

台灣地區乳羊布氏桿菌病之血清學調查

吳 義 興

台灣省家畜衛生試驗所

為瞭解本省乳羊布氏桿菌病之污染情形，以試管凝集試驗及補體結合試驗調查全省之乳羊。由本省北部、中部、南部及嘉義與台南地區共抽驗8,947頭。檢查結果：使用 *Brucella melitensis* 為抗原，以試管凝集試驗測定時，在8,947頭乳羊中，血清凝集抗體力價為1:40者有11頭(0.12%)，1:80者有1頭，其餘均在1:20或以下。以補體結合試驗測定時，血清之抗體力價在1:5者有8頭(0.09%)，1:10者有2頭，其餘均在1:5以下。補體結合力價為1:10之2頭羊，經宰殺分離布氏桿菌，結果均為陰性。使用 *Brucella abortus* 為抗原時，血清凝集抗體力價均無1:20以上者。以補體結合試驗測定，除2頭羊之血清力價為1:5外，其餘均在1:5以下。

關鍵字：乳羊 布氏桿菌病 血清學調查

布氏桿菌病是一種人畜共同傳染病，由於本病會引起人畜或家畜間互相之傳染，因此欲保護國人之健康免受本病之威脅，則必需對各種家畜之布氏桿菌病予以完全之控制或撲殺，尤其供人類乳汁之乳牛及乳羊更為重要。本省乳牛布氏桿菌在政府數年來厲行撲滅下，已受控制並漸漸絕跡。但在其他家畜則尚未進行有效之撲滅工作，尤其是近年本省急速增加之乳羊，其數量已超過乳牛，所生產之羊乳汁亦販賣供飲用，但迄今羊乳仍未有如牛乳般之產銷前檢查及消毒過程，羊乳中若污染布氏桿菌勢必嚴重影響國人之健康。另一方面，乳羊之布氏桿菌病主要仍由馬耳他布氏桿菌 (*Brucella melitensis*) 所引起，此菌種對人類

之感染性及病原性均極高⁽³⁾。

民國七十三年台灣省農林廳有鑑於乳羊布氏桿菌病之重要，曾委託嘉義農專對雲林、嘉義及台南等地區之乳羊作布氏桿菌之調查，結果發現其陽性率高達52.5%以上⁽²⁾。此結果令各界極為擔憂。為明瞭其實際污染之真況，本試驗以更可靠而精確之血清學試驗方法—試管凝集及補體結合試驗再次調查該地區之乳羊，並擴大作全省性之調查。

材料與方法

血清樣品之採集：

全省分成南部、中部及北部，北部由台北縣及桃園縣採集，中部以台中縣為對象，南部

則以包括屏東縣及高雄縣，為採集之對象，另外為印證嘉義農專之報告⁽²⁾，另採取嘉南地區，包括嘉義縣，台南縣及台南市之乳羊血清抗原：

流產布氏桿菌試管凝集試驗用抗原，使用日本家畜衛生試驗場出品之抗原，使用時以含0.5%石炭酸食鹽水稀釋10倍後等量加於稀釋後之血清。補體結合試驗用抗原，使用日本家畜衛生試驗場出品之脂多醣抗原，使用時稀釋100倍後使用。

馬耳他布氏桿菌試管凝集試驗用抗原及補體結合試驗用抗原，均使用美國Difco公司製造之染色平板用全菌抗原。該公司出品之馬耳他布氏桿菌抗血清，以含0.5%石炭酸之5%食鹽水液作系列稀釋後，與不同稀釋之抗原作棋盤式之力價測定，以決定最適用於試管凝集及補體結合試驗之稀釋濃度而使用。

血清樣品之測定：

血清樣品以56°C 30分鐘水浴非動化後，以二種試管凝集試驗用抗原，分別先作篩選試驗，血清0.1ml加入含0.5%石炭酸之5%食鹽水0.4ml，混合後加入0.5ml已稀釋好之抗原，使血清最終稀釋倍數為1:10，混合後放37°C恒溫箱中一夜，隔晨判定，若有50%以上之凝集，再把血清自最終濃度1:10起以2倍稀釋法系列稀釋，依Alton等⁽³⁾之

步驟測定血清凝集力價。補體結合試驗，先把血清以Barbital buffer⁽⁹⁾稀釋1:5，放在62°C之水浴箱中30分鐘以除却抗補體因子，處理後，分別以二種補體結合試驗用抗原作篩選試驗，血清1:5有50%以上之溶血抑制者，再自1:5起作系列2倍稀釋，依Alton等⁽³⁾所載Hill之補體結合試驗法測定血清之力價。

結 果

馬耳他布氏桿菌試管凝集用抗原濃度之測定：

馬耳他布氏桿菌全菌抗原液以0.5%石炭酸食鹽水稀釋為1:10, 1:12, 1:14……1:22，每一稀釋放一列6支試管，另該公司出品之馬耳他布氏桿菌抗血清，以含0.5%石炭酸之5%食鹽水稀釋1:5, 1:10, 1:20……1:160，稀釋血清加入各行試管中，每一管0.5ml，混合後放37°C恒溫箱中一夜作棋盤式之力價測定，依凝集程度100%, 75%, 50%, 25%分別記為+++, ++, +, 陰性為-。其結果如表1。雖然抗原液在稀釋1:16以後其血清凝集力才穩定下來，但因為抗原稀釋超過1:14後菌液太薄，對凝集程度的判定困難，因此選定以1:14之稀釋為試管凝集試驗之抗原濃度。

表1 馬耳他布氏桿菌試管凝集試驗抗原濃度之測定

抗 原	血 清 最 終 稀 釋 倍 數						
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	
稀 釋	血 清 稀 釋 倍 數						
	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	
	1:10	+++*	+++	++	+	-	-
	1:12	+++	+++	+++	++	-	-
	1:14	+++	+++	+++	++	-	-
	1:16	+++	+++	+++	+++	-	-
	1:18	+++	+++	+++	+++	-	-
	1:20	+++	+++	+++	+++	-	-
1:22	+++	+++	+++	+++	-	-	

*依凝集程度100%凝集“+++”，75%“++”，50%“+”，25%“-”，無凝集“-”。

馬耳他布氏桿菌補體結合試驗抗原濃度之測定:

馬耳他布氏桿菌全菌抗原稀釋 1:80, 1:100, 1:120……1:220, 各列分別放 7 支試管, 稀釋液使用 Barbitol buffer。第 9 及 10 列則放稀釋 1:100 之流產布氏桿菌脂多醣抗原及全菌抗原。最後一列為血清對照, 不加抗原, 以稀釋液代替抗原。馬耳他布氏桿菌抗血清以 Barbitol buffer 稀釋液稀釋自 1:10, 1:20……1:320, 分別放入各行

試管, 最後一行則以稀釋液代替血清作為對照。如此棋盤式測定其最適抗原濃度, 結果如表 2。補體結合用抗原以全菌抗原稀釋 1:120 時力價最高超過此一稀釋倍數時, 力價開始下降。因此在本報告之馬耳他布氏桿菌之補體結合抗原, 則以此全菌抗原稀釋 120 倍後使用。血清以流產布氏桿菌脂多醣抗原測定時, 其力價較以馬耳他布氏桿菌為抗原測定時, 約降一稀釋倍數。

表 2 馬耳他布氏桿菌補體結合試驗抗原之濃度測定

<i>Br. melitensis</i>	血 清 稀 釋 倍 數						不加血清 抗原對照	
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320		
全菌抗原稀釋								
1:80	0*	0	0	0	75	100	100	
1:100	0	0	0	0	75	100	100	
1:120	0	0	0	0	75	100	100	
1:140	0	0	0	0	100	100	100	
1:160	0	0	0	25	100	100	100	
1:180	0	0	0	25	100	100	100	
1:200	0	0	0	25	100	100	100	
1:220	0	0	0	25	100	100	100	
抗 原	1:100 <i>Br. abortus</i> LPS 抗原	0	0	0	50	100	100	100
對 照	1:100 <i>Br. abortus</i> 全菌抗原	0	0	0	25	100	100	100
血清對照 (無加抗原)	100	100	100	100	100	100	100	

* “0” 溶血完全抑制, “25” 25%溶血, “50” 50%溶血, “75” 75%溶血, “100” 完全溶血。

乳羊之血清學調查:

全省北、中、南部及嘉南地區抽查共採集 8,947 頭乳羊血清, 經以上述測定好力價之馬耳他布氏桿菌抗原作試管凝集試驗及補體結合試驗, 其結果如表 3。試管凝集試驗力價 $\geq 1:40$ 之血清有 0.14% (12/8,947), $\geq 1:$

20 者佔 0.64% (57/8,947)。補體結合試驗力價 $\geq 1:5$ 之血清佔 0.11% (10/8,947)

另外為了解乳羊是否感染流產布氏桿菌, 全部乳羊血清再以前述之日本製流產布氏桿菌抗原為抗原, 作試管凝集試驗及補體結合試驗, 測定其血清力價。結果如表 4。試管凝集試

驗血清力價均無 $\geq 1:40$ 者，呈 $1:20$ 者佔 0.1% ($9/8,947$)，補體結合試驗在 $8,947$ 頭乳羊血清中僅其中 2 頭呈 $1:5$ 之力價，其餘均 $< 1:5$ 而呈陰性。

乳羊布氏桿菌之分離：

為更清楚瞭解乳羊布氏桿菌病污染之情形。 2 頭血清對 *Br. melitensis* 為抗原之補體結合試驗呈 $1:10$ 之羊宰殺分離布氏桿菌。另

2 頭血清補體結合試驗呈 $1:5$ 之乳羊，採乳汁及血液分離，並繼續觀察 2 個月後再抽血檢查。分離之結果均呈陰性，宰殺之羊並無肉眼病變，組織切片則僅見胎盤官阜之絨毛上皮有局限性壞死，但由於分離並無布氏桿菌，故可能為其他原因或細菌引起之局限性炎症所致。觀察之 2 頭乳羊均無流產之發生，而且再次之抽血檢查，其血清力價均呈下降。

表3 全省各地區乳羊血清以 *Br. melitensis* 抗原檢查之結果

地 區	檢查頭數	試 管 凝 集 試 驗					補 體 結 合 試 驗		
		$< 1:10$	$1:10$	$1:20$	$1:40$	$1:80$	$< 1:5$	$1:5$	$1:10$
台灣北部	2399	2353	22	20	4	0	2393	5	1
台灣中部	142	140	1	1	0	0	142	0	0
台灣南部	4584	4545	23	13	2	1	4580	3	1
嘉南地區	1822	1764	42	11	5	0	1822	0	0
合 計	8947	8802	88	45	11	1	8937	8	2

表4 全省各地區乳羊血清以 *Br. abortus* 抗原檢查之結果

地 區	檢查頭數	試 管 凝 集 試 驗				補 體 結 合 試 驗		
		$< 1:10$	$1:10$	$1:20$	$1:40$	$< 1:5$	$1:5$	$1:10$
台灣北部	2399	2381	15	3	0	2399	0	0
台灣中部	142	141	1	0	0	142	0	0
台灣南部	4584	4561	19	4	0	4582	2	0
嘉南地區	1822	1800	20	2	0	1822	0	0
台 計	8947	8883	55	9	0	8945	2	0

討 論

由此次抽查全省北部、中部、南部及嘉南地區之 $8,947$ 頭乳羊血清檢查結果，乳羊對馬耳他布氏桿菌之血清抗體力價一般較對流產布氏桿菌之血清抗體力價為高。若依現行本省乳牛布氏桿菌病之檢驗標準，試管凝集試驗 ≥ 1

$:40$ 者為陽性，則乳羊之陽性率僅為 0.14% ($12/8,947$)，補體結合試驗力價以 $\geq 1:5$ 為陽性，則乳羊之陽性率為 0.11% ($10/8947$)，而補體結合試驗陽性之 10 頭乳羊中僅 2 頭陽性力價為 $1:10$ ，其餘 8 頭則均為 $1:5$ (表3)。對流產布氏桿菌而言， 8947 頭乳羊中僅有 2 頭血清補體結合試驗力價為 $1:5$

(表4)，此結果與嘉義農專在雲林、嘉義及台南地區奶羊血清布氏桿菌病調查報告⁽²⁾稱，其對馬耳他布氏桿菌凝集力價 $\geq 1:80$ 者高達52.51%，對流產布氏桿菌凝集力價 $\geq 1:80$ 者佔1.94%有極顯著之差異。此種差異筆者認為仍該報告選用之試驗方法與本報告不同所致，因該報告使用普通平板急速凝集試驗，以測定血清中之凝集力價，供為判定之依據。由於平板急速凝集試驗使用簡單而迅速，可用於血清樣品數量很多時之檢查，但因其使用血清原液及高濃度之抗原液，在極短的時間內作凝集試驗，故其反應之特異性極低，常造成大量之偽陽性，故一般僅供臨床獸醫測定畜群有否可疑之感染，或個體血清檢查前之初步篩選試驗之用。近年來，平板凝集抗原應用於布氏桿菌病之檢查雖有改進，如筆者研製並在本省應用之玫瑰苯平板抗原⁽¹⁾或美國之卡板試驗(card test)抗原⁽⁷⁾，均可使平板凝集試驗之特異性提高，但仍僅適用於篩選試驗，其反應陽性血清均只認為是“疑陽性血清”，必需進一步以試管凝集試驗及補體結合試驗測定才能作確定診斷。

乳羊屬於山羊，主要感染之布氏桿菌菌種是馬耳他布氏桿菌，對流產布氏桿菌有相當之抵抗力⁽⁵⁾，不太可能被感染，迄目前為止乳羊對流產布氏桿菌僅有人工感染之報告^(4,6)，但由於本省乳牛主要感染之菌種是流產布氏桿菌，而且，目前本病在乳牛際於瀕臨撲滅之階段，為使該菌澈底絕跡本省之家畜，因此在本次調查亦作流產布氏桿菌之檢查，結果乳羊並無該菌之污染。

本省乳羊之頭數急劇增加，數目上已超過乳牛，但在管理上則完全闕如，不僅奶品之品質缺乏如牛乳之嚴格檢查作業，在疾病之控制上亦無定期之檢查，此種情形一旦感染如布氏

桿菌病等之傳染病，將一發不可收拾，此次乳羊檢查雖無發現布氏桿菌之感染，但建議應每1~2年作全面定期之檢查，以確保乳羊事業之穩定及公共衛生上之安全。

參 考 文 獻

1. 吳義興、謝快樂、呂清泉。1980。玫瑰苯抗原之研製及應用於本省牛布氏桿菌病之診斷。台灣省家畜衛生試驗所報告。16:1~4。
2. 嘉義農專獸醫科。1984。乳羊布氏桿菌症調查及血清學研究。台灣省政府農林廳家畜衛生補助計劃報告。73農畜字第3399號。
3. Alton F. F., L.N. Jones and D.E. Pietz. 1975. Laboratory techniques in Brucellosis. WHO, Geneva.
4. Anderson T.D., V.P. Meador and N. F. Cheville. 1986. Pathogenesis of placentitis in goat inoculated with *Brucella abortus*. I. Gross and histological lesion. Vet. Patho. 23:219-216.
5. Buxton A. and G. Frason. 1977. Animal microbiology. Edinburgh.
6. Meador V.P. and B.L. Deyoe. 1986. Experimentally induced *Brucella abortus* infection in pregnant goats. AJVR. 47:2337-2342.
7. Nicoletti P. 1967. Utiliation of the card test in Brucellosis eradication. JAVMA 151:1778-1783.

Serological survey on Brucellosis of milk goats in Taiwan

Yi-Shing Wu

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

Tube agglutination test and complement fixation test were used for detecting antibody against *Brucella* in 8,947 sera of milk goats in Taiwan. Eleven of the sera samples (0.12%) showed titers at 1:40 and one showed at 1:80 by agglutination test, while eight of them (0.09%) showed titers at 1:5 and 2 showed at 1:10 by complement fixation test against *Brucella melitensis*. No serum had titer over 1:20 by agglutination test and only 2 of them had titer at 1:5 by complement fixation test against *Brucella abortus*.