

豬瘟 GP 組織培養疫苗田間試驗

謝竹茂 林再春 蘇杰夫 賴秀穗

(臺灣省家畜衛生試驗所)

張榮儒

(屏東縣家畜疾病防治所)

緒 言

關於豬瘟疫苗之研究，世界各國最初看重不活化疫苗之發展，例如結晶紫豬瘟疫苗為其中最廣被應用之疫苗，惟其一次預防注射之免疫力未能達到理想，且其免疫持續性僅有 6 個月，致同一豬隻每年需用預防注射二次，於本省而言加之豬隻移動頻繁，常未能將豬瘟之發生予以有效之控制，因此後來各國研究者集中於活毒疫苗之研製，例如兔化疫苗之研究成功，^{5,6,7,8)} 不但其免疫力甚強，且疫苗製造成本遠較不活化疫苗為低，免疫持續性一年以上，在許多國家普遍被採用於豬瘟預防注射用。惟近年來各國均甚重視組織培養之疫苗^{1,2)}，隣國日本過去多年來致力於組織培養疫苗之研究，遂於 1969 年由過去之不活化疫苗之應用，改採用笹原博士等研究成功之 GP 組織培養疫苗獲得甚優成果。^{9,10)} 民國 58 年 3 月間筆者(林)由日本農林省家畜衛生試驗場分讓 GPE⁻ 毒株携回本所繼代保存，並作有關實驗室各項試驗證實該疫苗之安全性及免疫效力確實優異^{11,12)}。因本省對豬瘟預防一面應用兔化豬瘟疫苗，是否可改用豬瘟 GP 組織培養疫苗，為證明其可行性乃於去年(61) 4 月—11 月在屏東縣下部份鄉鎮以兔化疫苗為對照，實施豬瘟 GP 組織培養疫苗小規模之田間試驗，茲將所得成績報告於後。

試 驗 材 料

1. 疫苗 於本所以 GPE⁻ 株試製乾燥豬瘟 GP 組織培養疫苗 Lot 3 及 4。
2. 供試豬：屏東縣轄內鄉鎮農民所飼養之約 6—8 週齡小豬共 18,546 隻及母猪 272 隻肉豬 93 隻。
3. 毒株
 - 1). ALD 株：本所保存之豬瘟強毒株，供豬瘟之研究及疫苗檢定用，本研究使用其感染豬毒血 $10^{7.0}$ PID₅₀/ml。
 - 2). Λ 76 株：係將 ALD 豬瘟強毒繼代豬單丸 (ST) 細胞之毒株，供豬瘟中和試驗之用。
 - 3). 新城雞瘟病毒：宮寺株及 TCND 株係通過雞胚胎之感染尿液供用。
4. END 中和試驗^{3,4)}
 - 1). 豬單丸 (ST) 細胞係由淡水鎮內農民所飼養之 4—6 週齡未經預防注射小豬單丸，以無菌操作株取經細胞消化後以細胞增殖培養液 (GS 為 20% 及抗生素) 調製 250 萬個/ml 供用。
 - 2). 山羊血清 (GS) 係本省產黑色雜交山羊，經豬瘟抗體微量測定為陰性者經 56°C 30 分非動化後分裝並凍結保存於 -20°C 供用。

試 驗 方 法

1. 屏東縣轄內鄉鎮農民所飼養的 6—8 週齡小豬每窩分兩組，各組共 10,000 頭，分別以 GP 組織培養疫苗及對照組各接 1 劑量供為免化疫苗比較試驗。

此外經免化疫苗接種過母豬供以 GP 疫苗接種 200 頭供觀察試驗。

2. 反應觀察 3 週並詳細紀錄，如有死亡豬隻須作細菌病毒及病理檢查以究明原因。

3. 經疫苗注射小豬及母豬約其頭數之 10% 於疫苗接種之前採取血液以 END 法測定其中和抗體價。

4. 從接種小豬任意抽購共 32 隻（同一窩任選 1—2 頭）送回本所以 ALD 株豬瘟強毒攻擊測定其免疫效力。

試 驗 成 績

1. GP 及免化疫苗接種豬隻之接種反應

GP 組織培養疫苗組共接種 10,100 頭其中仔豬接種 9,991 頭，反應頭數 64 頭，佔 0.64%，斃死頭數 55 頭佔 0.55% 至已接種過免化疫苗之種母豬共接種 109 頭；均無反應。至於對照之免化疫苗組共接種 8,811 頭，其中種豬 163 頭及肉豬 93 頭均無反應，仔豬 8,555 頭，反應 38 頭佔 0.44%，斃死 34 頭佔 0.4% 詳細成績如表 1。

表 1. GP 組織培養疫苗及免化疫苗之接種反應比較

疫 苗 別	疫 苗 注 射				接 種 反 應			斃 死		
	種 豬	肉 豬	仔 豬	合 計	種 豬	肉 豬	仔 豬	種 豬	肉 豬	仔 豬
GP 疫 苗	109	0	9,991	10,100	0	0	64 (0.64)	0	0	55 (0.55)
免 化 疫 苗	163	93	8,555	8,811	0	0	38 (0.44)	0	0	34 (0.40)
合 計	272	93	18,546	18,911	0	0	102	0	0	89

註：() 內數字示%

至斃死豬隻經病性鑑定結果，以豬水腫病居首位，次為豬瘟病例係因鄉鎮公所獸醫人員於接種前健康調查不確實而注射於豬瘟病羣所致，並非因疫苗所致豬瘟斃死例。

2. 斃死猪例之病性鑑定成績如表 2。

表 2. GP 疫苗及免化疫苗接種後斃死猪隻病性鑑定

疫 苗	豬 瘟	弓 蟲 病	水 腫 病	肺 炎	肝 膜 肺 炎	巴 惠 德 桿 菌 症	肋 骨 折 及 肺 破 裂	合 計
GP 疫 苗	17	9	21	3	1	3	1	55
免 化 疫 苗	11	—	15	6	—	2	—	34
合 計	28 (31.4)	9 (10.1)	36 (40.3)	9 (10.1)	1 (1.12)	5 (5.5)	1 (1.2)	89

註：() 內數字示%

3. GP 疫苗接種豬之中和抗體產生情形

GP 疫苗組豬隻任意於疫苗接種前及接種一個月後任意採血液 329 頭，供為移行抗體及疫苗接種後之中和抗體價測定其詳細成績如表3。

表 3. GP 疫苗接種前及接種一個月後豬之中和抗體產生情形

供 試 豬 頭 數	接 種 前 移 行 抗 體 價	接 種 1 個 月 後 抗 體 價
40	1	8— 64
38	4	16— 32
67	8	16— 64
53	16	32— 64
80	32	16— 64
40	64	8— 128
11	128	32— 256
共 計 329		

移行抗體在32倍以上者經疫苗注射後之抗體產生受其影響，時有不產生抗體者，但在16倍以下豬隻接種後中和抗體價產生較高免疫可靠，此與前報告免化疫苗之成績相同。

4. GP 疫苗接種豬之攻毒試驗

接種 GP 疫苗後經一個月任意購買小豬 32 頭，運回淡水本所以 ALD 強毒攻擊，凡中和抗體價 1 倍以上者仍無反應或呈反應而耐過其成績如表4。

表 4. GP 疫苗接種後一個月免疫效力試驗

供 試 頭 數	A L O 攻 毒 結 果			
	無 反 應 耐 過	輕 度 反 應 耐 過	中 等 反 應 耐 過	重 度 反 應 耐 過
32	19	5	4	4

討 論

於民國58年6月間筆者(林)由日本農林省家畜衛生試驗場携回 GPE- 毒株，經以天竺鼠腎細胞繼代保存，並作有關該疫苗之安全性及免疫性等試驗結果證實其安全性及免疫效力甚高⁽¹¹²⁾。笹原等報告⁹⁾曾將該病毒通過小豬10代結果無病原性之復原或增強。且該疫苗接種豬隻亦無病毒之排泄而同居試驗未能成立。筆者等亦曾報告獲得同樣成績，則將 GPE- 及免化毒(對照)分別累代通過 SPF 小豬至20代結果均未見病原性之復原或增強之現象，至其排毒試驗 GPE- 毒接種豬於接種後 1 週以內排泄之糞尿中可檢出 GPE- 毒，但同居感染試驗未能成立，免化疫苗接種豬隻經觀察 1 個月未能檢出病毒。由上述所得成績證明 GPE- 毒株對於本省豬隻之安全性甚高。

為進一步明瞭該疫苗是否可以應用於本省豬隻之免疫，筆者等於61年4月至11月間在屏東縣轄內鄉鎮實施小規模 GP 疫苗之田間試驗，並以現在本省使用之免化疫苗為對照組，GP 疫苗組共接種豬

隻10,100頭，免化疫苗組爲8,811頭。前者接種後反應頭數共計64頭佔0.64%，斃死頭數55頭佔0.55%，後者反應頭數爲38頭佔0.44%，斃死頭數34頭佔0.4%。反應斃死豬隻，經病性鑑定結果，係以豬水腫病，豬弓蟲病等致死且以豬水腫病致死例佔多。兩組中斃死例亦有豬瘟致死病例，究其原因蓋因於疫苗接種前鄉鎮公所獸醫人員對豬隻健康檢查未做徹底，係接種於豬瘟發生之豬羣而引起，1970年笹原二郎於日本報告¹⁰⁾該疫苗之田間試驗結果於320,124頭免疫豬中538頭呈反應，68頭斃死佔0.021%，則其反應斃死率較本省之田間試驗爲低，由此顯示田間應用時豬羣之健康是否可直接影響應用之成績，又爲明其免疫情形而於疫苗接種後一個月任意購買32頭免疫豬運回本所，以強毒ALD攻擊結果，19頭無反應，13頭呈反應耐過。由此得知其免疫情形甚佳。總而言之GP疫苗與現於本省之免化疫苗比較並無顯著之差異，且顯示GP疫苗可應用於本省豬隻之免疫。

結 論

1. GP組織培養疫苗組共接種10,100頭，其中仔豬接種9,991頭反應頭數64頭，佔0.64%，斃死頭數55頭佔0.55%至於已接種過免化疫苗之種母豬共接種109頭，均無呈反應，對照之免化疫苗組共接種8,811頭，其中種豬163頭及肉豬93頭均無反應，仔豬8,555頭，反應38頭佔0.44%，斃死34頭佔0.4%，GP疫苗與免化疫苗田間試驗比較結果未見顯著差異GP疫苗之安全性甚高，免疫效力卓著對於本省豬隻可資應用。

2. 移行抗體在32倍以上者經疫苗注射後之抗體產生受其影響，時有不產生抗體者，但在16倍以下豬隻接種後中和抗體價產生較高免疫可靠。

3. 接種GP疫苗後經一個月任意購買小豬32頭，運回淡水本所以ALD強毒攻擊結果19頭無反應13頭呈反應耐過。

誌 謝

本研究承蒙農復會研究經費補助及李主任委員崇道博士之策劃及指導，本所陳所長守仕之鼓勵，謹致衷心之謝忱。

參 考 文 獻

1. Bass, E. P. & Ray, I. D: Evaluation of a tissue culture hog cholera Vaccine, J. Amer. Vet. Med, Ass, 142, 1112—1117 (1963)。
2. Coggins, L. : Study of hog cholera colostral antibody and its effect on active hog cholera immunization, Amer, T. Vet, Res, 25, 613—617 (1964)。
3. Ikeda, S. : Kumagai T., Shimizu, J., Sasahara, J. and Matumoto, M: Immunological response of animals to active and inactivated hog cholera virus as studied by END neutralization test, Nat, Inst, Inst, Amer, Hlth, Quart, 3, 169—174 (1963)。
4. Kumagai T., Shimizu, T., IKeda, S, and Matumoto, M: A new in vitro method (END) for detection and measuament of hog cholera virus and its antibody by means of effect of hog cholera virus on newcastle disease virus in swine tissue culture, I, Establishment of standard Proceudue, t. Immunol, 87, 245—256 (1961)。
5. Lee, Robert C. T. : A Preliminary report on the Iapinized hog cholera vaccine in Taiwan, Chinese—American Joint Commission on Rural Reconstruction, Animal Industry series, No. 5 (1954)。

6. 林再春、呂榮修、王炯辰、周懋森、李芳棟：免化猪瘟毒之接種反應及免疫效力，農林廳獸疫血清製造所研究報告 No. 2 (1958)。

7. 林再春、楊子儒、周懋森、張茂林：免化猪瘟病毒冷凍乾燥之研究（第 I 報），臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 No. 1, 1—27 (1963)。

8. 林再春、楊子儒、林仁志、陳森雄：同上，第 II 報，真空冷凍乾燥過程及乾燥疫苗之保存性，臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 No. 1, 28—43 (1963)。

9. 笹原二郎：豚コレラ生ウイルス豫防液，日本獸醫師會，東京 (1968)

10. Sasahara, J, Kumagai, T, Shimizu, T. and Furuuchi, S: Field experiment of hog cholera livevaccine prepared in guinea-pig kidney cell culture, Nat, Inst, Anim, Hlth, Quart, 9, 83—91 (1969)。

11. 林再春、謝竹茂、陳由昌、陳正吉、李正雄、賴秀總：猪瘟 GP 組織培養疫苗之安全性及免疫效力，臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 6 : 1—10 (1969)。

12. 謝竹茂、林再春、蘇杰夫、鄭建盛：乾燥猪瘟 GP 組織培養疫苗之保存性及免疫持續試驗，臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 No. 7 : 13—17 (1970)。

FIELD TEST ON FROZEN-DRIED GP TISSUE CULTURE VACCINE

C. M. Shieh ; T. C. Lin ; J. F. Su ; S. S. Lai ; R. R. J

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

Summary

The safety and high immunity of GP vaccine has been proved at laboratory experiments during past 3 years. For further understanding, a small scale of field test was taken at Pingtung Hsien in 1972. The results are summarized as follows :

1. Among 10,100 pigs inoculated with GP vaccine, 64 head showed reaction (0.64%) and 55 died (0.55%). 8811 pigs vaccinated with the lapinized vaccine were compared as control group, 38 head showed reaction (0.44%) and 34 died (0.4%). Dead Cases were found in both groups during 2 weeks of observation period. Such cases, after careful examination, were not caused by vaccination, but by mostly edema disease and toxoplasmosis. Thus, the safety of GP vaccine was proved in the field test.

2. In GP vaccine group, 329 head were chosen at random to check their neutralization antibody titers before and one month after vaccination. The pigs with a parental titer below x 16 could produce high immunity after vaccination. But the production of antibody was influenced or even stopped in part of those pigs with above x 32 titer. The same phenomenon had been found in the lapinized vaccine group.

3. 32 pigs of GP vaccination group were purchased one month postinoculation and challenged with virulent ALD strain at the Provincial Research Institute for Animal Health. Any one with a titer of x 1 or above could show no reaction or survive after the

(48)

challenge.

From the results obtained, the GP vaccine was also found with high safety and immunity to the pigs raised in Taiwan.