

反芻動物分枝桿菌屬(Mycobacterium) 細菌感染之調查

蕭終融 張惟茗 李淑慧 楊揚輝 陳素貞

台灣省家畜衛生試驗所

調查 78 年度本省乳牛、乳羊及鹿感染分枝桿菌屬細菌之情形如下：224 頭結核菌素反應陽性乳牛中 100 頭具肉眼病灶，由其中分離出 97 株牛型結核菌，2 株鳥型結核菌及 3 株 Runyon IV 菌。18 頭反應陽性乳羊中 9 頭具肉眼病灶，由其中分離出 5 株牛型結核菌及 4 株鳥型結核菌。18 頭反應陽性鹿中，11 頭具肉眼病灶，由其中分離出 9 株牛型結核菌及 2 株鳥型結核菌。

今年度反應陽性牛之病灶出現率為 44.64 % 較去年度之 64 % 降低很多，撲殺政策嚴格執行，有助於阻止乳牛結核病之蔓延，乳羊病灶出現率為 50 %，鹿則為 61.11 % 均偏高，顯示結核病在乳羊及鹿之污染情形不容忽視。

緒 言

本省所畜養之反芻動物包括乳牛、乳羊及鹿等。分枝桿菌屬細菌會感染反芻動物，其中尤以牛型結核菌之感染，是人畜共同傳染病病原因之一，是公共衛生上值得重視的問題⁽¹⁾。

陳等⁽²⁾曾由乳牛分離出牛型結核菌等。

屏東縣、高雄縣及花蓮縣防治所，於 75 年度⁽³⁾曾提出有關乳山羊感染牛型或鳥型結核菌之報告。

吳⁽⁴⁾於 1986 年及蕭等⁽⁵⁾於 1987 年曾由鹿隻分離出分枝桿菌屬之細菌。英國 Mc. Diarmid 之報告⁽⁶⁾，野鹿及飼鹿主要以感染鳥型結核菌。Fletcher⁽⁷⁾亦曾報告，紐西蘭的某鹿群，其中 62% 感染人型結核菌。

為瞭解分枝桿菌屬細菌，在本省乳牛、乳羊及鹿等畜養反芻動物中之感染情形，而進行

本實驗。

材料與方法

(一) 乳牛：

由遍佈全省 11 個不同單位（台北縣、苗栗縣、新竹市、台中市、台中縣、南投縣、雲林縣、台南縣、高雄縣、屏東縣、台東縣家畜疾病防治所）提供之 224 頭牛型結核菌素反應陽性乳牛和 12 頭反應陰性乳牛。

(二) 乳羊：

由台北縣、苗栗縣、臺南市、高雄縣、宜蘭縣、花蓮縣等 6 處家畜疾病防治所提供之 18 頭陽性反應，2 頭疑陽性及 3 頭陰性反應乳羊。

(三) 鹿：

由台北市木柵動物園及新竹縣、台南縣、高雄縣、屏東縣及台東縣等 5 處家畜疾病

防治所提供之 18 頭陽性反應，1 頭疑陽性反應及 8 頭陰性反應鹿。

(四) 病原分離及鑑定：

上述動物經剖檢後，行病理檢驗及病原分離。

病原分離及鑑定，除做一般細菌之分離外，依照 Runyon 等⁽¹⁾所述和美國農業部⁽²⁾頒布之方法做分枝桿菌之分離及鑑定：將病材除去周圍的脂肪組織，浸泡於 0.1% 次氯酸鈉溶液中，保存於 4 °C 過夜，換新鮮之 0.1% 次氯酸鈉溶液（此步驟必要時可重覆多次），細菌分離時，無菌操作，將病材剪成小塊，加入適量含有 0.4% Phenol red 之 Tryptic soy broth，製成乳劑，加入適量之 0.5 N NaOH 至乳劑顏色變紅，靜置 10 ~ 30 分鐘，再加入適量之 6 N HC1 混合均勻，至顏色變黃，靜置 10 ~ 30 分鐘，再加入適量之 1 N NaOH 混勻至顏色變紅，於 3000 ~ 3500 rpm 離心 30 分，除去上清液，取沈渣接種在 Lowenstein-Jensen 及 Stonebrink's 等斜面培養基，逐週觀察，至少觀察 12 週。若有可疑菌落，先行抗酸性染色，並觀察其菌落生長速率和形態，再接種至含有 10% Dubos Oleic Albumin Complex (Difco 0375) 之 Dubos broth (Difco 0385) 增菌後，測其 Niacin test (Difco 1479) 及於 45 °C 生長之情形。再做下述之抗藥性試驗：抗 INH (Isoniazid-Isonicotinic acid hydrazid)，TCH (Thiophen-2-carboxylic acid-hydrazid) 及 Neotetrazolium chloride 等藥物。然後用極東抗酸菌鑑別組（極東製藥工業株式會社）⁽³⁾測其在發育速度 3 日試驗，PNS 培養基，硝酸還原試驗（24 小時），Tween 80 水解試驗（5 天），PAS 培養基黑變（7 天），EB 培養基，HA 培養基，Picric acid 培養基及暗發色和光發色培養基等之變化及其發育情形，而加以鑑定其菌型⁽⁴⁾。

(五) 血清測試：

乳羊及鹿之血清，曾用呂等⁽¹⁾之方法，進行 AGP 方法，檢測是否感染假性結

核桿狀桿菌 (Corynebacterium pseudo-tuberculosis)。

結 果

78 年度本省乳牛、乳羊及鹿感染分枝桿菌屬細菌之情形如表 1、表 2 及表 3 所列。

由表 1 知 78 年度由 11 處縣市防治所轉送結核菌素反應陽性乳牛計 224 頭，陰性乳牛計 12 頭（屏東縣）合計 236 頭，經剖檢後，224 頭陽性乳牛中，有 100 頭具肉眼病灶，而 12 頭陰性牛則均無肉眼及顯微病變，由 100 例具病灶病材中，分離出 97 株牛型結核菌，2 株鳥型結核菌及 1 株 Runyon IV 菌。另 2 株 Runyon IV 菌，則由無病灶病材中分離出。

由表 2 知 78 年度由 6 個縣市防治所轉送結核菌素反應陽性乳羊計 18 頭，疑陽性乳羊 2 頭及陰性乳羊 3 頭，合計 23 頭。經剖檢後，18 頭陽性乳羊中，有 9 頭具肉眼病灶，並從其病材中，分離出 5 株牛型結核菌及 4 株鳥型結核菌，2 頭疑陽性及 3 頭陰性乳羊，均無肉眼及顯微病變，細菌分離均為陰性反應。

由表 3 知 78 年度由 5 個縣市防治所及木柵動物園，轉送結核菌素反應陽性鹿 18 頭，疑陽性鹿 1 頭，陰性鹿 8 頭，合計 27 頭，經剖檢後，18 頭陽性鹿中，有 11 頭具肉眼病灶，並從其病材中，分離出 9 株牛型結核菌及 2 株鳥型結核菌。1 頭疑陽性及 8 頭陰性鹿，均無肉眼及顯微病變，細菌分離均為陰性反應。

23 例乳羊及 27 例鹿之血清，經雙向免疫擴散法測試是否感染假性結核桿狀桿菌，結果均為陰性反應，表示均未感染假性結核桿狀桿菌。

討 論

由表 1、表 2 及表 3 知 78 年度本省反芻動物感染分枝桿菌中，仍以牛型結核菌為主。乳牛感染牛型結核菌佔分離出之分枝桿菌之 95.09% (97/102) 而乳羊則為 55.56% (5/9)，鹿則為 81.81% (9/11)。由表 1、表 2 及表 3 亦可知牛型結核菌之污染情形，已遍佈全省。

由表 1 知屏東縣乳牛之病灶出現率為 81.58% (62/76)，為牛型結核菌之嚴重污染地區

表 1 78 年度本省乳牛感染分枝桿菌屬細菌之病例數

縣市別	剖檢頭數	具病灶病材數	分離菌株數		
			牛型菌	鳥型菌	Runyon IV
台北縣	4	2	2	0	0
苗栗縣	34	1	1	0	0
新竹市	35	1	0	0	3
台中市	6	3	3	0	0
台中縣	10	5	5	0	0
南投縣	2	0	0	0	0
雲林縣	2	0	0	0	0
台南縣	40	22	21	1	0
高雄縣	12	2	1	1	0
屏東縣	*88	62	62	0	0
台東縣	3	2	2	0	0
合計	236	100	97	2	3

* 含有 12 頭陰性牛 (清場)

表 2 78 年度本省乳羊感染分枝桿菌屬細菌之病例數

縣市別	剖檢頭數	具病灶病材數	分離菌株數	
			牛型菌	鳥型菌
台北縣	5	3	2	1
苗栗縣	4	0	0	0
台南市	*6	3	3	0
高雄縣	**5	3	0	3
宜蘭縣	1	0	0	0
花蓮縣	2	0	0	0
合計	23	9	5	4

* 含 3 頭陰性羊，** 含 2 頭疑陽性反應羊

表 3 78 年度台灣地區鹿感染分枝桿菌屬細菌之病例數

送檢單位	剖檢頭數	具病灶病材數	分離菌株數	
			牛型菌	鳥型菌
木柵動物園	2	2	2	0
新竹縣	1	1	1	0
台南縣	3	2	1	1
高雄縣	6	1	1	0
屏東縣	5	4	4	0
台東縣	*10	1	0	1
合計	27	11	9	2

* 含 1 頭疑陽性反應鹿及 8 頭陰性反應鹿

，其次為台南縣55% (22/40)，台中縣50% (5/10) 台中市50% (3/6) 及台北縣50% (2/4)。而全省乳牛之病灶出現率為44.64% (100/224) 較去年度之64% (192/302) 降低很多，由此可見，撲殺政策嚴格執行，將有助於本省控制乳牛結核病之蔓延。

此次調查，乳羊及鹿之病例總數偏少，此乃乳羊及鹿至今未能全面進行結核菌素之檢測，由於畜養農民主動報名受檢戶數有限之故，但乳羊之病灶出現率為50% (9/18) 而鹿則為61.11% (11/18)，均偏高，表示結核病在乳羊及鹿在某些牧場之污染情形不容忽視。且其是否會阻礙本省乳牛結核病控制之順利進行，有待進一步探討。

此次實驗，無論從乳牛、乳羊或是鹿，均可分離出牛型結核菌及鳥型結核菌。而此2種菌株均會引起人之典型或非典型結核病，深具公共衛生上的意義，值得有關單位重視。

本實驗血清測試中，將23例乳羊血清及27例鹿血清，用呂等⁽¹⁾方法，進行AGP之檢測，結果都為陰性反應，此結果與本實驗中病原之分離結果相符，均未分離出假性結核桿狀桿菌。根據Brown⁽²⁾等之報告常由結核菌素反應陽性羊中分離出假性結核桿狀桿菌，本省呂等⁽¹⁾亦有相同之報告，而本實驗之結果與其相異，可能是此次乳羊之調查僅零星幾戶，未能全面調查之故。

參考文獻

- 呂榮修、鄭懋勁、廖永剛、林地發、李永林、林全。1987 *Corynebacterium pseudotuberculosis* 在台灣發生的研究。台灣省畜牧獸醫學會會報 49: 45 ~ 53。
- 吳永惠，1986 台灣鹿隻結核病的研究，I 流行病學調查，病原分離鑑定及病理變化。中華民國獸醫學會雜誌 12:323 ~ 329。
- 陳守仕、蘇杰夫、林榮福、廖述吉、鄭建盛、張瑞森、劉正義，1979，台灣結核菌素陽性反應乳牛之結核病分離及鑑定，科學發展月刊 7(7): 724 ~ 732。
- 蕭終融、李淑惠、楊揚輝、吳義興、張惟茗、葉明穎，1988，鹿結核病檢驗方法之評估及菌種之鑑定。中華民國獸醫學會雜誌 14: 121 ~ 125。
- 極東製藥工業株式會社。極東抗酸菌鑑別セシト。
- 台灣省政府農林廳，1986，台灣省各縣市家畜疾病防治所調查研究報告。
- Brown. C.C. and H.J. Olander 1987. Caseous Lymphadenitis of Goat and sheep: A Review. Vet. Bulletin 57: 1-2.
- Flectcher T.J. 1982. Vet. Rec. 111: 219-223.
- Laboratory methods in veterinary mycobacteriology, 1974. Veterinary services Lab. Animal and Plant Health Inspection Service U.S. Dept. Agriculture Ames Iowa January.
- Mc. Diarmid A. 1975. Vet. Rec 97.
- Runyon E.H., A.G. Karlson, G.P. Kubica and L.G. Waven Mannal of clinical Microbiology. 3rd ed America society for Microbiology Washington. D.C. U.S.A. 150-179.

Isolation of *Mycobacterium* spp. Ruminants in Taiwan

Shiau, J.R., W.M. Chang, S.H. Lee, Y.H. Yang
and S.J. Chen

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health

SUMMARY

From July 1988 to June 1989, 224 dairy cows, 18 milk goats and 18 deer which all gave a positive reaction in tuberculin skin test were examined for *Mycobacterium* spp. infection. Ninety seven strains of *M. bovis*, 2 strains of *M. avium* complex and 3 strains of Runyon IV were isolated from 100 cows with gross lesions. Five strains of *M. bovis* and 4 strains of *M. avium* complex were isolated from 9 milk goats with gross lesions. Nine strains of *M. bovis* and 2 strains of *M. avium* complex were isolated from 11 deer with gross lesions. The percentage of cows with gross lesions was lower than before. It was attributed to the policy of eradication. However, high occurrence of tuberculosis of milk goat and deer needed to be paid more attention on it.