

牛傳染性角結膜炎 (infectious bovine keratoconjunctivitis)

廖永剛^{1*} 黎南榮¹ 曾俊憲¹ 鄭明珠¹ 劉培柏¹
張錫男² 高基倉² 李活模²

1. 台灣省家畜衛生試驗所 台北縣
2. 雲林縣家畜疾病防治所 雲林縣

摘要 1996年8月間，在雲林縣崙背及古坑鄉肉用乳公牛發生眼結膜紅腫、角膜潮紅、眼球凸出、盲目及流淚等症狀。由病原分離及鑑定推定其為牛莫拉克斯菌 (*Moraxella bovis*) 感染，而鏈球菌、葡萄球菌及巴氏桿菌等為繼發性感染。由分離之牛莫拉克斯菌在血液培養基上有明顯的溶血現象，及電子顯微鏡之負染色觀察菌體有纖毛結構，判定該菌具病原性。其它可引起牛隻紅眼症的病毒或披衣菌的分離皆陰性。因此診斷這些病例是由牛莫拉克斯菌感染引起之牛傳染性角結膜炎。

關鍵詞：紅眼症，牛莫拉克斯菌，牛傳染性角結膜炎

緒言

牛傳染性角結膜炎 (infectious bovine keratoconjunctivitis: IBK) 是由牛莫拉克斯菌 (*Moraxella bovis*) 感染所引起之眼疾病^[2~14]，牛隻感染後的主要症狀是眼結膜潮紅、角膜發炎及鞏膜充血，故也稱紅眼症 (pinkeye)，傳染性角膜炎 (infectious keratitis)。本病在許多國家都有報告 [3, 5, 7, 10~14]，發生率高但不會直接致死。牛莫拉克斯菌為革蘭氏陰性短桿菌或球桿菌，大小約 $2.0 \times 1.0 \mu$ ，為好氣性細菌，其有毒力株在分離時有明顯之 β 溶血性^[5, 6]。本省有關 IBK 的病例，筆者曾於 1988 年間和呂榮修博士在台南市的酪農戶中發現零星病例及分離出牛莫拉克斯菌，農民自行以眼藥膏點眼治療而未有嚴重疫情傳出。在雲林縣也曾於 1987 年間由山羊的眼球潮紅或眼球混濁呈失明症狀的山羊病例分離出莫拉克斯

菌^[1]。因此可證實本省牛隻及山羊皆已有莫拉克斯菌感染的病例，本報告是就 1996 年間在雲林縣牛隻病例的分離及鑑定情形，提供本病流行病學及疾病控制之參考。

病例 1996年8月間，雲林縣崙背鄉某一肉用乳公牛養牛戶，其飼養牛隻共 73 頭，當中有 14 頭發生雙眼結膜潮紅或是單側角膜白濁等症狀，其中 2 頭已呈現單眼失明，畜主稱此病症已有一個多月，在此之前有 12 頭牛隻也有相同的眼疾而淘汰。另在古坑鄉也有一肉用乳公牛場共飼養 42 頭，其中 26 頭也是發生眼睛紅腫且數頭已呈失明。畜主皆未使用藥物治療，患病的牛場環境清潔情形皆不良，均以豆渣和甘蔗渣佐以飼料餵飼，因此牛舍內蒼蠅孳生，且有許多積水容器而致蚊蟲孳生。在調查時並未發現畜主有眼睛潮紅或發炎，故僅對發病牛進行眼睛棉棒拭子採樣進行檢驗，以供疾病診斷。

*抽印本索取作者

本文原載於中華民國獸醫學會雜誌，23 (4): 373-378, 1997
台灣省家畜衛生試驗所

病原分離 對病牛眼粘膜採集棉棒拭子，以血液培養基進行細菌分離。結果初代分離有數種菌落發育，有的具溶血性，其被純化培養及以選擇性培養基進行分離與鑑定。採集的棉棒拭子也製成乳劑，以牛睪丸初代細胞及 MDBK 繼代細胞進行病毒分離，並以雞胚胎進行披衣菌的分離。在分離過程中皆以電子顯微鏡負染色法檢查有無病毒或披衣菌。

病原菌鑑定 以血液培養基及 DHL 培養基（腸內細菌分離用；日本榮研化學株式會社）由 4 頭病牛分離到 20 株細菌，經細菌型態、劉氏法判定格蘭氏陽陰性、氧化酶 (Oxidase) 反應、運動性 (Motility)、硝酸鹽反應 (Nitrate)、三種醣類發酵培養基試驗 (TSI Agar) 以及細菌生化試驗 (Microbact, Medvet Science Pty Ltd, Australia) 鑑定。結果如表 1 有牛莫拉克斯菌、鏈球菌、葡萄球菌、巴氏桿菌及腸內桿菌等。而牛莫拉克斯菌在 4 頭病牛均被分離到，其在血液培養基上都有明顯的溶血現象（圖 1），形態呈短桿菌，大小約 $2.0 \times 1.0 \mu$ （圖 2），以電子顯微鏡負染色觀察，可在菌體表面發現纖毛 (Pili) 結構（圖 3）。病毒和披衣菌分離皆為陰性。由上述分離結果以及所有病牛皆能分離到病原性和前人發現之病原性牛莫拉克斯菌相似，顯示引起本次牛隻紅眼症的主要病原是牛莫拉克斯菌。

討 論

牛傳染性角結膜炎之病原一般認為是牛莫拉克斯菌為主，而其它細菌往往是繼發性感染^[7~10]，又牛隻感染牛莫拉克斯菌時，若併發牛傳染性鼻氣管炎病毒感染，則眼睛潮紅和角膜炎會更嚴重^[11]。因此筆者在作病原分離時也試圖對可能引起眼疾病或是粘膜病變的病毒性病原如牛傳染性鼻氣管炎病毒、牛病毒性下痢病毒和牛丘疹性口炎病毒進行分離，結果經細胞培養繼代四代以上皆為陰性，同時也進行披衣菌的分離，結果

也是陰性。因而認為本病例無前述的病毒或是披衣菌感染。而所分離的莫拉克斯菌有明顯的溶血性，且由電子顯微鏡觀察可發現具病原性的纖毛特徵是符合前人的研究結果。

牛莫拉克斯菌具纖毛而易粘附在宿主眼結膜上增殖形成菌落，並於增殖時釋放出溶血素破壞眼球之角膜細胞，因此在細菌大量增殖及釋放出細菌毒素時會使眼睛粘膜受破壞以及鞏膜形成潰瘍病灶^[3, 5~7]。至於眼病變程度不一之原因，可能是未施以治療而各牛隻處於不同病程所致。

青黴素曾是牛莫拉克斯菌之主要治療藥物^[1~3]。但本次分離到的牛莫拉克斯菌，以 5 國際單位及 10 國際單位的青黴素紙錠都無法抑制增殖，顯示對青黴素具有抗藥性，但對氯黴素 (Chlorophenicol) 和部分四環素類藥物有感受性，這結果和前人認為青黴素是治療莫拉克斯菌的主要藥物之說法不同。再由 Allen 等^[4]也發現，以試管中有效抑制濃度的青黴素對牛隻治療，結果牛隻的症狀及痊癒情形並未改善，且仍可由病牛眼睛分離出莫拉克斯菌，顯示青黴素在臨床使用時也無法完全抑制牛莫拉克斯菌的增殖及傷害程度。Lepper 等^[8]研究以牛莫拉克斯菌的纖毛抗原製造疫苗，希望由抗體之產生而能抑制細菌附著，進而防治牛莫拉克斯菌的感染，結果由免疫後的牛隻可耐過同種菌株的攻擊，以及對不同菌株也有 70 至 80 % 的保護效力；證實開發纖毛抗原疫苗預防牛莫拉克斯菌感染是可行的。因此目前正發展以纖毛抗原的基因核酸和容易增殖的綠膿桿菌 (*P. aeruginosa*) 基因進行重組，再由綠膿桿菌的增殖而大量生產出牛莫拉克斯菌的纖毛抗原，然後萃取出纖毛製成疫苗，是目前在防治牛莫拉克斯菌的研究。另外牛舍中的蒼蠅可當機械的媒介而傳播牛莫拉克斯菌^[2, 3, 7, 13]，環境不良的牧場較易發生牛隻的紅眼症，因此要防治牛莫拉克斯菌的發生，環境清潔及減少蚊蠅孳生為根治本病不可或缺的。



圖 1 分離之牛莫拉克斯菌在血液培養基上的溶血現象

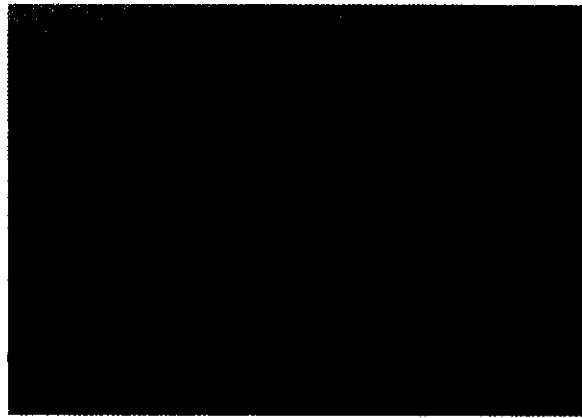


圖 2 分離之牛莫拉克斯菌在顯微鏡下的形態 (1,000 倍)



圖 3 分離的細菌進行電子顯微鏡觀察有纖毛 (Pili) 放大倍率為 20,000 倍

表 1 四頭紅眼症牛隻的眼結膜棉棒拭子細菌鑑定結果

牛號	細菌編號	5%血液培養基	DHL培養基	細菌型態	格蘭氏染色	氧化酶反應	運動性	硝酸鹽反應	生化鑑定結果
1	1	溶血	發育	桿菌	陰性	陰性	無	陰性	腸內桿菌
	2	溶血	不發育	桿菌	陰性	陽性	無	陽性	巴氏桿菌
	3	溶血	不發育	球菌	陽性	陰性	無	陰性	鏈球菌
	4	沒溶血	發育	桿菌	陰性	陰性	無	陰性	腸內桿菌
	5	溶血	不發育	球菌	陽性	陰性	無	陰性	鏈球菌
	6	沒溶血	不發育	桿菌	陰性	陽性	無	陽性	巴氏桿菌
	7	溶血	不發育	桿菌	陰性	陽性	無	陰性	牛莫拉克斯菌
2	8	溶血	不發育	桿菌	陽性	陰性	無	陽性	放線桿菌
	9	溶血	不發育	桿菌	陰性	陽性	無	陽性	巴氏桿菌
	10	沒溶血	不發育	桿菌	陰性	陽性	無	陽性	巴氏桿菌
	11	溶血	不發育	桿菌	陰性	陽性	無	陰性	牛莫拉克斯菌
	12	沒溶血	不發育	球菌	陽性	陰性	無	未測	葡萄球菌
	13	溶血	不發育	桿菌	陰性	陽性	無	陽性	巴氏桿菌
3	14	沒溶血	不發育	球菌	陽性	陰性	無	未測	葡萄球菌
	15	溶血	不發育	球菌	陽性	陰性	無	未測	葡萄球菌
	16	溶血	不發育	球菌	陽性	陰性	無	未測	葡萄球菌
	17	溶血	發育	桿菌	陰性	陰性	無	陰性	腸內桿菌
	18	沒溶血	不發育	球菌	陽性	陰性	無	未測	葡萄球菌
	19	溶血	不發育	桿菌	陰性	陽性	無	陰性	牛莫拉克斯菌
4	20	溶血	不發育	桿菌	陰性	陽性	無	陰性	牛莫拉克斯菌

誌謝 本報告承蒙臺灣大學蔡向榮教授在撰文上的指正，以及台南縣家畜疾病防治所趙典樹股長、李儼峰先生提供該縣疫情資料，謹表謝忱。

參考文獻

1. 李活模、李清圳。山羊病例報告，雲林縣家畜疾病防治所。七十六年度病性鑑定研討會，1987
2. 吳永惠。牛傳染性角結膜炎，牛病學。藝軒圖書出版社，台北市 188-190，1989
3. 張小廣、邱明慶、鍾文蓬。牛摩拉氏菌的致病性。中國獸醫染志 18：44-45，1992
4. Allen LJ, George LE, Willits NH. Effect of penicillin or penicillin and dexamethasone in cattle with infectious bovine keratoconjunctivitis. J Am Vet Med Assoc 206：1200-1203，1995
5. Carter GR, Cole JR. Moraxella. In：Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology 5th ed. Academic Press Inc. New York, 167-169，1990
6. Gray JT, Eedorka-Gray PJ, Rogers DG. Partial characterization of a *Moraxella bovis* cytolsin. Vet Microbiol 43：183-196，1995
7. Iwasa M, Kawada A, Yorita M, Ishiguro N, Shinagawa M. Prolonged occurrence of *Moraxella bovis* infection on a restricted heifer farm. J Vet Med Sci 56：429-432，1994
8. Lepper AWD, Atwell JL, Lenhrbach PR, Schwartzkoff CL, Egerton JR, Tennent JM. The protective efficacy of cloned *Moraxella bovis* pili in monovalent and multivalent vaccine

- formulations against experimentally induced infectious bovine keratoconjunctivitis (IBK). *Vet Microbiol* 45 : 129 – 138, 1995
9. McG. Beard MK, Moore LJ. Reproduction of bovine keratoconjunctivitis with a purified haemolytic and cytotoxic fraction of *Moraxella bovis*. *Vet Microbiol* 42 : 15 – 33, 1994
 10. Pugh GW, Hughes DE. Infectious bovine keratoconjunctivitis : *Moraxella bovis* as the sole etiologic agent in a winter epizootic. *J Am Vet Med Assoc* 161 : 481 – 486, 1971
 11. Radostits DM, Blood DC, Gay CC. Diseases cause by haemophilus and moraxella spp. In : *Veterinary Medicine* 8th ed. Bailliere Tindall Co, London. 813 – 816, 1994
 12. Rogers DG, Cheville NF, Pugh GW. Pathogenesis of corneal lesions caused by *Moraxella bovis* in gnotobiotic calves. *Vet Pathol* 24 : 287 – 295, 1987a
 13. Rogers DG, Cheville NF, Pugh GW. Conjunctival lesions caused by *Moraxella bovis* in gnotobiotic calves. *Vet Pathol* 24 : 554 – 559, 1987b
 14. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. The genus moraxella. In: Hagan and Bruner's *Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animal* 8th ed., Cornell University Press, Ithaca, 122 – 124, 1988

Infectious bovine keratoconjunctivitis in Taiwan

Yung-Kung Liao,^{1*} Nan-Jung Li,¹ Chun-Sein Tseng,¹ Ming-Chu
Cheng,¹ Pei-Pai Liou,¹ Shyi-Nam Chang,²
Chi-Chung Kao² and Hou-Mo Lee²

1. Taiwan Animal Health Research Institute, Tansui, Taiwan, ROC

2. Yunlin Livestock Diseases Control Center, Yunlin, Taiwan, ROC

SUMMARY Keratoconjunctivitis was observed in meat-type cattle in Yunlin county in August 1996. The clinical signs of these cattle included reddened and swollen conjunctiva, cornea hyperemia, extrusion of eyeballs, blindness and lacrimation. The results of the etiologic investigation indicated that the disease was caused by *Moraxella bovis*. While *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* and *Pasteurella spp.* were also isolated from the ocular swabs, they were believed to be secondary infections. The isolated *M. bovis* caused obvious hemolysis in blood agar, and the presence of pili was demonstrated by electronmicroscopy. No other viral pathogen or *Chlamydia spp.* was isolated from the diseased cattle. The final diagnosis of the disease was infectious bovine keratoconjunctivitis.

Key words: *Infectious bovine keratoconjunctivitis*, *Moraxella bovis*, *Pinkeye*

*Corresponding author

Reprinted from the J. Chinese Soci. Vet. Sci. 23 (4) : 373 - 378, 1997
Taiwan Animal Health Research Institute, Taiwan, R. O. C.