

2000 年台灣牛流行熱血清抗體調查

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 年和 1999 年爆發過五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 2000 年 3 月及 6 月，針對全台灣 16 個縣的乳牛逢機採樣血清共 3862 支，進行牛流行熱血清抗體調查。3 月份的抗體調查發現，血清中和抗體力價平均值為 21.43 倍；6 月份的抗體力價平均值上升達 80.03 倍。若以 32 倍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 3 月時 26.45% 的牛隻其抗體力價具有保護性，但其餘 73.55% 的牛隻抗體力價皆不足以保護牛群抵抗野外感染；在 6 月時只有 60.75% 的牛隻抗體具有保護力，但其餘 39.25% 的牛隻抗體力價皆不足以保護牛群抵抗野外感染。根據過去經驗，當族群免疫超過 70% 時，才能降低爆發流行的可能，故推測至 9、10 月牛流行熱流行期，免疫族群不足很可能無法保護牛群避免野外病毒感染。

關鍵字：牛流行熱(*bovine ephemeral fever*)、血清抗體調查(*serum antibody survey*)、中和抗體 (*neutralizing antibody*)

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、庫蠅等昆蟲媒介傳染，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[5,7,8]。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。臺灣曾於 1967 年、1983 至 1984 年間、1989 至 1990 年間、1996 年及 1999 年爆發過 5 次大流行，皆造成相當大的經濟損失[1,2,4,6]。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[6]。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[6]，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%(1685/14973)。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，但是所有待測牛隻抗體力價皆低於 32，而不具有保護效力，因此待颱風過後，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 0.05% (525/9593)死亡率 1.21% (116/ 9593) [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。

材料及方法

血清樣品收集與處理：

分別於 2000 年 3 月及 6 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

* 抽印本索取作者
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

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

牛流行熱病毒柳營株是呂等 [1] 於 1984 年所分離，先於幼倉鼠腎臟細胞 (baby hamster kidney cell; BHK-21) 增殖，收獲後測定力價約為 $10^{7.5}$ 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，每個稀釋倍數至少做 2 孔，每孔 0.05 mL。
- (2) 每孔加入 0.05 mL 含有 200 TCID₅₀/mL 牛流行熱柳營株病毒液。
- (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。

結果

牛流行熱抗體調查發現，3 月份中和抗體力價平均值祇有 21.43，6 月份的抗體力價平均值明顯上升達 80.03，其餘各縣市抗體力價如表 1。

根據前人研究結果，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。3 月份 26.45% 的受檢牛隻力價具有保護不被病毒感染，6 月份 60.75% 的受檢牛隻力價具有保護不被

病毒感染，其餘各縣市抗體力價如表 2。

送檢血清當中台北縣、新竹縣、南投縣、屏東縣及花蓮縣 3 月份的血清為尚未注射牛流行熱疫苗，而 6 月份的血清為疫苗免疫後 1 個月，3 月份免疫前抗體力價平均值為 17.51 倍；6 月份免疫後則明顯上升達 131.47 倍 (如表 3)。

表 1 2000 年台灣牛流行熱血清抗體調查結果

地區 縣市別	血清中和抗體力價平均值	
	3 月份	6 月份
北部 台北縣	9.80	77.05
桃園縣	26.17	84.05
新竹縣	21.33	142.83
新竹市	29.47	85.67
苗栗縣	19.99	58.33
中部 台中縣	24.70	58.67
彰化縣	4.42	35.02
南投縣	22.17	160.93
雲林縣	26.07	44.50
南部 嘉義縣	ND ¹	28.51
嘉義市	20.67	46.77
台南縣	27.43	48.88
高雄縣	43.85	ND
屏東縣	26.33	149.95
東部 台東縣	11.14	52.79
花蓮縣	7.90	126.57
力價幾何平均值	21.43	80.03
值	(n ² =1959)	(n=1903)

¹: 未測試

²: 測試頭數

表 2 2000 年台灣牛隻血清中牛流行熱抗體具保護效力調查結果

地區	縣市別	血清中和抗體力價 ≥ 32 百分比	
		3 月份 (%)	6 月份 (%)
北部	台北縣	6.67	57.89
	桃園縣	36.00	66.67
	新竹縣	35.00	81.67
	新竹市	45.00	74.07
	苗栗縣	26.17	68.67
中部	台中縣	31.67	61.67
	彰化縣	2.67	43.94
	南投縣	23.33	93.33
	雲林縣	34.44	24.44
南部	嘉義縣	ND ¹	29.33
	嘉義市	23.33	51.85
	台南縣	24.38	35.64
	高雄縣	53.69	ND
	屏東縣	33.67	87.00
東部	台東縣	17.31	53.45
	花蓮縣	3.39	81.67
力價 ≥ 32 倍之百分比		26.45 (n ² =1959)	60.75 (n=1903)

¹：未測試²：測試頭數

表 3 牛流行熱疫苗免疫前後血清抗體調查結果

縣市別	血清中和抗體力價平均值	
	3 月份(免疫前)	6 月份(免疫後)
台北縣	9.80	77.05
新竹縣	21.33	142.83
南投縣	22.17	160.93
屏東縣	26.33	149.95
花蓮縣	7.90	126.57
力價幾何平均值	17.51 (n ¹ =510)	131.47 (n=510)

¹：測試頭數

表 4 牛流行熱疫苗免疫後具保護效力調查結果

縣市別	血清中和抗體力價 ≥ 32 百分比	
	3 月份免疫前 (%)	6 月份免疫後 (%)
台北縣	6.67	57.89
新竹縣	35.00	81.67
南投縣	23.33	93.33
屏東縣	33.67	87.00
花蓮縣	3.39	81.67
力價 ≥ 32 倍之百分比	20.41 (n ¹ =510)	80.31 (n=510)

¹：測試頭數

討 論

探討民國 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 [6, 30]。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。

2000 年牛流行熱抗體調查發現，3 月份中和抗體力價平均值祇有 21.43；6 月份的抗體力價平均值明顯上升達 80.03。6 月份嘉義縣之抗體力價平均值祇有 28.51 遠低於保護力價，必須加強疫苗補強；而彰化縣、雲林縣、嘉義市及台南縣等也都低於 50 倍，以抗體力價消長的情形推斷至 9、10 月牛流行熱流行期，抗體力價可能會過低而不足以保護牛群避免野外病毒感染。

血清中和抗體力價大於或等於 32 時，抗體可保護牛隻不被野外病毒感染，若以

32 倍為一分界點，將國內牛隻以力價分類。3 月 26.45%的受檢牛隻力價具有保護不被病毒感染；但另外 73.55%的受檢牛隻抗體力價皆不足以保護免於被感染的危機。6 月份時 60.75%的牛隻具有保護力；但其餘 39.25%的牛隻抗體力價低於 32 倍，不足以保護免於被感染的危機。當族群免疫超過 70%時，才能降低爆發疾病的流行，而各縣市中除了新竹縣(市)、南投縣、屏東縣、花蓮縣等族群超過 70%抗體保護力，其餘縣市皆為高危險群體。

送檢血清當中台北縣、新竹縣、南投縣、屏東縣及花蓮縣 3 月份的血清為尚未注射牛流行熱疫苗，而 6 月份的血清為疫苗免疫後一個月，檢測結果發現，3 月份免疫前抗體力價平均值為 17.51，20.41%的受檢牛隻力價具有保護不被病毒感染；6 月份免疫後則明顯上升達 131.47，80.31%的受檢牛隻力價具有保護不被病毒感染（如表 3、4），可見得正確地使用效期內的疫苗，免疫後抗體生成情形良好。

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[6]。筆者比較 1999 年分離株與疫苗株 VP1 的核酸序列其相似性高達 97.3%，氨基酸核酸序列相似性高達 97.9%其變異性並不顯著。檢討牛流行熱防疫施行政策，現階段仍要求農民能每年定期實施疫苗接種，以確保牛隻安全。

依據澳洲經驗，牛隻 6 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[10]。由於死毒疫苗的最佳保護期約為半年，而我國位處亞熱帶，本病的流行期間可超過 6 個月，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 3 月底

及 9 月底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，期以抗體調查來監控疫情，預防疾病的發生。

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.Chiu SY, Lu YS. The epidemiology of bovine ephemeral fever in Taiwan 1984. J Chinese Soc Vet Sci 13: 1- 9, 1987.
- 5.Davis SS, Gibson DS, Clark R. The effect of bovine ephemeral fever on milk production. Aust Vet J 61:128, 1984
- 6.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- 95, 1998.
- 7.St George TD. Studies on the pathogenesis of bovine ephemeral fever in sentinel cattle. I .Virology and serology. Vet Microbiol 10: 493- 499, 1985.
- 8.St George TD, Standfast HA. Bovine ephemeral fever. In: Thomas P. Monath (Ed.) The Arboviruses: Epidemiology and Ecology Vol. II Chapter 17, CRC Press, Inc. Florida, U.S.A., 71- 86, 1988.
- 9.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.

10.Tzipori S, Spradbrow PB. A cell culture
vaccine against bovine ephemeral fever.
Aust Vet J Jul; 54 (7): 323- 8, 1978.

Serological Survey of Bovine Ephemeral Fever in Taiwan in 2000

Ting* Lu-Jen, Min-Shiuh Lee, Shu-Ting Kuo, Ming-Chu Chen and Jong-Rong Shiau

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

SUMMARY

Since 1967, bovine ephemeral fever (BEF) virus has caused several epidemics in Taiwan in 1967, 1984, 1989, 1996 and 1999. These records showed that the time intervals of each epidemic were decreased and the courses of each epidemic were increased. In this study, 3,862 cattle sera were collected from 16 prefectures in Taiwan during March and June 2000. The mean titers of serum neutralizing (SN) antibodies were 21.43 in March and 80.03 in June. When the protective level of SN antibodies was set at $\geq 32X$, only 26.45% of herds located in the protective range in March and 60.75% in June. To prevent epidemic in cattle, the herd immunity need to be higher than 70% of the animals with antibody titers $\geq 32X$. We suggest that the antibody levels are not sufficient to prevent the herds from BEF infection in September and October without further vaccination.

Keywords : *Bovine ephemeral fever, Serum neutralizing antibodies, Epidemic, Surveillance*

* Corresponding Author
National Institute for Animal Health