

荷蘭泌乳牛於不同免疫適期施打不活化牛流行熱疫苗 對抗體力價之影響⁽¹⁾

陳一明⁽²⁾ 陳怡璇⁽²⁾ 李國華⁽²⁾ 涂柏安⁽²⁾⁽³⁾

收件日期：109 年 4 月 21 日；接受日期：109 年 9 月 21 日

摘 要

牛流行熱 (Bovine Ephemeral Fever, BEF) 是牛隻重要的病毒性疾病，我國在防治 BEF 策略上廣泛使用不活化疫苗，以提升整體牛群於年度易感期之疫苗保護力。本試驗以不同疫苗株之不活化疫苗進行荷蘭牛 1 年 2 次 (A 組) 或 1 年 3 次 (B 組) 之免疫施打次數，並採集血清監測牛隻牛流行熱病毒 (BEF virus, BEFV) 中和抗體力價、分析施打前後中和抗體力價上升倍數、無反應牛及弱反應牛之比例，進行免疫適期的評估，以達維護牛群健康及減少疫病發生率。結果顯示，牛隻施打不同 BEFV 疫苗株後對各階段之抗體力價無顯著影響。分析牛隻施打疫苗前後中和抗體上升倍數，顯示 A 組於第一劑疫苗施打後 3 個月、6 個月及第二劑疫苗施打後 6 個月，其抗體較施打前分別上升 2.48、2.68 及 1.37 倍；而 B 組於第一劑疫苗後 4 個月、第二劑疫苗施打後 4 個月及第三劑疫苗施打後 4 個月，抗體較施打前分別上升 4.22、3.96 及 1.87 倍；B 組於不同階段之抗體上升倍數皆大於 A 組 ($P < 0.05$)。本試驗顯示每年實施 3 次 BEF 不活化疫苗較 2 次者可得到更高的中和抗體力價保護效果，預期可以提昇泌乳牛的使用年限及生產性能並減少經濟損失，並可作為規劃 BEF 疫苗免疫計畫之參考依據。落實仔牛於 4 至 6 月齡時完成 2 劑 BEF 疫苗 (間隔 4 週) 之基礎免疫，其後至少每 6 個月 (北半球於 3 月及 8 月) 補強施打 1 劑疫苗，若需確保年度牛隻具有高抗體保護力價則建議應每 4 個月補強施打 1 劑，即每年施打 3 次不活化疫苗為佳。

關鍵詞：牛流行熱、免疫適期、抗體力價。

緒 言

牛流行熱 (Bovine Ephemeral Fever, BEF) 為發生於牛及水牛的重要病毒性疾病，通常好發於熱帶及亞熱帶的亞洲、非洲、中東、澳洲及東南亞國家 (Walker, 2005)。牛流行熱病毒 (BEF virus, BEFV) 屬於 RNA 病毒、具有快速變異的能力 (Lee *et al.*, 2012)。目前 BEF 疫苗分為減毒及不活化疫苗，減毒疫苗可提供更長時間的免疫保護力 (Tzipori and Spradbrow, 1973; Tzipori and Spradbrow, 1978; Vanselow *et al.*, 1995)，但不活化疫苗則較為安全，較無發生疫苗施打後毒性恢復及臨床感染症狀的可能 (Della-Porta and Snowdon, 1979; Aziz-Boaron *et al.*, 2013)。

臺灣本土 BEF 曾經於 1967、1984、1989、1996、1999 和 2001 年爆發過 6 次大流行，由於氣候變遷熱季提早來臨及雨季延長，爆發流行的時間間距縮短且流行期有延長的趨勢 (丁, 2013)。發病牛隻會有精神沉鬱、呼吸急促、喘息或發燒 (輕微至 $41 - 42^{\circ}\text{C}$)，可能伴隨流涎現象、口鼻分泌物增加與泌乳量下降，有些病牛可見肌肉震顫、僵直，病牛因關節疼痛而跛行或躺臥不起 (Nandi and Negi, 1999)；嚴重牛隻可見瀰漫性肺氣腫，最後因心肺功能衰竭死亡 (George, 1985)。部分酪農反應施打 BEF 疫苗之保護效力不佳，文獻指出影響免疫效力的原因包括：疫苗保存方式不當、未按照期程施打、遺漏仔牛免疫計畫及未注重環境消毒及生物安全 (謝等, 2005)。目前現場一般免疫計畫為小牛滿 4 - 6 月齡開始施行第 1 劑疫苗施打後，間隔約 4 週後補強施打第 2 劑為基礎免疫。完成基礎免疫的牛隻，每年 3 月及 8 月各補強施打 1 劑，每年合計施打 2 劑疫苗。BEF 雖好發於夏、秋季節，但由於臺灣的氣候條件對蚊蟲媒介的根除不容易，隨著牛群抗體的消長，需完整的免疫方能防治週期性的爆發。

疫苗施打期程應符合臺灣 BEF 流行季節之有效保護力，因此本試驗以採集血清監測牛隻 BEF 中和抗體力價、施打前後中和抗體力價上升倍數及無反應牛之比例，進行免疫適期的評估，以達維護牛群健康及減少疫病發生率。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2651 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所新竹分所。

(3) 通訊作者，E-mail: tpa@mail.tlri.gov.tw。

材料與方法

本研究涉及之動物試驗於新竹分所執行，動物之使用、飼養及實驗內容皆依據新竹分所實驗動物照護與使用委員會批准之文件與試驗準則進行。

I. 試驗動物及不活化 BEF 疫苗

本試驗使用甲及乙牌 BEF 不活化疫苗，評估不同廠牌疫苗株是否影響牛隻免疫反應。甲牌 BEF 不活化疫苗為以本土 BEFV 增殖於組織培養細胞，經不活化後與水質鋁膠佐劑混合製成，不活化前含有病毒力價達每劑量 (3 mL) $10^{6.48}$ TCID₅₀ (tissue culture infectious dose, TCID₅₀)。乙牌 BEF 不活化疫苗採用雙相油質佐劑，不活化前含有病毒力價達每劑 $10^{6.48}$ TCID₅₀ (3 mL) 含 BEFV Tn73 株 10^8 TCID₅₀ 及 BEFV Tn88128 株不活化病毒抗原 10^8 TCID₅₀。本試驗隨機挑選 60 頭泌乳牛分成 A 與 B 組，每組 30 頭。A 組為 11 頭為初產牛，19 頭為經產牛；B 組為 12 頭初產牛，18 頭為經產牛。A 組牛隻皆於 2018 年 2 月進行第 1 次疫苗施打，於 2018 年 8 月進行第 2 次疫苗施打，一年施打 2 劑；其中 15 頭牛隻施打甲牌 BEF 不活化疫苗，另外 15 頭牛隻施打乙牌 BEF 不活化疫苗。B 組 30 頭牛隻皆於 2018 年 2、6、10 月進行疫苗施打，一年施打 3 劑；其中 15 頭牛隻施打甲牌 BEF 不活化疫苗，另外 15 頭牛隻施打乙牌 BEF 不活化疫苗。

II. 血清中和抗體力價測定

第 1 次疫苗施打前先利用抗凝管採血，離心後取上清液之血清分析抗體力價，作為牛隻施打疫苗前之抗體力價。疫苗施打後，A 組於第 1 次施打後 3 個月、6 個月及第 2 次施打後 6 個月進行採血；B 組於第 1 次施打後 4 個月、第 2 次施打後 4 個月及第 3 次施打後 4 個月進行採血，並分析中和抗體力價，以備後續評估體內中和抗體消長。中和抗體力價分析係以 96 孔滅菌微量培養盤，取不活化處理的血清，以無菌培養液從 2 倍稀釋至 1,024 倍，每個稀釋倍數至少做 2 孔，每孔 0.05 mL。每孔皆加入 0.05 mL 含有 10^2 TCID₅₀ BEF 疫苗株病毒。將培養盤置於 34°C 1 小時。每孔加入 3×10^4 BHK-21 細胞 / 0.1 mL 的細胞懸浮液 0.1 mL。將培養盤置於 34°C 5% CO₂ 培養箱 3 至 5 天，由細胞產生之細胞病變 (CPE)，評估其中和抗體力價 (丁，2013)。

III. 免疫後抗體力價消長及免疫前後上升倍數統計分析

各試驗處理組之血清中和抗體力價以幾何平均計算，使用統計分析軟體 (SAS, 2014) 中一般線性模式 (General Linear Model, GLM) 分析；複因子設計中固定因子僅包含不同免疫適期 (A 組一年施打 2 劑、B 組一年施打 3 劑) 及不同疫苗株 (甲牌及乙牌)，以最小平方均值法 (Least squares means, LSMEANS) 進行比較，以 $P < 0.05$ 表示具有顯著差異。因預備試驗顯示此二因子交感效應並未達顯著，因此，後續分析並未納入交感效應。若牛隻施打前後 BEFV 抗體力價上升倍數為 1 倍者定義為無反應牛，若施打前後上升倍數 < 8 倍者則定義為弱反應牛 (Aziz-Boaron *et al.*, 2014)，採用 z-test for two proportions / Two-tailed test 檢定， $P < 0.05$ 為顯著差異。

結 果

I. 施打疫苗後中和抗體力價變化情形

施打疫苗前之 BEFV 抗體力價分別為 1 : 209 (甲牌 A 組， $CI_{95\%} = 133 - 285$)、1 : 100 (甲牌 B 組， $CI_{95\%} = 21 - 179$)、1 : 168 (乙牌 A 組， $CI_{95\%} = 82 - 253$) 及 1 : 156 (乙牌 B 組， $CI_{95\%} = 79 - 232$)；施打第一劑疫苗 BEFV 血清中和抗體力價為 3 個月後 1 : 466 (甲牌 A 組， $CI_{95\%} = 255 - 678$) 及 1 : 570 (乙牌 A 組， $CI_{95\%} = 247 - 893$)、4 個月後 1 : 380 (甲牌 B 組， $CI_{95\%} = 116 - 644$) 及 1 : 419 (乙牌 B 組， $CI_{95\%} = 200 - 639$)；施打第一劑疫苗 BEFV 血清中和抗體力價 6 個月後 1 : 437 (甲牌 A 組， $CI_{95\%} = 170 - 703$) 及 1 : 521 (乙牌 A 組， $CI_{95\%} = 108 - 934$)、施打第二劑疫苗 BEFV 血清中和抗體力價 4 個月後 1 : 356 (甲牌 B 組， $CI_{95\%} = 100 - 612$) 及 1 : 544 (乙牌 B 組， $CI_{95\%} = 297 - 790$)；施打第二劑疫苗 BEFV 血清中和抗體力價 6 個月後 1 : 427 (甲牌 A 組， $CI_{95\%} = 174 - 679$) 及 1 : 205 (乙牌 A 組， $CI_{95\%} = 137 - 549$)、施打第三劑疫苗 BEFV 血清中和抗體力價 4 個月後 1 : 230 (甲牌 B 組， $CI_{95\%} = 73 - 533$) 及 1 : 159 (乙牌 B 組， $CI_{95\%} = 93 - 412$)；結果顯示，施打不同 BEFV 疫苗株及組別對於牛隻施打後各階段之抗體力價無顯著影響 (表 1)。此外，試驗泌乳牛群中在不同產次間 (初產或經產)，對施打疫苗前後抗體力價上升倍數不顯著。在年齡因子 (3 - 9 歲) 間，亦無顯著差異。

II. 施打疫苗前後中和抗體上升倍數

計算個別牛隻施打疫苗前後之 BEFV 中和抗體力價上升倍數 (圖 1)，結果顯示 A 組於第一劑疫苗施打後 3 個月、6 個月及第二劑疫苗施打 6 個月後，抗體力價較施打前上升 2.48、2.68 及 1.37 倍；而 B 組於第一劑疫苗施打後 4 個月、第二劑疫苗施打後 4 個月及第三劑疫苗施打 4 個月後，抗體力價較施打前上升 4.22、3.96 及 1.87 倍；B 組於不同階段之抗體力價上升倍數皆顯著大於 A 組 ($P < 0.05$)。若個別計算牛隻施打疫苗前後之 BEFV 中和抗體力價上升倍數，結果顯示施打甲牌之第一劑疫苗後 3 個月、6 個月及甲牌第二劑疫苗 6 個月後，抗體力價較施打前上升 3.49、3.47 及 1.53 倍；而施打乙牌之第一劑疫苗後 4 個月、乙牌第二劑疫苗後 4 個月及第三劑疫苗 4 個月後，抗體力價較施打前上升 3.21、3.16 及 1.67 倍；顯示施打不同 BEFV 疫苗株之疫苗對於個別牛隻不同階段之抗體上升倍數無顯著影響。結果顯示，比較施打疫苗前後之抗體力價上升倍數，A 組 (98%) 無反應加上弱反應之比例顯著較高於 B 組 (72%) ($P < 0.01$)，而無反應之比例 B 組 (31%) 則顯著低於 A 組 (54%) ($P < 0.05$)，但弱反應之比例 A 組 (43%) 與 B 組 (41%) 則無顯著差異 (圖 2)。

表 1. 施打甲乙廠牌疫苗不同免疫適期之 BEFV 抗體力價結果

Table 1. The result of 甲 and 乙 brands BEFV antibody titer on different vaccination program

BEFV antibody titer	Group	Before vaccination (2018/2)	3/4 months post 1 st vaccination (2018/5/2018/6)	6/4 months post 1 st /2 nd vaccination (2018/8/2018/10)	6/4 months post 2 nd /3 rd vaccination (2019/2)
甲 brand	A	1 : 209 (CI _{95%} = 133 – 285)	1 : 466 (CI _{95%} = 255 – 678)	1 : 437 (CI _{95%} = 170 – 703)	1 : 427 (CI _{95%} = 174 – 679)
	B	1 : 100 (CI _{95%} = 21 – 179)	1 : 380 (CI _{95%} = 116 – 644)	1 : 356 (CI _{95%} = 100 – 612)	1 : 230 (CI _{95%} = 73 – 533)
乙 brand	A	1 : 168 (CI _{95%} = 82 – 253)	1 : 570 (CI _{95%} = 247 – 893)	1 : 521 (CI _{95%} = 108 – 934)	1 : 205 (CI _{95%} = 137 – 549)
	B	1 : 156 (CI _{95%} = 79 – 232)	1 : 419 (CI _{95%} = 200 – 639)	1 : 544 (CI _{95%} = 297 – 790)	1 : 159 (CI _{95%} = 93 – 412)

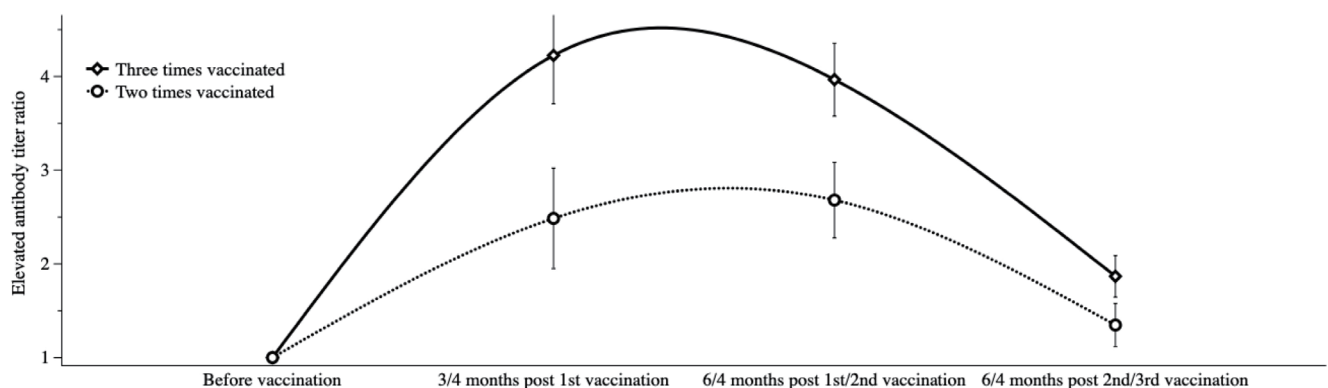


圖 1. 牛流行熱不活化疫苗施打後 4 個不同時間點之血清中和抗體力價上升倍數之平均 ± 標準誤差。A 組：施打前、施打第 1 劑疫苗後 3 個月、6 個月及施打第 2 劑疫苗 6 個月後；B 組：施打前、施打第一劑疫苗後 4 個月、第二劑疫苗後 4 個月及施打第三劑疫苗 4 個月後。* 表示該時間點 2 處理組間達顯著差異 ($P < 0.05$)。

Fig. 1. Elevated BEF virus NA following vaccination with inactivated BEF vaccine on 4 sampling periods: Before vaccination, 3 or 4 months after 1st vaccination, 6 or 4 months after 1st or 2nd vaccination, and 6 or 4 months after 2nd or 3rd vaccination, in 2 vaccination treatment group: A (two times vaccinated per year) and B (three times vaccinated per year), respectively. *Significant differences at specific time period ($P < 0.05$).

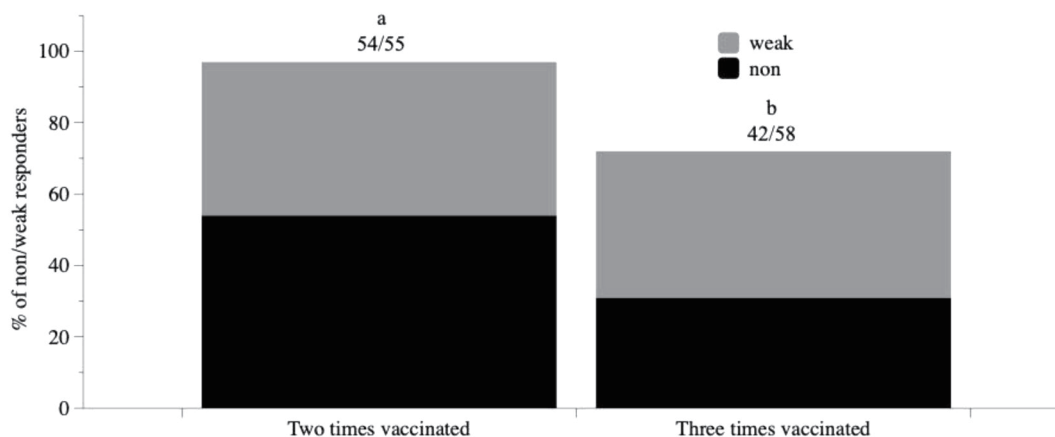


圖 2. 牛流行熱不活化疫苗第 2 劑 (A 組) 或第 3 劑 (B 組) 施打 6 個月 (A 組) 或 4 個月 (B 組) 後之血清中和抗體力價無反應牛 (施打前後上升倍數 1) 及弱反應牛 (施打前後上升倍數 < 8) 之比例。A 組：每年施打疫苗 2 次；B 組：每年施打疫苗 3 次。^{a, b} 代表不同處理組間具有顯著差異 ($P < 0.05$)。

Fig. 2. Percentage of the non-responding (elevated NA titer = 1) and weakly responding (elevated NA titer < 8) cattle in 2 vaccination treatment groups with an inactivated bovine ephemeral fever vaccine: NA titers were measured 6 or 4 month after 2nd or 3rd vaccination in 2 vaccination treatment group: A (two times vaccinated per year) and B (three times vaccinated per year), respectively. Different letters represent groups which are statistically different from each other ($P < 0.05$).

討 論

本研究探討不同免疫適期之疫苗施打頻率及不同疫苗株對臺灣荷蘭牛 BEF 保護力之影響。若根據前人研究結果，血清中和抗體力價應至少大於或等於 1:32 時，抗體可保護牛隻不被野外病毒感染 (Vanselow *et al.*, 1995; 丁, 2013)。於本試驗結果顯示，無論施打甲或乙牌 BEF 減毒疫苗或採用何種免疫適期皆可達到提升牛隻保護力之功效。另亦顯示每年施打 3 劑 BEF 疫苗，較能維持全年度之 BEFV 抗體力價，降低對疫苗無反應牛之比例，並提供足夠之保護力。每年僅施打 2 劑 BEF 疫苗之組別，於第二次施打疫苗後 6 個月抗體力價上升倍數相較於施打前降低約 1.5 倍，可能無法提供足夠之保護力，並且有較高比例之無反應牛；國外 BEF 疫情嚴重區域之畜群，每年施打 3 – 4 劑者比較有顯著較低之 BEF 發病率 (morbidity) ($P < 0.05$)，但每年施打 2 劑者其發病率則與未施打組別相同，且攻毒試驗 (challenge study) 結果也顯示不活化疫苗之保護力僅出現於每年施打 3 劑之組別，每年施打 2 劑之組別保護力較差 (Della-Porta and Snowdon, 1979)。Ting *et al.* (2014) 研究結果顯示，臺灣牛流行熱抗體力價隨疫苗施打時間變動，與本研究結果相近。無論採用何種免疫適期，試驗結果顯示於第一次施打疫苗後之 4 – 6 個月後，其中和抗體上升達最高後開始反轉下降，但每年施打 3 次疫苗之後續中和抗體力價較穩定及維持較高之上升倍數。

儘管施打頻率增加可降低無反應牛之比例，但對於弱反應牛之比例並無顯著改善，且有效達到施打後抗體力價上升倍數超過 8 倍者僅 28%。其原因可能部分來自於施打疫苗後之牛隻並無產生足量且特異的中和抗體，類似結果同樣於相關研究中發現，並認為經由施打不活化疫苗產生之中和抗體並不完全與臨床之上 BEF 病毒保護力有關 (Della-Porta and Snowdon, 1979)。如同狂犬病毒及其他彈狀病毒 (Rhabdovirus) 一樣，細胞媒介免疫也是保護力的一環 (Della-Porta and Snowdon, 1979)。其他研究也同樣顯示以 BEFV 不活化疫苗產生之有效群體保護率上限約於 50% (Wang *et al.*, 2001)，同樣對於口蹄疫病毒不活化疫苗也有類似之情形 (Dar *et al.*, 2013; Elnekave *et al.*, 2013)。儘管全體保護率約 50%，考量 BEF 對於荷蘭乳牛泌乳量產生巨大之負面影響，以不活化疫苗進行防疫之成本效益仍高，前人研究亦顯示每降低 1% 的 BEF 發病率可提升每頭泌乳牛 1.27 – 1.76 kg 的乳量 (Aziz-Boaron *et al.*, 2014)。

相關研究顯示不同年齡層的荷蘭牛可能對於 BEF 疫苗的免疫反應有顯著差異 ($P < 0.05$)，其中無反應牛的比例在女牛最高 (17%) 而在經產母牛最低 (3%) (Sadoff and Wittes, 2007)。而本試驗無反應牛比例可達 31 – 54%，除了可能由於畜群全年度皆維持相對較高之中和抗體力價，導致施打後並未有顯著提升中和抗體倍數外，也可能與遺傳因素有關，本試驗對象為產後泌乳牛群，並無女牛抗體力價數據，但結果顯示初產及經產泌乳牛群其施打疫苗前後各階段中和抗體力價上升倍數並無顯著差異，未來將進一步收集仔牛基礎免疫及女牛疫苗施打前後數據資料進行分析；相關研究顯示當接觸到 B 型肝炎抗原時若 T 細胞活化時若無法產生足量之白介素 2 (Interleukin 2)，個體便會缺乏對於施打 B 型肝炎疫苗之免疫反應 (Meuer *et al.*, 1989)。低免疫原性 (immunogenicity) 及免疫失敗也在德國麻疹

減毒疫苗同樣被發現，有 30% 的孩童在先天免疫上的受體基因有關鍵變異，造成 Toll 樣受體 (Toll-like receptor) 及 CD46 及 TLR8 等病毒模式識別受體 (viral pattern recognition receptor) 改變而降低免疫反應 (Clifford *et al.*, 2012)。此外，有時接觸部分致病抗原產生之免疫記憶效應 (immune memory response) 會改變個體對其他抗原的免疫反應，這種情形稱為異質免疫 (heterologous immunity) (Welsh and Selin, 2002)，不同牛隻年齡層之無反應牛比例各異可能源自於個體間不同的同質 (homologous) 及異質 (heterologous) 免疫因素，因此會出現類似不同年齡層的豬隻對於口蹄疫病毒免疫反應各異的狀況 (Samina *et al.*, 1998)；年齡較大之動物個體可能曾經接觸過其他病毒，因此對於疫苗中 BEFV 抗原產生較大的免疫反應，對於疫苗的無反應牛之比例也會較年輕牛群低 (Aziz-Boaron *et al.*, 2014)；然而本試驗並未觀察到年齡對免疫反應之影響，結果顯示泌乳牛年齡對於施打疫苗後各階段抗體力價上升倍數之影響並不顯著，可能由於牛群採圈飼舍內飼養，且人員進出單純；因此，牛隻年齡對於疫苗免疫反應之影響可能需要更長期之研究。且由於 BEF 主要對於泌乳牛危害較大，若主要的無反應牛都是屬於年輕牛群雖對於牛乳生產危害較小，但完整的 BEF 免疫計畫仍必須將仔牛早期接受不活化疫苗基礎免疫的重要性考慮進去。此外，目前使用之不活化疫苗有效性若可經由改變佐劑之配方，或許可以進一步提升疫苗保護力並降低 BEF 造成之損失。

結 論

由於颱風、西南氣流等帶來旺盛水氣及土石流或地面爛泥之形成，搭配高溫氣候之條件有利糠蚊產卵大量滋生，並引發 BEF 疫情。本試驗結果可作為規劃 BEF 疫苗免疫適期之參考依據，由於 BEF 主要影響泌乳牛的生產效率並造成經濟損失，除了應落實病媒防治並強化牧場環境及衛生管理。本試驗結果顯示泌乳牛隻 BEFV 抗體力價主要影響因子仍為施打頻率，因此目前仍建議依現行免疫適期落實疫苗施打，落實仔牛於 5 月齡先進行基礎免疫，1 歲左右之女牛及泌乳牛群至少每 6 個月補強施打 1 劑疫苗，若需確保牛隻具有抗體保護力時，則應每 4 個月補強施打 1 劑，達到每年施打 3 次不活化疫苗。

誌 謝

本研究承行政院農業委員會科技計畫提供研究經費「應用血清檢測牛群流行熱抗體力價之研究」(107 農科 -2.1.2- 畜 -L1(9))，並由家畜衛生試驗所協助 BEF 抗體力價檢測，使得以順利完成，特此申謝。

參考文獻

- 謝耀清、陳世輝、莊惟超、李儼峰、蔡耿宇、蔡信雄。2005。病例報告：牛流行熱。臺灣獸醫誌 31：85-94。
- 丁履紉。2013。2001 至 2012 年臺灣牛流行熱監測及疫情調查。獸醫專訊 7：15-21。
- Aziz-Boaron, O., D. Gleser, H. Yadin, B. Gelman, M. Kedmi, N. Galon and E. Klement. 2014. The protective effectiveness of an inactivated bovine ephemeral fever virus vaccine. *Vet. Microbiol.* 173: 1-8.
- Aziz-Boaron, O., K. Leibovitz, B. Gelman, M. Kedmi and E. Klement. 2013. Safety, immunogenicity and duration of immunity elicited by an inactivated bovine ephemeral fever vaccine. *Plos One* 8: e82217. doi:10.1371/journal.pone.0082217.
- Clifford, H. D., C. M. Hayden, S. K. Khoo, G. Zhang, P. N. L. Souëf and P. Richmond. 2012. CD46 measles virus receptor polymorphisms influence receptor protein expression and primary measles vaccine responses in naive Australian children. *Clin. Vaccine Immunol.* 19: 704-710.
- Dar, P., R. Kalaivanan, N. Sied, B. Mamo, S. Kishore, V. V. S. Suryanarayana and G. Kondabattula. 2013. Montanide ISA™ 201 adjuvanted FMD vaccine induces improved immune responses and protection in cattle. *Vaccine* 31: 3327-3332.
- Della-Porta, A. J. and W. A. Snowdon. 1979. An experimental inactivated virus vaccine against bovine ephemeral fever 1. Studies of the virus. *Vet. Microbiol.* 4: 183-195.
- Elnekave, E., Y. Li, L. Zamir, B. Even-Tov, P. Hamblin, B. Gelman, J. Hammond and E. Klement. 2013. The field effectiveness of routine and emergency vaccination with an inactivated vaccine against foot and mouth disease. *Vaccine* 31: 879-885.

- George, T. D. 1985. Studies on the pathogenesis of bovine ephemeral fever in sentinel cattle. I. Virology and serology. *Vet. Microbiol.* 10: 493-504.
- Lee, N. H., J. A. Lee, S. Y. Park, C. S. Song, I. S. Choi and J. B. Lee. 2012. A review of vaccine development and research for industry animals in Korea. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 1: 18.
- Meuer, S., H. Dumann, K. H. M. Z. Büschenfelde and H. Köhler. 1989. Low-dose interleukin-2 induces systemic immune responses against HBsAg in immunodeficient non-responders to hepatitis B vaccination. *Lancet.* 333: 15-18.
- Nandi, S. and B. S. Negi. 1999. Bovine ephemeral fever: a review. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect Dis.* 22: 81-91.
- Sadoff, J. C. and J. Wittes. 2007. Correlates, Surrogates, and Vaccines. *J Infect Dis.* 196: 1279-1281. doi:10.1086/522432.
- Samina, I., Z. Zakay-Rones and B. A. Peleg. 1998. Homologous and heterologous antibody response of cattle and sheep after vaccination with foot and mouth disease and influenza viruses. *Vaccine* 16: 551-557.
- SAS Institute. 2014. SAS User's Guide: Statistics, Version 13.2 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Ting, L., M. Lee, S. Lee, H. Tsai and F. Lee. 2014. Relationships of bovine ephemeral fever epizootics to population immunity and virus variation. *Vet. Microbiol.* 173: 241-248.
- Tzipori, S. and P. B. Spradbrow. 1973. Studies on vaccines against bovine ephemeral fever. *Aust. Vet. J.* 49: 183-187.
- Tzipori, S. and P. B. Spradbrow. 1978. A cell culture vaccine against bovine ephemeral fever. *Aust. Vet. J.* 54: 323-328.
- Vanselow, B. A., J. C. Walthall and I. Abetz. 1995. Field trials of ephemeral fever vaccines. *Vet. Microbiol.* 46: 117-130.
- Walker, P. J. 2005. Bovine ephemeral fever in Australia and the world. *Curr. Top Microbiol.* 292: 57-80.
- Wang, F. I., A. M. Hsu and K. J. Huang. 2001. Bovine ephemeral fever in Taiwan. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13: 462-467.
- Welsh, R. M. and L. K. Selin. 2002. No one is naive: the significance of heterologous T-cell immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2: 417-426.

The evaluation of neutralizing antibody titers elicited by different vaccination program of inactivated bovine ephemeral fever virus vaccine on Holstein cattle in Taiwan ⁽¹⁾

Yi-Ming Chen ⁽²⁾ Yi-Hsuan Chen ⁽²⁾ Kuo-Hua Lee ⁽²⁾ and Po-An Tu ⁽²⁾⁽³⁾

Received: Apr. 21, 2020; Accepted: Sep. 21, 2020

Abstract

Bovine ephemeral fever (BEF) is an important viral disease of cattle. The protection of BEF in Taiwan mainly relies on inactivated vaccine to upgrade the vaccination protection of all cattle in times of the seasoning outbreak of BEF. To elevate the overall BEF protection of cattle, two treatment cattle groups were vaccinated with different BEF virus vaccine strains and different doses. A group (two times vaccinated per year) and B group (three times vaccinated per year). BEF virus neutralizing antibodies (NA) following vaccination with inactivated BEF vaccine were tested, and calculating the elevated NA before and after vaccinated of each group. The proportions of non-responder and weak-responder cattle were also identified. The results showed that the overall cattle herd BEFNA titers are not significantly different between A and B treatment groups at each time periods ($P > 0.05$). Also, herd vaccinated with different BEF virus vaccine strains showed no significant differences in BEFNA titers ($P > 0.05$). The results indicated that the administration of cattle with different BEFV vaccine does not have significant impact on the antibody titers at different stage. However, significant differences were found between the elevated BEFNA titers of A and B treatment groups at each time periods ($P > 0.05$). The elevated BEFNA titers of A treatment group were 2.48, 2.68, and 1.37 times than the titer before vaccination, 3 and 6 months post 1st vaccination, and 6months post 2nd vaccination, respectively. While the elevated BEFNA titers of B treatment group were 4.22, 3.96, and 1.87 times than the titer before vaccination, 4 months post 1st vaccination, 4 months post 2nd vaccination and 4 months post 3rd vaccination, respectively. This study indicates that the vaccination program of 3 inactivated vaccine doses per year will yield higher protection effect from the neutralizing antibody titers than just 2 vaccine doses. Vaccines are expected to prolong the shelf life of milking cows and their production performance in addition to reducing economic loses, which can be taken into consideration for designing the BEF vaccination program. It may be recommended that initial vaccination will be performed twice at the age of 4 to 6 month (4 weeks apart) and then repeated every 6-month period (March and August in the north hemisphere). To achieve better protection of BEF, cattle should be vaccinated with inactivated vaccine every 4-month period, namely to reach 3 doses per year for optimal performance.

Key words: Bovine ephemeral fever, Vaccination program, Neutralizing antibody titers.

(1) Contribution No. 2651 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Hsinchu Branch, COA-LRI, Miaoli 36841, Taiwan, R. O. C.

(3) Corresponding author, E-mail: tpa@mail.tlri.gov.tw.