

傳染性胃腸炎弱毒 TO 株對小豬免疫之研究

林榮培 鍾明華 鄭建盛 賴秀穗

(臺灣省家畜衛生試驗所)

傅 祖 慧 (國立臺灣大學獸醫學研究所)

林 再 春 (中國農村復興聯合委員會)

摘 要

以未吃初乳之初生仔豬 6 頭，其中 5 頭點鼻接種 TO 弱毒 $10^{5.3}$ TCID₅₀/ml 每頭 1 ml，另一頭接種 CN 強毒 10 倍乳劑以為對照，結果 5 頭仔豬均正常，而對照豬於第二天發生下痢，然後死亡。由此可知 TO 弱毒對仔豬甚為安全。

以一個月齡無 TGE 抗體小豬一頭，點鼻接種 TO 弱毒 10^5 TCID₅₀ 3 次，血中抗體力價最高可達 256 倍。

以一個月齡無 TGE 抗體小豬 5 頭，4 頭點鼻接種 TO 弱毒 $10^{5.3}$ TCID₅₀，一頭不接種為對照豬，接種後第 5 天以 CN 強毒 10^4 LD₅₀ 點鼻攻毒之，免疫豬雖發生下痢，但二天即恢復，對照豬則需四天才恢復。發病原因可能因弱毒量太少而攻毒之強毒量太多之故。接種 TO 弱毒豬之鼻腔及肛門分泌物於第二天可以用組織培養螢光標示抗體法檢出病毒，且可維持四天以上。

一個月齡之 SPF 小豬 3 頭，於室溫 18°~20°C 下，二頭點鼻接種 TO 弱毒 10^7 TCID₅₀，一頭為對照，第 5 天時免疫豬可防禦 CN 強毒 100 LD₅₀ 之攻擊。對照豬則發生下痢。

緒 言

傳染性胃腸炎對於以養豬為畜產主體的國家，具有很大的威脅性，因哺乳仔豬感染本病後，引起嚴重之損失，其死亡率幾乎百分之百⁽⁵⁾⁽⁹⁾。本省於 1958 年最先發現於宜蘭縣⁽¹⁵⁾，旋即散佈全省，最近每年均有發生，對仔豬之生產損失甚大。據林等調查報告⁽¹⁾，本病不但散佈全省，且有 44.6% 豬隻血清中含有本病之中和抗體，而以宜蘭縣之 62% 為最高。

關於本病防疫方面，向來主要是以防止哺乳仔豬感染為目的⁽³⁾。本病自從 30 年前 (1946 年) 由美國的 Doyle 與 Hutchings 首次報告⁽⁹⁾ 以來，至今尚無良好之預防方法可供使用。以往是以強毒使母豬感染而產生免疫，再藉著乳汁中之抗體使仔豬免於本病之感染⁽⁵⁾⁽⁷⁾⁽¹³⁾。雖免疫效果很好，但有接種損失及散佈病毒之危險，並非上策⁽³⁾。目前美、日等國雖已製有活毒減毒疫苗供為肌肉及皮下注射之用，但效果尚未臻理想⁽³⁾⁽¹⁹⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾。因為以弱毒免疫之母豬，形成乳汁免疫甚難或不完全⁽⁴⁾。強毒與弱毒形成乳汁免疫之差異，在於乳汁中抗體之免疫球蛋白不同所致⁽⁴⁾⁽²¹⁾。乳汁抗體之免疫球蛋白，主要是 IgA 及 IgG⁽⁴⁾⁽²²⁾，兩者均有預防 TGE 之作用⁽³⁾；IgA (有部份是

分泌型 IgA) 抗體是由強毒之腸道感染所產生^{(7) (21)}，而弱毒或不活化病毒之肌肉內、乳房內之接種主要是產生 IgG，很難產生 IgA^{(4) (12)}。分泌型 IgA 可在乳汁中長久存在，但 IgG 抗體則很快消失⁽⁴⁾。

故極須開發一有效而安全之疫苗，供 TGE 預防之用，以期對本病做有效之控制。據實驗報告^{(11) (24)}，TGE 病毒可在呼吸道及腸道增殖，如能開發一低病原性而具高免疫性之弱毒，以噴霧或口服方式接種於母猪及小豬，使先在體內增殖，以後如可防禦強毒之入侵，則可達到預防之目的，且施行上甚為方便。因此最近由日本引進 TO 弱毒株；進行了一些有關之試驗。

材料與方法

(一) 試驗用病毒：

1. 由日本分讓之 TGE 病毒弱毒 TO--163株 (以下簡稱TO弱毒)，培養於初代豬腎細胞，於產生50% CPE時收集之，經凍結解凍法破壞細胞，放出病毒，然後以 4000 rpm 15 分鐘遠心，收集上清液，加入等量之保護劑，保護劑之成分為 0.3% P. V. P. K90, 20% Lactose, 50 r Kanamycin，然後冷凍乾燥，保存於4°C備用。其病毒力價依 Karber 法測定為 $10^{5.3} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$ 。

2. 上述方法所收集之上清液，以 polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) 加以濃縮⁽²⁰⁾，使其病毒力價達到 $10^7 \text{TCID}_{50}/\text{ml}$ 。其方法為上清液在 4°C 下緩緩加入 PEG 6000，並不停攪拌，使其最終濃度為 10% (w/v)，於 4°C 下攪拌一夜。次日於 4°C 下，以 3,900 rpm 遠心20分鐘收集沉澱物，沉澱物再以原液百分之一的 MEM 液加以溶解供用。

3. 攻毒用之 TGE 強毒為由臺灣大學獸醫系分讓之 CN 株，該株由竹南地區發生 TGE 時之病材分離來的，經由初生仔豬繼代者，其病毒力價為 10^4LD_{50} 。

(二) 試驗用動物：

1. 初生仔豬：由中壢購回未吃初乳之初生仔豬，以柔細乳 FM-U (日本明治乳業株式會社出品) 飼育，第三天接種病毒。

2. 小豬：由瑞芳購回，無 TGE 抗體之一個月齡小豬，體重約 10~12 公斤左右，觀察一星期後供用。

3. SPF 小豬：本所 SPF 中心自產之一個月齡第二代 SPF 小豬 3 頭，隔離飼育，試驗前採血，測定 TGE 抗體均為陰性。

(三) TGE 螢光標示抗體：

以體重15公斤左右，無 TGE 抗體之小豬，先以 10^5TCID_{50} 之 TO 弱毒 1ml 鼻腔接種，一星期後以 $10^4 \text{LD}_{50}/\text{ml}$ 之 CN 強毒 1 ml 鼻腔接種，2 星期後再以相同之 CN 強毒接種一次，隔一星期後放血，採取血清，其抗體力價為1024倍。然後依林⁽²⁾等之方法製成螢光標示抗體備用。

(四) 培養細胞及培養液：

培養用之細胞使用初生仔豬腎臟製成之初代豬腎細胞，消化時 0.25% Trypsin消化液中加入 0.015% 之 disodium EDTA。生長用之培養液為 Hank's 液加 0.5% Lactalbumin hydrolysate, 10% 小牛血清 (GIBCO), 100 u/ml 的盤尼西林, 100 μg/ml 的鏈黴素以及 7.5% 之 NaHCO_3 1%。維持用培養液除血清改為 2%，7.5% NaHCO_3 改為 2% 外，其餘相同。中和抗體試驗依照著者以前使用之方法⁽¹⁾。

(五) 病原性及預防效果試驗：

1. 以未吃初乳之仔豬 5 隻，每隻點鼻接種 (圖 1) 前述之 TO 弱毒疫苗 1 ml。另 1 隻為對照，點鼻接種前述之 CN 強毒 1 ml，觀察 1 星期。

2. 以無 TGE 抗體之小豬 5 隻，其中 4 隻鼻點接種前述之 TO 弱毒疫苗 $10^{5.3} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$ 每隻

1 ml。另一隻為對照不接種 TO 弱毒。接種後第 5 天，4 隻中之二隻以及對照豬用 CN 強毒 10^4 LD₅₀/ml 每隻 1 ml 經由鼻腔攻毒之。

3. SPF 小豬 3 頭，於室溫 18~20°C 下進行試驗，其中 2 頭以點鼻方式接種上述之濃縮 TO 弱毒 10^7 TCID₅₀/ml 每頭 1 ml，另一頭為對照，不予接種。接種後第 5 天，3 頭小豬均以 CN 強毒 100LD₅₀ 予以攻毒，觀察 2 星期。

(六) 病毒之再檢出：

上述之 4 頭無 TGE 抗體小豬於上午 9 時點鼻接種 TO 弱毒，於 10 時以消毒之棉棒採取鼻腔分泌物，15 時採取鼻腔及肛門分泌物，21 時再採取一次，第 2、3、4 天每天早上 9 時晚上 21 時各採取一次，第 5 天上午 9 時攻毒，10 時採取鼻腔分泌物，下午 15 時及晚上 21 時採取鼻腔及肛門分泌物，第 7、8 天則僅每天早上 9 時採取一次。所採取之材料浸於 1 ml 加有 5 倍抗生素之 Hank's 液中，保存於 -70°C 冰櫃中備用。

病毒的再檢出採用螢光標示抗體一組織培養法⁽²⁾，即平皿中加入蓋玻片，然後加入消化好之初代豬腎細胞，靜置培養 4 天使其在蓋玻片上形成單層細胞，抽棄培養液，接種 5 倍稀釋之上述鼻腔及肛門之材料 0.2ml，37°C 吸着 1 小時。其稀釋液為 Hank's 液加 0.14% NaHCO₃ 加 500 u/ml 之盤尼西林及 500 μg/ml 之鏈黴素以及 50 μg/ml 之 dextran。吸着 1 小時後以加有 5 倍抗生素之 Hank's 液清洗 2 次後加以維持培養液，培養 3 天，取出蓋玻片以 PBS PH 7.0 清洗 3 次，以丙酮固定 15 分鐘，以 PBS 洗 3 次，乾燥，以前述方法所製備之 TGE 螢光標示抗體染色 30 分鐘，然後以 PBS 清洗 3 次，每次 5 分鐘，最後以 0.1% Evan's blue 染色 1 分鐘，清洗、乾燥、鏡檢。細胞被螢光標示抗體染上的部份則不被 Evan's blue 染上，顯出特異之螢光，無螢光之細胞在鏡下顯出紅色（圖 2）。

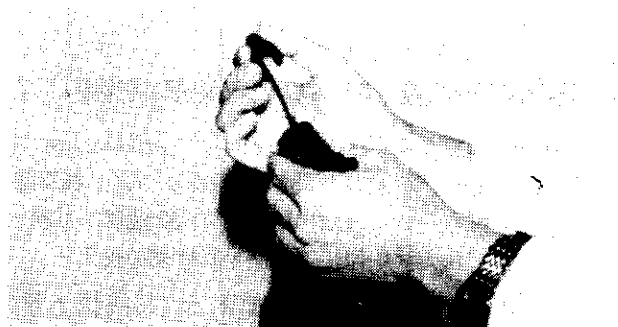


圖1. 初生仔豬鼻腔接種 TO 弱毒疫苗

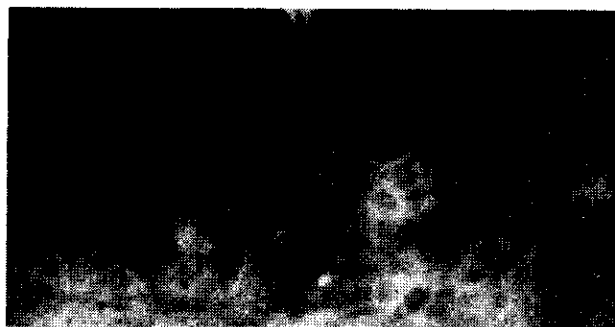


圖2. 初代豬腎細胞接種病材後以 TGE 螢光標示抗體染色並加染 Evan's blue 無螢光之細胞在鏡下呈現紅色。×200倍

結 果

(一) 病原性試驗：

未吃初乳之初生仔豬 6 頭，以柔細乳 FM-U 飼育，第 3 天，6 頭中之 5 頭每頭以 $10^{5.3}$ TCID₅₀/ml TO 弱毒 1 ml 點鼻接種（圖 1），左右鼻腔各 0.5 ml，一頭為對照，以 CN 強毒點鼻攻毒，觀察 7 天，弱毒接種豬均無食欲減少，軟便或下痢之現象，發育正常。當時室溫平均在 18°~20°C 之間。觀察 7 天後加以解剖，均無肉眼上可見之病理變化。由上述結果顯示 TO 弱毒對 3 日齡之仔豬無病原性。

對照豬接種 CN 強毒乳劑者，接種後第二天發生水樣下痢，第三天死亡，解剖時可見小腸腸壁弛緩、變薄，小腸絨毛以解剖顯微鏡觀察⁽¹⁷⁾可見明顯之萎縮，胃及腸內充滿黃色內容物及液體。如附表 1。

表 1. TO 弱毒對 3 日齡仔豬之病原性試驗結果

接種病毒	豬 號	食欲不振	軟 便	下 痢	死 亡	病理變化
TO	1	-	-	-	-	-
TO	2	-	-	-	-	-
TO	3	-	-	-	-	-
TO	4	-	-	-	-	-
TO	5	-	-	-	-	-
CN	(對照) 6	+		+	+	+ *

*：小腸絨毛萎縮，腸壁變薄，胃內充滿黃色內容物及腸壁弛緩充滿黃色液體。

(二) 以未吃初乳一個月齡之本地種小豬 1 頭，以 $10^{5.3}$ TCID₅₀/ml 之 TO 弱毒疫苗點鼻接種三次，每次 1 ml，接種前採血一次，第一次接種後一星期採血一次，第 2 星期再採血一次，然後第二次接種，第二次接種後一星期採血一次，第三次接種距第二次接種二星期，第三次接種後一星期採血一次，所採之血清以組織培養法測定其中和抗體力價，其結果如表 2。

表 2. 小豬點鼻接種 TO 弱毒疫苗三次其抗體上升之情形

時 間 (Weeks)	第一次接種 0	1	第二次接種 2	3	第三次接種 4	5	症 狀
中和抗體價	< 8	< 8	32	64	128	256	無

由上表得知 TO 弱毒經點鼻接種二次後，其血清中之中和抗體價可達 128 倍，三次接種後可達 256 倍。

(三) 免疫效果試驗及病毒之再檢出：

以一個月齡無 TGE 抗體之小豬 5 頭，其中 4 頭接種 TO 弱毒疫苗，1 頭對照，接種後均無任何食欲不振，軟便或下痢等之不良反應。接種後第五天，4 頭中之 2 頭以及對照豬以 CN 強毒 10^4 LD₅₀/ml 每頭 1ml 攻毒之，3 頭攻毒豬均於第二天下午開始發生下痢，但弱毒免疫者於二天後即恢復正常，對照豬於四天後才復原，試驗中每天均按時採取鼻腔與肛門之分泌物，以 TGE 螢光標示抗體進行病毒之檢出，其結果詳如表 3。

表3. 小豬經TO弱毒免疫及CN強毒攻毒後以螢光標示抗體由鼻腔及肛門檢出病毒之結果

豬號	日期 時間	1日			2日			3日			4日			5日			6日			7日			8日		
		0*1	1	6	12	24	36	48	72	96*2	97	102	108	120	132	144	168								
	部位	接種	N	A	N	A	N	A	N	A	N	A	攻毒	N	A	N	A	N	A	N	A	N	A		
11		+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+						+	+			+	+	+	
12		+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+						+	+			+	+	+	
13		+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
14		+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
15 (對照)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

*1: TO-163 弱毒鼻腔接種

*2: CN 強毒10倍乳劑鼻腔攻毒 (13、14、15號豬)

N: 鼻腔分泌物

A: 肛門分泌物

-: TGE 螢光標示抗體染色陰性

+: TGE 螢光標示抗體染色20%陽性

++: TGE 螢光標示抗體染色40%陽性

+++: TGE 螢光標示抗體染色60%陽性

++++: TGE 螢光標示抗體染色80%陽性

由上表得知 TO 弱毒接種後第 2 天其鼻腔及肛門即有病毒排出，可見 TO 弱毒可迅速在鼻腔及腸管內增殖，第 1 日接種後 1 小時所採之鼻腔分泌物可檢出病毒，可能是前一小時接種下去之病毒被採取到之故。第 5 天攻毒後有更多之病毒檢出，且發生下痢，但是二天即恢復正常，而對照豬需四天之久，表示 TO 弱毒確具有防禦作用，其發病之原因，可能是攻毒之 CN 株病毒量太多，因本試驗使用 $10^4 LD_{50}/ml$ 比一般攻毒時使用之 $100 LD_{50}$ ⁽¹¹⁾ ⁽²³⁾ 高出一萬倍左，如以 $100 LD_{50}$ 攻毒當可具有保護作用而不發病。

試驗進行中每星期均採血，以組織培養法測定中和抗體上升情形，詳如表 4。

表 4. TO 弱毒免疫及 CN 強毒後血中抗體上升情形

豬 號	中 和 抗 體 價									
	接 種 前	接 種 後								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
11	< 8	< 8	128	512	512	512	256	128	256	64
12	< 8	< 8	64	128	256	256	128	128	64	64
13	< 8	< 8	32	128	64	64	64	64	64	
14	< 8	< 8	32	64	64	64	64	64	64	64
15 (對照)	< 8	< 8	32	64	64	64	32	32	32	32

註：13、14號豬於第 5 天以 CN 強毒攻毒，15號豬為對照豬，未接種 TO 弱毒，只以 CN 強毒攻毒。

由上表得知血清中和抗體之產生似與病毒之強弱關係甚微而與個體之因素關係最大。抗體之下降，至第 17 週僅剩下 64 倍左右。

再由表 3 得知 TGE 病毒之排毒最少在四天以上。

(四) SPF 小豬接種 TO 弱毒後對 CN 強毒攻擊之防禦效果：

SPF 小豬一個月齡者 3 頭，於室溫 18~20°C 下，2 頭以濃縮 TO 弱毒 10^7 TCID₅₀ 點鼻接種，一頭不接種為對照豬，接種後第 5 天全部以 CN 強毒 100LD₅₀ 攻擊，結果一頭全無症狀，另一頭於第 2 天發生軟便，第 3 天即恢復正常。對照豬於第 2 天發生嘔吐及水樣下痢，第 7 天才恢復。詳如表 5。

表 5 SPF 小豬接種 TO 弱毒 10^7 TCID₅₀ 後第 5 天以 CN 強毒 100LD₅₀ 攻毒之防禦效果

SPF 小豬	CN 強 毒 攻 毒 後 之 日 數						
	1	2	3	4	5	6	7
No. 1	-	-	-	-	-	-	-
No. 2	-	軟便	-	-	-	-	-
對 照 豬	-	+	+	+	+	+	-

註：-無症狀 +：嘔吐、水樣下痢

討 論

以往弱毒疫苗之效果不佳，可能與抗原構造之改變而使分泌性 IgA 之產生發生化變有關。如能找到一弱毒可刺激豬隻產生大量之 IgA 則可解決此問題。或是用一無病原性之弱毒來直接保護仔豬。因 TGE 只使 2 星期齡之內的仔豬造成死亡^{(6) (9)}，如果能找到一弱毒，對仔豬無病原性而可防禦強毒之入侵，則當仔豬出生時即使用該弱毒使其在體內繁殖，當強毒再侵入時，此弱毒可加以干涉而保護仔豬不發病。

有些 TGE 病毒例如 Purdue⁽²³⁾ 及 SH 株⁽¹⁰⁾，雖經過細胞一百多代的繼代馴化，但對仔豬尚具有病原性，可引起中等度的下痢及絨毛萎縮等，而 TO 株則對仔豬已不引起症狀，可見相當的安全。據 Harada⁽¹⁴⁾、Furuchi 等^{(10) (11)}之報告，TO 弱毒對仔豬之病原性甚弱，與本試驗之結果相符合。又據 Furuchi 等⁽¹¹⁾之研究，TO-163 株接種於仔豬，接種後 5 天可耐過強毒之攻擊，但有下痢之症狀。本試驗中接種 TO 弱毒免疫之小豬，雖呈顯下痢之症狀，但二天即恢復，較之對照組四天才復原者有明顯之差異，如果攻毒量不用 10^4 LD₅₀ 而用 100LD₅₀^{(11) (23)}，弱毒量提高到 10^7 TCID₅₀ 的話⁽¹¹⁾，情形當可改觀。故，第二次以 SPF 豬進行試驗時，TO 弱毒使用 10^7 TCID₅₀ 而 5 天後之攻毒改以 100LD₅₀ 之 CN 強毒為之，則效果相當令人滿意。

TGE 之免疫作用主要在於局部分泌性之 IgA^{(22) (4)}，故 TGE 病毒感染豬血中之抗體通常都不高，大都在 8 倍與 256 倍之間^{(14) (15)}，在本試驗中也可證明。

Hooper 氏等⁽¹⁶⁾指出 TGE 病毒之主要增殖及致病之場所在空腸，其次為十二指腸及迴腸，但不在胃及大腸。Cartwright 氏⁽⁵⁾發現此病毒亦存在於鼻粘膜、扁桃腺、氣管、肺⁽²⁴⁾、腎等分泌液中，且含量頗高，但內臟及血中濃度則甚低，因此認為 TGE 病毒主要傳染途徑為經口或呼吸道傳染。故本試驗中病毒之接種均以點鼻為之。

TGE 疫苗尚未有直接接種於仔豬者，蓋因抗體之產生須要一段時間，而在這一段時間內也許仔豬已因感染 TGE 而發病死亡。如果利用無病原性之病毒來防禦 TGE 強毒在腸道內之增殖及對絨毛之破壞，以達保護仔豬之作用，將便利良多。而 TO 弱毒在此將佔據很重要之地位^{(10) (11)}。

誌 謝

本試驗承蒙農復會之經費補助，陳所長守仕之鼓勵，呂主任榮修、謝主任快樂之指導以及張麗英小姐、臺灣大學獸醫學研究所研究生張光正先生之協助，使本試驗得以順利完成，謹申謝忱！

本文曾受行政院國家科學委員會獎助。

參 考 文 獻

1. 林榮啓、鍾明華、鄭建盛、傅祖慧、張光正、費昌勇、林再春 (1976) 臺灣地區豬傳染性胃腸炎抗體分佈調查。臺灣省畜衛試研報13: 45~51。
2. 林再春 (1968) 螢光抗體—組織培養法對於豬瘟病毒檢出及定量之研究。臺灣省畜衛試研報5: 1~22。
3. 清水悠紀臣 (1976) 豚傳染性胃腸炎とその免疫。日獸會誌29: 539~546。
4. 清水悠紀臣 (1976) 乳汁 IgA と受動免疫。代謝 Vol. 13 No. 7 特集乳汁。
5. Bay, W. W., Doyle, L. P. & Hutchings, L. M. (1953) Transmissible gastroenteritis in swine: A study of immunity. J. A. V. M. A., 122, 209.
6. Bohl, E. H. (1970) Transmissible Gastroenteritis, In Disease of Swine, Edited by H. W. Dunne. Iowa State University Press. Ames. Iowa. 158~176.
7. Bohl, E. H., Gupta, R. K. P. & McCloskey, L. W. and Linda J. Saif (197) Immunology of Transmissible Gastroenteritis. J. A. V. M. A., 160, 543~549.
8. Cartwright, S. F. (1956) A Cytopathic Virus Causing a Transmissible Gastroenteritis in Swine. II. Biological and Serological Studies. J. Comp. Path. & Therap., 76, 95~106.
9. Doyle, L. P. and Hutchings, L. M. (1946) A Transmissible Gastroenteritis in Pigs. J. A. V. M. A., 257~259.
10. Furuuchi, S., Shimizu, Y. & Kumagai, T. (1975) Comparison of Properties between virulent and attenuated strains of Transmissible gastroenteritis Virus. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. Vol. 15, 159~164.
11. Furuuchi, S., Shimizu, Y. & Kumagai, T. (1976) Vaccination of newborn pigs with an attenuated strain of transmissible gastroenteritis Virus. Am. J. Vet. Res. Vol. 37, No. 2, 1401~1404.
12. Genco, R. J. & Tabuman, M. A. (1969) Secretory Gamma A Antibodies Induced by Local Immunization. Nature, 221, 679~681.
13. Haelterman, E. O. (1965) Lactogenic Immunity to TGE of Pigs. J. A. V. M. A., 147, 1661.
14. Harada, K., Furuuchi, S., Kumagai, T. and Sasahara, J. (1969) Pathogenicity, Immunogenicity and Distribution of Transmissible Gastroenteritis Virus in Pigs. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 9. 185~192.
15. Harada, K., Kumagai, T., and Sasahara, J. (1957) Studies on Transmissible Gastroenteritis in Pigs. III. Isolation of Cytopathogenic Virus and its use for serological investigation. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 7, 127~137.
16. Hooper, B. E. and Haelterman, E. O. (1956) Growth of Transmissible Gastroenteritis Virus in Young Pigs. Am. J. Vet. Res., 27. 286~291.

17. Hooper, B. E. & Haelterman, E. O. (1966) Concepts of Pathogenesis and passive immunity in Transmissible gastroenteritis of Swine. J. A. V. M. A., Vol. 149 No. 12. 1580~1586.
18. Huang, W. T. and Lin, T. C. (1958) An Outbreak of TGE-like Disease in pigs, in Yi-Lan Prefecture. Exp. Report of Taiwan Provincial Vet. Serum Inst. No. 2. 43~48
19. Ma, C. H., Liu, F. Y., Ceal yen, C. C., Wang, S. C., Lai, S. S. and Hong, C. B. (1974) Determination of Safety and the Immunological Response of Pigs to T. G. E. Vaccines, Anim. Ind. Res. Inst. Taiwan Sugar Corporation Animal Research Report. 311~328. July 1973~June 1974.
20. McSharry, J. & Benzinger, R. (1970) Concentration and purification of vesicular Stomatitis Virus by polyethylene glycol "Precipitation". Virology 40, 745~779.
21. Morilla, Antonic and Ristic, Miodrag (1973) Immunology Discrepancy Between Intestinal and Cell Culture Virus of TGE of Swine. Am. J. Vet. Res. 34 : 12, 1533~1538.
22. Saif, Linda J., Bohl, E. H. and Gupta, R. K. P. (1972) Isolation of Procine Immunoglobulins and Determination of the Immunoglobulin Classes of Transmissible Gastroenteritis Viral Antibodies. Infect. & Immun. 6, 600~609.
23. Thomas, Frederick G., Bohl, E. H. and Robert F. Cross (1976) Pathogenicity of an Attenuated Strain of Transmissible Gastroenteritis Virus for Newborn Pigs. Am. J. Vet. Res. 37, No. 2 165~169.
24. Underdohl N. R., Mebus, C. A., Stair, E. L., Rhodes, M. B., McGill, L. D. and Twiehaus, M. J. (1974) Isolation of Transmissible Gastroenteritis Virus from Lungs of Market-weight Swine. Am. J. Vet. Res. Vol. 35, No. 9 1209~1216.

Studies on immunization of young pigs with attenuated TGE-TO Virus

Y. P. Lin, M. H. Jong, C. S. Cheng and S. S. Lai (PRIAH)

T. H. Fu (N. T. U)

T. C. Lin (JCRR)

Summary

Five 3-day-old colostrum-deprived piglets were inoculated intranasally with attenuated TO strain, with a titer of $10^{5.3}$ TCID₅₀. They exhibited no symptoms for one week after inoculation.

One 40-day-old colostrum-deprived pig was inoculated intranasally with the attenuated TO strain 3 times. It had antibody titer of 256x.

Four 40-day-old colostrum-deprived pigs were inoculated intranasally with the attenuated TO strain, having and infective titer of $10^{5.3}$ TCID₅₀. After 5 days they were cha-

llenged with the virulent CN Strain, having an infective titer of $100LD_{50}$. Two days later the pigs showed diarrhea for two days only.

The virus could be detected in nasal and fecal swabs obtained from the pigs two days after intranasal inoculation with the attenuated TO strain by Fluorescein antibody technique.

In 30-day-old SPF pigs inoculated with the attenuated TO strain (10^7TCID_{50}) and Kept at $18\sim 20^{\circ}C$, could be protected against the virulent virus CN strain ($100LD_{50}$) Challenged on 5 days after inoculation.