

## 新城雞瘟 TCND 活毒疫苗之研究

### II. 保存免疫持續性及免疫發生時期同居感染試驗

楊揚輝 林進發

(臺灣省家畜衛生試驗所)

#### 摘 要

1. 試製成種毒經冷凍乾燥後保存於 $-10\sim-20^{\circ}\text{C}$  冷凍櫃時，經33個月其力價無甚變動，疫苗保存於 $2\sim5^{\circ}\text{C}$  之冷倉庫經16個月，結果保存性極為安定。
2. 本疫苗對無抗體雞五週齡者，一次注射時其免疫持續期間為6個月左右。
3. 以本疫苗分別於第一次接種後第20天及三個月予以第2次接種時，其補強注射後之免疫持續期間有一年，甚具長效性。
4. 對4週齡、5週齡及11週齡無抗體雞隻，以肌肉注射做免疫發生時期試驗，結果均在疫苗注射後七至八天即可獲得堅強的感染防禦能力，耐過強毒攻擊。
5. 經本試驗證實接種本疫苗後同居感染不成立。

#### 結 言

時下養雞業者對新城雞瘟之防治極待國內能生產長效性品質優良之活毒疫苗，因鑒於此，本所於1971年，曾由日本農林省家畜衛生試驗場分讓得 TCND 種毒，並經試驗製成冷凍乾燥疫苗及其安全效力等試驗所得成績頗令人滿意<sup>(1)</sup>，故本試驗即針對本疫苗保存性，免疫持續性，免疫發生時期及同居感染等加以究明，以評估本疫苗之實際價值，茲將所得成績報告於後：

#### 材料和方法

- (一) 供試疫苗及種毒：疫苗 No. 10 係於62年6月28日，No. 11 於62年8月5日，No. 12 於63年5月24日種毒 No. 1 於61年7月8日，No. 2 於61年9月3日，No. 3 於62年1月20日，本所冷凍乾燥製成者。
- (二) 毒株：(1) NDV 佐藤株：係本所繼代保存供新城雞瘟疫苗檢定攻擊用毒株。  
(2) NDV 石井株：供 HI. test 之抗原用，係由日本農林省家畜衛生試驗場分讓後在本所以雞胚胎繼代保存。
- (三) 供試雞：
  - (1) 無移行抗體雞：係購自供本所新城雞瘟疫苗檢定用之無抗體雞及由供本所製造新城雞瘟疫苗用種蛋，自己孵育成者。
  - (2) 種雞蛋：購自畜產試驗所供本所製造新城雞瘟疫苗用之種蛋。

(3) 雞腎細胞：自健康小雞以無菌操作採取之腎臟，培養方法如參考文獻11所述。

以冷凍乾燥試製成之疫苗，經按檢定標準各項檢定合格後置於 2~5°C 冷倉庫貯藏，試製成之種毒置於 -10~-20°C 冷凍櫃內貯藏，於每經保存一段期間後任意抽出數支實施力價測定以觀察其保存性。

免疫持續試驗係以無抗體五週齡之供試雞經抗體測定後，每隻肌肉注射本疫苗一劑量，並每經一個月時於免疫雞羣中任意抽出 4~5 隻行抗體測定及測定其耐過健存率。

試製疫苗補強後之免疫持續試驗，係以外購無抗體雞五週齡者及自孵育成五週齡者為供試雞。分別於第一次注射後經 20 天及三個月時測定其抗體，並實施補強注射本疫苗，每經一段期間時，由補強注射雞羣中任意抽出 5~10 隻予以測定抗體並以佐藤株強毒 1000MLD 攻擊測定其耐過率。

免疫發生時期試驗係以外購無抗體雞四週齡與十一週齡及自孵育成之五週齡者為供試雞，每隻肌肉注射本疫苗一劑量後，每天由免疫雞羣中任意抽出數隻予以強毒攻擊觀察免疫發生時期。

同居感染試驗係以自孵育成之五週齡 30 隻分別各加以編號，一半每隻予以注射本疫苗一劑量，另一半不予注射任何疫苗，而混合平飼同一處，每天予以觀察反應情形並於經 10, 15, 20 天時各任意抽出五隻予以強毒攻擊以查明有無同居感染。

## 結 果

### 1. 試製成種毒及疫苗保存性試驗：

試製成之種毒 No. 1, 2, 3 等三批保存於 -10~-20°C 經 18 個月後其力價尚保持  $10^{4.5} \sim 10^{5.5}$  且效力為 100%，並經 33 個月時力價還維持在  $10^{4.5}$  TCID<sub>50</sub> 以上，試製成疫苗 No. 10, 11, 12 保存於 2~5°C 經 16 個月時力價仍保持  $10^{4.5} \sim 10^{5.5}$ ，效力亦保持 100% 其成績詳情如表 I。

表 I 試製成種毒疫苗之保存性試驗成績

The Results of Preservation Test of Trial Seed Virus and Vaccine

Trial Lot No.	Right after Drying		Months after Preservation											Remarks			
			8		10		12		16		18		24		33		
			EID <sub>50</sub>	Pot-ency	EID <sub>50</sub>	Pot-ency	TCI D <sub>50</sub>	TCI D <sub>50</sub>	Pot-ency	TCI D <sub>50</sub>	Pot-ency	TCI D <sub>50</sub>	Poc-ency		TCI D <sub>50</sub>	TCI D <sub>50</sub>	
1	$10^{5.25}$	100%	$10^{5.25}$	100%	$10^{5.75}$	$10^{5.5}$					$10^{4.5}$	100%	$10^{4.83}$	$10^{4.75}$	No. 1, 2, 3 Preserved in -10~-20°C No. 10, 11, 12 Preserved in refrigerator 2-5°C		
2	$10^{5.75}$	100%	$10^{5.25}$	100%	$10^{5.5}$	$10^{5.8}$					$10^{5.3}$	100%	$10^{5.5}$	$10^{4.8}$			
3	$10^{5.25}$	100%		100%	$10^{5.25}$	$10^{5.5}$					$10^{5.25}$	100%	$10^{4.5}$	$10^{5.0}$			
10	$10^{5.5}$	100%			$10^{4.5}$	$10^{5.1}$	100%	$10^{5.5}$	100%								
11	$10^{5.25}$	100%			$10^{5.25}$	$10^{5.0}$	100%	$10^{5.0}$	100%								
12	$10^{5.75}$	100%			$10^{5.5}$	$10^{5.5}$	100%	$10^{5.25}$	100%								

### 2. 試製疫苗免疫持續性試驗：

供試雞五週齡者，每隻注射本疫苗 No. 10 一劑量後每經一個月由免疫雞羣中任意抽出 4~5 隻，以強毒攻擊結果，經 2, 3, 4, 6 個月時，耐過率為 100%，5 個月時為 80%，第 7 個月時為 75%，其成績如表 II。

表 II 試製疫苗免疫持續試驗成績

## The Results of Immunity Duration Test of Trial Vaccine

Months after Vaccination	Number of experimental Chickens	HI. titer (Geometric mean of HI titers)		Survival number	Survival Rate%
		Before Vaccination	Before challenge		
2	4	0~2 (0.01)	4~64 (12,968)	4	100
3	4	0~2 (0.01)	2~8 (6,756)	4	100
4	4	0~2 (0.01)	2~16 (6,756)	4	100
5	5	0~2 (0.01)	<2~8 (5,834)	4	80
6	5	0~2 (0.01)	2~6 (6,235)	5	100
7	4	0~2 (0.01)	<2~8 (5,216)	3	75

## 3. 試製疫苗補強後免疫持續試驗：

以外購五週齡於第一次注射本疫苗 No. 10 後經20天時予以補強注射，經 7.8.10.12個月時，經強毒攻擊耐過率為100%，14個月時為80%，自孵育成之五週齡於第一次注射後經3個月時予以補強注射本疫苗，經9.10個月時，強毒攻擊耐過率為100%，12個月時為80%，13個月時為100%，其成績詳如表 III。

表 III 試製疫苗補強後之免疫持續試驗成績

## The Results of Booster Immunity Duration Test of Trial Vaccine

Group	The Period of Booster to challenge (months)	Number and Source of experimental chickens	HI. titer (Geometric mean of HI titer)		Survival Rate %	Remarks
			Before Booster	Before challenge		
Boostered at after 1 <sup>st</sup> vaccination 20 days	7	10 Obtained from commercial Farm	2~8 (2.638)	8~64 (21.602)	100	
	8	5	2~8 (2.638)	8~128 (24.316)	100	
	10	5	2~8 (2.638)	2~512 (20.813)	100	
	12	5	2~8 (2.638)	4~64 (18.130)	100	
	14	5	2~8 (2.638)	<2~64 (12.35)	80	
Boostered at after 1 <sup>st</sup> Vaccination 3 months	9	5 Obtained from commercial T. P. H. I.	2~16 (6.576)	8~64 (27.834)	100	
	10	5	2~16 (6.576)	8~64 (21.603)	100	
	12	5	2~16 (6.576)	<2~64 (14.532)	80	
	13	10	2~16 (6.576)	2~64 (11.834)	100	

4. 免疫發生時期試驗：

外購無抗體雞 4 週齡者，於以疫苗 No. 10 每隻注射一劑量後，第 4, 5 天強毒攻擊耐過率為 0%，第 6 天為 50%，第 7、8 天 100%，自孵育成者 5 週齡者，第 5、6、7 天為 75%，第 8、9、10 天 100%，11 週齡者第 1、2、3 天為 0%，第 4 天 20%，第 5 天 100%，第 6 天 80%，第 7 天 100%，第 8 天 80%，其成績詳如表 III。

表 IV 試製疫苗免疫發生時期試驗成績

The Results of Immunity Beginning Test of Trial Vaccine

Age and Source of experimental chickens	Days of vaccination to challenge	Reactions	Survival Rate (%)	Remarks
Obtained from Commercial farm (4 weeks)	4	● <sub>4</sub> ● <sub>5</sub>	0	● : Died of N. D. Rumeruls indicate days elapsed Since N. D.
	5	● <sub>5</sub> ● <sub>5</sub>	0	
	6	● <sub>4</sub> ○	50	
	7	○ ○	100	
	8	○ ○	100	
Obtained from T. P. H. S (5 weeks)	5	● <sub>4</sub> ● <sub>4</sub> ○ ○	75	● : Showed Symptoms of N. D. ○ : Survival
	6	● <sub>4</sub> ○ ○ ○	75	
	7	● <sub>6</sub> ○ ○ ○	75	
	8	○ ○ ○ ○	100	
	9	○ ○ ○ ○	100	
Obtained from commercial farm (11 weeks)	1	● <sub>4</sub> ● <sub>4</sub> ● <sub>4</sub> ● <sub>4</sub> ● <sub>5</sub> ● <sub>5</sub>	0	
	2	● <sub>4</sub> ● <sub>4</sub> ● <sub>4</sub> ● <sub>4</sub> ● <sub>4</sub> ● <sub>5</sub> ● <sub>5</sub>	0	
	3	● <sub>4</sub> ● <sub>5</sub> ● <sub>6</sub> ● <sub>6</sub> ● <sub>6</sub>	0	
	4	● <sub>5</sub> ● <sub>13</sub> ● <sub>14</sub> ● <sub>15</sub> ● <sub>15</sub>	20	
	5	○ ○ ○ ○	100	
	6	○ ○ ○ ○	80	
	7	○ ○ ○ ○	100	
	8	○ ○ ○ ○	80	

5. 同居感染試驗：

供試雞 30 隻一半予以本疫苗 No. 10 注射，另一半無注射任何疫苗，混合平飼一處，經 10, 15, 20 天時各任意抽出 5 隻予以攻擊，結果無疫苗注射者均無法耐過 1000MLD 強毒攻擊，證明同居感染不能成立。

本試驗以冷凍乾燥試製成種毒保存於  $-10 \sim -20^{\circ}\text{C}$  至33個月其病毒力價，並無甚變動，試製成疫苗保存於  $2 \sim 5^{\circ}\text{C}$  16個月時，力價及效力變動極微，日本北里研究所報告<sup>(2)</sup> 乾燥之 TCND 毒於  $4 \sim 6^{\circ}\text{C}$  貯藏經15個月病毒力價之變動程度極為微小，又現今最普遍應用之 Al-gel 死毒疫苗之保存期間亦為一年以上，相比較結果可說本試製成之疫苗極富保存安定性。

由本試驗成績顯示，本疫苗甚具長效性，經本疫苗注射一次時其感染防禦能力持續期間在6個月左右，雖 HI 價之上升不明顯，如予以補強注射時可持續至一年左右而且 HI 價明顯上升，北里研究所報告<sup>(2)</sup> 本疫苗經2回接種時有一年之持續期間。Al-gel 死毒疫苗之免疫持續期間在6個月以上惟較難應用於幼齡之雞隻。臺灣省農林廳為明瞭各國所製新城雞瘟活毒疫苗之安全性效力及免疫持續情況等，於1968黃榮坤等<sup>(5)</sup> 曾對輸入新城雞瘟活毒疫苗應用試驗，共試驗十三批輸入疫苗結果，各批接種於4, 14, 30等日齡之健康雞，無論 B<sub>1</sub> Type, B<sub>1</sub> strain 及 Lasota strain 之活毒疫苗均無任何反應，尚屬安全，且對於30日以下幼雞接種後之效力不甚理想此類疫苗接種後免疫發生與接種時之雞齡有密切關係，然由其試驗成績所示Lasota 比 B<sub>1</sub> strain 或 B<sub>1</sub> TYPE 之效力較優，其 H. I 價，亦有明顯之差別，並經田間試驗<sup>(6)</sup> 其結果亦相似。

本疫苗注射後感染防禦能力之產生，經試驗結果以肌肉注射約於注射後7~8天，即可獲得堅強之感染防禦能力。北里研究所報告<sup>(2)</sup> 以21日齡供試雞隻經由肌肉接種後約10日可獲得完全之防禦能力，以擦入接種時為10至14日。林再春<sup>(3)</sup> 報告以 Al-gel 製成之死毒疫苗接種2個月齡雞隻時需12日以上。清水文康<sup>(4)</sup> 報告以31日齡之供試雞隻接種時於11日後攻擊結果耐過率為100%

同居感染試驗經本試驗以五週齡雞供試使用本疫苗接種羣與未接種羣同居，並於接種後第10, 15, 20天時各予攻擊，結果證實同居感染不成立，清水文康等<sup>(4)</sup> 報告分別以21, 45日齡雞隻接種疫苗並與未接種羣同居結果於同居後2週及3週時所得結果未接種羣之陽轉率為0，北里研究所<sup>(2)</sup> 報告以12小時未滿，18~21小時，3日、4日齡各組供試雞行疫苗接種及同居對照所得結果同居感染為陰性。

R. A. Bankowski 等報告<sup>(9) (10)</sup> 此種疫苗以肌肉注射於5、30日齡及11週齡之雞隻均可得到堅固的免疫且無任何不良反應，又與結晶紫不活化疫苗作比較試驗時以9週齡之雞隻實施二次注射，注射此種疫苗後血清中抗體較結晶紫不活化疫苗更堅固，而且二種疫苗於供試雞實施第二次注射後第45及50週時均能耐過強毒攻擊。同居感染經其一再試驗結果，未經注射雞羣與免疫雞羣混飼54週後對照雞中無發現抗體及耐過強毒攻擊者。C. Gale 等<sup>(11)</sup> 以 R. A. Bankowski 開發之 TCND 疫苗予以試驗評估<sup>(11)</sup> 其報告 TCND 疫苗一次注射於6個月齡之產雞卵時經11、26週後以強毒攻擊結果，其耐過率為100%，供試隻注射本疫苗後對產卵無不利影響，且另以3週齡雞隻第一次注射後達12週齡時實施第二次注射經30及45週後強毒攻擊結果其耐過率各為100%及91.6%，而且證明此種疫苗無同居感染之發生。

## 參 考 文 獻

- (1) 楊揚輝，林進發，陳由昌，劉義雄，黃文徹，江良興，蘇英誌，張康弘，詹益波，陳守仕等：新城雞瘟 TCND 活毒疫苗之研究（一）乾燥疫苗之試製及其安全效力試驗。臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 No. 10. 9~14. (1973)。
- (2) 北里研究所：TCND ワクチン（ニコーカツスル病 TCND 預防液）に關する試驗成績。日本北里研究所報告（1~20）1972。
- (3) 林再春：肌肉注射用新城雞瘟疫苗製造研究。臺灣省農林廳獸疫血清製造所報告 No. 2 (31~37) 1958。
- (4) 清水文康，川村齊，湯淺襄，吉田勲，橋原彥吉：ニコーカツスル病ウイルス TCND 株の感

- 染性と病原性。特に經皮接種について日本家畜試研究報告第55號 1～7 (1967)。
- (5) 黃榮坤, 楊揚輝, 呂榮修, 周懋森, 吳義興, 彭衍初, 徐長壽: 輸入新城雞瘟活毒疫苗應用試驗。臺灣省家畜衛生試驗所研究報告, No. 5 (107~113) 1968。
- (6) 廖聰卿, 林佳森, 高清正, 王慶耀:  
新城雞瘟活毒疫苗 Dr. Salsbury's B<sub>1</sub> 株田間應用。臺灣畜牧獸醫雜誌 Vol. 2, No. 3 (1~5) 1968。
- (7) 陳平津, 黃水源, 林勝男, 張文章: 新城雞瘟活毒疫苗 Dr. Salsbury's B<sub>1</sub> 株田間應用。臺灣畜牧獸醫雜誌 Val 2. No. 3. (5~9) 1968。
- (8) 陳瑞堂, 王建元, 王龍慶, 王再智, 林有德: 新城雞瘟活毒疫苗 B<sub>1</sub> 株及 Lasota 株田間應用。臺灣畜牧獸醫雜誌 Val 2. No. 3 (9~13) 1968。
- (9) Bankowski, R. A. Corstret, R. E & Fabricant. J., 1958: A Tissue Culture-modified Newcastle Disease Virus II. Immunogenicity of the live tissue culture-modified Newcastle Disease Virus in Chicken. Avian Dis. 2, 227~240.
- (10) R. A. Bankowski, R. corstvet, and J. Fahricmt 1958: A Tissue Culture-modified Newcastle Disease Virus. III. The Immunity induced by the modified virus and crystal violet inactivated vaccines. Avian Dis. 2. 466—494.
- (11) C. Gale, P. I. Gard, E. E. Ose, and R. N. Berkman 1965: Evaluation of a tissue-culture Newcastle Disease Vaccine. Avian Dis. 9, 348~357, .

## Studies on Living Tissue Culture New Castle Disease Virus Vaccine

### II. Preservation Immunity Period and Contact Control Test

Y. H. Yang., T. F. Lin

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

### Summary

1. The titer of lyophilized seed virus has not decreased significantly for 33 month at -10 to -20°C; stored at 2 to 5°C, the vaccine was stable for 16 month.
2. Injected to 5-month-old N. D. antibody free chickens, its immunity period was about 6 month.
3. On booster injection, its immunity period was one year.
4. Past intramuscular injection 7 to 8 days the chicken has very strong infectious protection ability.
5. With contact control test we has not fond any contact infection case.