

牛肝蛭病診斷用抗原之研製

廖述吉 鄭建盛 邱朝齊 傅和美

(臺灣省家畜衛生試驗所)

摘 要

1. 研製成之診斷用抗原應用於屠宰場屠宰前及後之牛隻診斷試驗結果與日本製品比較結果差異不顯著。
2. 臺製抗原保存於冷室一年又5天者尚可使用，保持有88.8%之標準。
3. 臺製抗原保存於冷室一年又75天者其效力已降到原來之62.5%，可說已失其效果。
4. 臺製抗原保存於室溫者，其效力受嚴重影響。
5. 臺製抗原使用之材料是用肝蛭病原蟲，對於山羊肝蛭病同樣可用本抗原作診斷。
6. 調查本省牛隻及山羊肝蛭病污染情形結果知道本省牛隻及山羊均尚有本病發生，其中牛之寄生率佔有30%以上，山羊之寄生率佔有15%以上。

緒 言

由於臺灣位處亞熱帶地區，終年氣溫高濕度大，因此牛隻之內寄生蟲感染率相當的高，根據Lee等(1957)¹⁾調查，臺北地區35頭牛糞便中，具相當高的蠕蟲及肝蛭的感染率 Chang等(1971)²⁾報告花蓮地區的牛內寄生蟲的感染率高達85.45% (94/110)。由此可知牛內寄生蟲對牛羣之為害甚為嚴重，而其中牛肝蛭病為害亦相當厲害。對於牛肝蛭病之診斷如靠糞便檢查相當費時，近來為了早期確實診斷及集體檢查，均採用皮內反應，以作早期有效的防治。

本試驗為應用小野氏法^{3) 2)}，施行研製診斷用抗原，以皮內反應來判定牛肝蛭病，同時將其應用於屠宰場之牛隻，進行屠宰前及後之試驗，判定研製出之診斷用抗原之效力，及與日製抗原效力之比較，以應目前畜牧業之需要，及對今後養牛及山羊事業發展，供為本病早期診斷及防治。茲將該項診斷用抗原製造之有關成績報告於后：

材料與方法

材 料：

1. 供試病原蟲株：

係從臺北市牛屠宰場採集之肝蛭病原蟲 (*Fasciola hepatica*) 一種。

2. 供試牛隻：

係利用屠宰場屠宰之牛隻及味全公司牧場之乳牛作為試驗材料。

3. 供試山羊：

係利用本所向外購進之山羊作為試驗材料。

方 法：

肝蛭病診斷用抗原之試製：

製造方法：

將病原蟲株 (*Fasciola hepatica*) →生理鹽水洗淨→生理食鹽水作成 3% 乳劑→遠心 (3,000r. p.m. 15分) →上清液以 Ether 處理二天以上→沉澱物用乳鉢磨碎→生理食鹽水作成 3% 之比例→100°C 一小時處理→遠心 (3,000r. p.m. 15分) →上清液加入 1/10,000Merzonin→進行安全檢定→效力檢定。

安全性及效力試驗：

結 果

1. 安全性及效力試驗：

a) 試製診斷用抗原對牛效力試驗，以及與日製抗原（係由花蓮縣防治所分讓之日本北里廠出品經檢定合格 (No. 685) 作顯著性測定比較試驗：

將研製成之診斷用抗原 (Lot I) 注射於供試牛隻之尾根部皺襞之外側皮內，經注射後 15~30 分之間，測定其腫脹硬結度，15mm 以上者判定為陽性，14~11mm 為疑陽性，完全硬結腫脹不顯明者為陰性，其詳細成績如表 1，同時用生物統計學之差異顯著性測驗，比較臺製抗原、日製抗原作皮內反應之效力，解剖檢查、糞便檢查，彼此之間有否差異，結果皆顯示無顯著性差異。

b) 臺製抗原對山羊效力試驗：

將研製成之診斷用抗原 (Lot II) 注射於供試之尾根部的皺襞外側皮內，經注射後 15~30 分之間，測定其腫脹硬結度，結果陽性頭數其腫脹硬結度呈現 16.8mm，陰性頭數呈現輕度腫脹 6.2mm 結果成績如表 2，在本試驗內共使用山羊 50 頭，使用臺製抗原 (Lot II) 做皮內反應結果陽性頭數 7 頭，而刺殺後作解剖檢查結果陽性頭數有 5 頭，二者作生物統計學之差異顯著性測驗，結果顯示無顯著性差異存在。

2. 保存性試驗：

將試製抗原 Lot I、Lot II 分別保存於冷室及室溫下，經一定期間後取出檢定其效力，以試其保存性良否，經試驗結果室溫 (18~31°C) 保存性較差，134 天降低為 66.6% 之效力，反之，冷室 3~5°C 保存性甚佳，保存一年又 5 天尚在 88.8% 以上，一年又 75 天後則降低為 62.5%，詳細成績如表 3。

3. 牛肝蛭病調查成績：

茲將研製成之診斷用抗原與日製抗原（係由日本北里廠出品之檢定合格品 No. 685）對恆春畜試分所、味全埔心牧場、臺中市良民屠宰場等牧場之牛隻行皮內反應，比較二種抗原之效果，同時作本病調查結果，其成績如表 4。調查試驗結果臺製、日製抗原施行皮內反應，二者效果比較，由差異顯著性測驗，顯示無顯著性差異存在，調查三牧場之牛隻作本病之調查，陽性率佔 20.98%。

Lot I

表 1 試製診斷用抗原對牛效力試驗

Table 1 Study on the effect of *Fasciola hepatica* antigen to cattle

判 定	陽 性 頭 數	陰 性 頭 數	合 計
	No. of Positive	No. of Negative	
臺製抗原 Antigen made in Taiwan	12	24	36
日製抗原 Antigen made in Japan	9	27	36
解剖檢查 examine by analysis	13	23	36
糞便檢查 examine by feces	8	28	36

表 1 臺製抗原與日製抗原作顯着性測定比較試驗

Table 1. Compared experiment in Test of Significance between Antigen made in Taiwan and Japan

臺製抗原皮內反應
Intradermal Test Used in
Taiwan antigen

1T1=0.72<1.96 無顯着差異 No Significance difference	日製抗原皮內反應 Intradermal test used in Japan antigen		
1T1=0.25<1.96 無顯着性差異	1T1=1<1.96 無顯着性差異	解剖檢查	
1T1=1<1.96 無顯着性差異	1T1=0.277<1.96 無顯着性差異	1T1=1.27<1.96 無顯着性差異	糞便檢查 examine by feces

Lot II

表 2 試製診斷用抗原對山羊效力試驗

Table 2. Study on the effect of Fasciola hepatica antigen to goat

判 定 examine	陽 性 頭 數 No. of Positive	陰 性 頭 數 No. of Negative	合 計 Total
臺製抗原 Antigen made in Taiwan	7	43	50
解剖檢查 examine by Analysis	5	45	50

1T1=0.061<1.96 無顯着性差異
No Significant difference

表 3 試製診斷用抗原之保存性試驗

Table 3. Conservative experiment of Fasciola hepatica antigen

抗原批號 Antigen No	保存期間 Conservative time 成績	製造後	室 溫	冷 室	冷 室	冷 室	冷 室
		(保存22天) After Produce	(保存134天) room temperature	(保存134天) Ice box	(保存285天) Ice box	(保存一年25天) Ice box	(保存二年 275天) Ice box
試 Lot I	皮 內 反 應 Intradermal test	12	2	3			5
	解 剖 結 果 Analysis	13	3	3			8
	檢 出 率 ratio of positive	92.3%	66.6%	100%			62.5%

試 Lot II	皮內反應 Intradermal test			7	8
	解剖結果 Analysis			8	9
	檢出率 ratio of positive			87.5%	88.8%

表 4 牛肝蛭病調查成績

Table 4 Investigation of Fascioliasis

單位名稱 Name	調查頭數 No. of investigation	方法 investigative method	陽性率 ratio of positive						
			臺製 Antigen made in Taiwan			日製 Antigen made in Japan			
			+	-	%	+	-	%	
恆春畜試分所	25	皮內反應	4	21	16	4	21	16	
味全埔心牧場	161	皮內反應	26	135	16.1	33	128	20.4	$171=0.00506 < 1.96$ 二者無顯着性之差異 No Significant difference
臺中市民屠宰場	100	皮內反應	30	70	30	32	68	32	$171=0.308 < 1.96$ 二者無顯着性之差異 No Significant difference

討 論

本次牛肝蛭病診斷用抗原之研製係使用牛肝蛭病原蟲行研製診斷用抗原，前後共製造二批，供為肝蛭病皮內反應用之診斷之用，每批之抗原以屠宰場及牧場之牛隻測定，其效力及保存性試驗等，結果均能達到合格標準80%以上之效力與正確率。此外曾用生物統計學之差異顯着性測驗，比較臺製、日製抗原作皮內反應之效力、解剖檢查、糞便檢查，彼此之間皆無顯着性差異存在。對於山羊亦試作效力測定效果良好，在保存性試驗方面，室溫保存者其效力受嚴重影響，冷室保存一年又5天者其效果保存有88.8%之標準。

據小野¹⁾²⁾之肝蛭皮內反應診斷法，對肝蛭症之集團檢查診斷效果相當不錯，且肝蛭蟲卵檢查需於感染後至少63~90日方可檢查出，而本皮內反應僅於感染後12~19日即可診斷出，對於早期診斷法可加以應用，然據 Ono & Kimura³⁾的報告此法於驅蟲後6~12個月乃呈陽性反應，對於驅蟲後之效果判定無應用價值，此為其缺點需加以注意。

由本試驗之結果知吾人等自製臺製抗原其效果與日製無差別，其效果相當不錯，對今後本省牛肝蛭病之早期診斷實有很大助益，進而完成本省牛肝蛭病之防治工作。

誌 謝

本抗原之研製與應用，報告摘要已於分別61、62年臺灣省畜牧獸醫學會宣讀報告。本試驗之牛體材料由味全公司埔心牧場李場長珠中，以及臺中市良民屠宰場獸醫師吳天保先生之大力協助，謹此一併誌謝。

參考文獻

1. 小野 (1951) : 畜産の研究5, 363。
2. 小野、磯田, (1952) : 日本獸醫畜産大學紀要1, 21。
3. Chang L. C, MAC. C, and Chen M. C. (1971) : Magazine of Taiwan Association of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Vol 5, No1—2, 33—37。
4. Lee. Y. C, Y. K. Huang, T. H. Lin, C. P. Lin, C. H. Chang, H. E. Huang and C. T. Lee (1957) : J. Agr Assn of China New Series No. 19, 56~57。
5. Ono & Uimura (1960) : Sci, Rep, Hyogo Univ, Agr. (Series Zootech Sci) 4 : 72。

Study on the Production of Fasciola Hepatica Antigen

S. C. Liao, C. S. Cheng, T. C. Chiu, H. M. Fu

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

Summary

1. The prepared antigen for Fasciola hepatica diagnosis was applied on the cattle before and after slaughter. No apparently different result was found when the antigen made in Japan was used.
2. The diagnostic antigen made in Taiwan was still usable and had an efficiency of 88.8% to standard product when stored at refrigerator for one year and 5 days.
3. The antigen lost much efficiency and only had 62.5% to standard product when stored at refrigerator for one year and 75 days.
4. The antigen couldn't be used for diagnosis when kept at room temperature.
5. Fasciola hepatica was adopted for the antigen product, which therefore, could be used for the diagnosis on liver fluke of goats.
6. An investigation on the liver fluke infection cattle and goat in Taiwan was made and the infestation rate of cattle and goat reached more than 30% and 15% respectively.