

豬瘟免疫適期的探討

黃天祥* 鍾明華 鄧明中 王 羣 林有良 陳靜美 黃金城

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

臺北縣淡水鎮中正路 376 號

摘要 檢測金門縣、台中縣和雲林縣等十一家養豬場之母豬和其小豬豬瘟疫苗免疫前後之豬瘟中和抗體力價結果，母豬之豬瘟免疫方式有三種，每種之豬瘟中和抗體幾何平均力價，每年免疫一次的四場為 605 倍，每半年免疫一次的四場為 350 倍，而基礎免疫三場中的二場為 260 倍。基礎免疫的另一豬場因曾是豬瘟污染場母豬抗體幾何平均力價為 1,399 倍，居十一場中之冠。小豬之豬瘟免疫方式則頗為多樣化，包括有哺乳前免疫、三週齡、五週齡、三和六週齡、五和八週齡免疫者各一場，以及六和九週齡、六和十二週齡、八和十二週齡免疫者各二場等八種免疫方式，惟每場小豬之豬瘟中和抗體幾何平均力價因移行抗體關係經一次或二次免疫後都有先降後升或呈持續上升兩種現象，顯示豬瘟疫苗的有效性。

關鍵詞：豬瘟 (*Hog cholera*) 免疫適期 (*The appropriate vaccination time*)

緒 言

豬瘟 (*Hog cholera*) 是由豬瘟病毒 (黃病毒科 *Flaviviridae*，瘟病毒屬 *Pestivirus*) 所引起豬隻的一種高度傳染性疾病，以全身性出血為主徵，死亡率高達 95-100%。病程，一般呈急性，但可轉為慢性或不顯性感染，增加防疫和診斷上的困擾 [13,20]。

豬瘟係台灣豬隻重要法定傳染病之一，多年來影響養豬事業至鉅。由林博士再春等開發之免化豬瘟疫苗，雖安全性高且免疫效力良好 [4]，但四十餘年仍無法完全防止豬瘟的散發。此因受到人為因素、疫苗存放、免疫計畫不正確和移行抗體干擾、田間帶毒豬的存在以及對豬瘟病例未做適時處理等諸多因素的影響而使疫苗未能充分發揮其免疫效果。台灣小豬之

豬瘟免疫適期，在 1979 年前採取六、九週齡兩次免疫注射 [3]，但在 1979 年後賴等認為可能因豬假性狂犬病病毒 (*Pseudorabies virus*) 的普遍感染致使移行抗體的普遍降低，同時因養豬技術的提升而使仔豬離乳時間提前至四週齡，故而將小豬免疫計畫往前挪為三、六週齡免疫注射兩次 [14,15,16]，而在 1980 年後為避免移行抗體干擾疫苗的免疫作用，後續推出哺乳前的免疫方式且一時間認為對於豬瘟污染場的效果良好 [17]。至 1999 年後農政單位將豬瘟免疫計畫酌予調整為，種母豬完成基礎免疫後，每年一次於空胎時免疫者，其所生仔豬分別約於第六週齡及第九週齡時各免疫一次；種母豬完成基礎免疫後，於配種前免疫一次，以後不再免疫者，其所生仔豬分別約於第三週齡及第六週齡時各免疫一次。唯田間應用上更為多樣化，致仍無法防止豬瘟的零星發生。

* 抽印本索取作者

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

近年來，台灣豬隻疾病有增無減，諸如豬生殖與呼吸綜合症 (Porcine reproductive and respiratory syndrome)、口蹄疫 (Foot-and-mouth disease)、鐵士古病 (Porcine teschovirus infection)、豬腸病毒性疾病 (Porcine enterovirus infection)、豬環狀病毒性疾病 (Porcine circovirus disease)、赤羽病 (Akabane) 和鷺山病毒 (Sagiya virus) 等先後侵襲台灣豬隻〔1,2,5,6,7,9,19〕。而 2001 年本所確診豬瘟病例突然增高至二十二件，是否與這些新浮現病毒性疾病影響現行豬瘟免疫計畫有關，頗值深思。因此，本試驗目的即在重新探討現行豬瘟免疫計畫對豬隻之免疫保護作用，以供防疫上的參考。

材料與方法

1. PK15 株化細胞：係由美國分讓而得，無一型豬環狀病毒污染之豬腎株化細胞，供試驗豬隻試材之豬瘟病毒分離及血清中和抗體以及豬二型環狀病毒之增殖和血清抗體測試用。
2. Marc-145 株化細胞：係由美國分讓而得。本株化細胞係來自非洲綠猴(African green monkey)腎臟株化細胞 MA104。供豬生殖與呼吸綜合症病毒增殖和血清間接螢光標示抗體染色試驗抗原盤的製備用。
3. STY 株化細胞：係由日本分讓而得之豬單丸株化細胞，供豬鐵士古和豬腸病毒之增殖和血清中和抗體測試用。
4. Vero 株化細胞：係向美國申購而得之，供豬赤羽病毒增殖和血清中和抗體測試用。
5. 免化豬瘟疫苗或免化豬瘟組織疫苗 (LPCV)：係經國家檢定合格供田間豬瘟免疫用之國產豬瘟疫苗。
6. 免化豬瘟疫苗毒 LPCV-PK15-7：係將免化豬瘟疫苗病毒於 PK15 株化細胞繼代培養七代，經冷凍和解凍及離心去細胞雜質後小量分裝置 -70°C 冰櫃，供豬瘟中和抗體免疫螢光染色法用。
7. 豬瘟 ALD 強毒：係行政院農業委員會家畜衛生試驗所檢定分所之豬瘟疫苗檢定攻擊用強毒血液，供試驗豬接種攻擊用。攻擊時，以細胞培養液稀釋後每頭攻擊試驗豬肌肉接種 2 mL， 10^4 MLD 病毒液。
8. PRRSV-WS-Marc 62：係筆者等在 1992 年底時由萬興豬場分離之豬生殖與呼吸綜合症病毒株，並經 Marc-145 株化細胞增殖和馴化至 62 代。病毒力價為 $10^{5.8}$ TCID₅₀/mL。供豬生殖與呼吸綜合症間接螢光抗體測試用。
9. AKA-NT-STY2-Vero1：係筆者等於 2000 年由南投縣某一豬場送檢病例分離出之豬赤羽病毒，經 STY 細胞增值二代和 Vero 細胞一代後病毒力價為 $10^{8.4}$ TCID₅₀/mL，供豬赤羽病病毒中和抗體測定用。
10. PEV8-ML-STY4：係筆者等於 2000 年由苗栗縣某一豬場送檢病例分離出之第八型豬腸病毒，經 STY 株化細胞繼代四代後病毒力價為 $10^{7.59}$ TCID₅₀/mL，供豬血清腸病毒中和抗體試驗用。
11. PTV-PT-STY4：係筆者等於 2000 年由屏東縣某一豬場送檢病例分離出之豬鐵士古病毒，經 STY 株化細胞繼代四代後病毒力價為 $10^{6.3}$ TCID₅₀/1 mL，供豬血清鐵士古病毒中和抗體試驗用。
12. PCV2-LSH-PK15-3：係筆者等由本所病理室送檢豬隻病材分離而得之二型豬環狀病毒，經 PK-15 株化細胞繼代三代後病毒力價為 $10^{5.8}$ TCID₅₀/mL，供豬血清二型環狀病毒間接螢光抗體試驗用。
13. 豬瘟中和抗體免疫螢光染色法 (Fluorescent antibody virus neutralization test)：將欲測血清經 56°C 30 分鐘處理後，於 96 孔細胞培養盤第一行每孔加入 50μL 血清，每一欲測血清 2 孔，每盤檢測 6 個血清樣品。將細胞培養液加入 96 孔細胞培養盤中，每孔 50μL。以 12 爪微量吸管將血清作連續 2 倍稀釋。每孔加入 50μL 含 200 TCID₅₀ 之 LPCV-PK15-7 免化豬瘟疫苗病毒液。置於震盪器上震盪 1 分鐘，充分混合後放入 37°C 5% CO₂ 恆溫箱內感作 1 小時 30 分。每孔加入 100μL 之 PK15 株化細胞液 (細胞濃度為 2×10^5 /mL) 後放回 37°C 5% CO₂ 恆溫箱內，培養三天。同時將已知中和抗體力價之豬瘟陽性和陰性血清做同樣處理，以供對照用。三天後，取出培養盤，甩棄培養液後風乾。每孔加入 100μL 之 10% 中性福馬林液固定 10 分鐘。甩棄福馬林固定液，並以 0.01 M PBS 溶液清洗三次。每孔加入 50μL 經適當稀釋之豬瘟單株抗體溶液，37°C 作用 45 分鐘。甩棄豬瘟單株抗體溶液，並以 0.01 M PBS 溶液清洗三次。每孔加入 50μL 經適當稀釋之山羊抗鼠 IgG 螢光標示抗體溶液，37°C 作用 45 分鐘。甩棄山羊抗鼠 IgG 螢光標示抗體溶液，並以 0.01 M PBS 溶液清洗三次後於螢光顯微鏡下判讀豬瘟一半中和抗體力價〔18〕。

14. 豬赤羽病血清中和試驗：將欲測血清經 56°C 30 分鐘處理後，於 96 孔細胞培養盤第一行每孔加入 50 μ L 血清，每一欲測血清 2 孔，每盤檢測 6 個血清樣品。將細胞培養液加入 96 孔細胞培養盤中，每孔 50 μ L。以 12 爪微量吸管將血清作連續 2 倍稀釋。每孔加入 50 μ L 含 100 TCID₅₀ 之 Aka-NT-STY2-Vero1 豬赤羽病毒液。置於震盪器上震盪 1 分鐘，充分混合後放入 37°C 5% CO₂ 恆溫箱內感作 1 小時。每孔加入 100 μ L 之 Vero 株化細胞液（細胞濃度為 2 X 10⁵/mL）後放回 37°C 5% CO₂ 恆溫箱內培養，以能阻止細胞病變形成之最高血清稀釋倍數為抗體力價。

15. 豬鐵士古和腸病毒血清中和試驗：將欲測血清經 56°C 30 分鐘處理後，於 96 孔細胞培養盤第一行每孔加入 50 μ L 血清，每一欲測血清 2 孔，每盤檢測 6 個血清樣品。將細胞培養液加入 96 孔細胞培養盤中，每孔 50 μ L。以 12 爪微量吸管將血清作連續 2 倍稀釋。每孔加入 50 μ L 含 100 TCID₅₀ 之 PTV-PT—STY4 豬鐵士古病毒液或 PEV8-ML-STY4 豬腸病毒液。置於震盪器上震盪 1 分鐘，充分混合後放入 37°C 5% CO₂ 恆溫箱內感作 1 小時。每孔加入 100 μ L 之 STY 株化細胞液（細胞濃度為 2X10⁵/mL）後放回 37°C 5% CO₂ 恆溫箱內培養，以能阻止細胞病變形成之最高血清稀釋倍數為抗體力價。

16. 豬生殖與呼吸綜合症間接螢光標示抗體染色試驗：

(1) 病毒抗原盤的製備：Marc-145 株化細胞，於 96 孔塑膠細胞培養盤長滿後，將細胞生長液倒去，並於每孔加入 0.1 mL 經適當稀釋之豬生殖與呼吸綜合症病毒液。於 37°C，5% CO₂ 恆溫箱培養二天。倒去培養液，並以 0.01 M PBS，pH 7.2 沖洗一次，風乾並以膠帶密封，置 -70°C 冰櫃存放備用。

(2) 血清的稀釋：將已知陽性和陰性對照血清，以及受檢血清先於 96 孔塑膠細胞培養盤利用 0.01 M PBS，pH 7.2 從 20 倍起作 2 倍連續稀釋。

(3) 操作步驟：將 1、項間接螢光抗體染色試驗用抗原盤，由 -70°C 冰櫃取出並置 37°C。待回溫後撕去膠帶並於每孔加入 0.1 mL 美製福馬林，於室溫固定 10 分鐘。倒去福馬林固定液，並以 0.01 M PBS，pH 7.2 溶液清洗三次，最後一次使其浸泡 10 分鐘。倒去 PBS 溶液，將稀

釋好血清移入抗原盤每孔 0.1 mL。放置在潮濕之 37°C 恆溫箱內感作 30 分鐘。倒去血清稀釋液，並以 0.01 M PBS，pH 7.2 溶液清洗三次，最後一次使其浸泡 10 分鐘。倒去 PBS 溶液，每孔分別加入經適當稀釋之山羊抗豬免疫球蛋白螢光標示抗體 0.1 mL。放置潮濕 37°C 恆溫箱內感作 30 分鐘。倒去螢光標示抗體液，以 PBS 沖洗三次，最後一次使其浸泡 10 分鐘。倒去 PBS 溶液，於每孔分別加入 0.1 mL 50% 甘油 / 50% PBS 溶液。利用螢光顯微鏡觀察，有特異螢光產生者為抗體陽性。

17. 豬環狀病毒間接螢光標示抗體染色試驗：方法類似豬生殖與呼吸綜合症間接螢光標示抗體染色試驗，但改用 PK-15 株化細胞和 PCV2-LSH-PK15-3 豬環狀病毒製作抗原盤。

18. 豬瘟病毒的分離：PK15 株化細胞於六孔盤長滿後，抽出細胞生長液並以滅菌 0.01M PBS，pH 7.2 溶液洗過一次。每孔各接種 1mL 的棉拭液、抗凝血或臟器乳劑上清液後置 37°C 培養箱感作一小時。抽去接種液並以 PBS 洗過三次，然後每孔分別加入 3 mL 細胞維持液。放置 37°C 培養箱，培養增殖三天後實施細胞培養豬瘟間接螢光染色試驗。在螢光顯微鏡下，有特異螢光產生者為豬瘟病毒陽性。

試驗一、採集田間豬場母豬及豬瘟疫苗免疫前後小豬之血液以檢測豬瘟中和抗體力價消長情形：

金門縣，豬隻之豬瘟預防注射係由公務獸醫執行，並採用太元免化豬瘟疫苗。母豬每半年免疫注射一次，而仔豬則有 6、12 週齡和 8、12 週齡免疫等兩種免疫方式。因此，針對小豬不同豬瘟免疫方式豬場各選兩場。其中 KM-A 和 KM-B 場，小豬為 6、12 週齡免疫豬場，每場於同一時間任意採集 5 頭母豬和 3、6 和 14 週齡小豬，每週齡各 15 頭豬隻之血液；而 KM-C 和 KM-D 場，小豬為 8、12 週齡免疫豬場，每場亦在同一時間任意採集 5 頭母豬和 3、6、8 和 14 週齡小豬，每週齡各 15 頭豬隻之血液。血液經分離血清和非動化後檢測其豬瘟中和抗體力價。

台中縣，採集三家不同豬瘟免疫方式豬場豬隻血液。其中，TC-A 場，母豬每年空胎免疫一次，小豬五、八週齡免疫二次，隨機採集該場 16 頭母豬和 4 胎小豬於五、八和十二週齡之血液，每週齡各 20 頭。TC-B 場，母豬經基礎免疫及配種前免疫一次後

不再免疫，而小豬僅於五週齡時免疫一次，隨機採集該場 10 頭母豬和 4 胎小豬於五和九週齡時之血液，每週齡各 20 頭。TC-C 場，母豬每年空胎免疫一次，小豬六、九週齡免疫二次，隨機採集該場 20 頭母豬和 4 胎小豬於三、六、九、十二和十五週齡時之血液，每週齡各 20 頭。試驗期間 TC-A 和 TC-B 場係採用高雄縣農會免化豬瘟疫苗，而 TC-C 場則採用高生免化豬瘟組織疫苗。

雲林縣，採集四家不同豬瘟疫苗免疫方式豬場豬隻血液。其中 YL-A 場，母豬每年空胎免疫一次，小豬三、六週齡免疫二次，隨機採集該場 10 頭母豬和 4 胎小豬於三、六和十週齡時之血液，每週齡各 20 頭。YL-B 場，母豬完成基礎免疫及配種前免疫一次後不再免疫，而小豬僅於三週齡時免疫一次，隨機採集該場 10 頭母豬和 4 胎小豬於三和六週齡時之血液，每週齡各 20 頭，以及 10 頭肉豬血液。YL-C 場，母豬完成基礎免疫及配種前免疫一次後不再免疫，小豬則僅哺乳前免疫一次，隨機採集該場 10 頭母豬和 4 胎小豬於三和六週齡時之血液，每週齡各 20 頭，並採集 10 頭肉豬血液。YL-D 場，母豬每年空胎免疫一次，小豬六、九週齡免疫兩次，隨機採集該場 10 頭母豬和 4 胎小豬於三、六、九、十二和十五週齡時之血液，每週齡各 20 頭。試驗期間，雲林縣四家養豬場均採用高雄縣農會之免化豬瘟疫苗，前三家批號為 314，最後一家批號是 317。

試驗二、小豬不同週齡之豬瘟疫苗免疫注射與攻擊試驗：

在桃園縣某一母豬每年空胎免疫一次之一貫豬場，任選其三週齡小豬 30 頭，經釘掛耳標(編號 611 至 640)及採血後分別於耳後肌肉部位注射一劑量太元批號 832 免化豬瘟疫苗。六週齡時，30 頭小豬經採血後其中 15 頭不再予以免疫注射(編號 626 至 640)作為三週齡一次免疫組；其他 15 頭(編號 611 至 625)則分別予以肌肉補強注射一劑量同一廠牌和批號之免化豬瘟疫苗作為三和六週齡免疫組，但三、六週齡免疫組豬隻於二次免疫後及攻擊前即告斃死 2 頭。

此外，在該豬場同一欄豬舍內 31 頭六週齡小豬，經採血後分別於耳後肌肉注射一劑量淡水批號 2573 免化豬瘟疫苗。由於六週齡第一次免疫注射時部份豬隻引發過敏反應而致死，因此，九週齡時在畜主強烈要求下經採血後分別補強免疫注射一劑量太

元批號 832 免化豬瘟疫苗，作為六、九週齡免疫組。十二週齡再行採血一次，並將其中 15 頭豬隻釘掛耳標(編號 776 至 790)。

上述 15 頭三週齡免疫組，13 頭三、六週齡免疫組豬隻於九週齡時，以及 15 頭六、九週齡免疫組豬隻於十五週齡時一同購回淡水分別放入 GLP 三間動物舍。此外，從另一豬場購回 3 頭未經豬瘟疫苗免疫之八週齡豬隻(編號 C1 至 C3)作為攻擊對照。

攻擊時，先量取攻擊試驗豬隻之肛溫 and 採血，分離血清供豬瘟、豬二型環狀病毒、豬生殖與呼吸綜合症、豬鐵士古病毒、豬腸道病毒和赤羽病毒等抗體檢測。然後，每頭經由頸部肌肉接種 10^4 MLD / 2mL 之 ALD 豬瘟強毒。攻擊後，每天量取肛溫、觀察臨床症狀，直至攻擊後第十四天為止。攻擊試驗期間，輪流每日以肝素抗凝劑採集試驗豬血液，並以棉拭棒採集豬口腔唾液分泌物，以分離豬瘟病毒。攻擊後第七和十四天，採集每頭試驗豬血液，分離血清供豬瘟中和抗體檢測用。斃死和垂死豬隻則予犧牲、解剖並採集扁桃腺、脾臟、淋巴結、肺臟、肝臟、腎臟、迴腸和腦等各臟器作成乳劑供病毒分離用。攻擊耐過豬隻則於攻擊後第十五天全部予以犧牲、解剖並採集扁桃腺、脾臟和淋巴結等臟器作成乳劑以分離病毒。

與抗體力價有關之各項因素先以 SAS (Statistical Analysis System, Ver. 8.1 for windows, 2002) 之一般線性模式程序分析，具顯著影響之因素再以鄧肯氏多變域顯著性測驗 (Duncan's multiple range significant test) 比較上述各組母豬幾何平均值之差異。

結 果

試驗一、採集田間豬場母豬及豬瘟疫苗免疫前後小豬之血液檢測豬瘟中和抗體消長情形：

金門縣，兩場母豬每半年免疫一次，小豬六、十二週齡免疫豬場之母豬以及三、六和十四週齡小豬之豬瘟中和抗體幾何平均力價，KM-A 場分別為 630、102、41 和 2,048 倍；而 KM-B 場，分別為 630、169、11 和 3,641 倍。另兩場母豬每半年免疫一次，小豬八、十二週齡免疫豬場之母豬以及三、六、八和十四週齡小豬之豬瘟中和抗體幾何平均力價，KM-C 場分別為 104、41、39、79 和 1,351 倍；而 KM-D 場則分別為 362、64、6、16 和 18 倍 (表一)。

台中縣三家不同豬瘟疫苗免疫方式豬場，其豬隻

血清豬瘟中和抗體幾何平均力價如下：母豬每年免疫一次，小豬五、八週齡免疫的 TC-A 場，母豬為 1,070 倍，小豬五、八和十二週齡時分別為 110、70 和 128 倍。母豬基礎免疫及配種前免疫一次後不再免疫，小豬五週齡免疫一次之 TC-B 場，母豬為 326 倍，小豬五和九週齡時分別為 57 和 80 倍。而母豬每年免疫一次，小豬六、九週齡免疫的 TC-C 場，母豬為 512 倍，小豬三、六、九、十二和十五週齡時分別為 89、25、57、503 和 1,097 倍（表二）。

雲林縣，四家不同豬瘟疫苗免疫方式豬場其豬隻血清豬瘟中和抗體幾何平均力價如下：母豬每年免疫一次，小豬三、六週齡免疫的 YL-A 場，母豬為 338 倍，小豬三、六和十週齡時分別為 128、82 和 128 倍。母豬基礎免疫及配種前免疫一次後不再免疫，小豬三週齡免疫一次的 YL-B 場，母豬為 208 倍，三、六週齡小豬和肉豬分別為 100、79 和 215 倍。母豬基礎免疫及配種前免疫一次後不再免疫，小豬哺乳前免疫一次的 YL-C 場，母豬為 1,399 倍，三、六週齡小豬和肉豬分別為 184、87 和 326 倍。母豬每年空胎免疫一次，小豬六、九週齡免疫的 YL-D 場，母豬為 724 倍，小豬三、六、九、十二和十五週齡時分別為 77、39、59、310 和 362 倍（表三）。

試驗二、小豬不同週齡之豬瘟疫苗免疫注射與攻擊試驗：

在桃園縣某一母豬每年免疫一次豬瘟疫苗之養豬場，任選其小豬 45 頭，分成三組，每組各 15 頭。一組僅於三週齡時以免化豬瘟疫苗免疫一次，另一組於三、六週齡時免疫兩次，而第三組則於六、九週齡時免疫兩次。三組試驗豬隻，三週齡免疫組於一次免疫後六週，三、六週齡免疫組於二次補強免疫後三週，而六、九週齡免疫組於二次補強後六週，與三頭未經豬瘟疫苗免疫之八週齡小豬購回本所經以 ALD 豬瘟強毒攻擊。攻擊時，採集試驗豬隻血液分離血清檢測豬二型環狀病毒、豬生殖與呼吸綜合症病毒、豬鐵士古病毒、豬腸道病毒和赤羽病毒等抗體結果，攻擊試驗豬隻對這些病毒均具陰陽高低不等抗體力價，顯示該豬場業已遭受此等病毒的侵襲（表四）。

攻擊後，三頭攻擊對照豬，臨床上從第二和三天起相繼有熱反應產生，發病過程中最高有達 42°C 者，並呈聚堆、食慾廢絕、下痢和神經症狀等臨床症狀，且從第二天起均可持續從採集血液和口腔棉拭液分離出豬瘟病毒。七至十二天斃死後亦可從採集之各

臟器乳劑分離出豬瘟病毒，並可從其中一頭攻擊對照豬（C3）之扁桃腺與淋巴結分離出豬二型環狀病毒。

三週齡免疫組，豬瘟疫苗免疫前後豬瘟中和抗體幾何平均力價呈現持續下降現象，三、六和九週齡攻擊時分別為 102、48 和 22 倍。攻擊後，僅有 2 頭豬（630 和 634）耐過，免疫保護率僅約 13%（2/15）。這 2 頭攻擊耐過豬，攻擊試驗期間均無法從血液和口腔棉拭液以及攻擊後 15 天採集之臟器組織分離出豬瘟病毒，唯可從其中一頭豬（634）之扁桃腺、脾臟和淋巴結等臟器組織分離出豬二型環狀病毒。其餘 13 頭本組試驗豬隻則於攻擊後第二或三天起呈現熱反應，發病過程中甚至有達 42.4°C 者，臨床上有精神不振、廢食、聚堆、眼瞼粘著和神經症狀等，並相繼於攻擊後五至十二天間發病死亡。攻擊後第一和第二日起均可持續從血液和口腔棉拭液，以及斃死豬隻採集之各臟器組織分離出豬瘟病毒，亦可從其中一頭斃死豬（628）之扁桃腺、脾臟、淋巴結、肺臟和迴腸等臟器分離出豬二型環狀病毒。

三、六週齡免疫組，豬瘟疫苗免疫前後豬瘟中和抗體幾何平均力價，三、六和九週齡攻擊時分別為 24、33 和 224 倍，攻擊後一和二週更迅速上升為 27,175 和 32,768 倍。攻擊後，全部耐過，免疫保護率高達 100%（13/13）。攻擊試驗期間，每日輪流採集抗凝血和口腔棉拭液分離病毒結果，除其中一頭（612）僅於攻擊後第七天可從血液分離出豬瘟病毒外，其餘均為陰性。攻擊試驗結束後採集各豬隻之扁桃腺、脾臟和淋巴結病毒分離結果，均無法分離出豬瘟病毒，唯可從編號 617 之淋巴結和 618 之扁桃腺等二頭豬分離出豬二型環狀病毒。

六、九週齡免疫組，免疫前後豬瘟中和抗體幾何平均力價，六、九、十二和十五週齡攻擊時分別為 17、69、340 和 760 倍，攻擊後一和二週上升為 6,654 和 13,588 倍。攻擊後，全數豬隻健康耐過，免疫保護率亦高達 100%（15/15）。攻擊試驗期間，均無法從採集血液和口腔棉拭液分離出豬瘟病毒，也無發從耐過豬隻採集之扁桃腺、脾臟和淋巴結等臟器分離到豬瘟病毒。

討 論

在金門縣、台中縣和雲林縣等十一家不同豬瘟免疫方式中，母豬之豬瘟疫苗免疫方式較為單純僅有三

種，即每年空胎免疫一次、每半年免疫一次以及基礎免疫與配種前補強一次後不再免疫等。其中每年空胎免疫一次和每半年免疫一次者各有四場，而基礎免疫與配種前補強一次後不再免疫者有三場。在三種不同母豬免疫方式中每場母豬均因個體關係而有高低不等豬瘟中和抗體力價，與前人報告同〔3,10,11,12〕，但在整體幾何平均力價上，母豬每年免疫豬場要比每半年免疫場和兩家基礎免疫場要來得高 ($P < 0.05$)，每年免疫一次的四場為 605 倍，每半年免疫一次的四場為 350 倍，而基礎免疫三場中的二場為 260 倍。在三家母豬實施基礎免疫場中，值得注意的是 YL-C 場其母豬之豬瘟中和抗體幾何平均力價為 1,399 倍，比任何一家豬場來得高 ($P < 0.05$)。推測其因，該豬場可能係遭受田間豬瘟病毒侵襲的結果。經查該豬場確曾是豬瘟污染場，而於本試驗前不久將小豬之豬瘟免疫方式改變為哺乳前免疫，此種豬瘟污染場，在遭受田間豬瘟病毒刺激結果雖無臨床症狀產生但可提高豬瘟中和抗體力價。此外，由另兩家實施基礎免疫母豬之豬瘟中和抗體幾何平均力價仍保有 208 和 326 倍而言，顯示經三次基礎免疫之母豬應可獲得豬瘟的終生免疫，惟需進一步詳加探討。而每半年免疫場其母豬之豬瘟中和抗體幾何平均力價分別為 104、362、630 和 630 倍 (表一)，反比每年免疫一次場之 338、512、724 和 1,070 倍 (表二、三) 者稍低。這可能與豬瘟疫苗係屬活毒疫苗，每半年免疫一次因過於頻繁反而無法達到免疫補強的效果有關。顯示母豬每半年補強免疫一次純屬多餘，唯需另行加以探討。

雖然農政單位將豬瘟免疫計畫規定為種母豬完成基礎免疫後每年於空胎時免疫者，其所生仔豬應於六、九週齡免疫二次；種母豬完成基礎免疫後於配種前免疫一次後不再免疫者，其所生仔豬應於三、六週齡免疫二次等兩種免疫方式，但在田間應用上小豬之豬瘟免疫方式一直極為多樣化，這可能是豬瘟持續零星發生的主要原因之一。以此次三縣十一家豬場來說，小豬之豬瘟免疫計畫就達八種之多，包括哺乳前免疫、三週齡免疫、五週齡免疫、三和六週齡免疫、五和八週齡免疫者各一場，以及六和九週齡免疫、六和十二週齡免疫、八和十二週齡免疫者各二場，頗為分歧。

在這十一場八種不同小豬之豬瘟免疫方式中，無論經一次或二次豬瘟疫苗免疫後小豬豬瘟中和抗體幾何平均力價依免疫時移行抗體高低呈現免疫後先

降後升，和持續性上升等兩種現象 (表一、二、三)。顯示，目前使用之免化豬瘟疫苗品質良好，只要施打國家檢定合格疫苗就有其一定的免疫保護作用。小豬在免疫或補強注射時其週齡越高者免疫或補強注射後產生之中和抗體價也越高，與其他報告相似〔8〕，這可能與移行抗體業已逐漸消失及豬隻免疫機能越健全有關。例如在金門縣四家小豬採取六、十二和八、十二週齡免疫豬場中有三家於補強注射後二週即十四週齡時幾何抗體力價分別為 1,351、2,048 和 3,641 倍。但另一場實施八、十二週齡免疫之小豬於補強注射後兩週即十四週齡時豬瘟中和抗體幾何平均力價僅為 18 倍 (表一)。分析其因，可能係該豬場疏於自衛防疫，漏打豬瘟疫苗的結果。因為在該場 15 頭十四週齡豬隻中有 9 頭無豬瘟中和抗體力價 (≤ 3 倍)，若將此 9 頭無抗體力價豬隻扣除，其餘 6 頭豬之豬瘟中和抗體幾何平均亦可達 1,287 倍，與其他三家豬場相近。此外，表一中之 KM-C 和 KM-D 場小豬，在實施免疫前其移行抗體幾何平均力價於六和八週齡間非但無降反升原因可能係採樣偏差結果。因金門縣每豬場係於同一時間任意採集不同週齡小豬血液送檢，可能所採集該兩場八週齡小豬之移行抗體價較高所致。

檢測不同豬瘟免疫方式豬場小豬免疫前後豬瘟抗體結果，雖然小豬豬齡越高免疫或補強注射後其產生之中和抗體價亦越高，但因母豬抗體高低的不同、仔豬個體差異、吸食乳頭部位及健康等因素，無論每年免疫一次、每半年免疫一次或基礎免疫場其小豬之移行抗體力價往往參差不齊〔3,4,8,10,11,12,14,15,16〕。因此，在田間上為防止小豬於主動免疫產生前即遭野外豬瘟病毒的侵害，小豬應於完成二次基礎免疫前禁止其異動，並確實做好豬場之自衛防疫與衛生管理措施，以防豬瘟病毒的入侵。

在桃園縣某一母豬每年免疫一次豬瘟疫苗之一貫養豬場，任選其小豬 45 頭，分成三組，每組各 15 頭。一組僅於三週齡時以免化豬瘟疫苗免疫一次，另一組於三、六週齡時免疫兩次，但本組試驗豬隻於二次免疫後和攻擊前即告斃 2 頭，而第三組則於六、九週齡時免疫兩次。三組試驗豬隻分別於一次免疫後六週，二次免疫後三和六週，與三頭未經豬瘟疫苗免疫之八週齡小豬購回本所經以 ALD 豬瘟強毒攻擊。攻擊時採集試驗豬隻血液，分離血清檢測豬二型環狀病毒、豬生殖與呼吸綜合症病毒、豬鐵士古病

毒、豬腸病毒和赤羽病毒等抗體結果均具有陰陽高低不等抗體力價，顯示該豬場業已遭受此五種病毒的侵襲，尤其是豬二型環狀病毒，除可從部份攻擊斃死和耐過豬臟器分離出該病毒外，其六、九週齡免疫組豬隻之抗體力價均達 2,560 倍以上（表四），可証該豬場在本試驗期間正逢豬二型環狀病毒的侵襲。而由三週齡免疫組試驗豬於三週齡免疫時豬瘟中和抗體幾

何平均力價為 102 倍，六週齡時為 48 倍，九週齡攻擊時仍持續下降為 22 倍，而攻擊後僅獲 13% 的免疫保護率，然而三、六週齡和六、九週齡免疫兩組在經一次和二次免疫後抗體力價均持續上升並可獲 100% 的保護效果，顯示免疫保護效率與此五種病毒之存在於該養豬場無關，而是受移行抗體干擾結果。

表一、金門縣四養豬場之母豬和其小豬免疫前後豬瘟中和抗體幾何平均力價

豬場別	豬瘟免疫方式	中和抗體幾何平均力價				
		母豬	小 豬 (週 齡)			
			3	6	8	14
KM-A	母豬每半年免疫一次；小豬六和十二週齡時免疫二次	630 ^a	102	41		2,048
KM-B	同 KM-A 場	630 ^a	169	11		3,641
KM-C	母豬每半年免疫一次；小豬八和十二週齡免疫二次	104 ^c	41	39	79	1,351
KM-D	同 KM-C	362 ^b	64	6	16	18

註：KM-A 場受檢測母豬和三、六、十四週齡小豬頭數分別為 5、15、15、15 頭。

KM-B 場受檢測母豬和三、六、十四週齡小豬頭數同 KM-A 場。

KM-C 場受檢測母豬和三、六、八、十四週齡小豬頭數分別為 5、15、15、15、15 頭。

KM-D 場受檢測母豬和三、六、八、十四週齡小豬頭數同 KM-C 場。

表中母豬列 a, b, c 小寫英文字母表示顯著差異 ($P < 0.05$)。

表二、台中縣三養豬場之母豬及小豬免疫前後豬瘟中和抗體幾何平均力價

場別	豬瘟免疫方式	中和抗體幾何平均力價						
		母豬	小豬 (週 齡)					
			3	5	6	8	9	12
TC-A	母豬每年空胎免疫一次；小豬五和八週齡免疫二次	1,070 ^a		110		70		128
TC-B	母豬基礎免疫及配種前免疫一次後不再免疫；小豬五週齡免疫一次	326 ^b		57			80	
TC-C	母豬每年空胎免疫一次；小豬六和九週齡免疫二次	512 ^b	89		25		57	503

註：TC-A 場受檢測母豬和五、八、十二週齡小豬頭數分別為 16、20、20、20 頭。

TC-B 場受檢測母豬和五、九週齡小豬頭數分別為 10、20、20 頭。

TC-C 場受檢測母豬和三、六、九、十二、十五週齡小豬頭數均分別為各 20 頭。

表中母豬列 a, b 小寫英文字母表示顯著差異 ($P < 0.05$)。

表三、雲林縣四養豬場之母豬及小豬免疫前後豬瘟中和抗體幾何平均力價

場別	豬瘟免疫方式	中和抗體幾何平均力價						
		母豬	小豬 (週 齡)					肉豬
			3	6	9	10	12	15
YL-A	母豬每年空胎免疫一次；小豬三和六週齡免疫二次	338 ^c	124	82		128		

YL-B	母豬基礎免疫及配種前免疫一次後不再免疫；小豬三週齡免疫一次	208 ^c	100	79			215
YL-C	母豬基礎免疫及配種前免疫一次後不再免一；小豬哺乳前免疫一次	1,399 ^a	184	87			326
YL-D	母豬每年空胎免疫一次；小豬六、九週齡免疫	724 ^b	77	39	59	310	362

註：YL-A 場受檢測母豬和三、六、十週齡小豬頭數分別為 10、20、20、20 頭。

YL-B 場受檢測母豬和三、六週齡小豬及肉豬頭數分別為 10、20、20、10 頭。

YL-C 場受檢測母豬和三、六、週齡小豬及肉豬頭數分別為 10、20、20、10 頭。

YL-D 場受檢測母豬和三、六、九、十二、十五週齡小豬頭數分別為 10、20、20、20、20、20 頭。

表中母豬列 a, b, c 小寫英文字母表示顯著差異 ($P < 0.05$)。

表四、豬瘟免疫試驗豬隻攻擊時其他抗體檢測結果

組別	耳號	PCV2 IFA	PRRSV IFA	PTV SN50	PEV8 SN50	Aka. V SN50
攻擊對照組	C1	80	2,560	23	23	≤ 3
	C2	320	320	32	32	≤ 3
	C3	80	1,280	45	4	≤ 3
三週齡免疫組	626	160	160	6	23	8
	627	80	80	6	16	11
	628	80	320	8	23	23
	629	80	320	6	32	23
	630	≥ 2,560	640	16	23	16
	631	160	< 20	6	8	23
	632	80	1,280	16	45	11
	633	160	2,560	11	16	11
	634	160	80	6	45	4
	635	320	80	16	32	23
	636	80	2,560	16	91	23
	637	160	160	11	16	23
	638	320	1,280	11	91	23
	639	160	160	11	16	45
	640	80	40	23	8	45
三、六週齡免疫組	611	≥ 2,560	320	11	8	8
	612	640	160	6	32	45
	614	≥ 2,560	1,280	11	11	8
	615	320	160	6	11	32
	616	80	1,280	11	91	23
	617	≥ 2,560	1,280	8	≤ 3	45
	618	80	640	6	45	23
	620	1,280	640	11	23	32
	621	80	640	6	91	11
	622	640	160	11	≤ 3	23
	623	160	80	6	4	16
	624	80	2,560	6	8	32
	625	160	1,280	23	32	23
	776	≥ 2,560	640	32	64	4
	777	≥ 2,560	20	128	128	≤ 3
六、九週齡免疫組	778	≥ 2,560	160	23	6	≤ 3
	779	≥ 2,560	640	23	181	≤ 3
	780	≥ 2,560	160	16	16	≤ 3
	781	≥ 2,560	80	32	≤ 3	≤ 3
	782	≥ 2,560	160	181	16	≤ 3
	783	≥ 2,560	2,560	45	45	≤ 3
	784	≥ 2,560	640	11	11	≤ 3
	785	≥ 2,560	160	23	6	≤ 3
	786	≥ 2,560	640	23	8	≤ 3
	787	≥ 2,560	1,280	45	16	91
	788	≥ 2,560	320	23	11	≤ 3
	789	≥ 2,560	160	11	23	≤ 3
	790	≥ 2,560	320	23	11	4

致謝：本計畫承蒙金門縣動植物防疫所呂世志先生等，台中縣家畜疾病防治所陳仲雄課長等以及雲林縣家畜防治所李清圳課長等鼎力幫忙始已完成，在此至上萬分謝忱。

參考文獻

1. 王群、潘居祥、黃天祥、黃金城、鍾明華、林士鈺、賴秀穗。台灣豬環狀病毒基因型分析及流行率調查。台灣省畜牧獸醫學會暨中華民國獸醫學會九十年年度聯合年會暨學術論文發表會論文宣讀。P.57。

- 2001
2. 王群、黃天祥、黃金城、鍾明華、林士鈺、賴秀穗。台灣豬環狀病毒第一型及第二型血清抗體調查。台灣省畜牧獸醫學會九十一年度春季學術研討會專刊。P.26。2002
3. 林再春、謝竹茂、陳由昌、陳正吉、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。台灣省家畜衛生試驗所研究報 6:11-12。1969
4. 林再春、李崇道。免化豬瘟疫苗種毒 LPC 株之開發研究綜合報告。轉刊國科會專案報告第五號。1983
5. 張志成、鍾文彬、林敏雯、翁仲男、楊平政、邱雲棕、張文發、朱瑞民。台灣地區豬繁殖與呼吸道症候群 I、病毒分離。中華民國獸醫學會雜誌。Vol. 19,268-276。1993
6. 張家宜、黃金城、黃天祥、鄧明中、鍾明華、林士鈺。鷺山病毒在台灣豬隻的分離。台灣省畜牧獸醫學會第二十二屆暨中華民國獸醫學會第十屆會員大會九十一年度聯合年會暨學術論文發表會。P.97。2002
7. 黃天祥、陳聖怡、陳金蘭、杜文珍、黎南榮、劉培柏。本省豬生殖與呼吸綜合症疫情調查及其疫苗的開發。台灣省畜衛研報 No. 32: 9-16。1996
8. 黃天祥、杜文珍、鍾明華、劉培柏。不同週齡仔豬對豬瘟疫苗之免疫反應。台灣省畜研所研報 33 : 7-12。1997
9. 黃天祥、黃金城、鄧明中、鍾明華、林士鈺。豬赤羽病(Natural infection of akabane virus in pigs) 台灣省畜牧獸醫學會九十一年度春季學術研討會專刊。P.33。2002
10. 楊喜金、賴俊雄、張天桂、劉燃炎。豬瘟中和抗體之研究：第一報懷孕前後母豬豬瘟免疫性之研究。台灣省畜研所研報 8 : 19-24。1971
11. 楊喜金、賴俊雄、張天桂、劉燃炎、吳義興、詹益波。豬瘟中和抗體之研究：第二報母豬初乳對豬瘟免疫抗體產生之研究。台灣省畜研所研報 8 : 25-34。1971
12. 劉培柏、邱仕炎。種畜場豬瘟防疫電腦資訊之建立。台灣省畜研所研報 23 : 129-139。1987
13. Dune HW, Hokanson JF and Luedke AJ. The pathogenesis of hog cholera. I. Route of entrance of the virus into the animal body. Am. J. Vet. Res. 20: 615-618, 1957
14. Lai SS, Chen CS, Huang TS, Ho WC, Wang JT, Wu FM. Immune response of pigs with different levels of colostral antibody to inoculation with LPC-China strain of hog cholera vaccine. J. Chinese Soc. Vet. Sci. 6: 77-81, 1980
15. Lai SS, Ho WC., Lin LP. Persistent infection of pseudorabies virus influenced the efficacy of hog cholera immunization. J. Chinese Soc. Vet. Sci. 13: 173-180, 1987
16. Lai SS and Ho WC. Immunity of pseudorabies virus naturally infected sows. J. Chinese Soc. Vet. Sci. 16: 187-192, 1990
17. Lee RCT, Wang JT, Lai SS, Wu FM and Lin TTC. Study on precolostral vaccination against hog cholera by using an attenuated virus, LPC-China strain. Proceedings, 6th IPVS Congress, 133, 1980
18. Office International Des Epizooties. Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 4th edition, 2000
19. Shieh HK. The FMD situation in Taiwan. J Chin Soc Vet Sci. 23(5): 395-402, 1997
20. Wengler G. Flaviviridae. Classification and nomenclature of virus. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of virus. Springer, Wien New York. Arch Virol 223-233, 1991

Assessment of current hog cholera vaccination programs

Huang TS*, Jong MH, Deng MC, Wang C, Lin YL,

Chen CM, Huang CC

Abstract

Serum samples were collected from sows and piglets prior to and post lapinized hog cholera vaccine(LPCV)vaccination of eleven pig farms located in Kinmen, Taichung and Yunlin counties, and were tested for serum neutralization antibody against hog cholera virus. Among the eleven pig farms, there were three vaccination programs for sows including four farms vaccinated once a year, four farms vaccinated once a half-year and three farms no more vaccination after the basic vaccination. The geometric means of serum neutralization antibody of sows were 1:605 for four farms vaccinated once a year, 1:350 for other four farms vaccinated once a half-year, 1:260 for another two farms basic vaccinated only, and 1:1,399 for a hog cholera contaminated farm that also performing basic vaccination. For piglets, there were eight different kinds of vaccination programs including five farms each performing vaccination prior to ingestion of colostrums, on 3 weeks, 5 weeks, 3 and 6 weeks, 5 and 8 weeks of age, respectively, and other 6 farms each two of them were vaccinated on 6 and 9 week, 6 and 12 weeks, 8 and 12 weeks of age. Depending on the level of colostrums antibody, the geometric means of piglets serum neutralization antibody titers of each farm showed decreased then increased or continue to increase after first shot or second vaccination.

Keywords : Hog cholera, The appropriate vaccination time

* Corresponding Author
Animal Health Research Institute