

蟹血液成分應用於內毒素檢測試劑之開發

謝明昌¹、黃丁士²、張志堅¹、陳其欽²、蔡萬生²、林金榮¹

¹水產養殖組、²澎湖海洋生物研究中心

蟹血液變形細胞可與細菌內毒素結合產生凝集反應，因此被開發為測定內毒素的國際標準法。我國目前在金門及澎湖沿海擁有野生中國蟹之自然資源，尚待開發成商業化生物製劑—蟹試劑。本研究探討製成蟹試劑所需的適當採血季節、適當採血量、餵飼葡聚多醣體 (β -1, 3-glucan) 對蟹血液成分的影響、蟹變形細胞溶解液萃取前後對內毒素敏感度的差異及蟹血液成分抑菌試驗。

按月分析蟹的變形細胞量。結果，從4月起逐漸升高(圖1、2)，水溫超過20°C時，對內毒素的靈敏度開始增加，為適當採血期。經菊糖全血量試驗評估蟹全血約佔體重26%。以蟹體重10-15%的方式大量採血，蟹在6個月內的死亡率為60%；以蟹體重5%採血量死亡率為20%，與蟹體重1-2%採血量死亡率相近，因此，蟹的適當採血量約為5%，間隔2-3個月，對蟹血細胞及試劑靈敏度無明顯差異。故採血適量應低於蟹體重5%，可提高生物安全性，並降低死亡率。

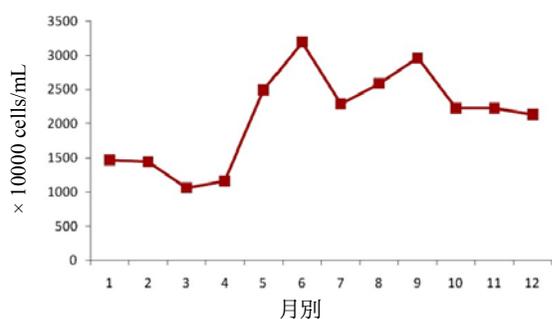


圖1 三棘蟹血液中變形細胞含量變化

表1 三棘蟹細胞溶解液萃取前後靈敏度之比較(n=202)

陽性率	0.5 EU	0.25 EU	0.125 EU	0.06 EU	0.03 EU	0.015 EU
萃取前 (萃取前%)	139 (69%)	106 (52%)	63 (31%)	33 (16%)	20 (10%)	0 (0%)
萃取後 (萃取後%)	171 (85%)	156 (77%)	138 (68%)	113 (56%)	84 (42%)	44 (22%)
增加數 (增加率%)	32 (19%)	50 (32%)	75 (54%)	80 (71%)	64 (76%)	44 (100%)



圖2 從蟹頭胸甲與腹甲交接關節中間心門部採血

在餵飼葡聚多醣體2個月期間，於餵飼後30-60日採血，蟹血細胞量增加，所製成的蟹試劑對內毒素的靈敏度提升7-40%，但是停藥後30日檢測結果，對內毒素的靈敏度卻比未投與葡聚多醣體的靈敏度低10-35%，故基於成本考量及葡聚多醣體可能干擾蟹試劑凝集因素，不建議餵飼葡聚多醣體。

蟹變形細胞溶解液 (TAL) 經萃取後製成蟹試劑，靈敏度可達0.015 EU，在202個未經萃取的TAL檢體中陽性率為0，經萃取後陽性率有44個(表1)，萃取效果顯著。蟹試劑冷凍乾燥試驗保存效果目前可維持3個月，內毒素凝集測試達0.6 EU，未來可持續加強研究相關條件，強化保存效力與靈敏度。

檢測蟹血清及蟹細胞溶解液等製成17種抑菌片，對溶藻弧菌2株、大腸桿菌與鏈球菌各1株，均無抑菌效果。在本試驗僅進行四株病原菌檢測，未發現有抑菌作用，未來可以增加更多細菌進行檢測抑菌效果。