

2005 年動物布氏桿菌病之診斷及監測

黃春申*、林敬覆、郭靜蕙、蔡芳媚、張惟茗、蕭終融
行政院農委會家畜衛生試驗所

摘要

針對 2005 年台灣地區屠宰場肉用牛 568 例、各縣市防疫單位送檢之山羊 17 例和豬 55 例、本所疾病診斷中心之街犬 300 例、台灣大學和屏東科技大學附設動物醫院送檢之輸入犬 341 例、以及衛生署疾病管制局送檢之疑似本病病人 5 例之血清檢體，以玫瑰苯凝集試驗(Rose bengal test, RBT)進行初步檢測，其陽性及疑陽性者再以補體結合試驗(Complement fixation test, CFT)進行複檢。結果，在犬隻有 11 例 (1.7%)呈陽性反應，其中街犬占 6 例(2.0%)，動物醫院檢疫之輸入犬占 5 例(1.5%)；肉用牛、山羊、豬及人的樣本均呈陰性反應，顯示台灣地區之肉用牛、山羊、豬以及人皆無布氏桿菌病之感染。

關鍵字：布氏桿菌病、玫瑰苯凝集試驗、補體結合試驗

緒言

我國加入 WTO 之後，國際間畜產品自由貿易往來頻繁，可能增加海外傳染病境外移入之機會，而當遭遇新病原入侵時會對國內既有之畜產業造成嚴重之衝擊，加上我國牛群飼養環境大多為密集式飼養，若有新入侵疾病發生時會促使疾病發生率增高。布氏桿菌是由 *Brucella* spp. 所引起，可傳染多種動物，如綿羊、山羊、鹿、豬、狗等。人類在接觸到病畜或污染本菌之畜產品後亦可能感染此病，而呈現感冒症狀如疲倦、肌肉痛、發微熱、夜間盜汗，病程經過很長，且不易治療[12,13]。牛、羊、豬等動物被感染時，會有流產、乳房炎、睪丸炎等[1,3,8]。為了確保人畜安全，因此必須透過持續監控檢測輸入動物，以期在海外新病原入侵時，能在第一時間確診迅速撲滅，確保我國畜產業的國際競爭力。

材料與方法

血清樣本之採集

肉用牛血清樣本來自屠宰肉牛場之定期採樣；山羊及豬血清樣本來自各地防治所送檢之可疑病例；犬隻血清樣本來自台灣大學和屏東科技大學動物醫院

定期送檢之樣本，以及本所所採集之流浪犬血清樣本；人的血清樣本來自衛生署疾病管制局送檢台灣各醫院醫師針對查不出病因且具波狀熱症狀等疑似布氏桿菌病之病患血清樣本。

試驗用抗原

玫瑰苯凝集試驗(Rose bengal test, RBT)所用抗原為市售之玫瑰苯布氏桿菌檢測試劑[7,14,16]，肉用牛、山羊、豬及人的血清檢測為使用英國 VLA 生產之流產布氏桿菌全菌抗原[6,13]，而犬血清檢測是使用美國 SYNBIOTICS 所生產之犬布氏桿菌全菌抗原[10]。

補體結合試驗(Complement fixation test, CFT)在肉用牛、山羊、豬及人的血清檢測所用抗原為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[4,6]。犬血清檢測用抗原為使用犬布氏桿菌標準菌株 ATCC23365 株依照 WHO 手冊方法配製[4]。補體為採集自天竺鼠之混合血清，分裝存於-70°C，使用之力價為可使測定系統產生 50% 溶血之 4 倍強度(即 4 單位)。溶血素為抗綿羊紅血球之免疫球蛋白，所購得之 DIFCO 此類產品，其完全溶血力價約為 2,000 倍，因此採其略高力價，稀

*抽印本索取作者
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

釋 1:1,500 而使用。敏感紅血球為 3%綿羊紅血球與等量之稀釋溶血素混合，放 4°C 感作 1 夜之紅血球。

血清樣品之測定

以 RBT 作為初步篩檢，檢測之時以抗原 0.03 ml 加上血清 0.03 ml 於玻璃板上混合震盪 4 分鐘後觀察凝集情形，任何的可視反應都被認為是陽性反應。判定為陽性者再以 CFT 作為複檢[9,10,11,12]。

CFT 操作為血清先以 60°C 30 分鐘進行非動化，再以緩衝液 Barbitol Buffer Saline 製成 5 倍稀釋液。在 96 孔盤上連續稀釋 5x, 10x, 20x, 40x, 80x, 160x, 320x, 再順序加入市售稀釋之 1x 抗原和 4 單位補體後置於 4°C 隔夜作用。加入敏感紅血球搖晃均勻，之後移至 4°C 冰箱 1 小時後進行判讀。判讀分為 5 個等級：4+=完全不溶血，3+=溶血 25%，2+=溶血 50%，1+=溶血 75%及

0=完全溶血。若完全溶血則判定為陰性。

結果

肉用牛 568 例、山羊 17 例和豬 55 例均為陰性。複檢 5 例人疑似病例，結果亦皆為陰性，2005 布氏桿菌病監測結果與歷年檢驗結果比較詳如表 1。

犬隻布氏桿菌病之檢測 641 例，包括流浪犬血清 300 例、動物醫院輸入犬 341 例，檢驗結果共有 11 例 (1.7%) 為陽性，其中流浪犬占 6 例 (2.0%)，輸入犬占 5 例 (1.5%)。流浪犬皆已撲殺，血清來源回溯不易；輸入犬陽性則 1 隻雌性米格魯 4 歲來自佛羅里達、1 隻雌性吉娃娃 2 歲來自夏威夷、1 隻雌性混種犬 2 歲來自夏威夷、1 隻馬爾濟斯雄性 5 歲來自聖地牙哥、1 隻馬爾濟斯雄性 3 歲來自溫哥華。

表 1. 2002-2005 年布氏桿菌病監測陽性率%(陽性數/總檢驗數)之比較

動物別	肉用牛	山羊	豬	犬	人
年份					
2002	—*1	—	0 (0/512)	—	—
2003	—	—	0 (0/512)	4.9(19/384)*2	0(0/8)
2004	0 (0/744)	0 (0/34)	0(0/10)	1.2(9/740)*3	0(0/5)
2005	0 (0/568)	0 (0/17)	0(0/55)	1.7(11/641)*4	0(0/5)

*1 無檢測樣本。

*2 384 例皆為動物醫院檢疫中之輸入犬。

*3 740 例中有 6 例為流浪犬、734 例為動物醫院檢疫中之輸入犬，9 例陽性皆為輸入犬。

*4 641 例包括 300 例流浪犬(其中有 6 例陽性)，以及 341 例動物醫院檢疫之輸入犬(其中有 5 例陽性)。

討論

以 RBT 及 CFT 在肉用牛隻布氏桿菌病之診斷及監測方面[3]，568 例結果均為陰性。至今數年的肉用牛布氏桿菌病血清檢測均為陰性，今後我們也會持續檢測保持警覺。此外，由於台灣大多數畜牧場皆委託

屠宰場屠宰牛隻，其牧場範圍涵蓋台灣北、中、南部各縣市；因此以屠宰場作為台灣肉用牛隻布氏桿菌病之監測場所，可初步迅速了解台灣布氏桿菌病的發生狀況。有學者在研究 *Yersinia enterocolitica*，研究指出此菌會對牛布氏桿菌血清學檢查有影響，而產生偽

陽性[15]；而在我們檢測中，RBT 因為敏感性高特異性較低所以偶爾會出現偽陽性，因此利用高敏感性高特異性的 CFT 作為複檢，排除偽陽性的可能，至於 *Yersinia enterocolitica* 所造成的偽陽性並未見到。

其他動物布氏桿菌疑似病例之複檢，包含 17 頭山羊、55 頭豬，結果均為陰性。由於流產布氏桿菌 (*Brucella abortus*)、馬爾他布氏桿菌 (*Br. melitensis*) 及豬布氏桿菌 (*Br. suis*) 的抗原共通性，因此山羊、豬以及人的布氏桿菌病檢測方法是與牛的流產布氏桿菌病測試相同[12,13]。乳羊自 1986 年開始大量檢驗，至今 19 年之檢查均為陰性。而豬隻的檢驗 2002-2005 共檢驗 1089 頭，結果也均為陰性。今後我們也將持續監測，尤其要注意外來動物帶入之病原。

複檢 5 例人疑似病例，結果皆為陰性，顯示台灣目前並無人類布氏桿菌病的發生。人疑似病例的複檢結果，除了可提供臨床醫師確診用藥的參考外，由於本病為人畜共通傳染病，因此更可由人是否感染此病來進一步推論是否為動物來源之疫病所導致，以作為防疫上監控的考量。

犬隻布氏桿菌病之檢測 641 例，包括流浪犬血清 300 例、動物醫院檢疫之輸入犬 341 例，結果流浪犬中有 6 例為陽性，輸入犬則有 5 例為陽性。輸入犬陽性者其來源皆為北美，並顯示性別年齡出生地沒有明顯相關。北美目前仍為犬布氏桿菌疫區，所以有零星陽性病例檢出並不意外，或是輸入前曾接種過疫苗導致檢出血清陽性，仍有待釐清。此外，本國法規對於犬布氏桿菌陽性犬隻沒有什麼限制，也沒有強制的管理措施，因此檢驗出陽性之犬隻只能告知動物醫院，由動物醫院跟畜主溝通妥善處理。流浪犬方面有陽性病例，顯示台灣有少部分犬隻有犬布氏桿菌之抗體，依據學者的研究[1,2,3]，台灣確實有犬布氏桿菌之存在，但是至今沒有大規模的調查。犬布氏桿菌除了感染犬之外，還有少數感染人的報告[10]。目前飼養寵物風氣盛行，本病亦必須受重視，應擴大監測範圍深入調查，並加強檢體來源之相關資料收集，以了解國人感染犬布氏桿菌之風險。

參考文獻

1. 王金和、吳福明、蔡義雄、楊喜吟、呂榮修。台灣牛布氏桿菌病及 *Brucella canis* 人工感染犬之病理變化。台灣省畜衛試研報。17:73-76。1981。
2. 吳義興、張惟茗、蕭終融。台灣犬隻布氏桿菌病之檢出。家畜衛試所研報。37:15-18。2001。
3. 蔡義雄。台灣地區乳牛及犬布氏桿菌病的研究。博士論文。1982。
4. Alton GG, Jones LM, Pietz DE. Laboratory techniques in Brucellosis. 2nd ed, Geneva, WHO, 1975.
5. Amin KM, Rahman MB, Rahman MS, Han JC, Chae JS. Prevalence of *Brucella* antibodies in sera of cows in Bangladesh. J Vet Sci, 6(3):223-6, 2005.
6. Blasco JM, Garin-Bastuji B, Marin CM, Gerbier G, Fanlo J, Jimenez de Bagues MP, Cau C. Efficacy of different Rose Bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. Vet Rec, 134, 415-420, 1994.
7. Bowden RA, Verge JM, Grayon M, Cloeckert A. Rapid identification of rough *Brucella* isolates by a latex coagglutination assay with the 25-kilodalton outer membrane protein and rough-lipopolysaccharide specific monoclonal antibodies. Clin and Diagnosis Lab Immuno, 4(5):611-614, 1997.
8. Davis CE, Troy SB. Brucellosis. N Engl J Med, 353(10): 1071-2, 2005.
9. Diaz-Aparicio E, Marin C, Alonso-Urmeneta B, Aragon V, Perez-Ortiz S, Parado M, Blasco JM, Diaz R, Moriyon I. Evaluation of serological tests for diagnosis of *Brucella melitensis* infection of goats. J Clin Microbiol, 32(5):1159-65, 1994.
10. Ebani VV, Cerri D, Fratini F, Bey RF, Andreani E. Serological diagnosis of brucellosis caused by *Brucella canis*. New Microbiol, 26(1): 65-73, 2003.

11. Gall D, Nielsen K. Serological diagnosis of bovine brucellosis: a review of test performance and cost comparison. *Rev Sci Tech*, 23(3):989-1002, 2004.
12. Irmak H, Buzgan T, Evirgen O, Akdeniz H, Demiroz AP, Abdoel TH, Smits HL. Use of the Brucella IgM and IgG flow assay in the serodiagnosis of human brucellosis in an area endemic for brucellosis. *Am J Trop Med Hyg*, 70(6): 688-94, 2004.
13. Lucero NE, Bolpe JE. Buffered plate antigen test as a screening test for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol*, 36(5): 1425-7, 1998.
14. Morgan WJB, Mackinnon DJ, Lawson JR, Cullen GA. The Rose Bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. *Vet Rec*, 85: 636-641, 1969.
15. Munoz PM, Marin CM, Monreal D, Gonzalez D, Garin-Bastuji B, Diaz R, Mainar-Jaime RC, Moriyon I, Blasco JM. Efficacy of several serological test and antigens for diagnosis of bovine brucellosis in presence of false-positive serological results due to *Yersinia enterocolitica* O:9. *Clin Diagn Lab Immunol*, 12(1): 141-151, 2005.
16. Santos JM, Vestreat DR, Parfra VY and Winter AJ. Outer membrane protein from rough strains of four *Brucella* species. *Infect and Immun*, 46: 188-194, 1984.

Diagnosis and survey of animal brucellosis in Taiwan

Huang CS*, Lin KF, Guo JH, Tsai FM, Chang WM, Shiau JR
Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan

Abstract The Rose Bengal (RB) test was used as a preliminary screening tool and complement fixation (CF) test as a final confirmation for brucellosis. Since 2005 January to December, a total of 1,286 samples were collected and submitted to this institute, including 568 from beef cattle, 17 from goats, 55 from pigs, 300 of stray dogs from local Live Stock Disease Control Centers, 341 of quarantine dogs from public animal hospitals and 5 of humans from Center for Disease Control. The results showed that 2% (5/300) of stray dogs and 1.5% (6/341) of quarantine dogs were seropositive. However, beef cattle, goats, pigs and humans were free of brucellosis infection in Taiwan.

Keywords: Brucellosis, Rose Bengal Test, Complement Fixation Test