

牛乳房炎乳汁中病原細菌分離鑑定及其在 周圍環境之分佈

吳義興 陳素貞 蕭終融 張惟茗

台灣省家畜衛生試驗所

檢查CMT (California mastitis test)陽性乳汁中之細菌及其環境之細菌，發現乳汁中之細菌主要仍以 *Streptococcus agalactiae* (49.44%) 為最多，其次是 *Staphylococcus spp.* (33.9%)，但是衛生管理較差之牧場則反而以 *Staphylococcus spp.* 較多 (40%)，並且含較多之大腸桿菌及 *Klebsiella*。在環境中 *Streptococcus spp.* 及 *Staphylococcus spp.* 主要見於擠乳機之乳頭套、乳管及集乳桶中。至於牛體、地板、飼料槽及水槽則以 *E. coli* 為主 (38.44%) 其次為 *Klebsiella spp.* (27.5%)，亦有少量之 *Staphylococcus spp.* 之分佈。

關鍵字 牛，乳房炎

乳房炎是乳牛最普遍而重要之疾病，造成乳房炎之原因很多，但最普遍者被認為是由於病原細菌經乳頭管口侵入乳腺內部，在局部增殖感染，刺激乳腺組織引起炎症。病原菌感染乳頭為乳房炎最主要的因素之一。因此對於乳房炎欲擬定有效之防治對策之前必須了解其感染之細菌流行趨勢及其感染源。

對引起乳房炎之細菌控制，近年來使用乳頭藥浴、浸泡及乾乳期治療之方法，已使常見之鏈球菌及葡萄球菌之感染減小，但此法却無法防止環境中其他細菌之感染，因此所謂之環境乳房炎 (Environmental Mastitis) 已逐漸引起乳業之重視^[1,2]。在本省對於環境對乳房炎之影響，曾有王等^[3]之報告，其檢查之範圍極廣，包括牛體各部，與牛乳房、乳汁接觸之器具及設備，但僅作葡萄球菌方面之檢查，對其他細菌則未作追查，此外，擠乳機設備及管理之良劣，對於細菌之分佈是否會有顯著之影響，亦未作進一步之瞭解。

本試驗把擠乳機設備之良劣分成 2 類，再由其 CMT 陽性乳汁中分離細菌，並鑑定其分佈情形，並把周圍之環境亦作細菌之分離鑑定

，相互比較，以了解病原細菌污染之情形及來源。

試驗材料與方法

牧場之分類依擠乳設備、牛體及地板之清洗情形而分為 A 及 B 兩組。A 組有獨立擠乳室設備，平時訪問時牛體及地板均清洗乾淨者為對象。B 組則以使用舊式小型擠乳機，牛體尤其臀部黏有乾糞，地板亦較濕而不潔者為對象樣品之採集：

由 CMT 陽性之乳房採集，採時乳頭先以酒精棉擦拭，再擠去一些乳管中之乳汁後，以滅菌容器採取乳汁。周圍環境則以滅菌棉棒沾滅菌生理鹽水後，在乳頭套、乳管及集乳桶等擠乳機設備及牛體臀部、地板、飼料槽及水槽等設備上沾抹取材。

收回之乳汁略離心，以其管下層之乳汁塗抹血液瓊脂培養基，其他之棉棒抹物則亦塗抹培養血液瓊脂培養基，於 37°C 經 24 小時後，擇取孤立之菌落再培養於血液瓊脂培養基，每次取約 30 株，乳汁採取及分離，以 6 個重複採取樣品，綜合總菌數，其他物品則以採集 4 次之分離總數，使其均達 120 株相同數。

分離菌株之鑑定：

分離菌先作革蘭氏染色，革蘭陽性球菌而呈Catalase陰性之鏈球菌，則除作CAMP (Christie, Atkins and Munch-Peterson) Test外，並培養於 TKT (Thallium sulfate-crystalviolet) Agar 依函城之簡易分類法⁽⁴⁾，若前者陽性而 TKT agar Esculin分解陰性則列入無乳鏈球菌，否則均列為其他之鏈球菌。葡萄球菌除染色觀察外並作 catalase 測定為陽性者均列入。革蘭陰性桿菌則培養於 Mac Conkey agar，以決定是否 Escherichia coli 及 Klebsiella Pseudomonas 則依其產色及運動性初步鑑定再轉培養於 TSI (Triple sugar Iron) agar 而確定。其他革蘭陰性桿菌則歸一類，不再進一步測定。yeast 及黴菌則依其他孢子及菌絲而確定之。

試驗結果

1. 山 A 類管理較良好，並設有專用榨乳室，新型榨乳機之牧場分離乳液及其周圍物品之細菌，結果如表 1。

CMT 陽性乳汁中之細菌以鏈球菌最多佔 61.1% (110 / 180) 而此中 80.9% (89 / 110) 為無乳鏈球菌。其次為葡萄球菌佔 33.9% (61 / 180)。葡萄球菌之分佈極廣。幾乎所有分離之物品設備均有存在，但鏈球菌尤其是無乳鏈球菌則僅見於與乳汁有直接接觸之榨乳設備。

2. 山 B 類衛生管理較差，仍使用舊式小型榨乳機之牧場，取其 CMT 陽性乳汁及其周圍物品分離細菌之結果如表 2。CMT 陽性乳中之主要細菌仍然是。

表 1. A 類牧場乳液及其周圍環境之細菌分佈

菌類	乳液	乳頭套	乳管	集乳桶	牛體	地板	飼槽	水槽
Streptococcus agalactiae	89 (49.44)	32 (26.67)	14 (11.67)	38 (31.67)	0	0	0	0
Streptococcus Spp.	21 (11.67)	14 (11.67)	17 (14.17)	15 (12.50)	14 (11.67)	4 (3.33)	4 (3.33)	0
Staphylococcus Spp.	61 (33.89)	45 (37.50)	44 (36.67)	42 (35.00)	34 (28.33)	15 (12.50)	13 (10.83)	5 (4.17)
E. Coli	6 (3.33)	19 (15.83)	28 (23.33)	16 (13.33)	44 (36.67)	45 (37.50)	46 (38.33)	46 (38.33)
Klebsiella Spp.	3 (1.67)	6 (5.00)	14 (11.67)	4 (3.33)	16 (13.33)	31 (25.83)	45 (37.50)	36 (30.00)
Pseudomonas Spp.	0	0	1	4 (0.83)	5 (3.33)	15 (4.17)	2 (12.50)	15 (1.67)
Gram negative Bacillus	0	4 (3.33)	2 (1.67)	1 (0.83)	5 (4.17)	5 (4.17)	4 (3.33)	14 (11.67)
Yeast or fungus	0	0	0	0	2 (1.67)	5 (4.17)	6 (5.00)	4 (3.33)
合計	180	120	120	120	120	120	120	120

表 2. B 類牧場乳液及其週圍環境之細菌分佈

菌種	乳液	乳頭套	乳管	集乳桶	牛體	地板	飼槽	水槽
Streptococcus agalactiae	69 (38.33)	17 (14.17)	14 (11.67)	32 (26.67)	0	0	0	0
Streptococcus Spp.	16 (8.89)	15 (12.50)	15 (12.50)	16 (13.33)	15 (12.50)	1 (0.83)	2 (1.67)	0
Staphylococcus Spp.	72 (40.00)	46 (38.33)	39 (32.50)	33 (27.50)	18 (15.00)	14 (11.67)	11 (9.17)	2 (1.67)
E. Coli	8 (4.44)	14 (11.67)	30 (25.00)	20 (16.67)	45 (37.50)	47 (39.17)	45 (37.50)	51 (42.50)
Klebsiella Spp.	6 (3.33)	13 (10.83)	15 (12.50)	14 (11.67)	27 (22.50)	32 (26.67)	47 (39.17)	30 (25.00)
Pseudomonas Spp.	4 (2.22)	7 (5.83)	0	0	5 (4.17)	9 (7.50)	4 (3.33)	14 (11.67)
Gram negative	5	6	4	4	7	10	6	19
Bacillus	(2.78)	(5.00)	(3.33)	(3.33)	(5.83)	(8.33)	(5.00)	(15.83)
Yeast or Fungus	0	2	3	1	3	7	5	4
合計	180	120	120	120	120	120	120	120

鏈球菌 47.2 % (85 / 180)，其次為葡萄球菌佔 40.0 % (72 / 180)，後者所佔之比例甚至比無乳鏈球菌所佔之比例 (38.3 %) 還略高。在乳汁中桿菌之數目已快達 12.8 % (23 / 180) 並且除大腸桿菌及 Klebsiella 外，還見到 pseudomonas 等其他革蘭氏陰性桿菌。無乳鏈球菌亦如 A 類牧場僅分佈於乳汁接觸之榨乳器設備。其他如牛體、飼槽、地板及水槽，主要仍以 E. Coli 及 Klebsiella 為主。但在 B 類牧場榨乳設備中之微生物顯然較 A 類牧場為多。

討 論

邱等⁽²⁾ 在 1972 年間曾對本省乳房炎細菌作詳盡之分析調查，據報告本省引起乳房炎之細菌以鏈球菌為主 (70.5 %)，並且潛在性乳房炎較臨床乳房炎為多。但據 Rendel⁽⁹⁾ 及 Seric 等⁽¹⁰⁾ 之報告，瑞典、希臘等歐洲乳業發達國家均以葡萄球菌引起乳房炎為多。邱等⁽²⁾ 認為引起乳房炎之細菌會因各時各地而有

差異，其分佈亦隨著環境設備及衛生管理上之差異而改變，此點由本次之試驗亦得證明，在管理良好而有專用榨乳室之牧場，其無乳鏈球菌之比例，較之 B 類使用舊式榨乳機之牧場為高。而後者則有較高之鏈球菌及革蘭氏陰性之各種細菌。

由本次之細菌分離調查結果看，引起乳房炎之主要細菌仍然為鏈球菌及葡萄球菌，但其所佔之比例已在逐漸之改變中，一般鏈球菌所佔之比例較 1972 年邱等⁽²⁾ 之調查比例有顯著下降，而葡萄球菌之分佈比例反而上升。由環境器具之細菌分離看，鏈球菌主要仍存在於與乳汁接觸之器具，如乳頭套、乳管及集乳桶上。葡萄球菌雖然以乳頭套、乳管及集乳桶等榨乳設備及牛體上較多，但全部環境器具均有其存在分佈，其間最值得注意的是牛體上之分佈，也許由於在牧場牛隻清潔均以水沖洗牛體，故牛體上之葡萄球菌可能順水流到榨乳機設備，甚至沾污乳頭而感染乳房，此也許是乳液中葡萄球菌百分率急劇增加的原因之一。

在本次之調查中產現牛乳中 Coliform 細菌所佔之比例較之邱等^(2,3)之調查，已有顯著之增加，邱等之報告均只佔 1 - 2%，但本次調查則在 5 - 13% 間，並且 B 類管理較差之牧場其 Coliform 之比例較 A 類管理較佳之牧場為高，此種原因據 Braman 等^(5,6)稱，若氣溫潮濕或牧場清理不佳而有潮濕之糞污，則 Coliform 菌增加很快，由每公克之牛舍墊物含 10 個菌，在 1 - 2 天後增到 10⁴，1 週後到達 10⁷。故牧場清理乾淨後設法保持乾燥亦極重要。另據筆者觀察，蠅類亦可能為 Coliform 菌在乳汁中增加之原因，因管理較差及無獨立榨乳室之牧場，一般蠅類之數量亦較多，蠅類攜帶環境中污物之細菌污染乳頭、水源及器具而引起 Coliform 菌之乳房炎。蠅類之滋生除氣溫、牧場清潔及乾燥外，污物及污水之處理方式亦影響頗大，此常為一般業者所疏忽，因此所謂環境乳房炎在本省牛隻亦感重要，值得加以注意。

參考文獻

- 王爛辰、蔡義雄、陳錫川、蘇建榮、沈明成。1979。台南縣乳牛乳房炎葡萄球菌之研究個體及其週圍環境葡萄球菌之分佈。中華民國獸醫學會雜誌。5：153 - 158。
- 邱朝齊、林光榮、黎南榮、黃士則。1972。台灣省乳牛乳房炎主要病原菌之頻度分佈研究。家畜衛生試驗所報告。9：73 - 78。
- 邱朝齊、林光榮、楊華章、謝木生。1971。本省北部地區乳房炎調查報告。家畜衛生試驗所報告。8：51-55。
- 函城悅司。1986。臨床家が行う細菌検査之要點。獸醫畜產新報。No 780：424 - 428。
- Anderson K.L., A.R. Smith B.K., Gustafsson, S.L. Spahr and H.L. Whitmore. 1982. Diagnosis and Treatment of Acute Mastitis in a Large Dairy Herd. JAVMA 181:690-693.
- Braman S.K., R.J. Bberhart, M.A. Asbury and G.J. Hermann. 1973. Capsular Types of Klebsiella Pneumonia Associated With Bovine Mastitis. JAVMA 162:109-111.
- Bramley A.J. and F.K. Neave 1975. Studies on the Control of Coliform Mastitis in Dairy Cows. British Vet. J. 131:160 - 169.
- Oz H.H., R.J. Farnsworth and V.L. Larson. 1985. Environmental Mastitis. Vet. Bulletin. 55:829-840.
- Rendel J. and T. Sundberg. 1962. Faotor Influencing the Type and Incidence of Mastitis in Swedish Dairy Cattle. Acta. Vet. Scand. 3:13-32.
- Seric K. 1964. Bovine Mastitis in Sarajevo. Vet. Sarajevo 13:253-258.

**Isolation and Identification of mastitis pathogens and
their distributions in environments**

Yi Shing Wu, S.C. Chen, J.R. Shiau, W.M. Chang

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

SUMMARY

Samples collected from both CMT-positive milk and the environments were used for bacterial isolation. The major pathogens in milk were streptococcus agalactiae (49.4%) and Staphylococcus spp (33.9%). On the other hand, the distribution of the latter was mainly (40.0%) in farms in which the poor sanitation was maintained and the old milking machine was used. The major distributions of Streptococcus spp and staphylococcus spp in environments were found in teat caps, milk sucker tube and milk Pool tank. The major bacteria on cow's body surface farm floor, feed trough and water trough were Escherichia coli (38.4%), Klebsiella spp (27.5%) and a few Staphylococci.

Key word: Bovine, Mastitis