

國產與進口豬萎縮性鼻炎菌苗之效力評估

蘇杰夫* 吳建志 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 為瞭解豬萎縮性鼻炎不活化菌苗經冷室保存後之效力變化如何？就受檢之該劑中選取 10 例檢體進行測試。結果除 1 例檢體於保存 12 個月時，對小白鼠之防禦指數降至標準以下 (1.86) 外，其餘供試者，仍維持最低標準 2.00 以上。對豬隻血清中 *B. bronchiseptica* 的凝集抗體大致與對小白鼠防禦指數的高低呈正比，且其凝集抗體之消長，以免疫後 4~8 週最高，可達 160~320 倍，隨後即逐漸下降，故免疫一次對豬隻之凝集抗體約可僅維持 2 個月以上。據此試驗結果，於該劑品質尚未提升之前，其保存有效期限仍維持一年。

關鍵詞：豬萎縮性鼻炎不活化菌苗

緒 言

豬萎縮性鼻炎症雖對豬隻之單純感染，不致於造成死亡，但對感染豬則影響其對飼料之利用率、發育遲緩 [1, 5, 14, 15]，且易使患畜誘發流行性肺炎及嗜血性胸膜肺炎或其他呼吸道的疾病終至死亡 [3, 4, 6, 8, 11, 13, 14, 15]。但為減少菌苗預防注射次數與緊迫，節省人力，故多價菌苗也陸續問市。內含之抗原不一，十分複雜，且業者對免疫適期不能掌握，使用不當，加上飼養管理人員之衛生管理不當，往往經菌苗使用後，未能達到預期之效果。此是否與菌苗本身經長期保存或菌苗中所含有其他疾病之抗原過多，影響 *Bordetella bronchiseptica* 抗原濃度，致使效力有所降低，尚待究明而擬定本試驗，茲將所得成績報告如下。

材料與方法

試驗材料：

一、供試菌苗：

選取國內外生產之豬萎縮性鼻炎不活化菌苗共 10 批，置於 4~10 °C 保存 (含單價 5 批，二價 3 批，三價 2 批)。

二、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：由台糖購入未經細菌性菌苗注射之 6~8 週齡小豬。

試驗方法：

一、本劑對小白鼠之免疫效力試驗：

依現行之國家檢定標準法 [9, 10]，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 3 組，每組 10 隻，各組分別以 *B. bronchiseptica* 強毒株，於本菌之固體培養基，經 37 °C，20~24 小時培養之後，以生理食鹽水洗下，遠心之菌體經濃縮後配成，菌液 $10^8 \sim 10^{10}$ CFU/mL，三階段稀釋液以 0.1 mL 腹腔內注射攻擊；對照小白鼠亦分成三組，各組分別以 $10^6 \sim 10^8$ CFU/mL 三階段稀釋液以 0.1 mL 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 LD₅₀，再相比結果，評估其防禦指數，免疫群之 LD₅₀ 防禦指數須大於對照群 100 倍以上始算合格。

二、本劑對六週齡小豬免疫抗體之消長測試：

*抽印本索取作者
台灣省家畜衛生試驗所

將本劑置於 4~10 °C 保存 3、6、9、12 個月時，分別免疫六週齡小豬，並於免疫後 2、4、8、12 週採血，以本所出產之豬萎縮性鼻炎之凝集抗原測其抗體，藉以評估其對仔豬之免疫效力。

結 果

豬萎縮性鼻炎不活化菌苗冷室 (4~10 °C) 保存 3、6、9、12 個月後對小白鼠之免疫效力試驗：

檢體免疫小白鼠，經 2 週之飼養觀察後，以強毒株 *B. bronchiseptica* 之新鮮菌液腹腔內注射攻擊，結果如表一所示，各供試檢體於冷室保存至 9 個月時，仍未見有未達國家標準者 (即防禦指數大於 2.00)，但至 12 個月時，卻見於國內產品中之一例 (# A-38) 未達最低標準，且有部

份檢體其防禦指數較初檢時為低，而進口品，雖其含有之抗原較複雜 (即二價或三價)，但其防禦指數仍堪稱穩定，即高於最低之國家標準。

豬萎縮性鼻炎不活化菌苗冷室 (4~10 °C) 保存 3、6、9 及 12 個月後對六週齡小豬免疫之凝集抗體消長之分析：

六週齡仔豬經檢體免疫後，於固定期間採血，依凝集反應，測試凝集抗體，於本劑免疫後二~四週，各供試豬之血中對 *B. bronchiseptica* 凝集抗體皆有顯著上升 (較原持有抗體上升 40 倍)，惟八週至十二週時逐漸下降，甚至降至 20 倍，如表二所示；國產品對供試豬抗體之產生，於保存 9 個月者有一例僅於免疫後四週時達 40 倍 (較原持有抗體上升 20 倍以下，至 12 個月者，有二例未能達 40 倍之凝集抗體，如表三所示。

表一 豬萎縮性鼻炎不活化菌苗冷室 (4~10 °C) 保存後對小白鼠
免疫效力之檢測成績

菌苗出產廠商別 (批 號)	菌苗含有 抗原別	小 白 鼠 免 疫 防 禦 指 數				
		0	3	6	9	12 (月)
A (38)	B	2.09	2.10	2.07	2.05	1.86
B (11)	B	2.16	2.16	2.13	2.10	2.05
C (58)	B	2.33	2.34	2.33	2.32	2.26
D (27)	B	3.14	3.14	3.13	3.16	3.09
E (C-39)	B	3.25	3.26	3.25	3.30	3.25
F (94/2)	B. P.	2.35	2.44	2.33	2.32	2.26
G (696)	B. P.	2.44	2.32	2.30	2.33	2.25
H (696)	B. P.	2.10	2.11	2.09	2.10	2.08
H (231-120)	B. P. E	2.44	2.44	2.32	2.34	2.16
I (24804)	B. P. E	3.08	3.05	3.07	3.07	3.05

註：B：*B. bronchiseptica*.

B. P：*B. bronchiseptica* + *P. multocida*.

B. P. E：*B. bronchiseptica* + *P. multocida* + *E. rhusiopathiae*.

表二 豬萎縮性鼻炎不活化菌苗冷室(4~10℃)保存3及6個月後對六週齡小豬免疫後之凝集抗體消長

菌苗出產廠商別 (批號)	菌苗保存時間 (月)	凝集抗體消長 (週)				
		0	2	4	8	12
A (38)	3	20	80	80	40	20
B (11)		20	80	80	40	20
C (58)		20	80	80	40	20
D (27)		20	160	320	320	80
E (C-39)		20	320	640	640	160
F (94/2)		40	80	160	160	40
G (696)		10	80	160	160	80
H (231-120)		10	80	80	80	40
I (20622)		10	80	80	80	40
J (24804)		20	160	160	160	80
A (38)	6	10	80	40	40	20
B (11)		10	80	40	20	20
C (58)		20	80	80	40	40
D (27)		20	160	160	160	80
E (C-39)		40	160	320	320	160
F (94/2)		20	80	160	80	40
G (696)		10	80	80	40	20
H (231-120)		20	80	80	40	40
I (20622)		10	160	160	80	20
J (24804)		20	160	160	80	40

表三 豬萎縮性鼻炎不活化菌苗冷室(4~10℃)保存9及12個月後對六週齡小豬免疫後之凝集抗體消長

菌苗出產廠商別 (批號)	菌苗保存時間 (月)	凝集抗體消長 (週)				
		0	2	4	8	12
A (38)	9	20	40	40	20	10
B (11)		20	80	80	40	20
C (58)		10	80	160	160	80
D (27)		10	80	160	160	80
E (C-39)		20	160	320	320	160
F (94/2)		20	80	160	160	80
G (696)		10	80	160	80	80
H (231-120)		10	80	80	40	40
I (20622)		10	160	160	80	40
J (24804)		20	160	320	160	80
A (38)	12	20	20	20	10	10
B (11)		20	20	20	20	10
C (58)		20	80	80	40	40
D (27)		10	40	80	40	20
E (C-39)		10	160	320	320	160
F (94/2)		20	80	160	160	80
G (696)		20	80	80	80	40
H (231-120)		10	40	80	80	40
I (20622)		20	80	160	80	40
J (24804)		20	160	160	160	80

討 論

吾國對豬萎縮性鼻炎不活化菌苗之有效期限，原訂定為一年，但據就送檢本劑檢體之各項試驗得知，本劑對小白鼠之免疫防禦指數與其對小豬之血中 *B. bronchiseptica* 凝集抗體反應的關係比較，若依小白鼠之防禦指數低於 2.05 時，其對小豬血中 *B. bronchiseptica* 產生之凝集抗體價則低於 40 倍，防禦指數大於 2.07 時，大致對豬隻血中 *B. bronchiseptica* 產生的凝集抗體價皆可高於 40 倍，顯現兩者呈現正比之結果，也即是對小白鼠防禦力差者，其對供試豬隻的免疫抗體反應也相對的減低，此證實以小白鼠檢測的模式仍可供為本劑測定之用；又該劑經冷室保一年後，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。中級品保存一年後其對小鼠之免疫效力尚稱有效。至於劣級品，保存有效期間，僅及 12 個月。本劑對豬隻免疫注射後二~四週血中 *B. bronchiseptica* 之凝集抗體即上升，第八週起逐漸下降，顯示本劑之凝集抗體約可維持 2 個月以上。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照極為重要。再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。

參考文獻

1. 吳兆奇、劉正義、許添桓、沈瑞鴻·1992·實驗接種 D 型巴氏桿菌毒素引發致豬萎縮性鼻炎，中華獸醫誌·18(3)：151-161.
2. 黃文徹、劉義雄、劉敏主、周懋森、蘇杰夫、陳忠松·1987·動物用活毒、活菌苗之保存試驗，台灣省畜衛試研報·23：213-219.
3. 陳清、呂清泉、賴俊雄、柯浩然、詹益波、邱仕炎、張靖男、李清圳、蔡貴雄·1992·豬博德氏菌、巴氏桿菌、嗜血桿菌及大腸桿菌多價菌苗田間應用其免疫計畫之設定，81 年度台灣省農林廳畜產試驗評議會研究報告書·177-187.
4. 陳清、呂清泉、詹益波、賴俊雄、張天桂、林旭志、周寬典、李清圳、楊宗德、蔡貴雄·1986·豬博德氏菌與巴氏桿菌混合菌苗之研製與應用，台灣省畜衛試研報·22：42-47.
5. 陳清、呂清泉、賴俊雄、張天桂、柯浩然、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，中華獸醫誌·15(2)：129-137.
6. 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，中華獸醫誌·17：159-167.
7. 陳清、呂清泉、詹益波、賴俊雄、張天桂、林旭志、邱仕炎、洪典戎、李肇祥·1984·豬萎縮性鼻炎菌苗之研製與應用，台灣畜醫學報·43：62-74.
8. 陳清、呂清泉、賴俊雄、柯浩然、盧泰志、詹益波、李清圳、蔡貴雄·1993·豬博德氏菌、巴氏桿菌胸膜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，台灣省畜衛試研報·29：47-54.
9. 動物用藥品檢驗標準·1995·行政院農業委員會·59-61.
10. 豚ボルデテウ感染症不活化クゲチン引自：動物用生物學的製劑基準·1993·社團法人動物用生物製劑協會·97-102.
11. Bording A, Riising HJ. 1986. Vaccination against atrophic rhinitis : A field Study on Atrinord. I. P. T. S. 9th Congress, P. 245.
12. Code of federal regulations : Animals and Animal Products. National Archives and Records Administration. Washington. U.S. Government Printing Office. 1994
13. Kobisch M, Pennings A. 1989. An evaluation in pigs of Nobivac AR and an experimental atrophic rhinitis vaccine containing *P. multocida* DNT-toxoid and *B. bronchiseptica*. Vet. Rec. 124 : 57-60.
14. Ostle AG, Murtle DM, Welter CJ. 1986. Reducing the effects of enzootic pneumoniae and atrophic rhinitis. Vet. Med. 772-775.
15. Ostle AG, Welter CJ. 1987. Cross-protection in swine between toxigenic *P. multocida* serotype A and D. agri-practice Nov-Dec. 23-26.

Evaluation on efficacy of domestic and imported bacterins of swine atrophic rhinitis in mice and swine

J. F. Su C. C. Wu W. C. Huang Y. S. Liu

Taiwan Animal Health Research Institute.

SUMMARY A total of 4 domestic and 6 imported bacterins of swine atrophicrhinitis (AR) collected from the market were tested for efficacy in mice and swine. Results obtained from these tests were as follows : Of the 10 AR bacterins tested, 9 bacterins maintained over 2.0 immune-defence index after 12-month preservation. However, the remained one from domestic had lower (<1.86) immune-defence index. The responses of the agglutination antibody against *Bordetella bronchiseptica* in swine were consistent with the changes of immune-defence index in mice. The agglutination titers of *B. bronchiseptica* were increased after vaccination and reached the highest at 4-8 weeks postinoculation at the levels of 160-320X, thereafter the titers decreased as the age increased. However, the protective immune of AR bacterins in pigs was not over 2 months.

Key words: *Bacterin of Swine Atrophic Rhinitis*