

猪瘟中和抗體之研究

第二報：母猪初乳對猪瘟免疫抗體產生之研究

楊喜金 賴俊雄 張天桂 劉燃炎 吳義興 詹益波

(臺灣省家畜衛生試驗所)

一、緒 言

關於傳染性疾病之防疫，即使是品質優良之疫苗，由於應用時期之不當，往往得不到理想的效果，故如何使疫苗發揮最大作用，才是防疫上的重要問題。

筆者等過去對產後第10日仔猪，每隔10日抗體消長試驗中⁽¹⁾，感到二點很值得檢討之問題，其一為產後第10日仔猪，其猪瘟移行抗體有高於母猪抗體者，雖然為數甚少。其二為同胎仔猪猪瘟移行抗體參差不齊，對於第一個問題，一般的看法，分為可能與不可能正反兩個主張，其間雖曾經過熱烈的討論，但由於當時，同胎仔猪供試血清例數不多，而且測定成績均從產後第10日間開始，故未得結果。然對於第二個問題，除仔猪由於個體差異外，母猪乳頭部位之不同，而初乳本身之抗體，是否有所差異等問題，均為考慮之範圍。

據於上述二個問題，筆者等對於初乳抗體發生興趣，開始進行試驗，預期對母猪血清、初乳以及仔猪三者間，抗體之互相關係，尋求更進一步之看法。然經筆者（楊）⁽²⁾在初步試驗中已約略得悉，母猪初乳之猪瘟中和抗體價比母體抗體為高，同時母猪乳頭由於部位不同，擠出初乳之抗體價亦有差異。

本研究以母猪、初乳、仔猪三者間抗體之差異，乳頭部位間抗體之關係等作為試驗重點。1969年 Stalery 等⁽³⁾謂，初生仔猪十二指腸粘膜，於出生 36 小時後，即失去吸收初乳中大分子蛋白的機能，故對於仔猪之移行抗體，究於何時達到頂點之問題，在本研究中同樣受到重視。茲將試驗所得結果報告如下。

二、試驗材料及方法

A. 材料

1. 供試猪隻血清及乳汁：母猪血清，初乳及仔猪血清均由榮糖公司種畜場提供，其數量計母猪 7 頭，初乳由每頭母猪，左右前後四粒乳頭人工採取。仔猪血清由每頭母猪所產仔猪中任選 4 頭。供試母猪，過去曾施行過二次免化猪瘟疫苗之防疫，供試母猪之年齡生產及防疫記錄等，詳如表一。
2. 仔猪睪丸：從榮糖公司種畜場或瑞芳建基農場，未經猪瘟疫苗預防注射之健康小豬中所採取，睪丸處理細胞。
3. 健牛血清：係從本所關西疏散處健康牡牛所採取，血清分離後，經 56°C 30 分鐘非働化後，至使用時一直冷凍保存者。
4. 猪瘟 LOA 弱毒：1965 年 10 月間由佐藤博士，從日本農林省家畜衛生試驗場，分讓携贈本所供疫苗製造及中和試驗用者。
5. 新城雞瘟宮寺株：由日本農林省家畜衛生試驗場分讓，以雞胚胎繼代保存尿液毒。
6. 藥品及器具：包括組織培養用各類藥品各種設備。

再：本報告內容曾於 60 年 12 月 12 日在臺灣省畜牧獸醫學會年會上宣讀。

(26)

B. 試驗方法

1. 供試材料：

(1) 母豬血清：每頭母豬均於懷孕前，懷孕後第30、60、90日，分娩當時，分娩後第48小時，第5、10、20、30、40等日，各採取一次，計採取11次，總計77樣本，每次從耳或頸靜脈採血5c.c，經血清分離後，於56°C 溫水中非働化30分鐘後，至測定前一直於-20°C 中冷凍保存。

(2) 初乳：上述供試母豬於分娩當時，分娩後第24、48、72小時，各從左右前後奶頭，以人工無菌採取4次，計108樣本。每次採取乳汁約1—2cc，採取後於56°C 溫水中非働化30分鐘後，至測定前一直於-20°C 中冷凍保存。

(3) 仔豬血清：上述供試母豬分娩每胎仔豬中，任選4頭，各於分娩後第24、48、72小時，第5、10、20、30、40等日各採一次，計採取8次，總計224樣本。每次從頸靜脈採取血液約5cc，經血清分離後，於56°C 溫水中非働化30分鐘後，至測定前一直於-20°C 中冷凍保存。材料之採取如圖一。

2. 中和抗體測定方法 (END法)：(4.5.6.7)

(1) 供試材料之稀釋：上述母仔豬血清及初乳等，經無菌採取及非働化後，以 Lactalbumin Hank's solution (LH) 施行倍數稀釋，然後加入同量 100TCID₅₀ 之豬瘟 LOA 弱毒稀釋液，而置於 37°C 溫水槽中感作一小時者。

(2) 仔豬睪丸細胞之消化：從臺糖公司種畜場或建基農場所採取，未經豬瘟疫苗預防注射之健康仔豬睪丸，以無菌操作之方法，除去副睪頭及睪尾後，剝離白膜，然後細切睪丸，並以 0.25 % 之 Trypsin 消化，所處理之細胞以 LH₂₀ (Lactalbumin Hank's solution 加20%健康牡牛非働化血清者)，稀成 0.6—0.8% 之細胞液 (每 c.c 中含 Penicillin 100u, streptomycin 100r)。

(3) 中和抗體價 END 法之檢出：上述供檢血清及初乳經倍數稀釋後與 LOA 病毒之感作液 0.4ml，加 1% 以 LH₂₀ 配製之細胞培養液 (細胞濃度為 0.6%) 後，置於 37°C 之恆溫器內，固定培養 4 日，第 4 日抽棄培養液，再以 LH₁₀ 將新城雞瘟宮寺株尿毒液稀成 1:1000，其每支供培養試管注入 1ml 施行攻擊，而繼續置於 37°C 恆溫器中培養 72 小時，於 72 小時以低倍顯微鏡下施行判定，觀察結果形成細胞病變者 (Cytopathic effect CPE) 者為抗體陰性，不引起 CPE 者為抗體陽性。有關血清乳汁之稀釋及中和抗體價之檢查，分別詳如表二與圖二。

三、試驗成績

1. 母豬懷孕前至分娩後第40日之抗體消長：供試母豬7頭，自懷孕前直至分娩後第40日間，分別採血計11次，其所分離之血清，經豬瘟中和抗體價測定結果，詳如表三及圖三。依表三及圖三之成績所示，母豬懷孕後，其抗體漸呈上昇現象，其曲線高峰殆分佈在懷孕後第90日至分娩當時這段期間，而俟母豬分娩後，其抗體則漸趨下降。

2. 母豬初乳之豬瘟中和抗體價：供試母豬7頭，自分娩當時起依圖一時間，每頭分別以人工無菌操作採取乳汁4次。筆者等茲為明瞭，乳頭部位是否與抗體價有關，故乳汁從左前、右前、左後、右後四處乳頭採取，所採初乳除經 56°C 30分鐘之非働化外，並無行其他任何處理，茲將所採 108 樣本 (3292 號母豬因早產，故分娩當時樣本從缺) 之成績詳如表三及圖四。依表三成績所示，筆者等發現幾點必須在此值得一提，①初乳除非働化外，不需經過其他特殊處理，可施行試管中之反應。②母豬分娩後 72 小時以內之初乳抗體，均比母豬抗體為高，而且高於母豬 1:10~1:100 之間。③乳頭部位與抗體價有差異，即前位乳頭之抗體價比後位乳頭者為高，但左右之間並無一定之關係。

3. 仔豬移行抗體之消長：茲為欲證明，仔豬抗體是否高於母豬抗體，而且仔豬抗體究於何時達到頂點問題，筆者等在本研究之初，就擬定於仔豬產後第 24 小時開始採血，所得結果詳如表三。由表三成績所示，仔豬之移行抗體，於產後第 24—48 小時為最高，其與母豬抗體之比較關係為：

母猪採血期間	仔猪齡	高於母猪抗體頭數及%	等於母猪抗體頭數及%	低於母猪抗體頭數及%
分娩當時	48小時	10 (35.7%)	6 (21.4%)	12 (42.8%)
〃	5日	2 (7.1%)	5 (17.8%)	21 (75%)
〃	10日	—	4 (14.2%)	24 (85.7%)
分娩後第10日	10日	7 (25%)	6 (21.4%)	15 (53.5%)

4. 母猪、仔猪及初乳抗體價之關係比較：綜合表三圖三及圖四成績。母猪、初乳及仔猪三者間，平均抗體價之消長詳如表四及圖五。由表四成績所示，初乳抗體，均比同時期採血母猪及仔猪抗體價為高，其高出程度為1:10—1:20之間（總平均）。然母仔猪抗體於同時採血樣本比較結果（總平均）為，48小時齡以前抗體均比母猪為高，由於母猪分娩後第三日血液樣本從缺，故是否比仔猪抗體為高，尚待日後討論，不過仔猪至第5日齡時之抗體，已顯然比母猪抗體為低。

四、討 論

1. 母猪抗體^(1,7)：由表三成績所示，供試母猪7頭，從懷孕前至分娩後第40日之間，計採血11次抗體測定結果，懷孕前抗體均分佈在1:8—1:64之間，然後其抗體隨着懷孕日數之增加，而逐漸上昇，到了懷孕90日至分娩當時這段期間，其抗體價顯示達到頂點，均分佈在1:250—1:1024之間，究引起此種現象者，是否母體在懷孕期間由於生理變化，抑或體內某種因素之刺激某種器官，產生更高抗體，是個值得檢討之問題。相反的母猪分娩後其抗體漸趨下降，此種現象似與初乳之排泄有關。

上述情形過去尚未見報告者，蓋以往對於仔猪移行抗體測定試驗中，供試母猪均於分娩當時以及分娩後只採血1—2次，故在整個懷孕期抗體消長曲線，就缺乏系統性之資料。

2. 初乳抗體：關於初乳抗體係由母體所移行之情形早已被證實，惟仔猪哺初乳後，在48小時以內體中即速產生多量抗體者（指每胎平均10頭小豬整個個體而言），筆者咸認為此種現象，除初乳供給產生抗體因素外，是否尚刺激致活體內某種器官再產生抗體，也是值得檢討的問題。

由表三成績顯示，初乳抗體比母體者為高，而且前後乳頭間抗體呈差異問題，這種事實也許就是致使同胎仔猪抗體參差不齊的原因。

蓋仔猪生後不久就有固定乳頭位置哺乳的習慣，一般哺前位乳頭者，其發育往往較好，這除抗體價不同外，乳營養成分是否亦有差異，由於本文中未能分析不便定論。筆者等考慮，如能將母猪初乳事先採取，然後平均給與同胎仔猪時，手續雖煩，但能使同胎仔猪抗體一致化，結果可以適當控制仔猪預防注射時期，對於仔猪瘧疾疫苗防疫上，可能將會有幫助。

3. 母仔猪抗體關係：仔猪生後24—48小時以內抗體達到最高峰之現象，已在本試驗中得到證實。然母仔猪抗體價之關係如何，亦可在本報告中看出一般，如試驗成績第三項中所述，母猪抗體假定以分娩當時力價為準，仔猪於產後48小時及5日齡之抗體價，分別有35.7%及7.1%高於母體。至於仔猪10日齡抗體價沒有高於母體分娩當時力價，而10日齡仔猪抗體價呈25%高於母猪分娩後第10日之力價者，乃母猪分娩後抗體下降較速，而仔猪抗體在10日齡內下降速度較慢所致。

過去對於仔猪抗體，是否高於母猪抗體之情形，經本試驗系統性採材測定結果，其事實顯然存在，並且是很自然的現象，並不足為奇。

五、結 論

1. 母猪懷孕期間抗體，隨懷孕日數之增加而逐漸上昇，其力價於懷孕90日至分娩當時為最高，而母猪分娩後其抗體則漸趨下降，此下降情形似與初乳的排泄有關。
2. 母猪初乳中之中和抗體，均比母猪抗體及仔猪抗體高 1:10以上。乳汁無需經過特殊處理，可直接在試管中施行反應。
3. 母猪乳頭由於部位之不同，其抗體價亦異，通常前位抗體價較後位者為高，相差倍數在1:2—1:4之間，此種現象為致使同胎仔猪抗體力價參差不齊之原因。
4. 仔猪抗體於24—48小時齡者為最高。
5. 仔猪於48小時齡之移行抗體，有35.7%高於母猪分娩當時抗體。

誌 謝

本研究之完成，承蒙國家科學委員會補助研究補助費，並蒙農復會李秘書長崇道博士，余組長如桐劉技正永和及本所陳所長守仕之指導，謹誌謝忱。

註：本報告係本所61年度國科會通過研究題目之一，同時亦為臺糖公司種畜場61年度研究題目，故試驗成績分別於本所及臺糖公司種畜場研究報告中發表。

參 考 文 獻

1. 馬清獻，楊喜金等：母猪懷孕期間猪瘟免疫抗體消長及仔猪移行抗體狀況之研究，臺糖公司種畜場，59—60年期，147—158. (1971)
2. 楊喜金：初乳對母仔猪，猪瘟抗體關係之研究，學術研究會研究報告摘錄，臺灣省家畜衛生試驗所，第三卷第一期，(61.2)，P7—8 (1972)
3. T.E.Staley, E.W. Jone & L. D. Corley: Fine structure of Doudenal Absorptive Cells in the Newborn Pig Before and After Feeding of Colostrum, Am. J. Vet. Res., Vol. 30, No4, 1969.
4. Shimmizu T., T. Kumagi, S. Ikeda and M. Matumoto Arch Ges, Virus forch:14 697—699 (1964).
5. Sato, U., Y. Nishinurd, T. Hanaki and K. Nobuto: Bll off int. Epiz, 61 (1—2) 15—35, 1964
6. Sato. U., Y. Nishimara, T. Hank; and Nobuto: Arch Ges. Virus forch: 14 395—403. 1964
7. 劉然炎、楊喜金、賴俊雄、張天桂：母猪猪瘟免疫性之研究，學術研究會研究報告摘錄，臺灣省家畜衛生試驗所，第2卷第3期，P5—6，60，8

表一、供試母猪年齡生產及防疫記錄

Table 1. The record of age, farrowing and vaccination of tested sows

Breeds	Sows	Date of	1st	Last	Date of	Date of	litter size	No. of birth
		birth	Vaccination	Vaccination	mating	farrowing		
L	3292	58.7.8	58.8.22	60.4.26	60.9.16	61.1.9	6	4
L	2760	57.8.20	57.10.4	59.10.25	60.9. 6	61.1.9	9	5

L	4320	59.1.19	59.3.17	60.1.22	60.9.17	61.1.11	3	3
LM	7168	58.1.11	58.2.22	60.2.9	60.9.15	61.1.11	4	5
L	3054	58.5.21	58.6.20	60.5.18	60.10.5	61.1.30	5	4
L	4310	59.2.19	59.4.8	60.3.19	60.10.9	61.2.1	10	3
LJ	6964	58.1.9	58.2.21	60.2.9	60.10.12	61.2.2	5	5

圖一、供試材料之採取法

Fig. 1. Experimental materials obtained

Sow	Before Pregnancy	After pregnancy (days)			At farrowing			After (hrs)			Farrowing (days)				
		30	60	90				48		5	10	20	30	40	
								24	48	72					
								24	48	72	5	10	20	30	40

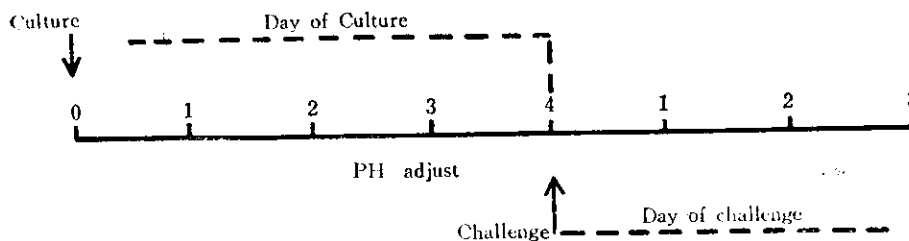
表二、END法測定材料之稀釋

Table 2. Sample dilution of neutralization antibody test by END method

Tube No.	1	2	3	4	5	6	Control	
							Posit.	Neg.
Dilution times	Orig.	2	4	8	16	32.....n		
LH (dilution)		0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2	0.2
Tested samples	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
100 TCID ₅₀ (ml) LOA	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sensitization		37°C					1 hour	
1% S.t cell LH ₂₀ Suspension (ml)	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Culture	37°C 4 days							
Challenge (1:1000 NDV.LH ₁₀) (ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Culture	37°C 3 day							

圖二、END法檢出過程

Fig 2. The evaluation Process of neutralization antibody test by END method

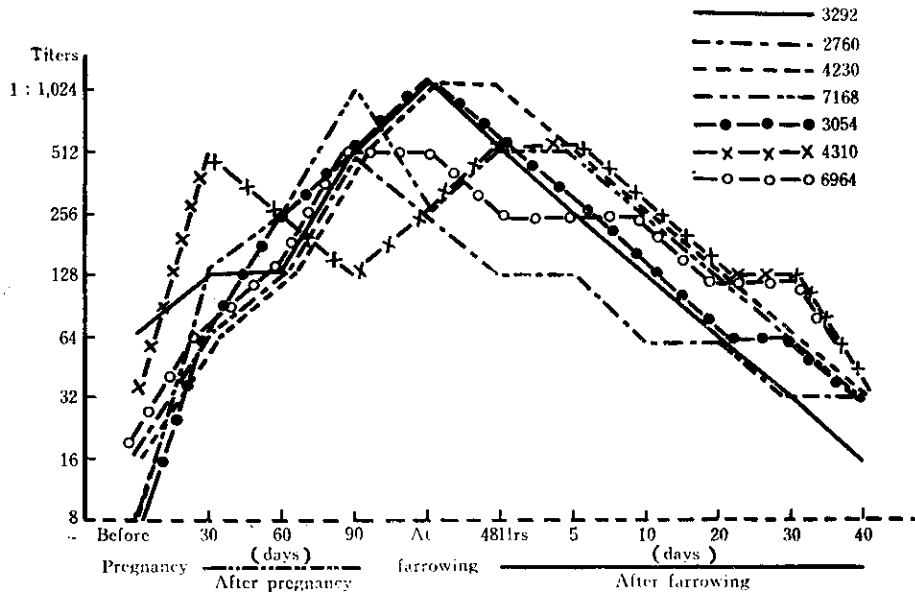


表三、母仔豬血清及初乳攝蘆中和抗體力價之比較
 Table 3. Comparison of Hog cholera neutralization antibody titers among sows, colostrums and piglets

No. of sow	Hog cholera antibody titers of sows										Hog cholera antibody titers of colostrums										Hog cholera antibody titers of piglets									
	Pregnancy					At farrowing					Position of teats					After farrowing					No. of piglets					After farrowing				
	Before	30 days	60 days	90 days	At farrowing	48 Hrs	5 days	10 days	20 days	30 days	40 days	Front	Hind	Front	Hind	Front	Hind	Front	Hind	Front	Hind	24 Hrs	48 Hrs	72 Hrs	5 days	10 days	20 days	30 days	40 days	
3292												Front left 1										512	1024	256	512	256	128	64	32	
												Hind left 3										1024	1024	512	512	256	128	64	32	
	64	128	512	1024	1024	1024	512	128	64	32	16	Front right 1										1024	1024	512	512	256	128	64	32	
												Hind right 2											512	1024	256	256	128	64	32	16
2760												Front left 2										16384	1024	512	512	256	128	128	64	
												Hind left 2										4096	2048	512	512	256	128	64	32	
	16	64	128	512	256	128	64	64	32	32	Front right 4											16384	8192	2048	512	256	128	64	32	16
												Hind right 3											2048	1024	512	256	128	64	32	32
4230												Front left 1										16384	2048	512	512	256	128	32	32	
												Hind left 1										4096	2048	512	512	256	128	64	32	
	16	64	128	512	1024	1024	512	256	128	64	32	Front right 1										8192	2048	512	512	256	128	64	32	
												Hing right 1											4096	2048	512	256	128	64	32	16

圖三、母豬懷孕前至分娩後40日豬瘟中和抗體力價曲線之比較

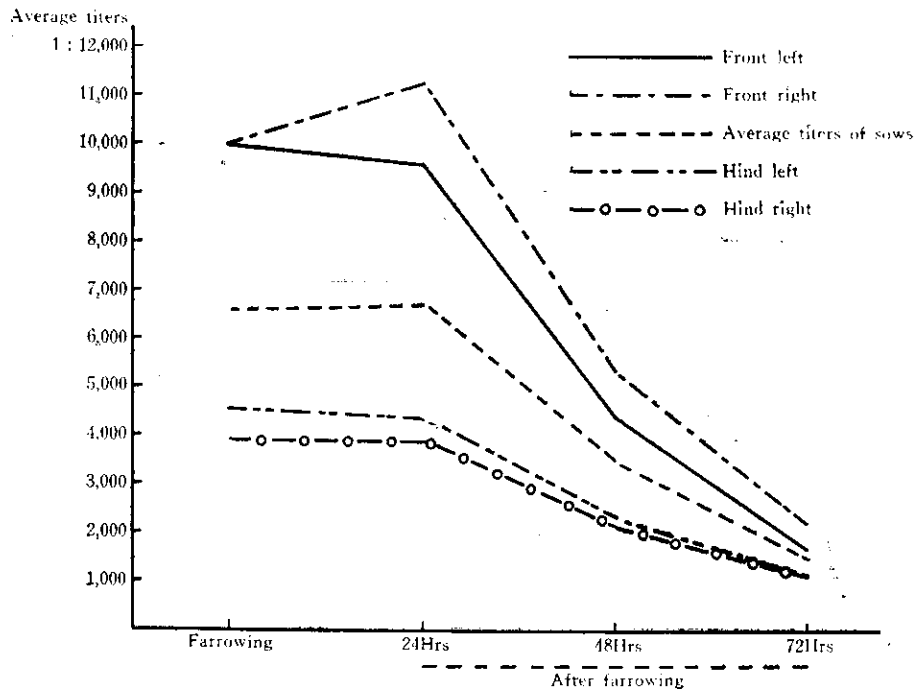
Fig 3. Comparative Curves of Hog cholera neutralization antibody of the sows before pregnancy to 40 days after farrowing



Remarks: Sources from table 3

圖四、不同部位乳頭初乳抗體平均力價曲線之比較

Fig.4. comparative curves of average Hc antibody titers in colostrum to from different location of teats



Remarks: Sources from table 3

表四、母豬、初乳仔豬間豬瘟平均中和抗體之產生關係

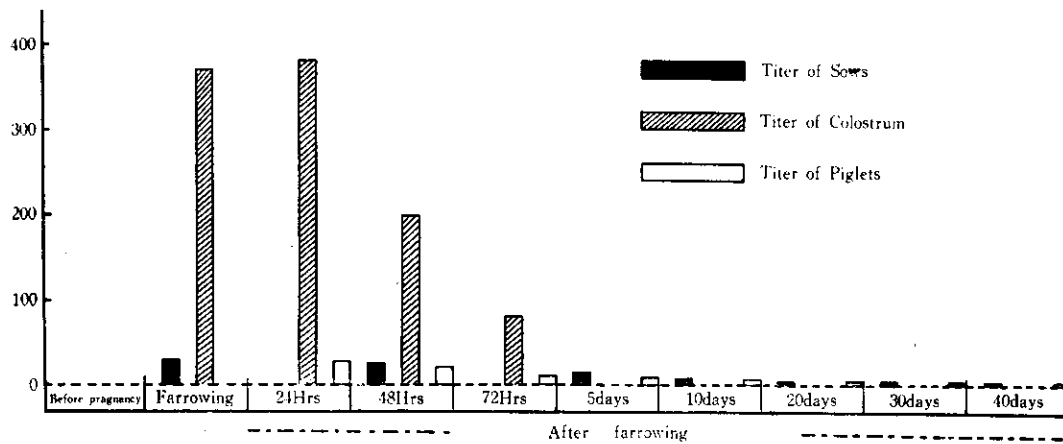
Table 4. The average of Hog cholera neutralization antibody titers in sows, colostrums and piglets

Time of sampling Tested Samples	Before Preg- nancy	Farrow- ing	After Farrowing							
			24 Hrs	48 Hrs	72 Hrs	5 days	10 days	20 days	30 days	40 days
Average serum antibody of 7 sows	1 : 17.5	520	—	411.4	—	306	169.3	93.6	63.1	31.6
Average colostrum antibody of 7 sows	—	6494	6683	3350	1448	—	—	—	—	—
Average serum antibody of 28 pigs	—	0	526.5	443	284.2	196.3	125.9	66.3	36.7	21.3

Remarks : Sources from table 3

圖五、母豬、初乳仔豬間豬瘟中和抗體關係之比較

Fig. 5. Comparison of average Hog cholera neutralization antibodies among sows, Colostrums and piglets.



Remarks : 1. Source from table 3. 4.

2. The 1 : 17.5 average Serum antibody titers before pregnancy of sows in table 4-1

STUDIES ON HOG CHOLERA (HC) NEUTRALIZATION ANTIBODIES OF SWINE

(2) Studies on the formation of Hog cholera antibodies in sow colostrum

S.C. Yang, J.S. Lai, T.K. Chang, J.Y. Liu, Y.S. Wu, I. P. Chan

(Taiwan provincial Research Institute for Animal Health)

English summary

Occasionally even the most effective vaccine will not induce stable immunity in the field, because the vaccination time is not suitable. Therefore properly applying vaccine to obtain the most effective vaccination is the propose of this study.

Recently in Taiwan, the Hog cholera neutralization antibody has been studied by many authors. From previous studies on the distribution of colostral antibodies of piglets, the results indicated that the colostral antibody titers of piglets were higher than their mothers. The parental transfered antibodies from various piglets in the same litter and the colostrum from different nipples showed different antibody titers.

According to the results as mentioned above the authors concluded that these may be closely affected by the colostrum of sows. Therefore, the relationship of the neutralization antibody titers among sows piglets and colostrums are carefully studied in this report. It is also an important study that when show the highest colostral antibody titer of piglet.

Sera were collected from 7 sows and 4 piglets which were sampled at random from each of their litters. The colostrum of each sow was also collected from 4 different teats (divided into first front left, first front right, last hind left and last hind right) and were used in this study. the materials (table 1, Fig. 1) were supplied by T S C and the result are summarized as follows:

1. The H C antibody titer slowly increased following the days of pregnancy, but the highest titer was found in the latest period and at the parturition. The titers decreased after parturition. It was related to the excretion of colostrum (Table 3 fig. 3)
2. The antibody titers of the colostrum are 10 times or higher than those of 48 hour old piglets (Table 3)
3. The colostral antibody titers varied in the different nipples. the titer of antibodies from first front nipple was $\times 2$ to $\times 4$ higher than those from last one. These results could explain why the piglets in the same litter showed different antibody titers (Table 3 fig 4)
4. The highest antibody titers of the piglets was found at the interval of 24-48 hrs after birth.
5. The H C antibody titers of 48 hour-old piglets are higher than those of sows after parturition.