

## 台灣牛 *Theileria* 之分離及血清診斷 抗原之研製與應用

蘇杰夫<sup>1</sup> 劉敏主<sup>1</sup> 陳忠松<sup>1</sup> 許天來<sup>2</sup>

由台灣北部地區酪農戶牛群之血液經摘脾仔牛之接種，分離出 *Theileria*，將此感染牛之血液再次人工接種摘脾仔牛，仍可致牛隻呈紅血球之下降（ $350 \sim 450$  萬 /  $\text{mm}^3$ ）且呈慢性貧血症候，惟其病程輕微，無任何嚴重之臨床症狀，就此原蟲於牛體血流中之形態變化，分離之原蟲類似 *T. sergenti*。

將分離株人工感染 3~4 月齡摘脾仔牛，俟原蟲寄生率達 10% 以上時，全放血收集之血液，經溶血、集蟲、磨碎及超音波處理製成補體結合（CF）抗原，其對疑似本症牛隻血清之反應，測得具有 8 倍之力價，並對人工感染牛於本分離株接種後 2、4、8、12、16 週測得之 CF 抗體消長分別為 0、5、20、40、20。又與野外牛群採得之 203 例檢體之實例反應，得 36.6~78.2% 之陽性率，另罹患本病之 10 頭牛隻之反應，全部呈陽性反應，顯示試製之 CF 抗原具有特異性，且證實台灣牛群確保有本病之抗體。

台灣牛群感染焦蟲病，早在 1910 年首先由鳩野氏等<sup>(8)</sup> 報告以來，先後繼由兒山氏<sup>(9)</sup>，張氏<sup>(4)</sup> 及筆者等<sup>(5)</sup> 發表，確認台灣牛群中已有 *Babesia*、*Theileria*，*Anaplasma* 等住血病原體之存在，此後每年雖有零散病例發生之報告，但實際疫區之疫學狀況仍不十分明確，在防疫上造成困擾，且目前台灣更無較可靠之診斷法，僅據臨床症狀及檢血方法，常誤患畜診治時機，故一較俱確實可靠之診斷方法為迫切發展之必要，本病之血清學診斷法繁多，但較準確且廣泛應用的僅補體結合反應（Complement-fixation, CF）<sup>(10-12, 14-17)</sup>，寒天沉降反應<sup>(13, 19-26)</sup>（Agar gel precipitation; AGP）及間接螢光抗體法<sup>(6)</sup>（Indirect immunofluorescent antibody; IFA）等方法，筆者感認 CF 法在台灣牛群本病血清學診斷應用較俱實際，故選取該法，將分離之 *Theileria* 屬原蟲試製成 CF 抗原，且為探討該抗原對田間牛隻實際應用效果及明瞭台灣牛群感染本病之疫情，以評估 CF 診斷法確實價值，供為將來對本病診斷之準則及確認 *Theileria* 屬抗體分佈狀況，為本病防疫上之依據，乃進行本試驗。

### 試驗材料與方法

#### 一、供試動物：

5 頭 3~4 月齡荷蘭種仔公牛，飼於台糖公司畜產研究所養牛場，為牛布氏病，結核病，白血病及住血原蟲症陰性牛隻，其中 4 頭於試前一週，先後麻醉外科手術，摘除脾臟，經一週之護理療養復健後供試，另一頭未行脾臟切除。

#### 二、供抗體測定血清及 *Theileria* 分離之病材：

血液取自疑感染本症牧場之牛隻，共計 203 例檢體，經分離之血清，分注於小試管，置於  $-20^{\circ}\text{C}$  保存備用；供 *Theileria* 分離之毒血，係由疑患本病之牛群，每頭採血 10 ml，共採 10 頭，經脫纖混合後，置  $10^{\circ}\text{C}$  輸送箱携還本所供分離用。

#### 三、*Theileria* 原蟲之分離，人工感染及急速凍結保存：

1. *Theileria* 分離：將疑患本病牛隻之脫纖血液，30 ml 接種於上述摘脾荷蘭仔公牛頸部皮下，

1. 台灣省家畜衛生試驗所

2. 行政院農業委員會

另 10 ml 靜脈注射，隨後每天觀察其臨床症狀，量體溫，檢血製作血液塗抹片鏡檢蟲體及紅血球之計數。

2. 人工感染：將上述分離之 *Theileria* 牛隻感染毒血，再次依同法人工感染摘脾及未摘脾仔公牛各一頭，並觀察接種後之臨床變化；摘脾牛俟發症時，放血，採取 *Theileria* 感染血，供本計劃之血清反應抗原製作用；另部份則行急速凍結保存。一頭未經摘脾之人工感染牛則留做本病感染痊癒後之抗體消長測定，即於毒血接種後 2、4、8、12、16 週採血分離血清，以備抗體測定。另二頭摘脾牛則為凍結保存毒血之保存後病原性試驗。
3. *Theileria* 感染毒血之急速凍結保存：將上述人工感染發症牛隻，經鏡檢，於 1 mm<sup>2</sup> 約含有 10<sup>2</sup> 個以上原蟲時，放血，依南氏等<sup>(6)</sup>法，於 *Theileria* 感染血液中加入等量含有 20% Glycerin 之 Alsever 血球保存液，於室溫中將其分注於安瓶 (0.5 ml / 2 ml)，熔封後，置於乾冰加丙酮液急速凍結，約 15 分鐘後，改置於 -76°C 超低溫冷凍櫃，另一部份置於 -196°C 之液態氮容器中保存。

#### 四補體結合反應抗原之製備：

將上述人工接種牛之 *Theileria* 感染血液，以 0.85% 生理食鹽水，經 3000 rpm，15 分鐘 3 次遠心洗滌，收集之血球，加入其 10 倍量之 0.35% 食鹽液，置 4°C 之水槽中經 1 ~ 1.5 小時之溶血處理後，再以 0.85% 生理食鹽水液，6000 rpm，30 分鐘 3 次之遠心洗滌，收集之沉渣，經磨碎器以低速 3 分鐘之磨碎後，加入其 10 倍量之 VBS 液，以 1000 rpm 5 分鐘遠心，取上清液，次以 VBS 液，10000 rpm，30 分鐘 2 次遠心洗滌之沉渣，再反復一次之磨碎，低速遠心，高速遠心取得之沉渣，濃縮成原材料 1/50 ~ 1/100 量之 VBS 浮游液，經 20 Kc，10 分鐘超音波處理，即得 CF 抗原，分注小試管，置於 -76°C 保存備用。於使用時，再以 2000 rpm 15 分鐘遠心取上清液。

#### 五補體結合反應抗原力價測定與反應術式：

依 Minami 等<sup>(6)</sup>及筆者等<sup>(6)</sup>之 Kolmer 微量法，將 *Theileria* 人工接種非摘脾牛的血清經 56°C 30 分鐘之非動化後，以 VBS 稀釋成 5 ~ 160 倍稀釋列；受測抗原則稀釋為 2 ~ 64 倍稀釋列；將各稀釋階血清以縱行分別以 0.025 ml 注入 U 型反應盤之 6 個孔穴內，抗原亦以 0.025 ml 注入橫行 6 個孔穴內，再將含有 2% 正常仔牛血清 VBS 稀釋成 2 單位之補體液 0.05 ml 注入各混有血清抗原之孔穴內，經充分振盪混合後置 4°C，16 ~ 20 小時之感作，翌日取出振盪後，置於室溫 10 ~ 20 分鐘，加入 0.05 ml 之 2% 綿羊血球溶血系，經充分振盪混合後，置於 37°C，30 分鐘感作後，以 1000 ~ 1500 rpm 5 ~ 7 分鐘遠心，判讀其對陽性血清之 75% 以上之阻止溶血結果，於本試驗時以 2 單位應用，另就試製之 *B. bigemia* 及 *A. marginale* 之 CF 抗原及其陽性血清進行交叉反應，以證明各抗原之特異性。對野外檢體實例反應時，將各受檢血清以 VBS 稀釋成 5 倍後，以 56°C，30 分鐘非動化後，分別取 0.075 注於反應盤之橫列之第一列孔穴注 0.025 ml，第二列孔穴注 0.025 ml，第三列孔穴注 0.025 ml，再將其置於 Toyo 牌微量稀釋器上，於第三列孔穴開始稀釋，將受測血清稀釋成 5 ~ 320 倍後；從第二列孔穴起加入 2 單位之 *Theileria* 抗原液 0.025 ml，第一列孔穴則加入 0.025 ml 之 VBS 代替抗原，以便做血清之對照；再將以 2% 正常仔牛血清 VBS 稀釋成 2 單位之補體 0.05 ml 分別注入各孔穴內，經充分振盪混合後，置 4°C，16 ~ 20 小時之感作，翌日再加入 0.05 ml 2% 綿羊血球溶血液，混合後，置 37°C，30 分鐘感作，再以 1000 ~ 1500 rpm，5 ~ 7 分鐘遠心，判讀其阻止溶血反應情形，受檢血清於 5 倍稀釋呈 75% 阻止溶血者為陽性反應例。

## 結 果

### 一、*Theileria* spp. 原蟲之分離及其病原性試驗：

經野外採得疑患本症牛隻脫織毒血接種之 # 65 摘脾牛，於第 10 天體溫上升至 41°C，同時有

食慾減退之臨床症狀，紅血球數降至 400 萬/mm<sup>3</sup>，且可由血中檢出 *Babesia*，隨即注射 3ml 之 *acaprin*，翌日紅血球，體溫，食慾逐漸恢復正常，且 *Babesia* 也消失，直至第 28 天第二次發症，體溫也上升至 40.2°C，呈 39.7 ~ 40.1°C 之弛張熱型，可由血中檢出 *Theileria* 原蟲，食慾輕度減退，紅血球再度下降至 420 萬/mm<sup>3</sup> 以下，呈輕度貧血，第 32 天試殺放血，採取 *Theileria* 感染血液，部份脫纖後即刻接種 #T 66 摘脾及 #T 67 未摘脾仔牛，#T 66 於第 13 天開始呈現蟲體及臨床症狀，#T 67 則於第 18 天始呈現蟲體及臨床症狀；另部份毒血經急速凍結保存於 -76°C 及 -196°C 一個月后再解凍接種 #T 68 及 #T 69 摘脾牛，#T 68 於第 27 天，#T 69 於第 21 天呈現原蟲及臨床症狀，各牛隻之臨床症狀，紅血球變化大致相似，僅潛伏期稍有差異而已，如圖一所示，原蟲經低溫保存後，仍保有其病原性；分離之 *Theileria* 原蟲型態呈桿狀、柳葉狀、卵圓狀、環狀及四球菌型等多型體，如照片一所示，據血流中原蟲形態之變化以柳葉狀為主且淋巴球內未能檢出裂殖體 *Schizont* 來推測，本分離株以 *Theileria sergenti* 可能性居高。

### 二、試製 *Theileria* CF 反應抗原之特異性及其對人工感染牛之抗體消長：

就試製之 *Theileria* CF 抗原，與 *B. bigemina*, *A. marginale* CF 抗原及其陽性血清之交叉反應，究明其抗原之特異性，如表一所示，各抗原僅對其本身之陽性血清呈阻止溶血之反應，而對異類抗血清皆不呈阻止溶血反應，證實試製之補體結合抗原之特異性甚高。另 *Theileria* CF 抗原對分離株人工感染牛之抗體消長測定，顯示 #T 67 牛隻於第 4 週時可測出 5 倍之補體結合抗體，第 8 週為 20 倍，第 12 週達高峯為 40 倍，至第 16 週仍維持 20 倍之抗體價，如表二所示。

### 三、試製 *Theileria* CF 抗原對野外例之抗體測定：

疑患本病之 10 頭牛隻及 203 頭野外牛隻之血清與試製之 *Theileria* CF 抗原反應結果如表三所示其實例如照片二，10 頭疑患本病之牛隻，全例呈陽性反應；而外觀健康無本病臨床症狀之野外牛隻，則顯示 36.6 ~ 78.2% 之陽性率；高陽性率牧場牛隻之抗體價分佈於 20 ~ 40 倍，反之則介於 5 ~ 10 倍之間，顯示本病之發生頻率與抗體價之高低有密切之關係。

## 討 論

張氏<sup>(1)</sup>先後證實台灣發生之焦蟲病例中，同時混有 *Babesia*，*Theileria* 及 *Anaplasma* 等住血病原體。筆者等此次由新竹縣轄某牧場放牧牛群採得之血液，經人工接種摘脾牛隻，同時分離出 *Babesia* spp. 及 *Theileria* spp.，此顯示台灣牛群對住血病原體之感染不甚單純，同一牛隻也許感染二種甚至二種以上之住血病原體，已趨複雜。*Theileria* 屬中較具代表性者有 *T. parva*，*T. annulate*，*T. sergenti* 及 *T. mutans* 等四種，由於其增殖環相異，故對牛隻引起之症狀輕重必有所差異；*T. parva* 主要於淋巴球內增殖，*T. annulate* 於淋巴球及紅血球內皆可增殖，*T. sergenti* 及 *T. mutans* 不會在淋巴球內增殖，致前兩者之病原性較後兩者為強，張氏<sup>(2)</sup> (1970) 將其分離之 *Theileria* 屬 50ml 之感染牛血人工感染牛隻，由骨髓，血液及脾臟等活體組織檢查法，實施血球容積，血紅素，紅血球細胞比及血清含鐵數之測定證實本症之對牛隻引起之貧血型式，主為血管內溶血並且是一種正常血球性及正常血紅素性貧血，筆者本次之分離株對人工感染摘脾牛所致之臨床症狀，也僅止於血球之減少及呈慢性之貧血而已，顯示本症俱有之特徵，惟其潛伏期有所差異，筆者認為其或因感染原蟲血液經凍結保存，牛隻脾臟切除與否等因素致原蟲對宿主之致病性也受影響；此外本分離株僅由人工感染牛之感染病原體血液再對牛隻病理之再現上，因未經其中間宿主壁蝨體內行使有性世代之增殖，致使其對牛隻致病機序上也有差異，此之所以本次試驗上人工感染牛隻之症狀不如自然感染牛隻來得明顯。1969 年張氏<sup>(2)</sup> 以混有 *Babesia bigemina* 感染牛之血液接種荷蘭種小公牛後，於第 36 天檢出 *Theileria* 屬病原體，於第 77 天施行脾臟切除經 20 天採血再行接種牛隻，於第 9 天血流中分離出純粹之 *Theileria* 屬，且初步認為類似 *T. mut-*

ans；筆者本次之分離原也混有 *Babesia*，惟筆者等係將首度出現之 *Babesia* 先以 acaprin 予以抑制後，二度出現之 *Theileria* 屬再次接種牛隻而獲得純粹的 *Theileria* 分離株，前者係經以 Stress 及摘脾而誘發 *Theileria* 之分離；而後者係以化學療法先行抑制 *Babesia* 屬之發育而促使 *Theileria* 增殖所得之分離株。

1971 年張氏<sup>(3)</sup> 就台灣分離之 *Theileria* 屬再感染摘脾牛觀察紅血球內病原體之發育情形，其原蟲型態之變化由邊蟲樣（18～20 天）轉變為細桿狀、柳葉狀，至末期另有環形、卵圓形、雙球菌及四聯球菌狀蟲體之出現，且認為類似 *T. mutans*；依據本次之人工感染結果，原蟲於血流中之變化形態以初期之柳葉狀為主，後期之卵圓形且淋巴球內未檢出 Schizont 來推測，本此分離株似以 *T. sergenti* 可能性居高，惟 *T. mutans* 及 *T. sergenti* 在宿主紅血球中型態之變化及對牛隻引起之臨床症狀很難區分，故在歸類上實有探討之必要。

就牛隻 *Theileria* 在診斷，疫情調查及原蟲苗應用效力之證實上，以 CF<sup>(15)</sup> 及 IFA<sup>(16)</sup> 較俱確實，本次之試驗則著重 CF 之研究開發，就試製之各類抗原與血清及人工感染牛之抗體測定，顯示補體結合法俱有高度特異性，Minami 等<sup>(15)</sup> 1980 就 CF 法對 *T. sergenti* 人工感染牛隻測得之 CF 抗體，牛隻於接種毒血後第 3 週即可測得 20 倍抗體，第 4 週達高峯 320 倍，且維持高抗體價至第 6 週，至 16 週仍有 40 倍，至 10 個月（300 天）尚持有 5 倍以上之抗體；筆者等本次之試驗，牛隻於第 4 週始測得 5 倍抗體，第 12 週達高峯 40 倍，至第 16 週仍維持 20 倍抗體，顯示牛隻感染本症後，仍常久保有抗體，惟吾等之試驗牛隻抗體價偏低，此或許是毒株之病原與抗原性間之差異所致。

為探討試製 CF 抗原對田間牛隻實際應用效果及明瞭台灣牛群感染本症之疫情，以評估 CF 法診斷上之確實價值，就疑患本病之野外牛隻血清與試製之 *Theileria* CF 抗原反應，顯示本抗原對疑患本病牛隻之反應達 100%，且該牧場之其他外觀健康牛隻之陽性率也高達 78.2%，其抗體價稍高，大都 20 倍以上，另其他牧場牛隻之陽性率則為 36.6～57.5 且其抗體價也偏低，僅止於 5～10 倍。據 Ishihara<sup>(11)</sup> 氏之對日本 8 省縣 273 例放牧牛血清進行之 *T. sergenti* 抗體調查顯示，高陽性率牧場牛隻之 CF 抗體價較低陽性率牧場牛隻之抗體價為高，與本次試驗成績近似。Curnow<sup>(9)</sup>（1973）曾就 *B. argentina* 感染牛就不同時期採取感染牛血液製成血球凝集抗原與不同時間採取之血清反應，顯示各期抗原對抗體消長產生頗有差異，認為係原蟲之抗原型之變異所致；本次試製之 *Theileria* CF 抗原對野外牛隻血清之反應，是否於感染過程中因抗原型也有變異，致使陽性例也受影響，今後有詳細檢討之必要。總之，本次試驗已證實台灣部份牛隻已遭受 *Theileria* 侵襲，且本法之應用將可對牧場牛群之感染狀況提供本病防疫上之依據，同時仍有助於將來原蟲苗之開發免疫後抗體效力之測定。

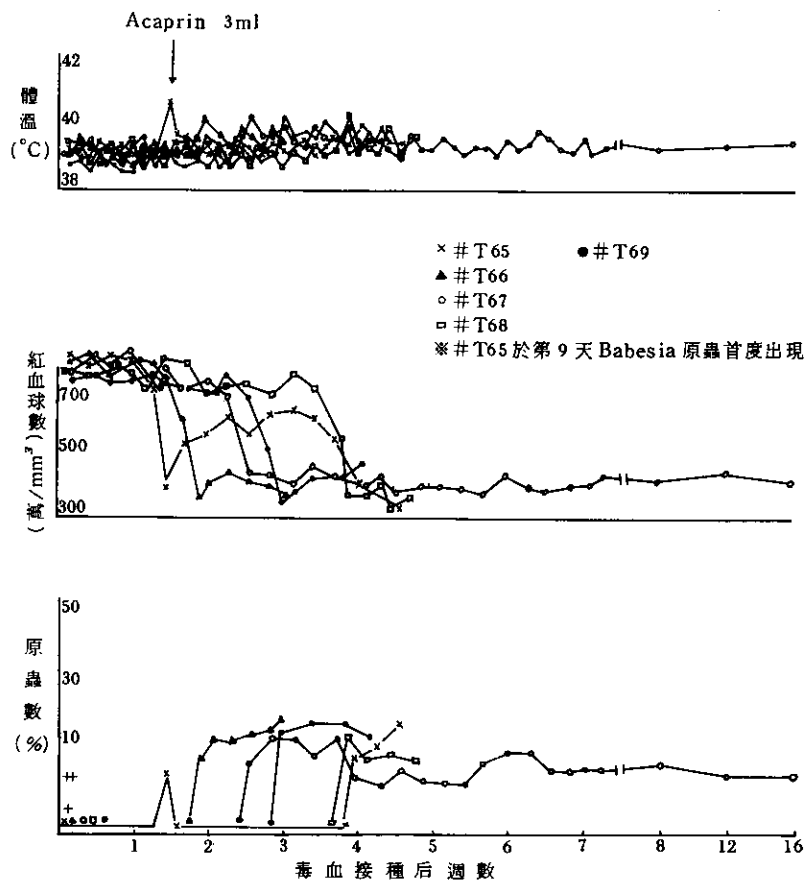
## 誌 謝

本試驗承蒙新竹縣家畜疾病防治所同仁之協助採樣，本所邱所長仕炎之殷切指導與鼓勵，使本試驗得以順利完成，在此誠致謝意。

## 參 考 文 獻

1. 張政宏 1969：牛 *Theileria* 屬焦蟲之分離試驗。台灣省畜牧獸醫學會會報。14：29～37。
2. 張政宏 1970：牛 *Theileria* 屬焦蟲之病原性研究。台灣省畜牧獸醫學會會報。17：42～48。
3. 張政宏 1971：牛 *Theileria* 屬焦蟲之紅血球內發育史。台灣省畜牧獸醫學會會報。19：1～6。
4. 張政室、何聰明、歐特，1966：台灣牛焦蟲病之調查國立台灣大學農學院研究報告。9(1)：79～85。
5. 蘇杰夫、鄭建盛、廖述吉、林本欽，1982：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。41：45～46。

6. 南哲郎、石原忠雄、山部邦展 1976 : 急速凍結法によるトリパノソーマ、タイレリア、バベシアおよびアナプラズマの超低温保存。家畜衛試研究報告 73 : 20 ~ 26。
7. 兒山健二 1941 : 移入改良和牛に發生シタル(ダニ熱)。台灣畜産會會報。4 : 157 ~ 166。
8. 鳩野政雄、伊東鶴馬、後藤茂 1910 : 牛のバベシヤ病に就け。日本細菌學雜誌 188 : 393。
9. Curnow, J.A. 1973 : In vitro agglutination of bovine erythrocytes infected with *B. argentina*, Austral Vet. J. 49 : 279 ~ 289.
10. Dhar, S and Gautam, O. P. 1977 : Species differentiation of *Theileria* of cattle by means of complement-fixation test. Indian Vet. J. 54 : 21 ~ 24.
11. Ishihara, T 1971 : Bovine babesiosis and Theileriosis in Japan. Bull. Natl. Inst. Anim. Health, 62 : 128 ~ 146.
12. Ishihara, T., Minami, T & Furuya, K 1972 : On the identification of the *Theileria* in Japanese cattle, Jpn. J. Vet. Sci. 34 : 306 ~ 307.
13. Kawamura, S, 1973 : Study on diagnosis of bovine Theileriosis in Japan. Bull. Azabu Vet. Coll. 25 : 143 ~ 190.
14. Markov, A.A. et al. 1966 : Application of exnodiagnostic and Complement fixation test for cattle theileria differentiation. In : Corradetti, A. ed, Proceedings of the First International Congress of Parasitology 1, 275 ~ 276.
15. Minami, T. Fujinaga, T., Furuga, K. & Ishihara, T. 1980 : Clinicohematologic and serological comparison of Japanese and Russian strains of *Theileria sergenti*. Natl. Inst. Anim. Health. Q 20 : 44 ~ 52.
16. Minami, T., Yamabe, K., Hayashi, S & Ishihara, T. 1979 : Serological relationship of a Japanese *Babesia* species and *B. bigemina* by the complement-fixation and capillary tube agglutination test. Vet. Parasitology 5 : 29 ~ 38.
17. Takahasi, K. 1976 : Studies on the infection and immunity of *Theileria sergenti*. J. Coll. Dairying 6 : 179 ~ 248.
18. Takahasi, K., Yanashita, S & Shimizu, Y. 1972 : Detection of a species of bovine *Theileria* and its antibody by fluorescent antibody technique. Jpn. J. Vet. Sci. 34 : 275 ~ 281.
19. Yasuda, Y., Murakami, D & Kawamura, S. 1966 : Immunological studies on piroplasmiasis of cattle. I. On the isolation of blood antigen from *Theileria* type of piroplasma. J. Faculty. Agri. Iwata Univ. 7 : 291 ~ 298.
20. Yasuda, Y., Murakami, D & Kawamura, S. 1966 : Immunological studies on piroplasmiasis of cattle. II. On the serological properties. J. Faculty. Agr. Iwata Univ. 7 : 129 ~ 139.

圖一 *Theileria* 台灣分離株之人工感染牛血球、體溫及原蟲之變化表一 試製 *Theileria* 補體結合抗原之特異性

抗 原	抗 血 清			
	B. b	T. s	A. m	Ns
B. b	160	< 5*	< 5	< 5
T. s	< 5	80	< 5	< 5
A. m	< 5	< 5	80	< 5
VBS	< 5	< 5	< 5	< 5

註：B. b : *Babesia bigemina* , T. s : *Theileria sergenti*  
 A. m : *Anaplasma marginale* 等之抗原及抗血清  
 Ns : 正常牛血清, VBS : 稀釋血清及抗原之緩衝液  
 \* : 即 5 倍血清稀釋仍未呈 75 % 以上阻止溶血者。

表二 人工感染Theileria牛隻之補體結合抗體消長

	人工感染后之週數				
	2	4	8	12	16
補體結合抗體價 <sup>※</sup>	< 5	5	20	40	20
原蟲之出現情形 <sup>※※</sup>	-	++	+++	++	++

註：※ 數字為血清呈 75 % 以上阻止溶血反應時之稀釋倍數。

※※-：整個血液塗抹片未檢出Theileria原蟲體者。

++：一個視野有 1 ~ 10 個蟲體者。

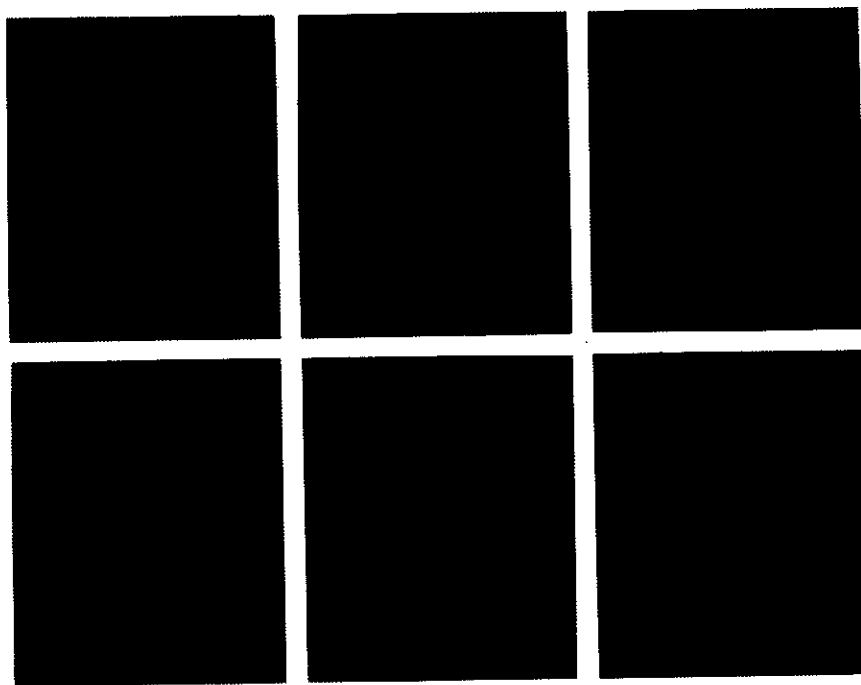
+++：一個視野有 10 個以上蟲體者。

表三 試製Theileria補體結合抗原對疑患本病及野外牛隻之抗體測驗

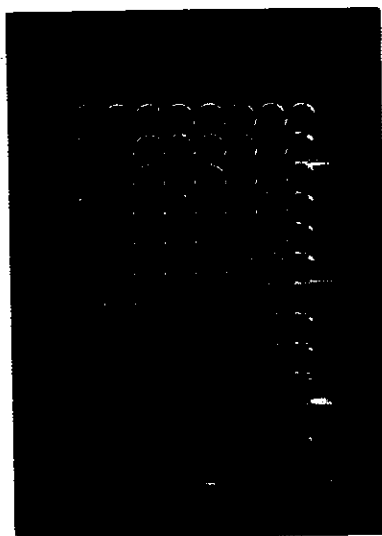
血清及牧場類別	頭數	補體結合抗體價						陽性率	
		< 5	5	10	20	40	80		160
疑患本病牛隻 <sup>※</sup> A	10		1	2	3	2	1	1	100 %
A	23	5	2	4	6	5	1		78.2 %
一般牛隻 <sup>※</sup> B	80	34	16	16	9	5			57.5 %
C	40	23	9	7	1				42.5 %
D	60	38	16	6					36.6 %

註：※ 疑患本病牛隻：即疑有Theileria感染且有臨床症狀之牛群。

※※一般牛隻，係外觀健康未見本病臨床症狀之野外牛群。



照片一 台灣分離之牛小型焦蟲 *Theileria* ，  
在紅血球內呈柳葉、圓形或桿狀



照片二 試製 *Theileria* 補體結合抗原對野外病例反應之  
實例：  
H行爲 5 倍稀釋受檢血清之對照（無含抗原）。  
G行起爲 5 ~ 320 倍血清稀釋倍數；No.10 爲陰  
性反應，其餘皆爲陽性反應例。



## THE ISOLATION OF THEILERIA IN TAIWAN AND ITS CF ANTIGEN PREPARATION

Jei-Fu Su<sup>1</sup>, Ming-Chu Liu<sup>1</sup>, Chung-Sung Chen<sup>1</sup>,  
Tan-Lai Shee<sup>2</sup>,

A blood sample from a dairy farm in Northern Taiwan was inoculated in a splenectomized calf, from which the organism of *Theileria* was successfully isolated. The infected blood was then transferred to another splenectomized calf and caused it a mild clinical course with the decreased number of red blood cells ( $350-450 \times 10^4/\text{mm}^3$ ). The isolate was similar to *Theileria sergenti* according to its shape variation in the blood stream.

A splenectomized calf of 3-4 months old was artificially inoculated with the isolate and bled when 10% of its blood with the organisms. The collected blood was hemolyzed, concentrated for the organisms. After homogenization and sonication, CF antigen was prepared and evaluated. This antigen had a titer of  $\times 8$  against the serum of a suffered cattle. When it was applied to detect CF antibody production on an experimental cattle at intervals of 2, 4, 8, 12 and 16 weeks post infection, different levels of antibody titer of  $\times 0$ ,  $\times 5$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$  and  $\times 20$  were measured. In the field, 203 cases were assayed with this antigen. The results showed that 36.6-78.2% of them were positive. Another 10 clinically suffered cattle were also confirmed positive in serum reaction with the antigen. The above facts indicated the prepared CF antigen was quite specific and also pointed out the existence of this disease in Taiwan cattle.

---

1. Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.  
2. Council of Agriculture Executive Yuan.

