

# 台灣奶牛傳染性繁殖障害之研究

第二報：台灣布氏菌症反應陽性牛菌分離成績報告

劉焜炎 呂榮修 楊喜金 劉義雄

## 一 緒言

牛布氏菌症蔓延世界各國，對經濟上及公衆衛生上之影響浩大。所以各國對本症之防疫甚感憂慮，FAO或WHO之所以對本症爲主題，專門研究對策，建議各國採用施行之宗旨也在此。本省對本症之檢驗爲時已久，即於民國41年開始至民國44年劃分五期，針對本省耕牛着手，共檢查4,377頭中，內呈 $\times 100$ 以上凝集價者爲110頭。當時（1953,4）曾延聘日本北海道大學教授濱田輔一，於屏東潮州鎮調查疫情，及對反應陽性牛亦即凝集價呈 $\times 200$ 者一頭，予以撲殺結果菌分離爲陰性。因此黃文池等報告，由上述之檢驗結果顯示台灣耕牛並無布氏菌症之跡象。自民國45年以後即對奶牛進行檢驗。其陽性率即46年2.3%，47年4.4%，48年4.5%，49年突增至19.9%，其浸潤之速頗令人注意，究其原因，恐係民國46、7年間本省曾自濃厚污染地區之澳洲，引進奶牛所致。施政當局爲明瞭真相，並以分離細菌爲目的，故擇四頭反應陽性牛供試，筆者等由送檢中之一頭，業已分離出細菌，不但證明台灣確有布氏菌症之污染，且首次分離出布氏桿菌，茲將其經過報告於次，以供防疫上之參考，並請各先進賜予指正。

## 二 實驗材料及方法

供試反應陽性牛：味全牧場三隻#0017、#152、#172。大埔種畜場一隻#338。該四頭奶牛自民國49年7月至12月，凝集價均呈 $\times 200$ 以上，補體結合價亦呈 $\times 25$ 以上者。

血清反應：

1. 急速法：抗元使用本所製#30，美製Serial P 328。

2. 試管法：抗元使用日本家畜衛生試驗場製N0.1，術式採用國際法。

3. 補體結合反應：抗元係用Br. abortus Strain 99之2%石炭酸抽出抗元。術式：血清稀釋法，即 $56^{\circ}\text{C}$  30分非動性化之被檢稀釋血清0.5cc，加二單位之補體及抗元各0.5cc後， $37^{\circ}\text{C}$  30分反應感作後，再加含有二單位溶血素之3%綿羊感作血球液1cc，置 $37^{\circ}\text{C}$  30分鐘後判讀成績。

培養臟器：頸凹、咽背、肩前、腋下、膝圍、囊壁、坐骨、乳房、腸骨、腸間、肝門、脾門、肺門、腎門等各淋巴節、乳房、肝、脾、腎、子宮、胎盤、胎兒、卵巢、乳汁、血液等。

使用培地及培養法：肝臟寒天，色素加肝臟寒天、血清、血液寒天、肝片加Broth，葡萄糖高層等。培養法分兩組一組爲好氣性培養法，另組爲蠟燭法。

動物接種法：選300~350gm之強壯豬鼠38隻，接種材料劃分三組，即各牛之淋巴磨碎乳劑爲一組，臟器混合乳劑爲一組，生殖器材料爲一組。觀察期間三個月。

## 三 試驗成績

(1) 供試牛撲殺前之血清反應成績

A、急速凝集反應；如表I。

表 I

號碼	抗元別	本 所 製 抗 元				美 製 抗 元			
	血清實量 cc	0.04	0.02	0.01	0.005	0.04	0.02	0.01	0.005
152		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0017		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
172		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
338		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

由表 I 可知四頭供試牛血清，對本所製，美製抗元均能反應，由其凝集價呈  $\times 100$  以上故初檢皆為陽性。

B、試管法凝集反應；如表 II。

由表 II 知悉，該四頭供試牛，對國際法所做之試管法凝集反應，在  $\times 40$  均能呈 50% (卅) 以上凝集，故為陽性。

表 II (國際法)

號碼	抗 元	日製抗元 (0.5% 石炭酸加生理鹽水 $\times 10$ 稀釋診斷液)									
	最終血清稀釋倍數	$\times 10$	$\times 20$	$\times 40$	$\times 80$	$\times 160$	$\times 320$	$\times 640$	$\times 1,280$	$\times 2,560$	$\times 5,120$
152		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0017		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
172		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
338		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

C、補體結合反應；如表 III

表 III

牛號碼	血清稀釋倍數	$\times 2.5$	$\times 5$	$\times 10$	$\times 25$	$\times 50$	$\times 100$	$\times 250$	$\times 500$	$\times 1,000$
	血清實量	0.2	0.1	0.05	0.02	0.01	0.005	0.002	0.001	0.0005
152		4	4	4	4	4	4	4	0	0
0017		4	4	4	0	0	0	0	0	0
172		4	4	4	1	0	0	0	0	0
338		4	4	4	4	4	0	0	0	0

註：4：完全溶血阻止。

3：25% } 溶血  
2：50% }  
1：75% }  
0：完全溶血

由表 III 成績研判，卅 172，卅 0017 兩頭牛，依台灣現行法判定之規準，血清實量 0.02 c.c 未能完全阻止溶血，應列為疑陽性。而卅 152，卅 338，仍屬陽性。

## (2)供試牛剖檢變狀

#0017: 荷蘭種牛。♀。 50.6.23.撲殺。

肺臟: 前葉雞蛋大柔軟結節一個, 剖面中心部呈水泡, 後縱隔膜淋巴呈中等度腫脹, 約6~7公分。

肝臟: 左葉小兒頭大潰瘍一個, 小指頭大~小雞蛋大膿瘍20多個。

肝門淋巴: 鴨蛋大腫脹。

子宮: 有妊娠胎兒約三公分長。

其他: 無特殊變狀。

#152: 荷蘭種牛。♀。 50.6.23.撲殺。

肺臟: 兩肺米粒大~小指頭大結節散發, 剖面呈淡綠褐色, 中心部乾酪變性, 周圍結締組織增生。

脾臟: 邊緣部呈鴿蛋大硬固結節一個, 剖面呈暗紅色及結締組織增殖。

肝臟: 大豆大~食指頭大結節散發(20~30個)。中心部呈綠色乾酪變性樣, 或中心部呈水泡周圍結締組織增殖。

子宮: 粘膜輕度充血。

#338 荷蘭種牛。♀。 50.6.27.撲殺

#172

此兩頭牛, 剖檢變狀並無著變。

## (3)供試牛菌分離成績

由無菌操作將採取之各種培養材料, 約一公分製成 $\times 5$ 乳劑後, 各分注0.2c.c.於肝臟寒天, 色素加肝臟寒天, 血液及血清寒天。葡萄糖高層即用穿刺培養。子宮體, 子宮角用刀片切開, 取出內容物後直接培養, 牛乳以3,000 R.P.M30' 遠沈後之乳脂部及沈渣部供為培養。其成績如表IV。

表 IV

培養菌所 牛號	頸 淋	耳 淋	咽 下 淋	肩 背 淋	腋 前 淋	膝 下 淋	膝 壁 淋	坐 骨 淋	乳 房 淋	牛 乳 淋	腸 骨 淋	腸 間 淋	肝 門 淋	脾 門 淋	腎 門 淋	肺 門 淋	卵 巢 淋	子 宮 淋	羊 水 淋	胎 兒 淋	血 液 淋	
152	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0017	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
338	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

由上表成績可知四頭供試牛中, 僅從152號子宮純粹分離出細菌, 該菌對上述各種培養基均能發育, 但需用蠟燭法培養, 始能收效。

## (4)動物接種試驗

將以各牛之各部淋巴結混合成一組, 臟器混合為一組, 生殖器材料為一組。分別接種 $\times 5$ 稀釋乳劑0.5c.c.於豬鼠腹腔內, 每組使用四頭, 觀察期間三個月, 152號由細菌室接種二隻外; 餘每隻牛均用12隻。在觀察期間中, 每週均採血檢查有無凝集素之出現, 結果均告陰性。而152號材料所接種之豬鼠, 據說在週內由他因斃死, 故成績除外。

## (5)分離菌之同定試驗。

a)、形態:  $0.6 \sim 1.5 \times 0.5 \sim 0.7 \mu$ 之Gram陰性小桿菌, 有如球桿菌, 固有運動陰性, 分子運動活潑、芽胞、莢膜、鞭毛: 一。

b)、培養所見: 初代分離好氣性培養發育不能, 固形培地菌苔呈灰白色, 小圓形, 多少隆起, 平滑透明, 光澤且濕潤。於 $37^{\circ}\text{C}$ 培養48小時後方能完全發育。陳舊培養者, 集落漸呈微褐色。液體培養所見, 呈微發育, 平等溷濁。

c)、一般生物學的性狀

Indoi: —。MR: —。VP: —。牛乳凝固: —。H<sub>2</sub>S: +。尿素分解: +。糖類分解(Barsiekow 培地): —。

d)、血清反應: 分離菌對本所保有菌株#99之免疫血清。呈特異的強凝集反應, 又分離菌之家兔免疫血清, 對本所製及美製抗原, 均能呈高度之抗原抗體反應。

e)、色素加寒天上之發育: 成績如表V。

表 V

菌種	Basic Fuchsin (武田製)			Thionin (Grubler 製)		
	×10,000	×25,000	×50,000	×10,000	×30,000	×50,000
152分離菌	±	+	卅	±	±	±
Br. abortus No. 99	卅	卅	卅	±	±	±
Br. melitensis	+	卅	卅	+	卅	卅
Br. suis #1.330	±	±	±	+	卅	卅

由本表所見之152號分離菌, 在色素加寒天上之發育與Br. abortus類似。

f)、病原性

妊娠約一個月前後之豬鼠二隻, 接種培養48小時之分離菌菌苔0.2mg後, 經6~7日相繼流產, 由流產胎兒及母獸均能收回接種菌。

#### 四 討 論

據FAO/WHO日本Brucellosis Center (1961), 調查疫情, 於1956年檢查16,066頭牛中, 凝集反應陽性率為7.3%。1957年調查, 12,079頭牛, 陽性率8.0%。1958年, 從9,868頭牛中, 得陽性者7.4%。1959年, 由5,855頭牛中, 得陽性率8.6%。同年在台灣檢驗2,471頭牛中, 陽性者佔494頭, 佔陽性率19.9%, 布氏菌症在台灣超出日本兩倍多。

關於菌分離與血中凝集素價等變化之關係, 據FAO/WHO Brucella Center (1959) 報告; 血中之凝集素價上升期, 菌分離率為61.5%, 持續期為75%, 下降期即9%, 靜止期為0%。又菌分離與血中凝集素價之關係, ×320以上; 59%, ×160以上; 43%, ×80; 45.5%, ×40; 11.4%, ×20; 5.5%, ×10; 16.6%, 從117例菌分離成功者32例, 佔27.3%。

依伊佐山(1960)報告, 感染群中凝集素價×40以上之陽性牛43頭中, 由32隻分離細菌成功, 佔74.4%。但凝集素價, 補體結合價×640, 未能分離細菌, 而由凝集價×10, 補體結合價×5之陰性牛分離出細菌, 此等現象頗為離奇, 對反應上之應用診斷價值, 應值得研討的。伊佐山再從Jersey種牛37頭, 由反應陽性牛中26頭, 檢出細菌者18頭, 佔60.2%。又農家飼育牛33頭, 其凝集價均在20~60倍之間, 補體結合價×10以下, 由其凝集價×40以上陽性27頭中, 菌分離成功者2頭(7%)。依杉村(1958)等報告, 由Jersey種牛菌檢索之結果, 凝集反應與菌分離一致率為95.45%。

筆者等由觀察一年之凝集價×40以上, 補體結合價×10以上陽性牛四頭, 而菌分離成功者一例, 佔25.0%。此種關係與感染經過有關, 如在感染前期至感染極期, 菌分離率為高。至感率後期, 菌漸失活性變死菌, 此期凝集素亦隨之下降, 變靜止狀態, 菌分離率就低微。另因, 如對有伴流產之新感染持續期之牛群, 為檢索對象時成績即異, 分離率即較優。

本試驗例數僅四頭, 尚無法討論細節問題, 唯能證明台灣確有布氏菌症之感染牛群存在, 嗣後希望施政當局, 能顧及民生, 杜絕本病症之猖獗蔓延而已。

## 五 結 論

1. 由供試牛四頭，即凝集素價 $\times 80$ ，補體結合價 $\times 10$ 者二例，凝集素價 $\times 320$ 。補體結合價 $\times 50$ 一例，均未能檢出細菌。而凝集素價1,280倍，補體結合價 $\times 250$ 一例，菌分離成功。
2. 該分離菌局限於子宮，且純粹檢出，經同定試驗證實為*Brucella abortus*菌。  
(註：本試驗報告已於台灣省畜牧獸醫學會50年度年會宣讀)。  
本試驗承蒙農復會，農林廳供應試驗材料及督導，本所黃所長文池之指導，細菌室同仁協助試驗，謹此一併誌謝。

## 參 考 文 獻

1. 劉燃炎、呂榮修、謝竹茂：台灣產家畜對於牛流產菌人工感染反應試驗  
台灣省畜牧獸醫學會研究報告 民國44. P.17
2. 黃文池、李太矜、林薰竹：台灣各種牛隻施行結核菌素及牛流產菌凝集反應檢查結果報告  
台灣畜牧獸醫季刊第4卷第1—2期1153.
3. 伊佐山康郎等：ブルセラ病の血清學的研究1.補體結合反應を中心として  
水耀會記事第8卷10號 昭和34年11月
4. 川島秀雄；牛ブルセラ病特に血清反應を中心として  
家畜繁殖學 最近のあゆみ 昭和32年
5. 村瀬信雄等；ブルセラ病の診斷に關する研究 1.汚染地域の實態について  
日本獸醫師會誌第8卷第2號 昭和30.2.
6. 大橋義光；輸入ジャージー牛のブルセラ病調査  
日本獸醫師會誌第9卷第11號
7. 農林省家衛試中國支場：講習資料 昭和36.
8. 衛生檢查指針(II)細菌。血清學的檢查指針。
9. 畜牧科：乳牛傳染性流產菌症檢驗成績總檢討(第一報)畜牧獸醫工作報告第3卷第1期。
10. FAO/WHO Brucellosis Center; Brucellosis in Japan 1961
11. 伊佐山康郎；ブルセラ病の血清學的研究 日本傳染病學會雜誌第34卷第12號

## A Note on the Isolation of *Brucella abortus* from A Reactor Cow

J.Y. Liu, Y.S. Lu, S.C. Yang, Y.S. Liu

Taiwan Provincial Institute of Animal Health

1. A Strain of *Brucella abortus* was isolated in pure culture from the uterus of a reactor cow boving agglutination titer of  $\times 1,280$  and CF titer of  $\times 250$ .