

台灣牛隻 *Babesia bigemina* 感染症免疫 抗原研製與應用

蘇杰夫¹ 劉敏主¹ 陳忠松¹ 彭少雄² 許天來³

台灣省家畜衛生試驗所

就台灣分離之 *B. bigemina* 住血病原蟲，經人工接種痛脾牛，俟發病，原蟲寄生率達 $10^3 \sim 10^6 / \text{mm}^3$ 時放血、收集原蟲感染血液。部份血液經溶血、集蟲、依凍結與解凍法使其失去活性後與 DEAE Dextran 佐劑混合製成不活化抗原；另部份血液經濃縮，以含牛血清 PBS 液配製成活性抗原。為究明該等抗原之安全與免疫性，對本症無感染及污染牧場牛群施以接種，結果，經不活化抗原接種陰性牛群，部份於第二週起可測得 4 倍 CF 抗體，第四週有 4~8 倍，隨即下降，至第十二週陰轉；陽性牛群，則效果不顯著。活性抗原接種陰性牛群，亦於第二週產生 CF 抗體，第八週達高峯，且持續至第二十週仍有 4 倍以上 CF 抗體，陽性牛群之抗體則延遲至第八週始見產生，但抗體之變化不如陰性牛群顯著。除小部份牛隻對活性抗原有輕度熱反應外，其他牛隻皆無任何不良反應，且大致於第二週起可檢出原蟲，第四週高峯，第八週起消失，不活化抗原者皆無原蟲出現。本項試驗證實研製免疫抗原俱有安全與免疫性，而活性抗原可賦予接種牛隻相當程度的免疫抗體。

牛焦蟲病主要病原蟲有 *Babesia bovis*, *B. argentina*, *B. berbera*, *B. major*, *B. bigemina* 及 *B. ovata* 等，其中 *B. berbera*, *B. bovis* 及 *B. argentina* 係屬同種異名，本症主要引起牛隻之急性或慢性發熱、貧血、黃疸、血色素尿等特殊臨床症狀，除直接對牛隻致死損失外，尚有間接地對乳、肉之生產能之低下，須經長期間才能恢復正常，且疾病時賦予治療、護理之人力、財力等成本增加及其他病原二次感染引起併發症等之經濟損失至鉅。吾國當前酪農牛隻之繁殖，大致採人工受精母牛，俟分娩直後，將初生小母牛送往台糖公司畜產研究所採集體飼育，至成牛時再配種，俟懷胎後運還酪農戶飼養，由於牛隻於斯，經較科學化、企業化之衛生飼養管理，非但降低飼養成本，且減少因疾病致死之損失，故甚受一般小規模酪農戶所贊同，然這些代養牛隻均無俱有焦蟲之免疫抗體，而台灣大部份地區皆有本症之污染，故將這些代養本症陰性牛隻放養至酪農戶飼養之際，往往遭致感染本症死亡；另由國外引進懷孕乳牛，若亦為無本症抗體持有牛隻，俟運至酪農戶或牧場放飼時，也常遭厄運，為防止無謂損失，唯有對這些異動牛隻，施予本病抗原之免疫，俟產生免疫抗體而獲得保護力，以期減低本症所致之損失，故於養牛事業發展前提下本症之預防措施實為一重要的課題。

本症主要係由牛壁蝨 tick 之媒介傳染，然各種原蟲皆有其固有寄生媒介宿主，如 *B. bovis* 及 *B. bigemina* 係由 *Boophilus microplus* 經其卵而至次代幼或小壁蝨傳染而感染本症，*B. ovata* 則由 *Haemaphysalis longicorus* 經卵至幼壁蝨媒介感染。故對本症在防範上曾有專家們主張媒介昆蟲之撲滅，且美國也曾對牛群施以藥浴而絕滅本症獲得成功；但由於各種原蟲之媒介宿主之不同，其習性相異，且感染媒介期也不同，擬依驅除媒介昆蟲之措施而期絕滅本症似有困難，如吾國酪農戶雖每年對牛群也行定期之藥浴，結果迄今本症仍就發生，再則對牧野藥劑之散佈，也將造成環境污染及殘留於畜產品之藥物，其對人畜之安全等問題仍是不可忽略，故對壁蝨之驅除於吾國實施上仍有困難。因此免疫用抗原之開發與應用是以所切望的。

有關原蟲類免疫學的預防法，自古迄今仍經常被探討著，如人類的瘧疾、雞之球蟲等原蟲症之免疫，除感染免疫以外的預防效果皆不甚理想，焦蟲症也當不例外，*Babesia* spp. 經常以 *Premunition* 的型態存在牛隻體內，致成終身免疫，因此常被應用，就感染牛血液直接接種牛群之方式以

控制本症的發生，然免疫抗原之開發，先進國家已有不活化^{17,20,22}，高度免疫血清¹⁸及活性免疫抗原之研究⁴⁻⁹，更有組織人工培養法之發展以期免疫抗原之研製¹⁰⁻¹²。由於迄今台灣尚未有效之預防方法，為應目前緊急預防使用所需，筆者等認為先取較俱實際且快速簡便方法研製抗原，期早日對本症發生能予控制為重，而其他較費時之人工培養法之研究發展，尚待來日探討，故先就 *B. bigemina* 台灣分離株人工感染摘脾牛所得之感染血液，仿 Mahoney¹⁵⁻¹⁷ (1967)，Callow & Mellors⁷ (1966) 及 Timms²⁴ (1981) 等方法研製不活化及活性免疫抗原，於田間之比較試驗並以評估其實際效果，供為當前台灣牛群本症緊急預防應用之依據。

材料與方法

供試原蟲株：

B. bigemina 係筆者於 1983 由台灣南部 H 牧場之肉牛分離者，經人工接種摘脾牛已四代，其對摘脾牛仍俱有病原性，經人工接種後，第 4~5 天發症，除以牛隻接種繼代保蟲外，尚依南氏法將感染血液行急速凍結保存。

人工感染用及免疫試驗用牛隻：

①人工感染牛：3~4 月齡荷蘭種仔公牛，經 Br、TB 及牛白血病等傳染病抗體測定為陰性反應者，於供試前經麻醉，外科手術摘除脾臟，經 10~14 天之護理療養復元後使用。

②免疫試驗牛：選取台糖公司畜產研究所 52 頭 1~1.5 年齡之肉用中齡牛；桃園縣內本症污染 W 牧場之 84 頭 1.5 年齡以上成牛及 C 牧場 12 頭 4~5 月齡之進口荷蘭種乳仔處女牛（抗體陰性）。

免疫用抗原之製作及免疫：

免疫用抗原：*B. bigemina* 人工接種上述摘脾牛，俟體溫上升至 41℃ 以上，發症、血中原蟲出現率達高峯 ($10^9 \sim 10^4$ /mm³) 之際全放血，採取感染血液，分成兩部份處理。

①不活化免疫抗原：感染血液，經遠心洗滌、溶血、收集原蟲體，依凍結與解凍方式，使原蟲不活化後，加入 DEAE Dextran (50 mg/ml) 混合製成不活化免疫抗原，置 4℃ 保存備用。

②活性免疫抗原：感染血液，經遠心所得之紅血球，依 Callow & Mellors (1966) 及 Timms (1981) 等法，將此濃縮之感染血球加入 10% 牛血清 PBG (含 2.7% Glucose 之 PH7.2 PBS)，配製成活性免疫抗原，於 4℃ 保存備用。

野外牛群之免疫：台糖公司畜產研究所之 50 頭及桃園縣轄 W 牧場 80 頭牛隻，各等分成兩組，分別以 4 ml 之不活化及活性免疫抗原皮下注射；另桃園縣轄 C 牧場 10 頭仔牛則接種活性免疫抗原，各牧場分別以 2、4 及 2 頭未接種牛，供做對照。供試牛隻於抗原注射後，選取固定牛隻於 1、2、4、8、12、16 及 20 週採血，做血液塗抹片及血清分離，供病原蟲之檢查及血中抗體測定，同時注意其臨床症狀及體溫之變化，供為安全性探討之依據。

血清反應抗原與補體結合抗體測定：

B. bigemina CF 抗原：係筆者等³⁾ 依 Mahoney 及 Minami 等²¹⁾ 法，將感染 *B. bigemina* 之紅血球的原蟲中之可溶性物質抽出製成 CF 抗原，加入適量之防腐劑 (1/10,000 之 Thimerosal) 置 4℃ 或 -20℃ 保存備用。

補體結合抗體測定：係上述 CF 抗原，經 Box titration 後，取 2 單位之稀釋倍，依 Mahoney¹⁵⁻¹⁶⁾ Minami 等²¹⁾ 方法，即受檢血清經非働化，稀釋成 4~128 後，各取 0.025 ml 與 2 單位 CF 抗原 0.025 ml，2 單位補體 (以含有 1% 仔牛血清稀釋液稀釋) 0.05 ml 混合後，置 4℃，經 16~20 小時之冷溫感作，翌日取出置於 25℃ 室溫 10 分鐘後，再加入 0.05 ml 溶血系，經振盪混合，置 37℃ 含濕箱內反應 30 分鐘，再經 1,000~1,500 rpm 10 分鐘遠心，判讀，血清 1:4 以上呈 100% 阻止溶血者為陽性反應。

試驗成績

一試製 *B. bigemina* 免疫抗原對陰性牧場牛隻之免疫：

台糖公司畜產研究 *B. bigemina* 陰性牛隻經免疫抗原接種后，不活化抗原免疫群，在臨床症狀上，無任何不良反應，血中 *B. bigemina* 之檢索也呈陰性，採血測得之 *B. bigemina* CF 抗體，部份牛隻於第二週即可測得 4 倍抗體，第四週為 4~8 倍，第八週呈下降趨勢，至第十二週全例陰轉；活性抗原免疫群，除部份牛隻在臨床症狀上有輕度體溫（39.5~40℃）反應外，其餘皆正常，血中 *B. bigemina* 於第一週即可檢出，第二~四週大致全例可檢出 *B. bigemina*，第八週即逐漸消失，第十二週起呈陰性，血中 CF 抗體也於第二週即出現，第八~十二週達 4~32 倍，第二十週時仍全例維持於 4~16 倍間，如表一及圖一所示。

表一 試製 *B. bigemina* 免疫抗原對陰性牧場 1~1.5 齡牛隻之免疫

抗原別	牛隻號碼	臨床症狀 ^a	血中 <i>B. bigemina</i> ^b (週)								CF 抗體價 ^c (週)												
			0	1	2	4	8	12	16	20	0	1	2	4	8	12	16	20					
活 性 抗 原	2111	—	—	—	±	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	8	4	4	
	2905	—	—	—	±	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	8	4	4	
	2601	±	—	±	++	++	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	16	16	32	16	8
	2701	±	—	±	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	16	16	32	16	16
	2711	±	—	+	++	++	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	16	8	8	4
	3213	—	—	—	±	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	16	4	4
	1201	—	—	—	—	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	4	4
	21007	—	—	—	±	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	4	4
	1105	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	4	4
	2603	±	—	+	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	16	32	32	16
不 活 化 抗 原	2903	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2704	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	4	—	—
	2705	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	—	—	—
	2706	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2702	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	4	—	—
	2604	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—
	11031	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	—	—	—
	2904	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—
	2906	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—
	2708	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
對 照	2908	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2909	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

註：a.—：表示一切正常，無任何不良反應。

±：體溫為 39.5~40℃。

+

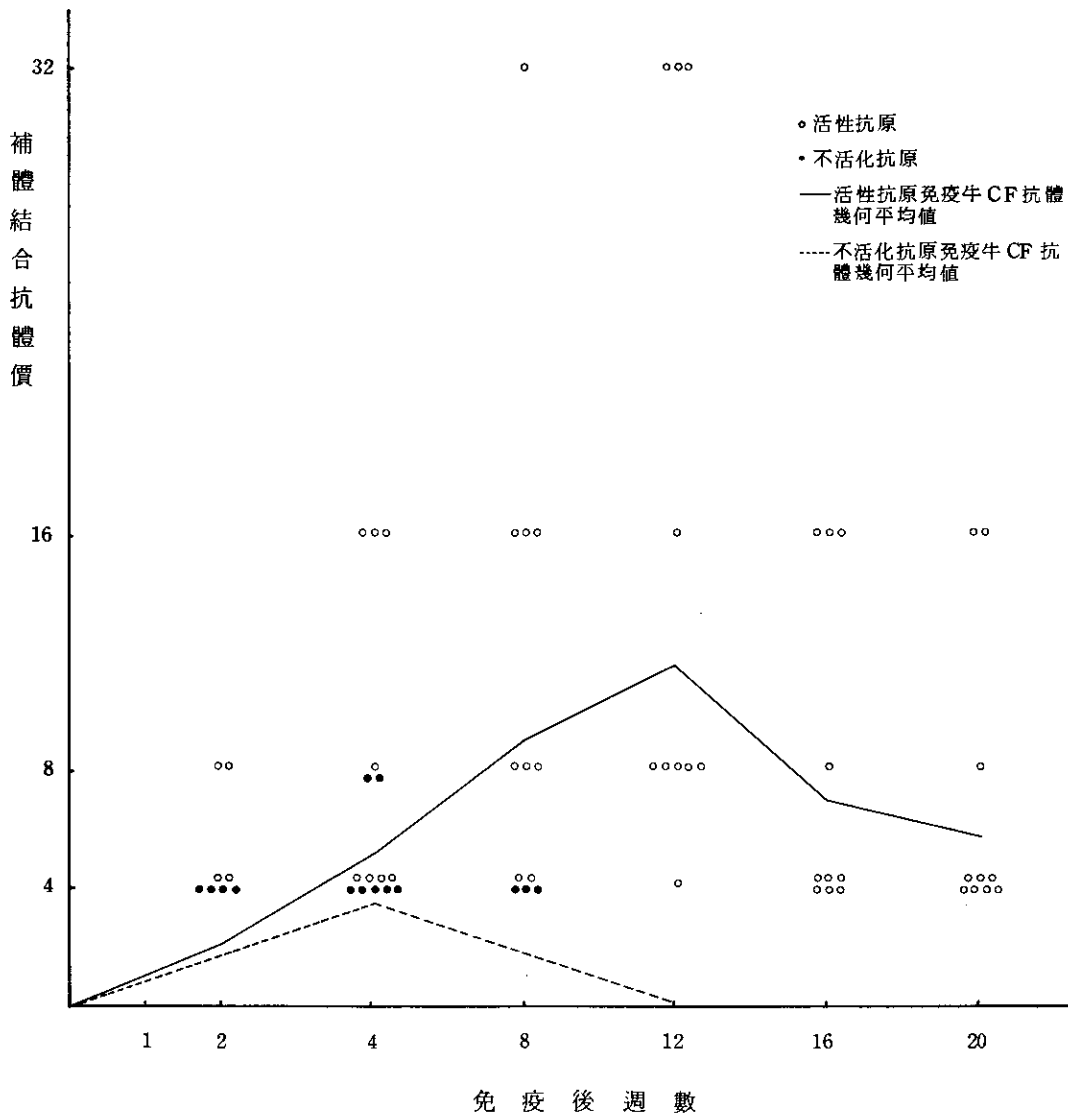
b.—：表示血中 *B. bigemina* 陰性。

±：100 視野中可檢出 1 個蟲體。

+

++：10 視野中有 5 個以上蟲體。

c.—：即 4 倍血清呈溶血反應者，數字為血清稀釋倍數 100% 呈阻止血球溶血反應者。

圖一 試製 *B. bigemina* 免疫抗原對陰性牧場 1~1.5 齡牛隻免疫抗體之消長

三、試製 *B. bigemina* 免疫抗原對污染牧場牛隻之免疫：

桃園縣轄 W 牧場為 *B. bigemina* 發生牧場，牛隻經試製免疫抗原接種后，不活化抗原免疫群在臨床上，血中 *B. bigemina* 檢索皆呈陰性，CF 抗體未見任何變化；活性抗原免疫群，在臨床上也無任何反應，血中 *B. bigemina* 則部份牛隻於第八週可檢出，CF 抗體僅現於血中檢出 *B. bigemina* 之牛隻有抗體上升傾向，但原持有高抗體之牛隻反而下降，如表二及圖二所示。另就 C 牧場 4~5 月齡之進口仔乳牛，經活性抗原接種后，部份牛隻呈體溫上升（40~40.5℃），血中 *B. bigemina* 於第一週即出現，第二週全例陽性，維持至第四週，第八週開始消失，第十二週起開始陰轉，CF 抗體也於第一週起產生，第四~八週達頂點，4~32 倍，至第二十週仍維持 4~16 倍間，如表三及圖三

所示。

表二 試製 *B. bigemina* 免疫抗原對污染牧場 1.5 年齡以上乳牛之免疫

抗原別	牛隻號碼	臨床症狀 ^a	血中 <i>B. bigemina</i> ^b (週)								CF 抗體價 ^c (週)							
			0	1	2	4	8	12	16	20	0	1	2	4	8	12	16	20
活 性 抗 原	541	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16	16	8	4	8	8	8	4
	542	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	4	16	16	16
	543	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	8	4	4	4	16	16	8
	544	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	4	16	8	8
	545	—	—	—	—	—	±	—	—	—	4	4	—	—	—	8	16	8
	546	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	8	4	4	4	8	8	4
	547	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	4	16	16	8
	548	—	—	—	—	—	—	+	—	—	16	8	8	4	4	16	16	8
	549	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	8	16	16	16
	550	—	—	—	—	—	—	+	—	—	4	—	—	—	4	8	16	8
不 活 化 抗 原	591	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	—	—	—	—	—	4
	592	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	4	—	—	—
	593	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	—	—	—	—	4	4
	594	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	8	4	—	—	—	4	4
	595	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16	8	4	—	—	—	4	8
	596	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	—	—	—	—	—	—
	597	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16	8	4	—	—	—	4	8
	598	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	4	4	—	—
	599	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	4	4	—	—
	560	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	4	—	4	4	—	4	8
對 照	501	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	8	8	4	4	4	4
	502	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	4	4	4	4
	503	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16	16	8	8	4	4	8	4
	504	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	8	4	4	8	8	4	4

註：a. —：表示一切正常，無任何不良反應。

±：體溫為 39.5 ~ 40 °C。

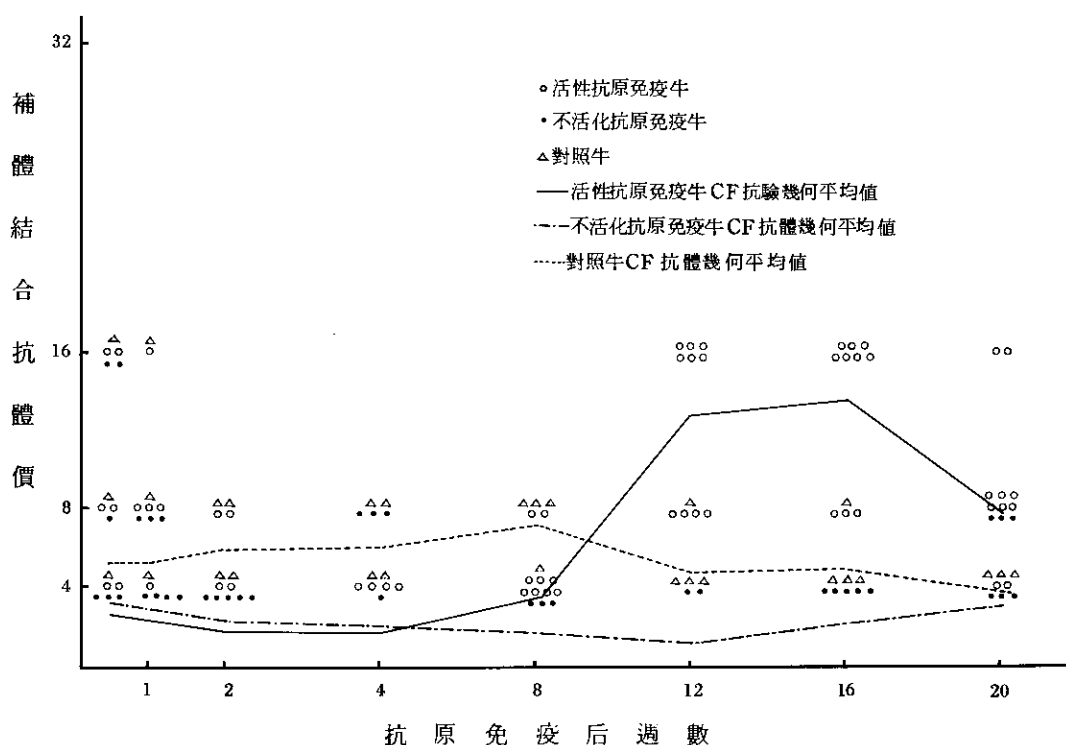
+：體溫 40 ~ 40.5 °C。

b. —：表示血中 *B. bigemina* 陰性。

±：100 視野有 1 個蟲體。

+：100 視野有 5 ~ 10 個蟲體。

c. —：即 4 倍血清呈溶血反應者，數字為血清稀釋倍數 100 %
呈阻止血球溶血反應者。

圖二 試製 *B. bigemina* 免疫抗原對污染牧場1.5 年齡以上乳牛之免疫抗體消長表三 試製 *B. bigemina* 免疫抗原對4~5月齡進口仔乳牛之免疫

組別	牛隻號碼	臨床症狀 ^a	血中 <i>B. bigemina</i> ^b (週)								C F 抗體價 ^c (週)							
			0	1	2	4	8	12	16	20	0	1	2	4	8	12	16	20
免疫組	C101	-	-	-	±	+	±	-	-	-	-	-	4	8	8	4	4	
	C102	+	-	+	+	+	±	-	-	-	4	16	16	32	16	8	8	
	C103	+	-	+	+	+	±	-	-	-	4	32	32	32	16	16	8	
	C104	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	4	8	16	8	8	4	
	C105	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	4	8	8	4	4		
	C106	+	-	+	+	+	±	-	-	-	4	16	16	8	8	16	8	
	C107	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	4	8	8	4	4		
	C108	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	4	4	8	8	4	4	
	C109	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	4	8	16	8	8	4	
	C110	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	4	8	4	4	4		
對照組	C111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	C112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

註：a. -：表示一切正常，無任何不良反應。

±：體溫為 39.5 ~ 40 °C。

+

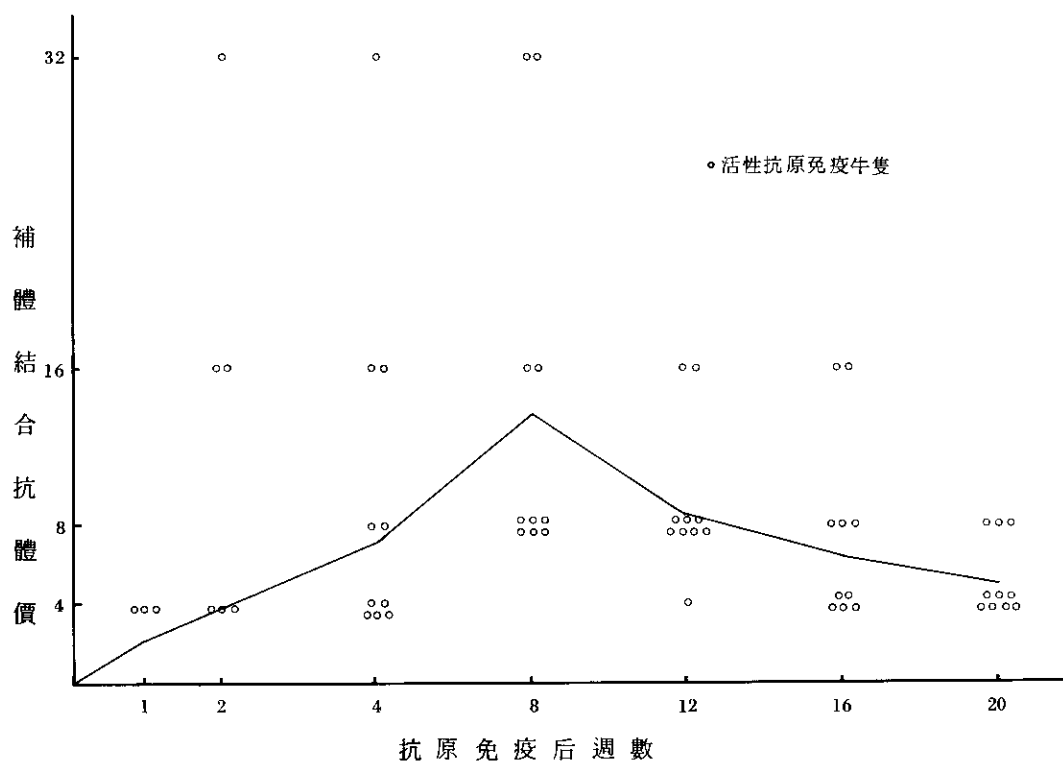
b. -：表示血中 *B. bigemina* 陰性。

±：100 視野有 1 個蟲體。

+

±：10 視野中有 5 個以上蟲體。

c. -：即 4 倍血清呈溶血反應者，數字為血清稀釋倍數 100 % 呈阻止血球溶血反應者。

圖三 試製 *B. bigemina* 免疫抗原對 4~5 月齡進口仔乳牛免疫抗體消長

討 論

Mahoney¹⁷⁾ (1967) 將 *B. argentina* 感染牛之血液，經蒸餾水溶血，聚集蟲體，凍結乾燥；Mahoney & Goodger¹⁸⁾ (1972) 仍將 *B. argentina* 用硫酸銨處理，抽取原蟲中的 plasma；Purnell 等²²⁾ (1978) 將 *B. major* 以 32~40 Krads 放射綫照射，彼等之依不同方法使原蟲失去活性，再與 Freund's complete adjuvant 混合製成不活化免疫抗原，該等抗原經十四天間隔二次接種牛隻，據試驗結果，雖可使牛隻延長強毒株攻擊后之潛伏期，也可測得血中補體結合抗體之產生，顯示該等方法不活化製成之免疫抗原俱有免疫原性，但未臻理想，迄今仍未被應用。筆者等此次將人工感染 *B. bigemina* 牛隻血液，經溶血取得之原蟲，以凍結解凍方式，使其不活化，再與 DEAE Dextran 混合，製成不活化免疫抗原，其對陰性牛隻接種后，多少有免疫 CF 抗體之產生，但力價低，持續性短，此或許僅經一次接種而已，其免疫原之量不足所致。另就陽性牛隻接種結果，反使原持有之抗體下降，甚至消失，效果不佳，故不活化免疫抗原對陽性牛群不適應用，將來就抗原之處理及佐劑添加等加以改進，或許可提高其效力，尚待探討，但筆者等本次之試驗大致與 Mahoney 氏等¹⁷⁻²⁰⁾ 之結果相似，即不活化免疫抗原對接種牛隻，雖有適當程度免疫抗體及防禦力之顯示，但免疫期短，故筆者認為欲使用不活化抗原時，其使用對象之選擇尚待考慮，且只能做短期性之免疫。Mahoney¹⁶⁾ (1967)、Mahoney 等¹⁹⁾ (1979) 證實牛隻以高劑量 *B. bovis* 之高度免疫血清接種感染牛，可抑制其血中 *B. bovis* 之增殖，且可使牛隻在緊急狀況下獲得保護力；吾國蘇氏等²⁾ (1950)、高氏¹⁾ (1951) 及 Todorovic²⁵⁾ (1974) 將 *Babesia* spp. 感染牛血液與本症化學治療藥劑併用接種牛隻，期藉化學藥品之藥力抑制原蟲增殖。其實此種以高度免疫血清及化學治療藥劑雖可有效抑制病勢，但牛隻體內免疫抗體未產生前，原蟲即被殺滅，免疫受影

響或微弱，預防效果如何？尚待檢討之點仍有必要追就。Callow & Mellors²⁾ (1966) 將 *B. argentina* 人工感染 2~8 週齡犏脾，俟原蟲出現率至 0.75~2% 時採感染血液，製成活性免疫抗原，對澳洲牛群首開活性抗原應用之先足，且效果良好。至 1979 年彼等³⁾ 更將 *B. bovis* 連續通過犏脾牛，經 11 代繼代後，該原蟲僅對犏脾牛俱有嚴重之臨床症狀發症力，但對免疫接種牛隻却極安全，目前已廣泛實際應用於澳洲全國牛群本症之預防注射⁵⁾。且更有 Timms²⁴⁾ (1981) 之開發 *B. bovis*, *B. bigemina* 及 *A. centrale* 等混合活性免疫多元化抗原，且也已於田間應用。筆者等本次依彼等之方法試製活性免疫抗原，其實際對田間牛隻之接種試驗，顯示該抗原對陰性牛群可得很好之免疫效果，牛隻至接種后第二十週仍持有免疫 CF 抗體，雖對陽性牛群之接種，有暫時性之抗體下降現象，但至第十二週起仍再度回升，迄第二十週仍全例持有 CF 免疫抗體，證實活性免疫抗原對本症防疫上當有其價值性。筆者認為原蟲在免疫上之細胞性及液性免疫之協力作用是值得重視的，牛隻雖經不活化抗原接種，可產生免疫抗體，且其安全性好，但持續性暫短為其缺點，但原蟲在動物體內之 Premunition 仍是免疫上不可疏忽的，且原蟲在體內增殖代謝產物可能是一種 exo antigen，在感染防禦上演一重要角色，此之所以筆者認為本症在預防上應著重於活性免疫抗原之使用，但若對妊娠母牛，為顧慮安全起見，先行不活化抗原之接種，俟危險期過後，再以活性抗原之接種，使原蟲能在體內產生 premunition 而獲終生免疫，但活性抗原值得顧慮的是材料牛隻常有病原微生物迷入的危險，近些年來，已有 Erp 等¹⁰⁾ (1978), Graveley 等¹²⁾ (1978), Smith 等²³⁾ (1979) 及 Erp 等¹¹⁾ (1980) 將 *B. bovis* 感染牛之血球培養於試管內，獲得人工培養成功之報告，本法可對由牛血液來之活性抗原中之病原微生物迷入之傳染危險性解除，可謂活性免疫抗原研究發展之一現曙光，惟其非簡單短期內即可實現，尚待將來進一步之探討。

參 考 文 獻

1. 高建祥 1951：奶牛焦蟲病之免疫試驗。台灣省農林廳獸疫血清製造所研究報告。5：1~4。
2. 蘇振杰，黃文池，高建祥，林本欽 1950：聯總奶牛焦蟲病免疫工作報告。台灣畜牧獸醫季刊。(1)：1~4。
3. 蘇杰夫、鄭建盛、廖述吉、林本欽 1983：台灣牛焦蟲病血清學診斷用抗原之研究。台灣省畜牧獸醫學會會報。41：45~56。
4. 大橋正之助 1942：沖繩縣下に於ける畜牛ピロプラズマ病の流行的觀察に感染治療及予防に關する試験。應用獸醫學雜誌。15：349~368。
5. 北岡茂男 1973：オーストラリアに於ける家畜害蟲マダニとバベシア病の研究事情。畜産の研究。27(3) 403~407。
6. Callow, L. L. 1977：Vaccination against bovine babesiosis. Adv. Exp. Med. Biol. 93：121~149。
7. Callow, L. L. and Mellors, L. T. 1966：A new vaccine for *Babesia argentina* infection prepared in splenectomized calves. Aust. Vet. Journal. 42：464~465。
8. Callow, L. L., Mellors, L. T. and McGregor, W. 1979：Reduction in virulence of *Babesia bovis* due to rapid passage in splenectomized cattle. International Journal for Parasitology. 9：333~338。
9. Dalglish, R. J. 1968：Field observations on *B. argentina* vaccination in Queensland. Aust. Vet. Journal 44：103~104。
10. Erp, E. E., Graveley, S. M., Smith, R. D., Ristic, M., Osorno, B. M. and Carson, C. A. 1978：Growth of *Babesia bovis* in bovine erythrocyte cultures. Am. J. Trop. Med. Hyg. 27：1061~1064。

11. Erp, E.E., Smith, R.D., Ristic M. and Osorno, B.M. 1980 : Continuous in vitro cultivation of *Babesia bovis*. Am. J. Vet. Res 41 : 1141 ~ 1142 .
12. Gravely, S.M., Smith, R.D., Erp, E.E., Conto, G. J., Aikawa, M., Osorno, M. B. and Ristic, M 1979: Bovine babesiosis : Partial purification and characterization of blood culture-derived *Babesia bovis*. Int. J. Parasitol. 9 : 591 ~ 598 .
13. Mahoney, D.F. 1962 : Bovine babesiosis : Diagnosis of infection by a complement-fixation test. Aust. Vet. J. 38 : 48 ~ 52 .
14. Mahoney, D.F. 1964 : Bovine babesiosis : An assesment of the significance of complement-fixation antibody based upon experimental infection. Aust. Vet. J. 40 : 369 ~ 375 .
15. Mahoney, D.F. 1967 : Bovine babesiosis preparation and assessment of complement-fixing antigens. Exp. parasitol 20 : 232 ~ 241 .
16. Mahoney, D.F. 1967 : Bovine babesiosis The passive immunization of calves against *Babesia argentina* with special reference to the role of complement-fixation antibodies. Exp. parasitology. 20 : 119 ~ 124 .
17. Mahoney, D.F. 1967 : Bovine babesiosis : The immunization of cattle with killed *Babesia argentina*. Exp. parasitology. 20 : 125 ~ 129 .
18. Mahoney, D.F. and Goodger, B.U. 1972 : *Babesia argentina* : Immunogenicity of plasma from infected Animals. Exp. Parasitology. 32 : 71 ~ 85 .
19. Mahoney, D.F., Kerr, J.D, Goodger, B.V and Wright, I.G. 1979 : The immune response of cattle to *Babesia bovis* (Syn. *B. argentina*) studies on the nature and specificity of protection. Internation Journal for parasitology. 9 : 297 ~ 306 .
20. Mahoney, D.F and Wright, I. G. 1976 : *Babesia argentina* : Immunization of cattle with killed antigen against infection with heterologous strain. Vet. Parasitology 2 : 273 ~ 282 .
21. Minami, T., Yamabe, K., Hayashi, S and Ishihara 1979 : Serological relationship of a Japanese *Babesia* species and *Babesia bigemina* by the complement fixation and capillary-tube agglutination tests. Vet. parasitology. 5 : 29 ~ 38 .
22. Purnell, R.E., Brocklesby, D.W. and Stark, A. J. 1978 : Protection of cattle against *Babesia major* by the inoculation of irradiated piroplasmas. Res. Vet. Sci. 25 : 388 ~ 390 .
23. Smith, R.D., Carpenter. J., Cabrera A., Gravely S.M., Erp E. E., Osorno M. B., and Ristic M. 1979 : Bovine babesiosis : Vaccination against tick-borne challenge exposure with culture-derived *B. bovis* immunogens. Am. J. Vet. Res. 40 : 1678 ~ 1682 .
24. Timms, P. 1981 : Tick fever vaccines how they are made and how to use them. Queensland Agr. journal 311 ~ 317 .
25. Todorovic, R. A. 1974 : Bovine Babesiosis : Its Diagnosis and contral. Am. J. Vet. Res. 35 : 1045 ~ 1052 .

THE PREPARATION AND APPLICATION OF BABESIA BIGEMINA IMMUNOGEN ON CATTLE IN TAIWAN

Jei-Fu Su¹, Ming-Chu Liu¹, Chung-Sung Chen¹,
Sau-Shung Pan², and Tan-Lai Shee³

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

A splenectomized cattle was experimentally infected with Babesia bigemina (Bb) isolated in Taiwan. The infected cattle was bled for Bb collection when the concentration of Bb in blood was counted to be 10^3 to 10^4 /ml at 4-7 days post infection (PI). The red cells from the half volume of blood obtained from infected cattle were lysed. The Bbs were concentrated and were frozen and thawed for their inactivation. Eventually, the inactivated immunogen (II) was prepared by adding DEAE-dextran into that Bb preparation. An activated immunogen (AI) was prepared from the rest part of blood by concentrating and mixing it with phosphate buffer saline containing glucose and calf serum.

An attempt to evaluate their safety and immunogenicity of both immunogens described above was made on 2 groups of cattle. The II was used to immunize both groups of cattle in farms with and without Bb contamination, so was the AI. The results showed that some cattle without Bb contamination produced a complement fixation antibody (CF Ab) titer of around x4 at 2 weeks PI with II. The CF Ab titer was increasing up to x4 to x8 at 4 weeks PI and dropping down to nil at 12 weeks PI. However, the CF Ab in the cattle with Bb contamination was found to be not evident following the inoculation of cattle with II.

When the cattle was immunized with AI, different results were obtained.

The Cf Ab response in cattle without Bb contamination was detectable at 2 weeks PI and the highest titer was detected at 8 weeks PI. A CF Ab titer of X4 was still detectable at 20 weeks PI. On the other hand, the production of CF Ab in cattle with Bb contamination could be detected until 8th week PI. The CF Ab titer in cattle with Bb contamination were not fluctuate in the comparison to that in cattle without Bb contamination.

Most of cattle inoculated with AI did not show any abnormal response with the exception of a few cattle that revealed fever. Generally, parasitemia was found at 2 weeks PI. It's peak was detected at 4 weeks PI and parasite (Bb) was found disapparently. On the basis of these results, it would be suggested that the immunogens prepared in this study are safe and their immunogenicity is highly evident. Furthermore, the AI can strongly induce Ab response in cattle.

