

鴨肝炎組織培養疫苗效力試驗

報告人：莊育雯 約聘助理（製劑研究組）

壹、緒言

鴨肝炎(Duck hepatitis, DH)是雛鴨的一種高度致死性傳染病。台灣目前以 DHV-1 之感染為主，1990 年台灣首次從免疫過 DHV-1 之鴨群中發現新型鴨肝炎(New type duck hepatitis virus, NDHV)的病例，NDHV 與 DHV-1 均為 picornavirus 但是彼此間並不具有抗原相關性。本次試驗以鴨腎細胞馴化的 DHV-1 及 NDHV 疫苗株，經由肌肉注射及口服方式接種無 DHV-1 及 NDHV 抗體之 1 日齡菜鴨，疫苗接種後定期檢測其中和抗體力價。

DHV-1 以 10^5 TCID₅₀/dose 經肌肉注射接種後第 6 天其中和抗體力價即達到 log 1.9；口服接種組接種後第 8 天其中和抗體力價可高達 log 2.2。

NDHV 以 10^5 TCID₅₀/dose 經肌肉注射接種後第 6 天其中和抗體力價即達到 log 2.2，並於接種後第 13 天達到 log 2.8；口服接種組接種後第 9 天其中和抗體力價達到 log 1.6 並於接種後第 20 天達到 log 2.5；此外當以 10^4 TCID₅₀/dose 之 NDHV 經肌肉注射接種後第 10 天其中和抗體力價達到 log1.6 並於接種後第 16 天達到 log 2.8；口服接種後第 13 天其中和抗體力價達到 log1.9 並於接種後第 20 天達到 log 2.5。

由實驗結果可看出 2 種鴨肝炎組織培養疫苗皆以肌肉注射接種方式，其中和抗體產生較快，此外 NDHV 疫苗株以 10^4 TCID₅₀/dose 接種即可檢測到 log 1.6 至 2.8 之中和抗體力價。

貳、材料與方法

首先先將 DHV-1 與 NDHV 病毒以初代鴨腎細胞(DK)減毒至 100 代以上，使其對小鴨失去病原性。DHV-1)減毒到 118 代，其病毒力價為 10^7 TCID₅₀/ml；NDHV 減毒到 125 代，其病毒力價為 $10^{6.67}$ TCID₅₀/ml。

接著進行效力試驗，來檢測 DHV-1 與 NDHV 這 2 種疫苗經由不同濃度及不同接種方式到小鴨後，其中和抗體爬升情形。

安全試驗方面是將 2 種疫苗分別以肌肉注射方式每隻小鴨接種 10dose 後觀察小鴨有無不良反應。

迴毒試驗是以口服方式接種到小鴨，連續接種 10 代，觀察 DHV-1 與 NDHV 這 2 種疫苗是否產生迴毒。

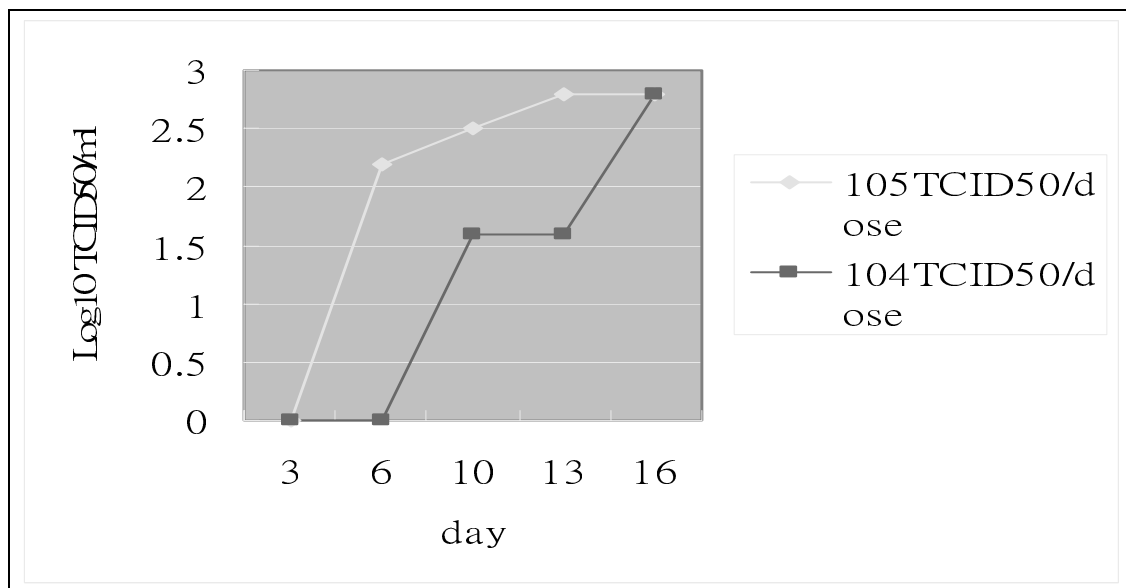
參、結果與討論

根據鴨肝炎病毒活毒疫苗檢驗標準規定，病毒含量需在 $10^3 \text{EID}_{50}/\text{dose}$ ，所以分別將 DHV-1 與 NDHV 稀釋成 $10^5 \text{TCID}_{50}/\text{dose}$ 及 $10^4 \text{TCID}_{50}/\text{dose}$ ，以肌肉注射及口服方式接種到無抗體的小鴨並定期採血，測其血清中和抗體力價。

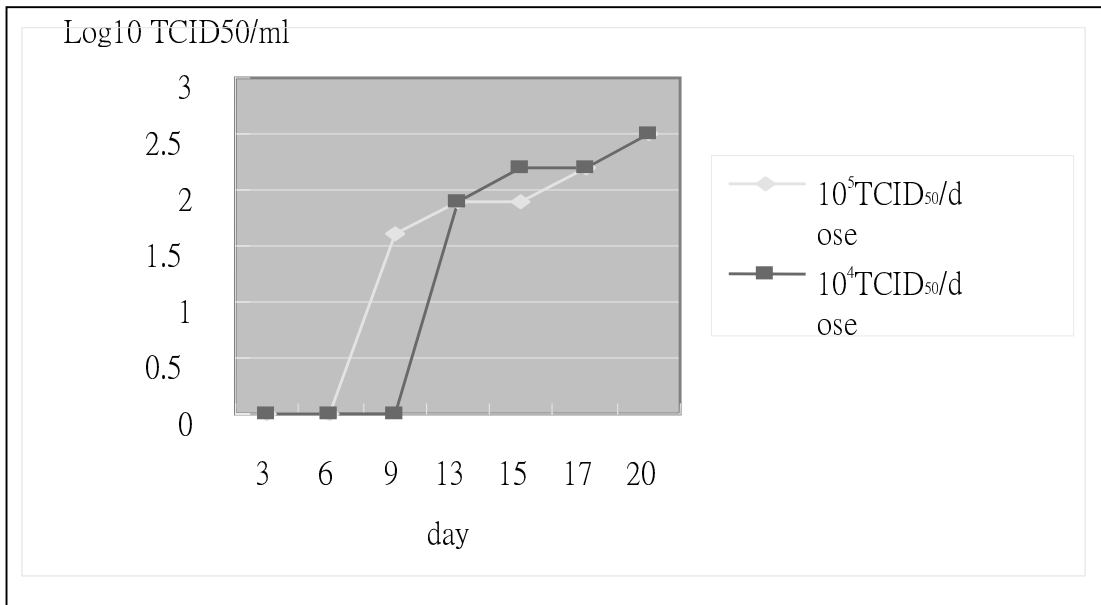
NDHV 以 $10^5 \text{TCID}_{50}/\text{dose}$ 經肌肉注射接種後第 6 天其中和抗體力價即達到 $\log 2.2$ ，且持續上升到第 13 天達到 $\log 2.8$ ；以 $10^4 \text{TCID}_{50}/\text{dose}$ 接種後第 10 天中和抗體力價達到 $\log 1.6$ ，第 16 天達到 $\log 2.8$ (圖一)。

NDHV 以 $10^5 \text{TCID}_{50}/\text{dose}$ 經口服接種後第 9 天其中和抗體力價即達到 $\log 1.6$ 並持續上升到第 20 天達 $\log 2.5$ ；以 $10^4 \text{TCID}_{50}/\text{dose}$ 接種後第 13 天中和抗體力價達到 $\log 1.9$ ，並持續上升到第 20 天達 $\log 2.5$ (圖二)。

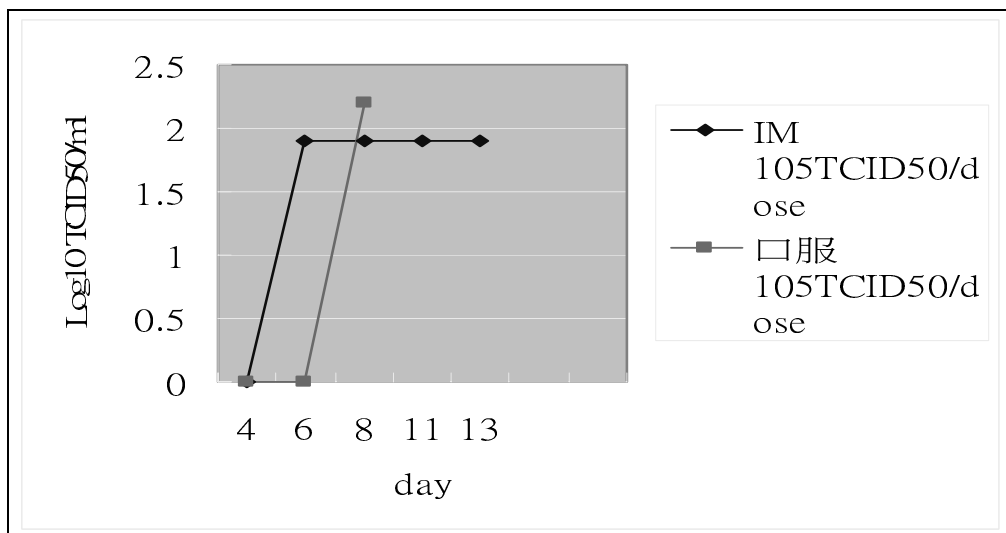
DHV-1 以 $10^5 \text{TCID}_{50}/\text{dose}$ 經肌肉注射接種後第 6 天其中和抗體力價即達到 $\log 1.9$ ；口服接種組接種後第 8 天其中和抗體力價可高達 $\log 2.2$ (圖三)。



圖一、NDHV 疫苗肌肉注射接種



圖二、NDHV 疫苗口服接種



圖三、DHV-1 疫苗肌肉注射及口服接種

根據鴨肝炎病毒活毒疫苗檢驗標準規定，血清中和抗體力價需在 log 1.7 以上才具有保護效果，所以 NDHV 以 10^5 TCID₅₀/dose 及 10^4 TCID₅₀/dose 接種皆可達 log 1.7 以上，DHV-1 以 10^5 TCID₅₀/dose 以肌肉注射及口服接種皆可達 log 1.7 以上，顯示具有保護效果。

分別將 DHV-1 與 NDHV 疫苗以 10dose 肌肉注射接種到無抗體的小鴨經過連續觀察 21 天，接種組與對照組的小鴨都沒有死亡，接種組小鴨也沒下痢、發育不良等臨床症狀。

以口服方式接種到無 DHVs 小鴨 3 天後採集小鴨的肝臟、脾臟及腸管混合後，製成 10 倍乳劑，再口服接種到小鴨，如此連續迴毒 10 代後並不會造成小鴨死亡及任何臨床症狀。