

氫氧化鋁膠新城雞瘟疫苗注射後 抗體消長之研究

詹益波 呂清泉 林進發 黃榮坤

臺灣省家畜衛生試驗所

一、緒 言

有關新城雞瘟之HI抗體與中和抗體曾有海內外許多學者進行研究。Hanson 等¹⁾(1950)報告免疫新城雞瘟之牛血清裏，經抽出所得之丙球蛋白含有高價之中和作用，但缺少HI作用，因而結論認為HI作用與中和作用可能為不同抗體之機能，不悉HI機能或中和機能何者相當於雞體內之中和反應或抗病狀態。Schmittle²⁾(1952)將感染過新城雞瘟之雞血清以冷乙炔醇分餾後得到純粹之丙球蛋白，該丙球蛋白經證明富有HI作用與中和作用，並云HI作用與中和作用在生化學上性質不相同，或許各代表着不同之抗體。

中村等³⁾(1956)將新城雞瘟不活化疫苗之有效成分以氫氧化鋁膠(Aluminum hydroxide gel)吸着製成肌肉注射用疫苗。林再春⁴⁾(1958)赴日研修回國依中村氏法仿製成功，經實驗結果疫苗免疫效力確實，無不良反應對產蛋率亦無影響，但有雛齡雞免疫產生較遲之缺點。

惟前二三年氫氧化鋁膠新城雞瘟疫苗在實際應用上，屢見效力不確實情事，究竟其原因何在？製造用種雞蛋，製造過程，檢定用雞隻，疫苗保存，實地應用細節等等諸問題，均亟待有關各方面研討改進。筆者等鑒於本所新城雞瘟試驗用雞及檢定用雞向來均由淡水附近收購，收購雞隻中屢有曾經氫氧化鋁膠新城雞瘟疫苗注射者，為確實鑑別疫苗注射雞與未經疫苗注射雞，以期疫苗檢定工作及試驗研究工作之準確，乃應用紅血球凝集阻止反應(HI test)與中和試驗(Neutralization test)檢查，是否可以將兩者予以鑑別。試驗結果曾獲得HI抗體消失較快，而中和抗體則持續較久之成績，故經疫苗注射後HI抗體已消失雞，不能以HI test檢出者，仍可實施中和試驗予以摘出。

茲將所得成績分述如下，敬請各位先進賜予指正。

二、試驗材料

1. 雞隻：由淡水附近收購之四個月齡以上雞隻。
2. 雞蛋：由本所繁殖室自產供應。
3. HI test及中和試驗用新城雞瘟毒：由日本農林省動物醫藥品檢查所分讓之雞胚胎通過毒佐藤株。
4. 攻擊用新城雞瘟病毒：為本所新城雞瘟疫苗檢定用攻擊毒佐藤株。
5. 氫氧化鋁膠新城雞瘟疫苗：經本所檢定合格之公私營製造廠所製品。

三、試驗方法及其結果

1. 紅血球凝集阻止反應所使用抗元單位與紅血球濃度之檢討

過去在本所HI test所使用之抗元單位為20 units⁵⁾，但在日本所施行者為4 units⁶⁾，為檢討兩法之優劣，實施比較試驗結果如表1所示相差一支試管(稀釋倍數為相差一倍)日本法之4 units較敏感。

紅血球濃度在日本所使用者為0.5%，本所為0.3%或0.25%。做比較試驗結果日本法之0.5%在判定成績時雖較明顯，但有血球凝集解離較速之缺點。0.25%者其凝集解離雖較遲，但在判定成績時稍嫌不明

(本文要旨曾於民國五十二年臺灣省畜牧獸醫學會年會上宣讀。)

顯，而0.3%紅血球液則兼具前兩者之優點。故本試驗嗣後之 HI test均採用抗元 4 units，與紅血球液 0.3%。

表 1 HI test 使用抗元 4 單位與 20 單位之比較

雞 號	試管 稀釋數 抗元	血清	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		對照	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1,280	1:2,560	1:5,120	1:10,240	
441	4 單位	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	20 "	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
442	4 "	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	20 "	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
443	4 "	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	20 "	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
444	4 "	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	20 "	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
447	4 "	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20 "	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
452	4 "	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20 "	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
353	4 "	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20 "	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
456	4 "	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20 "	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
陽性對照	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	20 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
陰性對照	4 "	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20 "	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註：Antigen control 4u 2u 1u ½u ¼u ⅛u
 + + + + - -

2. 氫氧化鋁膠新城雞瘟疫苗注射後之 HI 抗體消長試驗

將氫氧化鋁膠死毒新城雞瘟疫苗注射於四月齡雜種雞後逐週採血檢查其 HI 抗體之消長情形結果，其 HI 抗體大約於第二週開始出現，並於第三週及第四週達到頂點，至第六週已有下降趨勢，至第十週其抗體大部份均已消失，至第十二週絕大多數之抗體均消失殆盡而恢復未注射疫苗前之狀態，與未經疫苗注射者無法區別。（詳見圖 1 A、B）

圖1A 氫氧化鋁疫苗注射後 HI 抗體之消長情形

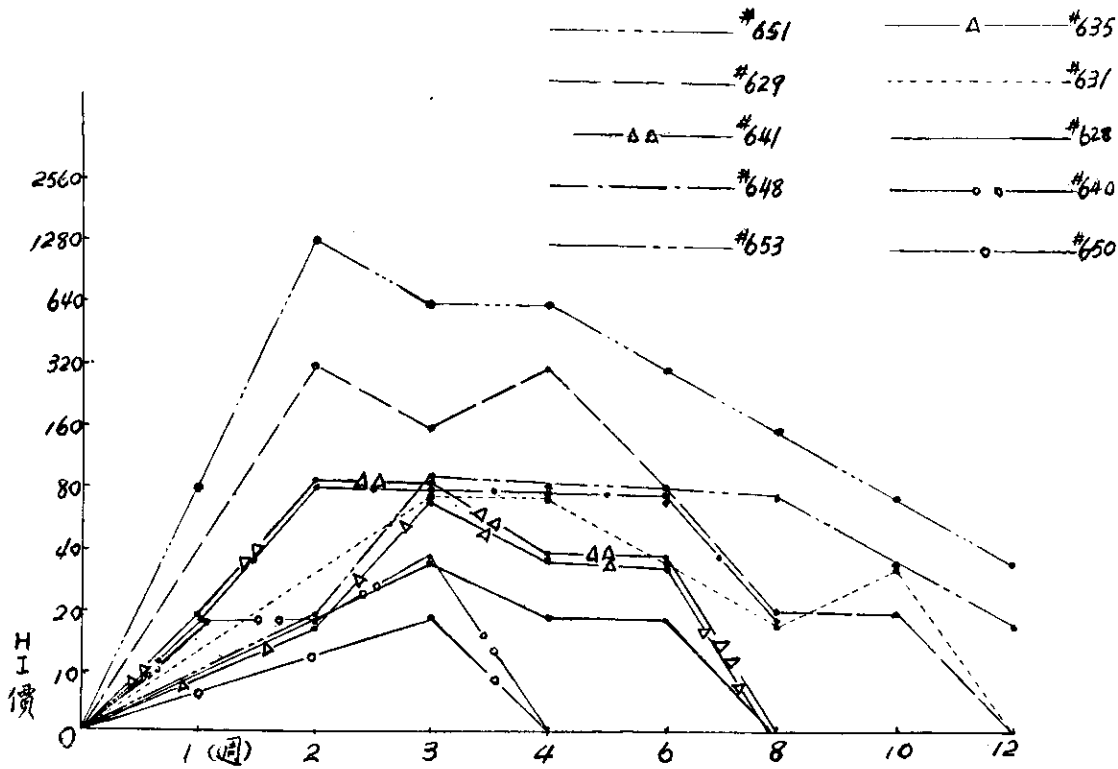
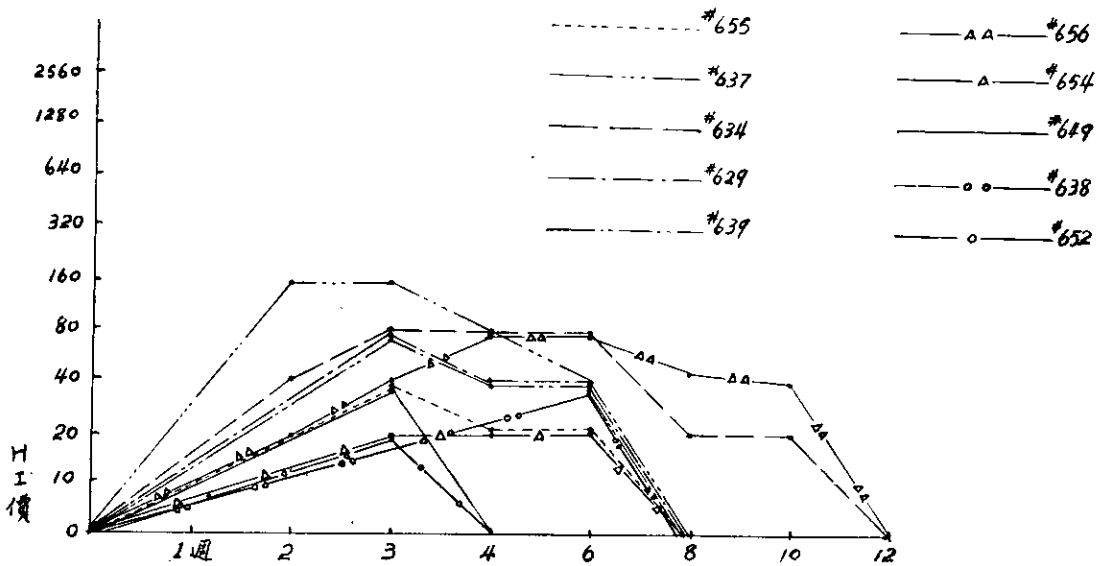


圖1B (續圖1A)



3.新城雞瘟疫苗注射雞 HI 抗體消失後之免疫效力試驗

為明瞭上項 HI 抗體消失雞之免疫效力，乃於疫苗注射後第十六週，以新城雞瘟強毒接種攻擊，其結果列如表 2，可知其免疫效力尚佳。供試雞 24 隻中新城病死 6 隻，其效力尚保持 75%，斃死 6 隻中 HI 抗體

完全未出現者佔 2 隻，最高 HI titer 僅達 1:20 者 3 隻，1:40 者 1 隻，故免疫力價與曾經出現之最高 HI titer 似成正比。

表 2 HI 抗體消失鷄之免疫效力

鷄 號	月 齡	新 城 鷄 瘟 疫 苗		最 高 攻 擊 佐 藤 毒			結 果
		注 射 量	年 月 日	Hi titer	攻 擊 量	年 月 日	
651	4 個 月	1 ml	52. 6. 10.	1: 1280	10 ⁻³ 1ml	52. 9. 30.	○
629	"	"	"	1: 320	"	"	○
637	"	"	"	1: 160	"	"	⊙
631	"	"	"	1: 80	"	"	⊙
634	"	"	"	1: 80	"	"	○
635	"	"	"	1: 80	"	"	○
639	"	"	"	1: 80	"	"	○
641	"	"	"	1: 80	"	"	○
653	"	"	"	1: 80	"	"	○
624	"	"	"	1: 80	"	"	⊙
656	"	"	"	1: 80	"	"	⊙
648	"	"	"	1: 80	"	"	⊗ ₁₄
638	"	"	"	1: 40	"	"	○
640	"	"	"	1: 40	"	"	○
649	"	"	"	1: 40	"	"	○
655	"	"	"	1: 40	"	"	⊙
654	"	"	"	1: 20	"	"	○
628	"	"	"	1: 40	"	"	● ₆
650	"	"	"	1: 20	"	"	● ₈
644	"	"	"	1: 20	"	"	● ₉
645	"	"	"	1: 20	"	"	● ₁₄
632	"	"	"	0	"	"	● ₉
657	"	"	"	0	"	"	● ₈
744	"	"	Control	0	"	"	● ₅
627	"	"	"	0	"	"	● ₅

註：○ 健存

● 新城病死右下方數字為攻擊後斃死日數

⊙ 中度反應後健存

⊙ 輕度反應後健存

⊗ 他病死

4. 氫氧化鋁膠新城鷄瘟疫苗注射鷄之中和抗體試驗

根據上述第二項 HI 抗體消長試驗結果，至第 12 週以後其 HI 抗體即大部份消失，如僅以 HI test 無法與未經疫苗注射鷄鑑別。為探求鑑別疫苗注射鷄與未經疫苗注射鷄，乃以鷄胚胎實施中和試驗。其實施方法如下：將供試血清各 0.2ml 分裝於 3 支試管，放入等量已知毒力之新城毒稀釋液予以混合，置 37°C 感作 2 小時，將其混合液之 0.1ml 分別接種於 3 個以上 10 日齡之孵化鷄胚胎，每隔 12 小時檢卵一次，選取接種後 24~96 小時斃死之鷄胚胎，採取尿液實施 HA test，以確定是否新城毒致死，並以 Behrens-kär

ber⁷⁾ 法求出其中和抗體價。

其結果如表 3 所示：未經疫苗注射雞之中和抗體價為 $-\log 0$ 或小於 $-\log 0.3$ ，注射疫苗雞在第二週時雖然有一部份其中和抗體尚未產生而不能與未經疫苗注射雞區別，但在第四週以後無論未產生 HI 抗體雞或 HI 抗體消失雞，其中和抗體價均高達 $-\log 1.5$ 以上，顯然與未經疫苗注射雞可以鑑別。此外經疫苗注射雞而仍有 HI 抗體者，其中和抗體價亦顯然較 HI 抗體消失雞為高。

表 3 疫苗注射雞與未經疫苗注射雞之 HI 抗體與中和抗體價比較

未經疫苗注射雞			注射氫氧化鋁膠疫苗雞							
			HI 抗體未產生或消失雞				有 HI 抗體雞			
雞號	HI	NT	週數	雞號	HI	NT	週數	雞號	HI	NT
791	0	<0.3		660	0	>1.7	2	653	20	>1.7
881	0	<0.3		628	0	1.0		753	640	>4.8
886	0	<0.3		671	0	0.7		740	80	>4.8
888	0	<0.1	2	586	0	0.3	4	855	160	3.4
924	0	0.1		670	0	0.3		944	160	3.4
905	0	0.1		590	0	0		753	320	>4.8
796	0	0		596	0	0		858	80	>4.4
797	0	0		632	0	>2.1	6	954	80	2.4
792	0	0	4	633	0	>2.8		960	40	2.1
794	0	0		640	0	>2.0		753	320	>4.8
902	0	0		650	0	2.8	12	999	80	3.8
907	0	0		857	0	2.1		854	160	3.1
916	0	0	6	271	0	1.5		856	20	1.2
885	0	0		272	0	1.5	14	853	80	>0.8
913	0	0		628	0	2.4				
940	0	0		637	0	2.6				
955	0	0	8	654	0	2.6				
1026	0	0		645	0	2.8				
1041	0	0		639	0	1.4				
1063	0	0		657	0	1.8				
1068	0	0	10	640	0	2.6				
1069	0	0		635	0	2.8				
1070	0	0		961	0	2.6				
1079	0	0		857	0	2.4				
1085	0	0	12	954	0	4.4				
1087	0	0		960	0	2.8				
1089	0	0	14	941	0	2.2				
1090	0	0		967	0	0.8				

註：HI：HI 抗體價

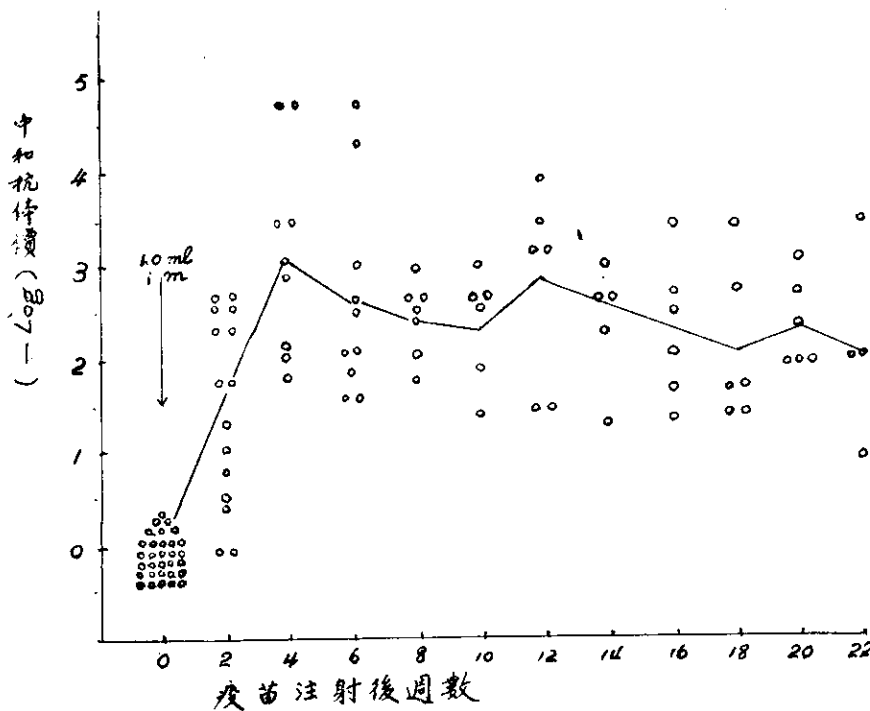
NT：中和抗體價 ($-\log$)

週數：疫苗注射後週數

另將不同雞隻於疫苗注射後不同週分別採血後，檢查其中和抗體之消長情形結果，如圖 2 所示；圖中曲線表示中和抗體價之平均數值。由圖中曲線顯示疫苗注射後兩週中和抗體即開始上昇，4 週後平均中和

抗體價高達 $-\log 3.0$ ，以後一直到22週其各週之平均抗體價均徘徊在 $-\log 2.7$ 與 $-\log 1.95$ 之間。22週以後因工作崗位調動未能繼續檢查其中和抗體之消失情形，深以為憾。

圖 2 疫苗注射前與注射後各週之中和抗體價分布情形



四、討 論

在氫氧化鋁膠新城雞瘟疫苗注射後之 HI 抗體消長試驗中發現24隻中有2隻（佔8.3%），其 HI 抗體始終未出現，此種雞如經本所購入後，僅以 HI test 檢查是否經疫苗注射即不能予以檢出，所幸此種雞已可經由中和試驗予以檢出。經新城雞瘟疫苗注射而 HI 抗體一度出現後再消失雞，亦可經由中和試驗予以檢出。故筆者等認為試驗用及檢定用雞向外面購入者，在使用前應併行 HI test 及中和試驗，先行 HI test 將陽性雞摘出後，HI 抗體陰性雞全部再做中和試驗。惟中和試驗以雞胚胎實施費用較高，費時較久為其缺點，如能改用雞腎組織培養實施，則費用既廉，敏感度亦較高。

Eugene 等²⁾ (1959) 曾報告雞接種新城雞瘟活毒疫苗後，在第二週與第三週間丙球蛋白含量有顯著之增加，接種疫苗後二個月內以強毒攻擊，丙球蛋白含量會減低，惟經過二週以上者，雖以強毒連續攻擊，丙球蛋白含量似無顯著之變化，HI 抗體則因強毒之多次攻擊而更形增加，與丙球蛋白含量似不平行。在筆者等之試驗中則獲得 HI 抗體產生較快，消失亦較快；但中和抗體則產生稍遲但維持較久之成績。

HI 抗體消失後之免疫效力試驗結果，整死6隻中 HI 抗體完全未出現者佔2隻，最高 HI titer 僅達1:20者3隻，HI titer 1:40者佔1隻，故其免疫效力與曾經出現之最高 HI titer 似成正比。但如以接種攻擊當時之 HI titer 而論（HI 抗體全部消失呈陰性）其與免疫效力似又較少關連。此項 HI titer 與免疫效力之關係有待今後進一步之研究。

五、結 論

1. 對於新城雞瘟 HI test 所使用抗元單位與紅血球濃度實施比較檢討結果，筆者等認為抗元4單位

與紅血球 0.3% 最適宜。

2.4 月齡鷄隻經氫氧化鋁膠新城鷄疫苗注射後逐週或隔週採血檢查其 HI 抗體之消長情形結果，其 HI 抗體大約於第 2 週開始出現，並於第 3 週及第 4 週達到最高峰，第 6 週已有下降之趨勢，至第 10 週大部均已下降。至第 12 週絕大多數已消失殆盡，如僅以 HI test 檢查不能與未經疫苗注射者分別。

3. 上述 HI 抗體消失鷄於疫苗注射後第 16 週，以強毒接種攻擊結果，除 HI 抗體完全未出現之二隻及 HI 抗體價較低之四隻斃死外，其餘均耐過，耐過健存率為 75%，故免疫力價似與曾經出現之最高 HI titer 成正比。

4. 為鑑別 HI 抗體消失鷄與未經疫苗注射鷄以鷄胚胎實施中和試驗結果，未經疫苗注射鷄之中和抗體價為 0 或小於 $-\log 0.3$ ，但注射疫苗後 HI 抗體消失鷄其中和抗體價均高達 $-\log 1.5$ 以上，顯然與未經疫苗注射鷄可以鑑別。

5. 中和抗體檢查結果其持期間顯然較 HI 抗體為長，故疫苗注射後 HI 抗體完全未出現鷄或 HI 抗體一度出現後再消失鷄均可應用中和試驗予以摘出。

本試驗所需經費承蒙農復會補助表示衷心之謝忱，並蒙本所前所長及農復會劉永和先生之指導，日本農林省家畜衛生試驗場病毒製劑室長椿原彥吉博士提示研究方針至深銘謝，又獲得生檢室彭衍初、黃榮燦兩先生之協助謹此一併致謝。

六、參考文獻

1. Hanson, R.P. et al (1950) : The antiviral Activity of Newcastle Disease Immune Sera. Jour. Bact. 60 : 557
2. Schmittle, S.C. (1952) : Studies on Newcastle Disease. XI. Newcastle disease Antibodies in the Serum Globulin Fraction of the Chicken. Pro. Bock. A.V.M.A.
3. 中村稔治、宮本猛、長島治男 (1956) : 水酸化アルミニウム添加ニューカッスル病ワクチンの研究。日本生物科學研究所報告第一卷。
4. 林再春 (1958) : 肌肉用新城鷄痘疫苗製造之研究，臺灣省政府農林廳獸疫血清製造所研究報告 No. 2。
5. 葉明得 (1954) : 紅血球凝集阻止反應，獸醫臨床實驗檢查技術。
6. 川島秀雄 (1953) ニューカッスル病。家畜傳染病診斷學各論。
7. 傳染病學會會編 (1958) ED₅₀ 計算法，細菌學實習提要，全改訂版。
8. Eugene, Chen, et al (1959) : Gamma Globulin Studies on Avian Newcastle Disease Immune Serum with Special Reference to HI titer. Jour Taiwan Ass. Hus. Vet. Med No. 3
9. 宮本猛 (1963) : Newcastle 病不活化ワクチンのブースター効果。動物と微生物，越智勇一博士還曆紀念出版，南江堂
10. 楊喜金等 (1964) : 新城鷄痘鴨胚化活毒疫苗之研究(1)本所弱毒株之型別鑑定及水劑疫苗對鷄隻之免疫效力。臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 No. 2。
11. 宮本猛 (1963) : ニューカッスル病ワクチン注射法について (特に免疫母鷄の雛におけるワクチン効果の抑制作用を中心として) 日生研だより第 9 卷第 8 號。
12. 林再春等 (1964) : 母鷄 HI 抗體對於新城鷄痘毒在鷄胚胎繁殖之影響。臺灣省畜牧獸醫學會 53 年度年會論文摘要。
13. 椿原彥吉、菅原二郎 (1955) : 血球凝集反應及抑制反應。家畜傳染病診斷學總論。
14. 椿原彥吉 (1955) : 中和試驗，家畜傳染病診斷學總論。
15. 黃榮坤等 (1960) : 關於新城鷄痘疫苗注射前後及病毒攻擊後的抗體價消長試驗。臺灣省畜牧獸醫學會五十一年年會論文摘要。

Studies on duration of Antibody transfer
after vaccination with Aluminum hydroxide
absorbed Newcastle Disease Vaccine.

by

Y.P. Chan, C.C. Lue, C.F. Lin, Y.K. Huang
Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.
Tan sui, Taipei, Taiwan. Republic of China.

ENGLISH SUMMARY

1. Serum samples were collected for HI test after inoculation with aluminum hydroxide absorbed inactivated Newcastle vaccine. The HI titer was beginning to rise at 2nd week, reaching to the utmost at 3rd or 4th week, and gradual disappearance at 6th week after vaccination. The HI titer almost lost and did not differ from no vaccination at 12th week after vaccination.
2. Above chickens that HI titer had lost were challenged with virulent virus at 16th week after vaccination. As result except that two chickens of no HI titer and four chickens of less HI titer were died, the others could stand against virus challenge and 75% protection were found. Its immunity values seemed to be parallel with appearing HI titer to the utmost.
3. In order to understand the differ disappearing HI titer chickens after Vaccination from no vaccinated chickens. Neutralization test was prepared by chicken embryo, as result the neutralizing value of no vaccinated chicken was zero or less than $-\log 0.3$, but the neutralizing value of disappearing HI titer chickens was more than $-\log 1.5$.
4. The maintainable period of neutralizing values was apparently longer than HI titer.