

## 應用生產醫學技術提升生醫用兔育成率

江俊儀\*、簡佳慶、吳政學、張家禎、葉修如、李淑慧

行政院農業委員會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所

**摘要** 生醫用兔飼養場共飼有 1,200 隻紐西蘭大白兔，包含 250 隻種兔，約 450 隻哺乳兔及 450 隻離乳兔，種兔及哺乳兔飼養於傳統開放式動物舍，離乳兔則飼於密閉式正壓動物舍。本飼養場離乳兔群於 104 年 6 月出現達 40% 之異常死亡高峰，經組織病理學及分子生物學檢查，確診為泰勒氏病(Tyzzer's disease)，飼養場隨即調整管理策略以控制疫情，包含進行罹病離乳兔及糞便 PCR 檢測疑似感染種兔摘除、離乳兔益生菌添加、降低緊迫及免疫抑制因子及汙染區徹底清潔消毒。離乳兔死亡率於 104 年 10 月降至 1.3%，隨後並落實有效的預防措施，包含人員教育訓練計畫，修訂標準作業流程，強化環境管理，至 105 年 4 月平均死亡率已低於 1%，成功應用生產醫學技術提升生醫用兔育成率。

**關鍵字：**生醫用兔、泰勒氏病、生產醫學技術

### 緒言

健康成兔腸道主要菌相組成為細菌，部分論文研究指出曾有發現古菌(Archea)及酵母菌存在，而好氧性黴菌則不存在其中。在出生至2週大之仔兔腸道菌相為絕對厭氧及兼性厭氧菌共存狀態，菌量為  $10^7$ - $10^9$  bact /g；出生2-3週之仔兔腸道兼性厭氧菌含量達到最大，主要組成為鏈球菌(*Streptococcus sp.*)及大腸桿菌，參與纖維(包含纖維素、木聚醣及果膠)分解的菌叢(Fibrolitic flora)在出生15日同時給與母乳及固體飼料之仔兔腸道即開始建立，纖維分解菌叢在仔兔出生25日逐漸緩慢增加至  $10^7$  bact /g，3週齡以上之兔隻腸道兼性厭氧菌消失，取而代之的是絕對厭氧非病原性格蘭氏陰性腸桿菌屬(Bacteroides)，芽孢菌(Sporulating bacteria，如 Clostridium, Endosporus, Acuformis)數量為腸桿菌之 1/10-1/100，乳酸桿菌則尚未被證實存在腸道中[1]。

腸道菌叢在宿主健康扮演重要角色，提供腸道障壁，避免抗原穿過腸道黏膜，並參與消化道免疫功能之建立與成熟。腸道菌叢在消化系統扮演之角色分述

如下：(1)型態及營養：細菌可直接影響腸道型態；如無菌動物盲腸大於一般動物起因於未有細菌可降解黏液，以致盲腸盛裝大量黏液。*Ruminococcus sp.*及 *Bifidobacterium sp.*產生多樣糖苷水解酶 (Glycoside hydrolases)可分解腸道上皮細胞產生的黏液，此外腸道菌叢亦與細胞增殖相關。(2)代謝：主要研究集中在盲腸大腸菌叢的發酵能力，與小腸吸收殘餘物及腸道上皮分泌黏液之代謝相關，盲腸菌叢具分解蛋白及尿素之能力，可代謝產生氨(Ammonia)、胺(Amine)、苯酚(Phenol)及吲哚(Indol)；纖維分解菌叢具有果膠酶(Pectinase)、木聚醣酶(Xylanase)及纖維素酶(Cellulase)參與纖維發酵。此外可降解碳水化合物形成揮發性脂肪酸，比例為醋酸酯(Acetate)：60-80%、丁酸酯(Butyrate)：8-20%及丙酸酯(Propionate)：3-10%。在2週齡仔兔腸道中因纖維分解菌叢始建立數量較少，故揮發性脂肪酸含量較低，此時腸道酸鹼值偏中性，45日齡後隨揮發性脂肪酸含量增加，氨含量減少，pH值下降。腸道微生物亦與維生素合成相關，維生素B可經由食糞行為(Caecotrophy)攝入[1]。Maertens et al. (1990)及Pascual (2001)等

\*抽印本索取作者  
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

學者認為離乳前大量攝入固體食物有利於消化道的成熟及離乳兔生長期中之存活率[2]。當腸道菌叢之失衡及飼養管理不佳可能造成兔隻下痢，常見如下：

一、腸毒血症(Enterotoxemia)：主要好發於4-8週年輕兔隻，病程快速，常可見前一日活動及食慾皆正常，隔日即死亡之案例，甚至未見下痢之臨床表徵。這種急性死亡常是由 *Clostridium spiroforme* 產生致命毒素所引起，在兔隻使用青黴素可能會因腸道菌相之改變而引致此病。典型的肉眼病變為腸道充滿液體及出血，最易出現在盲腸。*Clostridium spiroforme* 可在厭氧環境下用血液培養基分離。可配合腸內容物iota-like toxin (ITX) 鑑定及顯微鏡觀察經離心腸內容物後之染色菌體進行診斷。此菌並非正常兔隻腸道菌叢，而本病之傳播所知甚少，飼料被認為是一關鍵因素，高纖飼料可降低發病率，在低纖維含量的飼料中額外給予乾草或牧草，可有效降低本病發生。使用抗生素僅可短暫緩解症狀，若未自飼料改善，一旦停藥即會復發。

二、黏液性腸病(Mucoid enteropathy)：這種罕見的腸道疾病會發生在任何年齡的兔隻，臨床上呈現慢性腹瀉或便秘。兔隻可存活數日到數週，然而兔隻會喪失食慾，並因腹痛呈蹲坐姿，可能以磨牙表示痛苦。兔隻外觀呈現臃腫，可能蹲坐在飲水頭附近，此病之病因尚不明確，但在剖檢病例中可見75%以上病例可在盲腸及小腸末端發現病灶，伴隨大腸出現膠凍樣黏液；其他的病變為全身性脫水伴隨胃中充滿大量的水。在臨床上靠近罹病之移動兔隻時可聽見類似水濺聲(Splash)或盛裝水瓶(Water bottle)聲響，治療往往無效。脫水兔隻給與電解質補充有時有幫助，給與鹽分補充可緩解本病爆發，鹽分應補充於飼料中，飲水添加或鹽磚給予效果較差。

三、泰勒氏病(Tyzer's disease)：本病之致病原為 *Clostridium piliforme*，在離乳兔常見急性病徵為腹瀉，無精打采，缺乏食慾，脫水及於72小時內死亡。病變包括盲腸壁水腫，出血和壞死，肝臟及心臟點狀壞死。典型病變為壞死區病灶鄰近

區細胞內可觀察到該菌。耐過急性期之倖存動物會影響正常生長速率。泰勒氏病可直接藉由灶染病兔隻糞便汙染的飼料及墊料接觸傳染，緊迫(如：密飼及高溫)是造成本病爆發的重要因子。抗生素對兔隻療效差，最佳的解決方法是加強環境清潔消毒，每日移除籠架內之糞便。因本病為高度傳染性疾病，故最有效清除此病方法為淘汰及重新引進泰勒氏病陰性兔隻。

四、球蟲症(Coccidiosis)：球蟲症在兔隻是一種常見流行病，球蟲侵入腸道或肝臟繁殖，並經由糞便傳播，至少有4種以上的球蟲侵犯腸道，1種侵犯肝臟。並非所有的球蟲都會造成相同的危害，對腸道危害最大的是 *Eimeria magna*，*E. media*，*E. perforans* 和 *E. irresidua*。這幾種球蟲感染會引起下痢、食慾不振、體重減輕甚至死亡，*E. irresidua* 往往造成腸道上皮細胞嚴重破壞脫落而產生偽膜。可由鏡檢糞便或腸道內容物球蟲卵囊(Oocyst)及存在之卵囊數量來診斷本病。控制腸道球蟲必須依賴良好的飼養管理以減少糞便汙染飼料、飲水和底盤，使用網狀底盤配合每日確實刷洗底網可有效減少糞便汙染，此外可配合特殊設計之給飼槽避免糞便汙染，並建議使用自動給水系統。卵囊排出體外後需在溫暖潮濕的環境芽孢化而具感染力，而乾燥的底網和自動飲水系統可避免潮濕進而避免卵囊芽孢化。卵囊可持續存在環境中，很難被市售消毒水殺滅。0.025% sulfaquinoxaline 投予2-3週配合飼養管理可避免疫情爆發，但需注意連續使用抗生素可能造成球蟲產生抗藥性[3]。

生產醫學是結合獸醫學及動物科學專業以建立良好的生產系統，進而以最合理的生產成本達到最佳的產量，牽涉多方專業領域之執行及管理，包含臨床醫學、經濟學、流行病學、食品安全、基因學、人力資源管理、營養學及預防醫學等皆屬之，此外並需注意動物福祉之落實[4]。簡而言之，獸醫師與現場工作人員共同致力於動物生產之最大利益，最終達成健康管理，提供使用者高品質之動物或產品。

本生醫用兔飼養場共飼有1,200隻紐西蘭大白

兔，包含250隻種兔，約450隻哺乳兔及450隻離乳兔，種兔及哺乳兔飼養於傳統開放式動物舍，離乳兔則飼於3間密閉式正壓動物舍。離乳兔平均於5-8週離乳，離乳前與母兔共食高蛋白飼料(粗蛋白18.5%、粗脂肪3.5%、粗纖維10%)，離乳後給予一般兔飼料(粗蛋白16.5%、粗脂肪3.5%、粗纖維14%)，離乳兔群於2015年5月底於其中一動物舍開始出現大量兔隻呈現精神沉鬱、厭食、咖啡色黏液樣至水樣下痢之臨床症狀，並於同年6月迅速擴散至其他兩間動物舍，出現達40%之異常死亡高峰，鏡檢下痢便並未檢出球蟲卵囊，主要死亡兔隻年齡為6-13週，死亡兔隻皆進行解剖檢查，可見死亡兔隻盲腸及結腸呈現水腫及廣泛性漿膜面出血，使用enrofloxacin抗生素治療後，死亡率並未下降，故泰勒氏病首先被懷疑為造成本次死亡高峰之原因，為釐清致病原，收集生醫用清淨兔場之糞便、飼料、牧草、益生菌檢體，並剖檢死亡兔隻進行採樣及分子病理學檢查。

## 材料及方法

### 檢體收集

針對死亡兔隻剖檢採樣計80隻，以10%中性福馬林固定進行組織病理學檢查，此外採集新鮮肝臟、盲腸、迴腸、結腸及心臟進行DNA萃取。另自2015年8月至2016年2月採集飼養場所有種公兔及種母兔之糞便299件，下痢離乳兔的隨機採樣26件，共計325件糞便檢體，進行後續分子生物學檢查。

### 分子生物學

利用聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 分析兔隻下痢病原，組織檢體以QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen)萃取DNA，另糞便檢體以QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit進行萃取，萃取出之DNA以PCR擴增參考Feldman等人於2006年發表之鼠型及兔型*C. piliforme* 特異性引子對進行PCR反應[5]，引子對序列分別為：16SF969 (5' TAC CAT TGA CAG RCT ACG TAA AGT 3' [R = A or G])、16SR1608 (5' TAA CCR TTG TGT TTG TTA TTC AAT TTT 3')，預期產物大小為639bp，

反應條件如下：加熱至95℃，2分鐘，95℃(30秒)、55℃(30秒)、72℃(1分鐘)，共進行37個循環，最後再以72℃反應5分鐘，反應完之PCR產物取10 µL以2%瓊膠進行電泳，以0.5 µg/mL溴化乙錠 (Ethidium bromide)染色後，於紫外燈下檢視結果並照相分析。PCR產物利用QIAquick® PCR Purification Kit (Qiagen)純化後，送至國家衛生研究院以AB3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems)進行定序，定序結果與BLAST®，NCBI資料庫比對。

## 結果

剖檢80隻兔隻中，大多數兔子出現不同程度的腹瀉 (54/80)，最常見的是肛門周圍有深綠色粘性糞便染色。肉眼病變可發現輕度至中度腹膜炎伴纖維素性滲出物和粘連。在肝臟表面及實質可觀察到多發白色壞死病灶，其直徑大小為2毫米 (29/80) (圖1)。盲腸 (圖2)、升結腸，偶爾在迴腸遠端可見水腫性黏膜增厚 (38/80) 和刷狀漿膜下出血 (23/80)；嚴重的病例中，盲腸和結腸內容物僅存壞死粘液性物質，偶爾可見腸系膜淋巴結腫大。在組織切片中肝實質中可見多發凝固性壞死病灶隨機分佈 (圖3)，壞死中心可見大量細胞碎片的積聚及少量炎性細胞浸潤，壞死區邊緣的核濃縮肝細胞中可見聚集成束的絲狀細菌 (圖4)。大多數病例中都可觀察到嚴重的透壁性腸炎和結腸炎，粘膜廣泛壞死，只留下很少的隱窩細胞 (crypt cell)；粘膜下層明顯的水腫，中度淋巴漿細胞和異嗜球浸潤以及嚴重動脈炎；漿膜面可觀察到包含淋巴球和異嗜球聚集的漿膜炎。圓囊 (Sacculus rotundus) 和脾臟表現出輕度至中度的淋巴耗盡；某些病例的脾臟可見髓外造血情形。此外在一個3週齡未離乳仔兔病例發現嚴重的心肌炎，心肌纖維間隙擴張並聚積中等程度的淋巴球並有多發性心肌壞死灶及片斷化。泰勒氏病的確診可使用Warthin-Starry銀染。在肝臟壞死灶周邊細胞內清楚可見絲狀樣細菌*C. piliforme*，這些菌也在病例的盲腸上皮和固有層中被發現 (圖5)。

將病例臟器進行DNA萃取及增幅後，預期大小為639bp之PCR增幅產物從病例兔隻的肝臟 (22/80)

和盲腸 (34/80) 檢體中被檢出(圖6)。具有特徵性肉眼病變-肝臟多發壞死灶的免隻,在盲腸檢體PCR中為100%陽性,在肝臟PCR中為86.2% (25/29) 陽性。將增幅產物定序後,發現與*C. piliforme* 7 MTS 分離株(登錄號:DQ352807.1)一致,比對相符率為99.8% (620/621 bp),該株為Feldman等人於2006自小鼠首先分離的菌株,肝臟和盲腸檢體的擴增產物定序結果顯示兩者為相同的DNA序列。

同樣在下痢離乳免糞便檢體中,以PCR增幅出相同序列之639bp產物,因此再採集該離乳免來源之種原免隻糞便檢體進行PCR檢查,結果顯示在273個檢體中,發現10例疑似陽性病例(為弱陽性或同時含有其他非特異性條帶),13隻未有臨床症狀性糞便檢體呈陽性,取其中3隻淘汰進行剖檢及分子病理學檢查,未於剖檢發現特異性病變,以PCR檢測淘汰免隻之盲腸、迴腸肝臟檢體皆呈陰性。此外,因免隻可藉由食入環境中芽孢而感染本病,故為確認是否為飼料汙染所致,另採檢免隻飼料以PCR檢測,檢測結果呈陰性。

於異常死亡發生後,生醫用清淨兔場進行下列措施:

- (1)異常動物淘汰:淘汰所有下痢免隻,未出現下痢症狀之免隻隔離進行觀察。
- (2)加強清潔消毒:下痢免隻籠架、飼槽、牌卡架及飲水頭於免隻淘汰後立即以1-2%次氯酸鈉刷洗並進行火焰消毒,此外每週3-4次使用1-2%次氯酸鈉進行全動物舍籠架、動物設施消毒。
- (3)緊急隔離管制措施,限制人員及物品進出動線。除獸醫師及離乳免飼養人員,所有人員禁止進入該動物舍,進入動物舍人員需填寫進出紀錄表,並換穿離乳免舍專用工作服及工作鞋,離開動物舍時,需完成沐浴更衣後,填寫紀錄表方得離開。此外,當日進入離乳免舍人員皆不得進入其他動物舍及觸碰其他動物。
- (4)種兔全面採樣檢測:採集所有種兔新鮮糞便檢體以分子生物學進行泰勒氏病原篩檢,汰除檢測呈陽性及疑似陽性之種兔,淘汰免隻進行剖檢及分子病理學檢查。

(5)改採纖維含量較高之飼料及牧草給予:離乳免更換飼料,改為給予纖維含量為19-24%,蛋白含量為16%之飼料,並於每公斤飼料中給予 $5 \times 10^9$  CFU 劑量的啤酒酵母菌添加,並配合牧草給予。

(6)使用微生物飼料添加劑:使用PCR檢測*C. piliforme* 呈陰性之市售*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-4407株(以下稱啤酒酵母菌)微生物飼料添加劑進行飼料投予,劑量為每公斤飼料 $5 \times 10^9$  CFU。

(7)投予滅鼠藥劑:將滅鼠藥劑置放於動物設週圍,並定期更新。

## 討論

*C. piliforme*為環境常在菌,可形成芽孢、具鞭毛、細胞內生之革藍氏陰性厭氧桿菌,可廣泛感染多種宿主,包括大小鼠、天竺鼠、兔、犬、貓、鳥、鹿、馬、牛、非人靈長類等,亦有患HIV-1伴隨多發慢性皮膚病病人感染此菌的報告[6],可引起泰勒氏病(Tyzzers's Disease)。泰勒氏病於1917年第一次被發表,引發免隻水痢、厭食、脫水,是造成3-8週齡離乳免死亡主要原因之一[7]。免隻藉由食入環境中芽孢而感染,可分佈於感染免隻之盲腸、迴腸、結腸之上皮細胞及肝臟細胞、心肌細胞。本病之肉眼病變常見肝臟多發壞死白斑及盲腸漿膜面刷狀出血,可作為初步診斷之依據。確診可將切片進行鍍銀染色或免疫組織化學染色,可於壞死區周圍發現細胞內之細菌團塊,亦可用分子生物學方式進行診斷,此外本菌不易進行細菌分離。在本案例中可見病免之病理學檢查結果與文獻相符。

*C. piliforme*可於60°C存活,加熱至70°C可使之不活化,對酚類、酒精、四級銨鹽消毒劑(如:benzalkonium chloride, BKC)不敏感,甲醛及碘類消毒劑有一定程度之效果,1%過醋酸、烷基環狀烴磺酸鹽或0.3%次氯酸鈉作用5分鐘可使之不活化[8]。在本生醫用清淨兔場,種公兔及種母兔採單獨飼養,離乳免群聚飼養於60 cm x 60 cm x 40 cm之不銹鋼籠架內,免籠髒汙或更換時會先以0.15%次氯酸水(稀釋200倍)或稀釋之次級胺(稀釋300倍)或

Virokon(稀釋100倍)擦拭，飼料盒及動物籠清洗後以火焰消毒再行更換。於本病爆發後籠架及飼育區地板、飼育設施及牆面全面加強清潔消毒，包含下痢兔隻籠架、飼槽、牌卡架及飲水頭於兔隻淘汰後立即以1-2%次氯酸鈉刷洗並進行火焰消毒，此外每週3-4次使用1-2%次氯酸鈉進行全動物舍籠架、動物設施消毒，以避免*C. piliforme*之汙染。

泰勒氏病好發於遭遇緊迫且年輕、營養良好，供給高蛋白飼糧之動物。Fortun-Lamothe等人於2001年指出仔兔與母兔營養需求是對立的，前者需要很高膳食纖維和低澱粉含量，32至40日齡兔隻所需纖維含量為30-40%，而後者需要高能飲食，如此方可增加仔兔存活率及離乳後仔兔之生長曲線[9]。Maertens等人於1990年指出母兔教導仔兔如何進食固體食物，因此離乳期的餵養策略必須滿足仔兔及母兔的營養需求[10]。依目前離乳時程（28日-35日），仔兔與母兔之飼料應獨立。如果無法分別給予母兔及仔兔不同飼料，T. Gidenne等人於2002年提出可降低碳水化合物中澱粉含量，同時保持高纖維比例，並通過增加脂肪含量來提供熱量。另一種方法是提早離乳（26天內即離乳），一離乳即攝入適合仔兔營養需求之飼料[11]。此外在EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)於2012年研究指出在每公斤飼料中給予 $5 \times 10^9$  CFU 劑量的啤酒酵母菌添加可顯著降低離乳兔死亡率[12]。本生醫用清淨兔場兔群自民國94年起即以籠架飼育於非完全密閉動物舍，種公兔及種母兔單獨飼養於長深高為60 cm x 60 cm x 40 cm之不銹鋼籠架，以循環配種方式進行繁殖及種兔更新，當種兔老化、兩次配種成功，但都未受孕的母兔、連續三次離乳率低於50%、出現狼牙（巨齒症）或青

光眼等遺傳性疾病及有疾病徵兆，球蟲或指定監控疾病檢驗結果為陽性情形時則予以淘汰。免隻生產因應動物疫苗檢定及疫苗製造之需求及排程，生產之仔兔應於出生4週後離乳至空籠內，惟因本場動物舍籠架數量受場地限制，離乳時間多半為5-8週，未離乳前皆與母兔同籠，並食用母兔之高蛋白飼糧，爆發泰勒氏病後全面改換纖維含量為19-24%，蛋白含量為16%之飼料，並於每公斤飼料中給予 $5 \times 10^9$  CFU 劑量的啤酒酵母菌添加，並配合牧草給予，以符合離乳仔兔高比例纖維含量飼糧之需求。本場使用之啤酒酵母菌通過歐洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)核可適用於認證安全評估 (Qualified Presumption of Safety, QPS)的菌種，對皮膚無刺激性，不會經由呼吸途徑接觸導致過敏。在1990 - 2000年間，已用脈衝電泳證實該菌株的遺傳穩定性，並在離乳兔進行的實驗證實其效果。該菌目前亦被用於肥育豬，母豬，仔豬，育肥兔，乳牛，育肥羔羊，奶山羊和馬[12]。

本案例種群於2015年12月進行例行抽樣血清學檢查抗體分析(XpressBio, Frederick, MD, USA)時，已未發現抗體呈陽性之種群(0/81)，離乳兔死亡率於2015年10月降至1.3%(如表1)，隨後並落實有效的預防措施，包含人員教育訓練計畫，修訂標準作業流程，強化環境管理，至2016年4月平均死亡率已低於1%，成功應用生產醫學技術提升生醫用兔育成率，未來將加強硬體環境之防鼠滅鼠設施，期以強化防疫屏障。

## 誌謝

感謝分所生物藥品檢定系協助解剖採樣修片及PCR檢測及總所疫學組協助組織切片及染色。

表 1、104(2015)年 5 月至 105(2016)年 4 月生醫用兔飼養場離乳兔死亡淘汰率。兔群死亡高峰於 6 月出現，於 7-8 月進行全面篩檢，同時執行各項措施，9 月完成全部陽性兔隻淘汰及消毒後，死亡率於同年 10 月降至 2% 下。

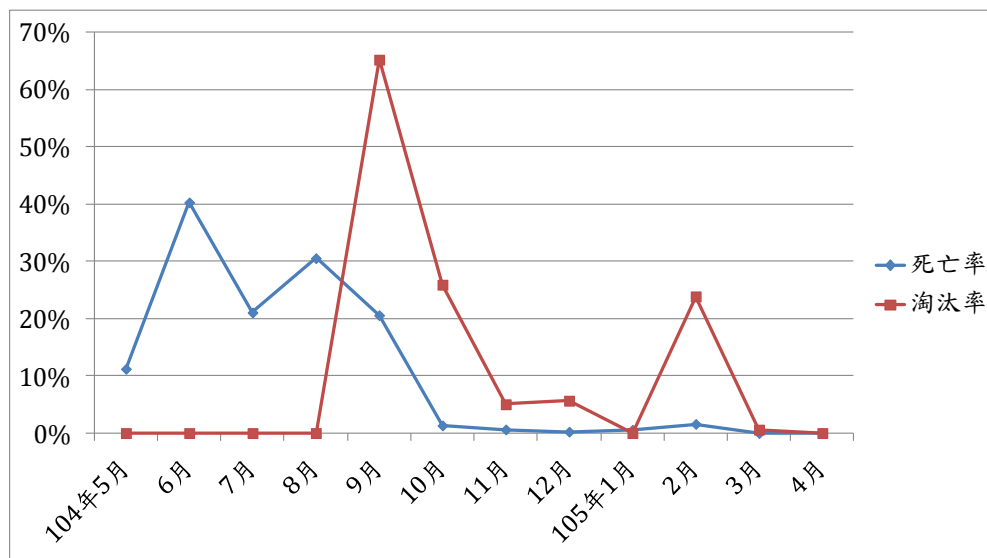


圖 1. 肝臟表面及實質可觀察到多發白色壞死病灶，其直徑大小為 2 毫米。



圖 2. 盲腸可見水腫性黏膜增厚和刷狀漿膜下出血；嚴重的病例中，盲腸和結腸內容物僅存壞死粘液性物質。



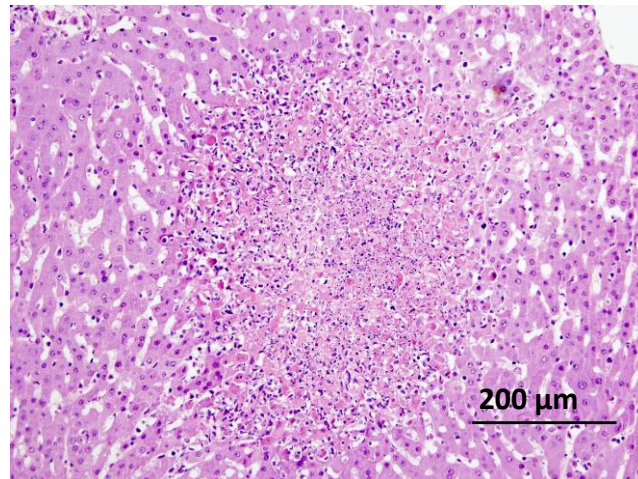


圖 3. 肝臟凝固性壞死病灶，壞死中心可見大量細胞碎片的積聚及少量炎性細胞浸潤。

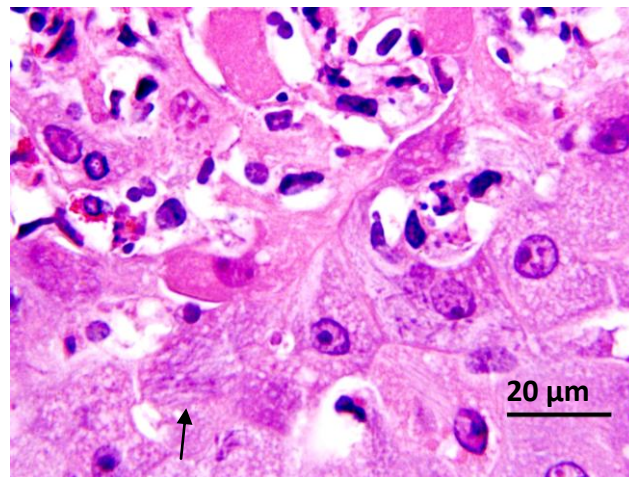


圖 4. 壞死區邊緣的核濃縮肝細胞中可見聚積成束的絲狀細菌(黑色箭頭處)。

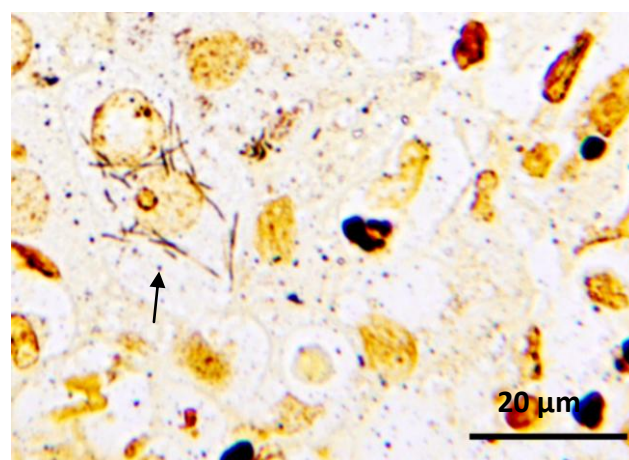


圖 5. Warthin-Starry 銀染。在肝臟壞死灶周邊細胞內清楚可見絲狀細菌 *C. piliforme* (黑色箭頭處)。

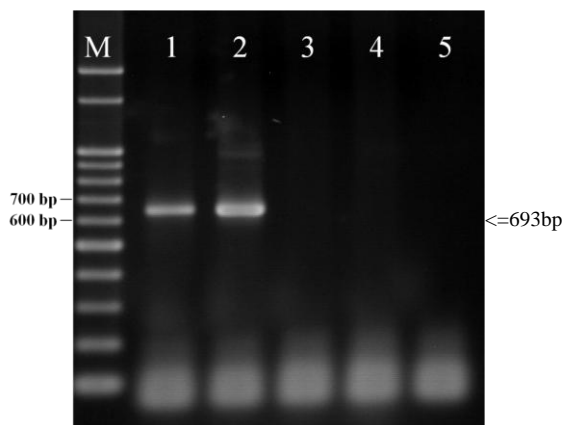


圖 6. 以 *C. piliforme* 特異性引子進行病兔檢體之 PCR 分析(產物預期大小為 639 bp)。  
1：陽性對照；2：病變肝臟；3：陰性對照(健康兔隻盲腸)；4：陰性對照(健康兔隻肝臟)；5：空白對照；M：100 bp 核酸標記。

## 參考文獻

- Fortun-Lamothe L, Boullier S. Interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity, and strategies to improve digestive health in young rabbits. In Proc.: 8th World Rabbit Congress (pp. 7-10), September 2004.
- Maertens L, Groote GD. Feed intake of rabbit kits before weaning and attempts to increase it. Journal of Applied Rabbit Res 13(3-4): 151-158, 1990.
- Patton NM, Gorham JR, Hagen KW, Flatt RE. Domestic rabbits: diseases and parasites, 2008.
- Risco C, Melendez P. (Eds.). Dairy production medicine. John Wiley & Sons, 2011.
- Feldman SH, Kiavand A, Seidelin M, Reiske HR. Ribosomal RNA sequences of *Clostridium piliforme* isolated from rodent and rabbit: re-examining the phylogeny of the Tyzzer's disease agent and development of a diagnostic polymerase chain reaction assay. Am Assoc Lab Anim Sci, 45(5):65-73, 2006.
- Smith KJ, Skelton HG, Hilyard EJ, Hadfield CT, Moeller RS, Tuur S, Angritt P. *Bacillus piliformis* infection (Tyzzer's disease) in a patient infected with HIV-1: Confirmation with 16S ribosomal RNA sequence analysis. Am Acad Dermatol, 34(2): 343-348, 1996.
- Suckow MA, Brammer DW, Rush HG, Chrisp CE. Biology and Diseases of Rabbits. Laboratory Animal Medicine. 2nd edn. San Diego: Academic Press, 2002.
- Ganaway JR. Effect of heat and selected chemical disinfectants upon infectivity of spores of *Bacillus piliformis* (Tyzzer's disease). Lab Anim Sci, 30(2 Pt 1): 192-196, 1980.
- Fortun-Lamothe L, Gidenne T, Chalaye F, Debray L. Feeding strategy around weaning: effects of dietary starch/fibres ratio. Proceedings of the ninth journées recherche cynicoles Paris, 195-198, 2001.
- Maertens L, Groote GD. Feed intake of rabbit kits before weaning and attempts to increase it. J Appl Rabbit Res, 13(3-4): 151-158, 1990.
- Gidenne T, Fortun-Lamothe L. Feeding strategy for young rabbits around weaning: a review of digestive capacity and nutritional needs. Animal science, 75(2): 169-184, 2002.
- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). Scientific opinion on the safety and efficacy of Actisaf Sc47 (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed additive for rabbits for fattening and non food-producing rabbits. EFSA J, 10(1):2531, 2012.



## Application of Medical Production Technologies in Increase of Livability in Biomedical Use of Rabbits

CY Chiang\*, CC Chien, CH Wu, CC Chang, SR Yeh, SH Lee

Animal Health Research Institute, Council of Agriculture

**Abstract** The rabbit husbandry regularly raises 1,200 New Zealand White (NZW) rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), including 250 breeding adults and approximately 450 weanlings as well as 450 newborns. The adults and newborns were kept in a traditional farm house whereas the weanlings were kept in a well-established, isolated, positive-pressured facility. Unusual peak mortality up to 40% in weanlings was observed in June 2015. Then Tyzzer's disease was confirmative diagnosis based on histopathology and molecular biology. To control the disease, specific management measures were carried out immediately as follows: the weanlings showed diarrhea and PCR assay of the feces showed of suspect infected breeding adults were stamped out; moreover, probiotic supplements were fed properly to weanlings, factors that cause stress and immunosuppression were reduced and the contaminated area as well as the cages were cleaned and disinfected discreetly. The death rate of weanlings sharply decreased to 1.3% in October 2015. After the event, effectively preventive measures were implemented by developing effective staff training programs and standard operating procedures; otherwise, taking special care with environment. The mortality of rabbits was only less than 1% per month during the next six months. These results show successful applications of medical production technologies in increase of livability in biomedical use of rabbits.

**Keywords:** *biomedical-use rabbit, tyzzer's disease, medical production technology*

---

\*Corresponding Author  
Animal Health Research Institute