

假性狂犬病不活化疫苗油質佐劑在家兔引起之 免疫及組織病理反應

鍾明華* 李淑慧 邱資峰 楊善金 詹益波

台灣省家畜衛生試驗所

摘要 選用不同佐劑（礦物油 LP、礦物油 MVP、大豆油、食用玉米油及磷酸鋁膠等五種）試製假性狂犬病不活化疫苗，再選用市售進口 N 疫苗，分別免疫健康家兔，定期採血檢測抗體及觀察接種部位組織之反應情形。市售進口 N 疫苗、MVP 礦物油及磷酸鋁膠等三種佐劑製備不活化疫苗之抗體最早出現，於接種後二週即可偵測出相當程度之抗體；組織病理學變化以進口 N 疫苗造成之副作用最大，可見組織壞死、化膿及油質肉芽腫之形成，反之 MVP 礦物油及磷酸鋁膠等於組織之吸收情形則極佳。

關鍵詞：假性狂犬病，不活化疫苗，油質佐劑

緒言

佐劑係一種非抗原性物質，佐劑的主要作用是可以顯著提昇抗原物質之免疫反應能力，佐劑之作用在於改變蛋白質之電荷或構造，或延長抗原吸收之時間⁽⁸⁾，或促使抗原與免疫細胞膜結合⁽⁶⁾等。佐劑之中歷史最悠久者當屬鋁膠，人用疫苗之佐劑以此居多，安全性極佳，此外，礦物油在乳化劑存在下製作 water-in-oil 之油質疫苗，大大提高結核桿菌之免疫效力⁽⁷⁾，由於 Freund's adjuvant 製作 single emulsion 疫苗黏性高注射困難，且易產生膿瘍，肉芽腫等不良反應，經 Herbert⁽⁹⁾ 改良成為 water-in-oil-in-water (W/O/W) 之 multiple emulsion 後，不僅易於操作，且可減少不良反應，本所鍾⁽¹⁾ 等據此試製 W/O/W PR 疫苗，獲得良好的結果。

礦物油雖可用來製作更具免疫效力之疫苗，但終究不被消化易留下不良的後遺症，因此，一些可被代謝之油品如花生油、沙拉油，也曾被利用試製疫苗。最近從植物中抽出之 Quil A 與膜蛋白結合後形成 ISCOM 試製疫苗得到良好的效果^(13,3)，可惜 Quil A 極為昂貴，其經濟性應列為考慮。然而佐劑對疫苗之免疫效力影極大，亦常導致注射後之不良反應。目前假性狂犬病 (PR) 不活化疫苗所使用之佐

劑多屬礦物油，據農民反映，油質疫苗所引起之不良反應似較其他非油質者強烈。但是油質疫苗之免疫效力又較其他劑型者為佳。緣此乃從組織病理上探討不同佐劑之 PR 疫苗在家兔所引起之組織反應，再從抗體反應及攻毒試驗結果評估其免疫保護效力。

材料與方法

病 毒：

Bartha 株一係由野外 PR 病毒經過雞胚始及其纖維芽細胞培養數代通過，並經 Bam HI 內核酸限制酶切割，確認為 gI 基因缺損之馴化弱毒株。

細 胞：

Bartha 株病毒增殖用細胞為 PK-CL 株化細胞，此乃豬腎由來並經筆者等予以 cloning 所得。以 Eagle's MEM 加入 8% fetal calf serum, 10 mM HEPES, 30 µg/ml gentamicin 及適量 NaHCO₃ 之培養液培養。

病毒不活化：

Bartha 株病毒以 PK-CL 株化細胞增殖後，病毒力價為 10^{8.3} TCID₅₀/ml，加入 0.002 M（最終濃度）

*抽印本索取作者

台灣省家畜衛生試驗所

BEI, 在 37 °C 作用 10 小時, 再接再種 PK-CL 細胞及 TSA agar 確認無殘留活病毒及無細菌污染後, 供乳劑疫苗製造用。

佐 劑:

不活化乳劑疫苗製造用佐劑有礦物油 LP (Merck)、大豆油 (Sigma)、玉米油 (Majola 市售之沙瀝油)、磷酸鋁膠 (Merck)、礦物油 MVP。

乳劑製作:

以下疫苗除了 N 疫苗係售進口疫苗外, 其他疫苗均以 $10^{8.3}$ TCID₅₀/ml 病毒液研製。

1. 磷酸鋁膠水劑: 5 % 磷酸鋁膠 1 份加入不活化病毒液 9 份中並以均質機混合而成。
2. 大豆油及玉米油多相 (water-in-oil-in-water, W/O/W) 乳劑: 將 1 份病毒液緩緩加入 1 份內含 10 % span 80, 2 % aluminum monostearate 之大豆油或花生油中, 以均質機製作單相 water-in-oil (W/O) 乳劑, 然後再將 2 份內含 2 % tween-80 生理鹽水溶液緩緩加入 W/O 乳劑中, 其間以均質機製作 W/O/W 多相乳劑。
3. 礦物油多相 W/O/W 乳劑: 1 份病毒液緩緩加入 1 份內含 10 % span-80 之礦物油中, 以均質機製作 W/O 單相乳劑, 然後再將 2 份內含 2 % tween-80 生理鹽水溶液緩緩加入 W/O 乳劑中, 其間以均質機製作 W/O/W 多相乳劑。
4. MVP 乳劑製作: 先以 2 份生理鹽水與 1 份病毒液等量混合之, 然後加入 1 份 MVP 佐劑中以均質機稍予混合即成。
5. 歐洲進口 N 廠疫苗 gI 缺損疫苗供研究比照參考用。

家兔免疫注射反應分析:

每種佐劑疫苗各肌肉注射 40 頭 1.5~2.0 公斤體重家兔, 其中 10 頭注射 1 劑量 (2 ml)、15 頭注射 1/3 劑量、15 頭注射 1/9 劑量、於第一次注射後至攻毒每週均選 2 頭, 採血後撲殺之, 觀察注射部位肌肉之反應及採材, 製作組織切片, 探討其組織形態學之變化。於三週後注射第二次疫苗, 間隔二週後再以 100 RLD₅₀ 強毒攻擊之, 以評估其保護效力。

疫苗殘留判定:

肉眼判定評分標準:

- 0: 接種部位肌肉完全正常、毫無痕跡。
- 1: 肌肉有白色橫紋、疫苗吸收良好、無不良之反應。(圖 1)

- 2: 注射部位組織顯現輕微反應、顏色異常、週圍組織可見白色未被吸收之疫苗。(圖 2)
- 3: 注射部位組織顯現中度反應、肌肉組織呈出血壞死灶、可見白色未被吸收及疫苗。(圖 3)
- 4: 注射部位組織顯現重度反應、肌肉組織呈出血壞死、肉芽腫或膿瘍灶。多數未被吸收之疫苗殘存於病灶區。(圖 4, 5)

組織病變判定評分標準:

- 0: 正常肌肉組織。
- 1: 肌束間或肌膜表面含少量淋巴球之集結。(圖 6)。
- 2: 注射部位組織輕度反應、多數嗜酸性球、中量巨噬球及少量濃染之淋巴球浸潤其中, 可見多個小囊胞形成, 部份囊胞內可見未被吸收之油質, 囊胞周圍可見巨核細胞 (giant cells) 出現。(圖 7)
- 3: 注射部位組織中度反應、等量嗜酸性球、巨噬球及濃染之淋巴球及網狀內皮細胞及少量漿細胞浸潤。大型囊胞形成, 周圍包被大量單核球及嗜酸性球, 炎症反應區內可見局部小壞死灶及殘留油質佐劑。(圖 8)
- 4: 注射部位組織重度反應, 油質肉芽腫形成。伴隨多數巨噬球、濃染之淋巴球、網狀內皮細胞及多量漿細胞浸潤, 肌肉組織明顯呈現壞死及膿瘍灶, 其外圍由大量結締組織包被, 而壞死之肌肉組織中, 甚至可見鈣鹽沉著及多量之巨核細胞浸潤中。(圖 9, 10)

中和抗體測定:

依前試驗方法⁽²⁾ 稍予改良, 簡言之, 2 倍稀釋血清 0.05 ml 與等量含 200 TCID₅₀ 病毒液於微量滴定盤內混合, 於 37°C, 3 % CO₂ 暖箱中感作 3 小時, 然後加入 0.05 ml 含 400,000 細胞/ml 之 RK-13 細胞液, 置於 37°C, 3 % CO₂ 暖箱中。在 backtitration 接種 1 TCID₅₀ 病毒液之細胞出現 CPE 時即行判讀 (通常多在 48~72 小時間)。

結果

1. 劑型: 市售 N 疫苗經測試後發現其並非 W/O/W 多相乳劑, 而為 W/O 劑型, 礦物油 MVP 自製之不活化假性狂犬病 gI 缺失疫苗為 O/W 劑型。其餘以礦物油 LP、玉米油、大豆油等自製之疫苗屬 W/O/

W 多相乳劑。

2.黏性：市售 N 疫苗黏性極高，不易抽取，其餘疫苗均無此缺點。

3.安定性：市售 N 及 MVP 佐劑疫苗安定性較高，在 4 °C 冰箱中數月不分層，置於 37 °C 一週內少許（上層）分離。

LP7174 佐劑疫苗安定性次之，在 4 °C 冰箱中三個月，下層稍有分離，37 °C 一週後，下層分離，二週後分離更明顯。

玉米油及大豆油佐劑疫苗安定性最差，37 °C 一週即分層。

4.製備難易度：MVP 最簡單、容易。LP 次之，玉米油再次之，需安定劑。大豆油最難製作，需安定劑。

5.抗體反應：五種不同佐劑配製之不活化疫苗與市售進口 N 疫苗，免疫家兔後其抗體爬升情形如表一。五種佐劑中玉米油及礦物油 LP 之抗體，皆於二次免疫後方始出現，以礦物油 LP 之成績較佳；大豆油、磷酸鋁膠、礦物油 MVP 及市售進口 N 疫苗，其抗體價皆於免疫兩週後出現，其中又以進口 N 疫苗之績最佳，即使 1/9 劑量之疫苗免疫亦可達相當程度之抗體力價，依次為磷酸鋁膠，其初次免疫成績雖不如 N 疫苗者，但於二次免疫後卻可達到 128 倍之中和抗體價，即使如 1/9 劑量免疫者，其中和抗體價亦可達 37.6 倍，遠高於其他佐劑及進口 N 疫苗。免疫持續力以 $AlPO_4$ 最佳，LP 及 N 疫苗次之，玉米油及大豆油最差。

6.疫苗於接種部位組織之吸收及殘留情形：五種佐劑及市售進口 N 疫苗免疫家兔後其注射部位之肉眼及顯微變化詳見表二及表三。

(1)肉眼病變依疫苗殘留及組織之反應，可區分為五種等級 (0~4) 如材料方法中之判定標準。（詳見表 2）

以市售進口 N 疫苗引起之反應最為強烈，注射部位組織顯現重度反應、肌肉組織出血壞死、肉芽腫或膿瘍灶等病變。即使免疫 4 週仍可於接種部位看到典型之油質肉芽土之病變（圖 4, 5）。其餘佐劑包括以玉米油、磷酸鋁膠、礦物油 LP 及礦物油 MVP 等製備之不活化疫苗，吸收良好，僅有輕度反應，均無所謂肉芽腫病變出現。

(2)接種部位組織之組織學變化：依反應程度及細胞變化可區分為五種等級 (0~4) 如材料方法中之判定標準。（見圖 1, 2）

顯微病變與肉眼病變一致，市售進口 N 疫苗可引起典型之油質肉芽腫 (oil granuloma) 病變，即使如 1/9 低劑量者亦可造成中度之反應。其餘佐劑之吸收情形大致良好，其中尤以磷酸鋁膠及礦物油 (MVP) 之組織反應最輕微（圖 6, 7, 8, 9, 10）。（詳見表 3）

表 1 不同佐劑配製之 Bartha strain 不活化疫苗與進口 N 疫苗免疫家兔後幾何平均中和抗體價
 Table 1. Geometric mean neutralizing antibody titer of the rabbits immunized with imported N Vaccine and Bartha strain inactivated vaccines prepared in different adjuvants

Adjuvant	Dosage	Geometric mean SN titer (PIW) ^a				
		1	2	3	4	5
Corn oil	1	0	0	0	37.6	4.7
	1/3	0	0	0	0	6.7
	1/9	0	0	0	0	1.4
LP7174	1	0	0	0	105.9	45
	1/3	0	0	0	6.7	26.6
	1/9	0	0	0	1.4	8.4
AlPO ₄	1	0	13.3	45	128	44.7
	1/3	0	0	2.4	105.9	44.7
	1/9	0	0	0	37.6	26.6
Soybean oil	1	0	2	2	37.6	13.3
	1/3	0	0	0	8.3	6.6
	1/9	0	0	0	2.8	1.5
MVP	1	0	5.6	7.9	ND	ND ^b
	1/3	0	0	1.7	75	22.4
	1/9	0	0	0	ND	ND
N Vaccine	1	0	16	4.7	90	53
	1/3	0	5.6	2	26.6	22
	1/9	0	2	2	18.8	13.3

a. PIW: post injection week
 b. ND: not done

表 2 不同佐劑配製之 Bartha strain 不活化疫苗與市售進口 N 疫苗免疫家兔後其注射部位之肉眼病變

Table 2. Gross reaction at the injection site of the rabbits immunized with the Bartha strain inactivated vaccines prepared by different adjuvants

Adjuvant	Dosage	Gross reaction score (PIW) ^a				
		1	2	3	4	5
Corn oil	1	1 ^b	0	1	0	0
	1	2	1	0	0	0
	1/3	0	0	0	0	0
	1/3	0	1	0	0	0
	1/9	0	0	0	0	0
	1/9	0	0	0	0	0
LP7174	1	2	1	1	0	0
	1	1	0	0	0	0
	1/3	2	0	1	0	0
	1/3	0	1	0	0	0
	1/9	2	0	1	0	0
	1/9	ND ^c	0	1	0	0
AIPO ₄	1	1	0	1	0	0
	1	1	0	0	2	0
	1/3	1	1	0	0	0
	1/3	0	1	0	0	0
	1/9	0	0	0	0	0
	1/9	0	0	0	0	0
Soybean oil	1	1	3	1	0	1
	1	1	2	1	0	1
	1/3	1	1	0	0	0
	1/3	1	1	ND	0	0
	1/9	0	0	0	0	0
	1/9	0	0	0	0	0
MVP oil	1	1	0	0	ND	ND
	1	1	1	0	ND	ND
	1/3	0	0	ND	ND	ND
	1/3	ND	ND	ND	ND	ND
	1/9	ND	ND	ND	ND	ND
	1/9	ND	ND	ND	ND	ND
N	1	4	2	3	3	3
	1	3	3	3	2	1
	1/3	3	1	1	0	0
	1/3	3	1	1	1	1
	1/9	2	0	0	0	0
	1/9	2	2	2	2	2

a. PIW: post injection week; O: normal; 1: good adsorption

b. Reaction score:

0: normal; 1: good adsorption

2: moderate reaction, some white emulsion residue

3: Moderate reaction; 4: Severe reaction; oil granuloma

c. ND: not done

表 3 不同佐劑配製之 Bartha strain 不活化疫苗與市售進口 N 疫苗免疫家兔後其注射部位之組織病變

Table 3 Histopathological reaction at the injection site of the rabbits immunized with the Bartha strain inactivated vaccines prepared by different adjuvants

Adjuvant	Dosage	Histopathological reaction score (PIW) ^a				
		1	2	3	4	5
Corn oil	1	2 ^b	2	1	0	0
	1	2	2	1	0	0
	1/3	1	1	0	0	0
	1/3	0	1	0	0	0
	1/9	0	0	0	0	0
	1/9	0	0	0	0	0
LP7174	1	2	1	1	0	0
	1	2	1	0	0	0
	1/3	1	1	0	0	0
	1/3	1	0	0	0	0
	1/9	1	0	0	0	0
	1/9	ND ^c	0	0	0	0
AIPO ₄	1	2	2	2	1	1
	1	2	2	0	0	1
	1/3	0	0	1	1	0
	1/3	0	1	2	1	0
	1/9	0	1	0	0	0
	1/9	0	1	0	0	0
Soybean oil	1	2	3	0	1	1
	1	1	2	2	2	0
	1/3	1	2	0	1	0
	1/3	2	1	ND	1	0
	1/9	0	0	0	1	0
	1/9	0	0	0	1	0
MVP oil	1	2	1	0	ND	ND
	1	1	1	0	ND	ND
	1/3	0	0	ND	ND	ND
	1/3	ND	ND	ND	ND	ND
	1/9	ND	ND	ND	ND	ND
	1/9	ND	ND	ND	ND	ND
N	1	4	4	2	2	1
	1	4	4	1	3	1
	1/3	3	2	3	0	1
	1/3	3	2	2	0	1
	1/9	3	0	0	1	1
	1/9	2	0	0	0	0

a. PIW: post injection week;

b. Reaction score:

0: normal; 1: good adsorption

2: mild reaction, 3: Moderate reaction; white emulsion residue

4: Severe reaction; oil granuloma

c. ND: not done



圖 1 肌肉有白色橫紋、疫苗吸收良好、無不良之反應。礦物油 LP 佐劑配製之疫苗，1 劑量免疫家兔一週後肌肉殘留情形。(reaction score 1)

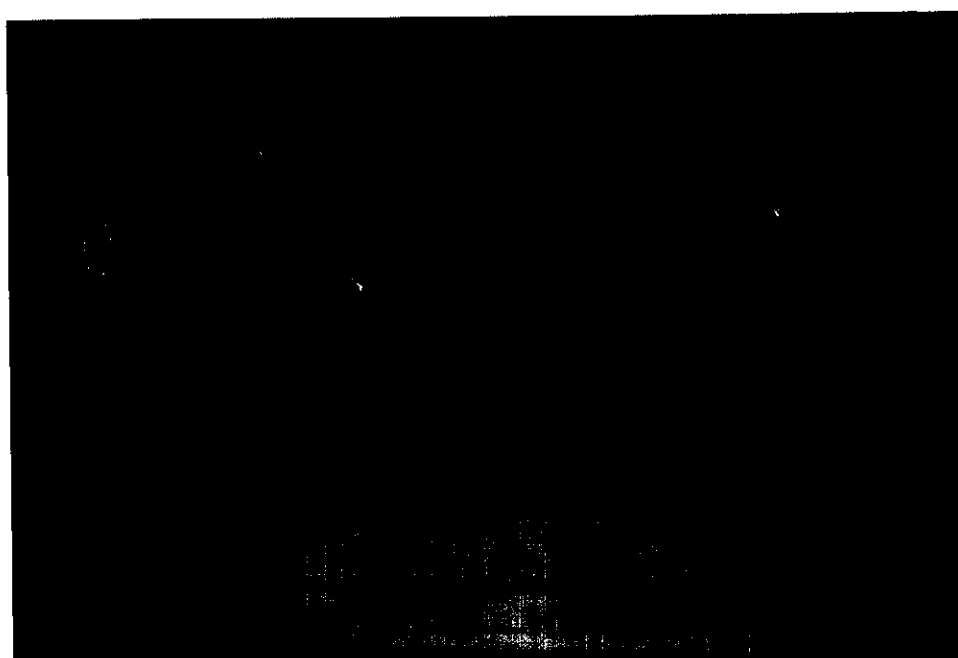
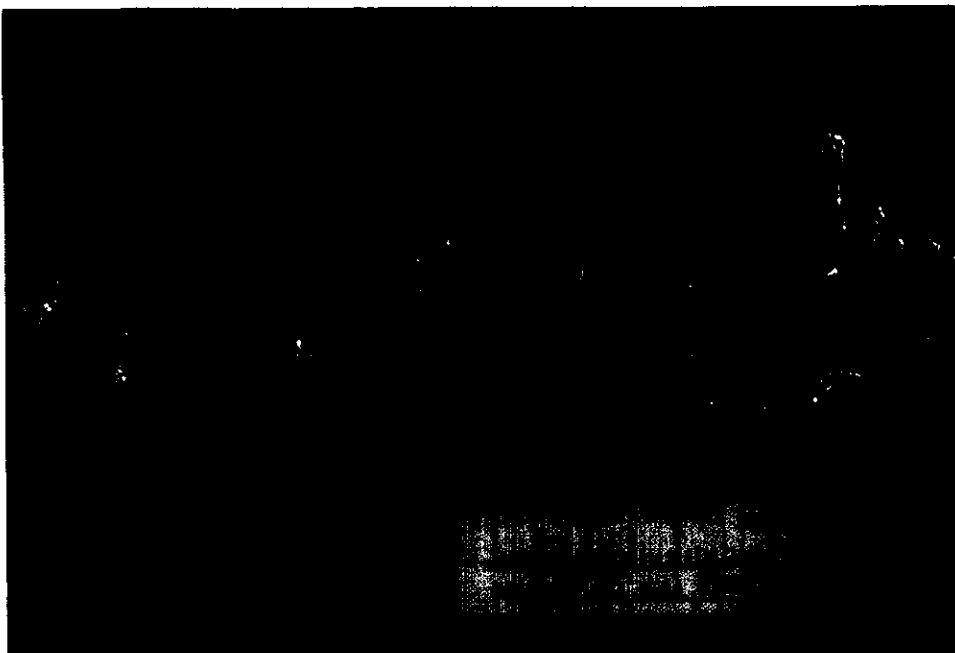


圖 2 注射部位組織顯現輕微反應、顏色異常、週圍組織可見輕度出血及少量白色未被吸收之疫苗（箭頭所指）。玉米油佐劑配製之疫苗，1 劑量免疫家兔一週後於肌肉組織之反應。(reaction score 2)



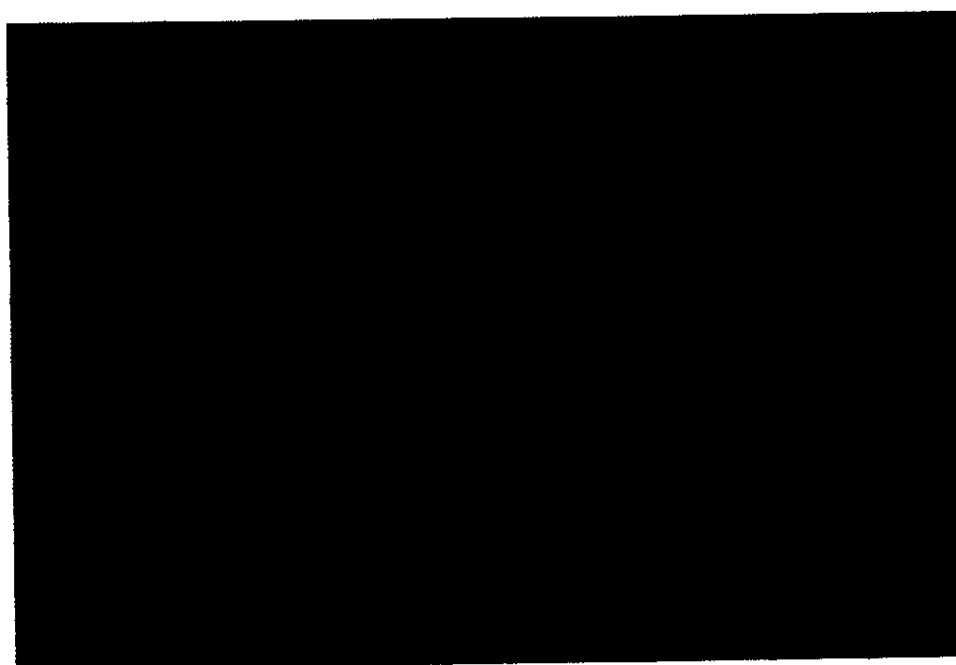
- 3 注射部位組織顯現中度反應、肌肉組織呈局部出血灶、可見白色未被吸收之疫苗團塊物殘留（箭頭）。市售 GI 缺損 N 疫苗，1/3 劑量接種家兔一週後之肉眼病變。(reaction score 3)



- 4 注射部位組織顯現重度反應、肌肉組織呈出血壞死灶，多數未被吸收之疫苗殘存於病灶區（箭頭所指）。市售 GI 缺損 N 疫苗，1 劑量接種家兔一週後於肌肉組織之肉眼病變。(reaction score 4)



- 5 市售進口 gI 缺損 N 疫苗 1 劑量免疫家兔後 4 週，其肌肉組織之反應。
(reaction score 4)
a: 接種部位可見硬實囊胞形成 (箭頭所指)
b: 囊胞切面可見未被吸收之油質疫苗，週圍組織呈局部出血壞死灶。



- 6 磷酸鋁膠佐劑配製之疫苗 1 劑量，免疫家兔後一週肌肉組織之反應情形。H & E stain
×100 肌束間或肌膜表面可見少量淋巴球聚集 (箭頭所指)，肌肉細胞排列及結構皆良好。
(reaction score 1)

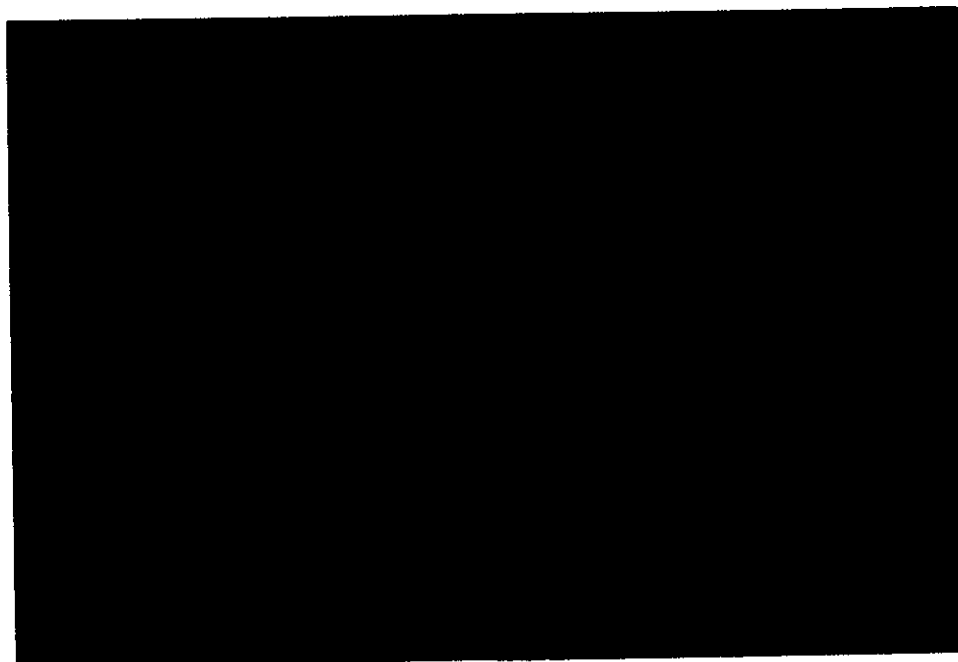


圖 7 注射部位組織輕度反應、多數嗜酸性球、中量巨噬球及少量濃染之淋巴球浸潤其中，可見小囊胞形成。(reaction score 2)
大豆油佐劑配製之疫苗 1 劑量，免疫家兔後一週之顯微病變。H & E stain $\times 100$

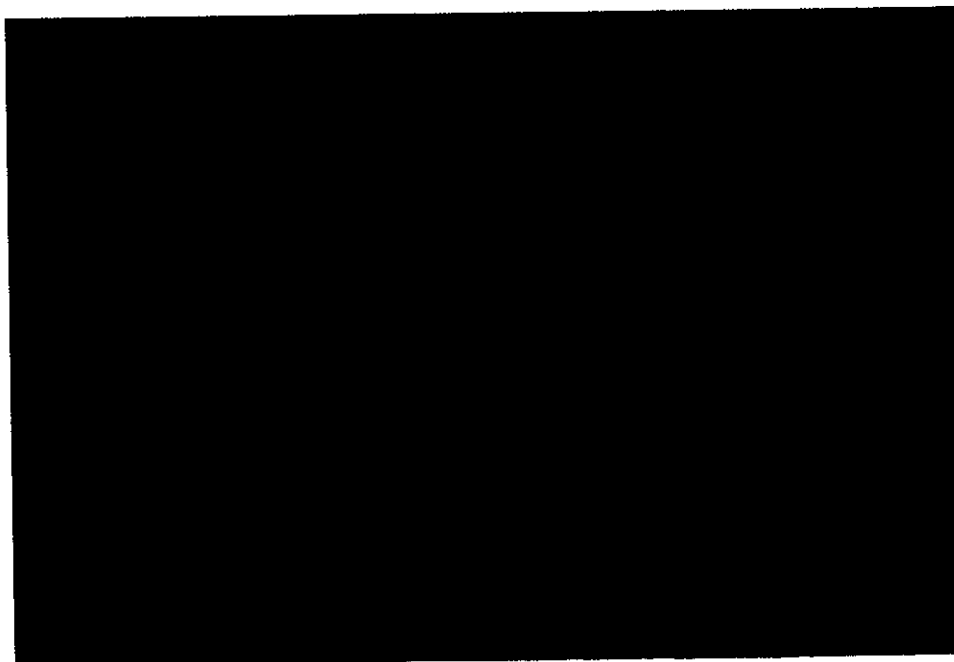


圖 8 注射部位組織中度反應，可見等量嗜酸性球、濃染之淋巴球及網狀內皮細胞、少量漿細胞浸潤及大型囊胞形成。(reaction score 3)
市售進口 N 疫苗 1/3 劑量，免疫家兔三週，其注射部位之組織變化。H & E stain $\times 00$

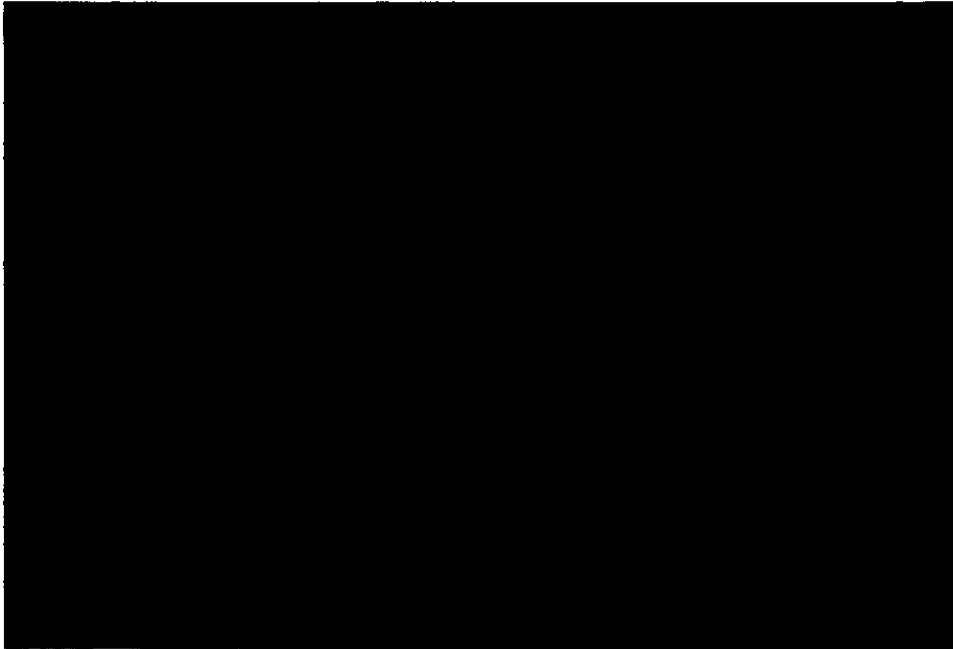


圖 9 注射部位組織重度反應，油質肉芽腫形成。伴隨多數巨噬球、濃染之淋巴球、網狀內皮細胞及多量漿細胞浸潤，肌肉組織明顯呈現壞死及膿瘍灶。(reaction score 4)
市售進口 N 疫苗 1 劑量，免疫家兔四週，其注射部位之組織變化。H & E stain ×200



圖 10 圖 9 之高倍相。可見巨核細胞異嗜球及單核球等細胞浸潤。H & E stain ×400

討論

市售進口 N 疫苗，由於黏度高，故較為安定，但組織內之殘留情形也較為嚴重，雖可產生高力價之抗體，若使用於豬尤其是肉豬，可能較易引起接種部位組織之肉芽腫及膿瘍等病變，降低其經濟效益，此一劑型之疫苗可能較適用飼養期間長，如種豬、牛隻等之疫苗製造用。但本實驗所採用之動物為家兔，用於豬隻是否會造成相同之反應，猶待進一步之探討。N 疫苗免疫後之抗體持續。似較其他佐劑為強，亦即抗體下降慢（表 1），是否與殘留有關係，應長期測試方得以知曉。Droual 等⁽⁵⁾亦有類似見解。美製進口 MVP 礦物油佐劑，製備疫苗操作簡易，其安定性及組織吸收性亦極佳，一次免疫後即可測得抗體，注射 1/3 劑量兩次，中和抗體高達 1:75，惜一週後祇剩 1/3，半衰期短，似又與吸收性最佳有關。此佐劑吸收快、殘留低、適用於飼養期間較短，如雞等經濟動物，唯其價格較傳統之 LP 礦物油為高。

磷酸鋁膠水劑疫苗之吸收性極佳，不會造成任何副作用，且抗體免疫強度及免疫持續力亦極高，Raid 及 Blackall⁽¹²⁾發現磷酸鋁膠對雞傳染性可利查菌苗之佐劑效果較礦物油為佳。Davis 等⁽⁴⁾亦有類似的報告，不過他們並未論及抗原量之差異對免疫之影響。本試驗配製之鋁膠疫苗中抗原佔有率達 90% 之高，此或可解釋鋁膠疫苗無論在免疫強度及免疫持續力均名列前茅之原因。

Porter 及 Titus⁽¹¹⁾、Woodhour 等⁽¹⁴⁾以花生油開發可被吸收之油質疫苗。Kimura 等⁽¹⁰⁾認為植物油可避免 Freund's 佐劑所帶來的肉芽腫、組織破壞及不易操作（粘性）之缺點，且以芝麻油製配免疫效力極佳的乳劑。本研究原擬採用此二種植物油試製疫苗，但由於單價過高改用大豆油及市售玉米油，試驗結果發現依礦物油之配方無法研製安定之乳劑，需加入單硬脂酸鋁後始能獲得較好之乳劑，不過，注射家兔之後仍引起強烈的反應，殘留嚴重，吸收不良，抗體反應亦最差，無法採用。

參考文獻

1. 鍾明華、劉堂輝、詹益波、邱資峰、曾正文。

豬假性狂犬病不活化疫苗佐劑之改進研究。畜衛試研報 22: 81-88. 1986

2. 鍾明華、賴秀穗。微量免疫擴散與中和試驗對豬假性狂犬病血清抗體測定比較。中華民國獸醫學雜誌 5: 67-70. 1979
3. Carlsson U, Alenius S. and Sundquist B. Protective effect of an ISCOM bovine virus diarrhea virus (BVDV) vaccine against an experimental BVDV infection in vaccinated and non-vaccinated pregnant ewes. Vaccine 9: 577-580. 1991
4. Davis RB, Rimler RB and Shotts EB. Efficacy studies on Haemophilus gallinarum bacterin preparation. Am. J. Vet. Res. 37: 219-222. 1976
5. Droual R, Bickford AA, and Cutler GJ. Local reaction and serological response in commercial layer chickens injected intramuscularly in the leg with oil-adjuvanted mycoplasma gallisepticum bacterin. Avian disease. 37: 1001-1008. 1993
6. Edelman R. Vaccine adjuvants: Reviews of infectious diseases 2: 370-383. 1980
7. Freund J, Casals J, Hosmer EP. Sensitization and antibody formation after injection of tubercle bacilli and paraffin oil. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 37: 509-513. 1937
8. Glennly AT, Pope CG, Waddington H and Wallace U. XXIII-the antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. J. Pathol. Bacteriol. 29: 38-39. 1926
9. Herbert WJ. Multiple emulsion adjuvants. Symposia series in immunobiological standardization 6: 89-92. 1967
10. Kimura J, Nariuchi H, Watanabe T, Matuhasi T, Okayasu I and Hatakeyama S. Studies on the adjuvant effect of water-in-oil-in-water (W/O/W) emulsion of sesame oil. Japan J. Exp. Med. 48: 149-154. 1978
11. Porter CC and Titus DC. New Metabolizable immunologic adjuvant for human use. 6. Disposition of radioactivity after administration of labelled vaccine to the rat. Proc. Soc. Exp. Biol.

- Med. 124 : 500-503. 1976
12. Reid GG, and Blackall PJ. Comparison of adjuvants for an inactivated infectious coryza vaccine. *Avian Diseases* 31 : 59-63. 1986
 13. Tsuda T, Sugimura T and Murakami Y. Evaluation of glycoprotein gII ISCOMS subunit vaccine for pseudorabies in pig. *Vaccine* 9 : 648-652. 1991
 14. Woodhour AF, Metzgar DP, Stim TB, Tytell AA, Hilleman M. New metabolizable immunologic adjuvant for human use. I. Development and animal immune response. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 116 : 516-523. 1964

Immune and histopathological response induced by pseudorabies inactivated oily vaccines in rabbits.

*M. H. Jong, S. H. Lee, T. F. Chiou,
C. G. Yang, I. P. Chan

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

SUMMARY Antibody response and tissue reaction at the inoculation site of the rabbits which were injected with the pseudorabies inactivated vaccines prepared with mineral oil LP and MVP, soybean oil, corn oil, and aluminum phosphate gel and an imported N vaccine were evaluated. Results indicated that neutralizing antibody of the rabbits immunized with the imported N vaccine and mineral oil MVP and aluminum phosphate gel adjuvanted vaccines emerged 2 weeks after priming vaccination. Serious side-effects including tissue necrosis, pyogenesis and granuloma formation were observed in the rabbits immunized with the imported N vaccine. On the other hand, adsorption of the mineral oil MVP and aluminum phosphate gel adjuvanted vaccines was superior to the others.

Key words: *Pseudorabies, Inactivated vaccine, Oily adjuvant*

*Corresponding author

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