

豬丹毒絲狀菌血清學調查與菌苗之改進

31-8

陳清*¹ 詹益波¹ 呂清泉¹ 賴俊雄¹ 柯浩然¹
盧泰志¹ 黃榮燦² 張意隆² 葉啓明²

1. 台灣省家畜衛生試驗所製劑研究系 台北縣淡水鎮
2. 嘉義縣家畜疾病防治所 嘉義縣太保市

摘要 由田間養豬場發生之豬丹毒病例 14 例，分離出 14 個菌株，以免疫沉降反應試驗之結果，均屬 1a 血清型。而由動物用生物藥品廠提請鑑定之 12 個菌株中屬 1a 者有 7 株，屬 1a1b 者有 5 株。本省動物用生物藥品製造廠豬丹毒活菌苗製造用種株，經型別鑑定之結果，有 1a 及 2a2b 等。試製菌苗時以液體培養基作振盪培養法，靜置培養法及醱酵槽培養法之生長曲線試驗之結果，得知接種後於 37 °C 培養至 16 小時，細菌發育最高峰，其濃度達 $1.5 \sim 2.3 \times 10^{10}$ CFU/mL，嗣後即緩緩下降。3 種培養方式其菌液濃度雖無顯著之差異，但以醱酵槽培養達 2.3×10^{10} CFU/mL 者較高。試製之弱毒化菌苗及多價不活化菌苗免疫豬隻可產生 1:16~1:128 之發育凝集抗體價。〔*陳清、詹益波、呂清泉、賴俊雄、柯浩然、盧泰志、黃榮燦、張意隆、葉啓明。豬丹毒絲狀菌血清學調查與菌苗之改進。中華獸醫誌 21 (4): 212-222, 1995。*聯絡人 TEL: (02) 621-2111 轉 231, FAX: (02) 622-5345〕

關鍵詞：豬丹毒絲狀菌，血清型，菌苗

緒言

豬丹毒之病原菌，據 Takahashi et al.,^[14] 之報告，目前其血清型有 1~23 及 N 等 24 種。Takahashi et al.,^[11,12] 等自 1980~1982 年在日本由屠宰豬感染慢性豬丹毒病例，從關節炎、淋巴腺炎、心內膜炎及蕁麻疹等病材中，共分離出有 1a、1b、2、3、5、6、8、11、21 及 N 型等 10 種不同血清型，共 258 株。其中以 2 型所佔比例最高，達 74% (191/258)，其次為 1a 佔 11.2% (29/258)，再次為 1b 佔 6.97% (18/258)。又據 Takahashi et al.,^[13] 之報告，在印尼由外觀上健康屠宰豬扁桃腺 687 個檢體中分離出 245 個豬丹毒菌株，分離率達 35.7%。其中以 2 型之分離率最高，獨佔 23.7% (58/245)，依次為 11、12、1a、5 及 6 型分別佔 7.3 (18/245)，5.3 (13/245)，4.9 (12/245)，4.9 (12/245) 及 4.1% (10/245)。且經試驗結果顯示一部份分離株之免疫學性狀與

菌苗製造株 (2 型) 有所差異。對於免疫小白鼠即使是使用同一血清型之分離株亦無法獲得完全之保護。另據 Wood 及 Harrington^[17] 之報告，在美國自豬隻、土壤及豬舍內豬糞便等分離豬丹毒統計之結果，血清型 1a、1b、2、5 及 6 等合計高達 90% (1,465/1,627)。其中亦以第 2 型獨佔 41.23% (670/1,627) 為最多。

台灣自 1986 年以來，各地都有病例之發生，據家畜傳染病發生月報資料統計之結果，1986 年豬丹毒發生 921 件為各傳染病之冠，1987、1988、1989、1990 及 1991 分別佔所有傳染病總數之比例為 54.3%、44.7%、28.7%、50.4% 及 46.9%。可見其重要性之一斑。然而，田間發生之病例，由於養豬場使用抗生素治療以及不願曝光的心態下，本病之實際發生狀況未明，因此其病原血清型之鑑定工作，亦就無法獲得完整之資料，對於本病之防疫工作不無影響。為彌補這種缺憾，茲謹將由田間豬場發生之病例，分離所得之病原

*抽印本索取作者

本文原載於中華民國獸醫學會雜誌，21 (4): 212-222, 1995
台灣省家畜衛生試驗所

株，與本省動物用生物藥品廠豬丹毒活菌苗製造用種株等之型別加以調查研究，並對弱毒化活菌苗製造培養之生長曲線，弱毒化菌苗與不活化菌苗對豬隻免疫之抗體產生情形予以探討，期能使得成果對實際防疫工作有所幫助。

材料與方法

供試培養基：

Tryptose phosphate broth (Difco)
Tryptose phosphate broth + Bacto-Agar (Difco)
Brain heart infusion broth (Difco)

供試試藥

Tween 80, Sodium hydroxide, Kanamycin, Gentamicin, Agarose, Formalin, Thimerosal, 氫氧化鋁膠 (Aluminum hydroxide gel) 及礦物油等。

供試豬隻血清

係由朴子屠宰場採取屠宰豬 228 個血清檢體及某污染養豬場採取之病材血清 87 個檢體，共 315 個血清樣本。

供試菌株

強毒株：係由田間污染養豬場病材分離所得之豬丹毒桿菌 14 株及民間動物用生物藥品製造廠自桃園、新竹、台中、彰化、嘉義、台南及屏東等地區，由丹毒病例分離所得，提請作血清型鑑定之 12 株，共 26 個菌株。

弱毒株：係由 7 家民間動物用生物藥品廠，目前所使用之豬丹毒活菌苗製造用種株共 7 株及參考種株日本社團法人動物用生物學的製劑協會所分讓之豬丹毒小金井 65~0.15 株 (Coganei strain, la) 1 株。

免疫沉降反應所用菌株

除部份係本研究室保存者 (Fujisawa strain, la, 及另一攻擊株 1a1b) 外，其餘主要標準血清型 1~10 菌株 (s1, 1a (vac. strain), 1a (typing), 1b、2、2a、2b、3、4、5、6、7、8、9、10) 均採購自美國菌種保存中心 (American type culture collection, ATCC)，共 17 株。

試驗小白鼠及實驗用豬隻

分別購自本所動物用藥品檢定分所及台糖畜

產研究所，其體重小白鼠為 13~15 g，豬隻則為 8~9 週齡供試，田間試驗則由某豬場所提供肥育前期中豬 30 頭，體重 30~40 kg 為試驗材料。

免疫沉降反應試驗

其抗原之製備，如陳等^[4]之報告，依 Takahashi et al.^[13]之方法，將菌株培養於 Tryptose phosphate agar 在 37 °C 培養 24 小時，將選擇之菌落移植於 Tryptose phosphate broth (TPB) 含 0.1 % Tween 80，pH 調整為 7.6，在 37 °C 培養 16~20 小時，然後在 8,000 rpm 離心收集菌體，以生理食鹽水 (physiological saline) 洗滌離心 3 次，最後再以蒸餾水作成原菌液 1/30 量之濃縮懸液。在 121 °C 加熱 1 小時抽出抗原液，再經 8,000 rpm 離心取其上清透明液，共製備 17 種，保存於 -20 °C 備用。田間分離菌株及民間生物藥品廠種株型別之鑑定其免疫沉降反應抗原，均依前述方法製備。至於田間採集之血清及田間污染場豬血清之鑑定，則由已知抗原來測試血清中未知之抗體。

豬丹毒絲狀菌菌型鑑定用血清之製備

以家兔為材料，使用豬丹毒桿菌標準型種株，依 Takahashi et al.^[11]及陳等^[4, 5]報告之方式，將菌種在 TPB 培養基 (含 0.1 % Tween 80，pH 調整為 7.6) 於 37 °C 下培養 16~20 小時，以 8,000 rpm 離心 20 分鐘後取其菌體，再以生理食鹽水洗滌離心 3 次，最後再調製成含 $4\sim 5 \times 10^{10}$ CFU/mL 添加 0.3 % 福馬林殺菌製成不活化菌液供為免疫之用。第一次以含 10 % 氫氧化鋁膠為佐劑之菌苗，肌肉注射家兔各 1 mL，10 天後僅以生理食鹽水調製之不活化菌體懸液靜脈注射 0.2 mL，共免疫注射 8 次，劑量自 0.2 mL→0.5 mL→1.0 mL→2.0 mL→3.0 mL→3.0 mL→5.0 mL，每次間隔 3~5 天，最後免疫後 8 天放血，離心分離血清，添加 0.01 % Thimerosal 為防腐劑，放在 -20 °C 備用。以此方法製備之型別血清，供為未知抗原測定之用。即由已知型別抗血清應用免疫擴散反應試驗來測試未知分離菌菌型。

豬丹毒絲狀菌之分離

由田間病例採取之脾臟、淋巴腺、肝臟、扁桃腺及皮膚病材等，參考 Takahashi et al.^[13]之方法，做病原之分離試驗。主要過程如下：

首先將病材剪碎，加入含 0.1 % Tween 80，

25 µg Gentamicin 及 500 µg Kanamycin 之 Tryptose phosphate broth (pH 調整為 7.6)，作成 5 倍乳劑，1,500 rpm 輕離心後取 1 mL 接種於含前述抗菌物質之 TPB 試管培養基，置於 37 °C 培養 20~24 小時後，再移植培養於 Tryptose phosphate agar (pH 7.6)，所添加之制菌劑其濃度同前。在 37 °C 定溫箱中培養 24~36 小時後以肉眼及放大鏡檢查疑似豬丹毒之菌落，並作生化特性等之檢驗。

免疫擴散試驗

由已知之抗原來檢測未知血清抗體及用家兔免疫所得之已知血清來測定 26 個未知分離菌及 7 個藥廠製造用種株抗原之型別鑑定，均使用瓊脂免疫擴散試驗，其方式參考 Takahashi et al.^[13] 之方法，於生理食鹽水中含 0.8 % Agarose (Sigma) 及 0.1 % sodium azide。每一培養皿放入約 25 mL，俟其凝固後做成中央 1 孔，周圍 6 孔之反應盤。每孔之直徑為 4 mm，間距為 9 mm，各滴 0.03 mL。在防乾塑膠箱中置於 37 °C 18~24 小時後判定之。

弱毒化活菌苗生長曲線之測試

使用 3 種不同培養方式，即液體培養基之振盪培養法，靜置培養法及醱酵槽培養法等 3 種。培養溫度均定為 37 °C，依培養後 12、16、20、24、36、48 小時等時段抽樣作濃度測試，使用 10 倍稀釋法以固體培養基作菌數計算。

試製菌苗對小白鼠之安全與效力試驗

試製之多價不活化鋁膠菌苗，油質菌苗及單價弱毒化活菌苗，對小白鼠之安全性試驗則各使用 10 隻，各皮下注射 0.5 mL，觀察 2 週。其效力試驗則依現行國家檢定標準分別皮下注射本劑 0.01 mL，經 2 週後以檢定攻擊用菌株 100 MLD 攻擊測試。

試製菌苗對豬隻之安全與力價試驗

試製之多價不活化鋁膠菌苗，油質菌苗及單價之弱毒化活菌苗，各使用中豬 1 頭，皮下注射 10 mL，觀察 2 週。安全無顧慮後攜往污染豬場供作免疫試驗，肥育前期小豬（約 30~40 公斤）各皮下注射 2 mL，並於免疫前、免疫後 3 週及 8 週分別採血，參考 Sawada et al.^[8] 方法測試血清中發育凝集 (Growth agglutination, GA) 抗體價，即將供試血清 56 °C，30 分鐘非動化處理後，以 TPB 培養基為稀釋液，將供試血清做 2 倍序列稀釋，然後每一稀釋液中加入豬丹毒桿菌攻擊株 16 小時培養之稀釋液 1 滴 (8×10^8 ，及 8×10^6 兩種濃度) 後置於 37 °C 培養 16~20 小時後判讀，其上清透明管底具不規則之凝集塊或顆粒者判定其具發育凝集抗體，而混濁發育者判定為無發育凝集抗體價。

結 果

田間豬血清之抗體測定

由嘉義縣朴子屠宰場採集 228 個血清檢體，以已知血清型之抗原作免疫擴散試驗，結果僅有 1 陽性，屬於第 8 血清型，其他 227 例為陰性。由田間污染場採集 87 個血清檢體反應陽性共 6 例，其中屬 1a1b 血清型 3 例，4、8 及 10 型各 1 例 (表 1)。

豬丹毒絲狀菌之分離

由田間污染場之分離病材主要以脾臟、淋巴結、肝臟、扁桃腺及皮膚病灶為主，由 14 個病例中分離出 14 個菌株，經免疫沉降試驗測定結果均為 1a 血清型。由民間生物藥品廠送請鑑定之 12 株菌株中，7 株屬 1a 血清型，5 株 1a1b 血清株較多。詳如表 2 及圖 1 所示。

表 1 應用沉降反應對於豬血清樣本之丹毒型別鑑定成績

期 間	材 料 來 源	血 清 樣 本 數	不 同 血 清 型 抗 原 數	陽 性 反 應				陰 性 數
				1a1b	4	8	10	
1993. 4~ 8	朴子屠宰場	228	17			1		227
1993. 8~10	田間豬場	87	17	3	1	1	1	81
合 計		315	17	3	1	2	1	308

表 2 田間豬丹毒病例分離株之血清型鑑定成績

期 間	來 源	病 例 數	分 離 地 區	分 離 所 得 菌 株 數	供 試 高 免 血 清 數	鑑 定 結 果	
						1a	1a1b
1994. 4~8	田 間 豬 場	14	嘉 義、桃 園	14	17	14	
1994. 1~8	生 物 藥 品 廠 提 請 鑑 定	12	新 竹、台 中、彰 化 台 南、屏 東	12	17	7	5
合 計				26	17	21	5



圖 1 田間豬丹毒病例之外觀症狀與剖檢分離所得病原菌型別鑑定

豬丹毒活菌苗製造用種株之鑑定

供本省豬丹毒活菌苗製造之種株共 7 株，經鑑定結果，3 株為 1a 型，2 株為 2a2b 型，另 2 株無法確定。詳如表 3 及圖 2a、b 所示。

表 3 台灣地區動物用生物藥品廠豬丹毒活菌苗製造株之血清型鑑定成績

廠 別	所 屬 血 清 型		
	1a	2a2b	無法確定
A		○	
B			○
C	○		
D			○
E	○		
F		○	
G	○		

註：應用免疫沈降反應試驗法鑑定

豬丹毒絲狀菌之生長曲線測定

以振盪培養法、靜置培養法及發酵槽培養法，在 37 °C 培養之結果，3 種方法中無論是那一種方式，均以培養 16 小時細菌發育達最高峰，其濃度為 $1.5 \sim 2.3 \times 10^{10}$ CFU/mL。嗣後緩緩下降，而 3 種培養條件其菌液濃度並無顯著之差異，但以發酵槽培養達 2.3×10^{10} CFU/mL 者較高，詳細成績如圖 3、4 及 5 所示。

試製弱毒化活菌苗及多價不活化菌苗之安全性試驗

將試製之多價不活化鋁膠菌苗，油質菌苗及活菌苗，各以中豬 1 頭（約 50 kg）作皮下注射 10 mL；小白鼠每組 10 隻，各皮下注射 0.5 mL。觀察 2 週之結果，除油質菌苗注射部位呈現腫脹迄 2 週尚未完全吸收外，其餘 2 組均無不良之接種反應。

試製菌苗對小白鼠之效力試驗

將已知菌型之 A、C 廠製造種株，未知菌型之 B、D 廠種株及參考種株（日本 Coganei strain），試製之活菌苗接種小鼠之結果，得知 B、D 廠種株所製菌苗免疫小白鼠各以不同血清型豬丹毒菌株攻擊之結果如表 4。D 廠種株試製之菌苗效果尚稱良好，但 B 廠種株試製之菌苗則不理想。

而各種株及參考種株試製之活菌苗，免疫小白鼠及對同一血清型（Fujisawa Strain, 1a）不同濃度（MLD）攻擊之結果，除 A 廠種株試製菌苗之安全試驗反應較大，有小白鼠斃死，B 廠種株試製之菌苗力價較差外，其餘各廠種株及參考種株試製菌苗免疫小白鼠，其力價均高於檢定標準。即使使用較檢定標準 100 MLD 強 10 倍之濃度 1,000 MLD 攻擊亦均能耐過健存，詳如表 5 所示。

試製菌苗免疫豬血清中抗體測定

試製未知型別種株（B、D 廠來源），參考種株（日本 Coganei strain, 1a）之單價活菌苗及多價（1a、1b、2a、2b、8、10）不活化鋁膠菌苗與油劑菌苗，免疫豬隻，採血測定其血清中之發育凝集抗體（Growth agglutination antibody）之結果，得知未定菌型之 B、D 兩廠種株及參考種株菌苗，均能使免疫豬隻產生 1:16~1:128 不等之 G. A 抗體價，且耐過豬丹毒強毒株之攻擊，對照豬則於攻擊後第 1 天即呈現典型豬丹毒尋麻疹皮膚症狀及高熱而於第 5 天斃死。詳如表 6 及圖 6 所示。

而以參考種株試製之單價活菌苗及多價不活化菌苗在田間免疫豬隻可產生 1:8~1:128 之 G. A 抗體，詳如圖 7 及 8 所示。

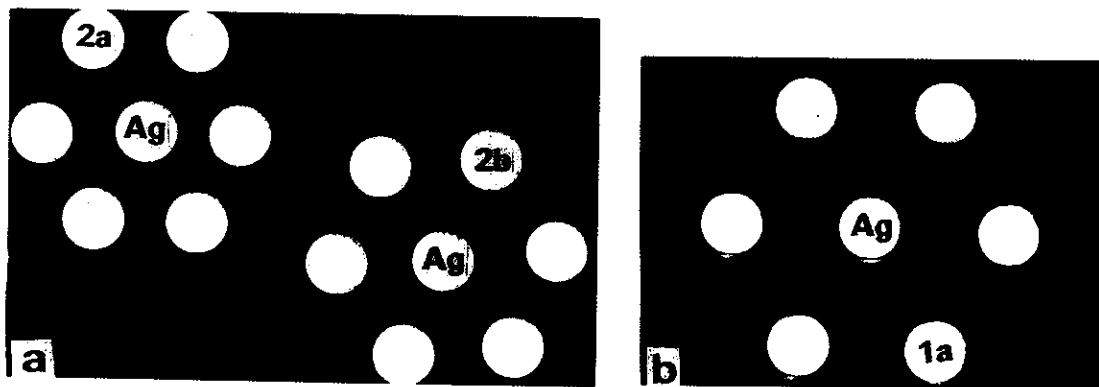


圖 2 台灣地區動物用生物藥品廠豬丹毒活菌苗製造用種株型別鑑定

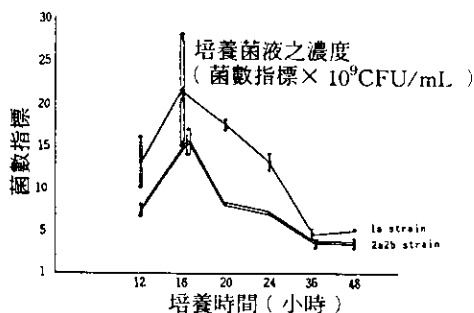


圖 3 豬丹毒種菌於液體培養基振盪培養之生長曲線

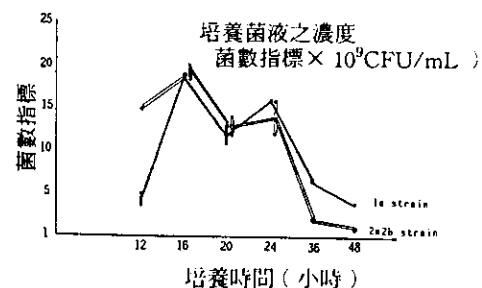


圖 4 豬丹毒種菌於液體培養基靜置培養之生長曲線

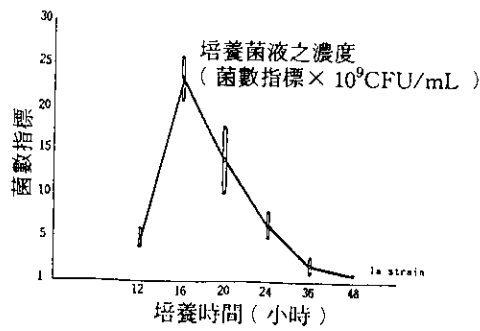


圖 5 豬丹毒種菌於液體培養基醱槽之生長線

表 4 豬丹毒型別未定種株試製活菌苗對小白鼠之免疫試驗成績

免疫小白鼠 (隻)	攻擊株血清型	種株廠別及攻擊耐過率 (%)		對照小白鼠耐過率 (%)
		B	D	
10	1a	100	100	100
10	2a	90	100	50
10	8	10	100	0
10	1a1b ^a	30	100	0
10	1a	20	90	0
(Fujisawa) ^b				

註：1. 免疫劑量：3-4 × 10⁸ CFU/mL, 0.2 mL, S.C.

2. 攻菌濃度：TPB 培養基 37 °C 靜置培養 16 小時之 10⁻¹ 稀釋菌液，各 0.2 mL，皮下攻擊。

3. B、D 兩廠及對照組小鼠各群均各以 10 隻供試。

^{a,b}：≥ 100 MLD

表 5 試製豬丹毒弱毒化活菌苗對小白鼠之安全與力價試驗成績

菌苗製造種株廠別	血清型	安全試驗	攻擊濃度 (MLD)				
			1/10	1	10	100	1,000
A	2a2b	5/10		10/10	10/10	10/10	10/10
B	undetermined	10/10		8/10	9/10	5/10	4/10
C	1a	10/10		10/10	10/10	10/10	10/10
D	undetermined	10/10		10/10	10/10	10/10	10/10
Coganei strain	1a	10/10		10/10	10/10	10/10	10/10
對 照			7/10	0/10	0/10	0/10	

註：1. 安全試驗使用 6-8 × 10⁹ CFU/mL (含 1/10,000 Acriflavine)，0.2 mL，皮下注射。

2. 力價試驗使用 4 × 10⁸ CFU/mL，0.2 mL，皮下注射。

3. 攻擊使用 Fujisawa 株 (1a) 之 TPB 培養菌液。

4. 健存數 / 供試數。

表 6 豬丹毒型別未定種株試製活菌苗對豬隻之免疫成績

種株廠別	供試豬號	菌苗接種 反應	豬血清對各菌型發育凝集抗體價 (1:)				攻 擊 試 驗	
			免 疫 前		免疫後 14 天		反 應	結 果
			1a	2	1a	2		
B	1	—	< 2	< 2	32	32	—	健 存
	2	—	< 2	< 2	32	32	輕 皮 疹	健 存
D	3	—	< 2	< 2	32	16	中 度 皮 疹	健 存
	4	—	< 2	< 2	32	32	中 度 皮 疹	健 存
Coganei strain	5	—	< 2	< 2	128	64	—	健 存
	6	—	< 2	< 2	64	16	輕 皮 疹	健 存
對照豬	7		< 2	< 2	4	8	呈典型豬丹毒症狀 (攻擊直前採血) 於第 5 天斃死	

註：1. 豬隻免疫劑量，不同來源種株，TPB 37°C，16 小時培養菌液 2 mL，皮下注射 (含 1/10,000 Acriflavine)

2. 發育凝集試驗用不同菌型菌株，TPB 37°C，16 小時培養之 10⁻³ 稀釋液各 1 滴加入各不同稀釋倍數之血清培養液，於 37°C，16 小時後取出判定。

3. 攻擊株使用 Fujisawa 株 (1a)，100,000 小白鼠最小致死劑量，皮下注射。



圖 6 對照豬攻擊後呈現典型豬丹毒皮膚蕁麻疹症狀

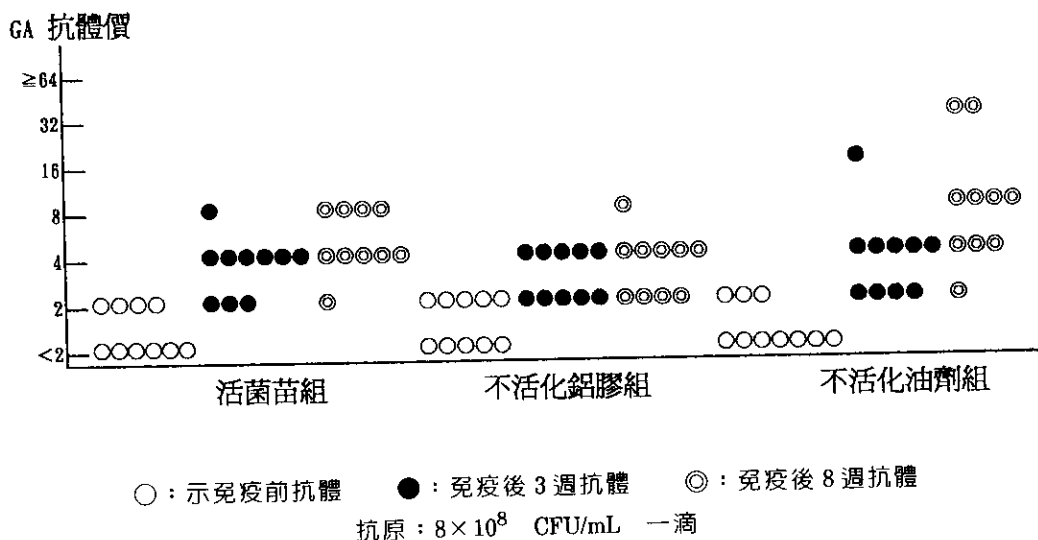


圖 7 豬丹毒菌苗田間免疫試驗豬血清抗體之測定成績

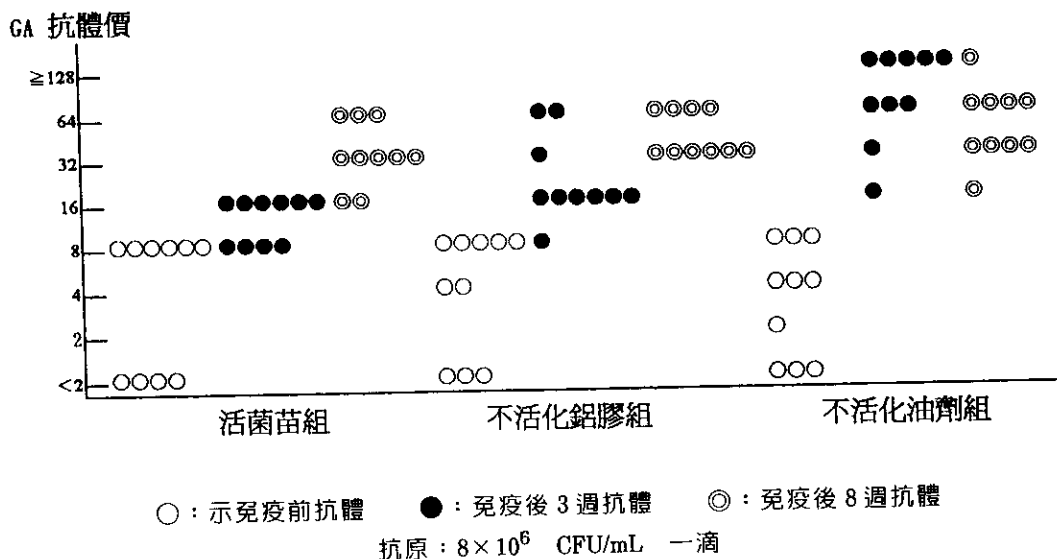


圖 8 豬丹毒菌苗田間免疫試驗豬血清抗體之測定成績

討 論

豬丹毒由於發生病型之不同，可分為急性型之敗血症，亞急性型之蕁麻疹及慢性型之關節炎、心內膜炎、淋巴腺炎等相當多樣化^[6, 10]，而有關本病之防疫工作，自 1960 年代本省即開始從事於弱毒化活菌苗之開發研究與應用試驗^[1, 2, 3]，而自弱毒化活菌苗廣被應用以來已有四十餘年之

歷史，由最早之液體活菌苗發展至冷凍乾燥之活菌苗，其成效頗獲養豬業者之好評。近數年來由於田間病例之發生，雖官方統計資料顯示所佔比例頗高，但實際情況無法完全瞭解，其可能之原因是否由於飼料中大量使用抗生素影響活菌苗之免疫效力或業者對菌苗之使用不當，未遵守停藥之規定。另一方面，田間發生病例之病原血清型，以目前製造用活菌苗之血清型是否無法加以有效

控制等，均需加以探討。

有關豬丹毒之病例，其病原血清型之調查研究，據在美國之研究結果，以第 2 型所佔比例 41.2% (670/1,627) 為最高^[17]。在日本由屠宰豬感染慢性豬丹毒之病材中亦以第 2 型所佔比例最高，達 74% (191/258)^[11]。而在印尼由外觀上健康屠宰豬之扁桃腺分離所得之成績亦以第 2 型所佔 23.7% (58/245) 為最高^[13]。在台灣以往對於豬丹毒病例病原血清型之調查研究報告不多，據本所呂主任等（個人資料）實驗室保存之 16 株豬丹毒桿菌屬於 1a 者有 12 株，2a2b 者有 3 株，其他 1a2b 者有 1 株。另據台糖張主任等（個人資料）由病例分離所得之 4 株，經鑑定結果均為 1a 菌型。

筆者等在本研究中，由田間 14 個病例解剖分離所得之 14 株，經鑑定均屬 1a 血清型。而由民間生物藥品廠送請鑑定之 12 株中 1a 者有 7 株，1a1b 者有 5 株。與呂、張等之個人資料以 1a 血清型為主頗為一致。另外筆者等自屠宰豬 228 個血清檢體中應用免疫沉降反應試驗，由已知抗原來測試未知血清所含之特異性抗體之結果則僅有 1 例呈現沉降線，屬第 8 血清型。而由田間污染場採取之 87 個血清檢體中有 3 例屬 1a1b 血清型，而第 4、8 及 10 型則各有一例。至於試製多價不活化菌苗與活菌苗之比較其安全性均高。由民間動物用生物藥品廠 A、B、C、D、E、F、G 等 7 家豬丹毒活菌苗製造用種株之型別鑑定之結果 1a 者有 3 家，2a2b 者 2 家，另 2 家無法確定尚待進一步之探討。由此顯示本省目前有不同血清型之種株在供製造之用。據報告製造用 1a 及 2 兩株不同血清型雖其生化性狀無顯著之區別，但對小白鼠之免疫性及病原性略有所差異^[16]。另據報告，製造用種株與攻擊菌株之血清型雖有所不同，但仍具有相當之免疫效果^[7, 9]。而在印尼由健康豬扁桃腺分離之豬丹毒桿菌無法鑑定血清型中，發現有 1 株（IT-122 株）對各血清型之共通抗原性很強，具有交叉反應，對於接種豬之局部及全身均無任何反應^[15]。今後是否可能取代現用之種菌株吾等將拭目以待。由本試驗試製活菌苗之小白鼠力價試驗成績得知；B 廠所用種株在豬隻免疫力價雖呈反應耐過，但對小白鼠之檢定成績並不理想，建議該廠更新製造用種株。至於其他各廠所用種株 1a 及 2a2b 抽樣試製活菌苗之力價試驗結果，均高於檢定檢定標準。有關弱毒化活菌苗與多價不活化菌苗免疫豬血清中抗體價之高低評估，依表 6 及圖 7 與 8 之試驗成績顯

示抗原之濃度以 10^6 CFU/mL 一滴與日本學者之報告較為吻合^[8]，而 10^8 CFU/mL 一滴之濃度則偏高。本省有關製造用種株之供應，是否仍照國外之方式統一製備提供，以及使用何種菌型之種株，是否發展多價不活化菌苗等，仍待繼續探討與研究。

誌謝 本研究工作承蒙台灣區動物用藥品工業同業公會部份經費之支助，總幹事張炳輝先生之鼎力支持，日本社團法人動物用生物學製劑協會分讓之豬丹毒絲狀菌小金井 65~0.15 株及本省各動物用生物製劑製造廠，豬場獸醫師李順筆及賴志誠兩位先生及其他同仁之熱誠協助，本所劉所長培柏博士之寶貴建言，謹併誌萬分之謝忱。

參考文獻

1. 吳義興、賴俊雄、張天桂、呂清泉。豬丹毒菌苗對小白鼠與豬免疫性之關係。台灣省家畜衛生試驗所研究報告 10, 47-51, 1973。
2. 林再春、謝竹茂、周懋森、楊揚輝。豬丹毒菌苗冷凍乾燥之研究。台灣省家畜衛生試驗所研究報告 2, 9-29, 1964。
3. 高建祥、王宗枝、謝竹茂、鍾榮舟。豬丹毒活菌苗製造試驗。獸疫血清製造所研究報告 29-34, 1951。
4. 陳清、呂清泉、賴俊雄、柯浩然、盧泰志、詹益波。豬丹毒病原血清學之調查與菌苗改進之研究 (I)。台灣省農林廳八十二年度試驗研究報告書 239-250, 1993。
5. 陳清、詹益波、呂清泉、賴俊雄、柯浩然、盧泰志。豬丹毒病原血清學之調查與菌苗改進之研究 (II)。台灣省政府農林廳八十三年度試驗研究報告書 134-143, 1994。
6. 詹益波、楊喜金、吳義興。豬丹毒、豬病學。中華民國獸醫學會編印 314-323, 1980。
7. Sawada, T. and T. Takahashi. Cross protection of mice and swine given live-organism vaccine against challenge exposure with strains of *Erysipelothrix rhusiopathiae* representing ten serovars. Am J Vet Res 48: 81-84, 1978.
8. Sawada, T., M. Muramatsu and K. Seto. Response of growth agglutinating antibody and protection of pigs inoculated with swine erysipelas live vaccine. Jap J Vet Sci 41: 593-

- 600, 1979.
9. Sawada, T. and T. Takahashi. Cross protection of mice and swine inoculated with culture filtrate of attenuated *Erysipelothrix rhusiopathiae* and challenge exposed to strains of various serovars. *Am J Vet Res* 48 : 239 – 242, 1987.
 10. Sawada Takuo. Erysipelas vaccine. *Jeuyi Chiksan Sinpo*. 820, 28 – 31, 1989 (in Japanese).
 11. Takahashi, T., T. Sawada, M. Takagi, K. Seto, M. Kanzaki and, T. Murayama. Serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains isolated from slaughter pigs affected with chronic erysipelas. *Jpn J Vet Sci* 46 (2) : 149 – 153, 1984.
 12. Takahashi, T., T. Sawada, K. Seto, M. Muramatsu, T. Murayama and M. Kanzaki. Pathogenicity of *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains of serovars 1a, 3, 5, 6, 8, 11, 21 and type N isolated from slaughter pigs affected with chronic erysipelas. *Jpn J Vet Sci* 47 (1) : 1 – 8, 1985.
 13. Takahashi T., K. Zarkasie, S. Mariana, Sumadi and M. Ogata. Serological and pathogenic characterization of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates from tonsils of slaughter pigs in Indonesia. *Veterinary Microbiology* 21 : 165 – 175, 1989.
 14. Takahashi, T., T. Fujisawa, Y. Tamura, S. Suzuki, M. Muramatsu, T. Sawada, Y. Benno and T. Mitsuoka. DNA relatedness among *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains representing all twenty-three serovars and *Erysipelothrix tonsillarum*. *Int J Syst Bacteriol* 42 : 469 – 473, 1992.
 15. Tamura, Y., T. Takahashi, K. Zarkasie, S. Suzuki, M. Kijima, N. Naga-mine and M. Nakamura. Isolation of a strain of *Erysipelothrix rhusiopathiae* expressing an antigenicity common to various serotypes. *Bull Natl Inst Anim Health* 98 : 1 – 8, 1992 (in Japanese).
 16. Watarai, M., T. Sawada, M. Nakagomi, H. Amao, T. Yoshida and T. Takahashi. Comparison of etiological and immunological characteristics of two attenuated *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains of serotypes 1a and 2. *J Vet Med Sci* 55 (4) : 595 – 600, 1993.
 17. Wood, R. L. and R. Harrington. Serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from swine and soil and manure of swine pens in the United States. *Am J Vet Res* 39 : 1833 – 1840, 1978.

Serological investigation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates and vaccine improvement to control erysipelas of swine

Ching CHEN,*¹ I-Po CHAN,¹ Ching-Chuan LU,¹ Jiun-Shyong LAI,¹
Hao-Jan KO,¹ Tai Chih LU,¹ Jung-Tsan HUANG,²
Yi-Long CHANG² and Chi-Ming YEN

1. Department of Biological Products Research, Taiwan Animal Health Research Institute, Tamsui, Taiwan, R. O. C.

2. Chia-Yi Hsien Livestock Disease Control Center Tay-pao, Chia-yi, Taiwan, R. O. C.

SUMMARY *Erysipelothrix rhusiopathiae* (*E. rhusiopathiae*) was isolated in 14 strains from 14 swine with clinical erysipelas in a field swine farm. With the agar gel precipitation (AGP) test, all isolates were identified to be serovar 1a. Serovars of 12 *E. rhusiopathiae* strains supplied by manufacturers of animal biological products were identified to be 7 1a and 5 1a1b. According to the AGP test, the seed strains of *E. rhusiopathiae* used for attenuated live vaccine production by manufacturers of animal biological products in Taiwan were identified to be serovars 1a and 2a2b. The growth curve of *E. rhusiopathiae* was investigated with shaking culture, static conditions and fermentation methods. The results indicate that the maximum level of growth at 37 °C was reached 16 h after seed inoculation. The concentrations of the bacterial cells reached $1.5 - 2.3 \times 10^{10}$ CFU/mL and then decreased gradually. Although there were no significant differences among the three methods of culture for bacterial growth, the concentration of bacterial cells 2.3×10^{10} CFU/mL from fermentation culture exceeded those from the other two methods. Trial production of both attenuated vaccine and inactivated poly-valent bacterin produced growth agglutination antibody titers in the range 1 : 16 - 1 : 128 in swine. [* Chen C, Chan IP, Lu CC, Lai JS, Ko HJ, Lu TC, Huang JT, CHang YL and Yen CM. Serological Investigation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates and vaccine improvement to control erysipelas of swine. J Chin Soc Vet Sei 21 (4) : 212 - 222, 1995. * Corresponding author TEL : (02) 621 - 2111 ext 231, FAX : (02) 622 - 5345]

Key words: *Erysipelothrix rhusiopathiae*, Serotype, Vaccine

*Corresponding author

Reprinted from the J. Chinese Soci. Vet. Sci. 21 (4) : 212 - 222, 1995
Taiwan Animal Health Research Institute, Taiwan, R. O. C.