

# 豬萎縮性鼻炎菌苗之研製與應用

陳清 呂清泉 詹益波 邱仕炎 賴俊雄  
張天桂 林旭志 洪典戊<sup>1</sup> 李肇祥<sup>1</sup>

## 摘要

博德氏支氣管敗血症桿菌一相菌 (*Bordetella bronchiseptica* phase 1) 菌株，培養於馬鈴薯浸膏培養基，於 37 °C 培養 24 小時後集菌，經純化、福馬林不活化處理，添加馬祖寧 (thimerosal) 為防腐劑及氫氧化鋁膠為佐劑，研製成含  $6 \times 10^{10}$  CFU/ml 之不活化全菌體菌苗。

以較大劑量 10ml 之基礎免疫，20ml 之補強注射及設定劑量 2ml 之基礎免疫，5ml 之補強注射，接種於懷孕末期之母豬 (產前 4 週及 2 週)，均無發生流產等不良之接種反應，其安全性甚高。哺乳仔豬於 4 日齡時採血，測定血中之凝集抗體價，得知獲得與免疫母豬血清相同或略高，達 1 : 1,280 ~ 1 : 2,560 倍，經哺初乳之仔豬於 12 週齡時，仍保有 1 : 80 之凝集抗體價。菌苗接種於抗體檢查陰性之 5 週齡小豬及成長家兔，基礎免疫使用 1ml，2 週後經注射使用 2ml 試驗之結果，亦均無任何不良之接種反應。且供試小豬之凝集抗體價為 1 : 640，而家兔為  $\geq 1 : 2,560$ 。

田間應用試驗；免疫接種 181 頭懷孕母豬及 157 頭家兔，抽樣採取 56 頭免疫母豬血清及 112 頭哺乳仔豬血清樣本 (每胎採樣 2 頭)，測定凝集抗體之結果，免疫母豬為 1 : 320 ~ 1 : 2560，哺乳仔豬於 5 日 (± 3 日) 齡時，獲得 1 : 320 ~ 1 : 2560 不等之抗體價。抽樣採取免疫家兔 10 隻測定抗體之結果，得知

其抗體價為 1 : 320 ~ 1 : 5,120 不等。田間應用免疫懷孕母豬或家兔，即使接種前可檢出抗體之存在，經菌苗免疫後，仍會增強並提高其免疫抗體價。

## 緒言

豬隻及家兔萎縮性鼻炎，雖其死亡率不高，但污染率却很大<sup>(11,19)</sup>。對於影響飼料利用效率，增加生產成本，誘發其他慢性呼吸器疾病及污染飼養環境，乃不爭之事實。為防治本病之為害，提高畜產經營之積效起見，在豬隻生產方面，雖有採用無特定病原豬 (Specific Pathogen Free Pigs, SPF 豬) 生產置換之積極經營方式<sup>(24)</sup>，及使用診斷液檢查摘除陽性種豬之治標方法<sup>(9)</sup>。在本省由於豬場經營面積有限，再加上交通運輸頻繁，飛禽走獸帶菌污染傳播防治之困難，因此開發有效菌苗推廣應用，免疫懷孕母豬，使其產生高度免疫抗體而藉初乳之媒介，使初生仔豬獲得被動保護抗體，為目前經濟有效與可行之方法，期以防治本病之為害，以利養豬事業之持續發展，因此筆者等乃從事本項研究，茲謹將所得成績報告如下：

## 材料及方法

### 一、試驗材料

1 種菌株：係 1974 年陳等<sup>(7)</sup>在台灣北部某種豬場分離所得博德氏支氣管敗血症桿菌

抽印自臺灣省畜牧獸醫學會會報第 43 期 62-74 頁 73 年 7 月。

臺灣省家畜衛生試驗所。

<sup>1</sup>省畜試所苗栗種畜繁殖場。

- 一相菌菌株 (*Bordetella bronchiseptica* phase 1 strain), 冷凍乾燥保存供試。
2. 培養基: Bordet-Gengou agar, Potato infusion agar (Difco), Modified Evans media, Tryptic soy broth (Difco) 等培養基。
3. 參考菌苗: 日、美產製之不活化菌苗, K 菌苗及 N 菌苗二種。
4. 小白鼠: 體重 15-17 公克之健康小白鼠。
5. 家兔: 菌苗免疫試驗用兔, 購自中南部地區養兔場, 經萎縮性鼻炎抗體測定陰性者 8 隻供試, 菌苗田間應用試驗家兔, 係由省畜產試驗所, 苗栗種畜繁殖場提供之毛用種兔供試。
6. 懷孕母猪及仔豬: 由省畜產試驗所苗栗種畜繁殖場購入, 未經豬萎縮性鼻炎菌苗免疫之懷孕末期之母猪二頭, 及其所生仔豬 17 頭供為母子免疫試驗用。另以未經豬萎縮性鼻炎菌苗免疫母猪所生仔豬, 經抗體檢查陰性之 5 週齡仔豬 6 頭, 供為菌苗比較試驗之用。
7. 田間應用試驗豬隻: 係本省中部賴種豬場所提供之懷孕母猪 181 頭, 抽樣採取 56 頭母猪血液樣本及其所生仔豬每胎任取二頭血液樣本共 112 頭仔豬之血清, 測定其抗體價。
8. 抗體測定用之診斷液: 本所正式產製之成品 Lot 4, 5 抗原供試。

## 二、試驗方法

### 1. 菌苗之研製:

(1) 全菌體菌苗之製造: 依陳等<sup>(9, 14)</sup>製造診斷用抗原之方法, 將培養所得之純化菌體調整為  $6 \times 10^{10}$  CFU/ml 之濃度, 並經 0.2% 福馬林不活化處理及添加 0.02% Thimerosal 為防腐劑, 以氫氧化鋁膠為佐劑製成之不活化菌苗。

(2) 類毒素預防液之製造: 使用 Modified Evan's 培養基以振盪培養法於 37°C 培養 24 小時之遠心濾過液, 再經不活化處理, 添加防腐劑及佐劑等所製成之類毒素無菌體預防液。

### 2. 安全性試驗:

供試全菌體菌苗: 類毒素預防液, 參照 K 菌苗, N 菌苗及參照菌株培養液, 各接

種於健康天竺鼠腹側皮內, 使用 5 隻天竺鼠, 每隻每側皮內各接種菌苗 0.1ml, 或對照菌株培養液一部位, 供試四組菌苗及參照菌株培養液各有 10 個接種部位。另以小白鼠之皮下及肌肉分別接種 0.5ml 及 0.1ml, 觀察 10 日, 以試驗其安全性。

### 3. 免疫效力試驗:

#### (1) 試驗室部份

① 對家兔之免疫效力試驗: 將研製之全菌體菌苗, 類毒素預防液, 參照之 K 菌苗及 N 菌苗, 每種各接種抗體檢查陰性家兔二隻, 基礎免疫注射 1ml, 二週後補強注射 2ml, 基礎免疫後二週及補強注射後二週, 各採血分離血清測定其免疫抗體價。

② 對小豬之免疫效力試驗: 未經豬萎縮性鼻炎菌苗免疫母猪所生仔豬, 經採血測定抗體陰性之 5 週齡小豬 6 頭, 分為三組, 供研製之全菌體菌苗, 參照 K 菌苗及 N 菌苗免疫試驗之用, 每頭接種 1ml, 二週後補強注射 2ml, 於菌苗接種後第 2、4、8、16 週分別採血, 測定其抗體之消長情形。並於免疫後第四週以  $10^6$  CFU/ml 1ml 鼻腔接種攻擊之, 以測定其感染防禦能力。

③ 對小白鼠之免疫效力試驗: 經家兔免疫試驗較優之全菌體菌苗及參照 N 菌苗, 以 PBS(-)10 倍稀釋後注射於供試小白鼠腹腔各 30 隻, 每隻 0.5ml, 另以 50 隻未注射者為對照用, 二週後全菌體菌苗, N 菌苗免疫群各分為三組, 每組 10 隻, 而對照群分為五組, 分別以博德氏支氣管敗血症桿菌強毒株之  $10^{6-10}$  CFU/ml 段階稀釋菌液 0.1 ml 腹腔注射攻擊, 觀察 10 日, 分別計算其 LD<sub>50</sub> 防禦指數。

④ 對懷孕母猪之安全與母子免疫試驗: 以較大劑量 10ml 接種於產前一個月之懷孕母猪, 二週後再補強注射 20 ml, 及設定劑量基礎免疫使用 2ml, 補強注射 5ml。以觀察較大劑量之注射對懷孕母猪之安全性。菌苗注射前, 基礎免疫後二週及產後分別採取血

液及初乳，初生仔豬於 4 日齡時採血，分離血清，以試管凝集反應法測定其抗體價 (9, 15, 16, 22)。

⑤ 菌苗之保存性試驗：研製之不活化全菌體菌苗製成後及 4 °C 冷室保存 6 個月及 13 個月後，分別以小白鼠測定其防禦指數，其方式與 C 項小白鼠之免疫效力試驗同。

(2) 田間應用試驗部份：

① 對家兔免疫試驗：全菌體菌苗對成年種兔各接種 1ml，二週後再補強注射 2ml，共接種 157 隻，除抽樣 10 隻於免疫前，基礎免疫後二週，補強注射後二週，分別採血測定抗體外，其餘則僅觀察其健康狀態及反應情形。試驗地點在省畜試所苗栗種畜繁殖場。

② 對懷孕母豬之免疫及仔豬移行抗體之測定：在田間應用試驗，其注射量分別為 2ml 二次，5ml 二次，及基礎免疫使用 2ml，補強注射使用 5ml 等三組。2ml 組使用 25 頭母豬，抽樣採血 11 頭母豬。5ml 組使用 25 頭母豬，抽樣採血 9 頭。基礎免疫使用 2ml，補

強注射使用 5ml 組共免疫 131 頭，抽樣採血 36 頭。各組免疫前採血供試者並於產後及出生仔豬於 5 日 (± 3 日) 齡時，每胎任取二頭，同時採取血液樣本，分離血清，測定母豬免疫後之抗體價及仔豬之移行抗體價。試驗地點在台中縣霧峰鄉草湖路 250 號峰成養豬場。

## 試驗結果

### 一、試驗室部份

#### 1. 安全試驗成績：

供試四組菌苗及博德氏支氣管敗血症桿菌對照菌株之培養液，及培養基各接種天竺鼠腹側皮內各 0.1ml，觀察 10 天之結果，除對照活菌液接種部位 10/10 (100%) 均出現皮膚坏死病灶外，其餘四組菌苗之接種部位及培養基組，均無任何病變如圖 1。另以 0.5ml 及 0.1ml 菌苗分別接種小白鼠皮下及腿部肌肉各 10 隻，觀察 10 日之結果，亦均耐過健存。



圖 1 萎縮性鼻炎菌苗對天竺鼠安全性試驗成績

Fig. 1: Safety test on Atrophic Rhinitis Vaccine in Guinea-pig

1. 全菌菌苗。 2. 類毒素菌苗。 3. 參照 K 菌苗。  
4. 參照 N 菌苗。 5. 參照活菌液。 6. TSB 培養基。

2. 對家兔之免疫效力試驗成績：

研製之全菌體菌苗，類毒素菌苗，參照K菌苗及N菌苗等四組，免疫注射於抗體陰性家兔之結果，其抗體產生之情形，以全菌體菌苗之抗體價為最高，分別為

1 : 2,560 倍及 1 :  $\geq 5,120$  倍，而類毒素菌苗所產生之抗體價，雖較全菌體菌苗及參照菌苗為低，但仍可達 1 : 320 倍之抗體價，詳如表 1。

表一：萎縮性鼻炎菌苗接種兔之免疫反應

Table 1: Immune Responses of Rabbits Inoculated with Atrophic Rhinitis Vaccine

菌苗之種類 Kind of Vaccine	兔 號 Rabbit No.	試管凝集抗體價 Tube Agglutination titer		
		免疫前 Before immunization	基礎免疫後二週 2 wks. after basic immunization	補強注射後二週 2 wks. after booster immunization
全菌體菌苗 Whole cell Vaccine	1	< 10 ×	640 ×	$\geq 5,120$ ×
	2	< 10 ×	320 ×	2,560 ×
類毒素菌苗 Toxoid Vaccine	3	< 10 ×	80 ×	320 ×
	4	< 10 <sup>-</sup> ×	40 ×	320 ×
參照 K 菌苗 Reference K-Vaccine	5	< 10 ×	640 ×	640 ×
	6	< 10 ×	40 ×	80 ×
參照 N 菌苗 Reference N-Vaccine	7	< 10 ×	320 ×	640 ×
	8	< 10 ×	160 ×	640 ×

3. 對小白鼠之免疫效力試驗成績：

經家兔免疫試驗效力較優之全菌體菌苗，再以小白鼠實施防禦指數之測定，並以參照 N 菌苗對照試驗，小白鼠免疫注射後

14 日後，再以不同濃度菌液攻擊之，所得結果，證實試驗菌苗及參照菌苗 LD<sub>50</sub> 之防禦指數均高於 100，詳如表 2。

表二：萎縮性鼻炎菌苗免疫小白鼠對攻擊試驗之結果

Table 2: Results of Mice Vaccinated with Atrophic Rhinitis Vaccine Against Challenge Exposure

群 Group	供試白鼠數 No. of mice tested	不同濃度博德氏菌液攻擊後之活存數 Survival after Various B. b. cell challenge					50%致死量 LD <sub>50</sub>
		10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>10</sup>	
全菌體菌苗 Whole cell Vaccine	30			10/10	9/10	0/10	10 <sup>9.44</sup>
參照 N 菌苗 Reference N- Vaccine	30			10/10	9/10	0/10	10 <sup>9.44</sup>
對 照 Control	50	10/10	8/10	0/10	0/10	0/10	10 <sup>7.38</sup>
備 註 Remarks	活存白鼠數 Survival mice		供試隻數 tested mice				

4. 對小豬自動免疫效力試驗成績：

全菌體菌苗，參照K菌苗及N菌苗，各免疫注射於抗體陰性小豬二頭之結果，得知研製完成之全菌體菌苗，基礎免疫後二週其試管凝集之抗體價，即呈顯著之上

昇達1：160，補強注射後二週其抗體價再提高為1：640。迄至免疫後16週，尚保持1：80之抗體價。可見其免疫注射後抗體產生快且免疫性亦很堅固，詳如表3所示。

表三：萎縮性鼻炎菌苗接種小豬之免疫反應

Table 3: Immune Responses of Piglets Inoculated with Atrophic Rhinitis Vaccine

菌苗之種類 kind of Vaccine	小豬號 Piglet No.	試管凝集抗體價 Tube Agglutination titer					
		免疫前 Before immunization	基礎免疫後二週 2 wks. after basic immunization	補強注射後 (週別) After booster Vaccination (wk)			
				2	4	8	16
全菌體菌苗 Whole cell Vaccine	3-1 3-2	<10 × <10 ×	160 × 160 ×	640 × 640 ×	160 × 160 ×	160 × 160 ×	80 × 80 ×
參照K菌苗 Reference K-Vaccine	3-3 3-4	<10 × <10 ×	160 × 150 ×	320 × 320 ×	160 × 160 ×	160 × 160 ×	160 × 80 ×
參照N菌苗 Reference N-Vaccine	3-5 3-6	<10 × <10 ×	40 × 40 ×	640 × 320 ×	160 × 160 ×	160 × 160 ×	80 × 80 ×

5. 對懷孕母豬母子免疫試驗成績：

懷孕母豬二頭於產前4週，分別以較大劑量10ml之基礎免疫，產前二週再補強注射20ml，另以設定劑量基礎免疫使用2ml，補強注射使用5ml，所得結果，其安全性均高，無任何不良之影響（如流產等）。二頭母豬於基礎免疫後二週均產生1：640之抗體價，分娩時（即補強注射後二週）其抗體價上昇達1：1,280，

而初乳之抗體價則均高達1：10,240。分娩後4日齡仔豬由於哺初乳而獲得1：1,280～1：2,560之抗體價。懷孕母豬A所生仔豬於4週齡時以 $10^6$ CFU/ml 1ml活菌鼻腔內攻擊之結果，迄至12週齡時剖檢檢查鼻甲介骨之結果，均未發現有鼻甲介骨之萎縮現象，且細菌培養亦呈陰性，而對照仔豬則有鼻甲介骨萎縮現象，且細菌培養也陽性，詳如表4、5所示。

表四：萎縮性鼻炎菌苗接種懷孕母豬之免疫反應

Table 4: Immune Responses of Pregnant Sows Vaccinated with Atrophic Rhinitis Vaccine

母豬號 Sow No.	劑量 Dosage 1 ml	接種前 Before vaccination	試管凝集抗體價 Tube agglutination titer			
			基礎免疫後二週 2 wks after basic vaccination	分娩後 After farrowing	初乳 Colostrum	
A	10 20	1:10	1:640	1:1,280	1:10,240	
B	2 5	1:10	1:640	1:1,280	1:10,240	

表五：經哺免疫母猪初乳之仔猪抗體狀況

Table 5: Antibody Status of Piglets after Receiving Colostrum from Vaccinated Sows

仔猪號 Piglet	仔猪出生後之抗體價 (週別) Antibody titer of piglets after birth (wk)					細菌分離 B. b isolation		鼻甲介骨 萎縮 Turbinates atrophy
	4-day-old	2	4	8	12	8	12	
A-1	2,560 ×	640 ×	640 ×	320 ×	80 ×	-	-	-
A-2	2,560 ×	640 ×	640 ×	320 ×	80 ×	-	-	-
A-3	1,280 ×	640 ×	640 ×	160 ×	80 ×	-	-	-
A-4	1,280 ×	640 ×	640 ×	160 ×	80 ×	-	-	-
A-5	1,280 ×	640 ×	640 ×	160 ×	80 ×	-	-	-
A-6	1,280 ×	640 ×	640 ×	160 ×	80 ×	-	-	-
B-1	2,560 ×	1,280 ×	640 ×	320 ×	80 ×			
B-2	2,560 ×	1,280 ×	640 ×	320 ×	80 ×			
B-3	2,560 ×	1,280 ×	640 ×	320 ×	80 ×			
B-4	2,560 ×	1,280 ×	640 ×	160 ×	80 ×			
B-5	1,280 ×	1,280 ×	640 ×	320 ×	80 ×			
B-6	1,280 ×	1,280 ×	640 ×	160 ×	80 ×			
B-7	1,280 ×	1,280 ×	640 ×	320 ×	80 ×			
B-8	1,280 ×	1,280 ×	640 ×	320 ×	80 ×			
對照 Control	<10 ×	<10 ×	<10 ×	<10 ×	10 ×	+	+	+
	<10 ×	<10 ×	<10 ×	10 ×	10 ×	+	+	+

備註：二頭母猪初乳之抗體價均同為 1 : 10,240。

Remark: The colostrum titers for both nursing pigs were 1 : 10,240.

6. 菌苗之保存性試驗成績： 免疫組分別為  $10^{9.44}$ ， $> 10^{10}$  及  $10^{10}$ 。而對照  
全菌體菌苗製成後冷存 4 °C 6 個 照菌液則為  $10^{7.38}$ ， $10^{7.76}$  及  $10^{7.5}$ 。可見其  
月 13 個月取出，再以小白鼠測定其免  $LD_{50}$  防禦指數均  $> 100$ ，詳如表 6 所示。  
效效力之結果，其  $LD_{50}$  所需之菌數，

表六：萎縮性鼻炎菌苗保存性對小白鼠之效力試驗成績

Table 6: Effect of Preservation on A R Vaccine in Mice

群別 Group	4 °C 冰室不同保存期間及 50% 致死量所需菌數 Various periods preserved at 4 °C & $LD_{50}$ need.		
	0 month	6 month	13 month
全菌體菌苗 Whole cell vaccine	$10^{9.44}$	$> 10^{10}$	$10^{10}$
參照 N 菌苗 Reference N vaccine	$10^{9.44}$	ND	ND
對照菌液 Bacterial susp. control	$10^{7.38}$	$10^{7.76}$	$10^{7.5}$

備註：ND 示未測定。

Remark: ND - Not determined.

## 二、田間應用試驗部份

### 1 對家兔免疫試驗成績：

全菌體菌苗接種於毛用種兔 157 隻，菌苗接種前，基礎免疫後二週及補強注射後二週各抽樣採血 10 隻，測定抗體之結果

，得知無論免疫前有無抗體，或其力價高低，於基礎免疫及補強注射後，其抗體價均有顯著上昇之現象，其試管凝集價自 1 : 320 ~ 1 : 5,120 不等。而兔群之一般健康情況亦獲得改善。詳細成績如表 7 所示。

表七：萎縮性鼻炎菌苗田間應用接種家兔之免疫成績

Table 7 : Immune Responses of Rabbits Vaccinated with Atrophic Rhinitis Vaccine in Field Application Tests.

免 號 Rabbit No. 抽樣 ( Sampling )	性別 Sex	試管凝集抗體價 Tube agglutination titer		
		免 疫 前 Before vaccination	免疫後二週 2 wks after vaccination	補強注射後二週 2 wks after booster vaccination
48	♂	< 10 ×	160 ×	640 ×
61	♂	40 ×	160 ×	1,280 ×
62	♂	40 ×	320 ×	640 ×
73	♂	160 ×	640 ×	640 ×
153	♂	160 ×	320 ×	640 ×
27	♀	80 ×	640 ×	1,280 ×
66	♀	80 ×	320 ×	1,280 ×
112	♀	80 ×	1,280 ×	5,120 ×
115	♀	160 ×	320 ×	640 ×
162	♀	160 ×	320 ×	320 ×

備 註：總共 157 隻種兔接受預防注射。

Remark : A total of 157 rabbits were Vaccinated.

### 2 對懷孕母豬之免疫及其仔豬移行抗體之測定成績：

供試懷孕母豬 181 頭，分為注射 2ml 二次，5ml 二次及基礎免疫 2ml 補強注射 5ml 等三組。產前 4 週基礎免疫，產前二週再補強注射一次。2ml 組及 5ml 組各免疫注射 25 頭，抽樣採血分別為 11 頭及 9 頭。設定劑量基礎免疫使用 2ml，補強注射

使用 5ml 組者，共免疫懷孕母豬 131 頭，抽樣採血 36 頭，各組免疫前及分娩後抽樣採血，及其初生仔豬於 5 日 ( ± 3 日 ) 齡時，每胎任意取樣採血二頭，測定血清中之試管凝集抗體價，得知其抗體價上昇達 1 : 320 ~ 1 : 2,560 不等，仔豬由於哺乳食免疫母豬初乳而獲得與母豬血清相同或略高之抗體價，詳如表 8 及圖 2 所示成績。

表八：萎縮性鼻炎菌苗免疫懷孕母豬及其哺乳仔豬被動免疫之田間應用成績

Table 8 : Results of Pregnant Sows Vaccinated with Atrophic Rhinitis Vaccine and Passive Immunized of their Piglets by Colostrum in Field Application Tests.

採樣母豬數 No. of sows sampling	劑量 Dosage (ml) (twice)	母豬試驗數 No. of sows tested	母豬凝集抗體價 Agg. titer of sows		每胎仔豬採樣二頭之凝集 抗體價 Agg. titer of piglets two samples each litter
			免疫前 Before vaccination	分娩後 After farrowing	
11	2	2	< 10×	320×, 640×	320×, 320×, 640×, 640×
		1	10×	320×	640×, 640×
		2	20×	320×, 1,280×	320×, 320×, 1,280×, 2,560×
		1	40×	640×	640×, 640×
		4	80×	320×, 320×, 640×, 1,280×	320×, 640×, 320×, 640×, 640×, 640×, 640×, 1,280×
		1	320×	640×	320×, 1,280×
9	5	2	10×	320×, 320×	640×, 1,280×, 640×, 640×
		3	20×	320, 640×, 640×	320×, 320×, 640×, 640×, 640×, 640×
		3	40×	320×, 640×, 640×	1,280×, 1,280×, 640×, 640×, 640×, 640×
		1	80×	640×	640×, 640×

備註：全部 50 頭母豬分為二群供試。

Remark : A total of 50 sows used for testing were divided into two groups.

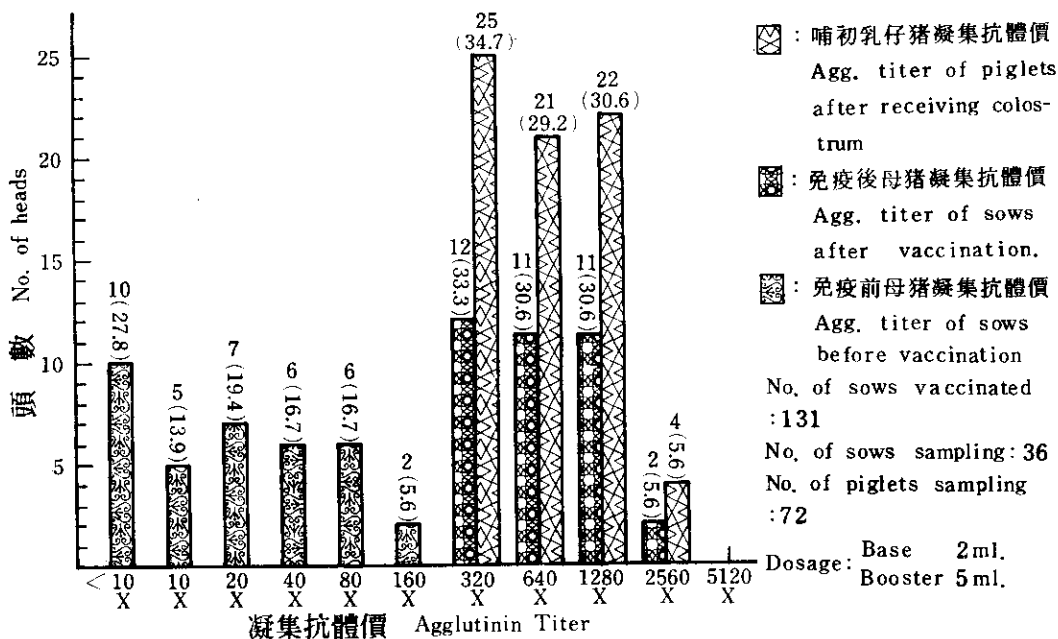


圖 2：萎縮性鼻炎菌苗田間應用免疫母豬及其哺乳仔豬之被動抗體狀況

Fig 2 : Antibody status of sows vaccinated with AR vaccine & their piglets after receiving colostrum in field application tests.



## 討 論

豬及家兔萎縮性鼻炎病例，有日漸增多之趨勢，其原因與密集飼養，通風不良，污染畜未能即時檢出淘汰及缺乏有效菌苗之防治有關。而目前本病之病因論已趨於一致，咸認博德氏支氣管敗血症桿菌 (*Bordetella bronchiseptica*) 之感染所引起<sup>(2,3,13,20,22)</sup>。在國外雖有 Jong 等<sup>(18)</sup> 報告 *Pasteurella multocida* 也會引起萎縮性鼻炎病例，惟在本省尚無是項細菌引起萎縮性鼻炎之調查研究報告。本病在台灣對於豬及家兔之感染，其污染率均很高，據 Sung (1975)<sup>(23)</sup> 調查高雄屠宰場，台灣南部各地屠宰豬之血清，A R 凝集抗體價之結果，平均陽性率高達 31.2%，惟據農林廳 70 年度 (1981) 各縣市豬萎縮性鼻炎抗體調查統計資料，其陽性者高達 62.37%，顯示病例日漸增加。近年來由於國外菌苗之輸入，因此在豬隻抗體調查方面，必須將預防注射與無預防注射者分開調查，方能獲得正確之統計數字。在家兔方面，目前確信尚未應用萎縮性鼻炎菌苗來預防鼻漏症，陳等<sup>(11)</sup> 於民國 71 年 10 月~12 月間，調查本省中南部兩地區送來供兔化豬痘疫苗製造用兔，抽檢 214 隻之結果，其陽性者有 79 隻，陽性率高達 36.9%，且由陽性病例分離出毒力甚強之博德氏支氣管敗血症桿菌一相菌，可見其污染相當普遍。

總之，萎縮性鼻炎，無論是豬隻或家兔在本省均為一重要之慢性傳染病，應如何有效加以防治是一件刻不容緩之問題，目前在本省地狹人稠，交通運輸頻繁，野生動物飛禽走獸帶菌傳染防治困難之情況下，似乎僅有仰賴有效菌苗之開發應用，作為一種防治補救之道。而使用博德氏菌單項或混以 *P. multocida* 製成之免疫用菌苗，以預防本病，據中瀾<sup>(14)</sup>，王等<sup>(1)</sup>，馬等<sup>(4-6)</sup>，張等<sup>(12)</sup> 及 Éliás and szent-Iványi<sup>(17)</sup> 報告，無論是以單項不活化菌苗或混合菌苗之應用，均可降低豬隻之感染程度及經濟上之損失。陳等<sup>(8,10)</sup> 由試製之不活化菌苗，超音波處理菌苗及類毒素菌苗，由實驗證明可使 SPF 小豬產生 1:80~1:640 不等之免疫抗體。Sekiya 等<sup>(22)</sup>，以小白鼠做

防禦試驗亦證明其有效性。在本試驗中試製之全菌菌苗，可使家兔產生 1:2,560~1:5,120 之抗體價，並可使供試小豬產生 1:640 之抗體價，且略較參照菌苗為優，已詳如表一及表三。在母子免疫試驗方面，懷孕母豬於產前四週，以較大劑量 10ml 之基礎免疫注射，產前二週再補強注射 20ml，及設定劑量基礎免疫 2ml，補強注射 5ml，對於胎兒均無任何不良之影響（如流產等），且使分娩後之仔豬於 4 日齡時，由於經哺初乳而獲得 1:1,280~1:2,560 之高被動抗體價，至 12 週齡時，其抗體價仍有 80 倍。供試 A 母豬所生仔豬，於 4 週齡時並經活菌攻擊試驗後，於 12 週時剖檢鼻甲介骨均正常，可見其有效性與實用價值。

在田間應用試驗方面，由於豬、兔污染率頗為普遍，因此應用上是否有效，可否再提高其抗體價及減少為害等問題，經試驗之結果，證實無論是豬隻或家兔，在免疫前即使有抗體之存在，經免疫注射後，其抗體價仍能呈顯著之上昇，詳如試驗結果表七、八及圖二。對於嗣後分娩仔豬及仔兔，有助於因經哺初乳而獲得較高之被動抗體價，以預防感染或減輕其為害之程度。更由於試驗成績得知，在豬隻免疫方面注射 2ml 二次，5ml 二次組，其產生之抗體價，無顯著之差異，而設定劑量基礎免疫注射 2ml，補強注射 5ml 組，經試驗之結果，其抗體產生情形相當良好，嗣後之免疫，擬以此方式推廣應用。至於家兔免疫方面則建議基礎免疫 0.5ml，補強注射 1ml 為宜。

## 誌 謝

本研究之完成，承蒙行政院農發會林再春博士之鼓勵，國立中興大學獸醫系主任謝快樂博士在本所製劑研究系主任任內之諸多指導，併誌萬分之謝忱。

## 參考文獻

- 1 王貞富，張聯欣，馬清獻，李武雄 1974：豬萎縮性鼻炎預防之研究，台糖畜產研究所年報 62/63 年期，263—283。
- 2 徐興鎔，許淑英，周煥元 1969：豬傳染

- 性萎縮性鼻炎病因與病理發生之研究，台糖公司種畜場研究年報，57-58 年期，74-85。
3. 徐興鎔，許淑英，曹彤，周凝元，朱瑞民，洪澤湖，陳太平 1972：豬萎縮性鼻炎病因病理發生與防治之研究，*Bordetella bronchiseptica* 人工感染仔豬試驗，台糖公司種畜場 60-61 年期研究報告，147-156
  4. 馬清獻，張聯欣，劉福蔭，李武雄，王貞富 1975：豬萎縮性鼻炎預防之研究 II，母猪及仔豬 AR 不活化菌苗免疫之效果，台糖畜產研究所年報 63/64 年期，241-256
  5. 馬清獻，劉福蔭，李武雄，張聯欣 1976：豬萎縮性鼻炎預防之研究，豬 AR 不活化菌苗預防試驗，台糖畜產研究所年報 64/65 年期，141-153。
  6. 馬清獻，張聯欣，劉良心，沈宜中 1977：豬傳染性萎縮性鼻炎預防之研究 IV，育種場豬群免疫預防 AR 之效果，台糖畜產研究所年報 65/66 年期，191-199。
  7. 陳清，李全，林地發，陳忠松，邱朝齊，陳守仕，林再春 1974：豬萎縮性鼻炎集團發生例及分離病原菌 *Bordetella bronchiseptica* 之生物學性狀。台灣省畜牧獸醫學會會報 24，51-61。
  8. 陳清，謝快樂，呂清泉，林旭志，林再春 1980：豬傳染性萎縮性鼻炎菌苗之研製，台灣省農林廳畜產試驗評議會工作報告書 45-53（未正式發表）。
  9. 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。
  10. 陳清，謝快樂，呂清泉，賴俊雄，林旭志，張天桂，林再春 1981：豬萎縮性鼻炎菌苗之研製（續辦）。台灣省農林廳畜產試驗會試驗研究報告，台灣省畜產試驗所編印，570-574。
  11. 陳清，呂清泉，林旭志，張天桂，李進海，楊場輝，傅祖慧，謝快樂 1983：家兔萎縮性鼻炎抗體之調查與博德氏菌分離之研究，中華民國獸醫學會雜誌，9，67-73。
  12. 張聯欣，馬清獻，陳富宏 1978：豬萎縮性鼻炎預防之研究（續）V，各種 AR 菌苗對豬隻之預防效果，台糖畜產研究所研究報告，66/67 年期，193-204。
  13. 劉瑞生 1973：豬萎縮性鼻炎自然與實驗病例早期感染與病理研究，台灣省畜牧獸醫學會會報，22，50-61。
  14. 中瀬安清 1973：ARワクチン（豚ボルデテラ感染症預防液）について，Monthly，The Kitasato Medical News，No. 232，1-23。
  15. 尾形學監修 1979：豚の萎縮性鼻炎，ボルデテラ感染症，文永堂，19。
  16. 清水健，1972：豚萎縮性鼻炎における凝集反應の診斷的意義，畜産の研究，26，1009-1014。
  17. Éliás, B. and T. Szent-Iványi, 1981：Studies on swine atrophic rhinitis. 1. Investigation into the epizootiology, diagnosis, and specific prevention of the disease. Zentralbl. Veterinaermed., B. 28. 363-370.
  18. Jong, M. F., H. L. Oei, and G. J. Tetenburg, 1980：AR-pathogenicity tests for *Pasteurella multocida* isolates. Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1980 Cong., Copenhagen, Denmark.
  19. Martineau, G., A. Broes., and A. Dewaele, 1981：*Bordetella* infection of swine：Results of a serological survey. Annales de Médecine Vétérinaire. 125. 293-301. (Cited from the Veterinary Bulletin Vol. 52. No 2)
  20. Rutter, J. M., M. A. Lesley Francis and B. F. Sansom 1982：Virulence of *Bordetella bronchiseptica* from pigs with or without atrophic rhinitis. J. Med. Microbiol. Vol. 15. 105-116.
  21. Sekiya, K., M. Kawahira and Y. Nak-

- ase 1983 : Protection against experimental *Bordetella bronchiseptica* infection in mice by active immunization with killed vaccine. *Infect. Immun.* 41, No. 2, 598-603.
22. Shimizu, T., M. Nakagawa, S. Shibata and K. Suzuki 1971 : Atrophic rhinitis produced by intranasal inoculation of *Bordetella bronchiseptica* in hysterectomy produced colostrum-deprived pigs. *The Cornell Veterinarian*, 61, 696-705.
23. Sung, Hwa-Tsung 1975 : A serological survey of *Bordetella bronchiseptica* infection in swine in southern Taiwan using the tube agglutination test. *Taiwan Jour. Vet. Med. & Anim. Husb.* 26, 31-35.
24. Twiehaus, M. J. and Norman R. Underdahl, 1975 : Control and elimination of swine diseases through repopulation with specific pathogen-free (SPF) stock. *Diseases of swine*. Fourth edition, 1163-1179.

**Studies on Production and Application of Swine  
Atrophic Rhinitis Vaccine**

Ching Chen , C. C. Lu , I. P. Chan , S. Y. Chiu ,  
J. S. Lai , T. G. Chang , S. T. Lin , D. W. Hong<sup>1</sup>,  
and J. S. Lee<sup>1</sup>

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

1. Taiwan Provincial Livestock Research Institute, Mio-Li Research Station.

*Bordetella bronchiseptica* phase 1 strain was used for atrophic rhinitis vaccine production. The bacteria were cultured on potato infusion agar at 37°C for 24 hours, harvested and adjusted to a final concentration of  $6 \times 10^{10}$  CFU/ml, then inactivated with formalin and supplemented with preservative thimerosal and adjuvant aluminum hydroxide gel.

Safety tests were carried out in pregnant sows with two kinds of vaccination program, one with high doses, i.e. 10 ml for basic vaccination and 20 ml for revaccination at two weeks interval, the other with designated dose, i.e. 2 ml for 1st vaccination and 5 ml for booster. No clinical sign or abortion was observed in either group of vaccinated sows. Piglets from the vaccinated sows had maternal antibodies of 1 : 1,280 - 1 : 2,560 at 4-day-old, and 1 : 80 at 12-week-old. A.R. antibody free piglets, 5-week-old, and adult rabbits were also vaccinated with the bacterin, 1 ml at 1st vaccination and 2 ml at revaccination for piglets, and 0.5 ml 1st vaccination 1 ml revaccination for rabbits. No clinical signs was noticed during the experiment period. The average tube agglutination antibody titer was 1 : 640 for the vaccinated piglets, and 1 : 2,560 for rabbits.

In the field trials, 181 of pregnant sows and 157 of rabbits were vaccinated with the bacterin as designated program. Serum samples, 56 from vaccinated sows and 112 from their piglets (5-day-old) were collected. The tube agglutination antibody levels were 1 : 320 - 1 : 2,560, for both sows and their piglets. The antibody titers of the vaccinated rabbits were 1 : 320 - 1 : 5,120. Immune response could be induced in sows or rabbits even with low level of AR antibody before vaccination.