

豬瘟活毒疫苗種毒之病原性復歸試驗

林再春 謝竹茂 蘇杰夫 陳清

(臺灣省家畜衛生試驗所)

緒言

關於豬瘟疫苗之研究，各國最初均着重不活化疫苗之發展，惟其一次注射之免疫力未能達到理想，且其免疫持續時間僅有 6 個月，致同一豬隻每年需預防注射二次，加之豬隻移動甚劇，常未能將豬瘟加以有效之控制。因此後來大多數研究者集中於活毒疫苗之研製，例如兔化疫苗之研究成功，不但其免疫方甚強，且疫苗製造成本遠較不活化疫苗為低，對於豬瘟之防疫有莫大之貢獻^(1, 3, 5, 6)。

近年來更因組織培養技術之驚人進步，致活毒疫苗趨向組織培養法，例如日本過去多年來致力於組織培養疫苗之研究，遂於 1969 年來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 疫苗，獲得甚優成果^(12, 13)。筆者(林)曾分讓該 GPE-毒株，供為對於本省豬隻之安全性及免疫性等試驗，而獲得甚優成績^(7, 14)。

豬瘟兔化毒及 GPE-毒在繼代早期或繼代不同之階段曾由許多研究者接種於豬隻觀察其感染及病理變狀且已有報告^(2, 4, 8, 10, 11)。本研究係為進一步明瞭現用之豬瘟活毒疫苗種毒之安全性，在農復會主任委員李崇道博士之策劃與指導下，使用本所自產之 6~8 週齡 SPF 小豬，分別實施本省之兔化毒(LPC 株)及日本之 GPE-株，累代通過各 20 代觀察其病原性復原與否。茲將所得成績報告於後。

試驗材料及方法

1. 供試毒株

1) 兔化毒：在本所繼代供於乾燥兔化豬瘟疫苗製造用之種毒，在本省稱其為 LPC 株，本試驗係使用以第 814 代毒製成之乾燥疫苗(Lot 1117) 5 劑量接種於供試小豬。

2) GPE-毒：筆者(林)於民國 57 年 6 月由日本分讓携回組織培養疫苗製造用種毒，本試驗係以 10^4 TCID₅₀/ml 5ml 接種於供試小豬。

2. 供試小豬及累代通過法

本所自產之 6~8 週齡 SPF 小豬經以兔化毒及 GPE-毒分別接種於左側後腿皮下，第 5 天後放血採取脾及顎凹、腸間膜等淋巴腺混合以生理食鹽水製成 5 倍乳劑，並以其 5ml 立即接種於次代小豬，如此方法累代通過於 SPF 小豬至 20 代。每代接種 1 隻，但於每 5 代時接種 2 隻，以便任意留 1 隻繼續觀察一個月後用 ALD 強毒攻擊，以明瞭獲得免疫與否？

3. Viremia 檢出試驗

供試小豬經接種後第 3 及 5 天採血分離血清，兔化毒以熊谷之 END 二段法，GPE-毒以干涉法試驗有無 Viremia 出現。

試驗成績

將本省現用之兔化毒 814 代及日本分讓之 GPE-毒分別累代通過 SPF 小豬至 20 代，均未見其病原性之復原，甚至其毒力也毫無增強之現象，詳如圖 1 及 2。由此成績得知該兩種弱毒確已達到高度之減毒，對於豬接種確甚安全，尤以本省之兔化毒株，經過儘速且慎重通過本省家兔 800 餘代後，已

(2)

完全失去其對豬之病原性，而尚保持高度之免疫性。

茲將本試驗之接種豬所觀察之詳細情形分述如下：

1. 接種豬之臨床所見

兔化組及 GP 組每代接種豬之食慾及精神均為正常，僅數例體溫稍為升高 (40°C~40.7°C)。至於每 5 代時留為觀察之接種豬即 (第 1、5、10、15、20 代)，兔化組之全例均耐過於 ALD 強毒之攻擊。反之，GP 組之第 1 及 5 代接種豬耐過攻毒，而第 10、15、20 代接種豬全例未能耐過而呈豬瘟斃死。由此成績得知 GPE-毒經以累代通過於豬體內後易失去繼續增殖之能力。而兔化毒則仍見其能在豬體內繼續增殖，但未呈現有病原性復原之現象。

2. 接種豬之 Viremia 檢出試驗

兔化組及 GP 組接種豬，於第 3 及 5 天分別採血供為 END 法二段法及以干涉法試驗結果均未能檢出 Virus。

3. 接種豬之血液變狀所見

1) 兔化組：第 1 代接種豬於第 3 天，白血球數減至 9,800 個，第 2 代者於第 3 天減為 8,400 個，第 5 天 7,000 個，第 3 代者於第 3 及 5 天為 9,800~8,300 個，但至第 4 代起即恢復正常。中性桿狀白血球第 1 代接種豬稍有增加外其餘各代均呈正常。

2) GP 組：血液變化除了第 6 及 7 代接種豬之中性桿狀白血球稍有增加外，其餘各代接種豬均呈正常。

SERIAL PASSAGE NO IN PIG	DATE OF INOCULATION	TIME OF BLEEDING IN DAYS AFTER INOCULATION	PIG NO. & RESULTS
LAP. VIRUS. 814th PASS 10 ⁹ PIG S.C.			
1	SEP. 4	1970	5 [21] R± [22] R+ (30days)
2	9	5	[23] NR
3	14	5	[24] NR
4	19	5	[25] R±
5	24	5	[26] R± [27] R± (30days)
6	29	5	[28] NR
7	OCT 4	5	[29] NR
8	9	5	[30] NR
9	14	5	[31] NR
10	19	5	[32] NR [33] NR (30days)
11	28	5	[34] NR
12	NOV. 2	5	[35] NR
13	7	5	[36] NR
14	12	5	[37] NR
15	19	5	[38] NR [39] NR (30days)
16	24	5	[40] NR
17	29	5	[41] NR
18	DEC. 4	5	[42] NR
19	9	5	[43] NR
20	14	5	[44] NR [45] NR (30days)

Fig.1. Showing Pathogenicity of Lapinized Virus Thro Reverse Passages in Pigs

Remarks : Figure in bracket denotes pig No.

R± : Slight reaction after inoculation

NR : No reaction after inoculation

R+ : Moderate reaction after inoculation

SERIAL PASSAGE NO IN PIG	DATE OF INOCULATION		TIME OF BLEEDING IN DAYS AFTER INOCULATION	GPE-VIRUS 10 ⁴ TCID ₅₀ S. C.		PIG NO. & RESULT	
1	AUG.	13	1970	5	50	NR	51 NR (3WKS)
2		18		5	52	NR	
3		24		5	53	NR	
4		29		5	54	R±	
5	SEP.	3		5	55	R±	56 R± (3WKS)
6		8		5	57	R±	
7		13		5	58	R±	
8		18		5	59	NR	
9		22		5	60	NR	
10		28		5	61	NR	62 NR D ₁₁
11	OCT.	3		5	63	NR	
12		8		5	64	NR	
13		13		5	65	NR	
14		19		5	66	NR	
15		24		5	67	NR	68 NR D ₁₁
16		29		5	69	NR	
17	NOV.	3		5	70	NR	
18		8		5	71	NR	
19		13		5	72	NR	
20		18		5	73	NR	74 NR D ₁₁

Fig.2. Showing Pathogenicity of GP Virus Thro Reverse Passages in Pigs

Remarks: Figure in bracket denotes pig No.

R±: Slight reaction after inoculation

NR: No reaction after inoculation

D: Died after ALD Challenge

4. 接種豬之解剖變狀所見

無論免化組或 GP 組，其部份接種豬僅於膀胱、脾臟或腎臟檢出數個至十多個針頭大出血點以外，未見其他任何病變。

討 論

本省應用活毒疫苗於豬瘟防疫，係開始於民國41年12月農復會主任委員李崇道博士由菲律賓分讓免化豬瘟毒株携回國內，在其指導下由筆者（林）負責繼續通過家兔並做有關之研究與應用。該毒株最初接種於本省產家兔時，毫無呈現熱反應。反之，對於豬隻之接種反應甚為顯着，例如實驗室試驗豬隻呈熱反應者佔30%以上，而田間應用之接種反應，僅以食慾減退一項為準，經觀察統計佔有接種豬隻之5%以上。該毒株經迅速累代通過本省產家兔約70代後其接種兔之熱型方轉趨顯着，且隨其接種兔之代數增加，對於家兔之熱型愈趨顯着，反之，對於豬隻之接種反應則愈趨輕微。

筆者等為明瞭其病原性是否增加或復原？曾於民國43年於未經接種疫苗母豬所生產之小豬，每代2隻，結果至第5代時呈輕度熱反應，即其接種反應已顯增強，第6代即呈豬瘟症狀而斃死，且經將其未斃死前之症狀較重豬隻之尿 8ml 接種於小豬結果亦呈豬瘟斃死⁽³⁾。筆者等繼以其111代免化毒接種於小豬後觀察其所排泌尿中之病毒，結果於接種第5天至14天間能檢出病毒⁽⁵⁾。

惟該免化毒繼續以迅速累代通過本省產家兔早已達 800餘代其接種兔呈現典型熱型者約達97%以上，對豬隻毫無呈現以肉眼可以檢出之接種反應即安全性甚高，因此該免化毒對於家兔之累代繼代至

(4)

800 代即停止繼代，乾燥保存供為疫苗製造用種毒（稱為 LPC 株）。此次經將 814 代毒使用 SPF 小豬累代通過至 20 代，亦未見病原性之復原或增強現象。該代毒之接種豬隻糞尿中亦未能檢出病毒，且同居試驗亦未能成立⁽⁹⁾。

至於日本之 GPE⁻毒株，笈原等報告⁽¹²⁾ 曾將該病毒通過小豬 10 代結果無病原性之復原，且接種豬隻亦無排泄病毒，即同居試驗未能成立。筆者等於過去三年來曾就 GPE⁻毒之安全性及免疫性等實施各項試驗而獲得同樣成績^(7·8·14)。此次於免化毒復歸試驗同時將 GPE⁻毒累代通過 SPF 小豬至 20 代供為比較結果，未見病原性之復原或增強之現象，且雖由接種豬之糞尿於接種後一週以內排泄者能檢出 GPE⁻毒，但同居感染試驗未能成立。

由上述所得成績證明本省之免化毒株及日本之 GPE⁻毒株均對於本省豬隻之安全性甚高，為製造豬瘟活毒疫苗之最優越種株。

結 論

將本省之免化毒（LPC 株）及日本現用之 GPE⁻毒，分別累代通過 SPF 小豬至 20 代，經試驗結果均未見其病原性復原或增強之現象。接種小豬除數例呈輕度熱反應外，其餘各例均無呈任何之臨床症狀。至其白血球數均僅於前數代稍為減少，中性桿狀白血球則免化毒組第 1 至 3 代時，GPE⁻毒組則於第 6、7 代時稍為增加，但並無顯著之左轉現象。

Viremia 試驗，於接種後第 3 及第 5 天之全例均呈陰性，解剖所見僅於部份接種豬隻之膀胱、脾臟或腎臟等檢出針尖大至針頭大出血點以外，未見任何其他病變。

誌 謝

本研究承蒙中國農村復興委員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) Aiken, J. M., and I. C. Blore: Immunology of newborn pigs: Response to lapinized hog cholera virus in clostrum-deprived and suckling pigs. Amer. J. Vet. Res. 25: 1134—1140 (1964).
- (2) Bass, E. P. and J. D. Ray: Evaluation of a tissue culture hog cholera vaccine. J. Amer. Vet. Med. Ass. 142: 1112—1117 (1963).
- (3) Lee, Robert C. T.: A preliminary report on the lapinized hog cholera vaccine in Taiwan. Chinese—American Joint Commission on Rural Reconstruction, Animal Industry Series: No. (1954).
- (4) Lin T. C., Y. Shimizu., T. Kumagai and T. Sasahara: Pathogenesis of hog cholera virus infection in experimentally inoculated swine. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart 9: 20—27 (1969).
- (5) 林再春、楊揚輝、周懋森：免化豬瘟毒在豬尿中消長狀況，臺灣省政府農林廳獸疫血清製造所研究報告，2 (1958)。
- (6) 林再春、呂榮修、王炯辰、周懋森、李芳棟：免化豬瘟毒之接種反應及免疫效方，同上研究報告，2 (1958)。
- (7) 林再春、謝竹茂、陳由昌、賴秀穗、李正雄、陳正吉、陳守仕：豬瘟 GP 組織培養疫苗之安全性及免疫效力，臺灣省畜衛試研報，6: 1—10 (1969)。
- (8) 林再春、謝竹茂、陳由昌、李正雄、賴秀穗：本省小豬之豬瘟移行抗體分佈情形及移行抗體與

- 活毒疫苗接種後免疫產生之關係，同上研報，6：11—21 (1969)。
- (9) 林再春、謝竹茂、蘇杰夫、鄭建盛：豬瘟活毒疫苗接種豬之排毒試驗。(付印中)。
- (10) Okaniwa, A., M. Nikagawa, Y. Shimizu, and S. Furuuchi: Lesions in swine inoculated with attenuated hog cholera viruses. *Nat. Inst. Anim. Hlth Quart.* 9: 92—103 (1969).
- (11) Pilchard, E. I.: Hog cholera lesions in swine given modified vaccine. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 148: 48—51 (1966).
- (12) Sasahara, J., T. Kumagai, Y. Shimizu, and S. Furuuchi: Field experiments of hog cholera live vaccine prepared in guinea-pig kidney cell culture. *Nat. Inst. Anim. Hlth Quart.* 9: 20—27 (1969).
- (13) 笹原二郎：豚コレラ生ウイルス予防液，日本獸醫師會雜誌 (1968)。
- (14) 謝竹茂、林再春、蘇杰夫、鄭建盛：乾燥豬瘟GP組織培養疫苗之保存性及免疫持續試驗。臺灣省畜衛試研報 7：13—18 (1970)。

Pathogenicity of the hog Cholera Live Vaccine Viruses by Reverse Passages through SPF Pigs

T. C. Lin C. M. Shieh J. F. Su and C. Chen

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

Summary

For further understanding the safety of the lapinized hog cholera virus (LPC strain; island-widely employed for more than 20 years in Taiwan) and the tissue-cultured virus (GPE-strain; adopted for hog cholera prevention in Japan since 1969) the writers had reverse-passaged these two live vaccine viruses respectively in SPF pigs for 20 passages in order to find the possibilities of recovery of the virulence. The results were summarized as follows.

1. No pathogenic recovery was detected when these two strains were respectively passed for 20 serial passages in SPF pigs. Only a few cases showed slight fever reaction, the others appeared quite normal.

2. In blood examination, slightly decreased WBC count was found in both earlier passages. Neutrophils were somewhat increased both in earlier 4 passages of LPC group and at the 6th and 7th passages of GP group.

3. Inoculated pigs all showed viremia negative when examined at the 3rd and 5th day postinoculation.

4. In autopsy, only several petechiae were found in bladders, spleens and kidneys in some cases.