

豬瘟氣管內免疫效果的評估

黃天祥* 陳聖怡 林有良 潘居祥
楊揚輝 潘英章

台灣省家畜衛生試驗所豬瘟研究系

摘要 39頭一、二、三、四和八週齡外觀正常小豬，各別經由氣管內接種一劑量免化豬瘟活毒疫苗，並在十週齡時以 ALD 豬瘟強毒實施肌肉接種攻擊，結果有 32 頭健康耐過，免疫效果約為 82% (32/39)。顯示氣管免疫方式確可建立豬瘟之免疫性，唯仍無法完全克服豬瘟移行抗體的干擾。

關鍵詞：豬瘟，氣管免疫

緒言

豬瘟係由豬瘟病毒引起的一種高度豬隻傳染性疾病。一般呈急性病程，以發高熱、全身性出血性病變、感染率與死亡率均高達 95~100% 為主徵。有時病程可轉變為慢性，而其臨床症狀和病變常極為輕微或不明顯。豬瘟急性感染或斃死豬之分泌物、排泄物、以及全身各臟器，甚至皮膚細胞均有大量豬瘟病毒及特異性抗原的存在^[4, 7, 8, 9]。而豬瘟移行抗體，無論力價高低對於免化豬瘟疫苗各項免疫方式例如哺乳前肌肉、皮下和口鼻黏膜免疫，或三和六週齡之肌肉免疫，或離乳前之口鼻黏膜免疫等各免疫方式或多或少都會有負面的影響；此外，豬瘟瀕死或斃死豬其肺臟組織可見極強之豬瘟特異性螢光，而且經病毒分離結果每克肺臟組織可達 $\text{Log}^{7.0}$ Plaque Forming Unit (PFU) 以上之病毒力價^[2, 3]。這顯示豬瘟強毒可於肺臟之巨噬細胞及上皮細胞等細胞內大量增殖；此外，肺泡壁對於血液中移行抗體有如一道自然屏障，若能將免化豬瘟疫苗經由氣管內直接予以接種，理應可以避免豬瘟移行抗體對於疫苗干擾問題的發生，進而建立健全的豬瘟免疫方式，使尚在哺乳中之幼齡動物能即早建立有效之主動免疫，以助益農民。故而探討豬瘟氣管免疫方式的可行性。

材料與方法

病毒：

- (A)免化豬瘟疫苗：係台灣省家畜衛生試驗所製造並經檢定合格者，供豬瘟氣管免疫接種用。
- (B)豬瘟 ALD 強毒：係台灣省家畜衛生試驗所檢定分所之疫苗檢定豬攻擊用強毒。對豬隻繼代數為 46 代毒。ALD 原毒血力價為 $10^{6.0}$ MLD/ml，即為 $4.25 \times 10^{7.0}$ PFU 病毒/ml。攻擊時，再以細胞培養液稀釋 1,000 倍後每頭豬經由肌肉注射 1 ml。

方法

由苗栗縣竹南鎮某一企業養豬場任選五胎同時分娩之外觀正常小豬 44 頭，分別於一、二、三、四和八週齡時各別經由氣管內接種一劑量免化豬瘟活毒疫苗。於接種時及至十週齡攻擊前，每週各以肝素抗凝劑針筒採血，利用間接免疫酵素標示抗體病毒灶染色法 (IIPS) 測定疫苗病毒血症，並以免化豬瘟疫苗毒抗原盤測定豬瘟 IIPS 抗體價^[1, 6]。待十週齡時，將 39 頭不同週齡氣管免疫豬隻，一、二、三、四和八週齡免疫小豬分別有 7 頭、8 頭、6 頭、12 頭和 6 頭小豬，以及 3 頭未經豬瘟疫苗免疫豬隻購回本所，經以 $\text{Log}^{3.0}$ MLD₅₀ 之 ALD 豬瘟強毒實施肌肉接種攻擊。攻

*抽印本索取作者
台灣省家畜衛生試驗所

擊後，觀察臨床反應，並於第 4、7、14、22、30 和 48 天以肝素抗凝劑針筒採血測定病毒血症和攻擊後抗體反應情形，並於攻擊耐過後第 48 天予以犧牲作病理檢驗，以探討其免疫效果。

結 果

39 頭外觀正常小豬，分別於一至四週齡和八週齡時經由氣管內接種一劑量兔化豬瘟疫苗。在十週齡攻擊前，每週以肝素抗凝劑採血利用間接免疫酵素標示抗體病毒灶染色法測定疫苗病毒血症結果均為陰性，即無兔化豬瘟疫苗病毒血症發生。而於疫苗接種至攻擊前，每週採血分離血清並以間接免疫酵素標示抗體病毒灶染色法測定抗體結果，一般移行抗體價在 ≤ 32 倍至 128 倍間者，疫苗接種後至攻擊前抗體大都會有不等程度的上升；但大於 128 倍至 2,048 倍者則反有下降的現象。

將這 39 頭不同週齡氣管內免疫豬隻和 3 頭未經豬瘟疫苗免疫豬隻，於十週齡時購回本所經以 ALD 豬瘟強毒攻擊結果，臨床上有 32 頭健康耐過，免疫效果約為 82% (32/39)。耐過豬中，有 14 頭豬約為 44% (14/32) 曾在攻擊後第五天左右有一至二天短暫性熱反應 ($40.0^{\circ}\text{C} \sim 41.0^{\circ}\text{C}$)，唯攻擊後第 4、7、14、22 和 30 天時經以肝素抗凝劑採血作病毒分離結果，全部耐過豬隻均無攻擊後病毒血症發生，而且試驗結束時分二批即在攻擊後第 30 和 48 天予以犧牲亦無任何豬瘟肉眼

病變可見。這些健康耐過豬，在攻擊後第 4、7、14、22 和 29 天採血分離血清利用兔化豬瘟疫苗抗原盤測定豬瘟 IIPS 抗體結果，幾何平均力價分別為 55 倍、416 倍、2,834 倍、6,317 倍、6,049 倍和 5,404 倍。

攻擊後，39 頭不同週齡氣管內免疫豬隻有 7 頭斃死，其中二週齡和三週齡氣管免疫豬各有 3 頭和 4 頭。這 3 頭二週齡免疫豬，分別自攻擊後第 4、5 和 8 天起呈持續性熱反應，並在第 12 和 20 天間斃死，解剖結果，肉眼上均有豬瘟之出血性病變和傳染脾等細菌性混合感染病變；另外，4 頭三週齡免疫豬，有 2 頭自攻擊後第三天起呈持續性熱反應，第十七天病死時解剖結果肉眼上均有豬瘟出血性病變可見；而其他 2 頭豬隻，在攻擊後則無明顯熱反應發生，但卻於攻擊後第七和八天突告斃死，解剖檢驗結果，除有纖維素性胸腹膜炎外，並無豬瘟病變，顯係遭其他因素或細菌性的感染致死。這 7 頭攻擊後斃死豬，在攻擊後第 4、7 和 14 天採血分離病毒結果除 2 頭細菌性感染斃死豬外，其餘 5 頭均有豬瘟病毒血症發生（表一），而且於斃死前均無 IIPS 抗體上升現象。

此外，3 頭攻擊對照豬則在攻擊後第三天起呈持續性熱反應，病死或瀕死時解剖結果均有豬瘟出血性病變產生。攻擊後第四和七天均有病毒血症存在；而且攻擊時及病死前採血分離血清測定抗體結果，均無法測得 IIPS 抗體 ($<32\text{X}$)。

表一 攻擊後斃死豬隻病毒血症發生情形

免 疫 方 式	豬 號	病毒血症測定天數和濃度 (Log PFU/ml)		
		攻 擊 後 4 天	攻 擊 後 7 天	攻 擊 後 14 天
二 週 齡 氣 管 免 疫	211	0	2.65	—
	213	0	5.10	3.19
	215	0	2.64	—
三 週 齡 氣 管 免 疫	221	0	0	—
	222	1.36	6.07	5.86
	224	0.85	4.46	2.35
	225	0	0	0
攻 擊 對 照	274	1.24	7.9	—
	245	4.56	7.69	—
	246	6.35	7.22	—

討 論

一至四週齡以及八週齡小豬，各以一劑量兔化豬瘟疫苗經由氣管内免疫後，每週以肝素抗凝劑採血測定兔化豬瘟疫苗病毒血症結果，在十週齡攻擊前均無疫苗病毒血症的發生。這與林等^[5]報告兔化豬瘟疫苗僅呈淋巴感染相同。

39 頭分別在一至四週齡以及八週齡經由氣管内免疫豬隻，於十週齡時經豬瘟 ALD 強毒株攻擊結果，臨床上有 32 頭健康地耐過，而且這些耐過豬在攻擊後第 30 天或 48 天病理解剖結果亦無任何豬瘟病變可見，免疫效果達 82%。在 32 頭健康耐過豬中，有 14 頭約佔 44% (14/32) 於攻擊後第五天左右曾有一至二天短暫性熱反應發生，與以往一般免疫攻擊耐過豬呈現反應相類似^[2, 3]，這可能與 InterLeukin-2 (IL-2) 的作用有關^[10]，因全部耐過豬在攻擊後第 4、7、14、22、30 和 48 天以肝素抗凝劑採血測定病毒血症結果，均為陰性。

攻擊後 7 頭氣管免疫斃死豬，3 頭係二週齡，而 4 頭係三週齡氣管免疫豬。氣管免疫斃死豬，有 2 頭是死於細菌性的感染，因其中一頭在攻擊時體溫即告上升，而另一頭則臨床正常突告死亡，且這兩頭斃死豬在斃死前均無病毒血症發生。而其他五頭氣管免疫攻擊斃死豬，可能是因技術性問題在免疫注射時疫苗漏出氣管外而遭移行抗體干擾致使免疫無法發生作用。

由一週齡、四週齡和八週齡氣管免疫豬隻，攻擊後都能耐過豬瘟強毒的攻擊，顯示兔化豬瘟疫苗病毒在注入氣管後，疫苗毒可於肺泡壁之巨噬細胞和上皮細胞內增殖而或可避開移行抗體的干擾進而建立豬瘟的免疫性。唯氣管内接種免疫於現場施行不便，需另行探討其他更為簡便之免疫方式例如噴霧免疫，以克服移行抗體的干擾。

最後，本試驗執行之初，因豬場遭受豬生殖與呼吸綜合症的感染，且有小部份豬隻因感染該病而斃死，致使本試驗無法連續而被迫中途停止，相當可惜。但由試驗結果，我們或可證實豬生殖與呼吸綜合症病毒雖會侵害豬隻巨噬細胞，然而對於豬瘟疫苗的免疫注射並不造成不良影響。

重要參考文獻

1. 何維莊、黃天祥、費昌勇、邱仕炎、潘英章。應用酵素標幟抗體病毒灶染色法測定豬瘟病毒及抗體。中華民國獸醫學會雜誌。14：81-87. 1988.
2. 黃天祥、林有良、陳聖怡、潘居祥、李淑慧、楊揚輝和潘英章。本省豬瘟免疫方式之探討。台灣省畜衛所研報。No. 29：23-31. 1993.
3. 黃天祥、陳聖怡、林有良、潘居祥、李淑慧、楊揚輝和潘英章。豬瘟黏膜免疫。台灣省畜衛所研報。No. 30：1-5. 1994.
4. Kresse, J. I., Stewart, W. C., Carbrey, E. A and Snyder, M. L. Sensitivity of swine buffy coat culture to infection with hog cholera virus. Am. J. Vet. Res. 37：1315, 1976.
5. Lin Tracy T. C. and Lee Robert C. T. An overall report on the development of a highly safe and potent lapinized hog cholera virus strain for hog cholera control in Taiwan. NSC Spec. Publ. 5：1-44, 1981.
6. Pan I. C.; Huang T. S. and Hess W. R. New method of antibody detection by indirect immunoperoxidase plaque staining for serodiagnosis of African Swine Fever. J. Clinical Microbiology. 16 (4)：650-655, 1982.
7. Pan I.C.; Huang T. S.; Pan C. H.; Chern Sheng-Yi; Lee Shu-Hwae; Lin Y. L.; Huang B. Y.; Lin C. C.; Li N. J.; Lin J. P.; Yang Y. H.; Chiu S. Y.; Chang J. S.; Hue D. K.; Lee H. C. and Chang C. N. The skin, tongue, and brain as favorable organs for hog cholera diagnosis by immunofluorescence. Arch Virol. 131：475-481, 1993.
8. Ressang A. A. Studies on the pathogenesis of hog cholera. I. Demonstration of hog cholera virus subsequent to oral exposure. Zentralbl Veterinaermed (B) 20：256, 1973.
9. Ressang A. A. Studies on the pathogenesis of hog cholera. II. Virus distribution in tissue and the morphology of the immune response. Zentralbl Veterinaermed (B) 20：272, 1973.
10. Smith Kendall A. Interleukin-2. Scientific American March. 50-57, 1990.

The Immunization Test Of Hog Cholera By Intranasal Route

T.S. Huang,* S. Y. Chern., Y. L. Lin., C. H. Pan.,
Y. H. Yang and I. C. Pan

Taiwan Animal Health Research Institute. Taiwan, R. O. C.

SUMMARY Thirty-nine Piglets, aged 1、2、3、4 and 8 weeks, were vaccinated with one dose of LPCV by intranasal route, respectively. All the vaccinated piglets were challenged with ALD virulent virus by intramuscular way when they were 10 weeks of age. The result showed that only 32 piglets, 82 % (32 / 39), were refractory to the challenge, and that the intranasal vaccination of LPCV seems still can't prevent the H. C. colostral antibody interference.

Key words: *Hog cholera, Intranasal Immunization*

*Corresponding author

Taiwan Animal Health Research Institute. Taiwan, R. O. C.