

牛流行熱疫情監控及免疫適期之探討

丁履紉* 李敏旭 郭舒亭 鄭明珠 蕭終融

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

摘要 台灣過去曾經於 1967 年、1984 年、1989 年、1996 年、1999 年和 2001 年爆發過 6 次牛流行熱的大流行，根據記載爆發流行的時間間距不僅縮短，而且流行期愈來愈長。為提供牛流行熱疫情的預警，分別於 2002 年 4 月及 10 月，針對台灣 16 個縣(市)的乳牛逢機採樣血清共 4,361 支，進行牛流行熱血清抗體調查。4 月份的抗體調查發現，血清中和抗體力價平均值為 104.70 倍；10 月份的抗體力價平均值為 146.22 倍。以血清抗體力價大於 64 倍以上具有保護能力為一分界點，將牛隻以力價分類，在 4 月時僅 47.46 % 的牛隻其抗體力價具有保護性，在 10 月時則為 35.01 %，故中和抗體力價仍嫌不足。另外從抗體的消長反應結果，每年 2 次免疫注射有其必要性。應用 RT-PCR 增幅 4 株台灣分離株和 2 株日本株的牛流行熱 G 糖蛋白基因片段，直接進行基因序列之解讀，並自 GenBank 摘取其它毒株進行多序列比對及親緣樹分析，結果顯示亞洲株與澳洲株明顯不同，亞洲株又可區分成台灣株與日本株 2 個基因群。

關鍵字：牛流行熱，血清抗體調查，中和抗體

緒 言

牛流行熱 (bovine ephemeral fever) 又稱暫時熱，病原為桿狀病毒科 (Rhabdoviridae) 的牛流行熱病毒 (BEFV)，經由蚊子、庫蠓等昆蟲媒介傳染，所引起之牛病毒性疾病，流行地區包括非洲、亞洲、中東及大洋洲等地 [9]。主要症狀包括有雙波或多波發熱、顫抖、食慾不佳、眼、鼻有分泌物、流涎、呼吸困難、瘤胃鼓脹、抑鬱、跛足、僵硬及產乳量突然降低等 [8, 11, 12]。亞熱帶地區發生季節約為夏天至早秋，通常 6 個月至 2 歲齡牛隻最易受感染而發病 [13]。牛流行熱病毒的基因體為負股的單股 RNA，具有 5 個結構性

蛋白包括核蛋白(N)、聚合酶相關蛋白 (P)、基質蛋白 (M)、大核糖核酸酶(L) 和表面糖蛋白 (G) [17]。G 糖蛋白分子量約 81kDa 為第一型的膜糖蛋白，包含型別特異性和中和性抗原決定位 [6]，能激發牛隻產生保護性免疫 [9]。以中和性單株抗體 (MAbs) 和抗中和性的單株抗體突變株，兩者以交叉競爭性結合試驗，結果可證實 G 糖蛋白上有四個完整的中和抗原決定位分別為 G1、G2、G3 和 G4 [6]。雖然目前似乎全世界僅存在一種牛流行熱血清型，但根據 Cybinski 比對分析許多澳洲分離株和大陸分離株，其認為某些分離株在抗原性的部份還是有一些改變 [7]。

臺灣曾於 1967 年、1983 至 1984 年間、1989 至 1990 年間、1996 年及 1999 年和 2001 年爆發過 6 次

*抽印本索取作者

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

大流行，皆造成相當大的經濟損失 [1, 2, 5, 10]。過去本病呈現週期性爆發流行的現象，但是現今疫情爆發間歇期漸漸縮短，每次疫情之發病期逐漸延長，臨床症狀也較過去嚴重 [10]。根據調查報告發現，1996 年疫情爆發初期，自 7 個縣市採樣 472 頭牛隻其血清中和抗體力價平均值祇有 4.9 [10]，探究其原因為農民疏於防範而未施打疫苗，而使彼次流行感染率達 13.6% (14,973/110,247)，致死率高達 11.3% (1,685/14,973)。而 1999 年 9 月份自 10 個縣採樣牛隻血清中和抗體力價測定結果，7% (24/321) 抗體呈陰性，93% (297/321) 抗體呈陽性，但是所有檢測牛隻抗體力價皆低於 32，而不具有保護效力，因此待颶風過後，10 月份即爆發大流行。其中以高雄縣疫情最為嚴重，發生率為 5.47% (525/9,593)，死亡率為 1.21% (116/9,593) [3]。由於牛群抗體分佈表現，與疫情的發生有很大的相關性，因此為提供疫情的預警，針對國內乳牛逢機採樣進行血清抗體力價測定，並分析其疫苗免疫後血清抗體消長的情形，以當做免疫適期的評估指標。此外，我們也對疑似病例進行病毒分離，分析新分離病毒株其 G 蛋白序列，以評估其流行病學之特性並適時發佈預警。

材料與方法

血清樣品收集與處理

分別於 2002 年 4 月及 10 月，採取國內乳牛血清進行牛流行熱血清抗體調查。其中台北縣 1 戶、桃園縣 5 戶、新竹縣 2 戶、新竹市 2 戶、苗栗縣 5 戶、台中縣 5 戶、彰化縣 10 戶、南投縣 2 戶、雲林縣 6 戶、嘉義縣 5 戶、嘉義市 1 戶、台南縣 10 戶、高雄縣 5 戶、屏東縣 5 戶、台東縣 2 戶、花蓮縣 2 戶，每戶逢機採血 30 頭牛隻。血清先在 56°C 水浴槽中不活化 30 分鐘後，保存於 -20°C 冰櫃待測。

中和抗體力價測定試驗用病毒

牛流行熱病毒雲林株 (2001-YL) 是 2001 年所分離，先於幼倉鼠腎臟細胞 (baby hamster kidney cell, BHK-21) 增殖 4 代，收獲後測定力價約為 $10^{6.0}$ TCID₅₀ /mL。病毒分裝保存於 -70°C 冰櫃，以供血清中和抗體力價測定用。

血清中和抗體力價測定

1. 以 96 孔微量培養盤 (NUNC)，取上述不活化處理

的待測血清，從 2 倍連續稀釋至 256 倍，每孔 0.05 mL。

2. 每孔加入 0.05 mL 含有 100 TCID₅₀/50 μ L 牛流行熱 YL-2001 病毒液。
3. 將培養盤置於 34°C 感作 1 小時。
4. 每孔加入 3×10^4 細胞/0.1 mL 的 BHK-21 細胞懸浮液 0.1 mL。
5. 將培養盤置於 34°C 5% CO₂ 培養箱培養 3 至 5 天，判定其中和抗體力價。

免疫後抗體力價消長

送檢血清若以疫苗免疫後採集的月份來區分，可以當做免疫後抗體力價消長的參考指標，其中免疫後 1 個月送檢的有 90 個牧場，免疫後 2 個月送檢有 76 個牧場，免疫後 3 個月送檢有 26 個牧場，免疫後 4 個月送檢有 18 個牧場，免疫後 5 個月送檢有 31 個牧場，於抗體力價測定後計算各牧場的平均值。

G 糖蛋白核酸序列分析

1. 引子

參考目前已發表在 GenBank 中牛流行熱之序列，設計特異性引子以合成完整的 G 糖蛋白基因，其序列如下：順向引子 gpF1 5'-ATGTTCAAGGTCCTAATA ATTACC-3'；逆向引子 gpR1872 為 5'-TTAATGATCAAAGAATCTATC-3'。

2. 病毒株之定序

定序之病毒株包括 VAC-1984 疫苗株由呂 [1] 於 1984 年分離，TC-1996 株為 1996 年台中分離株，YL-2001 株為 2001 年雲林分離株於 BHK 細胞株繼代第三代，HL-2002 株為 2002 年花蓮分離株於 BHK 細胞株繼代第二代，NIAH 株和 YHL 株為日本分讓之病毒株。

上述毒株以 gpF1 和 gpR1872 引子應用 RT-PCR 增幅毒株 G 蛋白基因，並直接進行基因序列之解讀。另外，TN-1999 為 1999 年台南分離之病毒株和 BB7721 澳洲株則摘取自 GenBank。

3. 反轉錄聚合 鏈鎖反應之反應條件

反應溶液為 10 倍緩衝溶液 2.5 μ L、10 倍 dNTP 混合液 (dATP, dTTP, dGTP, dCTP 2.5 mM/ μ L) 2.5 μ L、AMV reverse transcriptase (9U/ μ L, Promega) 0.2 μ L、ribonuclease inhibitor (40U/ μ L, Promega) 0.3 μ L、RNase free H₂O 16 μ L、Taq DNA polymerase (5U/ μ L) 0.5 μ L、引子各 1 μ L (2.5 μ M/ μ L)。反應溫度控制由循環溫控儀

(Thermocycler, Hybaid)完成反轉錄聚合 鏈鎖反應之反應條件。

4. 特異產物之確認

PCR 完成後之產物以含有 0.5 μ g/mL ethidium bromide 的 2.0% 洋菜膠於 0.5% TAE 緩衝液之電泳槽中進行，取 10 μ L 產物與 1 μ L 6X BPB (bromophenol blue) 混合後，施以 10.7 V/cm 電壓電泳 25 - 30 分鐘後，與 DNA 分子量標幟 (DNA marker) 輔助產物的判讀。其次進行特異性產物之確認，將所得之特異性產物以自動定序器定出其序列。

5. PCR 產物之定序與演化圖譜分析

PCR 產物以自動定序儀 (ABI 377) 進行直接定序，所得序列再以 GCG 套裝軟體中之"PILEUP"與"PRETTY" 等程式加以排列比對，所得結果再以 PAUP、PHYLIPO 軟體進行分析，繪製演化圖譜。

結 果

2002 年牛流行熱血清中和抗體

牛流行熱抗體調查發現，4 月份中和抗體力價平均值為 104.70，10 月份的抗體力價平均值明顯上升達 146.22，各縣市抗體力價如表 1。

表 1 2002 年台灣牛流行熱血清抗體調查結果

地區	縣市別	4 月份		10 月份	
		血清中和抗體力價平均值	頭數	血清中和抗體力價平均值	頭數
北部	台北縣	92.47	30	171.93	30
	桃園縣	106.65	150	153.69	150
	新竹縣	180.11	70		93
	新竹市	119.73	30	247.62	158
	苗栗縣	124.32	150	51.26	190
中部	台中縣	113.03	60	176.50	60
	彰化縣	160.20	300	107.15	300
	南投縣	118.34	71	159.47	60
	雲林縣	118.13	180	85.29	180
南部	嘉義縣	20.68	150	60.40	150
	嘉義市	118.40	59	196.41	0
	台南縣	94.35	300	167.90	300
	高雄縣	36.09	150	231.08	150
	屏東縣	121.85	300	113.70	300
東部	台東縣	103.97	60	130.00	60
	花蓮縣	118.80	60	311.00	60
力價平均值		104.70	(n ¹ =2120)	146.22	(n=2241)

¹：測試頭數

根據前人研究結果[16]，血清中和抗體力價大於或等於 32 倍時，抗體可保護牛隻不被野外病毒感染，故以 32 倍為一分界點，將國內牛隻以力價

分類。4 月份 84.30% 的受檢牛隻力價具有保護不被病毒感染，10 月份則為 79.57%，各縣市抗體力價如表 2。若以大於 64 倍為一分界點，再行分類。4

月份 47.46%的受檢牛隻力價具有保護不被病毒感 染，10月份則為 35.01%，各縣市抗體力價如表 2。

表 2 2002 年台灣牛隻牛流行熱具保護性抗體力價調查結果

地區	縣市別	4 月份血清中和抗體力價			10 月份血清中和抗體力價		
		≥ 32 倍 百分比 (%)	= 64 倍 百分比 (%)	> 64 倍 百分比 (%)	≥ 32 倍 百分比 (%)	= 64 倍 百分比 (%)	> 64 倍 百分比 (%)
北部	台北縣	83.33	13.33	40.00	73.33	16.67	43.33
	桃園縣	75.33	14.67	47.33	80.67	25.50	43.17
	新竹縣	95.71	30.00	52.83	75.27	31.18	20.43
	新竹市	90.00	23.33	50.00	94.94	63.52	22.56
	苗栗縣	90.67	18.00	56.67	68.42	25.79	13.16
中部	台中縣	93.33	26.67	45.00	73.33	35.00	13.33
	彰化縣	91.67	16.33	67.00	88.67	43.00	30.67
	南投縣	95.50	22.52	53.16	96.67	25.00	51.67
	雲林縣	93.89	26.11	53.33	62.22	13.89	29.44
南部	嘉義縣	24.67	6.00	3.33	62.67	20.67	15.33
	嘉義市	93.33	23.33	56.67	nt	nt	0.00
	台南縣	77.00	19.00	40.00	85.67	19.67	46.66
	高雄縣	93.33	18.00	58.00	96.67	16.67	67.33
	屏東縣	86.00	25.67	42.66	80.00	23.33	38.00
東部	台東縣	81.67	20.00	36.67	78.33	15.00	50.00
	花蓮縣	83.33	10.00	56.67	76.67	16.67	40.00
中和抗體力價 平均值		84.30	19.56	47.46	79.57	26.10	35.01

¹：測試頭數

nt：無測試

表 3 牛流行熱疫苗免疫後血清抗體消長調查結果

	疫苗免疫後月份				
	1	2	3	4	5
牧場數	90	76	26	18	31
抗體力價 平均值	125.58	128.88	97.24	122.97	98.40

送檢血清若以疫苗免疫後採集的月份來區分，可以當做免疫後抗體力價消長的參考指標，免疫後 1 個月抗體力價約可到達 125.36 倍，免疫後 2 個月抗體力價維持在 128.88 倍，免疫後 3 個月可能因為採樣戶的差異，故抗體力價下降至 97.24 倍，免疫後 4 個月抗體力價約可到達 122.97 倍，免疫後 5 個月抗體力價仍維持在 98.40 倍 (表 3)。故推測估計免疫抗體 4 個月後約衰退 21.64%。

牛流行熱 G 醣蛋白基因序列分析

解讀序列之病毒株包括 VAC-1984 疫苗株、TC-1996 株、YL-2001 株、NIAH 株和 YHL，其餘之病毒株 TN-1999 和 BB7721 澳洲株則由 GenBank 所得，經 DNASTar 及 Phylip 軟體分析其親緣關係，結果清楚顯示亞洲株與澳洲株為不同的二個基因群；而亞洲又可區分成台灣株與日本株二個基因群。台灣又可分成疫苗群和野外病毒群 (圖 1)。

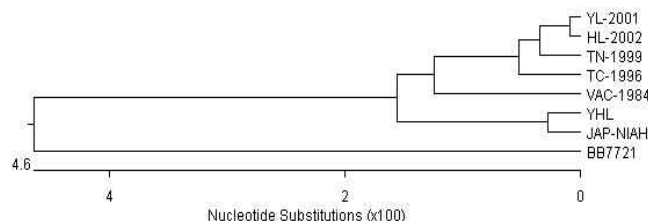


圖 1 牛流行熱 G 醣蛋白基因核酸序列演化樹狀圖

		Percent Identity						
		1	2	3	4	5		
Divergence	1	■	97.9	98.2	97.8	98.2	1	VAC-1984
	2	2.1	■	99.4	98.9	99.4	2	TC-1996
	3	1.8	0.6	■	99.2	99.7	3	TN-1999
	4	2.3	1.1	0.8	■	99.5	4	YL-2001
	5	1.8	0.6	0.3	0.5	■	5	HL-2002
		1	2	3	4	5		

圖 2 牛流行熱台灣株 G 醣蛋白基因氨基酸序列相似度百分比

比較分析 VAC-1984 疫苗株、TC-1996 株、TN-1999 株、YL-2001 株與 HL-2002 株之核酸和胺基酸序列。HL-2002 與 YL-2001 核酸序列相似性為 99.8%，胺基酸序列相似性亦為 99.5%；與 TN-1999 核酸序列相似性為 99.4%，胺基酸序列相似性亦為

99.7%；與 TC-1996 核酸序列相似性為 98.9%，胺基酸序列相似性亦為 99.4%；與 VAC-1984 核酸序列相似性為 97.5%，胺基酸序列相似性為 98.2% (圖 2)。

表 4 疫苗株與野外毒株抗原決定位抗原區氨基酸的突變點

	抗原決定位位置		
	G3b (215-231)	G3c (262-271)	G1 (487-503)
VAC-1984	A220	R270	NLN499*
TC-1996	E	Q	NLS
TN-1999	E	Q	NLS
YL-2001	E	Q	NLS
HL-2002	E	Q	NLS

比較疫苗株與野外毒株抗原決定位抗原區氨基酸的改變，並沒有發生變異漂移 (shift) 和轉變 (drift)，其中僅有三個點突變分別在第 220、第 270 和第 499 個氨基酸 (表 4)。疫苗株第 220 氨基酸由 alanine (A) 點突變為 glutamic acid (E)，第 270 氨基酸由 arginine (R) 點突變為 glutamine。第 499 氨基酸由 asparagine 點突變為 serine。第 499 氨基酸因為點突變，使疫苗株由 NLN 突變成 NLS；NXS 或 NXT 為一潛在性的醣基化位置 (potential glycosylation site)，故點突變使得野外毒株在 G1 抗原決定位增加一個醣基化位置。

討 論

探討 1996 年和 1999 年兩次的牛流行熱疫情，

其發生之主要原因為牛隻疫苗免疫接種率低，以致抗體力價不足，而無法防禦野外病毒感染。而且 1996 年耐過的牛隻，於 1999 年仍有發病病例，顯示感染耐過的牛隻所產生的免疫保護效期有限。此外，環境緊迫因素讓牛隻無法有良好免疫力，以及兩次疫情皆發生於颱風過後蚊蟲大量繁殖，致使傳播病毒之媒介滋生，易讓疫情爆發 [10, 3]。由於環境中此類昆蟲媒介無法完全加以消滅，因此本病的預防方法，仍以疫苗控制最為有效。依據澳洲經驗，牛隻 10 月齡以上時，施行第一次死毒疫苗免疫，4 週後再補強一次，則可獲較長之保護效果；以後每年均須至少補強免疫一次 [14]。我國位處亞熱帶，本病的流行期間可長達 7 個月，加上免疫抗體 4 個月後約衰退 21.64%，因此欲使牛群保持最佳的抗體保護狀態，應可考慮每年於春、秋兩季各補強一次。目前政府防疫機關積極輔導農民於每年 1

月及 6 或 7 月前各完成牛隻牛流行熱預防注射一次，並於 4 月底及 10 月底採取轄內牛隻血清，測定抗體消長情形，冀以抗體調查來監控疫情，預防疾病的發生。

比較 2002 年、2001 年、1999 年分離株與疫苗株 VP1 的氨基酸序列，相似性約在 97.1 - 99% 之間，比較抗原決定位抗原區氨基酸的改變，並沒有發生變異移動和轉變，其中僅有三個點突變。疫苗株第 220 氨基酸由 alanine (A) 點突變為 glutamic acid (E)，第 270 氨基酸由 arginine (R) 點突變為 glutamine。第 499 氨基酸由 asparagine 點突變為 serine。Alanine 與 glutamic acid 為類似的氨基酸對抗原性應該不會造成任何影響；而 arginine 與 glutamine 皆具有極性，但 Q 為弱親水性而 R 為強親水性，不過對抗原性影響應該不會太大；唯一值得探討的是第 499 氨基酸點突變造成的影響疫苗株由 NLN 突變成 NLS；因為 NXS 或 NXT 為一潛在性的醣基化位置 (potential glycosylation site)：NXS 可能會改變 G 醣蛋白抗原決定位結構的型態 [15]，而影響中和性抗體的生成，但也有證據顯示，這些潛在醣基化位置也可能不會被醣酸化 [4]。分析發生變異的氨基酸位置推論應該不會影響與中和抗體產生相關的抗原區。另外，VAC-1984 疫苗株與 HL-2002 株之間核酸序列差異為 2.55%，以 RNA 病毒合理的演化速率，每年的 2% 核酸差異度及每十年 5% 核酸差異度來估量，台灣 1984 年至 2001 年所流行的牛流行熱應該是同一病毒株演化的結果。

1996 年所分離的牛流行熱病毒以交叉中和試驗，證實其中和抗原性仍可為國產牛流行熱不活化疫苗之免疫血清中和 [10]。根據 1992 年，Cybinski 文獻指出 [7]，澳洲 6 株變異株胺基酸序列相似性為 96 - 98% 之間，但皆可被抗體中和，且從 1956 至 1989 年間所分離的 18 株分離株也都可以被老鼠多源抗血清中和。因此我們推論疫苗株所產生之抗體，應該可以中和 TN-1999 和 YL-2001 分離株，不過部份有定期免疫的牧場為何仍然發生疫情值得深入探討，唯有進行血清交叉中和試驗來進一步證實。

2002 年牛流行熱抗體調查發現，4 月份中和抗體力價平均值祇有 55.5；10 月份則明顯上升達 125.85。由於 2001 年台灣中、南部爆發流行，業者皆緊急施打疫苗亦按時完成補強注射，故該年抗體

力價普遍比過去三年較高。但東部仍有部份養牛戶未做好預防注射，故於 2002 年因感染牛流行熱而造成死亡。

從 2001 年 8、9 月台灣爆發牛流行熱疫情調查結果發現，有 4 頭牛在 6 月份血清中和抗體檢測結果為 64 倍，但不幸地在 9 月份爆發大流行時仍被感染，故以 64 倍以上具有保護能力血清抗體力價為一分界點，將牛隻以力價分類，在 2002 年 4 月時僅有 47.46% 的牛隻其抗體力價具有保護性，在 10 月時則僅有 35.01%。4 月份的血清檢測結果，約有 17.28% 的抗體力價是介於 32 倍和 64 倍之間。由上述得知目前市售之牛流行熱疫苗，抗體生成的效力仍嫌不足。故當務之急我們應先了解新分離株之致病性及免疫特性，並重新評估選定適合之分離株製成疫苗，此外，是否以純化方式提高疫苗中抗原量，改良疫苗佐劑配方，以提升不活化疫苗之效力和保護力，才能減少疾病發生時對養牛產業的衝擊，以增加畜產業的產值。

參考文獻

1. 邱仕炎、呂榮修。牛流行熱預防的研究。中華民國獸醫學會雜誌 23：73 - 79，1987。
2. 呂榮修、李永林、黃士則、蔡向榮、廖永剛、林地發、曾俊憲、邱仕炎。1989 年發生在臺灣的牛流行熱疫學研究。臺灣畜牧獸醫學會會報 60：51 - 56，1992。
3. 徐愛明。台灣牛流行熱流行病學研究。台灣大學獸醫學研究所碩士論文。2000。
4. Benmansour A, Leblois H, Coulon P, Tuffereau C, Gaudin Y, Flamand A, Lafay, F. Antigenicity of rabies virus glycoprotein.. J Virol 65: 4198-4203, 1991.
5. Chiu SY, Lu YS. The epidemiology of bovine ephemeral fever in Taiwan 1984. J Chinese Soc Vet Sci 13: 1-9, 1987.
6. Cybinski DH, Walker PJ, Byrne KA, Zakrzewski H. Mapping of antigenic sites on the bovine ephemeral fever virus glycoprotein using monoclonal antibodies. J Gen Virol 71: 2065-2072, 1990.
7. Cybinski DH, Davis SS, Zakrzewski H.

- Antigenic variation of the bovine ephemeral fever virus glycoprotein. *Arch Virol* 124: 211-224, 1992.
8. Davis SS, Gibson DS, Clark R. The effect of bovine ephemeral fever on milk production. *Aust Vet J* 61: 128, 1984.
 9. Grigera PR, Mathieu ME, Wagner RB. Effect of glycosylation on the conformation epitopes of the glycoprotein of vesicular stomatitis virus (New Jersey serotype). *Virology* 180: 1-9, 1991.
 10. Liao YK, Inaba Y, Li NI, Chain CY, Lee SL, Liou PP. Epidemiology of bovine ephemeral fever virus infection in Taiwan. *Microbiol Res* 153 (3): 289-295, 1998.
 11. St George TD. Studies on the pathogenesis of bovine ephemeral fever in sentinel cattle. *J Virol* and serology. *Vet Microbiol* 10: 493-499, 1985.
 12. St George TD, Standfast HA, Thomas P. The Arboviruses: Epidemiology and Etiology Vol. 1. Chapter 17, CRC Press, Inc. Florida, U.S.A., 71-86, 1988.
 13. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. Ephemeral fever. In 'Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animals', 8th ed, Cornell University Press, Ithaca, USA, 851-855. 1994.
 14. Tzipori S, Spradbrow PB. A cell culture vaccine against bovine ephemeral fever. *Aust Vet J* Jul 54 (7): 323-328, 1978.
 15. Uren MF, St George TD, Kirkland PD, Stranger RS, Murray MD. Epidemiology of bovine ephemeral fever in Australia. *Aust J Biol Sci* 40: 125-136, 1987.
 16. Vanselow BA, Walthall JC, Abetz I. Field trials of ephemeral fever vaccines, *Vet Microbiology* 46: 117-130, 1995.
 17. Walker PJ, Byrne KA, Cybinski DH, Doolan DL, Wang Y. Proteins of bovine ephemeral fever virus. *J Gen Virol* 72: 67-74, 1991.

Serological Survey and Immune Program on Bovine Ephemeral Fever in Taiwan

Lu-Jen TING*, Min-Shiuh LEE, Shu-Ting KUO, Ming-Chu CHEN, Jong-Rong SHIAU

National Institute for Animal Health, Council of Agriculture, Executive of Yuan

ABSTRACT There were six epidemics of bovine ephemeral fever (BEF) occurring in Taiwan during 1967 to 2001 (1967, 1984, 1989, 1996, 1999 and 2001). The epidemic cycles indicated that the intervals of epidemic were decreased and the courses of epidemic were increased. The purpose of this study was to provide a method for the surveillance system of BEF on serology. A total of 4361 cattle sera were collected from 16 prefectures of Taiwan during April and October in 2001. The mean titers of serum neutralizing (SN) titers rose from 104.70 in April to 146.22 in October. If the SN titers for protection from infection were $> 1:64$, there were only 47.46% of herds on April and 35.01% on October containing sufficient titers for protection. These results indicated that vaccination with the BEF inactivated vaccines wasn't support the complete protection for cattle in the whole year. The coding region of the G protein was amplified by reverse transcriptase PCR and sequenced. Phylogenetic analysis revealed that the Australian strains and the Asian strains have segregated into two distinct genotypes.

Keywords: Bovine ephemeral fever, Serum antibody survey, Neutralizing antibody

* Corresponding Author
Animal Health Research Institute