

口蹄疫母體移行抗體對仔牛疫苗免疫反應之影響

¹ 李明昌 ¹ 鄭益謙 ² 蔡清恩 ³ 林有良 ³ 陳靜美 ³ 鍾明華 ^{*1} 陳世平

¹ 台灣動物科技研究所動物醫學組 苗栗縣

² 國立屏東科技大學獸醫學系 屏東縣

³ 行政院農業委員會家畜衛生試驗所豬瘟組 台北縣

(收稿日期：92年9月2日。接受日期：93年6月4日)

摘要 本試驗的目的係在研究台灣仔牛母體口蹄疫移行抗體力價之半衰期以及探討移行抗體對仔牛經首次口蹄疫疫苗免疫後之抗體力價影響。於兩個牛場選取1月齡仔牛各60頭，每隔1個月採血一次（30日齡至150日齡）進行母體口蹄疫移行抗體力價測定，並進行回歸分析以估計仔牛口蹄疫移行抗體之半衰期。結果顯示，仔牛移行抗體之半衰期分別為18及21天（平均為20天），其移行抗體力價平均在70日齡後降至32倍以下。同時亦選取具母體移行抗體之仔牛45頭，分析移行抗體對仔牛經市售口蹄疫疫苗免疫後3週之抗體力價影響。結果顯示，仔牛移行抗體力價若低於256倍（ \log_{10} 值 = 2.46），接受疫苗注射3週後均可激發免疫反應。綜合結果顯示仔牛首次免疫之時機應為30日齡至70日齡之間。[李明昌、鄭益謙、蔡清恩、林有良、陳靜美、鍾明華、*陳世平。口蹄疫母體移行抗體對仔牛疫苗免疫反應之影響。台灣獸醫誌 30 (3)：200-205, 2004。*聯絡人 TEL：037-585 876, FAX：037-585 850, E-mail：spchen@mail.atit.org.tw]

關鍵詞：仔牛，口蹄疫，半衰期，移行抗體，中和抗體

緒言

口蹄疫 (foot-and-mouth disease, FMD) 是由小核糖核酸病毒科 (Picornaviridae) 鵝口瘡病毒屬 (Aphthovirus) 之病毒所引起的惡性傳染病，其可藉由空氣或接觸傳染，引起包括牛、羊、豬及野生偶蹄類動物的口、蹄、乳房及乳頭的水泡病變 [1,4,7]。由於其具有高度傳染力以及會造成感染地區或國家嚴重的經濟損失，世界動物衛生組織 (Office des International Epizooties, OIE) 將之列為 A 表傳染病的第一位，因此各國無不重視口蹄疫的預防與輸入畜產品之管制措施，以防止口蹄疫入侵 [2]。台灣於 1997 年爆發豬口蹄疫疫情，為我國畜牧史上最大災難，造成的直接經濟損失達 3.786 億美元以上 [15]。而 1999 年 6 月於金門首度在無臨床症狀牛隻檢測到口蹄疫病毒與抗體，2000 年 1 月於雲林崙背之乳牛首度見到病變並證實為口

蹄疫感染，該株病毒則命名為 O/TAW/99 與豬感染之 O/TAW/97 不同 [8]。

台灣乳牛及肉牛的密集飼養，受傳染病侵襲的威脅與日俱增，而台灣最近幾年發生的傳染病中，又以口蹄疫最為重要，若再爆發本病，酪農個人及國家的經濟將蒙受嚴重損失，為提高我國牛隻對口蹄疫的抵抗力及預防牛隻口蹄疫疫情的再發生，對於國內牛隻的口蹄疫疫苗施打策略，雖有國外經驗及廠商建議供參，仍應先瞭解本土現況，以擬定適合國內牛隻的免疫計畫，作為現場免疫的參考。根據 Sadir [13] 的研究報告指出，仔牛之免疫適期受移行抗體的影響，即疫苗免疫反應和從初乳而來的移行抗體消長，有著極密切的關係，若移行抗體過高時，大量的抗體會中和疫苗的病毒抗原，使其失去效力而無法有效的刺激淋巴組織產生更高的保護力價，但是，移行抗體力價過低時，則無法有效的保護仔牛免於野外病毒的感染。因此，免疫計畫的訂定，首應了解仔牛移行抗體的消長。針對以上問

題，本計畫對定期所採取之初生仔牛血清樣本，測定其中和抗體力價，據之估計仔牛口蹄疫移行抗體的半衰期。另一方面，也進行移行抗體對仔牛經市售口蹄疫疫苗免疫一劑後之抗體力價影響，以探討仔牛適當之基礎免疫時機，達到最佳預防效果。

材料與方法

仔牛移行抗體及半衰期之探討 挑選位於台南 (farm A) 及屏東 (farm B) 某兩家肉牛飼養場，採集該場自全國主要酪農區如：彰化崙背、台南柳營及屏東里港等地區所收集之 1 月齡左右仔牛血液樣本，每場各 60 頭，以每月採血一次之頻度 (Table 1) 連續採血 4 或 5 次，檢測其口蹄疫血清中和 (Serum neutralization, SN) 抗體力價，以瞭解仔牛口蹄疫母體移行抗體 (Maternally derived antibodies, MDA) 力價之消長，並進行線性回歸分析，估計仔牛口蹄疫 MDA 力價之半衰期。

具 MDA 仔牛經疫苗免疫後 SN 抗體力價之消長 於嘉義某乳牛飼養場挑選具 MDA 之仔牛 45 頭 (1 至 5 月齡)，進行市售口蹄疫疫苗免疫注射，於疫苗注射前及注射後三週採集血液樣本，測定及分析其 SN 抗體力價。

口蹄疫疫苗 本試驗以俄羅斯 (All-Russian Research Institute for Animal Health) 所製造之市售口蹄疫疫苗免疫仔牛，該疫苗為含 O/TAW/97 病毒株之單價不活化油質佐劑口蹄疫疫苗，其批號為 498，抗原含量為 15 PD₅₀。

血清中和 (SN) 抗體力價測定 依據 OIE [9] 所提供之檢測方法，於行政院農業委員會家畜衛生試驗所負壓實驗室進行，步驟如下：待測血清先經 56°C 非動化處理 30 分鐘。於 96 孔細胞微量培養盤之各孔內加入 50 μL 之待測血清，經 2 倍連續稀釋後，再加入等量含有 100 TCID₅₀ 的 O/TAW/97 病毒株之標準病毒液後，於 37°C 含 5% (v/v) CO₂ 之培養箱內感作 60 分鐘。之後，再加入 100 μL 含有 2×10⁶ 細胞/mL 的 BHK-21 細胞懸浮液，置回 37°C 含 5% (v/v) CO₂ 培養箱內繼續培養。48 小

時後，檢視細胞病變現象 (cytopathic effects, CPE) 的產生情形並以可抑制 50% 細胞出現 CPE 之血清最高稀釋倍數或其 Log₁₀ 值 (log₁₀SN₅₀) 表示 SN 抗體力價，抗體力價 ≤ 3 倍 (Log₁₀ 值 ≤ 0.48) 者以 0 來計算。

結果

仔牛移行抗體 (MDA) 之消長 根據由各場連續採血並測得之仔牛 MDA 力價數據，進行線性回歸分析 (Fig. 1) 以估計仔牛 MDA 力價之半衰期，所得之最適方程式 (the line of best fit) 及其相關決定係數 (coefficient of determination: R² value) 分別如下：A 飼養場 MDA 力價消長方程式為 Y = 2.5516 - 0.4224X (R² = 0.9667)；B 飼養場 MDA 力價消長方程式為 Y = 2.5528 - 0.4558X (R² = 0.9516)。由上列方程式可推算各飼養仔牛 MDA 力價之半衰期，經計算可得仔牛 MDA 力價之半衰期分別為 21 及 18 天 (平均為 20 天)，而在 68-73 日齡 (平均為 70 日齡) 以後，仔牛 MDA 力價幾何平均值降至 32 倍 (Log₁₀ 值 = 1.5) 以下。另外，依據上述方程式計算，仔牛 MDA 力價自出生開始到降至沒有抗體 (≤ 3 倍) 需 5.6 及 6 個月，平均為 5.8 個月 (Fig. 1)。

具 MDA 仔牛經疫苗免疫後抗體力價之消長 將仔牛免疫前之 MDA 力價 (Log₁₀ 值) 設為 X 軸座標，而將仔牛經免疫後三週之 SN 抗體力價 (Log₁₀ 值) 與免疫前中和抗體力價 (Log₁₀ 值) 之差設為 Y 軸座標，並進行線性回歸分析 (Fig. 2)，所得之最適方程式 (the line of best fit) 及其相關決定係數 (coefficient of determination: R² value) 分別為 Y = 2.3414 - 0.9176X 及 R² = 0.6892)。經計算後顯示，若仔牛於 MDA 力價低於 256 倍 (Log₁₀ 值 = 2.46) 時進行免疫，其疫苗注射三週後之抗體力價較免疫當天為高。

討論

本研究旨在藉由探討仔牛口蹄疫 MDA 力價之

Table 1. Bleeding schedules in calves at farms A and B

Farms	No. of calves	Mean age (days) at first bleeding	Bleeding schedule
Farm A	60	27.9 + 4.4	30, 60, 90, 120, 150 dpp ^a
Farm B	60	30.5 + 2.5	30, 60, 90, 120 dpp ^a

dpp^a = days post parturition.

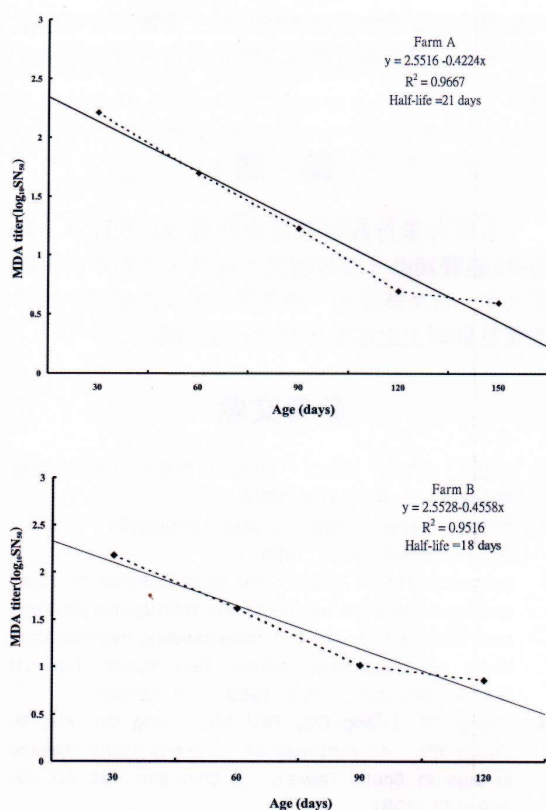


Fig. 1 Decay rates of maternally derived antibody (MDA) in calves in farms A and B.

消長，以求得適合國內仔牛的口蹄疫疫苗免疫時機，作為現場免疫的參考。依據本試驗所得之方程式來推算，國內仔牛口蹄疫MDA力價之半衰期為18-21天，此結果與國外報告之仔牛口蹄疫MDA力價半衰期21-21.5天大致相符[10,13]。而國內仔牛口蹄疫MDA力價自出生開始到降至沒有抗體(≤ 3 倍)平均約需5.8個月，也與Spath等[14]報告的6個月左右大致相同。

族群內80%以上動物具有保護作用之抗體才能防止疾病的爆發[6]，而Bengelsdorff[3]之試驗結果顯示，牛隻口蹄疫SN抗體力價 > 20 倍(Log_{10} 值=1.3)者，其病毒接種後之保護效果為95%，若SN抗體力價 ≤ 20 倍者則無保護作用。另外，Pay與Hingley[11,12]提到牛隻SN抗體力價最少要達20倍(Log_{10} 值=1.34)-100倍(Log_{10} 值=2.06)才具有50%以上的保護力，但此數值會隨著免疫牛隻所用疫苗株及攻毒所用病毒株的不同，須重新計算修正。Spath等[14]利用ELISA測定牛隻口蹄疫抗體力價，結果顯示牛隻ELISA抗體力價

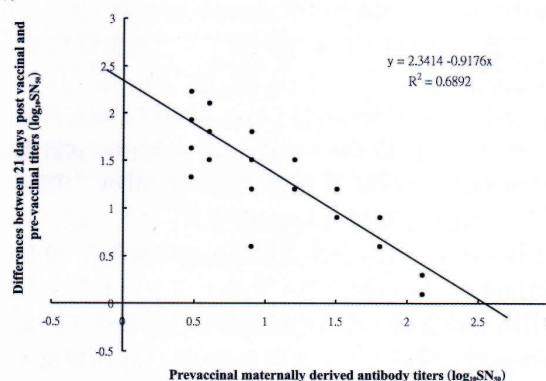


Fig. 2 Effect of maternally derived antibody (MDA) on the antibody titers of calves at 21 days after vaccination. Regression of post-vaccinal antibody increase/decrease against the level of MDA at the time of vaccination of calves.

> 100 倍(Log_{10} 值=2.1)者，其病毒接種後具保護作用。根據口蹄疫專家Dr. Kitching的看法，ELISA抗體力價100倍約等於SN抗體力價32倍(Personal communication)。因此，牛隻SN抗體力價若能維持在32倍以上，攻毒時即具保護效應，本研究也採用MDA力價降至32倍所需日數，作為本試驗中仔牛免疫適期之參考依據。

仔牛MDA由母牛初乳傳遞之理論，早已被廣泛研究且得到證實[10,13,14]，仔牛的年齡及其MDA力價的高低對仔牛口蹄疫疫苗施打後的反應有相當的影響[13,14]，直接影響了免疫適期的選擇。本研究結果也顯示母體移行抗體會影響仔牛疫苗免疫後3週之抗體力價，兩者間呈負相關($r = -0.83$; Fig. 2)，若仔牛於MDA力價256倍(Log_{10} 值=2.46)以上時進行免疫，其接種21天後之抗體力價不增反減，顯示牛隻無法產生良好的抗體反應；而仔牛MDA力價在100倍(Log_{10} 值=2)、32倍(Log_{10} 值=1.5)或10倍(Log_{10} 值=1)左右時予以接種，其免疫後3週之SN抗體力價皆達320倍其 Log_{10} 值則分別上升約0.5、1及1.5，顯示可激發免疫效果。雖然仔牛MDA力價在10倍上下時施以疫苗注射，可激發較前兩者高的抗體力價上升幅度，但是仔牛於此時抗體力價降得過低，恐將暴露在病毒的威脅下。所以仔牛免疫時機的選擇應該在其MDA力價低於256倍且高於被動保護閾值(Passive protection threshold)，即MDA能有效保護仔牛的最小力價時進行。本研究依上述之32倍作為抗體保護閾值的最低值。由結

果顯示國內各年齡層仔牛MDA平均力價分別為：一月齡為160倍（ Log_{10} 值=2.2）、二月齡為52倍（ Log_{10} 值=1.7）、三月齡為13倍（ Log_{10} 值=1.1）、四月齡為6倍（ Log_{10} 值=0.7）而五月齡為4倍（ Log_{10} 值=0.6）（Fig. 1.）。另由程式計算可得，仔牛平均在70日齡以後，其MDA力價幾何平均值降至32倍（ Log_{10} 值=1.5）以下。綜合以上結果顯示，國內仔牛之首次免疫時機應在30日齡以後至70日齡之前，此時，仔牛仍有足夠的MDA作為保護，而且口蹄疫疫苗注射後皆可誘發SN抗體力價的上升，此與Sadir等[13]所提及，使用油質佐劑口蹄疫疫苗於仔牛出生後30至60日齡間實施免疫注射皆可引發高度且足夠的口蹄疫保護力價之研究結果大致相同。

另外，值得一提的是，目前台灣牛隻所發生的口蹄疫是O/TAW/99，且O/TAW/97只會感染豬隻並不會感染牛隻[8]。然而現階段台灣牛隻所用的疫苗是O/TAW/97病毒株，且牛隻的中和抗體力價檢測也用O/TAW/97，但對牛隻而言真正應對付的卻是O/TAW/99，不禁會讓人對目前的疫苗效果及中和抗體力價檢測結果產生疑慮。然根據行政院農業委員會家畜衛生試驗所的資料指出（data not shown），就疫苗效果方面以評估疫苗病毒株交叉保護性的指標 r 值來說，O/TAW/97對O/TAW/99病毒株的 r 值為0.7，顯示具有足夠的保護率。而就中和抗體力價檢測方面，使用O/TAW/97或O/TAW/99病毒株所得的檢測結果幾乎相同，加上O/TAW/99病毒株造成BHK細胞產生CPE所需時間較長，因此，使用O/TAW/97來進行中和抗體力價檢測，可收節省檢測時間及降低病毒交叉污染機會之效。

此外，本次試驗使用的市售油質佐劑疫苗其抗原量達 15PD_{50} ，高出目前其他市售疫苗的 $3\text{-}6\text{PD}_{50}$ 兩倍以上，不但可排除仔牛MDA的可能干擾，而且可以有效的誘發仔牛保護力。若使用其他廠牌、批次疫苗是否仍有此一效果，尚需進一步試驗探討。我國於1997年3月份爆發口蹄疫至今是採全面性疫苗免疫及撲殺策略，雖然於去年（2003年5月）台灣已被OIE列名為「使用口蹄疫疫苗的非疫國」，但是由於牛隻對口蹄疫病毒有保毒的現象，可持續達1-3年[5]，著實增加了撲滅工作之困難度與複雜性。而疾病的控制首重預防，定期的疫苗注射是預防疾病的重要措施之一，但是我們也要有疫苗效果並非百分之百的認知，因此必須搭配其它的自衛防疫工作才行。目前口蹄疫撲滅計畫仍處於全面施打疫苗階段，必須靠政府及民間有共識

的繼續推動全面性疫苗預防注射並落實畜牧場自衛防疫，才能讓台灣及早進入停止施打口蹄疫疫苗之階段。

誌謝

本研究承行政院農委會計畫92管理-3.1-動物防-02經費補助，謹致謝忱。同時，亦對本所鄒國銘先生、黃契晴先生、陳美雲小姐及游碧蓮小姐於採樣及檢測上之協助，特此一併致謝。

參考文獻

1. 朱瑞民、楊平政、鄭益謙。綜說：口蹄疫。中華民國獸醫學會雜誌 23: 477-479, 1997。
2. 楊平政、翁仲男、朱瑞民。口蹄疫的預防與控制。1-23。台灣養豬科學研究所編印，1998。
3. Bengelsdorff HJ. Testing the effectiveness of foot-and-mouth disease vaccines: the relationship between test infection results and corresponding neutralization titers of vaccinated cattle. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. Jun 1: 102, 1989. (in German)
4. Chang TC, Chang CC, Tasi SS, Chang GN, Kuo M, Chung WB. An outbreak of foot-and-mouth disease in pigs in South Taiwan. J Chin Soc Vet Sci 23: 269-273, 1997.
5. Doel TR, Williams L, Barnett PV. Emergency vaccination against foot-and-mouth disease: Rate of development of immunity and its implication for the carrier state. Vaccine 12: 592-60, 1994.
6. Doel TR. Optimisation of the immune response to foot-and-mouth disease vaccine. Vaccine 17: 1767-1771, 1999.
7. Gibbs EP, Herniman KA, Lawrnan MJ, Seller RF. Foot-and-mouth disease in British deer: transmission of virus to cattle, sheep; and deer. Vet Rec 96: 558-563, 1975.
8. Huang CC, Jong MH, Lin SY. Characteristics of foot and mouth disease virus in Taiwan. J Vet Med Sci Jul 62: 677-9, 2000.
9. Kitching RP, Mackay DKJ, Barnett PV, Donaldson AI. Foot and mouth disease. In: OIE manual of standards for diagnostic tests and vaccines. Paris: OIE, 77-92, 2000.
10. Nicholls MJ, Black L, Rweyemamu MM, Genovese J, Ferrari R, Hammant CA, Silva E, Umehara O. The effect of maternally derived antibodies on the response of calves to vaccination against foot and mouth disease. J Hyg Camb 92: 105-116, 1984.
11. Pay TWF, Hingley PJ. The use of serum neutralizing antibody assay for the determination of the potency of foot and mouth disease (FMD) vaccines in cattle. Develop Biol Stand 64: 153-161, 1986.
12. Pay TWF, Hingley PJ. Foot and mouth disease vaccine

- potency tests in cattle: the interrelationship of antigen dose, serum neutralizing antibody response and protection from challenge. *Vaccine* 10: 699-706, 1992.
13. Sadir AM, Schudel AA, Laporte O. Response to foot-and mouth disease vaccines in newborn calves. Influence of age, colostral antibodies and adjuvants. *Epidem Inf* 100: 135-144, 1988.
 14. Spath EJA, Smitsaart E, Casaro APE, Fondevila N, Fernandez F, Leunda MR, Compaired D, Buffarini M, Pessi H. Immune response of calves to foot-and-mouth disease virus vaccine emulsified with oil adjuvant. Strategies of vaccination. *Vaccine* 13: 909-14, 1995.
 15. Yang PC, Chu RM, Chung WB, Sung HT. Epidemiological characteristics and financial costs of the 1997 foot-and-mouth disease epidemic in Taiwan. *Vet Rec* 145: 731-734, 1999.

Effect of Maternally-Derived Antibodies on the Immune Response of Calves to Vaccination against Foot-and-Mouth Disease

¹ Ming-Chang LI, ¹ Ivan-Chen CHENG, ² Chin-En TSAI, ³ Yeou-Liang LIN,
³ Ching-Mei CHEN, ³ Ming-Hwa JONG, and *¹ Shih-Ping CHEN

¹ *Division of Animal Medicine, Animal Technology Institute Taiwan, Chunan, Miaoli, Taiwan 350, ROC*

² *Department of Veterinary Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan 912, ROC*

³ *Department of Hog Cholera, National Institute for Animal Health, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taipei, Taiwan 251, ROC*

(Received: September, 2, 2004. Accepted: June, 4, 2004.)

ABSTRACT The purposes of this study was to investigate the decay rate of maternally derived antibodies (MDA) titers against foot-and-mouth disease virus in calves and the effect of MDA on the response of calves to primary vaccination against foot-and-mouth disease in Taiwan. Two groups of one-month-old newborn calves (60 calves from farm A, 60 calves from farm B) were used in this study. Serum samples were periodically collected from 30 to 150 days post parturition (dpp). Sample sera were examined by the serum neutralization tests according to the method described in the OIE manual. Regression analysis was used to calculate the decay rate of MDA and the mean half-life was estimated. The results indicated that the average half-life of MDA of calves was 20 days. The mean time of MDA titers of calves dropped to $1.5 \log_{10} \text{SN}_{50}$ was 70 days. In the meantime, 45 calves possessing a wide range of MDA titers at the time of vaccination were used to evaluate the effect of MDA on the primary response of calves at 21 days post-vaccination. Result revealed that calves with MDA titers lower than $2.46 \log_{10} \text{SN}_{50}$ were able to respond to FMD commercial vaccine used in this study at 3 weeks post-vaccination. In conclusion, the most suitable time for calves to get primary FMD vaccination is between 30 to 70 dpp. [Li MC, Cheng IC, Tsai CE, Lin YL, Chen CM, Jong MH, *Chen SP. Effect of maternally-derived antibodies on the immune response of calves to vaccination against foot-and-mouth disease. *Taiwan Vet J.* 30(3):200-205, 2004, *Corresponding author TEL: 037-585 876, FAX: 037-585 850, E-mail: spchen@mail.atit.org.tw]

Key words: Calf, Foot-and-mouth disease, Half-life, Maternally derived antibodies, Neutralizing antibodies