

家兔萎縮性鼻炎抗體之調查與博德氏菌分離之研究

陳清¹ 呂清泉¹ 林旭志¹ 張天桂¹
李進海¹ 楊揚輝¹ 傅祖慧¹ 謝快樂²

由不同地區養兔場購入家兔 214 隻，採血以凝集反應測定萎縮性鼻炎抗體之結果，A 群（地區）109 隻中陽性者（ $\geq 10X$ ）有 48 隻（44.0%），B 群 105 隻中陽性者 31 隻（29.5%）合計陽性者有 79 隻（36.9%）。其陽性抗體之分布情形，以 40x 者為最多有 24 隻（11.2%），20X 者 17 隻（7.9%），80X 者 16 隻（7.5%），10X 者 11 隻（5.1%），而 $\geq 160X$ 者達 11 隻（5.1%）。

以無選擇之家兔鼻腔塗抹樣本 15 件，及臨床上有鼻汁噴嚏或粘液流出而污染外鼻道之鼻腔塗抹樣本 30 件，作博德氏菌 (*Bordetella bronchiseptica*) 之分離及抗體調查之結果，細菌分離陽性者分別為 10/15 (66.6%) 及 29/30 (96.7%)，而抗體陽性者為 6/15 (40.0%) 及 26/30 (86.7%)。並由分離株之培養液，以天竺鼠接種試驗，可見其產生皮膚壞死毒 (Dermonecrotic toxin)。綜合所見得知本病於本省之污染甚為普遍。

博德氏菌 (*Bordetella bronchiseptica*) 除對豬隻引起萎縮性鼻炎為害養豬業外，對於其他動物如犬、貓、家兔、猿、鼠類、天竺鼠、狐、浣熊、火雞、鷄、馬和人亦能引起慢性呼吸道之感染^(5,7,12,19,21)。其中尤對家兔之為害日趨嚴重。近年來由於企業化毛用兔及肉用兔之飼養頗為興盛，因此在大規模與密集飼養之情況下，疾病也就隨之增多。家兔疾病中除外寄生蟲、疥癬及球蟲等常見者外，由細菌所引起者則以所謂鼻漏症 (Snuffles) 及博德氏菌病為害最大^(10,17)。

筆者等從事於微生物之試驗研究，及動物用生物藥品製造工作，屢屢需用大量家兔，而健康材料家兔之選擇，對於試驗研究成果之準確性關係甚大。尤其對於具有感受性而又呈慢

性經過病例病原之試驗研究更為重要。本省對於家兔萎縮性鼻炎之為害情形，抗體分佈狀況及病原分離等之試驗研究頗為缺乏。而鑑於受感染家兔，如不加以淘汰清除與有效之防治，不但影響企業化養兔之進展，同時對於環境也造成污染，本項研究之目的即在瞭解其污染為害之程度，進而研究探求有效防治法，以利養兔業之發展。

材料與方法

試驗材料：

試驗家兔：係自本省中南部地區養兔場購入之外觀健康，供為乾燥兔化猪痘疫苗製造及試驗研究用。計採血調查抗體者 214 隻，A 群

受理日期：民國 72 年 2 月 26 日

1. 台灣省家畜衛生試驗所
2. 國立中興大學獸醫學系

109隻，B群105隻，分別向不同兔商及地區購入。行病原分離與抗體調查相關性試驗用者45隻。

抗體測定用抗原：係使用陳等⁽⁷⁾開發完成且成為正式產品診斷用抗原Lot #3。

對照用博德氏菌株：係1974年陳等⁽⁵⁾在本省某種豬場由萎縮性鼻炎病豬分離所得保存之工相菌菌株。

分離及鑑定用培養基：Bordet-Gengou agar, Tryptic soy broth 及特殊生化檢查用培養基等。

試驗方法：

血清抗體測定法：由供試家兔214隻採得之血液，經分離血清及56°C 30分鐘非動化處理後，先以急速平板凝集法，以被檢血清一滴及抗原一滴混合攪拌均勻，被檢血清於一分鐘內（室溫維持22~25°C）呈明顯凝集現象者為陽性。急速凝集反應試驗陽性者，再以試管法測定其抗體價^(11, 14, 20)，以呈明顯(++)凝集現象之最終血清稀釋倍數為血清抗體價，凡 $\geq 10X$ 者即判為陽性^(13, 16)。

博德氏菌病原之分離：以Bordet-Gengou血液培養基為分離培養基，初步分離所得之菌落，再依陳等⁽⁵⁾鑑定猪萎縮性鼻炎由來博德氏菌生化學特性之方式加以同定。

抗體與病原相關性之測定：由供試家兔45隻採血作血清中抗體之調查，同時採取鼻腔塗抹樣本培養檢查，以探討抗體與病原間之相關性。

結 果

由二群家兔共214隻血清樣本，以急速凝集反應試驗之結果，A群109隻中陽性者有48隻（44.0%），陰性者61隻（56.0%）。B群105隻中陽性者有31隻（29.5%），陰性者有74隻（70.5%）。二群合計之平均值，陽性者79隻（36.9%），陰性者135隻（63.1%），顯示陽性率頗高。如表一所示。

前述214隻被檢家兔血清樣本，經急速凝集反應試驗陽性者，再以試管法測定其抗體價之分佈狀況，所得結果以40X者為最多有24隻，佔全部被檢頭數之11.2%。其次為20X 17隻（7.9%），80X者16隻（7.5%），而 $\geq 160X$ 者及10X者各為11隻（5.1%），在陽性例中以40X為中心，形成常態分佈（Normal distribution）。而屬於陰性者（ $< 10X$ ）有135隻（63.1%），如圖1所示。

另供試家兔二批共45隻所採取的血清樣本及鼻腔棉棒拭擦作塗抹培養檢查，以研討其相關性之結果，由試驗1無選擇家兔15隻中博德氏菌分離陽性者有10隻（66.6%），而抗體陽性者有6隻（40.0%）。在試驗2由臨床上具有鼻黏液或污染外鼻道之家兔30隻之鼻腔樣本之塗抹培養結果，博德氏菌分離陽性者高達29隻（96.7%），而抗體

表1 應用凝集反應檢出家兔萎縮性鼻炎抗體
Table 1: Atrophic Rhinitis Antibodies Detected
by Agglutination Test in Rabbits
(Oct. -Dec. 1982)

群 別 Group	供 試 兔 數 No. of rabbits tested	陽 性 數 No. of positive (%)	陰 性 數 No. of negative (%)
A	109	48 (44.0)	61 (56.0)
B	105	31 (29.5)	74 (70.5)
合 計 Total	214	79 (36.9)	135 (63.1)

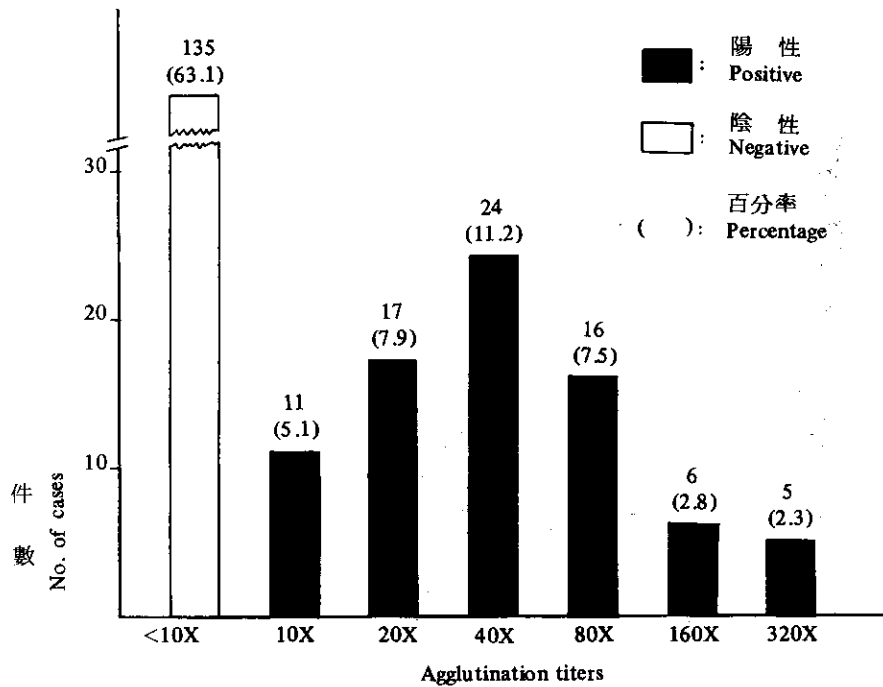


圖 1 家兔血清樣本萎縮性鼻炎抗體之分佈 (214 件)

Fig. 1 Distribution of Antibody titers for Atrophic Rhinitis from 214 Serum Samples in Rabbits.

表二 家兔博德氏菌分離與抗體檢出之相關性

Table 2: Relationship between Isolation of *Bordetella bronchiseptica* and Antibodies Detection in Rabbits.

試驗 Test	分離出博德氏菌 <i>B. bronchiseptica</i> isolated (%)	檢出抗體 Antibodies detected (%)
1	10/15 (66.6)	6/15 (40.0)
*2	29/30 (96.7)	26/30 (86.7)

材料採自家兔臨床上出現鼻分泌物症狀者

* Material collected from rabbits showed clinical symptoms of nasal discharge.

陽性者 26 隻 (86.7%)，如表 2 所示。更由分離菌之培養液接種於天竺鼠皮內之結果，證實會產生皮膚壞死毒，陽性病例剖檢所見，鼻中膈彎曲及鼻甲骨之萎縮至為明顯 (如圖 2 及圖 3)。

討 論

家兔萎縮性鼻炎之為害，隨着企業化飼養

之增加而有增無減，其原因可能由於密集飼養、通風不良及污染家兔之未能檢出與淘汰，且未採有效防治有關。以往對博德氏菌所引起家畜之疾病及防治法之研究，大部均着重於養豬方面。而對於養兔事業之試驗研究則頗為缺乏，其有效防治法更無從着手。有關本病污染情況之調查研究方面，Hippe⁽¹⁶⁾曾報告臨床上健康的家兔對博德氏菌之污染率達 40%，但 *Pasteurella multocida* 僅有 6%，而臨床上有



圖 2 感染兔之萎縮性鼻甲骨
Fig. 2. Atrophic turbinates of infected rabbit.

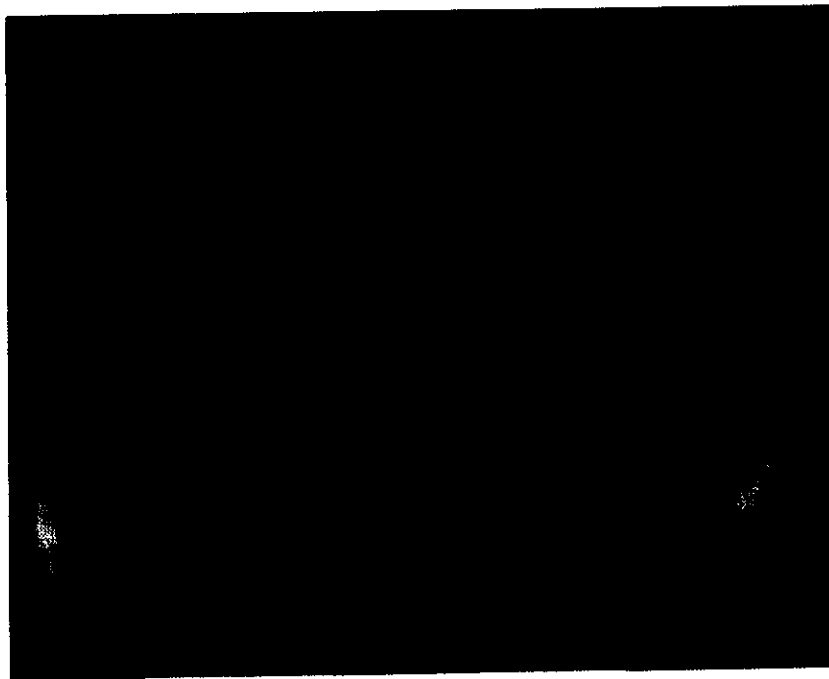


圖 3 正常兔之鼻甲骨
Fig. 3. Normal turbinates of rabbit.

膿性鼻分泌物中則以 *P. multocida* 所佔比率較高達 84%，而博德氏菌則較低，與健康者相似。然而在粘液性及水樣性鼻分泌物病例調查之結果，則博德氏菌之感染高達 54%，*P. multocida* 約僅有 20%。本研究成績與 Hippe 之報告比較，在無選擇鼻腔塗抹病材之試驗成績頗為相似，而在有鼻汁污染外鼻道等臨床症狀病例中，博德氏菌之分離率則較 Hippe 之報告為高。在本試驗表 2 無選擇家兔 15 隻，博德氏菌分離陽性者有 10 隻，而抗體陽性者只有 6 隻，其相關性為抗體陽性者均能檢出博德氏菌之存在，而博德氏菌分離陽性者，未必均能檢出抗體，此或因感染初期，血中尚未產生足夠之抗體所致。而在 30 隻有臨床上鼻汁流出或粘液性鼻漏者，其細菌分離率高達 96.7%，而抗體陽性者亦達 86.7%，此等試驗成績得知，博德氏菌之分離，其陽性率略較抗體檢查陽性者為高。由抗體陽性例家兔之剖檢可見鼻中膈彎曲及鼻甲骨明顯萎縮現象。且由分離株之內莖培養液接種於天竺鼠腹側皮內，證實和對照菌株產生相同之皮膚壞死毒，充分顯示其為害之普遍。

對於控制本病之發生與傳染方面，報告頗為缺乏，惟在養豬方面，由於經濟損失很大，污染情況甚為普遍^(8,18)，因此養豬業方面，使用博德氏菌或混以 *P. multocida* 製成之免疫用菌苗，以預防本病之發生，國內外學者專家會有很多報告。據中瀨⁽¹¹⁾，王等⁽¹⁾，馬等^(2,3,4)，張等⁽⁹⁾，及 Elias and Szent-Ivanyi⁽¹⁵⁾ 報告，以單項不活化菌苗或混合菌苗應用於田間，可降低豬隻之感染程度及經濟上之損失。陳等⁽⁶⁾ 由試製不活化菌苗，超音波處理菌苗及類毒菌苗等，由實驗證明可使 SPF 小豬產生 80 X ~ 640 X 不等之免疫抗體，且可使家兔產生 320 X ~ 2560 X 不等之抗體價。因此在防治方面認為可採用豬隻防疫之模式，使用診斷液加以檢出淘汰罹患家兔，及使用有效菌苗以預防本病之發生與蔓延。在本試驗研究中，對於 *P. multocida* 在本省對於家兔之為害情形，未一併加以探討，是否與博德氏菌共同引起或加劇病程及防疫措施上所扮演之角色如何，尚待繼續研究。

參考文獻

1. 王貞富，張聯欣，馬清獻，李武雄 1974：豬萎縮性鼻炎預防之研究，台糖畜產研究所年報 62/63 年期，263~283。
2. 馬清獻，張聯欣，劉福蔭，李武雄，王貞富 1975：豬萎縮性鼻炎預防之研究 II，母猪及仔豬 AR 不活化菌苗免疫之效果，台糖畜產研究所年報 63/64 年期，241~256。
3. 馬清獻，劉福蔭，李武雄，張聯欣 1976：豬萎縮性鼻炎預防之研究，豬 AR 不活化菌苗預防試驗，台糖畜產研究所年報 64/65 年期，141~153。
4. 馬清獻，張聯欣，劉良心，沈宜中 1977：豬傳染性萎縮性鼻炎預防之研究 IV，育種場豬群免疫預防 AR 之效果，台糖畜產研究所年報 65/66 年期，191~199。
5. 陳 清，李 全，林地發，陳忠松，邱朝齊，陳守仕，林再春 1974：豬萎縮性鼻炎集團發生例及分離病原菌 *Bordetella bronchiseptica* 之生物學性狀，台灣省畜牧獸醫學會會報，24，51~61。
6. 陳 清，謝快樂，呂清泉，林旭志，林再春 1980：豬傳染性萎縮性鼻炎菌苗之研製，台灣省農林廳畜產試驗評議會工作報告書，45~53。（尚未正式發表）。
7. 陳 清，謝快樂，呂清泉，林旭志，林再春 1981：豬萎縮性鼻炎診斷用抗原之研製與應用，中華民國獸醫學會雜誌，7，1~6。
8. 陳 清，謝快樂，呂清泉，賴俊雄，林旭志，張天桂，林再春 1981：台灣省農林廳畜產評議會試驗研究報告，台灣省畜產試驗所編印，570~574。（尚未正式發表）。
9. 張聯欣，馬清獻，陳富宏 1978：豬萎縮性鼻炎預防之研究（續）：V. 各種 AR 菌苗對豬隻之預防效果，台糖畜產研究所研究報告 66/67 年期，193~204。
10. 劉炳燦 1981：家兔飼養學，藝軒圖書出

- 版社印行，128～136.
11. 中瀬安清 1973: ARワクチン(豚ボルデテラ感染症予防液)について, Monthly, The Kitasato Medical News, No. 232, 1～23.
 12. 尾形 學 1979: 豚傳染性萎縮性鼻炎, 獣醫傳染病學, 近代出版, 東京, 368～371.
 13. 尾形 學監修 1979: 豚の萎縮性鼻炎ボルデテラ感染症, 文永堂, 19.
 14. 清水 健 1972: 豚萎縮性鼻炎における凝集反應の診斷的意義, 畜産の研究, 26, 1009～1014.
 15. Éliás, B., and Szent-Iványi, T., 1981: Studies on swine atrophic rhinitis. 1, Investigations into the epizootiology, diagnosis, and specific prevention of the disease, Zentralblatt für Veterinärmedizin., B, 28 (5), 363-370.
 16. Hagan and Bruner's 1982: The genus *Bordetella*. Infectious diseases of domestic animals. 7th edition, 113-115.
 17. Hippe, W., 1982: Zur ätiologischen Bedeutung von Pasteurella und Bordetella für den Ansteckenden Schnupfen des Kaninchens, Tierärztliche Umschau, 37: 284-290.
 18. Martineau, G., A. Broes, and A. Dewaele, 1981: Bordetella infection of swine: Results of a serological survey, annales de Medecine Veterinaire, 125: 293-301, (cited from the veterinary bulletin vol. 52. No. 2)
 19. Roudebush, P., and W.H. Fales., 1981: Antibacterial susceptibility of *Bordetella bronchiseptica* isolates from small companion animal with respiratory disease. Journal of the American Animal Hospital Association 17: 793-797.
 20. Shimizu, T., M. Nakagawa., S. Shibata and K. Suzuki 1971: Atrophic rhinitis produced by intranasal inoculation of *Bordetella bronchiseptica* in hysterectomy produced colostrum-deprived pigs. The Cornell Veterinarian, 61: 696-705.
 21. Switzer, W.P., C.J. Mare and E.D. Hubbard 1966: Incidence of *Bordetella bronchiseptica* in wildlife and man in Iowa. Am. J. Vet. Res. 27, 1134.

STUDIES ON ATROPHIC RHINITIS ANTIBODIES INVESTIGATION AND *BORDETELLA BRONCHISEPTICA* ISOLATION IN RABBITS

Ching Chen¹, C. C. Lu¹, S. T. Lin¹, T. G. Chang¹, J. H. Li¹,
Y. H. Yang¹, T. H. Fuh¹, and H. K. Shieh²

Two hundred and fourteen sera samples from two groups of rabbits were subjected to determination of atrophic rhinitis antibody by agglutination test. Forty-eight (44%) out of 109 from group A were positive (1:10) in AR antibody, while 31 out of 105 from group B were positive (29.5%). The total positive rate was 36.9% (79/214).

The distribution of the antibody levels were 24 samples (11.2%) for 1:40, 17 samples (7.9%) for 1:20, 16 (7.5%) for 1:80, 11 (5.1%) for 1:10, and 11 (5.1%) for 1:160 or higher.

Fifteen random samples and 30 samples from rabbits with clinical signs (sneeze etc.) were collected by use of nasal swabs, and cultured for isolation of *Bordetella bronchiseptica*. Sera were also collected from the same rabbits for AR antibody detection. The bacteria (*B. bronchiseptica*) were isolated from 10 out of the 15 random samples and 29 out of the 30 samples (rabbits with clinical signs), while the antibody positive rate was 40% (6/15) and 86.7% (26/30), respectively. The bacterial isolates did produce dermonecrotic toxin when demonstrated on guinea-pigs.

The results indicated that the rabbit population in Taiwan was highly contaminated with *Bordetella bronchiseptica*, i.e. Atrophic rhinitis.

1: Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

2: Present address: Department of Veterinary Medicine, National Chung-Shing University.