

## 豬生殖與呼吸綜合症減毒疫苗之開發

黃天祥 鍾明華 李淑慧 曾惠鈴 林士鈺

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

### 摘要

二十二隻無豬生殖與呼吸綜合症抗體的四週齡小豬，實施臺灣豬生殖與呼吸綜合症 Marc-145 株化細胞 52 代和 62 代馴化活毒的安全、效力免疫試驗。免疫接種後無論接種十劑量、一劑量或十分之一劑量的 PRRSV-YS-Marc 52 代和 PRRSV-WS-Marc 62 代馴化活毒的豬隻，臨床上與對照組豬隻一樣，均無任何不良反應發生，顯示其對四週齡小豬的安全性很高。免疫接種後 21 天，將免疫接種一劑量或十分之一劑量的 52 代和 62 代馴化活毒的 10 隻豬以及攻擊對照豬 4 隻，分別以野外分離之豬生殖與呼吸綜合症病毒攻擊，結果每組試驗豬於攻擊後 3-11 天間各有不等天數熱反應的發生，此後全部健康耐過，臨床上並無顯著差異。攻擊後 26 天全數犧牲結果，肉眼解剖上 4 隻攻擊對照豬中有 3 隻發現有不等程度之肺炎病變，而免疫接種豬中除二隻接種十分之一劑量 52 代馴化毒者有輕微局部肺炎病變外，其餘均屬正常。顯示攻擊後在臨床上免疫接種豬與攻擊對照豬雖無顯著差異，但在病理肉眼解剖上接種一劑量 PRRSV-YS-Marc 52 代或接種一劑量與十分之一劑量的 PRRSV-WS-Marc 62 代馴化活毒的豬隻皆可獲保護作用。另將接種十劑量的 4 隻豬與未接種的 4 隻對照豬繼續實施同居感染試驗至第八週，結果無論是 PRRSV-YS-Marc 52 代組或 PRRSV-WS-Marc 62 代組的同居對照豬至第五週時全數呈現抗體陽轉，同居感染成立。顯示接種馴化活毒的小豬可經由排毒方式而感染其他豬隻。此外，兩隻懷孕 87-93 天無豬生殖與呼吸綜合症抗體的經產母豬分別經由肌肉接種十劑量的 PRRSV-WS-Marc 62 代馴化活毒結果，與對照母豬一樣均按時正常分娩出健康小豬。顯示高劑量的 62 代馴化活毒對懷孕母豬的安全性也高。

**關鍵字：** 豬生殖與呼吸綜合症(*porcine reproductive and respiratory syndrome; PRRS*)  
減毒疫苗(*attenuated vaccine*)

### 緒言

豬生殖與呼吸綜合症(*porcine reproductive and respiratory syndrome; PRRSV*)係由一種具有封套之 RNA 病毒，Arterivirus genus 所引起豬隻的一種傳染性疾病(8,17)。主要經由口、鼻呼吸道和消化道而發生感染，潛伏期為四天左右，感染母豬發生流死產、早產和新生仔豬死亡率提高、而哺乳小豬可見呼吸性疾病和離乳前死亡率的增加、在肥育豬則僅呈類似感冒症狀等為主徵(8,9,13,14,15,18,19)。

本病在衛生管理良好豬場除造成母豬流死產外，一般在感染後 4-7 天僅呈短暫性熱反應耐過，死亡率低，在 10% 以下；但在衛生管理不善以及密飼豬場則易與其他病毒性或細菌性

疾病等病原發生混合感染而增診斷困擾和死亡率的增加，死亡率提高為 20-30%。目前諸多養豬國家，包括美國、加拿大、德國、荷蘭、比利時、英國、西班牙、法國、丹麥以及日本等均有本病疫情的報導，而且正在蔓延之中(6, 8, 11, 12, 14, 19)。本省自 1992 年底後多家豬場亦陸續證實有本病存在(1, 2, 3)，且呈快速散播，至 1995 年 6 月污染率已高達 78% (4, 5)。

本病毒感染豬後主要侵害豬隻之巨噬細胞，並可在豬肺臟巨噬細胞(PAM)和 MA-104 來源之株化細胞培養中增殖產生細胞病變(CPE)。培養細胞，在接種後 2-4 天後，受感染細胞會呈現圓型化、聚堆現象，然後產生核濃縮、脫落和細胞死亡破裂等細胞病變(8,10,19)。因此，在診斷上一般可採集罹患豬隻之肺臟、

\* 抽印本索取作者  
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

血液、鼻拭液及其他臟器，或者胎豬、新生仔豬各臟器和胎盤，實施冷凍切片螢光標示抗體染色試驗，或將臟器磨成 10-20% 乳劑，接種於健康豬隻肺臟巨噬細胞，或者是 MA-104 來源之 CL 2621 等株化細胞。觀察細胞病變產生情況，並實施直接或間接螢光標示抗體染色。而抗體測定及疫情調查上，由於中和抗體測定較不敏感一般均採用間接螢光標示抗體染色試驗 (IFA)、免疫酵素吸附試驗 (enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA) 和免疫酵素單層細胞試驗 (immunoperoxidase monolayer assay; IPMA) 來作測定 (7, 19)。

至於豬生殖與呼吸綜合症疫苗，目前死毒疫苗之免疫效果存疑無法獲得肯定，尚未上市，而國外 Boehringer Ingelheim Animal Health 公司上市之豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒疫苗 (Ingelvac PRRS MLV)，係將 ATCC VR-2332 豬生殖與呼吸綜合症病毒株，經 CL-2621 (MA-104) 株化細胞繼代 70 代而成疫苗種毒。以此種毒再經 MA-104 株化細胞繼代一至五代間即可製成疫苗供用。此一疫苗在安全性上，雖經高劑量的接種和回歸繼代 6 次結果，証實對一般小豬、懷孕 87-93 天母豬及帝王切開不予母乳的小豬等均無病原性亦無毒力回歸的現象，且對豬以外之非宿主動物諸如牛、狗、貓和雞，經由肌肉或鼻腔接種疫苗後臨床上並無不良反應發生，而且病毒亦無法於非宿主動物體內增殖。雖然此疫苗經接種豬後 21 天內可由血液和尿液、28 天內可由糞便以及 49 天內可由臟器分離出疫苗毒，但實施同居感染試驗 56 天卻無法成立。在疫苗之免疫效力方面，據資料顯示疫苗經接種 7 天後 (最早攻擊時間) 即可產生免疫保護作用，免疫效力可持續 4 個月以上 (最終攻擊時間)，同時對同質及異質野外毒均有保護作用，也可能不受移行抗體的干擾，因疫苗免疫效力的產生極可能來自細胞性免疫而非來自液遞性免疫抗體。此外，此疫苗雖無法防止野外毒的感染，卻可縮短和減低野外毒感染後熱反應、病毒血症、白血球減少症之時間與程度以及呼吸等臨床症狀，同時亦可降低醫療費用與維持正常增重 (臺灣百寧佳公司莊寬裕先生私下提供資料)。為考慮經濟效益問題，吾等應積極開發本土疫苗，故而從事本試驗，期能發展出更佳本土疫苗以供我養

豬業者使用

## 材料及方法

### 材料：

#### 細胞：

豬肺臟巨噬細胞：選取四週齡無特定病原小豬，經麻醉及放血後以無菌操作技術取下心和肺臟。以滅過菌之磷酸緩衝液由氣管灌入肺臟，沖洗數次。沖洗液，經 4 °C，280g 離心 10 分鐘，細胞沉澱再以細胞培養液調至每毫升  $2.5 \times 10^6$  個細胞濃度。然後於 24 孔塑膠細胞培養盤，每孔放置 1ml。以供豬生殖與呼吸綜合症病毒分離用。

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血清抗體力價測定時間接螢光標示抗體染色試驗抗原盤的製備用。

#### 病毒：

PRRSV-YS-MARC 52：係筆者等在 1992 年底時由永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 52 代。病毒力價為  $10^{5.8}$  TCID<sub>50</sub>/ml。供豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒之安全及效力測試用。

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  $10^{5.8}$  TCID<sub>50</sub>/ml。供豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒之安全及效力測試用。

PRRSV-TD-PAM 2：係由臺東縣某一豬場病死豬分離而得並經豬肺臟巨噬細胞繼代二次。病毒力價為  $10^{4.5}$  TCID<sub>50</sub>/ml。供試驗豬隻攻擊時接種用。

### 方法：

小豬之免疫安全和效力試驗：

二十二隻無豬生殖與呼吸綜合症抗體的

四週齡小豬，於購入後隔天，分別由頸部靜脈採血分離血清，作豬生殖與呼吸綜合症病毒的分離和抗體的測定。同時量取肛溫。隨後，任意分成三組，進行豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒的安全與效力試驗。第一組，PRRSV-YS-MARC 52 代豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒組，小豬 9 隻。其中 2 隻分別由頸部肌肉接種 PRRSV-YS-MARC 52 代病毒液 10ml(10 劑量)，3 隻分別接種 1ml(1 劑量)，2 隻分別接種以細胞培養液稀釋 10 倍之病毒液 1ml(1/10 劑量)，而剩餘 2 隻則未予接種，留供本組同居感染試驗用。第二組，PRRSV-WS-Marc-62 代豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒組，小豬 9 隻。其中 2 隻分別由頸部肌肉接種 PRRSV-WS-MARC 62 代病毒液 10ml(10 劑量)，3 隻分別接種 1ml(1 劑量)，2 隻分別接種以細胞培養液稀釋 10 倍之病毒液 1ml(1/10 劑量)，而其餘 2 隻則未予接種，留供本組同居感染試驗用。第三組，攻擊對照組，小豬 4 隻。不予接種，關入另一隔離豬舍，以供上述兩組試驗豬隻攻擊時當攻擊對照用。

上述第一組和第二組試驗豬隻，於豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒接種後，每日量取肛溫，觀察臨床症狀，並於接種後第 2、4、7、9、11、14 和 21 天時輪流或全部採血分離血清，供病毒分離和抗體測定用。免疫接種後第 21 天，將第一組和第二組中接種 1 劑量和 1/10 劑量的 10 隻試驗豬隻移入第三組 4 隻攻擊對照豬舍內，實施攻擊。攻擊時，先行採血分離血清，以分離病毒和測定抗體。同時每隻試驗豬接種 PRRSV-TD-PAM 2 病毒液 5ml，其中包括口服 1ml、鼻腔接種 2ml 和耳後頸部肌肉注射 2ml。攻擊後，每日量取肛溫、觀察臨床症狀，並輪流或全部於攻擊後第 3、5、7、21 和 26 天採血分離血清，以分離病毒和測定抗體。並於攻擊後第 26 天全部予以犧牲，觀查肉眼病理病變。

同居感染試驗：

上述第一組 2 隻接種 10 劑量 PRRSV-S-ARC 52 代馴化活毒液和 2 隻同居對照豬隻，以及第二組 2 隻接種 10 劑量 PRRSV-WS-MARC 62 代馴化活毒液和 2 隻同居對

照豬隻則繼續留於原來豬舍實施同居感染試驗至第八週。同居感染試驗期間每週採血分離血清，以分離病毒和測定抗體。

母豬之免疫安全試驗：

三隻懷孕 87-93 天且無豬生殖與呼吸綜合症抗體的經產母豬，先行採血分離血清以分離病毒和測定抗體。然後其中二隻分別經由耳後肌肉接種 PRRSV-WS-MARC 62 馴化病毒液 10ml。此後，持續觀查至母豬分娩和小豬四週齡離乳時。分娩時採集母豬初乳，並於小豬一週齡內採集小豬血液，以分離病毒和測定抗體。

病毒分離：

將採集之試驗豬隻血清或初乳，接種於培養在 24 孔塑膠細胞培養盤一夜的健康豬肺臟巨噬細胞。每日觀查細胞病變產生情況，並在接種後第 4 天利用已知豬生殖與呼吸綜合症抗血清實施間接螢光標示抗體染色，以檢測病毒。

豬生殖與呼吸綜合症抗體的檢測(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 0.1ml 經適當稀釋之豬生殖與呼吸綜合症病毒液。於 37°C，5% CO<sub>2</sub> 恆溫箱培養二天。倒去培養液，並以 0.01M PBS，pH7.2 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 0.01M PBS，pH7.2 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 0.1ml 美製福馬林，於室溫固定 10 分鐘。倒去福馬林固定液，並以 0.01M PBS，pH7.2 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 0.1ml。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 0.01M PBS, pH7.2 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 0.1ml。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 0.1ml 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。

## 結果

接種 PRRSV-YS-MARC 52 代馴化活毒組試驗豬隻，包括二隻接種 10 劑量、三隻接種 1 劑量、二隻接種 1/10 劑量和二隻同居對照豬，於馴化活毒接種後觀察三週結果均無體溫上升或任何不良反應發生。唯接種後 21 天內有三隻接種小豬可測得病毒血症(表四和表六)。至接種後 21 天即攻擊時，除一隻同居對照豬外其餘均可利用間接螢光標示抗體染色試驗測得血清抗體力價，分別界於 80 至 640 倍間(表一和表三)。攻擊時，將本組三隻接種 1 劑量、二隻接種 1/10 劑量豬隻移入另外二隻攻擊對照豬之豬舍內，並以 PRRSV-TD-PAM 2 野外分離毒攻擊。而剩餘二隻接種 10 劑量和二隻同居對照豬則留於原豬舍繼續實施同居感染試驗至第八週為止。攻擊後，從第 3 天起至 14 天間，無論是接種 1 劑量或 1/10 劑量或攻擊對照豬隻均有不等程度之間歇性或連續性數天熱反應發生(40.0-41.3°C)，唯從第 15 天起全部試驗豬隻體溫即告恢復正常而耐過攻擊。攻擊後 26 天內，每隻攻擊試驗豬均曾有病毒血症發生，其中以攻擊後第 7 天時病毒血症的發生頭數最多(表四)。攻擊後一週，馴化毒接種豬隻之血清抗體力價快速上升至 1,280 倍以上，而二隻攻擊對照豬隻亦分別為 80 倍和 1,280 倍(表一)。攻擊後第 26 天全部予以犧牲解剖結果，肉眼上，二隻攻擊對照隻中有一隻於肺臟之左、右尖葉各有直徑約一公分大小之紅色硬化肺炎病變。而二隻接種 1/10 劑量豬隻於右肺尖葉各有一小點局部性早期輕微肺炎病變。其餘試驗豬隻肉眼解

剖上則屬正常。顯示免疫接種與攻擊對照豬隻於攻擊後臨床上雖無顯著差異，但在肉眼病理解剖上接種 1 劑量的 PRRSV-YS-Marc 52 代馴化活毒組試驗豬隻則可獲保護作用。

接種 PRRSV-WS-MARC 62 代馴化活毒組試驗豬隻，包括二隻接種 10 劑量、三隻接種 1 劑量、二隻接種 1/10 劑量和二隻同居對照豬，於馴化活毒接種後觀察三週結果亦均無體溫上升或任何不良反應發生。接種後 21 天內雖未能從試驗豬血清內分離出病毒(表五)，但至接種後第 21 天即攻擊時，二隻同居對照豬中有一隻血清呈現抗體陽轉，間接螢光抗體力價為 640 倍，而其他接種試驗豬抗體力價亦在 160 至 640 倍間(表二和表三)。攻擊時，亦將本組三隻接種 1 劑量、二隻接種 1/10 劑量豬隻移入另外二隻攻擊對照豬之豬舍內，並以 PRRSV-TD-PAM 2 野外分離毒攻擊。剩餘二隻接種 10 劑量和二隻同居對照豬則留於原豬舍繼續實施同居感染試驗至第八週為止。攻擊後，同上組試驗豬一樣亦從第 3 天起至 14 天間，無論是接種 1 劑量或 1/10 劑量或攻擊對照豬隻均有不等程度之間歇性或連續性數天熱反應發生(40.0-41.8°C)，唯從第 15 天起全部豬隻體溫即告恢復正常而耐過攻擊。攻擊後 26 天內，除一隻攻擊對照豬外其餘試驗豬均曾有過病毒血症的發生(表五)。攻擊後一週，豬隻之血清抗體力價快速上升，二隻攻擊對照豬隻分別為 160 倍和 2,560 倍，而其他免疫接種豬亦在 1,280 和 2,560 倍間(表二)。攻擊後第 26 天全部試驗豬隻予以犧牲解剖結果，肉眼上，二隻攻擊對照豬中有一隻於肺臟之左尖葉有一小局部性暗紅色硬變；而另一隻攻擊對照豬則有兩側胸膜性肺炎和心包膜炎，兩側胸膜與肺臟黏著，顯係遭細菌混合感染結果。其餘試驗豬隻則無任何肉眼病變發生。顯示免疫接種與攻擊對照豬隻，於攻擊後臨床上雖無顯著差異，但在肉眼病理解剖上無論接種 1 劑量或 1/10 劑量的 PRRSV-WS-Marc 62 代馴化活毒組試驗豬隻都可獲保護作用。

同居感染試驗組，接種 PRRSV-YS-MARC 52 和接種 PRRSV-WS-MARC 62 代馴化活毒兩組試驗豬隻，自同居感染三週後除

將攻擊試驗豬隻移出外，仍將接種 10 劑量豬隻和同居感染對照豬隻繼續實施同居感染試驗至第八週。其間每週採血分離血清，以分離病毒和抗體測定。結果，接種 PRRSV-YS-MARC 52 代馴化活毒組的二隻同居對照豬隻中一隻於同居至第四週，而另一隻亦於第四、七週時可測得病毒血症(表六)。同居試驗至第三週時，有一隻同居對照豬呈現抗體陽轉，為 640 倍，而至第五週時另一同居對照豬亦相繼呈現抗體陽性反應，抗體價為 640 倍(表三)。接種 PRRSV-WS-MARC 62 代馴化活毒組的二隻同居對照豬隻，每週採血分離病毒結果，雖無法測得病毒血症的存在(表六)，但同居至二週時有一隻呈現抗體陽性反應，抗體力價為 80 倍，至第五週時另一同居對照豬亦相繼呈現抗體陽性反應，抗體價為 320 倍(表三)。顯示無論接種 52 代或 62 代豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒

豬隻皆可藉由排毒方式而感染其同居對照豬。

母豬免疫安全試驗，二隻懷孕 87-93 天且無豬生殖與呼吸綜合症抗體的經產母豬，各別經由肌肉接種 10ml 的 PRRSV-WS-MARC 62 代馴化活毒液後至分娩前非但無任何不良反應發生且與對照母豬一樣按時分別分娩出 8 隻和 10 隻健康小豬。分娩時採集二隻母隻初乳，分離病毒結果均為陰性，而以間接螢光標示抗體染色試驗檢測初乳抗體都在 2,560 倍以上。這兩胎小豬分別於 5 和 6 日齡時採血分離病毒結果皆為陰性，而血清移行抗體價全數界於 160 倍至 1,280 倍間。小豬持續觀察至四週齡離乳時均正常發育與增重，故而另供其他試驗用。顯示高劑量 PRRSV-WS-MARC 62 代馴化活毒除對懷孕母豬安全性高外亦可產生高抗體力價並可藉由初乳而保護其仔豬。

表一、PRRSV-YS-MARC 52 代馴化活毒組試驗豬隻接種和攻擊前後抗體反應情形

豬號	接 種 劑 量	接種後間接螢光抗體力價				攻擊後間接螢光抗體力價			
		0	1	2	3 (週)	1	2	3	4 (週)
3242	1	<20	<20	640	640	≥2560	≥2560	≥2560	≥2560
3442	1	<20	<20	<20	320	1280	≥2560	≥2560	≥2560
3453	1	<20	<20	320	640	≥2560	≥2560	≥2560	≥2560
3457	1/10	<20	<20	160	320	≥2560	≥2560	≥2560	≥2560
3483	1/10	<20	<20	<20	80	1280	≥2560	≥2560	≥2560
3413	攻擊對照	—	—	—	<20	80	1280	1280	1280
3485	攻擊對照	—	—	—	<20	1280	1280	≥2560	≥560

表二、PRRSV-WS-MARC 62 代馴化活毒組試驗豬隻接種和攻擊前後抗體反應情形

豬號	接 種 劑 量	接種後間接螢光抗體力價				攻擊後間接螢光抗體力價			
		0	1	2	3 (週)	1	2	3	4 (週)
3415	1	<20	<20	320	320	1280	≥2560	≥2560	≥2560
3441	1	<20	<20	160	320	≥2560	≥2560	≥2560	≥2560
3443	1	<20	<20	160	320	≥2560	≥2560	≥2560	≥2560
3445	1/10	<20	<20	80	160	≥2560	≥2560	≥2560	≥2560
3446	1/10	<20	<20	80	320	≥2560	≥2560	≥2560	≥2560
3485	攻擊對照	—	—	—	<20	160	1280	1280	1280
3451	攻擊對照	—	—	—	<20	≥2560	≥2560	≥2560	≥2560



## 討論

PRRSV-YS-MARC 52 代, 或 PRRSV-WS-MARC 62 代豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒, 無論是 1/10 劑量或 1 劑量或 10 劑量經肌肉接種於無豬生殖與呼吸綜合症抗體的四週齡小豬後三週內均無任何不良反應發生。顯示野外分離的豬生殖與呼吸綜合症病毒經 MARC-145 株化細胞馴化 52 代後對小豬之病原性已全然消失。但由 PRRSV-YS-MARC 52 代組的二隻同居試驗豬隻分別於同居至第三和第五週時呈現血清抗體陽轉, 而 PRRSV-WS-MARC 62 代組的二隻同居試驗豬隻亦分別於同居至第二和第五週時呈現血清抗體陽轉(表三), 顯示豬生殖與呼吸綜合症 52 代和 62 代馴化毒株雖對小豬雖已無病原性, 然而接種於小豬後都會因排毒而引起同居對照豬隻的感染。此一結果與 Boehringer Ingelheim Animal Health 公司的報告不同。該公司報告指出小豬接種馴化活毒疫苗後 21 天內可由血液和尿液、28 天內可由糞便以及 49 天內可由臟器分離出疫苗毒, 但實施同居感染試驗 56 天卻無法成立。依其解說, 可能是因豬生殖與呼吸綜合症病毒對外界環境抵抗力差的原故。這種差異可能與臺灣氣候較為潮濕, 病毒較易存活, 因而容易引發同居試驗豬的感染有關。

此外, 兩隻懷孕 87-93 天無豬生殖與呼吸綜合症抗體的經產母豬, 分別經由肌肉接種 10 劑量的 PRRSV-WS-MARC 62 馴化活毒結果, 與對照母豬一樣均按時正常分娩出健康小豬, 兩胎合計 18 隻。兩隻母豬的初乳其間接螢光抗體價均在 2,560 倍以上, 且均無法分離出豬生殖與呼吸綜合症病毒。而這 18 隻小豬於 5-6 日齡採血測試結果, 移行抗體價全數界於 160 至 1,280 倍間, 且均無法分離出病毒。顯示馴化活毒除對懷孕母豬之安全性高外, 亦可產生高力價抗體保護小豬免遭田間豬生殖與呼吸綜合症病毒的侵襲。此一結果與 Dr. Mengeling 等〔16〕報告似乎有些不同的地方。該報告指出接種豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒的母豬除可造成胎豬子宮內的感染外, 亦可因接種母豬的排毒而引起哺乳小豬的感染, 而子宮內感染馴化活毒的仔豬, 分娩後亦可因排毒而感染其他豬隻。然而, 他們對於馴化活毒疫苗在小豬的免疫效果如何, 可能也和我們一樣因評估不

易而未發現有此類報告。

PRRSV-YS-MARC 52 代組和 PRRSV-WS-MARC 62 代組試驗小豬, 雖然經野外分離毒攻擊後在臨床上與攻擊對照小豬並無顯著差異, 都能耐過野外毒的攻擊, 但在攻擊後第 26 天全部試驗豬予以犧牲結果, 四隻攻擊對照豬有三隻可見不等程度的肺炎病變, 而免疫接種豬中除二隻接種 1/10 劑量 PRRSV-YS-MARC 52 代馴化活毒豬隻各有局部性輕微肺炎病變外其餘均無肉眼病變可見。顯示免疫接種豬與攻擊對照豬於攻擊後臨床上雖無顯著差異, 但起碼在肉眼病理解剖上接種 1 劑量 PRRSV-YS-MARC 52 代馴化活毒豬隻以及接種 1 劑或 1/10 劑的 PRRSV-WS-MARC 62 代馴化活毒豬隻卻可獲得保護作用。

雖然豬生殖與呼吸綜合症馴化活毒於接種小豬後或多或少有其保護作用, 但在實驗室內由於動物舍衛生情況良好, 空間較大, 經野外分離毒攻擊後往往不易顯示其免疫保護作用。這也是時常引發豬生殖與呼吸綜合症是否為豬隻的一種重要傳染病的爭議問題。此一問題往往因人而異, 有人認為很重要, 也有人認為微不足道, 端賴豬場衛生管理和防疫措施及病毒之毒力如何而定。因此, 為求降低生產成本在未有絕對安全而有效疫苗可供使用前, 作好豬場衛生管理和防疫措施乃是防止本病侵害的最佳途徑。若無法作好豬場自衛防疫和衛生管理措施即使採用本疫苗恐怕亦屬多餘。

## 參考文獻

1. 豬繁殖呼吸症候群 (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome) 報告書。臺灣省家畜衛生試驗所。未發表, 1993。
2. 張志成、鍾文彬、林敏雯、翁仲男、楊平政、邱雲棕、張文發、朱瑞民。臺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, NO.4, 268-276, 1993。
3. 張志成、鍾文彬、林敏雯、楊平政、翁仲男、張文發、邱雲棕、劉振軒、朱瑞民。臺灣地區豬繁殖與呼吸道症候群 II·以無特定病原豬人工接種豬繁殖與呼吸道症候群病毒。中華民國獸醫學會雜誌。Vol.19, NO.4, 277-284, 1993。

- 4.黃天祥、陳聖怡、陳金蘭、黎南榮、楊揚輝、劉培柏。臺灣地區豬生殖及呼吸症候群疫情調查。臺灣省政府農林廳八十五年度畜產試驗評議會—八十四年度試驗研究報告書。臺灣省家畜衛生試驗所八十四年八月編印。397-404, 1995。
- 5.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。臺灣省畜衛研報 No.32 : 9-16, 1996。
- 6.Ahl R, Pensaert M, Robertson IB, Terpstra C, Sande van der, Walker KJ, White ME, Meredith M. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS or blue-eared pig disease). *Vet. Rec.* 130:87-89. 1992.
- 7.Albina E, Leforban Y, Baron T, Plana Duran J, Vannier P. An enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) for the detection of antibodies to the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) virus. *Ann. Rech. Vet.* 23, 167-176,1992.
- 8.American Association Of Swine Practitioners Newsletter. Vol. 4, No. 4. July-August, 1992.
- 9.Busse von FW, Janthur M Alt Irmgard, Neuman M, Schoss P. Epidemiologische untersuchungen im zusammenhang mit dem auftreten des seuchenhaften spatoborts der sauen im weserEms-Gebiet (NordwestDeutschland). *Tierarztl Umschau* 46:708-714. 1991.
- 10.Collins JE, Benfield DA, Christianson WT, Harris L, Hennings JC, Shaw DP, Goyal SM, McCullough S, Morrison RB, Joo SH, Gorcyca D, Chladek D. Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus(Isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. *J.Vet.Diagn.Invest.* 4:117-126. 1992.
- 11.Commission of the European Communities, Directorate General for Agriculture. Porcine respiratory and reproductive failure syndrome. Proc Seminar on Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome in Brussels. VI/B/II.2. 1991.
- 12.Dea S, Bilodeau R, Athanaseous R, Sauvageau R, Martineau G. PRRS syndrome in Quebec: isolation of a virus serologically related to Lelystad virus. *Vet. Rec.* 130:167.1992.
- 13.Keffaber KK. Reproductive failure of unknown etiology. *ASSP Newsletter.* 2:1-10. 1989.
- 14.Lindhaus W, Lindhaus B. Ratselhafte Schweinekrankheit. *Der prakitsche Tierzat* 5:423-425. 1991.
- 15.Loula T. Mystery pig disease. *Agri-Practice* 12:23-34. 1991.
- 16.Mengeling WL, Kelly M Lager, Vorwald Ann C. An overview on vaccination for porcine reproductive and respiratory syndrome. Allen D. Lemans Swine Conference. 139-142. 1996.
- 17.Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL. Virus taxonomy, sixth report of the international committe on taxonomy of viruses. *Arch. Virol. Suppl* 10:412-415. 1995.
- 18.Ohlinger VF, Weiland F, Haas B, Visser N, Ahl R, Mettenleiter T C, Weiland L, Rziba HJ, Saalmuller A, Straub OC, Der "Seuchenhafte spatabort beim schwein" - Ein beitrag zur atiologie des " porcine reproductive and respiratory syndrome(PRRS)". *Tierarztl Umschau* 46:703-708. 1991.
- 19.Wensvoort G, Terpstra C, Pol JMA, Ter Laak EA. Mystery swine disease in the Netherlands: The isolation of Lelystad virus.*Vet. Q.* 13: 121-130. 1991.



## **Safety and Efficacy Evaluations of the Attenuated Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Viruses**

Huang T. S., M. H. Jong, S. H. Lee, H. L. Chen and S. Y. Lin

National Institute for Animal Health, Council of Agriculture, Executive Yuan

### **SUMMARY**

Twenty-two piglets without antibody titer against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus were inoculated with two attenuated PRRS viruses, PRRSV-YS-MARC 52 and PRRSV-WS-MARC 62, to evaluate the safety and efficacy. On the 21th days post vaccination, 10 pigs vaccinated with one and one-tenth doses of PRRSV-YS-MARC 52 and PRRSV-WS-MARC 62 were challenged with the field isolate, PRRSV-TD-PAM2. All of the challenged pigs were sacrificed and examined for gross lesions on the 26th days post challenge. Results demonstrated that both the PRRSV-YS-MARC 52 and the PRRSV-WS-MARC 62 were safe for pigs either they received one or one-tenth dose of viruses. For contact infection, all of the 4 pigs, which were penned with the infected pigs, seroconverted to positive on the 5th weeks post infection. These results indicated that piglets received either the PRRSV-YS-MARC 52 or the PRRSV-WS-MARC 62 virus excreted viruses and infected new hosts. In addition, two pregnant sows received 10 doses of PRRSV-WS-MARC 62 at the 87th-93th days of gestation and they delivered 18 healthy piglets later. The colostrum from both sows contained titers ( $>2,560X$ ) of indirect fluorescent antibodies. Our studies suggest that the PRRS attenuated viruses are safe for all age of pigs.

***Keywords:*** *Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Attenuated vaccine*