

台灣羊隻結核病病原分離與鑑定及流行病學調查

呂榮修^{1*} 蔡向榮¹ 蔡啓賢² 陳清長²
李水蓮³ 洪信雄² 李淑慧¹

1. 台灣省家畜衛生試驗所
2. 屏東縣家畜疾病防治所
3. 高雄縣家畜疾病防治所

民國75年1月由美國進口84頭山羊中有3隻對結核菌素皮內接種試驗呈陽性反應，經撲殺後發現3隻陽性羊隻皆呈典型結核病病變，並由其中1隻分離到牛分枝桿菌。同年5月花蓮縣牧場送檢羊隻中發現3隻結核菌素反應陽性羊隻，從其中一頭分離到牛分枝桿菌，另二頭分離到C. *pseudotuberculosis*。

民國75年5月對屏東縣及高雄縣羊隻進行結核病流行病學調查。兩縣共有133戶3,122隻羊接受結核菌素試驗，其中有34戶(25.6%)養羊戶為陽性場，共57頭呈為陽性反應，陽性率為1.8%。對11頭陽性反應羊隻進行剖檢後，發現其中有5頭有肉眼可見之結核病變，並由此5頭羊隻分離到4株牛型結核菌及1株鳥分枝桿菌。

結核病是在公共衛生上極為重要的人畜共同傳染病。我國為了維護國民飲乳衛生安全及促進乳業發展，自民國45年即開始實施乳牛結核病的檢驗及撲殺工作⁽⁴⁾。經過三十多年乳牛結核病已被有效的控制，以79年為例，共檢驗67,375頭乳牛只有87頭(0.13%)呈陽性反應⁽⁵⁾。除牛隻外，在本省亦有鹿隻的結核病流行病學調查及病原分離與鑑定的報告^(3,6)，為了促護國民健康及促進鹿產品產銷，政府推動鹿隻結核病防疫計畫，在79年已篩選出108場無結核病感染之養鹿場以供消費者採購健康安全的鹿產品及確保養鹿業者合理收益⁽⁵⁾。近年來由於國民生活水準的提高，而羊乳因易於被消化吸收，極富營養，為大眾所偏愛，因此乳羊飼養頭數大幅增加。乳羊結核病

*抽印本索取作者

本文原載於台灣畜牧獸醫學會會報59:61-67,1992

台灣省家畜衛生試驗所

之防疫目前係採自願申請檢驗，檢出陽性羊即由畜主宰殺淘汰，民國79年共計完成13,050頭乳羊的檢驗，其中有18頭(0.14%)呈陽性反應⁽⁵⁾。有關乳羊結核病的病原分離及鑑定，與流行病學調查在國內並未見有正式報告，筆者等自民國75年開始進行乳羊結核病調查，茲將所得成績報告於下：

材料與方法

一、供試山羊：

民國75年1月由美國進口於汐止動物隔離場執行進口檢疫之山羊84頭，75年5月由花蓮縣某牧場病性鑑定山羊3頭。又同一個月間對屏東縣103戶飼養戶共2,045頭山羊，及對高雄縣30戶飼養戶1,077頭山羊進行結核病之檢驗，所檢驗羊隻係以6月齡以上者為對象。

二、結核菌素皮內試驗：

依經濟部民國72年1月5日經(72)農373號公告訂定[刊登省公報72年春字第17期]及行政院農委會74年2月26日(74)農牧字第27395號公告修正之[牛結核病檢驗方法]實施，即以美製PPD結核菌素(purified protein derivative of *M. bovis*, Jensen-Salsbury Lab) 0.1ml 接種於尾根部皺壁之單側皮內或左邊頸側部毛剪後接種於皮內，在接種前先使用直徑測微尺，測定注射（接種）局部尾根皺壁或頸側局部皮膚度，經結核菌素PPD接種後72小時後再用直徑測微尺測定同一部位（接種局部）厚度之差異比較判定之，其成績判定如下：

陽 性：腫脹厚度差額在 5mm 以上而有硬結者。
疑陽性：腫脹厚度差額在 3.1mm - 4.9mm 之間者。

陰 性：腫脹厚度差額在 3mm 以下而無硬結者。

三、病理學檢查：

剖檢羊隻前先檢查外觀，注意其皮膚有無膿腫樣病灶後進行解剖檢查全身各臟器，注意有無結核結節樣病灶，並採組織以10%中性福馬林液固定，經石臘包埋，5um厚度薄切，H & E 染色後鏡檢有無乾酪化壞死病變。

四、結核菌之分離：

羊隻經剖檢無菌操作採取各臟器及頸部、咽部、腸間等淋巴結製成乳劑後遠心分離800rpm 5分鐘，採取上清液再度離心3,500rpm 40分鐘，沉渣加1%苛性鈉1-2ml，靜置20分鐘，然後接種0.1ml 於 1% 小川培養基及 Lowenstein-Jensen 培養基(Gibco 公司，Grand Island New York U.S.A.)，置於37°C培養3個月並每日觀察有無菌落形成。

五、結核桿菌之鑑定：

上述分離結果，如見有可疑菌落，則先作抗酸性染色，觀察其細菌染色特徵，再利用日本製極東抗酸菌鑑別用組合，依其說明書方法實施結核菌鑑定，即所分離抗酸菌分別接種在組合中之1%小川培地，PAS培地，Picric酸培地，進行發育速度試驗，Tween 80水解試驗，Urease試驗，硝酸鹽還原試驗，Niacin產生試驗，同時以本所保存之牛10株牛型結核菌菌株及青山株人型結核菌菌株供為對照用菌株，依其判定標準判定。

結 果

一、美國進口山羊病例：

本批山羊計84頭於75年1月10日自美國進口，經安排在汐止動物隔離場執行進口檢疫，75年1月16日以結核菌素施行尾根部皮內接種試驗，經72小時判定，其中耳號73、51、7，三頭呈陽性反應，並於75年1月21日再次施行頸部皮內接種試驗，亦呈陽性反應，於75年1月24日依法撲殺、剖檢山羊之外觀檢查：營養中等，其中耳號73呈

現咳嗽症狀，食慾良好，並未有其他症狀出現。剖檢時發現耳號7號羊隻腸間淋巴、肛門淋巴、頸下淋巴腫大並有膿瘍，由此山羊未分離到分枝桿菌。耳號51號羊隻肺臟與胸腔有纖維性粘著，在肛門淋巴、腸間淋巴、頸下淋巴無顯著病變，亦未由此山羊分離到任何分枝桿菌。耳號73號羊隻肺臟與胸腔有纖維素性粘著，肺尖葉有白色壞死點，腸間淋巴腫大，由此山羊分離到一株牛分枝桿菌(*M. bovis*)。

二、結核菌素皮內試驗調查高屏兩縣山羊感染情形之結果：

屏東縣自74年7月～75年6月選擇15鄉鎮103戶飼養場2,045頭山羊進行調查發現有22戶(21.35%)陽性場，陽性隻數有31頭(1.51%)。民國75年對高雄30戶1,077頭山羊之調查結果有12戶(40%)陽性場，陽性頭數26頭(2.41%) (表一)。

三、病理學檢查結果：

部份結核菌素反應陽性羊隻外觀消瘦皮毛粗剛(圖1)，在本調查共剖檢17隻結核菌素反應陽性羊隻，其中有6頭(35.3%)無可見肉眼病變(No Visible Lesion)，其他分別在腸間淋巴(圖2)、肛門淋巴、頸下淋巴、耳下淋巴、支氣管淋巴、縱膈淋巴、咽背淋巴等處有腫脹或乾酪壞死病灶(表二)。組織病理檢查淋巴結可見標準結核結節(Tubercle)，乾酪化壞死之病理變化即可見壞死中心區有鈣化病灶(圖3)，周圍有多層之類上皮細胞(Langhan's giant cell)，外有纖維結締組織(圖4)。

四、結核桿菌之分離與鑑定結果：

剖檢17隻結核菌素反應陽性羊隻，共分離到6株牛分枝桿菌及1株鳥分枝桿菌，此外亦分離到2株*Corynebacterium pseudotuberculosis*，其分離情形如表二所示，部份分離菌株之生化性狀鑑定結果如表三。

表一 以牛型PPD結核菌素皮內注射試驗調查屏東及高雄二縣羊隻之檢驗結果

縣別	受檢場數	陽性場數 (%)	受檢頭數	陽性頭數 (%)
屏 東	103	22 (21.4)	2,045	31 (1.5)
高 雄	30	12 (40.0)	1,077	26 (2.4)
合 計	133	34 (25.6)	3,122	57 (1.8)

表二 結核菌素皮內試驗反應陽性羊隻剖檢成績

日期	縣市	羊號	肉 眼 病 變	分離結果	分離部位
75.1.24.	商檢局	7	腸間淋巴，肝門淋巴，頸下淋巴腫脹	—	—
" "		51	肺臟與胸腔糾纏性黏連	—	—
" "		73	肺臟與胸腔糾纏性黏連，腸間淋巴腫脹	牛分枝桿菌	腸間淋巴
75.2.	花蓮縣	1	腸間淋巴乾酪樣壞死	牛分枝桿菌	腸間淋巴
75.5.23.	"	860523	耳下淋巴與支氣管淋巴乾酪樣壞死	Corynebacterium pseudotuberculosis	耳下淋巴與支氣管淋巴
75.5.27.	"	860527	耳下淋巴與腸間淋巴乾酪樣壞死	C. pseudotuberculosis	耳下淋巴
75.5.	屏東縣	郭. 1	縱隔淋巴結有2-5mm乾酪壞死	鳥分枝桿菌	乳房淋巴與縱隔淋巴
" "	郭. 23		腸間淋巴腫脹	牛分枝桿菌	腸間淋巴
" "	鄭. 4		縱隔淋巴有2-5mm乾酪樣壞死	牛分枝桿菌	縱隔淋巴
" "	龔. 4		無	—	—
" "	輝. 20		無	—	—
" "	輝. 22		無	—	—
" "	盧		無	—	—
75.5.	高雄縣	28	腸間淋巴腫脹	牛分枝桿菌	咽背淋巴及肝淋巴
" "		31	咽背淋巴有3mm乾酪樣壞死	牛分枝桿菌	咽背淋巴
" "		35	無	—	—
" "		34	無	—	—
合 計		17	6隻(35.3%)無可見肉眼病變 11隻(64.7%)有可見肉眼病變	6株牛分枝桿菌 1株牛分枝桿菌	

表三 分枝桿菌生化性狀鑑定之部份成績

菌 株	發育37°C 7 日	菌落 S 型 或 R 型	菌落 著色	PAS 分 解	苦味酸 分 解	Tween 80 水解試驗	尿素 —	硝酸 鹽 還原試驗	Niacin 產生試驗	判 定
郭 1.	—	S	—	—	—	—	—	—	—	鳥分枝桿菌
郭 23.	—	R	—	—	—	—	+	—	—	牛分枝桿菌
鄭 3.	—	R	—	—	—	—	+	—	—	牛分枝桿菌
牛 10*	—	R	—	—	—	—	+	—	—	牛分枝桿菌
青山 *	—	R	—	—	—	—	+	+	+	結核分枝桿菌

* 對照株

討 論

筆者等在民國75年首先對高屏兩縣133戶3,122隻山羊以結核菌素試驗進行結核病的流行病學調查，結果發現陽性率1.83%雖較國外報告的感染率為低⁽¹¹⁾，但大約1/4的(34戶, 25.6%)飼養場皆可檢出陽性反應羊隻，顯示本病在兩縣的污染範圍頗為廣泛。經剖檢17隻陽性反應羊隻，其中11隻(64.7%)有可見肉眼病變，並由其中分離到6株牛分枝桿菌(*M. bovis*)及1株鳥分枝桿菌(*M. avium*)。結核菌素反應陽性，但剖檢無可見肉眼病變的原因可能有如下3種情況：(1)羊隻感染其他無害的抗酸性Mycobacterium菌株而引起之交叉反應⁽¹⁴⁾。(2)羊隻感染早期病灶還太小無法以肉眼察覺。(3)羊隻感染Corynebacterium pseudotuberculosis而引起的結核菌素的非特異性反應。⁽¹²⁾。本省山羊據呂等⁽²⁾調查*C. pseudotuberculosis*之抗體陽性率為11.3%，並由8隻結核菌素反應陽性山羊分離到2株*C. pseudotuberculosis*，顯示該菌在本省山羊間普遍存在，並可干擾山羊的結核菌素反應的判讀。但由於結核菌素皮內反應是個敏感性高的診斷方法，可以早期檢出感染羊隻而加以摘發淘汰，因此在國內仍普遍的用於結核病的診斷。

本省牛隻結核菌病防治，經過三十多年來的

檢驗及撲殺反應陽性牛隻，雖能有效的控制，但卻仍無法根絕本病的發生⁽⁵⁾，其部份原因可能係有其他的保菌動物的存在而成爲感染源，據報告*M. bovis*可感染馬、豬、貓、貂、靈長類、野生反芻類、綿羊、山羊及狗等動物⁽¹⁴⁾，在台灣與牛同屬草食動物的鹿隻與山羊在這方面所扮演的角色值得進一步探討。

在本調查中從山羊分離到6株牛分枝桿菌及1株鳥分枝桿菌，此與國外報告羊可應感染牛型及鳥型的分枝桿菌相似^(10, 11, 13, 14)，但據Creech⁽⁸⁾報告在美國60個綿羊的結核病例有59例係由鳥分枝桿菌所引起，僅有1例係由牛分枝桿菌所引起，Harshield 及 Roderick⁽¹⁰⁾也報告在26個綿羊病例中有25例係由鳥分枝桿菌所引起，1個由牛分枝桿菌所引起，Francis⁽⁹⁾在英國也有類似的報告即綿羊結核病大部份係由鳥分枝桿菌所引起，只有Carmichael報告在烏干達的12個病例中11個由牛分枝桿菌所引起，1個由結核分枝桿菌(*M. tuberculosis*)所引起⁽⁷⁾。在我們的調查結果中山羊的結核病係以牛型菌引起為多數，此種差異可能與山羊與牛飼養的環境較接近所致，另外是台灣在家禽的結核病目前只有一個鴨群的病例報告⁽¹⁾，因此家禽結核病的發生率可能較低而致山羊的鳥分枝桿菌之感染機會亦較牛分枝桿菌為低，另外綿羊與山羊對鳥分枝桿

菌的感受性是否不同亦值得探討。

由於感染結核病的羊隻可能在乳汁中排出分枝桿菌因此在公共衛生上對羊隻結核病的根絕十分重要^(11, 14)，政府應宣導教育民衆選購來自無結核病乳羊場所生產的羊乳以維護國民健康。

誌謝

本試驗承經濟部商品檢驗局王辰典先生、屏東縣家畜疾病防治所徐朝盛、楊慶男先生及屏東縣農業局黃振龍局長、高雄縣家畜疾病防治所劉添源所長協助，敬致謝意。

參考文獻

1. 呂築修、李永林、黃土則、陳忠松、謝快樂。(1974)。高發生率結核病之一鴨群病例之研究。台灣省畜牧獸醫學會會報。24:75-77。
2. 呂築修、鄭懋勁、廖永剛、林地發、李永林、李全。(1987)。Cornebacterium Pseudotuberculosis在台灣發生的研究。台灣省畜牧獸醫學會會報。49:45-53。
3. 吳永惠。(1986)。台灣省鹿隻結核病的研究。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。
4. 陳錫川、李太矜、林薰竹、蔡義雄。本省乳牛結核病撲滅工作概況。台灣省家畜疾病防治工作報告。第一卷第一期25-26、48。
5. 佚名。(1991)行政院農業委員會年報(七十九年一月一日至七十九年十二月三十一日)台北市。
6. 蕭終融、李淑慧、楊揚輝、吳義興、張惟芳、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。
7. Carmichael, J. (1983). Tuberculosis of sheep in Uganda, Vet. Rec., 50:1138-1147.
8. Creech, C.T. (1940). Bovine type tuberculosis in sheep. AJVR, 1:23-25.
9. Francis, J. (1958). Tuberculosis in Man and Animals. Cassells & Co. London.
10. Harshfield J.S. and Roderick L.M. (1934). Avian tuberculosis in sheep. JAVMA 85: 597-610.
11. Jensen R. (1974) Tuberculosis, in Disease of sheep, pp. 265-269.
12. Shukla R, Nath N. and Singh G. (1971). Observations on non-specific reactions to tuberculin in sheep and goats with Corynebacterium ovis. Experimentia 27: 204-205.
13. Stubbs E.L. and Live I (1939). A Case of sheep tuberculosis due to bovis type. JAVMA.95:173-176.
14. Timoney J.F. Gillespie J.H. Scott F, W, Barlough J.E. (1988). The genus mycobacterium, In Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious disease of Domestic animals 8th ed., pp. 270-289.



圖一 結核病病羊外觀消瘦，皮毛粗糙。



圖二 結核病羊腸間淋巴有乾酪樣壞死病灶（箭頭）



圖三 結核病羊淋巴結有特徵的結核結節組織病變，結節中央並有鈣化壞死之情形。
($\times 100$)。



圖四 結核病羊淋巴結節中央有乾酪壞死之組織病變，在周圍有多層之類上皮細胞
與朗罕氏巨大細胞 (Langhan's giant cells) (箭頭)，外有纖維結締組織。
($\times 100$)。

Goat Tuberculosis in Taiwan

Y.S. Lu^{1*}, H.J. Tsai¹, C.S. Tsung², C.C. Chen²,
H.L. Lee³, H.H. Hung², S.H. Lee²

In January of 1986, three out of 84 goats imported from U.S.A. were positive to PPD bovine tuberculin skin test. These 3 goats were sacrificed. Typical tuberculosis lesions were found in all three goats and one strain of *Mycobacterium bovis* was isolated. In May of 1986, three goats from Hualian county (located in eastern part of Taiwan) were submitted to our Institute for diagnosis. They were all positive to tuberculin test and from them one strain of *M. bovis* and two strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis* were isolated.

An epidemiological survey on tuberculosis in goats was conducted in Pingtung county and Kaoshiung county (located in southern part of Taiwan) in May of 1986. Total of 3,122 goats from 133 farms were examined by tuberculin test, and 57 goats from 34 farms showed positive reactions. Total of 11 of tuberculin-test-positive goats were sacrificed. Among them, 5 goats had visible lesions of tuberculosis and 4 strains of *M. bovis* and one strain of *M. avium* were isolated from these 5 goats.

*Corresponding author

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health, Tamsui, Taipei, Taiwan.

Reprinted from the Taiwan J. Vet. Med., 59:61-67, 1992.