

組織培養豬瘟病毒代替毒血為 免疫用抗元試驗

劉焯炎 葉明得 賴俊雄 劉義雄

一、緒 言

過去豬瘟免疫血清製造方法：係採用豬瘟毒血為免疫用抗元，所需成本甚高，無預防注射之材料豬隻，亦不易採購，而且容易造成豬瘟病毒傳播之危險，亟待改進，將過去免疫方法改用試管內組織培養豬瘟病毒來代替毒血作為免疫用抗元，製成有效，而且成本低廉之免疫血清。

茲將組織培養豬瘟病毒所作成之免疫血清，效力試驗以及其中和抗體力價和使用毒血製成之免疫血清作END法中和試驗比較成績報告如下：

二、試驗材料

- 1) 種毒株
 - a) 豬瘟強毒 (ALD株)
 - b) 細胞培養毒株 ST. Cell 2~5 代毒，簡稱 (STV)
SK. Cell 2~5 代毒，簡稱 (SKV)
- 2) 仔豬睪丸材料：由瑞芳建基農場採用。
- 3) 仔豬腎臟材料：使用本省在來種豬初生之公仔豬由中壢農家生產者購用。
- 4) 供試豬隻：由本所SPF中心生產之無病豬隻，及淡水附近購買之健康豬隻。
- 5) 玻璃器具：組織培養用各種藥品，

三、試驗方法

1. 豬瘟強毒 (ALD株) 在ST, SK-Cell 培養方法：
 - A) 仔豬睪丸細胞豬瘟病毒培養方法 (STV)：即用 0.25% Trypsin 消化後使用 LH₁₀ 或 LE₁₀ 培養液配 0.6~0.8% 之細胞浮遊液，同時加入 1/10 量之ALD病毒培養。
 - B) 初生仔豬腎臟細胞豬瘟病毒培養方法 (SK.V)：與仔豬睪丸細胞同樣消化後配成 0.6~0.8 % 之細胞浮遊液，同時加入 1/10 量之ALD病毒培養。
 - C) ST.V即培養後 4 天收集培養病毒增殖液，SK.V即培養後 6 天收集培養病毒增殖液，以 END法測定病毒力價後供為免疫注射用抗元。

表一 組織培養豬瘟病毒與強毒ALD毒血END法力價測定成績：

免疫用抗元種類	力價測定日期	病 毒 稀 釋 倍 數							
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
ALD 17 代	56.11.7	+	+	+	+	+	+	+	-
		+	+	+	+	+	+	+	-
		+	+	+	+	+	+	+	-
S T V 4 代	56.11.7	+	+	+	+	+	+	-	
		+	+	+	+	+	+	-	
		+	+	+	+	+	+	-	
S K V 4 代	57.7.20	+	+	+	-	-	-	-	
		+	+	+	-	-	-	-	
		+	+	+	-	-	-	-	

由上表之成績 END 法力價測定 ST. V 組在 10^{-5} ~ 10^{-6} ，SK. V 組在 10^{-3} ，毒血組在 10^{-6} ~ 10^{-7} 在此種情形中可知毒血組力價高於 ST. V 組，而 ST. V 組力價高於 SK. V 組，SK. V 組力價最底，因 SK. V 組將第一代培養至第五代培養毒均在 10^{-3} 左右之力價，SK. V 培養病毒增殖不理想原因是否為病毒與細胞同時培養有關或豬品種不同之原因，需作進一步之研究。

2. 豬隻免疫法：

- A) 先選購有預防注射之健康豬 8 頭，體重 60~80 公斤左右，及本所 SPF 生產中心，自產之 SPF 豬 4 頭，觀察 48 小時後，供用基礎免疫。
- B) 基礎免疫方法；即使用兔化豬瘟疫苗注射後經 10 天分為毒血免疫組與組織培養毒免疫組。
- C) 免疫刺激注射方法；即第二次 5cc，第三次 50cc，第四次 250cc，每次注射期間相隔 7 天，最後之第四次大量注射 250cc 注入腹腔內，其餘之注射部位全部頸部皮下注射，且於大量腹腔內注射經二星期後放血。
- D) 中和抗體測定法；將兔化疫苗注射後 10 天，第二次 5cc 刺激注射後 7 天，第三次 50cc 刺激注射後 7 天，及第四次 250cc 大量腹腔內注射後 14 天，分別採取血清作 END 法中和抗體力價測定試驗，其成績如下表二，

表二 豬瘟培組纖養毒與強毒 ALD 毒血豬隻免疫血清中和抗體力價測定成績

供試免疫組別	試製批號	供試豬號	豬隻體重	豬品種	免疫注射日期	兔化疫苗注射前抗體	兔化疫苗注射後第 10 天抗體	第二次 5cc 刺激注射後第 7 天抗體	第三次 50cc 刺激注射後第 7 天抗體	第四次 250cc 大量腹腔內注射後第 14 天抗體
毒血免疫組	No 1	#3	63kg	SPF 豬	56.11.1	0	×32	×512	×2,048	×4,096
		#4	65kg	"	"	0	×64	×2,048	×2,048	×4,096
	No 2	#324	71kg	三品種	58.5.2	×16	×64	×256	×1,024	×4,096
		#325	83kg	"	"	×2	×128	×1,024	×4,096	×4,096
		#326	80kg	"	"	×32	×64	×512	×4,096	×4,096
	ST. V 免疫組	No 1	#1	68kg	SPF 豬	56.11.1	0	×64	×512	×2,048
#2			65kg	"	"	0	×32	×512	×2,048	×4,096
No 2		#321	76kg	三品種	58.5.2	×32	×16	×512	×1,024	×4,096
		#322	75kg	"	"	×8	×128	×256	×1,024	×4,096
		#323	78kg	"	"	×16	×64	×2,048	×4,096	×4,096
SK. V 免疫組	No 1	#155	61kg	"	57.8.20	×32	×64	×256	×512	×1,024
		#156	64kg	"	"	×64	×32	×128	×128	×512

3. 效力比較試驗；

將毒血免疫組與組織培養毒免疫組所免疫製成之血清，供試豬隻採取血清作END法中和抗體力價測定陰性之健康豬隻以體重每公斤對免疫血清 1cc計算，與ALD強毒18代， 10^{-1} 1 西西共同注射，觀察14天後其結果如表三；

表三、毒血免疫組與組織培養免疫組所免疫製成之血清效力比較試驗

供試免疫組別	試驗血清批號	豬隻號碼	豬隻體重	豬品種	試製免疫血清與 ALD 強毒株共同注射				反應情形	摘要
					試製免疫血清		ALD強毒注射量			
				注射日期	注射量及部位	注射日期	注射量及部位			
毒血免疫組	No 1	# 8	65kg	SPF 豬	57. 1.19	65cc皮下注射	57. 1.19	ALD18代 10^{-1} 1ml s.c	-	健存
		# 9	65kg	"	"	65 "	"	"	-	"
	No 2	#370	70kg	三品種	58. 6.10	70 "	58. 6.10	"	-	"
		#371	72kg	"	"	72 "	"	"	-	"
ST. V 免疫組	No 1	# 6	80kg	SPF 豬	57. 1.19	80 "	57. 1.19	"	+	"
		# 7	75kg	"	"	75 "	"	"	-	"
	No 2	#122	58kg	三品種	58. 6.10	58 "	58. 6.10	"	-	"
		#123	56kg	"	"	56 "	"	"	+	"
毒血對照組		#10	70kg	SPF 豬			57. 1.19	"	卅	豬瘟病殺
		#11	68kg	"			"	"	卅	"
		#368	66kg	三品種			58. 6.10	"	卅	"
		#369	60kg	"			"	"	卅	"
SK. V 免疫組	No 1	#120	65kg	"	57.11. 1	65cc皮下注射	57.11. 1	"	卅	健存
		#121	70kg	"	"	70 "	"	"	卅	健存
毒血對照組		#124	60kg	"			"	"	卅	豬瘟病殺
		#125	62kg	"			"	"	卅	"

註：(一) 無反應

(十)：呈輕度反應 (40~40.5°C 2天)

(卅)：呈中度反應 (40.5°C~41°C 7天) (卅)：呈重反應 (41°C 7天以上)

4. 保存性試驗；

56年12月12日使用 ST.V 及 A.L.D 毒血，不同抗元免疫製成之血清保於 4~6°C 冷室一年後取出作效力檢定比較試驗結果如表四；

表四、使用不同抗元免疫血清冷室保存一年効力比較試驗：

供試免疫組別	試製血清批號	猪隻號碼	猪隻體重	猪品種	試製免疫血清與 A.L.D 強毒共同注射				反應情形	摘要	
					免疫血清注射量	毒血共同注射量	注射日期	注射量及部位			
毒血免疫組	No 1	#151	75kg	SPF 猪 一代雜種	57.12.12	75cc皮下注射	57.12.12	A.L.D 19代 10 ⁻¹ lcc s.c	-	健存	
		#152	76kg	"	"	76	"	"	"	-	"
ST.V 免疫組	No 1	#153	75kg	"	"	75	"	"	"	+	"
		#154	79kg	"	"	79	"	"	"	-	"
毒血對照組		#149	75kg	"				"	"	卅	猪瘟病殺
		#150	70kg	"				"	"	卅	"

註：(一)：無反應

(十)：呈輕度反應

(卅)：呈重反應

四、討 論

1. 猪瘟病毒培養於在來種初生小公猪之腎臟細胞共五代，其病毒之增殖均不理想，原因是否病毒和細胞同時培養有關或者猪品種之關係，今後尚需進一步的檢討。
2. 猪瘟免疫血清製造用猪瘟毒可經猪隻睪丸細胞增殖供用。組織培養病毒力價依 END 法測定必須保有 10⁻⁵~10⁻⁶ 之力價方能與毒血相等作代替用。
3. 使用初生公猪之腎臟細胞培養病毒對猪隻免疫注射，免疫產生抗體，以此所製成之免疫血清之抗體力價在 1,024 倍及 512 倍，與毒血組及 ST.V 組相比尚差太遠，此可能係培養病毒力價不高之緣故。
4. 免疫血清之中和抗體力價不論毒血組或 ST.V 組均相等，但 ST.V 組免疫血清對猪隻効力，試驗結果，供試二批均有呈輕度熱的反應，此種原因是否猪隻個體關係或有其他因素尚需再檢討之必要。

五、結 論

1. 猪瘟病毒 (A.L.D 株) 經仔猪睪丸組織細胞培養病毒對猪隻免疫結果與毒血免疫血清之免疫力價相等。
2. 仔猪睪丸組織培養猪瘟病毒所製成之免疫血清與毒血免疫血清同樣對猪隻共同注射有效，且保存於冷室一年，其効力並無差異。

參 考 文 獻

1. Shimizu, T., T. Kumagai, S. I. Keda and M. Matumoto (1964); Arch. Ges. Virus forch. 14 697~699.
2. Sato, U., Y. Nishimura, T. Hanaki and K. Nobuto (1964); Arch. Ges.

Virusforsch, 14. 395~403.

3. 劉燃炎、葉明得、劉義雄等；豬霍亂免疫抗體消長試驗；臺灣省畜牧獸醫學會宣讀報告，1968年12月（臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 No. 5，1968年（本期）

Experiment On The Immunity of using Hog Cholera Tissue Culture
Antigen To Substitute Virus Blood.

J. Y. Liu, M. T. YEH, J. S. Lai, and Y. S. Liu,

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

Summary

1. Hog Cholera Virus (ALD strain) obtained by Passage of ST-cell Culture has the Same immune Potency as Virus blood.
2. The immune Sera Prepared by using Hog Cholera tissue Culture antigen and Virus blood had the Same, efficiency When Performed the Simultaneous injection, and on difference was found when in Cool-room for a year.