

豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗保存 對效力影響之探討

蘇杰夫* 黃文徹 劉義雄

台灣省家畜衛生試驗所 動物用藥品檢定分所

摘要 為瞭解豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗，經冷室長期保存後，效力變化如何？就受檢該劑選取 7 例檢體進行測試。結果有 1 例檢體於保存九個月時，對小白鼠之免疫防禦指數降至標準之下 (0.98)，經十二個月時，則有 3 例不合標準 (分別為 0.98、0.83 及 0.79)，其他較優品質者，仍維持最低標準 1.0 以上。對豬隻免疫抗體之檢測，大致與對小白鼠防禦指數高低呈對比，且其凝集抗體之消長，以免疫後第八週 (補強後六週) 最高，可達 11.3 之幾何平均值。另就檢體經一年保存後，依其對小白鼠防禦指數之優劣，選取 3 例檢體對六週齡豬隻免疫後，再經 *A. pleuropneumoniae* 相同菌型之菌株攻擊，顯示對小白鼠防禦指數高者，其對豬隻之免疫效力也相對較佳，故欲延長該劑之保存有效期限，有待品質之提昇。

關鍵詞：豬嗜血桿菌胸膜性肺炎 (放線桿菌胸膜性肺炎) 不活化菌苗

緒言

台灣地區 1979 年由張靖男等⁽⁵⁾ 首度研發不活化菌苗，以控制豬嗜血桿菌胸膜性肺炎之發生，初現其防疫功能，此後不活化菌苗即被廣泛應用。然當前，豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗，內含抗原不一，有單元或多元性的⁽²⁻⁴⁾，十分複雜。但本劑初經檢定合格後，於田間應用上卻未臻理想，此是否與菌苗本身經長期保存，致使效力有所變化或疫情、免疫適期不當⁽⁴⁾，尚待究明，為探討本劑經 4~10 °C 長期保存一段時間後，測其實際效力，以提供本劑有效期限訂定之依據。對於吾國養豬畜牧業對本劑所使用之有效期限，能有所澄清，爰擬本計畫。

試驗材料與方法

試驗材料：

1. 供試菌苗：

選取國內外產之豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗共 7 批，置於 4~10 °C 保存。

2. 供試動物：

小白鼠：為本分所自產之 IRC 品系，體重約 13~15 公克。

小 豬：由台糖公司購入之六至八週齡小豬。

試驗方法：

1. 本劑對小白鼠之免疫效力試驗：

依現行之國家檢定標準法，對上述供試之小白鼠，先行免疫注射，經二週之飼養觀察，須無任何不良反應，然後將免疫之小白鼠分成 4 組，各組分別以該劑所含有之菌型的新鮮培養菌液 (37 °C, 6~8 小時之振動培養)，依該菌液之 $10^0 \sim 10^{-3}$ 四階段稀釋菌液腹腔內注射攻擊，未免疫注射之對照小白鼠亦分成四組，而係各組分別以 $10^{-1} \sim 10^{-4}$ 四階段稀釋菌液腹腔內注射攻擊之，再經一週之觀察，然後兩群 (免疫群及對照群) 分別依 Behrens Karber 法計算 ID_{50} ，再相比結果，評估其防禦力價，其力價須大於 10 倍以上始算合格。

2. 本劑對六至八週齡仔豬免疫抗體之消長測試：

將本劑置於 4~10 °C 保存 3、6、9、12 個月時，分別免疫六至八週齡小豬，並於免疫後 2、4、

*抽印本索取作者
台灣省家畜衛生試驗所

8、12、16 週採血，以 Latex agglutination *A. pp.* 抗原測其抗體，藉以評估其對仔豬之免疫效力。另就保存於 12 個月時選取 3 批對小白鼠之效力有較大差別之菌苗，免疫豬隻，經二次免疫後再以該劑含有之菌型新鮮菌液 10^9 CFU/ml，3 ml 鼻腔內攻擊，經二週後全部剖檢，並行病原菌之回收及採血測定其抗體之變化。

結果

1. 豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗冷室 (4~10 °C) 保存 3、6、9、12 個月後對小白鼠之免疫效力試驗：

小白鼠經本劑免疫於二週後，就該劑含有之菌型的 *A. pleuropneumoniae* 強毒株腹腔內注射攻擊，結果於保存至 6 個月時，各檢體仍未見有未達標準者，但至 9 個月以後即見有不合格的檢體，其防禦指數為 0.98，至第 12 個月者，其不合格之檢體更見明顯，分別為 0.98、0.83 及 0.79 之防禦指數，顯示該劑若其品質不佳者，經長期保存仍有效力下降之虞。如表一所示。該等受測檢體仍以進口品較穩定，而國產品穩定性較差，故國內廠之產品應加強品質之提昇。

2. 豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗冷室保存 3、9、

12 個月後對六至八週齡仔豬免疫抗體消長檢測：

供測菌苗經冷室保存 3、6、9 及 12 個月後，分別免疫六週齡無本病抗體之仔豬各 2 頭，並定期採血，以自製之 Latex agglutination *A. pp.* 抗原測凝集抗體之感應，結果如表二~三所示，大致凝集抗體於免疫後八週為最高峰，可達 11.31 之幾何平均值，然後逐漸下降，惟部份菌苗其對免疫豬隻抗體之感應效能甚低，僅為 2.0 之幾何平均值。且就其與上述檢體之對小白鼠防禦力相比較，呈現對應的結果，也即是對小白鼠免疫防禦力差者，其對供試豬隻的抗體感應能也相對減低，此證實以小白鼠檢測的模式仍可供為本劑測定之用（若以省時、省力等經濟效益而言）。

3. 豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗冷室保存一年後，其對六週齡豬隻免疫效力之檢測：

選取經由白鼠測得之防禦力不同結果（即優、中、劣）的本劑 3 批，對六週齡豬隻免疫之，並經 *A. pp.* 新鮮活菌液之攻擊，以究明其實際對豬隻之免疫效力及本劑對小白鼠之防禦指數與對豬隻免疫效力之相關性，以評估依小白鼠做為本劑檢定之可靠性。結果如表四。檢體對小白鼠之免疫後其防禦指數高者，對豬隻之免疫防禦力相對的較高，低者其對豬隻之免疫防禦力相對的低。

表一 豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗 (4~10°C) 保存 3、6、9 及 12 個月後對小白鼠免疫效力之檢測

菌苗出產廠別 (批號)	菌苗含有菌 型別	菌苗經保存後(個月)對小白鼠免疫防禦指數				
		0	3	6	9	12
A (15)	V	1.33	1.30	1.20	1.06	1.16
B (36)	I	1.42	1.33	1.31	1.17	1.13
	V	1.09	1.08	1.00	1.01	0.98
C (30)	I	1.35	1.32	1.30	1.05	1.10
	V	1.16	1.11	1.05	1.03	1.03
D (32)	I	1.16	1.09	1.04	1.04	1.01
	V	1.10	1.10	1.08	1.03	0.98
E (2)	I	1.07	1.03	1.01	0.98	0.79
	II	1.26	1.15	1.07	1.00	0.88
	V	1.08	2.04	1.05	1.04	1.00
F (L0368)	I	1.17	1.14	1.14	1.13	1.14
	V	1.14	1.13	1.03	1.10	1.11
	VII	1.15	1.07	1.06	1.06	1.04
G (17022B)	I	1.21	1.23	1.22	1.20	1.20
	V	1.29	1.14	1.17	1.14	1.15
	VII	1.25	1.25	1.15	1.16	1.11

表二 豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活菌苗冷室保存3及6個月後對六週齡小豬免疫之凝集抗體檢測

菌苗別	菌苗冷室 保存時間	凝集抗原 型別	六週齡小豬經菌苗免疫後之凝集抗體消長(幾何平均值)* (週)					
			0	2	4	8	12	16
A		V	< 2	2.82	5.65	8	5.65	2.82
B		I	< 2	2.82	8	11.31	5.65	4
		V	< 2	< 2	2.82	5.65	2.82	< 2
C		I	< 2	2.82	8	8	4	2.82
		V	< 2	< 2	4	4	2.82	< 2
D		I	< 2	< 2	2.82	4	2	< 2
		V	< 2	2	4	4	2.82	2
E	三個月	I	< 2	< 2	2.82	2.82	2	< 2
		II	< 2	< 2	2	2	< 2	< 2
		V	< 2	< 2	2	2	< 2	< 2
F		I	< 2	< 2	2.82	4	2.82	2
		II	< 2	< 2	4	65	2.82	2
		VII	< 2	< 2	2.82	2.82	2	< 2
G		I	< 2	2.82	5.65	8	5.65	4
		II	< 2	2	4	4	2.82	2
		VII	< 2	2	4	5.65	4	2.82
A		V	< 2	2	4	5.65	4	2.82
B		I	< 2	2.82	5.65	8	5.65	4
		V	< 2	< 2	2	4	2.82	< 2
C		I	< 2	2.82	8	5.65	4	2.82
		V	< 2	< 2	< 2	2.82	2	< 2
D		I	< 2	< 2	< 2	2.82	2	< 2
		V	< 2	< 2	2	4	2.82	2
E	六個月	I	< 2	< 2	< 2	2	< 2	< 2
		II	< 2	< 2	2	2.82	2	< 2
		V	< 2	< 2	< 2	2	< 2	< 2
F		I	< 2	2	2.82	5.65	4	2.82
		V	< 2	2	2.82	5.65	2.82	2
		VII	< 2	< 2	2	2.82	2	< 2
G		I	< 2	2	4	5.65	5.65	2.82
		V	< 2	2	2.82	2.82	2	2
		VII	< 2	2	2.82	5.65	2.82	2.82

表三 豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活菌苗冷室保存 9 及 12 個月後對六週齡小豬免疫之凝集抗體檢測

菌 苗 別	菌苗冷室 保存時間	凝集抗原 型 別	六週齡小豬經菌苗免疫後之凝集抗體消長 (幾何平均值)* (週)					
			0	2	4	8	12	16
A	九 個 月	V	< 2	2	2.82	5.65	4	2.82
B		I	< 2	2	4	8	5.65	4
		V	< 2	< 2	2	2.82	2.82	< 2
C		I	< 2	2	5.65	5.65	4	2.82
		V	< 2	2	< 2	2.82	2	< 2
D		I	< 2	< 2	< 2	2.82	2	< 2
		V	< 2	2	2	2.82	2.82	2
E		I	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
		II	< 2	< 2	< 2	2	< 2	< 2
		V	< 2	< 2	2	2.82	2.82	< 2
F		I	< 2	2	2.82	4	4	2.82
		V	< 2	< 2	2.82	5.65	2.82	2.82
		VII	< 2	< 2	2	2.82	2	2
G		I	< 2	2	4	5.65	4	4
	V	< 2	2	4	4	4	2.82	
	VII	< 2	2	2.82	4	2.82	2.82	
A	十二 個 月	V	< 2	2	2.82	5.65	2.82	2.82
B		I		2	4	5.65	4	4
		V	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
C		I		2	4	5.65	2.82	< 2
		V	< 2	< 2	< 2	2.82	< 2	< 2
D		I	< 2	< 2	< 2	2	2	< 2
		V	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
E		I	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
		II	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
		V	< 2	< 2	< 2	2	2	< 2
F		I	< 2	2	4	4	2.82	2
		V	< 2	< 2	2.82	4	2	< 2
		VII	< 2	< 2	2.82	2.82	< 2	< 2
G		I	< 2	2	4	5.65	4	2.82
	V	< 2	2	4	5.65	4	2.82	
	VII	< 2	2	2.82	4	2	2	

表四 豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗冷室保存一年後，其對六週齡豬隻免疫效力之檢測

組別	菌苗別	豬號	攻擊後 臨床症狀	病理剖檢* 肉眼病變	病原菌 回收	App. 之凝集抗體價	
						試前	攻擊時
免 疫	E	8201	D ₇	卅	卅	< 2	< 2
		8202	卅	卅	卅	< 2	< 2
	C	8203	+	+	卅	< 2	4
		8204	+	+	卅	< 2	4
	G	8205	-	-	+	< 2	16
		8206	-	±	+	< 2	8
對 照		8207	D ₆	卅	卅	< 2	< 2
		8208	D ₅	卅	卅	< 2	< 2

註：-：無任何症狀或剖檢無肺炎肉眼病變。

±：剖檢時肺呈輕微局部病變。

＋：輕度體溫上升（40~40.5℃），剖檢時肺呈輕度局部病變。菌數 10 CFU / Loop 以下。

卅：菌數 10~50 CFU / Loop。

卅：嚴重臨床症狀之呼吸困難、咳嗽、食慾減退，剖檢肺呈全面性肺炎病變，菌數 > 50 CFU / Loop。

D：死亡，數字為天數。

※：攻擊後二週宰殺剖檢。

討論

吾國對豬嗜血桿菌胸膜性肺炎不活化菌苗之有效期限，原訂定為一年，但據本次之各項試驗得知，該劑經冷室一年之保存後，仍因廠別產品之品質各異關係，其優劣差距有顯著的不同。優良產品，經一年之保存，其對小白鼠或豬隻之免疫效力，仍十分有效。中級品其對小白鼠之免疫效力，仍能維持一年。至於劣級品，則其對小白鼠之免疫效力，僅及九個月。本劑對豬隻免疫注射後，其抗體之產生以經二次免疫後之第六週（也即第一次免疫後之第八週）為最高，然後逐漸下降，顯示本劑之免疫有效期約為三個月。故為防治本病。菌苗之應用使其發揮最大效力時，應對該病之疫情的資訊提供，為免疫計畫訂定之參考極為重要⁽³⁾。再者就本劑對小白鼠免疫防禦力與對豬隻免疫效力之相關性，據本次之試驗得知，本劑對小白鼠的防禦指數高者，相對的對豬隻之免疫效力也較佳，再次證明依小白鼠之免疫檢測模式，為節省檢驗成本、時間，其仍為本劑檢驗之最佳方法。

據上述之各項結果，若欲延長本劑之有效期限，除非提昇品質⁽⁷⁾，否則則仍維持一年為宜。另為使本劑之單元性菌苗效力較多元性佳。雖多元菌苗對豬場本病之預防範圍較廣，但仍建議依豬場本病之疫情，使用與豬場相同菌型之菌苗並須配合免疫適期，以防治本症始為上策。

參考文獻

1. 黃文徹、劉義雄、劉敏主、周懋森、蘇杰夫、陳忠松。動物用活毒，活菌苗之保存試驗。台灣省衛試所研報 23：213-219。1987。
2. 陳清、呂清泉、賴俊雄、柯浩然、詹益波、邱仕炎。豬萎縮性鼻炎及胸膜性肺炎多價菌苗之研製及對實驗動物之安全與效力。中華民國獸醫學會雜誌 17：159-167。1991。
3. 陳清、呂清泉等十二人。豬博德氏菌、巴氏桿菌及大腸桿菌多價菌苗田間應用其免疫計畫之設定。81 年度台灣省政府農林廳畜產試驗議會研究報告書 177-187。1992。
4. 陳清、呂清泉、賴俊雄、柯浩然、盧泰志、詹益波、李清川、蔡貴雄。豬博德氏菌、巴氏桿菌、胸膜肺炎放線桿菌及大腸桿菌多價混合菌苗對小豬移行抗體之消長及免疫適期之建立。台灣省畜衛所研報 29：47-53。1993。
5. 張靖男、羅麗華、朱賢主、沈詠梅。副溶血性嗜血桿菌肺炎菌苗之改良及免疫上各種問題之探討。台糖畜產研究所 67/68 年期研究報告 163-173。1979。
6. 張靖男、陳鴻文、嚴家清、沈詠梅。豬胸膜肺炎菌苗田間應用之研究。台糖畜產研究所 68/69 年期研究報告 103-112。1980。
7. 張惟茗、吳義興、楊喜金、林士鈺。豬胸膜肺炎嗜血桿菌之研究。III. 類內毒素及溶血素之免疫保護效果。82 年度台灣省政府農林廳畜產試驗評議會研究報告書 117-125。1992。

Effect of preservation on the Protective Effect of Commercial Swine *Actinobacillus* *pleuropneumoniae* Inactive Bacterins

* J. F. Su, W. C. Huang Y. S. Liu

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health. Taiwan, R.O.C.

SUMMARY Two experiments were carried out to evaluate the effectiveness of a 12-month preservation period on the protective effect of various commercial swine *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) inactive bacterins.

A total of 7 commercial *A. pleuropneumoniae* inactive bacterins were collected and tested. The immune defence index (IDI) against mice decreased during the 12-month preservation period in which observations were made. After 9-month period of preservation the IDI decreased to 0.98 (which is below the accepted standard) in one of the 7 bacterins tested. While after 12-month preservation, the IDI of the 3 bacterins decreased to 0.98, 0.83 and 0.79 respectively (below the accepted standard), however the IDI of the other 4 bacterins remained higher than 1.0 (accepted standard). The antibody response curves had a similar pattern as that measured by the IDI test by using agglutination test. The highest antibody titers were reached at 8 weeks post vaccination, its geometric mean titers were at 11.31.

A total of 3 bacterins with the IDI over 1.0 were selected for evaluation on the protection against by a virulent *A. pleuropneumoniae* in 6-week pigs. The results indicated that the higher the IDI of bacterin had, the higher the immunity of pigs against App will be prospected.

Key words: *Swine Actinobacillus Pleuropneumoniae Inactive bacterins*

*Corresponding author

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health. Taiwan, R.O.C.