

組織培養新城雞瘟活毒疫苗之製造 及野外試驗

高光炎 葉明得 劉義雄 劉煥炎 (家畜衛生試驗所)

林敬逢 鍾順毓 (士林種雞場)

前 言

近年來本省由於養雞事業逐漸進入企業化，不僅飼養隻數遽增，飼養方式亦多趨集體平飼，故對新城雞瘟之防疫工作諸需急待改善，尤對活毒疫苗，死毒疫苗，使用之安全性及免疫性等問題，亟需徹底解決，以符實際需要；甚多鷄友，學者各具成見爭論未已。本所亦曾於民國55年製成一種新城雞瘟活毒疫苗供應養雞業使用，但在野外實地應用時，由於使用者對疫苗之性能，適用之對象，時期環境因素等認識不清，以致成效未臻理想，因而獲得甚多批評。筆者有鑑於此，特將原有種毒經以組織培養，再製成 DK 株，DD 株，為了解種毒之純淨再加重新檢討其性能，並將此二株種毒適用 P Lague cloning 分離法，加以分離，然後將分離株製成乾燥疫苗及水劑疫苗，經應用於野外對各鷄齡之接種加以試驗，以研究本疫苗之適用價值，茲將試驗成果報告如下，提供各先進參考與指正：

甲：疫苗製造試驗

一、試驗材料：

1. DK 株鴨胎累代 618代→鴨腎組織培養50~76代水劑疫苗。
2. DD 株鴨胎累代 618代→鴨腎組織培養50代→狗腎組織培養（長期培養84天）鴨腎組織培養水劑疫苗。
3. 佐藤株本所疫苗檢定用攻擊用腦毒
4. 牛腎組織培養細胞 (B K cell)
5. 豬腎組織培養細胞 (S K cell)
6. 狗腎組織培養細胞 (D G K cell)
7. 雞腎組織培養細胞 (C K cell)
8. 鴨腎組織培養細胞 (D K cell)
9. 無抗體鷄隻 (本所自產)

二、試驗方法及過程

(一) DK 株狗腎 (D G K) 長期培養方法：

將 DK 株 $0.1\text{ml}/10^{-2}$ 接種與 D G K cell 試管內培養 5~7 天後換取 (medium) L H₁₀ (牛血清)，並將 D G K cell 面括成直線約 0.1 公分數條 (使其括面細胞脫落) 再行繼續在 37°C 培養，5~7 天後在括面之細胞重新發育，再採取前次未括之部份作成括面線，繼續培養至 84 天，在培養期間 cell sheet 始終未呈 C P E，且培養液中之 Virus 力價保有 (CKTC $0.1\text{ml}/10^{-3-3.5}$ 左右)，此毒株簡稱為 DD 株，

(二) DD 株 Virus plague cloning 分離法：

- A. 將 D G K cell 長期培養 84 天 seed Virus 稀釋 $10^{-1}\sim 10^{-9}$.
- B. 將 A 之各階段之稀釋 Virus 0.5ml 加入培養作成之 D K cell plate 內感作約 10 分鐘後 First overly (LH 93ml, Bactoagar 0.8gm, Bovine Serum 5ml, 2.2% Na HCO₃ 2ml, Penicilim and streptomycin 100u/ml) 加入 5ml 後 37°C 培養一夜

·再使 second overly (LH 83ml, 0.1% Newtral red 10ml, Bactoagar 0.8gm, Bovine Seum 5ml, 2.2% NaHCO₃ 2ml, Penicilin, and streptomycin 100u/ml) 加入5ml 後再培養 3 天判定及採取 Cloning C-1, C-2, C-3, C-4, 作為 Virus 純粹化之檢討試驗, 並將此分離株 C-1, C-2, C-3, C-4, 培養與 DKG cell 繼代接種保存。

(三) DD株 clone Virus (C-1, C-2, C-3, C-4) 之性狀

將 clone Virus C-1, C-2, C-3, C-4, 接種與 DK cell 培養 4 天之 Seed Virus 使 CK cell 作 TC titer 測定, 並接種與無抗體鷄隻 (50天雛) 後觀察 14 天檢查反應情形, 並作 CK. TC titer 與鷄隻有效力價之比較, 將觀察 14 天後攻擊佐藤株腦毒乳劑 1ml/10⁻⁸ 之結果如下表。

DD株 C-1

Seed Virus 接種後	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
C K T C	卅	卅	卅	-	-	-	-
C P E	卅	卅	卅	-	-	-	-
每隻接種 0.2ml IM 觀察反應	⊖⊖⊖⊖⊖ ⊖⊖⊖⊖⊖	⊖⊖	⊖⊖	⊖⊖	⊖⊖		
14天後佐藤株腦毒 1.0ml/10 ⁻⁸ IM攻擊	10/10		2/2	0/2	0/2		

⊖表示無反應 10/10 分母為接種隻數及分子為生存隻數

DD株 C-2

Seed Virus 接種後	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
C K T C	卅	卅	卅	卅	卅	-	-
C P E	卅	卅	卅	卅	+	-	-
每隻接種 0.2ml IM 觀察反應	⊖⊖⊖⊖⊖ ⊖⊖⊖⊖⊖				⊖⊖	⊖⊖	⊖⊖
14天後佐藤株腦毒 1.0ml/10 ⁻⁸ IM攻擊	8/10				0/2	0/2	0/2

DD株 C-3

Seed Virus 接種後	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
C K T C	卅	卅	卅	卅	卅	+	
C P E	卅	卅	卅	卅	卅	-	
每隻接種 0.2ml IM 觀察反應	⊖⊖⊖⊖⊖ ⊖⊖⊖⊖⊖				⊖⊖	⊖⊖	
14天後佐藤株腦毒 1.0ml/10 ⁻⁸ IM攻擊	6/10				⊖⊖	⊖⊖	

DD株 C-4

Seed Virus 接種後	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
C K T C	卅	卅	卅	卅	+		
C P E	卅	卅	卅	卅	+		
每隻接種 0.2ml IM 觀察反應	⊖⊖⊖⊖⊖ ⊖⊖⊖⊖⊖				⊖	⊖	⊖⊖
14天後佐藤株腦毒 1.0ml/10 ⁻⁸ IM攻擊	1/10				0/1	0/1	0/2

以上對 DD株 clone Virus C-1, C-2, C-3, C-4, 培養在 DGK cell 一代之 Virus 力價則為 C-1 10^{-3} , C-2 $10^{-4.5}$, C-3 $10^{-5.5}$, C-4 $10^{-4.0}$ 而對50天雛接種後14天之觀察並發現有病原性病毒分子且無任何反應，經攻擊強毒佐藤腦毒之結果 C-1 之 CKTC Virus Titer 與有效力價均符合，且接種 10^{-1} 稀釋 Virus $10/10$ 隻全部耐過，其他 C-2, C-3, C-4, 其耐過率則 $8/10$ $6/10$ $1/10$ ，而且 Virus 力價與雞隻有效力價未能符合。

(四) DD株 clone Virus C-1 對初生雛安全性試驗。

將 C-1 D K cell Seed Virus 接種與本所自產無抗體初生雛 1 日令及 4 日令之腦膜下及肌肉內觀察 2 星期之安全性結果如下：

雛 雞 日 令	一 日 令 雛	4 日 令 雛	備 註
腦 膜 下 注 射 0.1 ml	● ₇ ● ₅ ● ₇ ● ₁₂ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○	● ₇ 斃死及斃死日數 ○ 健康
筋 肉 內 注 射 0.1 ml	● ₁₂ ● ₁₂ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○	

(五) DD株 C-1 培養 · DK, BK, SK cell 之 Virus 增殖態度。

將 C-1 DGK cell 培養 Virus 接種與 DK, SK, SK cell 後使 C K cell 測定其 Virus 增殖力價結果如下

C K cell titer

Virus 稀 釋	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}
DK一代 Seed Virus	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-
DK二代 "	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
SK一代 "	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-
SK二代 "	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-
BK一代 "	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-
BK二代 "	卅	卅	卅	卅	±	-	-	-	-

以上 C-1 DGK cell Virus 接種與 DK, BK, SK, cell 培養結果仍為 DK cell 之 Virus 增殖最高位，其餘之 BK, SK 與 DGK cell 同樣 Virus 之增殖不理想。

(六) 乾燥疫苗對無抗體三週令雛，二個月雛雞，成雞之效力試驗。

將 DD C-1, DGK cell Virus 接種與 DK cell 培養 Virus 加入 (15% milk, 10% lactose) 作乾燥 medium 一瓶裝入 $1ml/10^{-7}$ titer 之 Virus 1ml 製成乾燥疫苗，將乾燥疫苗稀釋至 10^{-1} 10^{-8} 每稀釋液注射雞雙 0.2ml IM 後，分為一週，二週，三週攻擊強毒佐藤株腦毒 $1ml/10^{-2}$ 之結果如下：

	攻擊日期	乾燥疫苗稀釋度								對 照
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
2 個 月 中 雞	一 週	○ ○	○ ○	○ ● ₅	● ₅ ● ₄ ● ₄ ● ₄ ● ₅ ● ₄ ● ₅ ● ₄					● ₄ ● ₅
成 雞	一 週	○	○	● ₅	● ₇	● ₅	● ₅	● ₄		● ₇
2 個 月 中 雞	二 週	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	● ₅ ● ₄	● ₅ ● ₄
成 雞	二 週	○	○	○	○	○	○	○	● ₅	● ₅

以上成績可見此疫苗對中雞成雞接種後 7 天仍有效力，其 Virus 每劑量必須保有 10^{-5} 以上力價在 2 週攻擊者其效力相當良好，其 Virus titer 與有效力價相符合。

三、DK 株經狗腎 (DGK) 長期培養使 DK cell clone Virus 試驗結果。

1. 本所種毒 DK 株再使 DGK cell 長期培養方培養 84 天，再使 DKTC Plague cloning 分離法分離 C-1, C-2, C-3, C-4 四株，其中之 C-1 株之成績優異其他各株將所分離之 clone virus 四種經動物接種之結果無較強之病毒分子存在，可斷定經狗腎 (DGK) cell 培養之 DD 株似對雞隻安全極佳。
2. 此次 Clone Virus 之 C-3, C-4 株雖有 Virus 力價相當的高位但其效力較差由此可見株毒內有低抗元性病毒存在，此種病毒分子是經 DGK cell 培養因起或在原株 (DK 株) 其中由來者尚需研究試驗與檢討。
3. 此次之 plague cloning 分離 Virus 得 DD 株毒中似含有抗元性高低不同病毒分子存在，為使毒株純粹必須經 plague cloning 法分離。
4. 將此 DD 株培養與 DK cell 製成之乾燥疫苗對雞隻之免疫發生所需 Virus 量必須含有一劑量 10^{-5} 以上之力價。
5. 新城雞瘟弱毒 DK 株經 DGK cell 長期培養，並使 plague cloning 分離得一種保有安全性及抗元性極高之 DD 株毒。

乙：疫苗之野外試驗

一、材料：

1. 疫苗：組織培養新城雞瘟 DD 株，DK 株疫苗。
2. 病毒：新城雞瘟病毒佐藤株。
3. 場地及雞隻：為求試驗之確實性及便於觀察，特選定環境優良管理嚴密之士林農場願以五萬隻種雞為對象，提供試驗。

二、試驗方法及結果：

1. H 1 抗體價檢查方法

	1	2	3	4	5	6	7	7	9	10	11	12
血稀釋倍數	SC	×5	×10	×20	×40	×80	×160	×320	×640	×1280	×2560	R.C
稀釋血清量	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
抗元 (4 單位)		0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
感 作	室溫 17~28°C 10分											
0.25% 血球液	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
感 作	室溫 17~28°C											
判 定	60分內 (SC) 可檢血清對照 (RC) 血球對照											

2. 疫苗接種與 H 1 價之消長

將試驗鷄隻分為成鷄，中鷄，小鷄進行各種接種試驗

A. 成鷄組

日令自 185~697 天之成鷄 11,942 隻均採用筋用注射方式在疫苗接種前，採血檢查其原有 H 1 抗體價，接種後二星期再採血檢查 H 1 價是否上昇，至五個月，九個月再採血檢查其抗體之消長及影響等情形如下表

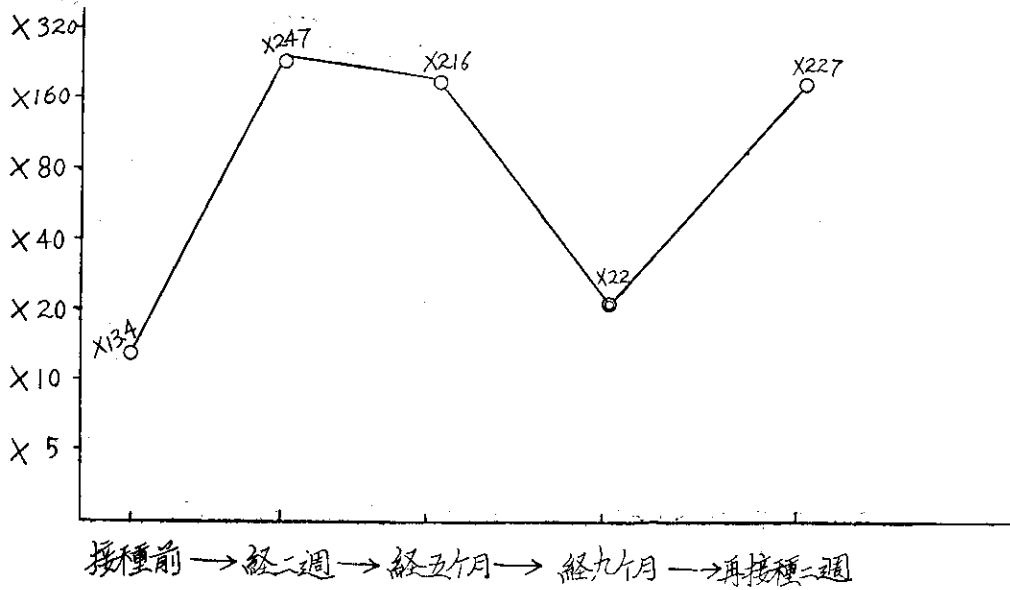
成鷄組 DK 疫苗接種後 H 1 價之消長

鷄別	日令	隻數	接種前 H 1 價			疫苗 接種日期	經二週 H 1 價			經五個月 H 1 價			經九個月 H 1 價		
蛋種鷄	697	975	×5 ×40	×80 ×20	×80 ×40	57.5.7 DK-65	×320 ×320	×320 ×320	×320 ×160	×320 ×160	×160 ×320	×10 ×10	×20 ×40	×20 ×20	
肉種鷄	376	993	×10 ×10	×5 ×5	×20 ×10	57.5.1 DK-65	×320 ×320	×320 ×160	×320 ×320	×80 ×160	×320 ×160	×10 ×10	×10 ×20	×20 ×10	
"	254	607	×10 ×20	×5 ×5	×5	"	×160 ×80	×80 ×320	×320 ×160	×160 ×160	×320 ×320	×10 ×5	×10 ×20	×20	
蛋種鷄	305	1732	×10 ×10 ×10	×5 ×5 ×5	×5 ×10	57.5.3 DK-65	×160 ×160	×160 ×80	×320 ×320	×160 ×320	×160 ×160	×10 ×5	×20 ×10	×20	
肉種鷄	362	953	×5 ×10	×20	×5	57.5.1 DK-65	×80 ×320	×320 ×160	×320 ×160	×160 ×320	×320 ×320	×5 ×10	×20 ×20	×10	
蛋種鷄	185	1838	×5 ×5 ×0	×5 ×10 ×10	×10 ×5	57.5.3 DK-65	×320 ×320	×160 ×320	×320 ×320	×320 ×160	×320 ×320	×20 ×5	×10 ×10	×40	
"	547	2027	×5 ×10 ×10	×40 ×10 ×10	×5 ×10	"	×320 ×320	×320 ×160	×160 ×320	×160 ×80	×160 ×320	×10 ×20	×10 ×20	×5	
"	389	2816	×5 ×5 ×0	×5 ×40 ×5	×10 ×10	"	×320 ×80	×160 ×320	×80 ×320	×160 ×16	×40 ×320	×20 ×40	×5 ×10	×5	

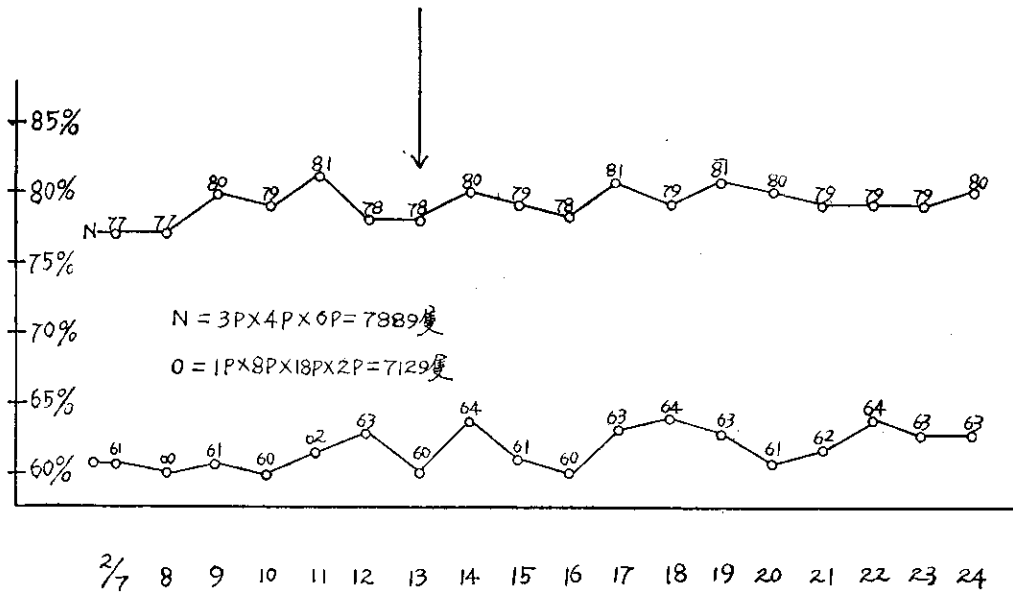
DK 疫苗接種後 H 1 價之消長及再接種之影響

鷄舍	日令	隻數	疫苗接種						疫苗之再接種			
			日期	經五個月 之 H 1 價			經九個月 之 H 1 價			日期	經二週後 之 H 1 價	
1 P-B	376	2247	57.5.1	×80 ×160 ×160	×320 ×320 ×320	×160 ×320 ×10	×10 ×10 ×10	×20 ×40 ×20	58.2.14	×80 ×40 ×160	×160 ×160 ×80	
2 P-L	571	1223	"	×160 ×320	×160 ×320	×320 ×160	×20 ×40	×20 ×20	40	"	×320 ×160	
3 P-L	336	2477	57.6.29	×320 ×160 ×80	×40 ×320 ×160	×320 ×160	×10 ×40	×10 ×20	10	58.3.18	×320 ×320	×160 ×160
4 P-L	240	2752	57.9.12	×320 ×320 ×160	×40 ×320 ×160	×80 ×320	×10 ×40	×20 ×10	20	58.6.1	×160 ×640	×160 ×320
6 P-L	345	2195	57.6.6	×320 ×320 ×160	×160 ×320 ×320	×160 ×80	×40 ×10	×10 ×20	10	58.3.10	×320 ×160	×320 ×160
6 P-L	193	1059	57.8.13	×320 ×320	×40 ×160	×80 ×160	×20 ×20	×10 ×10	20	58.5.14	×160 ×320	×320 ×160
8 P-L	447	1842	57.5.3	×320 ×160	×320 ×320	×320	×10 ×40	×20 ×20	80	58.2.14	×160 ×640	×320 ×160
18 P-L	675	2177	"	×80 ×320	×160 ×320	×160 ×320	×20 ×10	×20 ×20	40	"	×160 ×160	×320 ×320

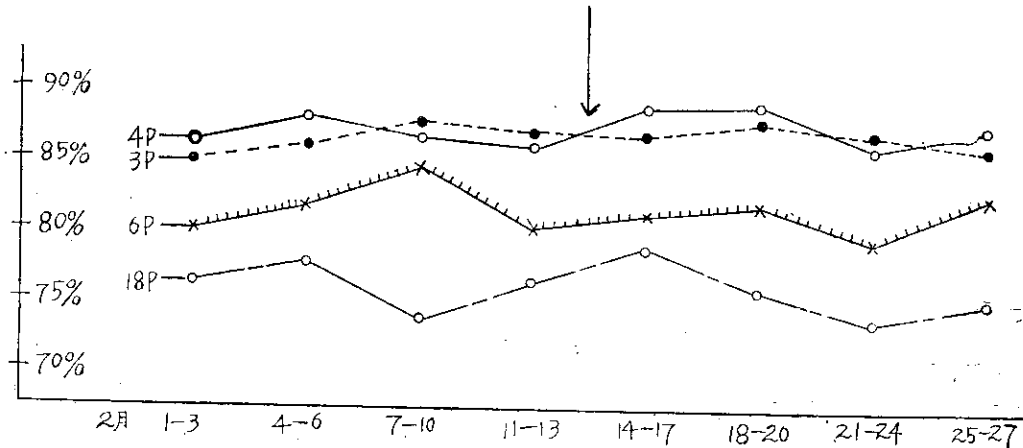
疫苗接種與抗体價之消長



疫苗接種對產卵率之影响



疫苗接種對孵化率之影響



由以上成績得知疫苗接種前之H 1平均值為13.4倍時，接種DK疫苗經二星期H 1價即上昇高至平均值 247倍，一直保持至五個月其H 1平均值為 216倍之高，延至九個月始下降到平均值 22倍。

俟其下降後再行DK疫苗之二次接種二週後又上昇至 227倍，由此可見在成鷄之DK疫苗之一次接種在六個月內仍保持非常高之抗體可抵抗病毒之侵入，同時疫苗接種對產卵率及孵化均無影響。

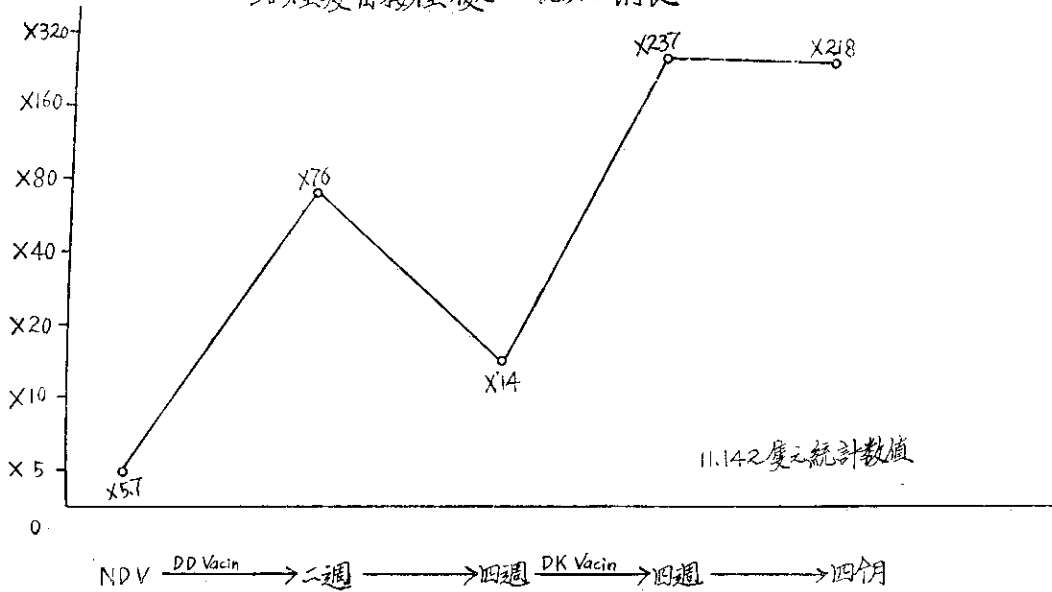
B 中鷄組

(一)小鷄於四週齡經新城鷄瘟不活化死毒疫苗接種後經1~2個月再行DD株疫苗之接種，四週後顯著發現抗體之下降後再行DK株疫苗接種經4個月仍保持相當之H 1抗體。

死毒→DD→DK接種後H 1價之消長情形

鷄別	日齡	隻數	死毒疫苗接種			DD株疫苗接種			DK疫苗接種								
			日期	H 1 價			日期	經二週後 H 1 價		經四週 H 1 價		日期	經四個月 H 1 價				
肉種鷄	108	1812	57.	<5	10	<5	57.	20	80	320	20	<5	20	57.	320	160	160
			2.17	10	5	<5	5. 1	5	10	10	<5	10	20	6. 6	160	40	320
蛋種鷄	75	500	57.	<5	<5	10	57.	160	80	80	<5	20	10		40	160	20
			3. 6	5	<5	<5	5. 3	80	80	80	10	40		320	320	160	
"	"	2938	"	<5	<5	10	"	320	40	10	10	20	20	"	320	160	160
			"	<5	10	<5	"	40	40	80	40	40	"	320	320	40	
肉種鷄	48	2417	57.	10	<5	<5	"	40	20	20	<5	10	<5	"	320	40	160
			4. 3	10	<5	<5	"	40	10	160	<5	40	20	"	160	160	40
蛋種鷄	230	800	"	20	10	10	"	80	80	160	10	5	20	"			
			"	<5	5	5	"	40	20	20	<5	<5	5	"			

各種疫苗接種後之H1抗體之消長



由以上成績可明顯看到四週齡之中雞經死毒疫苗一次注射後H1抗體之產生很低而不穩定，經1個月至2個月行DD疫苗之接種則很快的在二週後即上昇至H1平均值76倍之高，但又很快的在接種後之四星期下降到14倍之低，在下降後即行DK疫苗之接種則又即刻上昇，至四個月後仍保持H1平均值218倍之高。

(二)以DD疫苗之接種雖確較安全，但H1抗體之下降太快，因此以不用DD疫苗而且直接應用DK疫苗則獲得下面之成績。

疫苗接種後抗體之產生與雞隻之反應

雞別	日齡	隻數	死毒疫苗接種				DK疫苗接種				反應		
			日期	H1價			日期	經四個月之HI價					
蛋種雞	60	1528	57	<5	10	<5	5	57	320	40	320	160	+
			4.29	5	<5	<5	10	6.29	320	160	160	40	
"	45	1147	"	10	5	<5	<5	"	160	20	160	80	+
				<5	5	5	<5		320	320	160	160	

在不活化死毒新城疫苗二次接種其H1價在×5左右時直接用DK疫苗，雖有部分雞隻呈輕度反應，以致食慾減退及綠便外，但健康情形良好，並無死亡，且H1抗體即刻上昇，至接種後四個月仍能保持平均值161倍之高。

(三)小雞孵化後於7天14天行DK疫苗之飲用連續二次後再以注射方式接種DK疫苗則獲得如下成績：

DK疫苗對中鷄之効力

鷄舍	鷄種	隻數	注射前HI價	接種日期	經二週之HI價	病毒攻擊耐過率
陽明2P	蛋鷄	1461	$\times 5$ $\times 10$ $\times 20$ $\times 10$ $\times 10$ $\times 5$ $\times 10$ $\times 5$	58.2.9	$\times 320$ $\times 320$ $\times 80$ $\times 320$ $\times 160$ $\times 320$ $\times 320$ $\times 640$	100%
陽明11P	"	1782	$\times 10$ $\times 5$ $\times 10$ $\times 20$ $\times 10$ $\times 10$ $\times 20$ $\times 10$	"	$\times 160$ $\times 640$ $\times 640$ $\times 320$ $\times 160$ $\times 160$ $\times 320$ $\times 320$	100%
陽明17P	"	1794	$\times 10$ $\times 20$ $\times 5$ $\times 10$ $\times 10$ $\times 10$ $\times 5$ $\times 20$	"	$\times 80$ $\times 640$ $\times 320$ $\times 320$ $\times 160$ $\times 320$ $\times 160$ $\times 320$	100%
淡水14P	肉鷄	1725	$\times 10$ $\times 5$ $\times 10$ $\times 5$ $\times 10$ $\times 10$ $\times 10$ $\times 20$	"	$\times 160$ $\times 320$ $\times 80$ $\times 160$ $\times 160$ $\times 40$ $\times 320$ $\times 160$	100%

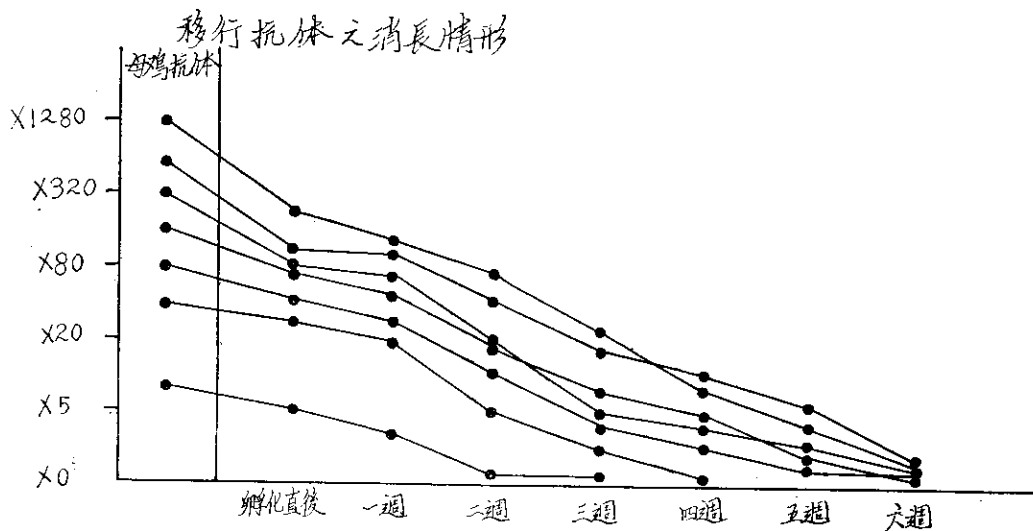
小鷄時予DK疫苗二次飲用，H 1 抗體價在 $\times 5$ 與 $\times 10$ 之間仍為病毒侵入可能範圍，但經DK疫苗一次注射後，則H 1 價可普通上昇至平均值 289倍之譜。

由以上三項試驗之17,904隻成績分析，無論經過不活化死毒疫苗或DD疫苗注射以及DK疫苗飲用，其抗體之產生及保持均不够理想，必需再經DK疫苗筋肉注射，始可產生高較抗體而保持至六個月以上之效能。

C. 小鷄組

初生小鷄一至四週齡分飲用注射等方式，分別進行各日令之接種試驗，並在接種前檢查其從母鷄獲得之移行抗體，以研究疫苗接種與抗體產生之影響，決定修正接種之時期。

- 1.自採種之母鷄測定其H 1 抗體價後，再將其所產種蛋經孵出小鷄後至六週，每週測定該等小鷄之H 1 抗體價消失情形，獲得如下成績：



自上表顯示母鷄之抗體，高低對孵出小鷄之移行抗體之影響甚大，因而對疫苗之接種時期亦將有密切關係。

- 2.各週齡之小鷄對病毒之耐過率及對疫苗接種後之免疫情形如下。

	各週齡之小雞		疫苗接種後一個月	
	H 1 價	病毒耐過率	H 1 價	病毒耐過率
孵化直後	$\times 160 \times 160 \times 80$ $\times 80 \times 40$	100%	$\times 5 \times 5 \times < 5$ $\times < 5 \times < 5$	0%
一週齡	$\times 80 \times 80 \times 80$ $\times 80 \times 40$	100%	$\times 5 \times 5 \times < 5$ $\times < 5 \times < 5$	0%
二週齡	$\times 80 \times 40 \times 40$ $\times 20 \times 20$	100%	$\times 5 \times < 5 \times < 5$ $\times < 5 \times < 5$	0%
三週齡	$\times 40 \times 20 \times 20$ $\times 10 \times 5$	100%	$\times 10 \times 5 \times < 5$ $\times < 5 \times < 5$	40%
四週齡	$\times 20 \times 20 \times 10$ $\times 5 \times 5$	60%	$\times 10 \times 5 \times < 5$ $\times < 5 \times < 5$	60%
五週齡	$\times 5 \times 5 \times 5$ $\times < 5 \times < 5$	0%	$\times 10 \times 10 \times 5$ $\times < 5 \times < 5$	80%
六週齡	$\times 5 \times < 5 \times < 5$ $\times < 5 \times < 5$	0%	$\times 40 \times 20 \times 10$ $\times 40 \times 20$	100%

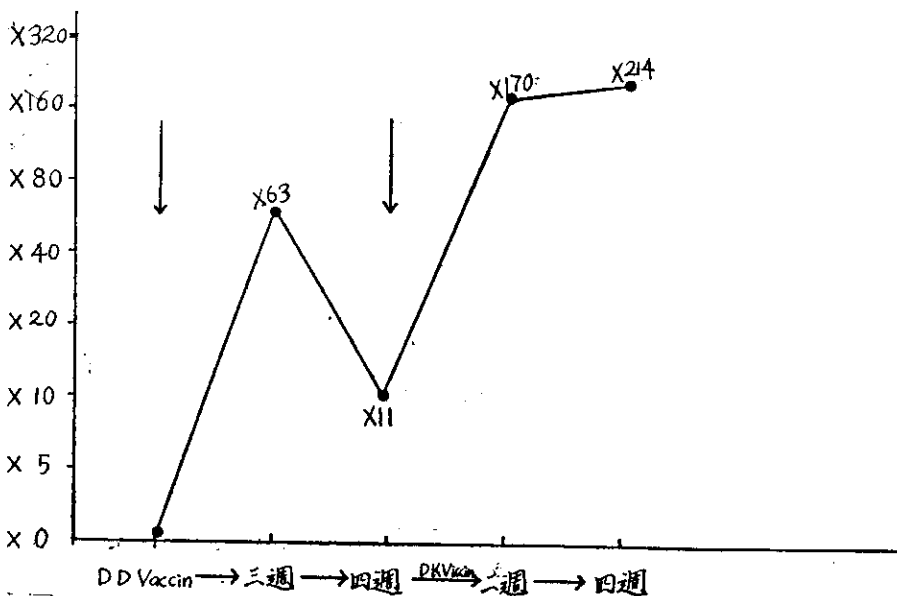
上表移行抗體與疫苗之通用時期，對疫苗之效果有重大影響，即小雞必須在移行抗體完全消失後實行疫苗接種，始可產生理想之抗體，以抵抗病毒之侵入。

3. 初生小雞移行抗體消失後先接種毒力較低之DD株疫苗，經一個月及二個月後再接種DK株疫苗，在4172隻試驗鷄羣中，獲如下成績：

小雞DD→DK疫苗接種後之H 1價消長情形移行抗體之消長情形

鷄別	日齡	隻數	DD株疫苗接種			DK株疫苗接種		
			日期	經四週H 1價		日期	經二週H 1價	
蛋雞	30	560	57. 6.26	$\times 10 \times < 5 \times 20$ $\times 5 \times 10 \times 20$	57. 9.13	$\times 80 \times 80 \times 80$ $\times 40 \times 80 \times 80$	$\times 320 \times 40 \times 80$ $\times 320 \times 160 \times 80$ $\times 80 \times 320$	
"	28	1575	57. 7.28	$\times 10 \times 20 \times < 5$ $\times < 5 \times 5 \times 10$	57. 9.22	$\times 160 \times 80 \times 160$ $\times 320 \times 320 \times 80$	$\times 320 \times 40 \times 40$ $\times 320 \times 320 \times 320$ $\times 160 \times 80$	
"	28	2037	"	$\times 40 \times 20 \times 5$ $\times < 5 \times 10 \times 10$	"	$\times 320 \times 160 \times 320$ $\times 320 \times 80 \times 160$	$\times 320 \times 160 \times 80$ $\times 320 \times 160 \times 320$ $\times 40 \times 320$	

疫苗接種與抗體之消長



DD株疫苗安全性高，適用於初生雛，惟接種後抗體之產生較低且在四週後降低甚速，故必須在一個月後即行DK疫苗之補行注射，始可確保相當抗體價。

4. DK株疫苗之飲用效果

初生鷄於孵化後7天，14天移行抗體降低後，行DK疫苗之飲用接種，連續二次，再經二週後，測定其H 1價，四週時以病毒攻擊，以測定其對病毒之防禦價。

DK疫苗飲用對小鷄之効力

鷄 別	隻 數	日 齡	疫苗接種日期		接種後之H 1價				病毒耐過率
			一 次	二 次	×20 ×5	×10 ×40	×10 ×20	×5 ×10	
陽 明 蛋 甲	5154	14天	11. 19	12. 17	×20 ×5	×10 ×40	×10 ×20	×5 ×10	70%
淡 水 肉 鷄	1752	"	12. 12	12. 28	×10 ×10	×20 ×5	×40 ×20	×5 ×20	70%
陽 明 蛋 乙	10163	7天	2. 8	2. 21	×5 ×10 ×20	×20 ×20	×5 ×10	×5 ×10	50%

疫苗之飲用接種，H 1價之產生並不高，對病毒之攻擊耐過率亦在50~70%之間，但因素甚多，值得檢討。

5. DK疫苗對小鷄之效果

小鷄於孵化後，俟移行抗體下降，直接施用 DK 疫苗之接種以觀察其反應及抗體產生之情形。

鷄 別	日 齡	隻 數	DK疫苗注射接種				接種後之反應情形				
			日 期	經四週之H 1價				食慾	精神	體溫	糞便
楊 梅 288	16日	3671	4.22	40	20	40	40				
"	25日	7179	5.10	80	20	40	40	+			+
陽 明 肉 鷄	20日	4863	6. 8	80	40	80	80				+
楊 梅 15	14日	3428	8. 1	20	20	40	20				
陽 明 288	24日	4950	8.22	40	40	80	80	+			+

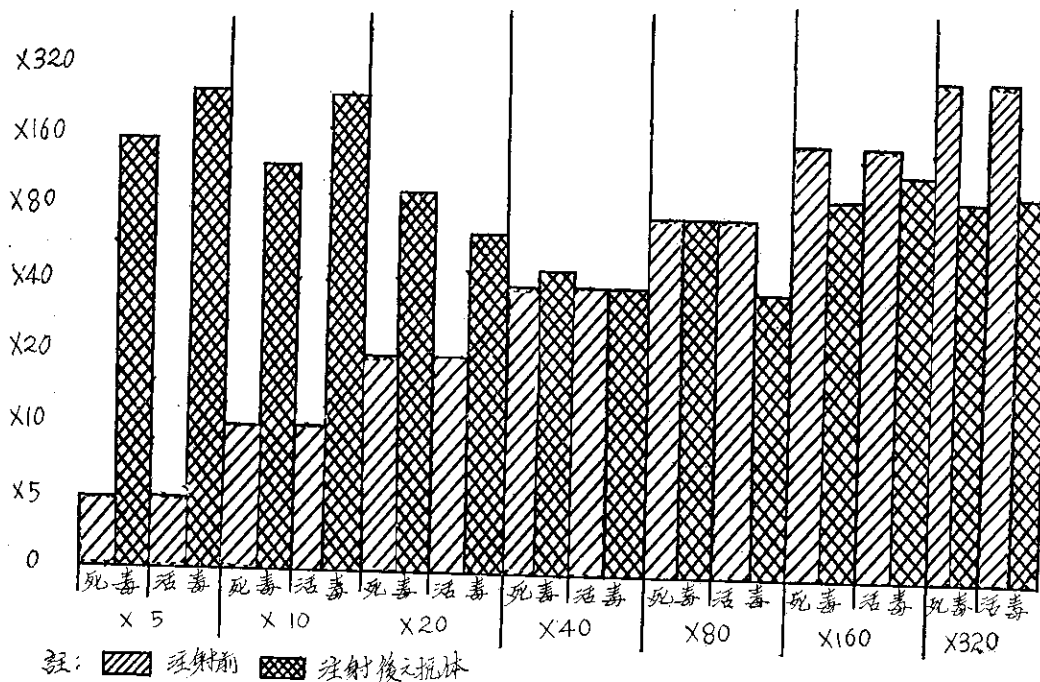
以上表之成績，可知小鷄雖可直接應用DK疫苗之注射接種，而獲得相當之抗體價，小部份鷄隻雖於接種後，有食慾減退及綠便之出現，但在短期內，即可恢復正常，並無死亡之情形。

小鷄之免疫，必須在疫苗接種前，檢查其移行抗體，俟其消失後，始行疫苗接種，才能產生抗體及免疫效果，初次可實用DD株疫苗始可達理想之防禦抗體價。

D. 疫苗再接種對H I抗體之影響

將保有H 1價之成鷄各組20隻實行死毒，DK株活毒疫苗之補行注射，接種後四週，檢查各鷄隻H I抗體之消長情形，如下表：

疫苗之再接種對H1抗體之關係



以上成績所見，無論死毒活毒疫苗，其H1價在40倍者均未能產生更高之抗體，在80倍以上則反而有下降之情形。故雞隻之疫苗接種前，必須檢查其原有抗體，方能徹底掌握接種之實際效果。

討 論

1. 本試驗乃偏重於自製之組織培養活毒DD株，DK株疫苗之野外實際應用成績，未能與市面出售之B₁, Latota株活毒疫苗作比較試驗。
2. 因試驗期間較長，試驗對象不一，疫苗製造使用水劑及乾燥等疫苗批數不同，疫苗本身之效力亦有高低之差別。
3. 疫苗之飲用接種，可由水質，飲用量，飲用時間，飲水消毒劑之應用等影響疫苗之力價及雞隻抗體之產生。此次就應用DK株作飲用試驗，例數不多今後需再進一步的加以試驗檢討。
4. 在新城雞瘟污染雞場及已發病雞羣之防疫，須另覓地區試驗，以符實際需要。
5. 此次試驗未能將本所鴨腎繼代毒DK原株之cloning Virus供作試驗比較，實以遺憾，今後將此DK原株之clone Virus作效力及安全試驗後供作參考。

結 論

1. 組織培養新城雞瘟DK株疫苗，經試驗結果，確證明適用於各雞齡雞隻之注射接種（尤對保有20×以下免疫抗體之中、成雞），且對產卵、孵化均無影響，自疫苗接種後二週，即可產生較高之抗體，（自13.4倍→247倍）且其抗體可保持六個月至九個月後始逐漸下降至22倍，然後再行DK疫苗接種，並在二週後，H1抗體價即可恢復至227倍。
2. DD株疫苗，毒力較弱，安全性較高，適合接種於初生雛，惟接種後抗體之產生較低，在疫苗接種後1個月，即行降低，必須適用DK株疫苗補行注射，始可保持理想之抗體價。
3. DK株疫苗之飲用接種，雖二次連續給與，但H1抗體之產生仍不理想，病毒之攻擊耐過率為50~70%之間。
4. 由母雞獲得之移行抗體，對疫苗之接種時期及抗體之產生有重大關係，小雞必俟移行抗體下

降後才接種疫苗，始可獲得免疫。

5. 雌雞之免疫雖可俟移行抗體下降後直接應用DK株疫苗注射接種而獲得理想之H 1價，但部分雞隻接種後，在4~7天內有綠便及食慾減退等輕度反應，故為安全計仍應在初次使用D D疫苗之注射接種或DK株疫苗之補行注射為佳。
6. 新城雞瘟之免疫，在疫苗接種前必須先檢查其原有抗體H 1價，在40倍以上者，似無補行接種之必要。

誌 謝

本試驗承蒙士林農牧場場主子琴先生之鼓勵及場地雞隻之提供使本試驗能順利完成至深銘感謹此申謝。

參 考 文 獻

1. 陳守仕等：輸入新城雞瘟活毒疫苗應用試驗，臺灣畜牧獸醫雜誌第三卷第二期。(1969)
2. 陳瑞堂等：新城雞瘟活毒疫苗 B₁ 株及 Lasota 株田間應用試驗報告，臺灣畜牧獸醫雜誌第二卷第三期。(1968)
3. 黃水源等：新城雞瘟活毒疫苗 Dr, Salslury's, B₁ 株田間應用，臺灣畜牧獸醫雜誌第二卷第三期。(1968)
4. 川島秀雄：新城活毒疫苗之應用，臺灣畜牧獸醫雜誌 No. 4, Vol 2, (1968)
5. 廖聰卿等：新城雞瘟活毒疫苗 Dr, Salslury's, B₁ 株田間應用試驗報告。(1969)
6. 廖聰卿等：新城雞瘟活毒疫苗 D. P. L, N-63st, B₁ st, Vipol 717 及 New Blen (B₁ Trpe) 田間應用試驗報告，臺灣畜牧獸醫雜誌第三卷第二期。(1969)
7. 高松泰人：新城雞瘟疫苗之免疫性及使用法，日本武田藥品工業株式會社「獸醫界」第85號，臺灣畜牧獸醫雜誌第二卷第三期，鄭森淵譯。(1969)
8. 楊喜金等：新城雞瘟鴨胚活化活毒疫苗之研究，臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 No. 3, P18—P27. (1966)
9. 葉明得等：組織培養新城雞瘟活毒疫苗製造試驗第一報，臺灣省家畜衛生試驗所研究報告，No. 3, P80—P86. (1966)

The Manufacture of Tissue-Culture Newcastle Disease Vaccine and
its Field Trials

By K. Y. Kao, M. T. Yeh, Y. S. Liu, and J. Y. Liu,

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

J. H. Lin and S. Y. Chung

(Shilin Poultry Breeding Farms)

The efficacies of both live and killed Newcastle disease vaccine have been discussed by many poultrymen and researchers for a long time. The Institute produced a Newcastle disease live vaccine in 1936, however, some disadvantages were encountered in the field because the poultrymen were lack of knowledges for the usage of the vaccine, the proper time of vaccination, and the environment of poultry farms. Therefore, tissue-culture Newcastle vaccine was produced again by DD and DK culture from original strain. The DK strain was purified from the original strain by the method of cellplapue cloning technique.

The effect of vaccination with tissue-culture Newcastle disease vaccine on chickens was evaluated in 50,000 chickens of different ages. The results were summarized as follows :

1. The tissue-culture DK strain of Newcastle disease vaccine administered parenterally was good for all ages of chickens, especially, the HI titer were under $\times 20$ in growing and adult chickens. No adverse effect on egg production and hatchility was noted. The HI titer value increased from 13.4 to 247 in 2 weeks after vaccination. It could maintain this values for 6 9 months, then decreased to $\times 22$ gradually. When propre re-vaccination was carried out at this time, it could restore the HI titer up to $\times 227$ within 2 weeks after inoculation.

2. Newcastle disease vaccine preduced from DD strain had low virulence and safety although it produced low HI titer and the HI titer would start to decrease at one month after vaccination, it still good for baby chicks. In this cases, the chicks must be re-vaccinated using DK strain vaccine to restore proper HI titer.

3. Two successive doses of DK strain vaccine in drinking water were given, but could not obtain desirable HI titers. The survived rates were between 50 and 70% following challenge.

4. The chicks must be vaccinated when the acquired maternal antibody has disappeared to zero, because some indicated that the production of antibody by vaccination would be disturbed by natural antibody.

5. Although the baby chicks could be vaccinated using DK strain vaccine when the acquired antibody decreased to nothing to obtain desirable immunity, small

parts of chicks showed undesirable reactions such as loss of appetite and greenish diarrhea within 4-7 days after vaccination. Therefore, the first vaccination should be performed by using DD strain vaccine and/or DK strain vaccine in drinking water for two successive doses, then, used DK straine vaccine as booster shot.

6. It is advisadle that the HI titer must be titrated before vaccination. If the HI titer value is over X40, it is not necessary to vaccinate the chickens against this disease.