國人生活水準提升，畜產品價格已不是唯一考量因素，健康安全的食品為消費大眾最關心議題。要避免藥物使用，以避免藥物殘留重要的是提升家禽抗病力，法國農業研究院對家禽抗病力之研究相當深入，除了有良好研究人員外，良好的設施及設備亦很重要，INRA Tours 分院感染研究試驗平台(Experimental Infectiology Platform)即提供研究人員很好的研究環境，與大眾健康有關的議題如沙門氏菌及禽流感更是研究重點。INRA Tours 分院的家禽抗病力研究可謂執世界牛耳，值得國內相關學者及研究人員前往研習。

本次研習及參訪，特別要感謝法國INRA Tours分院長Dr. Catherine Beaumont大力安排及協助得以順利完成，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

1. 法國農業研究院 Tours 分院有非常完善感染研究試驗設施，訂有嚴格操作步驟，並有專責及專業人員負責，提供良好的研究平台，相當值得我國學習。
2. 法國農業研究院的飼養管理者之敬業精神令人深刻印象，建議國人應學習落實自衛防疫及維護畜舍清潔，以確保試驗準確度及提升動物福利。
3. 沙門氏菌及禽流感等與大眾健康有關的疾病，法國農業研究院在此領域研究相當先進，很值得國人前往研習。

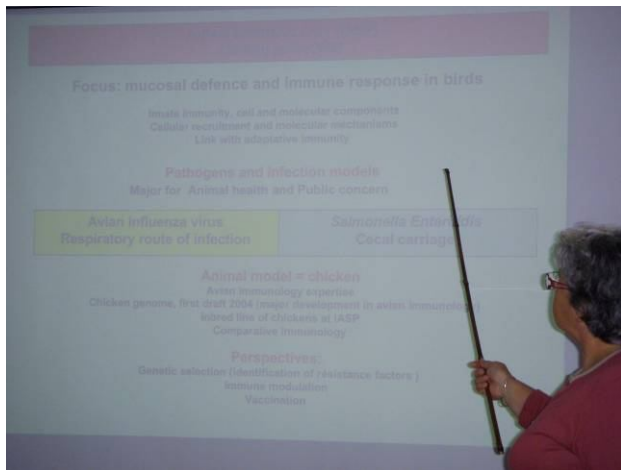
伍、附錄



動物感染及公共衛生(Infectiologie Animale et Sante Public)研究所副所長 Dr. Nathalie Winter



動物感染及公共衛生(Infectiologie Animale et Sante Public)研究所主任研究員 Dr. Pascale Quere



Dr. Pascale Quere 做家禽免疫專題報告



動物感染及公共衛生(Infectiologie Animale et Sante Public)研究所研究員 Dr. Anne-Christine Lalmanch



Dr. Anne-Christine Lalmanch 做家禽免疫抗病蛋白 β -defensins) 專題報告



Dr. Anne-Marie Chausse 做細菌的訊息、運送及致病力專題報告



拜會 INRA Tours 分院長 Dr. Catherine Beaumont



INRA 感染研究試驗平台(Experimental Infectiology Platform, PFIE)主任 Dr. Dr Claude Limouzin (左) 及獸醫師 Dr. Pierre Sarradin (右)



INRA-感染研究試驗 A2 至 A3 等級感染試驗操作台



Dr. Pierre Sarradin 講解實驗動物手術室之操作



雞飼養於 INRA-感染研究試驗 A2 至 A3 等級感染試驗操作台情形



INRA-感染研究試驗研究人員操作情形



INRA-感染研究試験大型動物試験場



拜會 INRA Jouy-en-Josas 分院研究員 Dr. Bertrand Bed'hom

