

豬布氏桿菌豬之人工感染試驗與本省豬抗體分佈調查

林地發¹ 呂榮修¹ 李永林¹ 蔡貴雄²

陳錦章³ 王金和¹ 蔡義雄⁴

1. 台灣省家畜衛生試驗所
2. 雲林縣家畜疾病防治所
3. 台北縣家畜疾病防治所
4. 農林廳畜牧科衛生股

以 *Brucella Suis* 第 3 型肌肉接種 2 頭肉豬，其凝集抗體於接種後 1 週開始上升，至第 5～9 週時力價最高（80～160 倍，即 200～400 IU），並可持續至 20 週以上，補體結合抗體上升稍慢，於接種後 3～6 週才產生（抗體）至第七週達最高值（160 倍），並與凝集抗體相似可持續至 20 週以上。

感染豬之睪丸於接種後第七週呈現腫脹，右睪丸至 19 週時有顯著之萎縮及壞死，並且可收回接種菌。

自 1979 年至 1980 年在全省 13 縣市進行 *Br. Suis* 抗體調查，8,319 頭血清作平板凝集反應呈 80 倍或以上之陽性豬有 674 頭（8.1%），取 615 頭再行試管凝集反應呈 20 倍有 91 頭（14.8%），40 倍（100 IU）者有 34 頭（5.5%），但以補體結合反應檢查這些豬（125 頭）均為陰性。

綜合以上成績，如以血清學診斷豬群是否感染 *Br. Suis*，其凝集抗體價應在 100 IU 或以上，且補體結合抗體亦為陽性者為準。

豬布氏桿菌（*Brucella Suis*）常引起豬之繁殖障害⁽¹⁾又會感染人類，為主要人畜共同傳染病之一。在美國 Weefer⁽²⁾ 調查 625 頭種豬曾發現母猪 14.7%，公豬有 5.3% 感染本病菌，又 Huddleson 等⁽³⁾ 亦調查 3,975 頭豬發現 7.7% 為陽性，且自其中 41 頭（13.3%）分離到 *Br. Suis*。

在本省對豬布氏桿菌病雖有調查報告⁽⁴⁾，但沒有確認本病之存在。一般對於布氏桿菌的診斷大多以血清學為主，由於本省養豬場尚未發現可疑病例，在自然感染豬隻中其血清抗體的產生時間，力價高低及消長，陽性界限應如何訂定均不甚明瞭，本試驗擬探討人工感染豬的凝集反應抗體及補體結合反應抗體之消長，其睪丸病理變化；並對全省各養豬場進行抗體

調查，供為今後診斷本病之參考。

材料與方法

供試豬隻；外購 4 個月齡肉豬 2 頭，公母各 1 頭，係無 *Br. abortus* 及 *Br. Suis* 抗體者。

細菌接種方法：接種菌株使用 *Br. Suis* 生物型第 3 型 # 686 株（分讓自日本農林水產省家畜衛生試驗場），以 *Brucella broth*（*Albimi*）培養 48 小時之菌液，公豬 1 頭接種 $10^{7.0}$ CFU，母猪 1 頭接種 $10^{7.0}$ CFU 菌量，均接種於腿部肌肉。

人工感染豬血清學檢查：試驗豬在接種前及接種後每週採血至 22 週為止，血清分離後均放於 -20℃ 保存。

全省各養豬場之抗體調查：從 1979～1980 年由本省 13 縣市所收集繁殖豬 8,319 頭血清供

為豬布氏桿菌抗體調查之用。

急速(平板)法凝集反應：使用美製Difco Br. Suis 診斷抗原及本所試製之診斷液。

試管法凝集反應用菌液：使用日本農林水產省家畜衛生試驗場製品(Lot No 1)。

補體結合反應用可溶性抗原：依照伊佐山之方法⁽²⁾製備，即Br. Suis 生物型第3型# 686株，接種於含5%馬血清之Brucella Agar，培養48小時後以pH 7.2 PBS集菌，並以80 mesh 金屬網過濾，加石炭酸成爲2%，放置22℃(室溫)30日，然後以7,000 rpm予以離心，取其上清液作Box-titration測其力價後在冰室保存。

平板法凝集反應：依照Difco公司說明書進行，即被檢血清0.02ml($\times 80$)或以上呈現凝集者判定爲初檢陽性。

試管凝集反應：依伊佐山之方法⁽²⁾施行，即被檢血清以 5×2^n 階段稀釋之0.5 ml，加等量之菌液混合後放置37℃ 16~18小時判定成績。

補體結合反應：用kolmer變法，即被檢血清以 5×2^n 階段稀釋之0.25ml 加2單位之抗原，2單位補體(天竺鼠血清)0.5ml，混合後放在4℃冰室1夜，翌日加溶血系0.5 ml 混合後在37℃溫水槽30分鐘反應後判讀成績。

結 果

一、人工感染豬血中抗體消長

第一號試驗豬(♂)，其凝集抗體於接種Br. Suis後第1週開始上升，凝集價爲40倍(100 IU)，至8週後爲40~80倍(100~200 IU)，自9週至第18週則維持160倍(400 IU)。補體結合抗體之上升時期比凝集抗體稍慢，接種後第3週測出力價爲20倍，至第7週開始升高至160倍，且維持至20週(圖1)。

第二號試驗豬(♀)，其接種之菌量少Na 1豬有1 log，其凝集抗體之上升類似Na 1豬，即第1週就上升至160倍(400 IU)，但自第2週就下降爲40倍(100 IU)，然後呈爲低凝集價(20倍~50 IU)至第5週，此後至20週之15週期間均爲80倍(200 IU)。

補體結合抗體之上升遠比Na 1豬爲慢，菌接種後第6日開始上升，抗體價爲20倍，至第7週達最高峯有160倍，以後至20週之抗體價在40~160倍(圖2)。

二、人工感染豬睪丸的病理變化

Na 1試驗豬，接種Br. Suis後，於第7週時開始出現睪丸腫脹(圖3)，觀察至19週時兩個睪丸已呈現大小不一，及至第22週時右睪丸已顯著的萎縮(圖4)，組織病理變化可見甚多壞死細胞及嗜中性球介於細精管中，其中壞死區域現出較嗜酸，有許多破裂之核散佈其間，細精管已被破壞，僅留輪廓，而代以纖維細胞包圍在壞死細胞之外圍，並有許多淋巴球浸潤在間質(圖5)，較正常的區域可見纖維細胞圍繞變性的支持細胞，間質可見淋巴球浸潤。

三、人工感染豬之細菌回收

豬在人工感染22週後撲殺，並從體內各部位臟器分離細菌，結果無法從Na 1及Na 2豬之肺、肝、脾、腎及各部位淋巴節分離到細菌，但從Na 1豬睪丸能純粹分離出細菌，經檢查睪丸之菌量；萎縮睪丸有 $10^{3.0}$ 個/g 細菌，另1個腫脹的睪丸菌量達 $10^{6.0}$ 個/g，Na 2豬生殖器，子宮已懷孕有3週，範圍較大，自子宮內壁數次培養但爲陰性。

四、本省豬屬布氏桿菌病抗體調查

從1979年至1980年，由全省13縣市收集8,319頭血清樣品，經用Difco公司Br. Suis 抗原調查結果，凝集抗體價呈80倍或以上者之陽性豬有674頭(8.1%)，就其中615頭再行試管法凝集反應呈爲20倍(50 IU)者有91頭(14.8)，40倍(100 IU)者有34頭(5.5%)，如表1，但以補體結合反應檢查這些豬(125頭)均爲陰性。

討 論

豬布氏桿菌最正確之診斷方法爲細菌分離，但需生檢或屠宰步驟，所以最實用及最普通之診斷方法便是以血清學方法測定感染豬抗體，但是以血清學方法來作診斷很難訂出其陽性標準，據報告陰性豬場之抗體皆在25倍或50倍以下⁽⁴⁾，而多數豬在感染一段時間後，其凝集抗體力價在100倍或以上，此約等於國際標

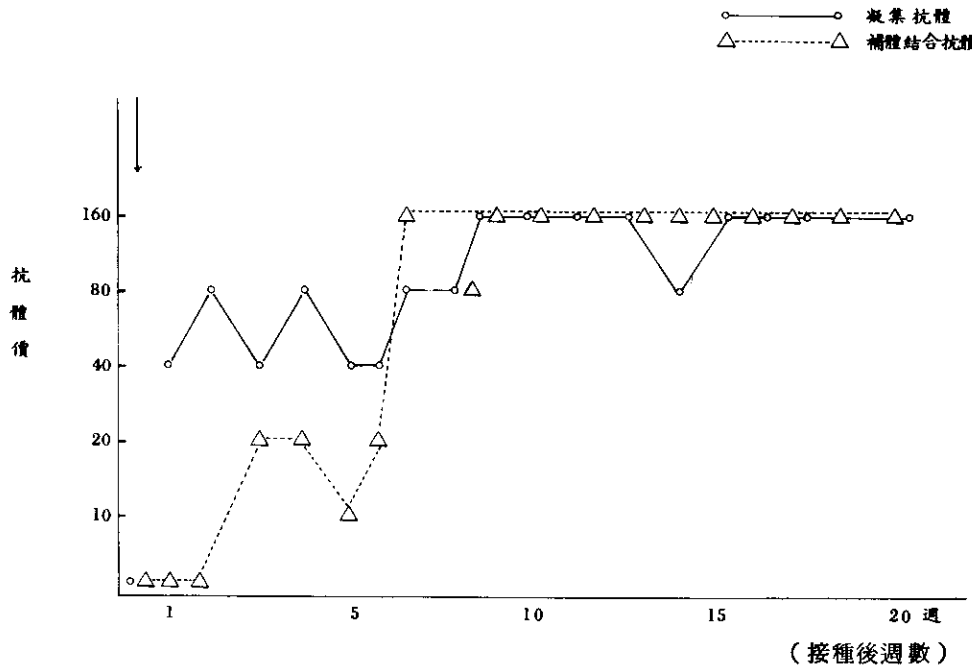


圖 1 人工接種猪No 1 (♂) 之血中抗體消長

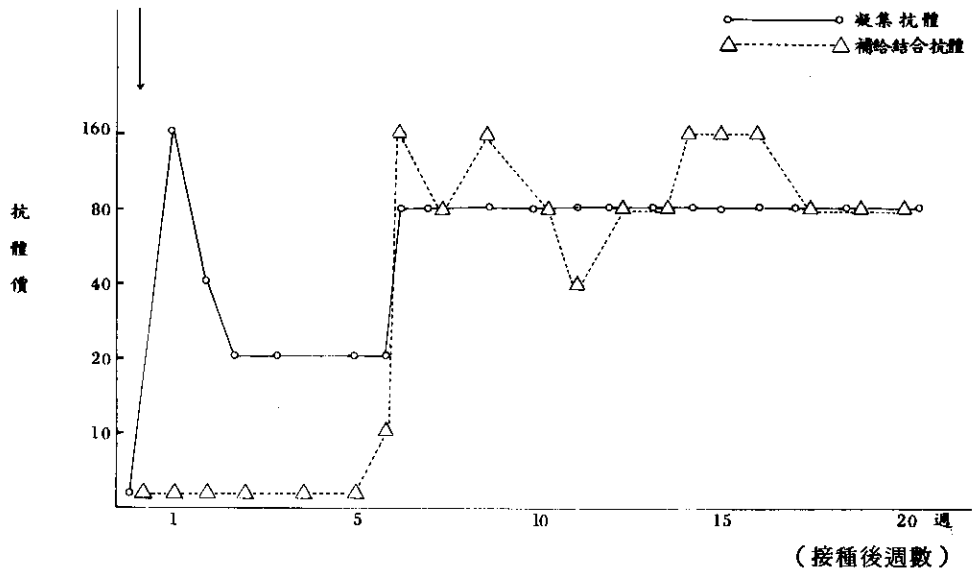


圖 2 人工接種猪No 2 (♀) 之血中抗體消長



圖3 Br. Suis 人工感染豬左睪丸腫脹而右睪丸呈現萎縮（接種後19週）

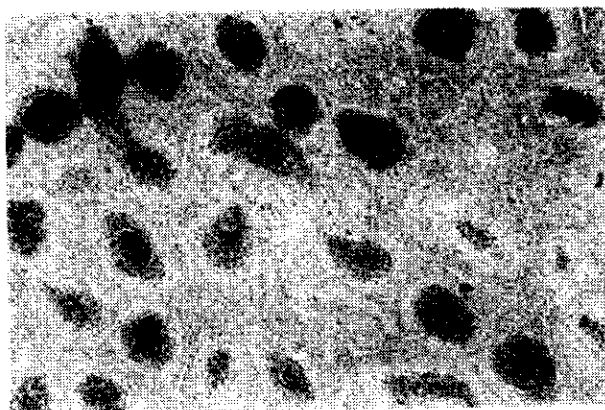


圖5 睪丸組織病變，顏色較濃者為細精管輪廓內的壞死細胞，為纖維細胞包圍，大量淋巴球浸潤於間質（接種後22週H-E染色40倍）

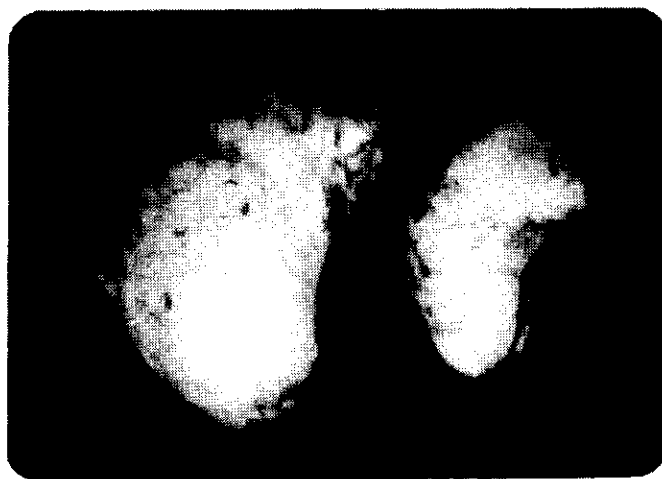


圖4 Br. Suis 人工感染豬之睪丸病變（左睪丸腫大，右睪丸萎縮）

準單位 100 單位⁽⁶⁾，此次調查本省 13 縣市 8, 319 頭豬血清樣品，結果凝集抗體價 80 倍或以上之陽性豬達 674 頭，試管法 40 倍（100 IU）亦有 34 頭，由此似可推測台灣豬隻亦有布氏桿菌症存在，但是進一步施行補體結合反應檢查其中 125 頭結果均為陰性，此或係由於未感

染豬血中之非特異性抗體引起之非特異性凝集而使凝集法有偽陽性反應⁽⁵⁾，另據本次人工接種實驗所見，補體結合抗體之出現亦較凝集素出現為遲，此可能係早期出現之凝集抗體為 IgM⁽⁵⁾。總之，台灣是否有豬布氏桿菌之發生如以血清學來診斷，須以凝集抗體在 100IU 或

表 1 台灣各地猪布氏桿菌病血清學調查

縣 (市)	被檢頭數	陽性頭數* (%)	檢查頭數	20 倍(%) (50 IU)	40 倍(%) (100 IU)
台 北	245	47 (19.2)	30	0	3
宜 蘭	180	11 (0.55)	11	0	0
桃 園	281	20 (7.1)	17	5	0
新 竹	255	11 (4.3)	11	4	3
台 中	681	75 (11.0)	65	12	4
南 投	377	19 (5.0)	19	0	2
彰 化	1,610	129 (8.0)	129	30	11
台 南	1,057	145 (13.7)	145	28	6
高 雄	2,495	167 (6.7)	151	12	4
屏 東	900	12 (1.3)	0	0	0
花 蓮	146	22 (15.1)	27	0	0
(台 中)	62	6 (9.7)	0	0	0
(台 南)	30	10 (35.3)	10	0	1
13	8,319	674 (8.1)	615	91(14.8)	34(5.5)

* 平板凝集反應。

以上，再以補體結合抗體有10倍以上，方可診斷為布氏桿菌症陽性猪。

由本次人工感染猪所見布氏桿菌抗體於接種後第1週開始上升，於第7週達到最高，並持續至22週，此與Deyoe⁽⁹⁾之報告凝集抗體在接種1週後出現之成績完全一致，但其報告力價高峯在接種後2週即達到，其後力價逐漸減低。另一報告指出凝集素通常在感染後第10天即可測出，其最高力價則須至感染後21天以後才開始出現⁽⁹⁾，這些成績之不盡相同，可能與感染途徑、感染劑量及動物感受性之個體差異有很大關係，須待進一步探討。即如2號母猪在接種後凝集抗體力價持續5週皆僅為20倍，在作血清調查時，此種低倍陽性猪必被判定為陰性，故一猪群必需反覆檢查抗體力價均無超過25倍或50倍，而且未出現任何布氏桿菌症之症狀者，才可確認無本病。至於重覆檢查之間隔時間，應以逐月檢查凝集抗體及補體結合抗體之消長尤為重要。

此次人工感染猪從組織病理學及細菌學之

檢查，皆能證明Br. Suis對睪丸之親和性，唯在副睪及局部淋巴結未見有病變，亦未能分離到病原菌，此點與其他報告不同⁽⁹⁾，此可能因個體差異或選擇培養部位及方法亦或許有關。

參考文獻

- 1 伊佐山康郎. 1971. 日本における牛ブルセラ病の血清診斷. 農林省家畜衛生試驗場研究報告 第62號, 64~82。
- 2 劉瑞生. 1977. 台灣猪布氏桿菌病之血清學調查. 中華民國獸醫學會雜誌, 3: 37-40.
- 3 Deyoe, B.L. 1967. Pathogenesis of three strains of *Brucella suis* in swine. *Am. J. Vet. Res.* 28: 951-957.
- 4 Deyoe, B.L. 1968. Histopathologic changes in male swine with experimental brucellosis. *Am. J. Vet. Res.* 29: 1215-1220.
- 5 Deyoe, B.L. 1981. Brucellosis. in "Diseases of Swine." Iowa State 5th

- edition. Chapter 39. P.P. 410-417.
6. FAO/WHO. 1971. Rept. 5th Sess. FAO/WHO Expert Comm. Brucellosis. World Health Organ. Tech. Rept. Ser. 464.
7. Huddleson, I. F. et al. 1933. A study of Brucella infection in Swine and employes of Packing-houses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 83: 16-30.
8. Weeter, H.M. 1923. Infectious abortion in domestic animals. J. Infect Dis. 32: 401-416.

**STUDIES ON BRUCELLA SUIIS IN ARTIFICIALLY
INFECTED PIGS AND SEROLOGICAL INVESTIGATION
ON THE DISEASE IN TAIWAN**

D. F. LIN¹, Y. S. LU¹, Y. L. LEE¹, K. S. TSAI²
G. Z. CHEN³, C. H. WANG¹, and I. S. TSAI⁴

1. *Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health*
2. *Yun-Lin Livestock Disease Control Center*
3. *Taipei Hsien Livestock Disease Control Center*
4. *Department of Forestry and Agriculture, Taiwan Provincial Government.*

Antibody response in *Brucella suis* (Strain #686) inoculated pigs was determined by means of agglutination and complement-fixation tests. The agglutination antibody was firstly detected at one week postinoculation, peaked at 5–9 weeks P.I. (with level of 1:80–1:160) and lasted until 20 weeks P.I. or even longer. The CF antibody can not be detected until 3 weeks P.I. The level reached peak at 7 weeks P.I., and also maintained up to 20 weeks P.I. or longer.

Testis swelling was observed in the inoculated pig 7 week P.I., and markable atrophy noted 19 weeks P.I. The bacteria could be recovered from the testis when the pig necropsied at 22 P.I. During the period 1979–1980, 8319 serum samples were collected from pigs in 13 counties, and subjected to plate agglutination test against *Brucella suis*. Six hundred and seventy-four out of the 8319 samples were positive (1:80) in the plate agglutination test, and 615 out of the 674 were subjected to tube agglutination (TA) and CF tests. Ninety-one (14.8%) of them had the titer 1:30, and 34 (5.5%) of them 1:40 (100 IU) in the TA test, while all of them were negative in CF test.

The data suggested that sera with level of antibody above 1:40 (100 IU) in tube agglutination test and positive (1:5) in CF test may be considered as positive in the disease.