

口蹄疫病毒力價對中和抗體力價檢測結果之影響研究

報告人：林有良 副研究員（豬瘟研究組）

壹、緒言

口蹄疫是一種急性的動物傳染病，可造成嚴重的經濟損失，也是國際貿易設限的動物疾病之一。本病最早於西元 1514 年發生於義大利，隨即蔓延至其他國家，到 19 世紀，已橫掃全世界。本病主要的自然宿主是包括牛、羊、豬、鹿及駱駝等偶蹄類動物，而引起該病的病原是口蹄疫病毒(FMDV)，該病毒具有七種血清型別（包括 O、A、C、南非一型、南非二型、南非三型及亞洲一型），各血清型病毒間，並無交叉保護作用。也就是說，偶蹄類動物若免疫一種血清型之口蹄疫疫苗，仍可被其他六種血清型口蹄疫病毒感染。

台灣在 1929 年以前，曾有 2 次口蹄疫爆發的紀錄，之後平息將近 68 年，直到 1997 年才又再度爆發口蹄疫疫情，引起該次疫情的口蹄疫病毒，是只會感染豬隻的豬親和型口蹄疫病毒，二年之後，另一株口蹄疫病毒隨著牛隻，悄悄地侵入台灣，而該株病毒與隨後發生於世界各國的病毒株，同屬於泛亞洲 O 型口蹄疫病毒。台灣自從 1997 年爆發豬隻的口蹄疫疫情，隨即展開全面性的施打口蹄疫疫苗的防疫策略，也在 2003 年 5 月得到世界動物衛生組織 (O.I.E.) 認定為施打口蹄疫疫苗的非疫區。

根據世界動物衛生組織出版的「陸生動物的診斷測試與疫苗手冊」所載，口蹄疫的血清學檢測主要有四個目的：一、個別動物輸入或輸出前的證明；二、確認疑似口蹄疫的案例；三、證實動物沒有感染口蹄疫；四、顯示疫苗免疫的效力。因目的之不同，要求的抗體高低標準也可不同。台灣自從 1997 年爆發豬隻口蹄疫開始，即施行全面性的疫苗注射，其間也以豬隻的口蹄疫中和抗體力價，作為評估疫苗施打效果的標準。由於 O.I.E.對於口蹄疫中和抗體力價的認定標準是：用與血清中和的口蹄疫病毒力價需介於 $\log_{10} 1.5 - 2.5 \text{ TCID}_{50}$ 之間，才能判讀檢測結果。然 $\log_{10} 1.5 \text{ TCID}_{50}$ 與 $\log_{10} 2.5 \text{ TCID}_{50}$ 有 10 倍之差，為了解不同病毒力價是否造成抗體力價檢測結果之差異，乃進行此一試驗。

貳、材料與方法

於 96 孔細胞培養盤中分別加入 1:4、1:16、1:64 及 1:256 等不同抗體力價的豬隻血清各 3 支或 5 支，加入細胞培養液後，進行 2 倍連續稀釋，再分別加入 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 TCID_{50} 等不同價的 O/Taw/97 口蹄疫病毒，充分混合後，置於 37°C，5% CO_2 恆溫培

養箱，感作 90 分鐘，之後，每孔再加入 3×10^4 個 BHK-21 細胞，再置於 37°C ， $5\%\text{CO}_2$ 恆溫培養箱中培養 48 小時後判讀檢測結果。此外，各個不同價的 O/Taw/97 口蹄疫病毒液，分別作 5 倍及 2 倍系列稀釋，於 37°C ， $5\%\text{CO}_2$ 恆溫培養箱中感作 90 分鐘之後，再加入 3×10^4 個 BHK-21 細胞，也置於 37°C ， $5\%\text{CO}_2$ 恆溫培養箱中培養 48 小時，以進行病毒價復歸試驗。

參、結果與討論

各個不同病毒價的口蹄疫病毒液，經病毒價復歸測試結果，無法百分之百符合預期之病毒價（表一），可能是病毒於測試過程耗時過長，且以更精準的稀釋方式進行測試，所以出現些微差異。此外，不同抗體力價的豬隻血清以不同口蹄疫病毒價檢測的中和抗體結果顯示，抗體力價 1:4 的血清在以 200 TCID₅₀ 測試病毒價的檢測結果，均出現 $\leq 1:3$ 的抗體力價；而抗體力價 1:16 的血清，在以 50 TCID₅₀ 以上的測試病毒價的檢測結果，與先前測試之結果較一致，但其幾何平均則以 100 TCID₅₀ 至 300 TCID₅₀ 測試病毒價的檢測結果較符合先前測試之結果；抗體力價 1:64 的血清，在以 200 TCID₅₀ 以上的測試病毒價的檢測結果，與先前測試之結果較不一致；抗體力價 1:256 的血清，僅以 350 TCID₅₀ 測試病毒價的檢測結果，與先前測試之結果較不一致（表二）。綜合以上結果顯示，低倍抗體受到中和之病毒價的影響較大，惟整體而言，病毒價介於 $\log_{10} 1.5 - 2.5$ TCID₅₀ 之間，抗體檢測結果的幾何平均值仍在可接受的範圍內，但若將病毒價維持在 $\log_{10} 1.7 - 2.2$ TCID₅₀ 之間，其抗體檢測結果將更形穩定。

表一、中和試驗使用之各測試病毒的復歸力價

原測試病毒價				本 測 試 病 毒 價					
復歸力價	127	28	40	93	142	200	266	282	347
預期力價	100	25	50	100	150	200	250	300	350

表二、不同抗體力價的豬隻血清以不同口蹄疫病毒價檢測的中和抗體結果

病 毒 價 抗 體 力 價	原始病毒價			測 試 病 毒 價					
	100	25	50	100	150	200	250	300	350
1:4	4	4	≤3	4	≤3	≤3	≤3	≤3	≤3
	4	4	≤3	≤3	≤3	≤3	≤3	≤3	≤3
	4	8	4	4	4	≤3	≤3	≤3	≤3
幾何平均	4	5	2	3	2	1	1	1	1
1:16	16	32	32	32	16	4	8	8	4
	16	256	128	32	16	32	32	8	8
	16	128	32	16	16	8	16	16	8
幾何平均	16	102	51	25	16	10	16	10	6
1:64	64	128	32	32	32	16	16	16	8
	64	512	256	128	128	32	64	32	32
	64	128	64	32	128	32	64	16	16
	64	64	32	32	16	32	32	16	32
	64	64	64	64	16	16	16	8	16
幾何平均	64	128	64	49	42	24	32	16	18
1:256	256	512	512	128	128	64	64	64	128
	256	512	256	128	128	256	256	256	128
	256	256	128	256	128	64	64	128	64
	256	512	512	512	256	256	256	128	128
	256	512	512	512	512	128	512	512	128
幾何平均	256	446	338	256	194	128	169	169	111