

臺灣牛隻麥可菌（微漿體）症之研究

I. *Mycoplasmatales* 之分離及鑑定

蘇杰夫¹ 陳素貞¹ 廖述吉¹ 鄭建盛¹

傅祖慧¹ 劉正義² 林本欽³

由本省13地區之酪農戶及企業化畜牧場，採取2—6月齡左右，外觀上健康或患有慢性呼吸器病之仔牛鼻腔分泌液290例，進行麥可菌目 *Mycoplasmatales* 之檢索，結果，102例（35.17%）為陽性。經生化性狀及血清學試驗同定菌型之結果，顯示 *M. bovirhinis* 35例，*M. dispar* 12例，*M. alkalescens* 2例，*M. sp. group 7* 者19例，等之 *Mycoplasma* 菌屬，以及 *A. laidlawii* 21例，*A. modicum* 13例等之 *Acholeplasmas* 菌屬。

另由患有類似牛傳染性角膜炎22例之檢體中，分離並同定為 *Mycoplasma* spp. 者4株。

由麥可菌目 *Mycoplasmatales* 引起牛隻疾病中，最為嚴重且最早被報告的是由 *M. mycoides* subspecies *mycoides* 引起的牛肺疫（Contagious bovine pleuropneumonia; CBPP），且已被列為國際法定傳染病之一。由牛隻體內分離到的 *Mycoplasmatales* 據 Gourlay & Howrd¹⁵ (1979) 之統計，共有11種 *Mycoplasma* 屬，尚未被命名者2種，*Ureaplasma* 屬1種，*Acholeplasma* 屬3種和 *Anaeroplasma* 屬1種。可見本菌目在牛隻體內寄生甚為繁雜。最近數年來各國更相繼由牛之呼吸道或其他腔道粘膜之疾患分離出本菌，並肯定其在養牛事業上造成重大的經濟損失。其中較重要且已被明確證實具病原性的有牛麥可菌性肺炎（Mycoplasmal pneumonia of cattle; MPC）^{7,14,16,21,23,26,31,32,34}，麥可菌性乳房炎（Mycoplasmal mastitis of cows; MMC）^{3,5,6,8,17,22,37}，麥可菌性關節炎（Bovine mycoplasmal arthritis; BMA）^{25,35,36} 等。此外尚有由繁殖障礙^{2,9,13}，眼角膜炎^{1,16,20,27,28,29}，等病例中分離出本菌者。

臺灣目前養牛事業正值發展時期，政府計畫由國外引入新品種乳牛，以擴展乳牛事業，惟對於在養牛事業發達之先進國家甚受重視的麥可菌屬，迄今仍未見有關之調查報告，實對酪農的經濟利益具莫大威脅。為明確本省牛隻是否感染麥可菌症，並籌防患未然之計策，爰進行本實驗。

材料與方法

培地：

採樣用培地乃用含有10%馬血清及5%新鮮酵母抽出液之 Trypticase soy broth (BBL)。

1. 臺灣省畜衛生試驗所

2. 國立中興大學獸醫學系

3. 行政院農業發展委員會

摘自：中華民國獸醫學會雜誌 8：87—96, 1982

分離用培地則分別採用：

Hayflick 培地²⁴⁾ 係 PPLO broth (Difco) 中加入20%馬血清及10%新鮮酵母抽出液。pH 為7.6—7.8。

GS (Glucose-serum) 培地¹⁶⁾：於 Hank's 緩衝液中配以牛心浸出液，仔牛血清，並含有1%的葡萄糖，0.002%的 DNA, pH 為7.8。

TR (Taylor-Robinson) 培地³⁾：係 Ha-yflick 培地中另加入0.1%尿素，並將 pH 調整為6.0—6.2。

上述培地中並加入適量的細菌抑止劑，如 Penicillin 或 Ampicillin。

對照標準株及鑑定用抗血清：

標準株：*M. dispar*, *M. alkalescens*, *M. canadense* 及 *M. bovisgenitalium* 由 FAO/WHO Collaborating Centre for Animal Mycoplasma 所提供，而 *M. bovirhinis*, *M. arginini*, *M. bovis*, *M. group* sp. 7, *A. axan-thum*, *A. laidlawii*, *A. modicum* 及 *T-mycoplasma* 由日本農林水產省家畜衛生試驗場所贈與。

抗血清：上述各種菌株之抗血清仍分別由丹麥 Dr. Ernø 及日本 Dr. Hashimoto 所贈與之家兔免疫血清。

採樣、病原之分離與純化：

採樣：由臺北、桃園、苗栗、臺中、彰化、雲林、嘉義、臺南、屏東及宜蘭等縣和臺中、臺南市及高雄市轄內酪農戶及企業化畜牧場採取2—6月齡左右患有慢性呼吸器病及外觀上健康之仔牛鼻腔分泌液，置於上述之 Trypticase Soy broth 保存液中，速以冷藏輸送箱保存於4—10°C 帶返。另由桃園及臺南縣轄內酪農戶患有類似傳染性眼角膜結膜炎之牛隻採得眼分泌物，進行麥可菌目之分離。

病原分離：將試材先置於37°C 定溫水槽中感作1小時，次將其分別接種於上述 Hayflick, GS 及 TR 等培地中，經37°C 培養，每隔3—5天繼代一次，直至第3代，再將其移植於固體培地中，並置於含有5—10% CO₂ 之厭氣罐中培養3—7天，觀察菌落之形成。

分離株之純化：將在固體培地上形成之單獨菌落用血管刀連同培地採下，重新移植至液體培地中，經3次相同方法反覆操作，即得純化之菌株。

生化學性狀試驗¹¹⁾：

Sodium polyanethol sulfonate (SPS) 及 Digitonin 感受性試驗：即分別以直徑6.0mm之圓形濾紙吸取5%之 SPS 水溶液，及1.5% Digitonin 酒精溶液0.02ml，置於37°C 一夜使之乾燥。經純化待測之分離株以10³CFU (Colony formation unit) 接種於固體培地後，將上述吸取 SPS 及 Digitonin 之濾紙置於培地上，經3—7天之培養後，觀察有否發育阻止帶。本試驗係測定菌種對固醇之要求性，要求性菌株則有感受性，非要求性則否。

葡萄糖、精氨酸及尿素之分解試驗：係於 Heart infusion broth (Difco) 含有10%馬血清，5%新鮮酵母抽出液之基礎培地90ml 中加入10%葡萄糖、精氨酸及尿素液10ml，葡萄糖分解試驗用培地 pH 為7.6，其他精氨酸及尿素分解試驗用培地 pH 7.0，上述各培地以5ml 分注於螺旋蓋試管中。將待測菌種以10³CCU (Color change unit) 0.5ml 種於上述培地各2支，其中1支加入甘油。石臘等量混合液1.5ml 使成重層與空氣隔離，然後置於37°C 經1—2週之培養，隨時觀察pH 值之變化，有變化者即為陽性反應，無變化者為陰性。

Triphenyltetrazolium chloride (TTC) 之還原試驗：於 Heart infusion agar (Difco) 中含有20%馬血清及5%新鮮酵母抽出液之基礎培地中加入2%的2, 3, 5 Triphenyltetrazolium chloride 1 ml，將待測菌種10³ CFU 0.1ml 接種於該培地上，於37°C 分別以好氣及嫌氣培養之，經3—7天培養後，呈粉紅或紅色變者為陽性反應，否者為陰性。

纖維斑 (Film & spots) 產生試驗：係於含有 5% 豬血清及 10% 新鮮酵母抽出液之 Heart infusion agar 中加入 10% 之 Egg yolk emulsion (Difco)，將被檢菌株接種至本培地，經 37°C 2 週之培養，觀察有無纖維斑之形成。牛隻 Mycoplasmatales 中有 *M. bovis*, *M. bo-ovigenitalium*, *M. verecundum* 可形成，其他則否。

血清學性狀試驗：

仿 Clyde 法進行發育阻止試驗⁴⁾ (GI)：即以 6mm 直徑的濾紙吸取標準抗血清 0.025ml，置於冰箱一夜使之乾燥，再移置於已接種過待同定分離株之固體培地上，培養 3—7 天，觀察發育阻止圈的形成，若與標準血清同種，則在培地上可見阻止圈之形成，則否為異種。

依 Taylor-Robinson 法實施代謝阻止試驗³⁹⁾ (MI)：即將標準抗血清之 2 倍稀釋法，自 10 倍開始稀釋至 5,120 倍，然後將此稀釋的血清以 1.8ml 分注各試管中，加入待測之菌種 10⁸CCU 0.2ml，置於 4°C 感作一夜，再換置於 37°C 定溫箱中培養，每日觀察 pH 值之變化，與標準血清同種者，pH 值不改變，異種者，pH 值變化顯著。

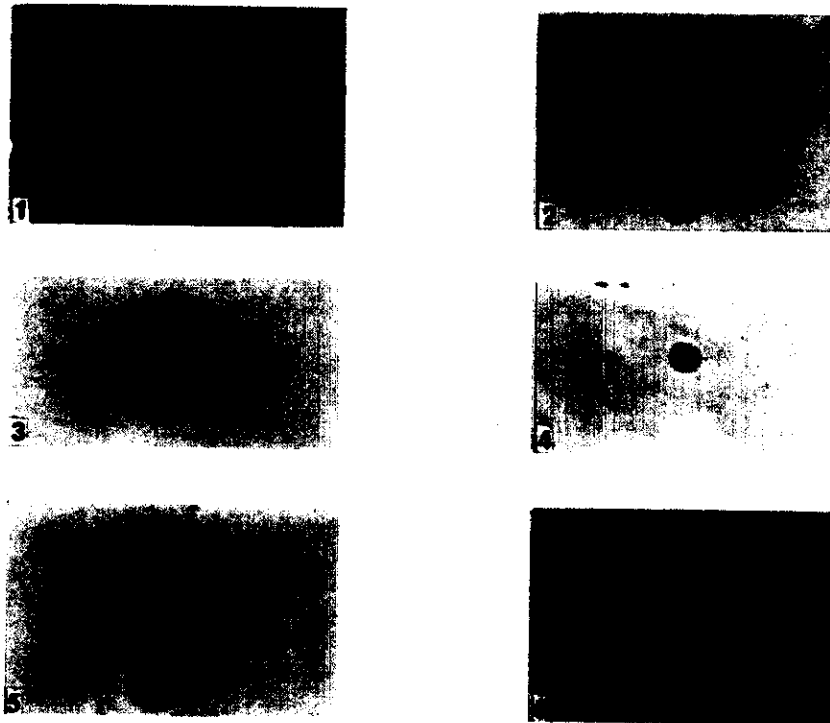


圖 1：初代分離未經純化，呈荷包蛋樣有中心乳突及顆粒無中心乳突之牛麥可菌，臺灣分離株菌落，4 天培養，×40 倍。

圖 2：經純化及同定為 *M. bovirhinis* 之臺灣分離株菌落，4 天培養，×40 倍。

圖 3：經純化及同定為 *A. laidlauni* 之臺灣分離株菌落，4 天培養，×40 倍。

圖 4：經純化及同定為 *M. dispar* 之臺灣分離株菌落呈顆粒狀，無中心乳突，6 天培養，×40 倍。

圖 5：由眼角結膜患牛分離，尚未定菌型之臺灣分離株菌落，4 天培養，×40 倍。

圖 6：*M. bo-ovigenitalium* 標準株 (NTCC 110122) 在 Edward 培地上呈纖維斑 (film & spots)，6 天培養，×40 倍。

結 果

以本菌之特徵，即在 GS 固體培地上形成荷包蛋樣而具有中央突起或無突起之菌落者（照片 1—6）共計分離出 106 例，佔 33.97%，如表 1 所示，其中由鼻腔所得分離率為 35.17%（102/290），由眼分泌物所得分離率為 18.18%（4/22），其中由 26 頭臨床上顯示呼吸症狀之仔牛中分離出 19 例，佔有 73.07% 本菌目之陽性率。

由鼻腔及眼分泌物所得分離株，經 SPS Digitonin 之感受性；葡萄糖、精氨酸及尿素分解利用性；TTC 還原性及纖維斑產生等生化性狀之測定可分為 4 羣，即 A 羣同於 *M. bovirhinis*；B 羣同於 *M. alkalescens*, *M. canadense* 及 *M. arginini*；C 羣同於 *M. dispar* 及羣同於 *M. group 7*；D 羣同於 *A. laidlawii* 之標準株生化性狀（如表 2 所示）。再經血清學試驗，所得結果有 *M. bovirhinis*, *M. nroup. 7*, *M. dispar*, *M. alkalenscens*, *A. laidlawii*, *A. modicum* 及 4 株未被鑑定的菌型，如表 3 所示。

麥可菌目在臺灣各地域之分佈情形，以 *M. bovirhinis* 之分佈最廣，皆可由各地牛隻分離出，然後依次為 *M. group 7*, *M. dispar*, *A. laidlawii*, *A. modicum*, *M. alkalenscens* 等，如表 4 所示。其中 *M. dispar* 大都由患有慢性呼吸器病之患畜（桃園縣）及雄仔乳牛集體飼養牧場（臺南縣及臺中市）分離出來。另外 *Acholeplasma* 也顯示普遍存在於牛隻之呼吸道。

表 1. 臺灣牛隻 Mycoplasmatales 分離成績

縣 市 別	檢 查 頭 數	分 離 器 官	陽 性 頭 數	百 分 比 (%)
宜 蘭 縣	7 ^{△3}	鼻 腔	1 ^{△1}	14.28
臺 北 縣	9 ^{△9}	〃	4 ^{△3} (2)	44.44
桃 園 縣	60 ^{△51}	〃	27 ^{△24} (6)	45.00
	18	眼	2	11.11
苗 栗 縣	26 ^{△21}	鼻 腔	8 ^{△5}	40.76
臺 中 縣	22 ^{△14}	〃	8 ^{△7}	36.36
彰 化 縣	28 ^{△12}	〃	7 ^{△7}	25.00
雲 林 縣	20 ^{△9}	〃	7 ^{△4}	35.00
嘉 義 縣	25 ^{△15}	〃	8 ^{△6}	32.00
臺 南 縣※	12 ^{△7} (7)	〃	6 ^{△6} (6)	50.00
	4	眼	2	50.00
屏 東 縣	18	鼻 腔	4 ^{△3}	22.22
臺 中 市※	31 ^{△31} (5)	〃	16 ^{△18} (2)	51.61
臺 南 市	10 ^{△10}	〃	3 ^{△3}	30.00
高 雄 市	22 ^{△15}	〃	3 ^{△2}	13.60
合 計	312 ^{△50} (26)		106 ^{△87} (19)	33.97

註：△3 係 2—4 月齡仔牛，數字表示頭數。

(2) 表示呈現呼吸臨床症狀患畜數字為頭數。

※為雄乳牛集體飼育場。

表2. 臺灣牛隻 Mycoplasmatales 分離株及標準株之生化學性狀

		株數 或菌型	分解利用性			TTC 還原性	纖維 斑形成	感受性		
			葡 萄 糖	精 氨酸	尿 素			SPS	Digitonin	
臺灣 分離 株	A	羣	35	+	-	-	±	-	+	+
	B	羣	2	-	+	-	-	-	+	+
	C	羣	35	+	-	-	+	-	+	+
	D	羣	34	+	-	-	+	-	+	+
標 株	<i>M. bovirhinis</i>			+	-	-	±	-	+	+
	<i>M. arginini</i>			-	+	-	-	-	+	+
	<i>M. alkalescens</i>			-	+	-	-	-	+	+
	<i>M. canadense</i>			-	+	-	-	-	+	+
	<i>M. dispar</i>			+	-	-	+	-	+	+
	<i>M. group 7</i>			+	-	-	+	-	-	+
	<i>M. bovigenitalium</i>			-	-	-	±	+	+	+
	<i>M. bovis</i>			-	-	-	+	+	+	+
	<i>A. laidlawii</i>			+	-	-	+	-	-	-
	<i>A. axanthum</i>			-	+	-	+	-	-	-
	<i>A. modicum</i>			-	+	-	+	-	-	-
<i>T-mycoplasma</i>			-	-	+	-	-	+	+	

註：+ 為陽性反應
 - 為陰性反應
 ± 反應遲緩

表3. 臺灣牛隻 Mycoplasmatales 分離株之血清學鑑定

標準抗血清	分離器官	血清學反應		
		GI*	MI**	
<i>M. bovirhinis</i>	鼻 腔		35	
<i>M. alkalescens</i>			2	
<i>M. arginini</i>			0	
<i>M. canadense</i>			0	
<i>M. dispar</i>			12	
<i>M. group 7</i>			19	
<i>M. bovigenitalium</i>			0	
<i>M. bovis</i>			0	
<i>A. laidlawii</i>			21	
<i>A. axanthum</i>			0	
<i>A. modicum</i>			13	
<i>T-mycoplasma</i>			0	
Unidentified		眼		4

註：* GI 係在抗血清濾紙周圍形成發育阻止圈者。

** MI 係於抗血清20倍以上代謝阻止者。

表4. 臺灣牛 Mycoplasmatales 之分佈

縣市別	<i>M. bovirhinis</i>	<i>M. group 7</i>	<i>M. dispar</i>	<i>M. alkalescens</i>	<i>A. modicum</i>	<i>A. laidlawii</i>	unidentified
宜蘭縣	1						
臺北縣	2 ^{Δ1}		1 ^{Δ1}			1	
桃園縣	12 ^{Δ5}	4	4 ^{Δ4}	1	4	2	2
苗栗縣	2	2			1	3	
臺中縣	2	1	1		2	2	
彰化縣	2	3				2	
雲林縣	1	4		1		1	
嘉義縣	2	3	1		1	1	
臺南縣※	4 ^{Δ3}		2 ^{Δ2}				2
屏東縣	1				1	2	
臺中市※	4	2	3 ^{Δ3}		3	4	
臺南市	1				1	1	
高雄市	1					2	
合計	35 ^{Δ9}	19	12 ^{Δ10}	2	13	21	4

註：△1 係表示呈現呼吸臨床症狀患者，數字為頭數。

※為雄乳牛集體飼育場。

討 論

由本省13個地區之312檢體中，共得106例本菌目之分離株，其分離率達 33.97%。其中的地區高達45—50%，但也有僅及13.6%，故其分離率之變化甚大。據實地之疫情調查發現，設備及衛生管理差，羣飼密度大和年齡介於2—4月齡左右者，其分離率較高，（平均約達 42.43%），又已呈臨床症狀如：咳嗽、流鼻液等患者大致皆可分離出本菌目，分離率為 73.07%，反之設備及衛生管理較好，飼養密度小及年齡在5月齡以上者，其分離率較低，（平均約達15.29%），此項調查與 Harbourn 等²³⁾ Dawson⁷⁾ Mensik & Jurmanova³¹⁾ Livingston³⁰⁾ Shimizu 等⁴³⁾ 和 Gourlay & Houard¹⁵⁾ 等強調幼齡仔牛集團飼養為易感染本病之看法一致。

由鼻腔分離之102例分離株，經生化學性狀及血清學試驗，鑑定其菌型，得知 *M. bovirhinis* 佔的比率最高為34.31% (35/102)，*A. laidlawii* 次之為20.58% (21/102)，此外 *M. group 7* 仍有18.62% (19/102) 而 *M. dispar* 僅佔11.76% (12/102)。據 Gourlay 等²¹⁾ Howard 等²⁶⁾ Ruhnke & Van Drumel³²⁾ 及 Livingston³⁰⁾ 等試驗結果，仔牛麥可菌性肺炎主要病原體為 *M. dispar*，*M. bovis* 及 *Ureaplasma* sp 等，本實驗雖未由仔牛分離出 *M. bovis* 及 *Ureaplasma*，但 *M. dispar* 則大都由患有慢性呼吸器病之集團飼養的牛羣中分離出，且可能為慢性呼吸器疾病之主凶。Gourlay & Thomas¹⁹⁾ 謂 *Ureaplasma* 主要存在下部氣道上，故在上部氣道（鼻腔）之分離率較困難，筆者等此次僅由鼻腔而未由肺材分離病原，故 *Ureaplasma* 之於臺灣牛隻存在與否，尚有待來日追試。又 *M. bovis* 為麥可菌性乳房炎之主要病原體，Gourlay & Howard¹⁵⁾ 經氣道人工接種，可造成細支氣管周圍之細胞浸潤病巢，致於野外病例則不如 *Ureaplasma* 及 *M. dispar* 之普遍。目前臺灣乳牛之乳房炎相當猖獗，*M. bovis* 是否為主要病原之一，有待將來之調查。仔牛肺炎中經常可分離出 *M. bovirhinis*，雖單獨引致肺炎之可能性；迄今仍未明確，但其機會感染菌 Opportunistic invader 或為肺炎增惡菌 Stimulator，却是大家所公認的。本次試驗以 *M. bovirhinis* 及 *M. group 7* 之分離率較高，因其已被證實可發乳房炎，在臺灣乳牛事業之發展前提下，實應加以重視。此外，*Acholeplasma* 也分離不少，其對牛隻之為害仍未明瞭，故未受重視。

另由桃園及臺南縣轄內酪農戶患有類似傳染性眼角膜結膜炎之牛隻分離出 *Mycoplasma* sp 4株，其生化學性狀相同，但其血清型相同與否尚未鑑定。Jones & Litile²⁷⁾ 首由牛傳染性角膜炎 (Infectious bovine kerato-conjunctivitis; IBK) 分離出 *Moraxella bovis*，並經再現試驗成功以來，一直被公認 *Mo. bovis* 為本病之主要病原菌，其實近年來相繼由 IBK 中分離出 *Rickettsia* 或 IBK 病毒之報告，Gourlay & Thomas¹⁸⁾ 曾由 IBK 病例分離出 *Ureaplasma* sp 及 *M. bovirhinis* 且其分離率更較 *Mo. bovis* 為高，Langford & Dorward²⁸⁾ Langford & Leach²⁹⁾ 也由本病分離出 *M. bovocuii*，Gourlay 等²⁰⁾ 分離出 *M. vercundun*，後藤等¹⁾ 分離出 *Ureaplasma* sp., *M. bovirhinis* 及 *M. br-vigenitalium* 等 3 種菌型。故 *Mycoplasmatales* 之對牛隻引起 IBK 之問題逐漸被重視。

由牛隻鼻腔及類似 IBK 病例中分離 *Mycoplasmatales*，本省尚屬首次。雖不能明確肯定所分離之本菌目，乃為各類疾病之病因，但仍需加以注意。今後對自然發生例，必須加強病原檢索。又本菌之直接分離困難且費時，故血清學診斷在臨床應用上有其必要，用為診斷之抗原必須開發研製，筆者等擬將繼續加強這方面之研究。

誌 謝

本試驗承蒙行政院農發會之經費補助 (71農建—4.1—59之1) 行政院公教人員出國進修甄試委員會，給予赴日本麻布大學進修及農林水產家畜衛生試驗場修習牛隻 *Mycoplasma* 症，且蒙麻大教授田中享一博士，家畜試驗室長橋本和典博士，同場室長佐藤靜夫博士之殷切指導與鼓勵，得於返國

後進行本項試驗謹申謝忱。又丹麥 Aarhus 大學教授 Dr. Ernø 之提供標準血清、菌株及熱誠提供寶貴研究資料，並蒙臺北、桃園、苗栗、臺中、彰化、雲林、臺南、屏東、宜蘭等縣及臺中、南市與高雄市家畜疾病防治所協助採樣，使本試驗得以順利完成，亦表深沈謝意。

參考文獻

1. 後藤一一，橋本和典，木鶴眞人・1979・牛の傳染性角結膜炎例からのマイコプラズの分離。麻獸大研報 4；211~217。
1. Blom, E. and H. Ernø. 1967. Mycoplasmosis: Infections of the genital organs of bulls. Acta. Vet. Scand. 8, 186—188.
3. Brookbanks, E. O, M. E. Carter and J. T. S. Holland. 1969. Mycoplamastitis New Zealand Vet. J. 17: 179—180.
4. Clyde, W. V., 1964. Mycoplasma species identification based upon growth inhibition by specific antisera. J. Immun. 92: 958—954.
5. Connole, M. D., L. Laws and R. K. Hart. 1967. Mastitis in cattle caused by a mycoplasma sp. Aust. Vet. J. 43, 157—162.
6. Davidson, I. and P. Stuart. 1960. Isolation of a mycoplasma-like organism from an outbreak of bovine mastitis. Vet. Rec. 72: 766.
7. Dawson, P. S., P. Stuart., J. H. Darbyshire., W. H. Parker and C. T. McCrea. 1966. Respiratory disease in a group of intensively reared calves. Vet. Rec. 78: 543—546.
8. Donker-Voet, J. and A. Van den Burg, 1967. Bovine mastitis caused by mycoplasma. Tijdschr. Diergencesk. 92: 619—638.
9. Edward, D. G. ff., J. L. Hancock and S. L. Hignett. 1947. Isolation of pleuropneumonia-like organisms from the bovine genital tract. Vet. Rec. 59: 329—330.
10. Ernø, H. and K. Jurmanova. 1973. Bovine mycoplasmas: Serological studies by double immunodiffusion, growth precipitation and growth inhibition. Acta. Vet Scand. 14: 524—537.
11. Ernø, H. and L. Stipkovits. 1973. Bovine mycoplasmas: Cultural and Biochemical studies. I. Acta. Vet. Scand 14: 436—449.
12. Ernø, H., K. Jurmanova and R. H. Leach. 1973. Bovine mycoplasmas: A serological study by the metabolic inhibition test. Acta. Vet. Scand. 14: 511—523.
13. Ernø, H., W. N. Plastringe and M. E. Tourtelotte. 1967. Mycoplasma: Isolation from prepuce and semen of bulls. Acta. Vet. Scand. 8: 123—135.
14. Courlay, R. N. 1968. The isolation of Tstrain of mycoplasma from pneumonic calf lungs. Res. Vet. Sci. 9: 376—377.
15. Gourlay, R. N. and C. J. Howard. 1979. Bovine mycoplasmas. in "The mycoplasmas" edited by Tully, J. G and Whitcomb. R. E. Academic Press, New York, London, 49—102.
16. Gourlay, R. N. and R. H. Leach. 1970. A new mycoplasma species isolated from pneumonic lungs of calves. (Mycoplasma dispar sp. nov.) J. Med. Microbiol. 3: 111—123.
17. Gourlay, R. N, C. J. Howard and J. Brownlie. 1972. The production of mastitis in cows by the intramammary inoculation of T-mycoplasmas. J. Hyg., Camb. 70: 511—521.
18. Gourlay, R. N. and L. H. Thomas. 1969. The isolation of large colony and T-strain mycoplasmas from cases of bovine keratocconjunctivitis. Vet. Rec. 19: 416—417.
19. Gourlay, R. N. and L. H. Thomas. 1970. The experimental production of pneumonia in calves by the endobronchial inoculation of T-mycoplasmas. J. Comp Pathol. 80: 585—594.
20. Gourlay, R. N., R. H Leach and D. J. Howard. 1974. Mycoplasma verecundum, a new species isolated from bovine eyes. J. Microbiol. 81: 475—488.

21. Gourlay, R. N., L. H. Thomas and C. J. Howard. 1976. Pneumonia and arthritis in gnotobiotic calves following inoculation with *M. agalactide* subsp. *bovis*. *Vet. Rec.* 98, 506—507.
22. Hale, H. H., C. F. Helmboldt, W. N. Plastringe and E. F. Stula. 1962. Bovine mastitis caused by a mycoplasma species. *Cornell Vet.* 52: 582—591.
23. Harbourne, J. F., D. Hunter and R. H. Leach. 1965. The isolation of mycoplasma from bovine lunns and nasal swabs *Res. Vet. Sci.* 6: 178—188.
24. Hayflick, L. 1965. Tissue cultures and mycoplasmas. *Texas Rep. Biol. Med.* 23: 285—303.
25. Hjerpe, C. A. and H. D. Knight. 1972. Polyarthritis and synovitis associated with mycoplasma bovimastitidis in feedlot cattle. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 160: 1414—1418.
26. Howarc, C. J., R. N. Gourlay, L. H. Thomas and E. J. Stotl. 1976. Induction of pneumonia in gnotobiotic calves following inoculation of *M. dispar* and ureaplasmas. *Res. Vet. Sci.* 21: 227—231.
27. Jones, F. S. and R. B. Litile. 1923. An infectious ophthalmia of cattle. *J. Exp. Med.* 38: 139—148.
28. Langford, E. V. and W. J. Dorward. 1969. A mycoplasma isolated from cattle with infectious bovine keratoconjunctivitis. *Can. J. Comp. Med.* 33: 275—279.
29. Langford, E. V. and R. H. Leach. 1973. Characterization of mycoplasma isolated from infectious bovine keratoconjunctivitis *M. bovoculi* sp. nov. *Can. J. Microbiol.* 11: 1435—1444.
30. Livingston, C. W. J. 1972. Isolation of T-strain of mycoplasma from Texas feedlot cattle. *Amer. J. Vet. Res.* 33: 1925—1929.
31. Mensik, J. and K. Jurmanova. 1970. Occurrence of mycoplasma bovirhinis in connection with pneumonia of calves. *Abstr. Xth Conf. Tax. Bact. Mycopl.*: 10—11.
32. Rhunke, H. L. and A. A. Van Drumei. 1972. The isolation of T-mycoplasma from pneumonic lungs of a calf. *Can. J. Comp. Med.* 36: 317—318.
33. Shimizu, T. and H. Nagatomo. 1977. Isolation of mycoplasma and unstable L-forms from sporadic bovine mastitis. *Jap. J. Vet. Sci.* 39: 581—585.
34. Shimizu, T., D. Nosaka and N. Nakamura. 1973. An enzootic of calf pneumonia associated with *M. bovirhinis*. *Jap. J. Vet. Sci.* 35: 535—537.
35. Simmons, G. C. and I. A. Y. Johnston. 1963. Arthritis in calves caused by mycoplasma sp. *Aust. Vet. J.* 39: 11—14.
36. Singh, U. M., P. A. Doig and H. L. Ruhnke. 1971. Mycoplasma arthritis in calves *Can. Vet. J.* 12: 183—185.
37. Stuart, P., I. Davidson, G. Slavin, F. A. Adgson and D. Howell. 1963. Bovine mastitis caused by mycoplasma. *Vet. Rec.* 75. 59—64.
38. Taylor-Robinson, D., D. A. Haig and M. H. Williams, 1967. Bovine T-strain mycoplasma. *Ann N. Y. Acad. Sci.* 143: 517—518.
39. Taylor-Robinson, D., D. H. Purcell, D. C. Wong and R. M. Chanock, 1966. A colour test for the measurement of antibody to certain mycoplasma species based upon the inhibition of acid production. *J Hyg.* 64: 51—104.

STUDIES ON BOVINE MYCOPLASMOSIS IN TAIWAN:

I. Isolation and Identification of Mycoplasmatales

Jei-fu Su¹, Suh-jen Chen¹, Shuh-ji Liaw¹, Jian-cherng Cheng¹,
Tzu-huey Fuh¹, Cheng-I Liu², Pan-chin Lin³

A total of 290 nasal swabs were sampled from calves, healthy or with signs of chronic respiratory distress, age between 2 to 6 months old, distributed to different daily farms from 13 districts of Taiwan. Of which, 102 strains belonged to mycoplasmatales were isolated (isolation rate: 35.17%) and identified, biochemically and serologically, as follows:

<i>Mycoplasma bovirhinis</i>	35 (strains)
<i>M. group 7</i>	19
<i>M. dispar</i>	12
<i>M. alkalescens</i>	2
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	21
<i>A. moodicum</i>	13

Besides, 4 unidentified strains of *mycoplasma* sp. were also isolated from the conjunctival discharge of 22 cows with infectious bovine kerato-conjunctivitis-like lesions.

1 From Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

2 From Department of Veterinary Medicine, National Chunghsin University.

3 From Council for Agricultural Planning and Development.