

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

陳清^{1*} 呂清泉¹ 賴俊雄¹ 柯浩然¹ 盧泰志¹
詹益波¹ 李清圳² 蔡貴雄²

1. 台灣省家畜衛生試驗所
2. 雲林縣家畜疾病防治所

摘要 豬博德氏菌、巴氏桿菌、胸膜肺炎放線桿菌及大腸桿菌等多效混合菌苗，在實驗室以 5 ml 二次免疫母豬，其哺乳仔豬 4 日齡之抗博德氏菌之移行抗體價幾何平均值為 1:6,450 及 1:7,608，較以 3 ml 二次免疫母豬，其哺乳仔豬同日齡之移行抗體價 1:2,791 及 1:3,446 為高。

田間應用試驗，懷孕母豬基礎免疫 3 ml，補強注射 5 ml，共注射 47 頭，免疫後測試抗博德氏菌之抗體價在 1:1,280 以上者，所佔比例為 97.9% (46/47)。其哺乳仔豬 4 日齡之移行抗體價 1:1,280 以上者為 93.6% (88/94)。

至於田間試驗哺乳仔豬抗博德氏菌之移行抗體消長測試結果，4 日齡、4 週齡、8 週齡、10 週齡及 12 週齡抽樣檢查 94 頭（每胎二頭）之幾何平均值分別為 1:3,594、1:1,036、1:250、1:55 及 1:35。

因此哺乳小豬時期之免疫，其注射適期以 8~10 週齡肌肉注射 2~3 ml 為宜。

關鍵詞：博德氏支氣管敗血症桿菌、巴氏桿菌、胸膜肺炎放線桿菌、大腸桿菌、多效混合菌苗

緒言

在台灣地區由於屬大規模密集式之養豬型態，因此呼吸器疾病，如豬萎縮性鼻炎、巴氏桿菌性鼻炎或肺炎、放線桿菌性胸膜肺炎及大腸桿菌性下痢症等病例頗多，經濟上之損失很大。目前由於勞動人口普遍短缺，同時顧慮懷孕母豬產前 4-5 週，必須接受多種菌（疫）苗及多次預防注射，對於母豬之緊迫很大之情況下，豬病之預防，不得不朝綜合性或多抗原性菌（疫）苗之研究開發與應用，以符合時代之需求。

筆者等不遺餘力地從事多價菌苗之研究開發，對於混合菌苗之安全性及免疫力價已提出報告，（陳等 1991）本計畫則著重於田間應用，以探討母豬免疫後，小豬移行抗體消長狀況，目前以抗博德氏菌抗體為代表性指標，以便掌握其預防注射之適期，俾利防疫。

試驗材料與方法

一、試驗材料：

1. 使用菌株：

博德氏支氣管敗血症桿菌：B.b. 12-1 株。

巴氏桿菌：

P.m.-D 型 (ATCC 12948)。

P.m.-A 型 (CH 株)。

豬胸膜肺炎放線桿菌：

1 型 (H.p.-4074)。

5 型 (H.p.-168)。

大腸菌株：

為目前本所菌苗製造株共 5 株。

2. 使用培養基：

馬鈴薯浸膏培養基

(Potato infusion agar, Difco)。

葡萄糖澱粉培養基

*抽印本索取者
台灣省家畜衛生試驗所

(Dextrose starch agar, Difco)。

腦心浸膏培養基

(Brain heart infusion agar, Difco)。

胰蛋白培養基

(Tryptic soy agar, Difco)。

25 % Yeast extract (國產自行調製)。

3. 抗體測試用抗原 (診斷液)：

抗博德氏菌抗體測定用抗原為本所製造之豬萎縮性鼻炎診斷液 Lot#15。

4. 供試小動物：

健康小白鼠體重 13 ~ 15 公克、天竺鼠 350-400 公克，均向本所動物用藥品檢定分所購入者。

5. 試驗用懷孕母豬及田間應用試驗母豬及仔豬：

實驗室供試者係向國家核心豬場，二品種母豬特約繁殖戶劉純佳農場購入。田間試驗用懷孕母豬及哺乳仔豬則仍請雲林縣東勢鄉億山農場幫忙提供。

二、試驗方法：

1. 免疫用菌苗之調製：

將博德氏支氣管敗血症桿菌菌株經選擇具典型之一型菌的肉糜培養液，移植於馬鈴薯浸膏培養基，經 24 小時培養後收集之菌苔液為基礎，再加入適量以葡萄糖澱粉培養基 18-20 小時培養所得之巴氏桿菌 A 型、D 型之混合液及腦心浸膏培養基培養所得之胸膜肺炎放線桿菌 1 型及 5 型菌之混合液，以 0.3 % 福馬林為不活化劑，再加入大腸桿菌線毛腸毒素不活化菌液，以氫氧化鋁膠為佐劑調製之混合菌苗。

2. 菌苗之安全及力價試驗：

係根據目前豬萎縮性鼻炎不活化菌苗，嗜血桿菌性胸膜肺炎不活化菌苗及大腸桿菌苗之檢驗標準，分別以小白鼠為材料，加以測試，合格後供田間應用試驗之用。

3. 實驗室內懷孕母豬之免疫試驗：

將供試母豬於產前五週先行採血，然後分為三組，試驗組每組各二頭，免疫劑量分為 3 ml 免疫組，5 ml 免疫組及對照組。二週後補強注射一次，劑量與基礎免疫注射劑量相同。而對照組則未注射試劑。俟母豬分娩後採血及採初乳，仔豬於 4 日齡時採血，四週、六週及八週各採血一次，測定其移行抗體價之消長。

4. 田間免疫應用試驗及採樣：

將供試之產前 4 ~ 5 週懷孕母豬於免疫前先行

採血，然後各基礎免疫注射 3 ml，二週後補強注射 5 ml。俟母豬分娩後仔豬於 3 ~ 4 日齡時採血 (每胎二頭)，母豬亦同時採血，分離血清供抗體測定試驗。田間免疫母豬所生哺乳小豬之抗體消長試驗，則分別於 4 日齡、4 週、8 週、10 週及 12 週齡抽樣採血測試其抗體消長。

5. 抗體測試方法：

無論是免疫前血清，母豬產後血清，初乳 (實驗室部分) 及供試仔豬血清均以凝集反應方法測試其抗博德氏菌抗體價。

結果

一、多效菌苗免疫母豬及其哺乳仔豬抗博德氏菌抗體測定成績：

實驗室免疫母豬及其哺乳仔豬之移行抗體測試之結果，顯示免疫注射 5 ml 者，其抗體之表現及仔豬所獲之移行抗體價較高，小豬之移行抗體迄 8 週齡時其平均值即呈明顯之下降。(詳如表一)

二、多效菌苗田間免疫母豬及其哺乳仔豬抗博德氏菌抗體之試驗成績：

懷孕母豬於產前 4-5 週，基礎免疫 3 ml，二週後補強注射 5 ml。共免疫懷孕母豬 47 頭。免疫後測試抗博德氏菌之抗體價在 1 : 1,280 以上者所佔比例 97.9 % (46/47) 詳如圖 1 所示成績，而其 4 日齡哺乳仔豬抗博德氏菌之移行抗體價在 1 : 1,280 以上者 (含) 有 93.6 % (88/94) 詳如圖 2 所示成績。

至於免疫試驗哺乳仔豬之移行抗體消長試驗結果 4 日齡、4 週、8 週、10 週及 12 週齡抽樣檢查 94 頭 (每胎二頭) 之幾何平均值分別為 1 : 3,594、1 : 1,036、1 : 250、1 : 55 及 1 : 35，詳如圖 2 所示成績。

討論

本實驗所用之多效 (價) 菌苗，調製之後，均依目前豬萎縮性鼻炎不活化菌苗，放線桿菌胸膜肺炎不活化菌苗，及大腸桿菌不活化菌苗之檢驗標準，分別以小白鼠加以測試之結果，其保護力價分別為 $\text{Log}10^{2.0}$ 、 $\text{Log}10^{1.0}$ 及 $\text{Log}10^{0.5}$ 以上，才攜往田間作應用試驗。

有關豬用各單元抗原菌苗之開發研究與生產推

廣應用等在國內外早已有很多報告。陳等^(3,4,6,8,9)對於豬萎縮性鼻炎之研究、抗原之開發、菌苗研製及多價菌苗之安全性與效力等均有所報告，張等^(1,2)對於嗜血桿菌（放線桿菌）胸膜肺炎之調查研究，與菌苗之應用改進，張等⁽¹⁰⁾對於放線桿菌胸膜肺炎之研究，認為含類內毒素和溶血素抗原者效果會更好。陳等^(5,6)對於大腸菌性下痢症菌苗之開發研究與改進及免疫效力之評估等均有所報告。在國外方面，巴氏桿菌之分離，據 Ishii et al.,⁽¹²⁾之報告，由屠宰豬之肺及鼻腔可分離出 A 及 D 型之巴氏桿菌。Kawamoto et al.,⁽¹³⁾由家兔所分離之巴氏桿菌，則以 A:12 所佔比例最高，由此可知巴氏桿菌在實驗動物及豬隻均不容忽視。至於放線桿菌性胸膜肺炎之研究，血清型鑑定、菌苗之開發、抗原之研究等亦有很多學者提出報告，如 Fenwick et al.,⁽¹¹⁾，Lian et al.,⁽¹⁴⁾，Mittal et al.,^(15,16)，Saito et al.,⁽¹⁹⁾，Straw et al.,⁽²⁰⁾。而 Ohgitani et al.⁽¹⁷⁾，對博德氏菌培養濾液之抗原性，對小白鼠具良好免疫效果。而 Rutter⁽¹⁸⁾則對於萎縮性鼻炎提出綜合性之介紹與報導，認為控制豬萎縮性鼻炎菌苗應含有 *Bordetella* 及 *Pasteurella* 之抗原。

雖然豬用單元菌苗以往曾曾被使用且有相當好之成果，然而在目前人力短缺的情況下，及為了減少多次注射之緊迫起見，多效菌苗之開發應用仍有取而代之之趨勢。至於在劑量方面，於本實驗中以 3 ml 二次免疫及 5 ml 二次免疫成績得知，無論是被注射懷孕母豬之初乳或血清及其哺乳仔豬抗博德氏

菌之移行抗體價，注射 5 ml 者顯較注射 3 ml 者為優，但田間應用上為了安全及減少副作用起見，設計上基礎免疫 3 ml，補強免疫 5 ml 甚為安全，無不良之副作用。且其哺乳小豬抗博德氏菌之移行抗體在 8 週齡時其幾何平均值仍有 1:250。迄至 10 週齡時，則顯著下降僅有 1:55，因此補強免疫之適期可於 8~10 週時實施，其劑量經嗣後之追加試驗得知以 2~3 ml 為宜。菌苗安全與力價方面雖對各種免疫抗原均加以測試詳估。在免疫抗體消長試驗方面，據筆者陳等（尚未正式發表資料）研究得知，免疫之懷孕母豬及其哺乳仔豬，抗巴氏桿菌及抗放線桿菌胸膜肺炎等抗體，以免疫擴散試驗方法，可測出初乳中抗巴氏桿菌 A 型菌之抗體價為 1:16~1:32。抗 D 型菌之抗體價為 1:4~1:8。而抗放線桿菌 1 型菌之抗體價為 1:8~1:16，抗 5 型菌之抗體價為 1:4~1:16 不等。但懷孕母豬及小豬之血清，則未能以此簡便方式測出其抗體。因此在本田間試驗中抗體之消長，僅以抗博德氏菌之抗體價為指標，加以追蹤探討，作為小豬補強免疫之參考依據。

誌謝 本研究承蒙行政院農業委員會 81-農建-12.2-牧-04 序 2 經費之補助，田間試驗承雲林縣家畜疾病防治所同仁協助採材及雲林縣東勢鄉億山農牧場吳昆朗先生提供試驗豬隻，得能順利完成，謹併誌萬分之謝忱。

表 1. 多價菌苗免疫懷孕母豬之抗博德氏菌抗體價及其哺乳仔豬移行抗體之消長

Table 1 Antibody titers against *B. bronchiseptica* of sows immunized with multi-efficacy-bacterins and vicissitudes of the maternal antibody titers of their piglets

Sow No.	Dosage (ml)		Antibody titer of sow (1:)			No. of piglets	Maternal antibody titer of piglets (1:) G.M.T			
	Basic	Booster	Before vaccination	After vaccination	Colostrum		4-day-old	4 wks	6 wks	8 wks
9141	3	3	< 10	5,120	40,960	8	2,791	1,974	1,076	269
9298	3	3	40	5,120	40,960	7	3,446	403	160	113
9155	5	5	< 10	10,240	81,920	9	6,450	3,483	2,791	320
9290	5	5	40	10,240	81,920	7	7,608	1,902	320	215
Control										
9006	—	—	< 10	20	20	7	< 10	< 10	< 10	< 10
9228	—	—	40	40	80	5	10	< 10	< 10	< 10

G.M.T.: Geometric mean titer

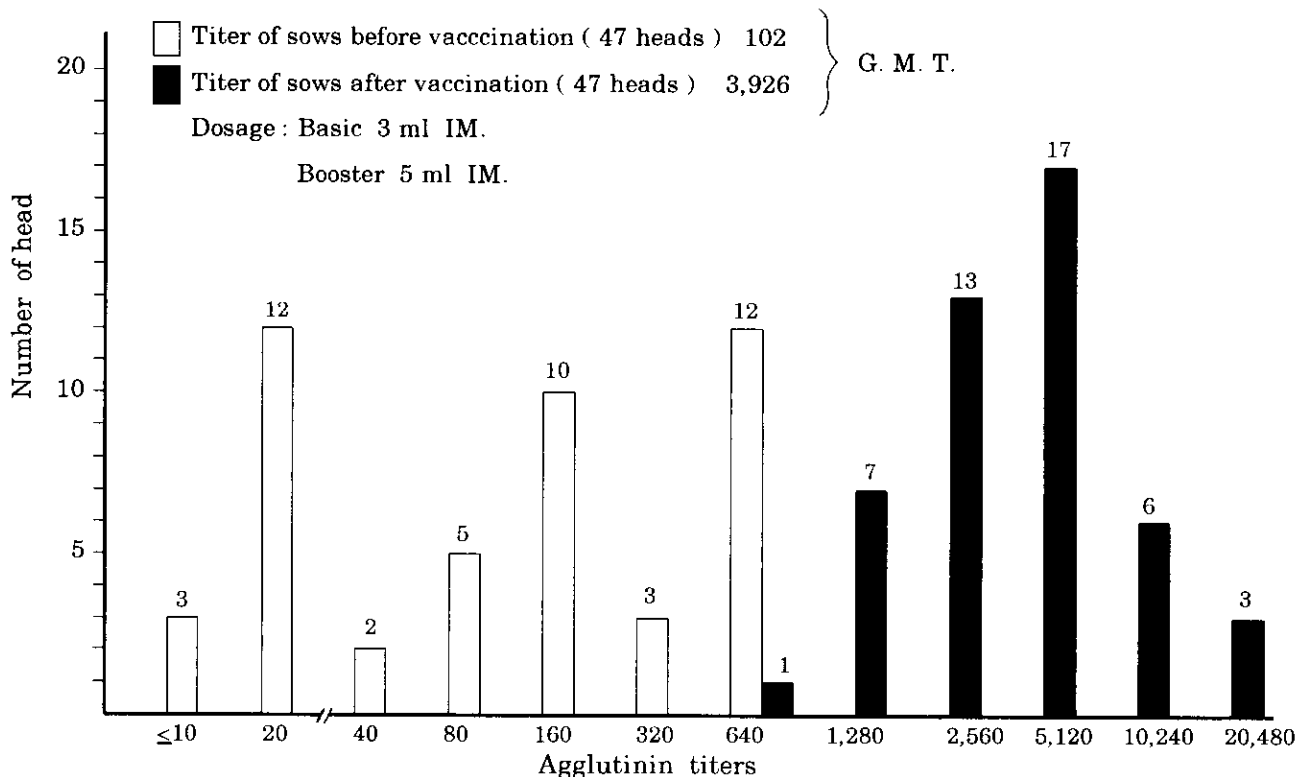


Fig 1. Distribution of Anti-*Bordetella bronchiseptica* titers of sows immunized with multi-efficacy bacterin in field trials.

圖 1 多效菌苗田間試驗免疫懷孕母豬抗博德氏菌抗體之分佈

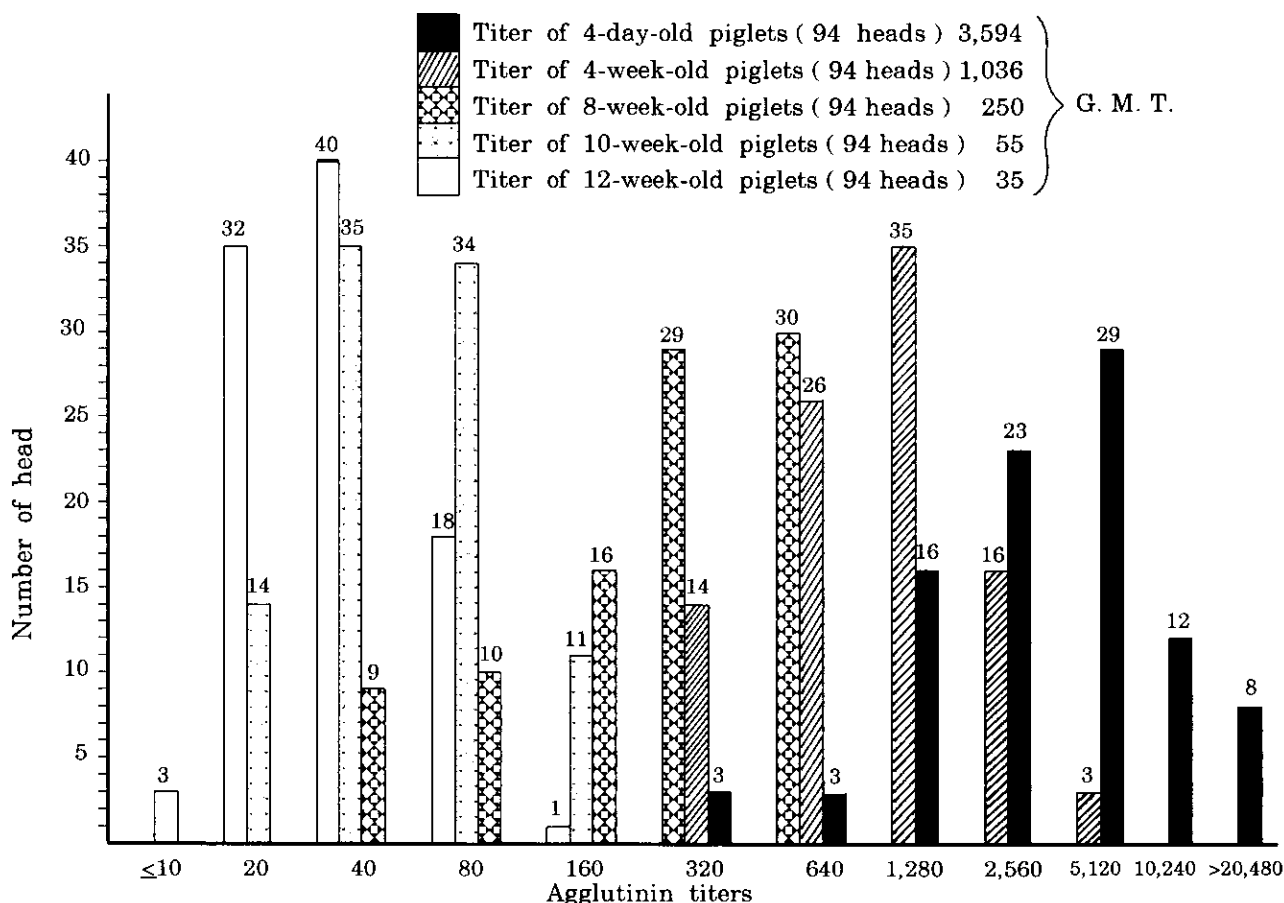


Fig 2. Vicissitudes of the maternal antibody titers of piglets against *Bordetella bronchiseptica* in the field trials.

圖 2 田間試驗哺乳小豬抗博德氏菌移行抗體之消長試驗成績

參考文獻

- 張靖男、羅麗華、朱賢主、沈詠梅 (1979) : 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。
- 張靖男、陳鴻文、嚴家清、沈詠梅 (1980) : 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。
- 陳 清、謝快樂、呂清泉、林旭志、林再春 (1981) : 豬萎縮性鼻炎診斷用抗原之研製與應用。中華民國獸醫學會雜誌。7 : 1-6。
- 陳 清、呂清泉、詹益波、邱仕炎、賴俊雄、張天桂、林旭志、洪典戎、李肇祥 (1984) : 豬萎縮性鼻炎菌苗之研製與應用。台灣省畜牧獸醫學會會報。43 : 62-74。
- 陳 清、呂清泉、詹益波、林再春、周寬典、

- 賴俊雄、張天桂、吳金島、李健郎、林旭志、陳光男 (1985) : 豬大腸桿菌症菌苗製造改進與田間應用試驗，台灣省畜牧獸醫學會會報。45 期，43-54。
- 陳 清、呂清泉、詹益波、賴俊雄、張天桂、林旭志、周寬典、李清川、楊宗德、蔡貴雄、吳森江及陳光男 (1986) : 豬博德氏菌與巴氏桿菌混合菌苗之研製與應用。台灣省家畜衛生試驗所研究報告。No.22 : 41-47。
- 陳 清、呂清泉、詹益波、賴俊雄、張天桂、林旭志 (1986) : 豬大腸桿菌症菌苗對小白鼠免疫效力之評估試驗，台灣省畜牧獸醫學會會報。48 期，59-66。
- 陳 清、呂清泉、賴俊雄、張天桂、詹益波 (1989) : 人工感染博德氏菌、巴氏桿菌及其混合感染引發之豬萎縮性鼻炎，中華民國獸醫學會雜誌，第 15 卷 2 號，129-137。

9. 陳清、呂清泉、賴俊雄、柯浩然、詹益波、邱仕炎 (1991) : 豬萎縮性鼻炎及胸膜肺炎多價菌苗之研製及對實驗動物之安全性與效力。中華民國獸醫學會雜誌。17 : 159-167。
10. 張惟茗、吳義興、楊喜金、林士鈺 (1992) : 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，台灣省政府農林廳八十一年度試驗研究報告書。P.117- 125。
11. Fenwick B.W., B.I. Osburn, and H.J. Olander, (1986) : Isolation and Biological Characterization of two Lipopolysaccharides and a Capsular enriched Polysaccharide Preparation from *Haemophilus pleuropneumoniae*. Am. J. Vet.Res. Vol 47, No.7 : P.1433-1441.
12. Ishii, H., K. Mokudai, T. Seki, T. Matsumoto, M. Kameda, O. Kurihara, Y. Araki, S. Iyobe and H. Hashimoto. (1990) : Drug susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from swine from 1987 to 1989. Jpn. J. Vet. Sci. 52 (2) : 399-402.
13. Kawamoto, E., T. Sawada, K. Suzuki and T. Maruyama (1990) : Serotypes of *Pasteurella multocida* Isolates from Rabbits and Their Environment in Japan. Jpn. J. Vet. Sci. 52 (6) : 1277-1279.
14. Lian, Chang-joo, Soren Rosendal and Janet I. MacInnes (1989) : Molecular Cloning and characterization of a hemolysin gene from *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*, Infection and Immunity Vol.57. No. 11 : 3377-3382.
15. Mittal, K.R., R. Higgins and S. Lariviere (1983) : Determination of Antigenic Specificity and Relationship Among *Haemophilus pleuropneumoniae* Serotypes by an Indirect Hemagglutination Test. Journal of Clinical Microbiology P.787-790.
16. Mittal, K.R., R. Higgins, S. Lariviere, and G. P. Martineau, (1987) : Effect of Heat treatment on the Surface Antigens of *Haemophilus pleuropneumoniae*, Veterinary Record 120. 62-65.
17. Ohgitani. T., C. Uchida, T. Okabe, and N. Sasaki (1991) : Protative Effect by Cell-free Antigen Obtained from culture Supernatant of Phase 1 *Bordetella bronchiseptica*, Jpn. J. Vet. Med. Sci. 54 (1) : 37-42.
18. Rutter, J. M. (1987) : Atrophic Rhinitis in Pigs. Pig News and Information No.4 : 385-387.
19. Saito, K., T. Sakpuaram, T. Fukuyasu and K. Ashida. (1992) : Serological Heterogeneity of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* Serotype 5 Strains, Jpn. J. Vet. Med. Sci. 54 (2) 349-350.
20. Straw, B. E., N. J. Maclachlan, W.T. Corbett, P. B. Carter and H. M. Schey, (1985) : Comparison of Tissue Reactions Produced by *Haemophilus pleuropneumoniae* Vaccines made with Six Different Adjuvants in Swine. Can. J. Comp. med. 49 : 149-151.

The Immunity Program Establishment and Vicissitudes of the Maternal Antibody Titer of Pigs of the Multi-efficacy Combined Bacterin of *Bordetella*, *Pasteurella*, *Actinobacillus* and *Escherichia coli* Antigens for Swine.

*C. Chen¹, C.C. Lu¹, J.C. Lai¹, H.J. Ko¹
I.P. Chan¹, C.J. Li² and G.S. Tsai²

1. Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.
2. Yunlin Hsien Livestock Disease Control Center.

SUMMARY The multi-efficacy bacterin containing *Bordetella bronchiseptica* (*B.b.*), *Pasteurella multocida* (*P.m.*), *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *pleuropneumoniae* (*A.p.* or *H.p.*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) was produced and tried out. Two groups of sow administered twice with 3 ml and 5 ml bacterin were compared. The geometric mean titer of the maternal antibody in 4-day-old suckling piglets against *B.b.* were higher in the 5 ml group (1 : 6,450-1 : 7,068) than in the 3 ml group (1 : 2,791-1 : 3,446).

In the field trials, 47 sows were initially administered with 3 ml of the bacterin and boosted with 5 ml after two weeks. The results indicated that 97.9 % of the sows showed anti-*B.b.* titer over 1 : 1,280 and 93.6 % of their offsprings also showed the same results.

As to the vicissitudes of the maternal antibody titer of the 94 piglets from the sows vaccinated in the field trial, the geometric mean titers at the ages of 4 day · 4 week · 8 week · 10 week and 12 weeks were 1 : 3,594 · 1 : 1,036 · 1 : 250 · 1 : 55 and 1 : 35, respectively. The results suggested that vaccinating piglets at the age of 8 to 10 weeks with 2 to 3 ml intramuscular administration may produce protective immunity.

Key Words: *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Escherichia coli*, Multi-efficacy combination bacterin.

*Corresponding author

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