

結核病自然及人工感染牛之結核菌素試驗

吳義興 謝快樂 沈永紹 蔡義雄

摘要

結核病自然感染牛11頭，於頸側及尾根部行結核菌素皮內接種試驗，結果尾根部之反應陽性率僅有27.2%，較3週前之試前測定均為陽性反應之成績呈顯著之下降，其平均皮膚腫差(3.37 ± 2.17 mm)亦降低到試前測定時(6.61 ± 1.76)之半，顯示間隔3週之重複皮內接種方式不適當，它會使皮膚延遲性過敏反應能力顯著地減低。頸側接種之結核菌素皮內反應顯著地較尾根部接種者為敏感(P < 0.001)，故結核菌素試驗疑陽性牛複檢時，可改以頸側部接種，以增加其敏感性。結核菌素接種後48及72小時之皮膚反應顯著較24小時者強(P < 0.01)。

小牛人工感染牛型結核菌後，其皮膚延遲性過敏反應於感染後第3週開始出現，於第7—8週反應達最高峰，第9週後即開始急速下降。其自然感染牛一樣，人工感染小牛之結核菌素皮內反應，頸側部接種者亦較尾根部接種者為敏感。

緒言

牛結核病是一種慢性消耗性傳染病，臨床上僅呈消瘦及咳嗽，若有良好的營養及照顧下，大多無顯著之徵狀(5, 10)，不易診斷出。但是牛感染結核病後即產生延遲性過敏，此可以結核菌素皮內接種試驗而測出。結核菌素試驗之接種方法很多，其判定標準依各國而有不同之規定。在我國，結核菌素試驗使用尾根部皮內接種，接種後72小時判定，並以皮膚腫差5 mm以上為陽性，3~5 mm則為疑陽性需於14天後再予測定一次⁽¹⁾。此種方法及標準使用已20多年，鑑於近數年來，本省牛結核病率之逐年增加⁽²⁾，此些規定是否適當，均需要重新加以檢討。

在上一篇報告中⁽³⁾，我們曾對結核病污染牧場作結核菌素試驗之調查並剖殺，結果若以現行之本省結核菌素檢查方法，則有96.5%之結核病牛，其皮膚腫差不能達陽性以上之標準者，其嚴重情形令人心驚。為了解其癥結所在，並謀求解決之方案，故再以自然及人工感染結核病牛作進一步之測試。

材料及方法

結核菌素：台製結核菌素，台灣省家畜衛生試驗所出品，第39批。德製結核菌素，德國 Paul Ehrlich Institute 出品，Lot. 604。二者均為熱濃縮合成培養基(HCSM)結核菌素⁽³⁾。

自然感染結核病牛：每年例行結核病檢查陽性牛12頭，供再接種結核菌素試驗，試驗時距例行檢查接種之時間為3週(該檢查亦使用台製第39批結核菌素)，試驗後剖檢共11頭有陽性病灶，以此11頭牛作為自然感染結核病牛。

自然感染牛之結核菌素試驗：11頭自然感染結核病牛，頸側部選2處，剃毛後各皮內接種台製及德製結核菌素，尾根部則皮內接種德製結核菌素，接種量各為0.1 ml。接種前及接種後24, 48及72小時各測定皮膚厚度一次以計算皮膚腫差。接種後第4天，把11頭牛全部剖檢。

人工感染牛之結核菌素試驗：4月令小公牛4頭，購自南部3年以上無結核病例之某

牧場。每頭小牛各由氣管內接種培養 8 週之牛型結核菌 Vallee 株各 50mg，懸於 1 ml 之生理鹽水中。小牛感染後第 2 週開始，每週輪流取一頭作結核菌素試驗，其接種方式如上述自然感染牛者，如此使每頭牛重複測定相隔之時間為 4 週。

結 果

自然感染牛於頸側部接種德製及台製結核菌素，尾根部接種德製結核菌素，試驗之結果如表 1。11 頭結核病牛雖然於試驗前 3 週曾尾根部結核菌素檢查均呈陽性反應，但在此次之結核菌素接種測試中，尾根部接種後 72 小時判定，僅有 3 頭 (27.2%) 呈陽性反應，2 頭呈疑陽性。若於 48 小時判定，則反應較 72 小時判定者為好，有 4 頭陽性 (36.4%) 而 3 頭疑陽性。接種於頸側部時，其反應陽性率較尾根部接種者為佳，接種後 48 小時判定時，有 7 頭陽性 (63.6%)，2 頭疑陽性。於 72 小時判定時，有 8 頭陽性 (72.7%)，1 頭疑陽性。同時接種於頸側部之台製結核菌素，在 48 及 72 小時判定均為 6 頭陽性 (54.5%)，3 頭疑陽性，其反應敏感性較德製結核菌素略差。

自然感染結核病牛於結核菌素接種後，其皮膚反應之平均皮膚腫差如表 2。尾根部接種之皮膚腫差顯著地較頸側部接種者為小 ($P < 0.001$)，其大小約為試驗前 3 週之尾根部皮內接種反應皮膚腫差之半，接種後 48 小時之平均皮膚腫差，不管何種接種部位，均較接種後 72 小時之平均皮膚腫差略大，但差異不顯著。

小公牛以牛型結核菌人工感染後，第 2 週開始，每週取一頭作結核菌素試驗，接種方法如上述之自然感染牛者。其結核菌素接種後之皮膚延遲性過敏反應，於感染後第 3 週，頸側接種者開始出現，但尾根部接種者，則迄第 4 週才較明顯 (圖 1)。此種皮膚反應於感染後第 7—8 週達最高峰，第 9 週開始急速下降。接種後 48 小時判定之平均皮膚反應能力較 72 小時者略為敏感，但無顯著之差異。結核菌素頸側部接種之皮膚反應顯著地較尾根部接種者為敏感。

人工感染之小牛於試驗後剖檢，於咽背淋巴結均有局限性之典型結核病灶，但其他部位則均無。

討 論

乳牛結核菌素試驗依本省農林廳之規定⁽¹⁾，皮膚腫差在 3—5 mm 間為疑陽性，需於 14 天後再複檢一次，由於結核菌素試驗需把反應原接種入動物體，因此再次的複檢必需考慮到 2 次接種之間隔時間應多少才不致於影響複檢時之準確性。依日本農林省之規定⁽⁴⁾，疑陽性牛複檢之時間為第一次檢查後 14—60 天，我國之規定亦沿襲日本者，認為複檢需在這種間隔才不致影響其敏感性。在美國，農業部則規定，疑陽性牛之複檢應在第一次檢查後 10 天內或 60 天後執行⁽¹³⁾。美國農業部仍依據其臨床上未發表之統計，認為第一次檢查後 11—59 天內再接種結核菌素，則其反應之敏感度會減低。此種複檢時間之問題在本試驗中，可由結核病自然感染牛，第一次試驗檢查雖 11 頭全部為陽性反應，但經 3 週後之本試驗之再測，雖使用較台製結核菌素敏感之德製結核菌素，但其陽性率則仍然大幅下降為原來之 27.2% (表 1)。反應之平均皮膚腫差亦降為第一次檢查時之半 (表 2)。以此成績而看，似以美國農業部之規定較為合理。由吳等⁽³⁾之報告指出，本省之污染牧場若以尾根部接種檢查則仍有大量結核病牛僅呈疑陽性，若果間隔 2 週再予複檢亦如本實驗之 3 週間隔，其敏感度下降而成為陰性牛，此種情形將嚴重影響結核病牛之撲滅。至於間隔 11—59 天之複檢是否如美國農業部所稱均會使敏感度減低者，則有待再進一步之試驗及證明。

不管是自然感染或人工感染結核病牛，其皮膚延遲性過敏反應，頸側部均顯著較尾根部為敏感 ($P < 0.001$)，此在 Suther 等 (6, 7, 11) 之試驗亦有相同之結果。故結核菌素試驗之疑陽性牛複檢時，若改用頸側部接種，則可由其增加之敏感性而抵消因重複接種而致之敏感性的減低。為加速牛結核病之撲滅，對污染牧場似可改用頸側接種之結核菌素試驗，但此種改變除因頸側接種需先剃毛之麻煩外，最重要的是非污染牧場是否亦可採用，採用後會不會造成大量無病壯牛之被屠殺，此均有待進一步之探討。

自然感染結核病牛之皮膚延遲性過敏反應，通常於結核菌素接種後 48—72 小時間最大 (8, 9, 12)，本試驗亦顯示接種後 48 小時之反應最大，72 小時則稍降低，但均顯著地較 24 小時之反應為大 ($P < 0.01$)。此結果與 Lepper 等之報告⁽⁹⁾ 完全相同。

小牛人工感染牛型結核菌後之結核菌素試

表1 11頭自然感染結核病牛之結核菌素試驗

皮內反應 (皮膚腫差)	頸側部接種						尾根部接種		
	德製結核菌素			台製結核菌素			德製結核菌素		
	24*	48	72	24	48	72	24	48	72
陽性(5mm以上)	5	7	8	5	6	6	2	4	3
疑陽性(3-5mm)	2	2	1	2	3	3	6	3	2
陰性(3mm以下)	4	2	2	4	2	2	3	4	6

* 結核菌素接種後到判定之小時數。

表2 11頭自然感染牛結核菌素接種後之皮膚腫差(mm)

判 時 定 間	頸側部接種		尾根部接種
	德製結核菌素	台製結核菌素	德製結核菌素
24小時	4.87 ± 3.17*	4.58 ± 2.29	3.56 ± 1.88
48小時	6.91 ± 3.92	5.75 ± 2.96	3.63 ± 2.15
72小時	6.48 ± 3.21	5.50 ± 2.72	3.37 ± 2.17

註：試驗前3週以台製結核菌素尾根接種，72小時判定，平均皮膚腫差為6.61 ± 1.72 mm。*：平均±SD

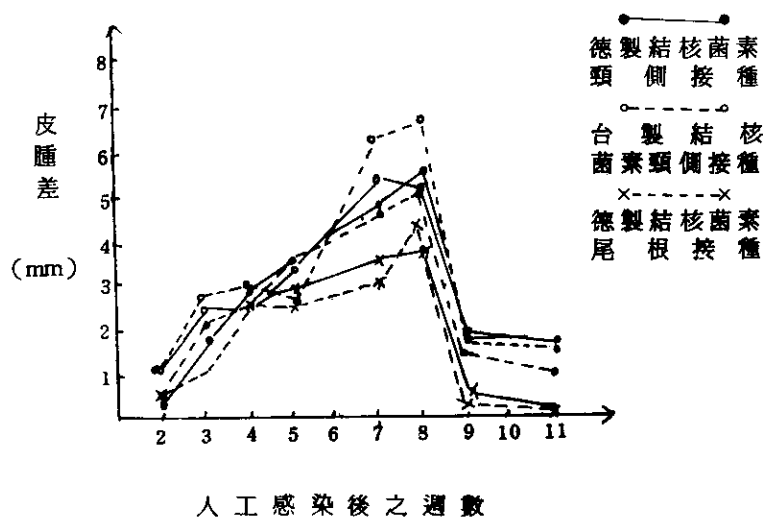


圖1 小牛人工感染牛型結核菌後之結核菌素反應。於接種後48小時(虛線)及72小時(實線)判定時之皮膚腫差曲線。

驗，其反應只維持8週，第9週後即消退。由於感染小牛剖檢後，均只有咽背淋巴之局限性病灶，是否感染菌株經繼代，毒力已減弱以致只有短暫之延遲性過敏，或需再三重複之感染，才會有強而時間久之反應，均有待探求。

參考資料

1. 台灣省農林廳。1977。家畜衛生手冊—乳牛結核菌素檢驗方法。第2版，P.295—297。
2. 台灣省農林廳。1979。家畜傳染病—牛結核病。台灣農業會報，P.307。
3. 吳義興、謝快樂、陳清、賴俊雄、呂清泉、王金和、吳福明及P.H.Hummel。1979。牛結核菌素製造改進試驗。中華民國獸醫學會雜誌，第五卷第2號，P.145—152。
4. 日本農林省畜產局衛生課。1973。家畜傳染病預防法關係法規集，P.123—124。日本東京文永堂發行。
5. Buxton, A. and G. Fraser. 1977. *Mycobacterium*, in "animal microbiology", P. 239-236: Blackwell, London.
6. Francis, J., R. J. Seiler, I. W. Wolkie, D. Oboyla, M. J. Lumsden and A. J. Frost. 1978. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. *Vet. Rec.* 103: 420-425.
7. Larsen, A. B., T. H. Vardaman and W.R. Harvey. 1960. Tuberculin reaction size as related to the number of simultaneous tuberculin injections. *Am. J. Vet. Res.* 21:1075-1077.
8. Lepper, A. W. D., M. T. Carpenter, O.J. Williams, W. A. Scanlan, D. R. McEwan, L. G. Andrew, T. R. Thomas and L. A. Corner. 1979. Comparison of the efficiency of two doses of bovine PPD tuberculin in single caudal fold test on Australian cattle. *Aust. Vet. J.* 55:251-256.
9. Lepper, A. W. D., D. A. Newton-Tabrett, I. A. Corner, M. T. Carpenter, W. A. Scanlan, O. J. Williams and D. M. Helwig. 1977. The use of bovine PPD tuberculin in the single caudal fold test to detect tuberculosis in beef cattle. *Aust. Vet. J.* 53:208-213.
10. McLaughlin, J. R. and A. L. Moyle. 1974. An epizootic of bovine tuberculosis. *JAVMA.* 164: 396-397.
11. Suther, D. E., C. E. Franti and H. H. Page. 1974. Evaluation of a comparative intradermal tuberculin test in California dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.* 35:379-387.
12. Thoen, C. O., R. D. Angus and M. Swanson. 1977. Method for evaluation of *Mycobacterium bovis* purified protein derivatives tuberculin in experi-

- mentally infected cattle. *Am.J. Vet. Res.* 38:1019-1022.
13. Veterinary Services of Animal and Plant Health Inspection Services, USDA. 1979. Uniform methods and rules bovine tuberculosis eradication.

TUBERCULIN TEST ON NATURALLY AND EXPERIMENTALLY INFECTED CATTLE

Yishing. S. Wu¹, Happy. K. Shieh,¹ Y.S. Shien², Y. H. Tsai³

1. *Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.*
2. *Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, National Taiwan University.*
3. *Department of Agriculture Forestry, Provincial Government of Taiwan*

Eleven naturally infected tuberculous cows were intradermally inoculated with tuberculin in the skin of neck and caudal fold. By caudal inoculation, the positive rate was 27.2%, which was significantly dropped as compared with positive rate tested at before. The mean of skin swelling (3.37 ± 2.17) only showed a half of thickness of pre-test (6.61 ± 1.76). The repeated tuberculin inoculation at 3 weeks interval was not adequate, because it would significantly reduce sensitivity of skin delayed hypersensitivity ($P < 0.001$). The sensitivity of skin test on the neck were significantly higher than that on the caudal fold ($p < 0.001$). The most intensive reactions (dermal thickness) were observed at 48 and 72 hours.

Calves experimentally infected with *Mycobacterium bovis* showed skin delayed hypersensitivity on the third week, and reached to the peak at the 7th and 8th week. It dropped rapidly after the 9th week. As naturally infected cattle, the experimentally infected calves also showed more sensitive reaction in the skin of the neck than the caudal fold area.