

四種BVD病毒株對抗豬瘟之免疫效力

劉培柏¹ 陳守仕¹ 林再春² Sheffy, B. E.³ 李崇道²

1. 臺灣省家畜衛生試驗所

2. 農復會

3. 美國康乃爾大學

摘 要

以 Egan, NY₁ ($10^{1.5}$ TCID₅₀), Tobias 和 VJGM 之 BVD 病毒株作 SPF 豬隻之免疫並無不良之免疫後反應發生。以 ALD 豬瘟強毒攻擊後, Egan 和 NY₁ 組之免疫豬, 皆呈典型之豬瘟斃死。VJGM 組有數天之熱反應; 同時精神、食慾亦受影響。Tobias 組則無不良之反應, 其同居感染試驗豬隻亦耐過。

Egan 組於攻毒前並無豬瘟中和抗體產生。Tobias 和 VJGM 組攻毒前已有微量之抗體產生, 攻毒後抗體價分別可達2.71及2.41, NY₁ 組於試驗過程全無抗體產生。

Egan 組於豬瘟強毒攻擊前, BVD 中和抗體價為1.98, 攻毒後可達3.03。Tobias 組攻毒前為0.91, 攻毒後達2.91。VJGM 組攻毒前為1.04, 攻毒後達3.15。NY₁ 組全無抗體產生。

以另外備製之NY₁ 病毒株 ($10^{3.8}$ TCID₅₀) 免疫 SPF 豬隻, 免疫後並無不良之反應發生, 以豬瘟強毒攻擊後亦只有輕微之熱反應, 精神、食慾也稍受影響。攻毒前無豬瘟中和抗體產生, 攻毒後可達1.98, 而 BVD 中和抗體於攻毒後亦只有微量產生。

以 BVD 病毒免疫之豬隻, 估計對抗豬瘟感染之效力, 當和 BVD 疫苗之病毒力價及攻毒後豬瘟中和抗體產生之程度有關, 和 BVD 中和抗體之產生無關。而 BVD 病毒株應用於免疫豬隻以 Tobias 病毒效力最好, 其次為 VJGM 和 NY₁ 株, Egan 株則無效力。

結 言

目前已有許多報告指出, 只有極少數的BVD病毒株可應用於免疫豬隻, 對抗豬瘟之感染⁹。Snowden 和 French (1968)⁹應用四種 BVD 病毒株, 得知豬個體, 病毒株, 病毒量, 病毒繼代數, 病毒接種途徑, 這些因子可影響 BVD 病毒於豬體內之增殖分佈, 進而影響抗體產生的程度。Stewart 等 (1971)¹⁰亦報告應用之 BVD 病毒株不同, 則其在臨床症狀, 以及抗體產生之情形亦有所不同。

由於選用之 BVD 病毒株不同, 因此在血中是否能檢出對異型病毒之中和抗體, 就視病毒株而定。但是 Fernelius 等 (1973)⁴選用不同之 BVD 病毒株, 而後報告雖然豬隻有少許的交叉中和抗體產生, 但仍認為 BVD 或 HC 之抗體, 為由不同抗原, 而非由共同抗原來產生。

Beckenhauer 等 (1961)³, Sheffy 等 (1961)⁷, Baker 等 (1963)² 及 Atkinson (1962)¹認為 BVD 病毒可用於控制豬瘟之發生, 但 Kumagai (1962)⁶, Simonyi 和 Biro (1967)⁸ 及 Tamaglia 等 (1965)¹¹, 反對此種異型抗原之免疫作用, 此可能為使用不同 BVD 病毒株或使用多次組織培養繼代之 BVD 病毒所致。

本次試驗, 使用四種 BVD 病毒株, 即 Egan, NY₁, VJGM 和 Tobias 病毒株, 接種 SPF 豬

隻，再以 ALD 豬瘟強毒攻擊，觀察豬隻之臨床反應及豬瘟中和抗體之產生情形，就這四種 BVD 病毒株之免疫效力作一比較。以期選出一種最穩定，安全，有效的 BVD 病毒，作為滅絕本省豬瘟之疫苗用。

材料和方法

1. 實驗動物：無特定病原 (SPF) 豬隻，由本所 SPF 中心供給^{13,14}。年齡為6—7週齡，實驗過程中，以臺糖出品中豬粒狀飼料喂飼。

2. 豬隻之免疫：免疫用 BVD 病毒株，1) NY₁ 株，本病毒乃採取感染牛啤，製成10%乳劑。本次依實驗需要，使用疫苗之力價分別為 $10^{1.5} \text{TCID}_{50}$ 和 $10^{3.8} \text{TCID}_{50}$ 。2) VJGM 株，疫苗力價為 $10^{2.5} \text{TCID}_{50}$ 。3) Tobias 株，疫苗力價為 $10^{5.3} \text{TCID}_{50}$ 。4) Egan 株，疫苗力價為 $10^{3.0} \text{TCID}_{50}$ 。VJGM, Tobias 及 Egan 病毒株為由澳洲發生之慢性病毒性下痢之牛隻脾臟分離而來。以上四種 BVD 病毒株均為 Sheffy 博士 (1975) 携贈本所。

3. 攻毒用之豬瘟強毒：豬瘟強毒 ALD 株，本株係於民國38年，由 Spear 先生携贈本所，供為結晶紫豬瘟疫苗製造之豬瘟強毒，該毒株現仍以毛豬繼代保存，供為兔化豬瘟疫苗之效力檢定攻擊及豬瘟研究之用。

4. 中和抗體價之測定：供試豬隻，每星期由頸靜脈採血一次，分離血清，經 56°C ，30分鐘非熱處理後，於 -20°C 冰箱中保存。豬瘟中和抗體價之測定，依照 Kumagai 等 (1961)⁵發表之方法行之。BVD 抗體價之測定，依照 Volence 等 (1966)¹²實施之方法行之。抗體價之判讀為依 Spearman-Kärber 方法計算。

5. 實驗過程中，詳細觀察並記錄各組豬隻之臨床反應，包括體溫變化，食慾及精神狀態等。

結 果

1. 豬隻經免疫及攻毒後之臨床反應觀察：

供試 SPF 豬隻，分組免疫後，全部之供試豬隻並無不良之免疫後反應發生 (表一)。

Egan 株組，於免疫後第21週，NY₁株組 ($10^{1.5} \text{TCID}_{50}$)，Tobias 株組及 VJGM 株組，於免疫後第6週，NY₁株組 ($10^{3.8} \text{TCID}_{50}$) 於免疫後第2週，全部之豬隻以 1ml ALD 脫纖毒血，肌肉注射。Tobias 株組全無不適之反應。VJGM 株組和 NY₁ 株組 ($10^{3.8} \text{TCID}_{50}$) 有輕微之熱反應，體溫上升 2—3天，精神、食慾稍受影響，但隨即回復正常。Egan 株組和 NY₁ 株組 ($10^{1.5} \text{TCID}_{50}$) 則呈典型之豬瘟斃死。Tobias 株組之同居感染豬隻亦無不適之反應而耐過 (表一，圖一)。

同居感染之對照豬隻，除 Tobias 株組者外，其餘呈典型之豬瘟斃死 (表一，圖一)。

Table 1 Clinical Observation of the BVD Vaccinated SPF Pigs in Postvaccination and Postchallenge

Group	Pig No.	Postvac. Reaction			Postchall. Reaction			Gross Lesion	Survival or Death
		Temp.	Dep-ress.	Anor.	Temp.	Depress.	Anor.		
Egan	38	N	N	N	+++	+++	+++	HC	D ₁₄
Egan	40	N	N	N	+++	+++	+++	HC	D ₁₅
Control	39	N	N	N	+++	+++	+++	HC	D ₁₅

NY ₁ *	42	N	N	N	+++	+++	+++	HC	D ₁₁
NY ₁	43	N	N	N	+++	+++	+++	HC	D ₁₆
Control	41	N	N	N	+++	+++	+++	HC	D ₁₇
Tobias	47	N	N	N	N	N	N	N	S
Tobias	48	N	N	N	N	N	N	N	S
Control	46	N	N	N	N	N	N	N	S
VJGM	50	N	N	N	++ (2—5 da.)	+ (3—6 da.)	+ (3—6 da.)	N	S
VJGM	51	N	N	N	++ (3—6 da.)	+ (3—5 da.)	+ (3—5 da.)	N	S
Control	49	N	N	N	+++	+++	+++	HC	D ₁₇
NY ₁ **	57	N	N	N	+ (2 da.)	+ (4—5 da.)	+ (4—5 da.)	N	S
NY ₁	58	N	N	N	+ (3 da.)	+ (4—5 da.)	+ (4—5 da.)	N	S
Control	56	N	N	N	+++	+++	+++	HC	D ₁₄

Note : N Normal. + Very Slight Reaction.
 ++ Mild Reaction. +++ Severe Reaction.
 D— The Number Means the Day of Death Postchallenge.
 *NY₁ Vac. 10^{1.5}TCID₅₀ **NY₁ Vac. 10^{3.5}TCID₅₀

2. 猪瘟中和抗體價：(圖二)

Egan 株組之猪隻，攻毒前並無猪瘟抗體產生，攻毒後亦只有微量產生。

NY₁ 株組 (10^{1.5}TCID₅₀)，整個試驗過程完全無猪瘟中和抗體產生。

NY₁ 株組 (10^{3.5}TCID₅₀) 之猪隻，攻毒前無猪瘟抗體產生，但攻毒後猪瘟抗體銳升，可達1.98或以上。

Tobias 株組，攻毒前已有微量之猪瘟中和抗體產生 (平均0.60) 攻毒後，猪瘟抗體可達 2.26，本組之同居感染試驗猪隻，攻毒前及攻毒後，猪瘟中和抗體均維持在0.60左右。

VJGM 株組，於攻毒前亦有微量之猪瘟抗體產生 (平均0.30)，攻毒後則可高達2.41以上。其餘之同居對照猪隻，均無猪瘟中和抗體產生。

3. BVD 中和抗體價：(圖二)

Egan 株組之猪隻，攻毒前 BVD 中和抗體已高達1.98。攻毒後，BVD 抗體可達3.03。

NY₁ 株組 (10^{1.5}TCID₅₀)，整個試驗過程完全無 BVD 中和抗體之產生。

NY₁ 株組 (10^{3.5}TCID₅₀)，攻毒前無抗體產生，攻毒後 BVD 抗體亦只有微量之產生 (微量 ~0.35)。

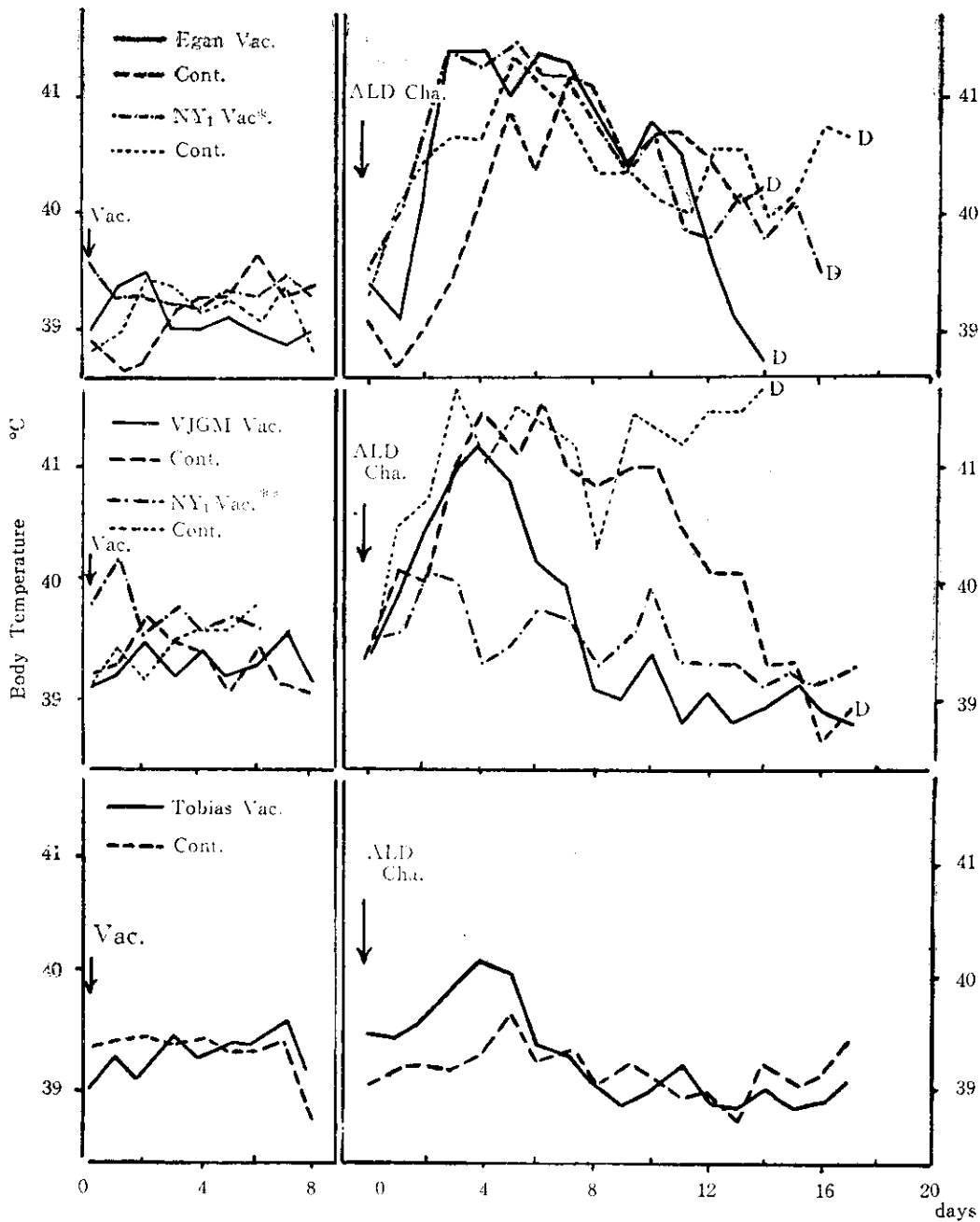
Tobias 株組，攻毒前 BVD 抗體價之產生亦不高，只有0.91左右，攻毒後則高達2.91或以上。本組之同居感染試驗猪隻，攻毒前抗體有微量產生，而攻毒後第2週，抗體價可達1.51。

VJGM 株組，抗體價於攻毒前已有1.04，攻毒後則可高達3.15以上。

其餘之同居對照猪隻均無 BVD 中和抗體之產生。

討 論

關於應用 BVD 病毒免疫猪隻，對抗猪瘟的感染，早已有些學者指出使用之 BVD 病毒株不同，則可影響抗體產生的程度^{9,10}。而猪隻血中是否亦產生對異型病毒之中和抗體，亦和病毒株有關¹。



* NY₁ Vac. 10^{4.5}TCID₅₀

** NY₁ Vac. 10^{3.8}TCID₅₀

Fig 1 Body Temperature of the SPF Pigs in Postvaccination and Postchallenge.

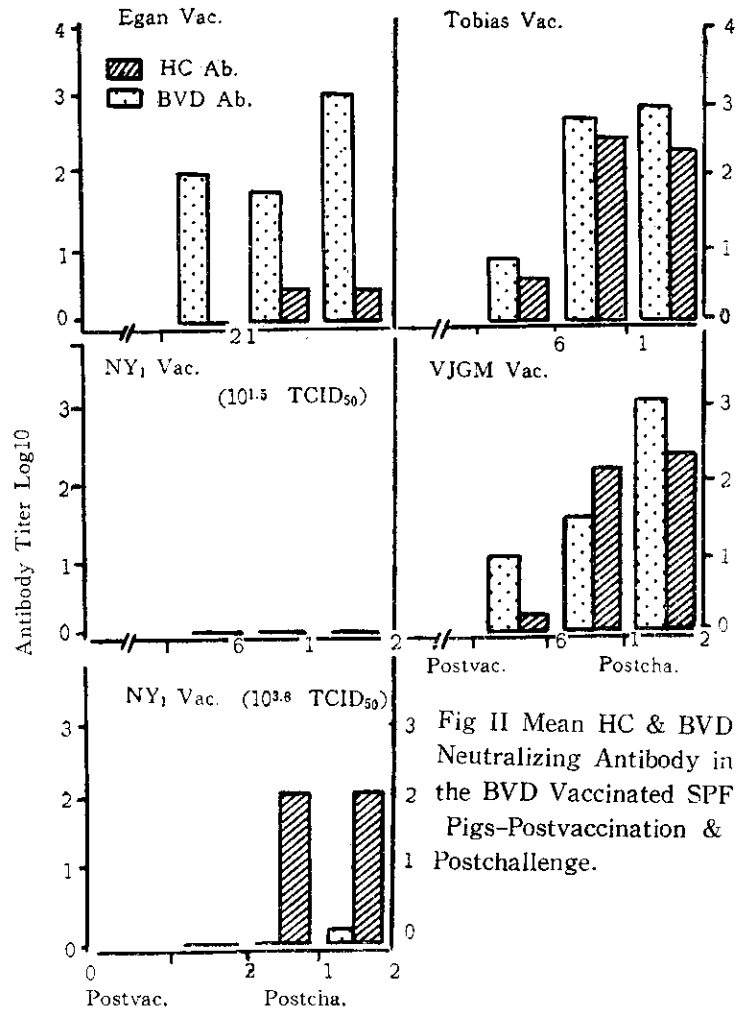


Fig II Mean HC & BVD Neutralizing Antibody in the BVD Vaccinated SPF Pigs—Postvaccination & Postchallenge.

於本試驗，Egan 株組，Tobias 株組及 VJGM 株組，其對 BVD 之中抗體價，於免疫及豬瘟強毒攻擊後，產生的程度大致類似。而 NY₁ 株組 ($10^{3.6}$ TCID₅₀) 則產生甚為緩慢。且 Tobias 株組和 VJGM 株組於免疫後亦有微量之豬瘟中和抗體產生；NY₁ 株組則於攻毒後，才有豬瘟中和抗體產生，而產生的程度和 Tobias 及 VJGM 株組攻毒後之情形相似。Egan 株組則只有微量之產生。此種抗體產生情形，和先前報告相似，即使用之 BVD 病毒株不同則抗體產生之情形亦將有所不同^{9,10}。同時由本試驗得知，以 BVD 病毒免疫之豬隻，估計對抗豬瘟感染之效力，和攻毒後豬瘟中和抗體之產生程度有關，但和 BVD 中和抗體之產生無關。

使用 BVD 病毒免疫豬隻，關於疫苗之力價及病毒之接種量目前尚無明確的報告。本次試驗，使用 NY₁ 病毒株，其力價一為 $10^{1.5}$ TCID₅₀，一為 $10^{3.6}$ TCID₅₀，結果證明前者呈典型豬瘟斃死，後者則攻毒後耐過。據 Sheffy (1975) 表示，BVD 病毒力價在 $10^{3.0}$ TCID₅₀ 就有效。於本實驗室，亦以不同力價之 BVD 病毒疫苗免疫豬隻，盼能確定病毒力價和免疫效力的關係。

Sheffy (1961)⁷ 等使用 BVD 病毒免疫豬隻，而於免疫後，在不同的時間以豬瘟強毒攻擊豬隻，發現一年後仍可對抗豬瘟強毒的危害。故雖然 Egan 株組於第 21 週才攻毒，而呈典型之豬瘟斃死，吾人不能歸咎於免疫長時間再行攻毒，而謂本病毒株對豬隻之免疫無效也。關於此點，於本實驗室正

進行疫苗免疫持續效力之測定。

有許多的報告支持豬會排 BVD 病毒 (Stewart 1971)¹⁰, 也有人認為豬為最終宿主 (Snowden 和 French 1968)⁹。在本試驗, Tobias 株組之同居對照感染豬隻, 依抗體產生情形來看, 可知其同居感染成立 (表二)。

Table II HC & BVD Neutralizing Antibody in Pigs Vaccinated with Tobias Virus Strain.

Group	Pig No.	Weeks Vac.	6 Chall.	1	2
HC Antibody					
Tobias	47	0	0.60	2.28	2.71
Tobias	48	0	0.60	2.71	1.81
Control	46	0	0.60	0.60	0.60
BVD Antibody					
Tobias	47	0	1.04	3.15	2.91
Tobias	48	0	0.78	2.45	2.91
Control	46	0	0.30	1.28	1.51

由本試驗似乎也可以初步發現豬之排毒和 BVD 病毒株也有關係。雖然在本次試驗結果顯示 BVD 病毒株應用於免疫豬隻, 以 Tobias 株效力最好, 其次為 VJGM 和 NY₁ 株, Egan 株無效力; 但若選用 Tobias 株, 則必須確定 Tobias 株對本省牛隻之病原性, 否則得不償失, 失去本試驗實施的意義。

誌 謝

應用牛病毒性下痢病毒之免疫根絕豬瘟之研究得順利進行, 乃由國家科學委員會及農復會之經費補助, 並蒙農復會主委李崇道博士之策劃及指導, 本所陳守仕所長和邱朝齊課長的殷切指導, 豬瘟研究中心全體同仁之協助, 並邀請美國康乃爾大學謝斐博士 (Dr. B. E. Sheffy) 來華, 共同研究及指導。且蒙臺糖畜產研究所所長福江、馬清猷主任, 徐興鎔博士鼎力支持, 提供小型田間試驗的豬隻和場所, 以及獸醫系張文發先生等之協助, 謹誌謝忱。本研究目前尚在進行中。

本篇報告為「應用牛病毒性下痢病毒之免疫根絕豬瘟之研究」一系列計劃項目之一, 曾於六十四年度, 臺灣省畜牧獸醫學會及中華民國獸醫學會宣讀及1976年6月於美國國際豬病獸醫學會 (International Veterinary Pig Society 1976 Congress held in U. S. A) 報告。

參考文獻

1. Atkinson, G. F., Baker, J. A., Campbell, C., Coggins, L., Nelson, D., Robson, D., Sheffy, B. E., Sippel, W. and Nelson, S. (1962): Bovine virus diarrhea (BVD) vaccine

- for protection of pigs against hog cholera. Proc. U. S. Livestock Sanit. Ass. 66 : 326—388
2. Bakes, J. A., Coggins, L., Robson, D. and Sheffy, B. E. (1963) : Possibility of hog cholera eradication with BVD vaccine. Proc. U. S. Livestock Sanit. Ass. 67 : 366—37
 3. Beckenhauer, W. H., Brown, A. L., Lidolph, A. A. and Norden, C. J. (1961) : Immunization of swine against hog cholera with a bovine enterovirus. Vet. Med. 56 : 108—112
 4. Fernelius, A. L., Amtower, W. C., Malmquist, W. A., Lambert, G. and Matthews, P. J. (1973) : Bovine Viral Diarrhea Virus in Swine : Neutralizing antibody in naturally and experimentally infected swine. Can. J. Comp. Med. 37 : 96—102
 5. Kumagai, T., Shimizu, T., Ikeda, S., and Matumoto, M. (1961) : A new in vitro method (END) for detection and measurement of hog cholera virus and its antibody by means of effect of HC virus on newcastle disease virus in swine tissue culture. I. Establishment of standard procedure. Jour. of Immunol. 87 : 235
 6. Kumagai, T., Morimoto, T., Shimizu, T., Sasahara, J. and Watanabe, M. (1962) : Antigenic relationship between hog cholera (HC) virus and bovine viral diarrhea (BVD) virus as revealed by cross neutralization tests. Nat. Inst. Animal Health Quart 2 ; 201
 7. Sheffy, B. E., Coggins, L. and Baker, J. A. (1962) : Relationship between hog cholera virus and virus diarrhea virus of cattle. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 109 ; 349—362
 8. Simonyi, E. and Biro (1967) : Immunization experiments against hog cholera with the bovine viral diarrhea virus strain Oregon C24V. Acta. Vet. Hung. 55—62
 9. Snowden, W. A. and French, E. L. (1968) : The bovine mucosal disease—swine fever virus complex in pigs. Aust. Vet. J. 44 ; 179—184
 10. Stewart, W. C., Carbrey, E. A., Jenny, E. W., Brown, C. L. and Kresse, J. I. (1971) : Bovine virus diarrhea infection in pigs. J. Am. Vet. Med. Ass. 159 ; 1556—1563
 11. Tamoglia, T. W., Tellijohn, A. L., Phillips, C. E. and Wilkinson, F. B. (1965) : Further evaluation of hog cholera immunizing agents against bovine virus diarrhea and hog cholera vaccine. MLV. TCO. Proc. U. S. Livestock Sanit. Ass. 69 ; 385
 12. Volenec, F. J., Sheffy, B. E. and Baker, J. A. (1966) : Heterotypic hog cholera protection in swine : An analysis of the response. Proc. U. S. Livestock Sanit. Ass. 20 ; 295—301
 13. 楊火松、林再春、林榮培 (1970) : 無特定病原 (Specific Pathogen free) 豬之微生物檢索，臺灣省畜衛試研報，7 ; 65—76
 14. 陳清、林再春、陳守仕、楊火松、林榮培、林地發 (1970) : 第二代無特定病原豬 (Secondary SPF Pigs) 之繁殖及育成，臺灣省畜衛試研報，7 ; 77~85

Evaluation of Four BVD Strains as Immunization Antigens against Hog Cholera

P. P. Liou¹ S. S. Chen¹ T. C. Lin² B. E. Sheffy³ Robert C. T. Lee³

1 Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health

2 Joint Commission on Rural Reconstruction

3 Cornell University

Summary

In this test, four BVD strains, Tobias, NY₁, VJGM and Egan, were inoculated into SPF pigs, then challenged with ALD virulent HC virus.

Close observation on clinical signs and HC neutralizing antibody response was conducted and compared among these 4 BVD strains used.

No bad post vaccination reaction was found among these 4 vaccinated groups. After ALD challenge, the pigs of NY₁ with $10^{3.8}$ TCID₅₀ group showed fever for 2—3 days and slight depress, anorexia, but recovered soon. The pigs vaccinated of Tobias strain with $10^{5.3}$ TCID₅₀ did not show reaction post challenge. The pigs vaccinated with $10^{2.5}$ TCID₅₀ of VJGM strain showed fever for 2—3 days and slight decrease in spirit and appetite, after HC challenge but recovered soon. The pigs vaccinated with $10^{3.0}$ TCID₅₀ of Egan strain and $10^{1.3}$ TCID₅₀ of NY₁ strain showed typical HC lesions.

No HC or BVD antibody was detected in pigs vaccinated with $10^{3.8}$ TCID₅₀ of NY₁ before challenge, but after challenge, HC antibody titer was reached $10^{1.98}$ or above and BVD antibody titer was very low.

Trace HC neutralizing antibody and low BVD antibody with $10^{0.91}$ were detected in pigs vaccinated with $10^{5.3}$ TCID₅₀ of Tobias before challenge. After challenge, HC antibody reached as high as $10^{2.26}$ and BVD antibody as $10^{2.91}$ or above.

Trace amount of HC antibody was also found in pigs vaccinated with $10^{2.5}$ TCID₅₀ of VJGM before challenge and $10^{2.41}$ titer was found after challenge. BVD antibody titer was $10^{1.04}$ before challenge and reached 3.15 after challenge.

No HC antibody titer and $10^{1.98}$ of BVD antibody titer were detected in pigs vaccinated with $10^{3.0}$ TCID₅₀ of Egan before challenge.

Though trace amount of HC antibody and $10^{3.03}$ of BVD antibody were detected, the pigs still died of typical HC lesions after ALD virus challenge.

No HC and BVD neutralizing antibody were detected after $10^{1.5}$ TCID₅₀ of NY₁ vaccinated and after ALD virus challenge.

From the data obtained above, the protection against HC infection by BVD vaccination depended upon virus titer contained in BVD vaccine and the development of HC antibody, but seems not depended on BVD antibody titer. Among these BVD strains, the effective protection order was Tobias, NY₁, VJGM and Egan.