

# 免疫調節劑 OmniGen AF

## 對離乳仔豬存活率及免疫力的影響

### 壹、摘要

位於台灣的養豬產業正面對著因為濫用藥物而產生抗藥性的嚴重問題。剛離乳的仔豬及 40 公斤以前的保育豬其育成率更是低。面對著抗藥性的問題，如何提高育成率，不以消極的投藥，而改用積極的方法投以免疫促進劑來改善育成率。商用免疫調節劑 OmniGen AF 廣泛使用於美國的泌乳牛，用以提昇其泌乳期之免疫系統。本研究主要目的在於探討 OmniGen AF 對離乳仔豬死亡率，白血球增生能力、IL1- $\beta$ 、 $\beta$ -defensin、L-selectin 基因表現、血液中 IgM 及 IgG 濃度的影響。離乳仔豬分為兩組，一組為商用飼料添加 0.2% OmniGen AF 粉末，另一對照組只餵飼商用飼料，餵飼 45 天。結果顯示，於死亡率較高的豬場餵飼含有 OmniGen AF 飼糧的離乳仔豬期死亡率顯著低於對照組( $p < 0.05$ )；但於死亡率低的豬場，對其仔豬死亡率影響並不顯著( $p > 0.05$ )。檢測仔豬免疫力，發現餵飼 OmniGen AF 之仔豬其白血球增生能力顯著優於對照組( $p < 0.05$ )；但於 IL1- $\beta$ 、 $\beta$ -defensin、L-selectin 的基因表現量、血液中 IgM 及 IgG 的含量與對照組相比並無明顯之差異( $p > 0.05$ )。綜合以上結果，免疫調節劑 OmniGen AF 可改善仔豬後天免疫力以提高存活率。

## 貳、前言

台灣地處亞熱帶，又屬海島型氣候，日夜溫差變化大，威脅豬隻健康，加上國內豬場飼養密度高且豬場密集，致使豬隻呼吸系統容易受病原侵襲，尤其是哺乳仔豬特別容易染患呼吸系統疾病。另因豬場距離太近，養豬戶來來往往，也容易造成豬的疾病感染。加上豬場內死豬剖檢不普及，缺乏專業診斷，用藥較浮濫及疫苗施打太多，形成豬病環境之緊迫，導致死亡率高。再者，台灣的飼料原料(玉米及豆粉)全部仰賴進口，從產地到台灣往往要經過數個月的時間，若保存不善，容易導致黴菌滋生。黴菌的問題亦是影響台灣豬隻存活率的主要因素。世界上養豬先進國家每頭母豬繁殖可供上市肉豬的頭數都很高，如美國約 20 頭，丹麥為 22 頭；而國內因母豬使用年限短，每頭母豬繁殖可供上市肉豬數平均只有 14 頭，美國之豬隻育成率約為 82%，澳洲約為 81%，丹麥約為 80%，而台灣的豬隻育成率這幾年大約在 68~72%(黃，2008)。仔豬從離乳後，一方面因為無法藉由吸取乳汁獲得移行抗體，加上離乳所產生的緊迫，且飼料中抗生素的濫用產生抗藥性細菌以及飼料中所含的黴菌毒素使得免疫下降，這是導致保育豬育成率低的主要原因。提高豬隻的免疫力，以提高育成率可能為一可行之方法。本實驗的目的，藉由飼料添加免疫調節劑，來獲得較高的免疫力，以提高育成率。

## 參、文獻討論

### 一、影響仔豬免疫力因素的

#### (一) 抗生素濫用所導致的抗藥性細菌

抗生素使用在豬隻的飼養上，除了治療感染性的疾病並減緩其臨床症狀外，飼料中添加抗生素作為促進生長以及提高飼料利用率，供此用途的常見抗生素有 ampicillin, bacitracin, erythromycin, lincomycin, virginiamycin, 和 tetracycline，長期使用此類藥物會選殖出具抗藥性的菌株。為了解藉由粉塵散播具抗藥性菌株的危險，美國進行密閉養豬場空氣採樣的相關試驗。結果在分離的菌株 137 株中，47 株(34%)為腸球菌(Enterococcus)，44 株(32%)為葡萄球菌(Staphylococci)，45 株(33%)為鏈球菌(streptococci)。所有的菌株中，超過 98% 對豬場常使用的抗生素(erythromycin, clindamycin, virginiamycin, 或 teracycline)具兩種以上的抗藥性，超過 93% 以上菌株對 3 種以上抗生素具有抗藥性。個別來看，98% 對 erythromycin 具抗藥性，94% 對 clindamycin 具抗藥性，90% 對 teracycline 具抗藥性及 37% 對 virginiamycin 具抗藥性 (Chapin *et al.*, 2005)。由於抗藥性的細菌產生，導致仔豬細菌感染時沒有適當的抗生素可用，因此，世界各國對於減低抗生素使用於飼料中，為飼養畜產動物未來的趨勢。

## (二)豬隻病毒性疾病

台灣豬隻疾病在 1975 年前較為單純，常見之病毒性疾病方面不外乎為豬瘟、日本腦炎、豬傳染性胃腸炎、假性狂犬病、豬水疱病和豬痘等；而細菌性疾病主要有豬萎縮性鼻炎、豬赤痢、豬白痢、豬水腫病和沙氏桿菌症等。然而，今日台灣豬隻疾病種類繁多，疾病一旦侵入，往往就成為一種地方性疾病。在病毒性疾病，除上述疾病外尚有豬流行性下痢、豬輪狀病毒感染症、豬小病毒感染症、豬流行性感冒、豬血球凝集性腦脊髓炎等。而 1992 年的豬生殖與呼吸綜合症病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus; PRRSV)(張，1993；黃，1996)，爾後的第二型豬環狀病毒(porcine circovirus 2; PCV2)(王，2001；王，2002)，1997 年豬 O 型口蹄疫病毒(Shieh, 1997)，1999 年泛亞 O 型口蹄疫病毒(Pan Asia type O FMDV)，2000 年的豬鐵士古病毒(porcine teschovirus 1; PTV1)、豬腸病毒(porcine enterovirus 8; PEV8)和赤羽病病毒(akabane V)(黃，2002；黃，2006；黃，2007，Huang, 2003)，2002 年鷺山病毒(sagiyama V)(張，2002；黃，2004)，2006 年豬星狀病毒(porcine astrovirus；PastV)和矽尼卡谷病毒(seneca valley virus；SVV)(黃，2007) 等亦相繼侵襲台灣豬隻，而且常常引發混合感染，造成臨床和病理診斷上的困擾。

### (三)移行抗體

仔豬出生時體內血液之免疫球蛋白含量非常低，在吸吮初乳以後 IgG 濃度從每毫升血液中 1 mg 以下增加至 30mg/ml 左右，如果把仔豬自母豬身邊移開而放置於較冷的溫度下，其血液內經由初乳被動獲得的免疫球蛋白量顯著下降(Blecha and Keith, 1981)，這種後果不是起因於寒冷減少免疫球蛋白經由腸道上皮細胞輸送，最後進入血液的量(Keith, *et al.*, 1982)，而可能是寒冷降低初乳的吸收量(Le Dividich, and Noblet. 1981)。此結果顯示環境變冷導致仔豬行為改變，造成哺乳時間或哺乳活力減少(Keith, *et al.*, 1982)。初乳消耗量降低，新生仔豬血液內來自初乳之抗體濃度亦隨之減少。此外，母豬在分娩前幾天及分娩當時受熱，其仔豬血液內初乳免疫球蛋白含量大幅下降(Raul, *et al.*, 1987)。此現象可能是腎上腺皮質素抑制免疫球蛋白之吸收而直接造成的，但也可能是母豬受到熱緊迫，其仔豬攝取的初乳量較少所致。懷孕期間限制日糧蛋白質攝取量對仔豬存活率與生長速率有不利之影響，這些後果可能起因於因豬泌乳量下降，然而母豬在懷孕時採食 9%粗蛋白日糧，哺乳時飼以 18% 粗蛋白日糧，對仔豬合成抗體的能力沒有影響(Haye, *et al.*, 1981)，同樣地血漿內 IgG，IgA 和 IgM 的血清濃度不因母豬採食以日糧蛋白質量而有所變動。這些資料說明適度限制

母豬日糧之蛋白質含量不致影響血清內產生之免疫球蛋白量或仔豬合成抗體的能力。如果母豬在懷孕期間完全飼以玉米基礎日糧，繼之哺乳時給予 16%粗蛋白日糧，母豬合成抗體以及把這些免疫球蛋白運送至初乳內的能力只是略微降低，但不明顯(Corley, *et al.*, 1983)。離乳時仔豬合成抗體的能力會有下降(Haye and Kornegay, 1979)，仔豬愈早離乳其下降現象愈強烈，此一現象是否因離乳時日糧由液體改為固體，或者同時出現的其它緊迫因子而引起仍不得而知。

#### (四) 黴菌毒素對動物健康的影響

不同的真菌類於其代謝後會產生不同的代謝產物(黴菌毒素)，近年來大多著眼於鐮胞菌(*Fusarium*)的研究。鐮胞菌於穀物及穀物產品中最易見得，尤其在玉米中 (Flatscher and Willinger, 1981; Leslie *et al.*, 1990)。含有鐮胞菌的玉米使得世界的各地經濟動物減產而造成非常嚴重的經濟損失。雖然這些鐮胞菌為植物的病原，但其代謝後的產物(黴菌毒素)一樣會危害動物及人類的健康(Bauer *et al.*, 1980)。黴菌毒素基於以下因子分別產生不同的臨床症狀，包括黴菌毒素的濃度、暴露的時間、種類、性別、年齡及健康狀況。長時間暴露的結果，增加了動物對黴菌及細菌的代謝產物的敏感性(Pittet, 1998)。

針對幾種常見之黴菌毒素簡述如下：

##### **Trichothecenes(單端胞黴烯)**

儘管目前科學家已經辨認出 150 多種的單端胞黴烯，但大都為 T-2 毒素、nivalenol(NIV)、Deoxynivalenol (vomitoxin；嘔吐毒素)和 diacetoxyscirpenol (anguidine；DAS)(Pittet,1998)。除了鐮胞菌以外 *Trichoderma*、*Stachybotrys* 和 *Cephalosporium* 屬的黴菌皆會生成單端胞黴烯(Ueno, 1977)。單端胞黴烯區分成消化道毒素、表皮毒素、免疫毒素、血液毒素及遺傳毒素(Wang *et al.*, 1998)。

狗、貓及禽類發現許多由單端胞黴烯引起的症狀如皮膚感染、心

跳過快、腹瀉、水腫、皮膚壞死、胃及大腸出血，血液系統病變包括白血球減少、血小板減少、血液滲入大腦中、傷害神經及拒食(Ueno, 1983)。單端胞黴烯造成慢性影響於血液系統中造成不正常的萎縮及增生、甲狀腺腫瘤、膽管腫瘤及下視丘腫瘤，胃黏膜發炎及角化，免疫抑制，於禽類常發現口器潰爛(Wang *et al.*, 1998)。

### **T-2 toxin**

T-2 毒素主要由 *F. sporotrichioides*, 及 *F. poae* 代謝產生(Moss, 1966)。T-2 毒素感染通常伴隨著血液中白血球量會降低。這類疾病發現於二次世界大戰中，西伯利亞人食用大量發霉的穀物而造成白血球減少(Pittet, 1998)。於大鼠實驗中發現 T-2 毒素最主要的傷害於中樞神經系統。飼料中含量為體重的 1 ppm 的劑量會造成顯著的提高一元(monoamines)的量及腦部缺氧(Wang *et al.*, 1998)。於來亨雞實驗中，飼糧中含 2 ppm 的 T-2 毒素會造成喙的損傷、顯著的產蛋降低及採食量下降(Diaz *et al.*, 1994)。肉雞實驗中，飼糧中含 20 ppm 的 T-2 毒素會減少血漿中蛋白質及脂肪的含量(Wyatt *et al.*, 1975)。肉雞飼糧含 T-2 毒素的飼糧會延長血液的凝血時間並壓抑第八凝血因子(Doerr *et al.*, 1974)。豬隻飼糧中含 2-3 ppm 的 T-2 毒素會顯著的減少紅血球及白血球的細胞數、紅血球的總體積及血紅素的濃度。此外，亦有研究指出 T-2 毒素會減少淋巴球數目，甚至於飼糧中含 0.5 ppm 及 1 ppm 的 T-2 毒素都有影響(Rafai *et al.*, 1994)。



於小鼠餵飼每公斤體重 5 ppm 的 T-2 毒素 12 小時後造成急性中毒症狀，有胸腺及脾臟的巨大細胞崩解，染色質明顯的濃縮。鼠餵飼每公斤體重 2.5 ppm 的 T-2 毒素兩小時後犧牲，以電子顯微鏡觀察胸腺及脾臟，結果顯示臟器中都有自噬體(apoptotic bodies)的形成，肝臟則有自噬後的殘骸。這顯示 T-2 毒素於胸腺、脾臟及肝臟有強的誘發自噬的功能(Ihara *et al.*, 1997)。超過 82% 的 T-2 毒素水解代謝物於 48 小時會被排出體外(Yoshizawa *et al.*, 1980)。

### **Deoxynivalenol(vomitoxin ; DON ; 嘔吐毒素)**

Deoxynivalenol 是由 *F. acuminatum*, *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*, 和 *F. tricinatum* 所產生的毒素(Pittet, 1998)。於歐洲的穀物中經常檢測出此毒素(Petterson, 1995)。中毒症狀包含採食量降低，嚴重者會拒食，代謝失調，進而減輕日增重(Pittet, 1998)。豬隻對於 Vomitoxin 的敏感性高於禽類及反芻動物。雄性動物的敏感性大於雌性(Rotter *et al.*, 1996)。豬隻飼糧中含 2 ppm DON 會抑制飼料換肉率。禽類耐受性為 5 ppm。乳牛飼料中含有 1 ppm DON 則會些微降低飼料轉換率(Trenholm *et al.*, 1984)。消化系統為此毒素之標的，飼糧中含 20 ppm 使其嘔吐，飼糧中含 12 ppm 使其完全拒食，飼糧中含 1.3 ppm 則採食量會顯著的降低(Young *et al.*, 1983)。成長階段的豬隻飼糧中含 3.5

ppm 則顯著的減少日增重、屠體重和飼料效率。其他實驗中 DON 增加肝臟重量，減少血清蛋白、白蛋白、鈣和無機磷(Bergsjø *et al.*, 1993)。來亨雞飼料中每公斤的小麥飼糧中含 18 ppm 的 DON 餵飼從零週至十二週中由其屠體發現餵飼週齡愈長期筋胃(gizzard)愈大，但是於血液中的生化指數卻未有顯著的差異(Kubena and Harvey, 1988)。於飼糧中含有 16 ppm 的 DON 會降低飼料轉換率(Kubena *et al.*, 1989)。餵飼來亨雞的飼糧中添加 18 ppm 的 DON 由出生到第一產蛋週期甚至於到第六產蛋週期，這毒素只有些微改變蛋殼重及蛋殼厚度(Kubena *et al.*, 1987)。添加 3 ppm DON 於豬隻飼糧中會顯著的降低飼料轉換率及日增重(Prelusky *et al.*, 1994)。乳牛玉米青芻料中含有 14.5 ppm 的 DON 會使得乳牛下痢(Schuh and Flatscher, 1983)。綿羊飼料中含有 15.6 ppm 的 DON 對於飼料轉換及日增重沒有顯著的影響(Harvey *et al.*, 1986)。

DON 對於網狀細胞、纖維母細胞、淋巴球是有毒性的(Rotter *et al.*, 1993, Ueno, 1983)，且會抑制蛋白質的合成(Ueno, 1984)。DON 抑制細胞的分裂、RNA 及 DNA 的合成和自噬(Rotter, 1996)

### **Diacetoxyscirpenol (DAS ; anguidine ; 雙乙酸基草鐮刀菌醇)**

這類也是黴菌毒素的一種。這毒素是由 *F. graminearum*, *F. semitectum*, *F. tricinctum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioids* 所製造的。

於禽類中不致死的劑量在淋巴器官會導致細胞凋亡及壞死，腸道多地方壞死。三天後則發現淋巴球減少、嗜嗜中性球減少及貧血(Conner *et al.*, 1986)。於禽類中含 6 ppm DAS 飼糧會造成 90%嘴部損害(Kubena *et al.*, 1994)。含 0.5, 1, 1.5, 2, 4 和 8 ppm DAS 飼糧，濃度愈高對於喙、舌頭及顎損傷愈嚴重(Ademoyero and Hamilton, 1991a)。

DAS 會減少雞隻活體重，同時 DAS 在作用時也會藉由影響核醣體的構型和機制來影響蛋白質的合成(Ademoyero and Hamilton, 1991b)。連續七天餵飼的致死劑量為  $3.82 \pm 0.4$  ppm(Chi *et al.*, 1978)。

### **鐮刀黴真菌毒素 (Moniliformin ; Mo)**

Mo 的作用機制會壓抑丙酮酸去氫酵素系統 (pyruvate dehydrogenase) 且亦由抑制克氏循環 (Krebs cycle) 抑制細胞呼吸作用(Hofmeyer *et al.*, 1979)。主要的組織損傷為心肌降解及心肌梗塞(Kriek *et al.*, 1986)。餵飼含(*Fusarium fujikuroi*)真菌的代謝物結果造成雞隻死亡(Harvey *et al.*, 1997)。Mo 黴菌毒素會使得其心臟功能受損而導致精神萎靡、呼吸困難、發燒甚至於猝死。屍體解剖發現右心房及雙邊心肌都有肥大的跡象，於顯微鏡下觀察發現有心肌壞死、纖維化及肥大(Ledoux *et al.*, 1995)。於成長的火雞中，以含有 Mo 100 ppm 的飼糧餵食 21 天，則採食量及日增重均有顯著的下降。屍體解剖發現心臟及腎臟重量減輕、腎臟損傷、心肌細胞和大小變異性加大且減少

心肌中的橫紋數目，此外，於腎小管中發現緩慢的鈣化現象(Morris *et al.*,1999)。飼料含 *Fusarium moniliforme* 真菌的代謝物的飼糧給予雞隻、小鴨和火雞，實驗中發現小鴨較為敏感且於大體解剖發現腹水、心臟腫大及心肌壞死。於顯微鏡下發現心肌壞死及降解且肝臟亦發現降解。小鴨的死亡起因於心臟中毒。小雞於飼料每公斤體重 1 mg 的 Mo 毒素後 15 分鐘會有心跳減緩的現象(Engelhardt *et al.*, 1989)。

### **Zearalenone**

Zearalenone，亦稱 RAL 和 F-2 毒素，是某一鐮刀黴種類生產的一種有類雌激素的代謝產物(Wang *et al.*, 1998)。以 *F. sporotrichioides*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. graminearum*, 和 *F. crookwellense* 為主要的來源 (Pittet, 1998)。1 ppm 的低劑量造成豬及牛隻發情不順但雞隻則不影響(Ledoux *et al.*, 1995)。50-100 ppm 會影響受精卵、胚及胎的發育及新生仔畜的生存能力(Price *et al.*, 1993)。於雌性 F-2 毒素所造成之臨床的症狀為陰道發炎、乳腺擴大、陰道及直腸下垂、子宮的擴大、卵巢組織的改變及食慾下降(Schun and Flatscher,1983)。F-2 毒素使公豬及公雞生精作用發生錯亂(Vanyi and Szeky, 1980)。連續飼料含 F-2 毒素 1.6ppm 的飼料 3 週，會使其發生繁殖障礙(Schuh and Baumgartner, 1988)。

飼料小鼠其體重 0.25 ppm 的 F-2 毒素實驗顯示出會減少其活體

重，尤其是睪丸及副睪(Engelhardt *et al.*, 1989)。於禽類則發現因 F-2 毒素而有氣管感染、脖子水腫及輸卵管囊腫(Wang *et al.*, 1998)。飼糧中含有 25-50 ppm 的 ZON 會使得懷孕期的母豬引起多重的繁殖障礙(如生產較小的仔豬)(Chang *et al.*, 1979)。

### **DON 與 ZON 同時作用**

飼糧中，含 1ppm 的 DON 與 0.25ppm 的 ZON 同時作用於離乳小豬，會顯著的降低其血清中的總蛋白 14.5%、白蛋白 6.5%、球蛋白 11.3%，同時會顯著的增加血清酵素的活性(麩胺醯轉化酶  $\gamma$ -glutamyltransferase 72%、天門冬胺酸轉胺酶 aspartate aminotransferase 32.6%、丙胺酸轉胺酶 alanine aminotransferase 36.6%)，顯著的減少抗體的總量 14.8%。由 Real time PCR 顯示出脾臟細胞的基因表現 IFN- $\gamma$  會顯著的減少 36%、TNF- $\alpha$  為 29%、IL-2 則為 35.4%。證據同時顯示出肝臟、脾臟、淋巴結、子宮及腎臟有明顯的不正常(Chen *et al.*, 2003)。研究報告指出對於哺乳豬及肥育豬的飼糧中 DON 1 ppm 及 ZON 0.25 ppm，對於懷孕母豬則為 DON 1 ppm 及 ZON 0.05ppm 是危險的(Bundesministerium *et al.*, 2000)。當 ZON 濃度 30  $\mu$ M 及 DON 濃度 3.76  $\mu$ M 會顯著的減少子宮的細胞數並會阻止子宮修補。當 ZON 濃度 30  $\mu$ M 及 DON 濃度 3.76  $\mu$ M 會有顯著性的抑制子宮的細胞於 S 期，並且阻止細胞在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期(Tiemann, *et al.*,

2003)。

由於毒素對於動物的免疫系統有很大的影響，以下的表格為動物對於黴菌毒素的免疫反應。

表一、黴菌毒素對反芻獸免疫的影響

Table 1. The effect of mycotoxin in immune responses in ruminants

黴菌毒素	反芻獸免疫反應
Aflatoxin	-減少抗體之產生 -後天免疫系統的喪失 -壓抑淋巴球對特定抗原的反應
Fumonisin	-抑制免疫系統的細胞免疫、體液免疫及先天免疫 -抑制淋巴球的遷移
Trichothecenes	-抑制骨髓、脾臟及淋巴的有絲分裂 -減弱淋巴球的增生能力
Gliotoxin	-抑制嗜中性球的遷移及吞噬作用

From Chen *et al.*, 2003