

2006~2008 年送檢牛羊病材分離之細菌性病原

報告人：黃春申 助理研究員（生物研究組）

壹、緒言

2006 年 4 月到 2008 年 5 月間取得牛羊病例 83 例，其中包括肺炎症狀 26 例[31.3%，分離得 16 株病原包括 *Arcanobacterium pyogenes* 7 株(43.7%)、*Streptococcus bovis* II 4 株(25%)、*Pasteurella multocida* 3 株(18.7%)、*Mannheimia haemolytica* 1 株(6.2%)、*Klebsiella pneumonia* 1 株(6.2%)]，下痢症狀 24 例(28.9%，分離得 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* 6 株)，流死產及生殖道病變 22 例(26.5%，分離得 *A. pyogenes* 2 株)，肝臟病變 11 例[13.2%分離得 3 株病原菌包括 *A. pyogenes* 2 株(66.7%)、*Fusobacterium necrophorum* 1 株(33.3%)]，衰弱消瘦症狀 4 例(4.8%)，淋巴結炎 3 例[3.6%，分離得 3 株病原菌包括 *A. pyogenes* 2 株(66.7%)、*Corynebacterium pseudotuberculosis* 1 株(33.3%)]，腎臟病變 3 例(3.6%)、神經症狀 2 例(2.4%)、關節炎 2 例(2.4%)，脾膿瘍 1 例(1.2%，分離得 *C. pseudotuberculosis* 1 株)，腹膜炎 1 例(1.2%，分離得 *A. pyogenes* 1 株)，肌肉化膿灶 1 例(1.2%，分離得 *A. pyogenes* 1 株)。

貳、材料與方法

- 1.材料來源：各地防治所委託送檢之病材。
- 2.細菌分離：一般臟器表面殺菌處理後，以無菌剪刀剪開鉤取內部細菌，若確定為無菌操作取得之病材，可省去殺菌步驟。若自糞材中分離特定細菌則須多加數種抗生素及操作手續，以抑制雜菌生長。
- 3.細菌純化：選取單一菌落純化，以利後續鑑定步驟。
- 4.細菌鑑定：包括使用傳統生化反應鑑定法，市售很多商品化套組可供使用，花費時間1-2天；另有依據細菌對於各種碳源利用能力而分類的鑑定方法；並以PCR增幅16S rDNA區域，與基因資料庫進行比對，可當作輔助鑑定方法。

參、結果與討論

- 2006年4月到2008年5月間取得牛羊病例83例，其中包括肺炎症狀26例(31.3%)、下痢症狀24例(28.9%)、流死產及生殖道病變22例(26.5%)、肝臟病變11例(13.2%)、衰弱消瘦

症狀4例(4.8%)、淋巴結炎3例(3.6%)、腎臟病變3例(3.6%)、神經症狀2例(2.4%)、關節炎2例(2.4%)、脾膿瘍1例(1.2%)、腹膜炎1例(1.2%)、肌肉化膿灶1例(1.2%)。

- 肺炎症狀26例中分離得16株病原菌包括 *Arcanobacterium pyogenes* 7株(43.7%)、*Streptococcus bovis* II 4株(25%)、*Pasteurella multocida* 3株(18.7%)、*Mannheimia haemolytica* 1株(6.2%)、*Klebsiella pneumonia* 1株(6.2%)。
- 下痢症狀24例中分離得 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* 6株。
- 流死產及生殖道病變22例中分離得 *A. pyogenes* 2株。
- 肝病變11例中分離得3株病原菌包括 *A. pyogenes* 2株(66.7%)、*Fusobacterium necrophorum* 1株(33.3%)。
- 其他包括淋巴結炎3例中分離得3株病原菌包括 *A. pyogenes* 2株(66.7%)、*Corynebacterium pseudotuberculosis* 1株(33.3%)。脾膿瘍1例中分離得 *C. pseudotuberculosis* 1株。腹膜炎1例中分離得 *A. pyogenes* 1株。肌肉化膿灶1例中分離得 *A. pyogenes* 1株。
- 2006年到2007年間取得南部某牧場牛羊病例82例，以呼吸道症狀與其周邊淋巴結炎、以及多發性化膿病灶為主，共分離得病原菌41株，包括 *Str. bovis* II 15株(36.6%)、*Burkholderia pseudomallei* 12株(29.3%)、*C. pseudotuberculosis* 7株(17%)、*P. multocida* 4株(9.7%)、*M. haemolytica* 2株(4.9%)、*A. pyogenes* 1株(2.4%)。

病原菌簡介

Arcanobacterium pyogenes

- 舊名 *Corynebacterium pyogenes*, *Actinomyces pyogenes* 等等。
- 革蘭氏陽性短桿菌，細小溶血性菌落，無氧狀態生長比有氧狀態佳，需培養48小時才有足夠菌量做生化試驗。
- 感染途徑主要為傷口感染，可感染多種動物，造成多臟器多發性化膿病變。
- 抗生素治療效果不佳。



Streptococcus bovis II

- D族鏈球菌，革蘭氏陽性球桿或是短桿菌，兼性厭氧，普遍存在反芻動物之呼吸道黏膜表面，為機緣性細菌。
- 可引起人類心內膜炎。

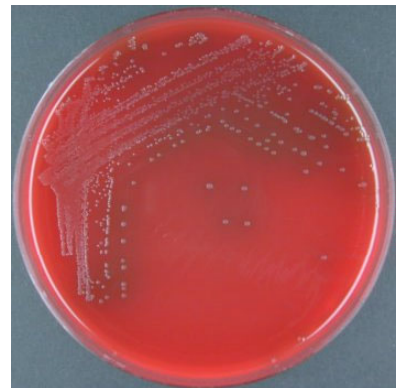
Pasteurella multocida

- 革蘭氏陰性桿菌，兩極濃染為特徵，氧化 陽性，巴斯德桿菌在生化反應測試上幾乎不利用醣類。
- 培養基上生長成白灰色菌落。
- 呼吸道常在菌，為重要之肺炎病原菌。
- 感染禽類及各種哺乳動物，在哺乳動物的症狀特徵是爆發性出血性敗血症。



Mannheimia haemolytica

- 舊稱 *Pasteurella haemolytica*，革蘭氏陰性桿菌，特性與巴斯德桿菌類似。
- 培養基上生長成白色溶血性菌落。
- 在寒冷或運輸等緊迫因子下產生致害，主要症狀為纖維素性肺炎，為重要之反芻動物肺炎病原菌。



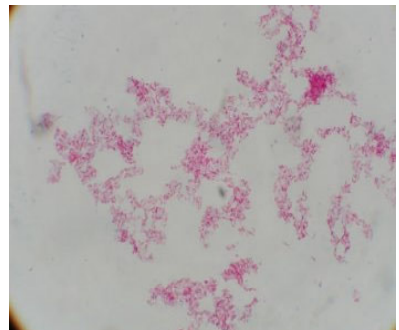
Klebsiella pneumonia

- 屬腸內菌科，革蘭氏陰性桿菌。
- 培養基上生長成黏性透明菌落。
- 機緣性細菌，會造成動物之肺炎，在人則是院內感染及傷口感染常見之細菌。



Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis

- 分支桿菌屬，現分類於鳥型分支桿菌內，可引起 Johne's disease。
- 使用添加 Mycobactin J 之蛋黃培養基分離，生長需 2 個月或更久。
- 感染途徑為由口食入，引起慢性消耗性肉芽腫性腸炎，有冰山效應。
- 可能與人類之 Crohn's disease 相關。



Fusobacterium necrophorum

- 絕對厭氧菌，革蘭氏陰性長絲狀菌。
- 會造成牛羊的喉炎氣管炎(仔牛白喉)、腐蹄及壞死性肝炎，感染部位膿腫惡臭。
- 也可能感染其他哺乳動物，常為二次性感染。



Corynebacterium pseudotuberculosis

- 革蘭氏陽性桿菌，觸媒反應陽性，乾燥菌落型態，需48小時培養。
- 羊隻由皮膚傷口、剪毛等傷口感染，引起局部乾酪性淋巴腺炎、膿血症或全身性多發性膿疱。

討論

1. 無法從樣本分離到病原菌之最大原因為雜菌汙染(尤其是變形菌汙染)，當污染嚴重時，便無法分離到正確之病原菌，汙染原因包括保存運送錯誤造成樣本腐壞、各臟器混雜保存、採樣時候污染等。
2. 其他影響分離因素包括採集之樣本品過小、樣本未採取到病灶處及分離時候操作錯誤等等。
3. 此外，養殖戶私用各種抗生素治療也對病原菌之分離有很大之影響。
4. 目前鑑定之方法仍以傳統之生化反應為主，可是市售套組常常無法正確鑑定出菌別，因此常會配合碳源利用法及16S序列比對之方式輔助鑑定。
5. 所有送檢病例中(不包含恆春試驗所)前三名症狀為肺炎症狀26例(31.3%)、下痢症狀24例(28.9%)、流死產及生殖道病變22例(26.5%)。
6. 所有細菌分離結果中以造成化膿病灶之*A. pyogenes*比例最高(15/33, 45.5%)，原因可能包括引起之病灶明顯，所以採樣及細菌分離時目標明確；並且此菌可長於厭氧環境及耐抗生素特性，當樣本污染及私用抗生素下，仍可利用厭氧將之分離出來。
7. 據其他國家報告，反芻動物肺炎前3名應為*M. haemolytica*、*P. multocida*、*Histophilus somni*。
8. 反芻動物下痢依分離結果，以副結核分支桿菌最主，依照此菌特性，必然養殖場中有很大比例之次臨床期動物未被發現。
9. 可能引起流產之細菌性病原包括布氏桿菌、彎曲菌等，本次結果中皆未分離到。
10. 南部某牧場牛羊的分離結果，除去常在菌*Str. bovis* II 後，前3名為*B. pseudomallei*、*C. pseudotuberculosis*、*P. multocida*，可提供正確細菌性病原之參考資料。