

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

陳清* 呂清泉 賴俊雄 柯浩然 詹益波 邱仕炎

台灣省家畜衛生試驗所

豬博德氏菌，巴氏桿菌及胸膜肺炎嗜血性桿菌分別培養所得之菌液，以福馬林為不活化劑及氫氧化鋁膠為佐劑，調製所得之多價不活化菌苗，對於小白鼠、天竺鼠及懷孕母豬之安全性試驗，均無不良之接種反應。

以小白鼠作免疫接種試驗，對於博德氏菌攻擊之防禦指數 $\geq 10^{2.0}$ 。對於A型及D型巴氏桿菌攻擊之防禦指數分別為 $\geq 10^{0.58}$ 及 $10^{1.5}$ 。對於嗜血性胸膜肺炎桿菌之防禦指數 $\geq 10^{1.0}$ 。

三頭懷孕母豬，接種多價菌苗一次(3 ml)，二次(3 ml, 5 ml)或三次(3 ml, 5 ml, 10 ml)者，遞增其劑量免疫後，初乳中所獲抗博德氏菌之抗體價分別為1:640, 1:10,240及1:20,480而4日齡哺乳仔豬之移行抗體價達1:80, 1:640及1:2,560等高低之免疫應答。本試驗結果得知多價菌苗對供試動物具安全性且可獲良好之免疫效果。

關鍵字：豬萎縮性鼻炎、嗜血桿菌性胸膜肺炎、博德氏菌、巴氏桿菌、胸膜肺炎嗜血性桿菌、多價菌苗。

豬之呼吸系統之疾病，以萎縮性鼻炎(Atrophic Rhinitis, 簡稱AR)，流行性肺炎或稱微漿菌性肺炎(Swine Enzootic Pneumonia 或 Mycoplasmal Pneumonia of Swine, 簡稱SEP或MPS)及嗜血桿菌性胸膜肺炎(Actinobacillus or Haemophilus Pleuropneumonia of Swine, 簡稱AP或HP)等之為害最大，世界各國均不遺餘力地從事基礎科學與病原分離及藥劑感受性^(10, 11, 14, 16, 17, 20, 21, 22, 26, 27, 28)與有效菌苗之開發研究^(2,4,6,30,31)。目前除豬流行性肺炎尚無正式產品銷售外，其餘之萎縮性鼻炎博德氏菌單價菌苗，或混以巴氏

桿菌之混合菌苗^(13,29)以及嗜血性胸膜肺炎桿菌之不活化菌苗之開發研究，均有所報告或已商品化廣被使用^(2,3,4,7,12)。

1987年Bloxham⁽¹⁹⁾曾以福馬林不活化多種血清型之HP菌苗，免疫懷孕母豬及小豬，獲得良好之免疫效果。雖然萎縮性鼻炎之感染豬齡自出生開始即受到感染之威脅，而嗜血性胸膜肺炎發生豬齡較晚，但近年來之田間發生病例，其急性型之感染日齡有顯著提前之趨勢。為了早期預防此等呼吸系統疾病之危害，及減少多種菌苗預防注射之次數與緊迫，節省人力、物力起見，乃從事本研究。

*抽印本索取作者

本文原載於台灣牧獸醫學會會報, 17:159-167, 1991
台灣省家畜衛生試驗所

試驗材料與方法

一、種菌株

博德氏支氣管敗血症桿菌係採用 1974 年陳等⁽¹³⁾所分離供製造診斷用抗原及萎縮性鼻炎單價菌苗所使用之 1 型菌 (*Bordetella bronchiseptica* 12-1 菌株)。

巴氏桿菌則使用自豬隻分離之 A 型菌株及產毒性 D 型菌株 (ATCC 12948)。

嗜血性胸膜肺炎桿菌則係由台糖公司張靖男博士所提供之 1 型菌 (*H. p.* 4,074) 及 5 型菌 (*H. p.* 168) 等菌株。

二、培養基

Bordet-Gengou agar base, Potato infusion agar, Dextrose starch agar, Brain heart infusion agar, Brain heart infusion broth, 以上均為 Difco 產品, 巧克力培養基及新鮮酵母浸出液等。

三、供試動物

小白鼠——體重 13-15 公克之健康小白鼠, 係向台大及陽明醫學院購得之 BALB/C 品系小白鼠供試。

天竺鼠——係向合約動物商購得之 400-450 公克健康者供試。

懷孕母豬——係向農林廳所指定專業區優秀養豬戶劉農場購入, 未經任何細菌性菌苗預防注射之二品系懷孕母豬。

四、菌苗之試製

豬博德氏菌, 巴氏桿菌, 及嗜血性胸膜肺炎桿菌, 分別培養於 Potato infusion agar, Dextrose Starch agar 及 Brain heart infusion agar + 5% fresh yeast extract, 於 37°C 培養 18-20 小時後集菌, 分別調整其濃度為 $5 \sim 6 \times 10^{10}$ CFU/ml, 並添加 0.3% Formalin 使其不活化, 再以等量比例配合後, 添加 10% 氫氧化鋁膠為佐劑, 所製成之不活化多價菌苗。

五、菌苗之安全及力價試驗

參照目前豬萎縮性鼻炎不活化菌苗及嗜血性胸膜肺炎不活化菌苗之檢驗標準, 分別測試之。

六、供試抗原及抗體測定方法

1. 博德氏菌診斷抗原, 係使用台灣省家畜衛生試驗所出品之豬萎縮性鼻炎診斷液。抗體之測定方法, 使用試管凝集反應方法, 以測定免疫母豬之血清, 初乳及其 4 日齡哺乳仔豬之移行抗體價。

2. 巴氏桿菌 A 型及 D 型之抗原, 使用 Dextrose Starch agar 培養所得以 PBS (-) 洗滌之菌液, 經超音波擊碎處理後再依 Sawada et al., (33) 之方法, 加熱抽出之自製抗原。以載玻片瓊脂免疫沈降反應方式加以測試。

3. 嗜血桿菌性胸膜肺炎抗原, 以巧克力培養基培養所得之 PBS (-) 菌體懸液, 仍依前述經超音波處理擊碎後再以 121°C 加熱 1 小時之抽出自製抗原。供試豬隻之血清及初乳仍以瓊脂免疫沈降反應方式加以測試。放入於 37°C 溫室防乾之塑膠盒中, 翌日取出觀察有無沈降反應線。

結 果

一、試製菌苗之安全性試驗成績

將試製之菌苗, 分別接種於小白鼠、天竺鼠及豬隻之結果, 除懷孕母豬因大量接種者, 其局部有輕度腫脹及食慾略減外, 其餘各供試動物於試驗觀察二週內, 均無不良之反應耐過。詳細成績如 Table 1. 所示成績。

二、菌苗之免疫力價試驗成績

試製之菌苗, 依照試驗方法所述各單價菌苗之檢驗標準, 以小白鼠為材料作力價試驗, 經二週後再分別以博德氏菌, 巴氏桿菌 A 型菌, D 型菌及嗜血性胸膜肺炎桿菌攻擊之結果, 所得成績, 抗博德氏菌之防禦指數為 $10^{2.0}$, 抗 A 型巴氏桿菌 $\geq 10^{0.58}$, 抗 D 型巴氏桿菌為 $10^{1.5}$, 而對嗜血性胸膜肺炎 1 型及 5 型菌等量混合液攻擊之結果, 其防禦指數 $\geq 10^{1.0}$, 其詳細成績如 Table 2、3、4 及 5 所示。

三、菌苗免疫懷孕母豬之抗體價及其哺乳仔豬之移行抗體價試驗成績

懷孕母豬 # 6056 於產前二週肌肉免疫注射 3 ml。# 5238 母豬於產前四週肌肉基礎免疫 3 ml, 二週後再補強注射 5 ml。# 6171 母豬則於

Table 1 Results of safety tests of poly-valent bacterin in experimental animals

Animal	No. tested	Route & dose* inoculated	Result
Mouse	10	0.5 ml SC	Survived
	10	0.1 ml IM	Survived
Guinea Pig	2	0.1 ml ID	Survived No necrotic lesion observed
Piglet	4	5 ml IM	No side reaction appeared
Pregnant sow	1	3 ml IM	No side reaction.
	1	3 ml, 5 ml IM	No side reaction.
	1	3 ml, 5 ml, 10 ml IM	Slight local swelling after final inoculated

*Remarks : SC : Subcutaneous, IM : Intramuscular, ID : Intradermal.

Table 2: Results of potency tests of poly-valent bacterin after challenge with *Bordetella bronchiseptica*

Group	Route & dose inoculated	Survival after challenge with various concentrations of bacterial suspension* (%)					LD ₅₀
		5 × 10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	
Experiment	0.5 ml of 10 ⁻¹ bacterin suspension IP	-	10/10** (100)	10/10 (100)	10/10 (100)	0/10 (0)	10 ^{9.5}
Control	-	10/10 (100)	10/10 (100)	0/10 (0)	0/10 (0)	-	10 ^{7.5}

* : Challenge was done at 2 week after vaccination.

** : No. of survival/No. of tested.

IP : Intraperitoneal

Table 3: Results of potency tests of poly-valent bacterin after challenge with *Pasteurella multocida* (Type A)

Group	Route & dose inoculated	Survival after challenge with various concentrations of bacterial suspension* (%)				LD ₅₀
		5.2 × 10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	
Experiment	0.5 ml of 10 ⁻¹ bacterin suspension IP**	8/10 (80)	3/10 (30)	0/10 (0)	0/10 (0)	10 ^{1.58}
Control	-	0/10	0/10	0/10	-	< 10 ^{1.0}

*The number of 5.2 × 10⁹ CFU/ml of *P. m.* type A strain cultured in BHI at 37°C for 18 hrs were diluted used for challenge.

**IP : Intraperitoneal.

Table 4: Results of potency tests of poly-valent bacterin after challenges with *Pasteurella multocida* (Type D)

Group	Route & dose inoculated	Survival after challenge with various Concentrations of bacterial suspension (%) *					LD ₅₀
		5×10 ⁸	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	
Experiment	0.5 ml of 10 ⁻¹ bacterin suspension IP**		10/10 (100)	10/10 (100)	5/10 (50)	0/10 (0)	10 ^{8.0}
Control	—	10/10 (100)	10/10 (100)	0/10 (0)	0/10 (0)		10 ^{6.5}

*The number of 5×10⁸ CFU/ml of *P. m.* ATCC 12948 strain grown in BHI at 37°C for 18 hrs were used for challenge.

**IP: Intraperitoneal.

Table 5: Results of potency tests of poly-valent bacterin after challenge with *Hemophilus pleuropneumoniae* (type 1+5)

Group	Route & dose inoculated	Survival after challenge with various concentrations of bacterial suspension (%) *				LD ₅₀
		2×10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	
Experiment	0.5 ml of 10 ⁻¹ bacterin suspension IP**	5/5 (100)	10/10 (100)	1/10 (10)	0/10 (0)	10 ^{7.56}
Control	—	5/5 (100)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	10 ^{6.50}

*A mixed culture suspension of *H. P.* type 1 and 5 was used for challenge.

**IP: Intraperitoneal.

產前六週基礎免疫注射 3 ml, 二週後補強注射 5 ml, 再經二週後大量注射 10 ml。俟分娩時採取初乳及採血, 哺乳仔豬於 4 日齡時採血, 測定其血清中之抗體價, 得知免疫母豬初乳所獲抗博德氏菌之抗體價分別為 1:640, 1:10,240 及 1:20,480。而仔豬之血清移行抗體價達 1:80, 1:640 及 1:2,560 等高低相關之免疫應答。顯示多價菌苗對懷孕母豬及其哺乳仔豬在抗博德氏菌抗體之產生, 並不因菌苗中添加巴氏桿菌及嗜血性桿菌等免疫抗原而有所干擾。各母子間血清中之抗體價詳如 Fig. 1 所

示成績。

討 論

豬萎縮性鼻炎, 流行性肺炎及嗜血桿菌性胸膜肺炎為豬隻呼吸系統之三大主要傳染病。世界各國或地區只要有養豬的地方, 幾乎都有此等病害之困擾, 因此如何預防或減少損失也就成為各國試驗研究者, 藥品製造廠及養豬業者之重視與關切。胸膜肺炎嗜血桿菌, 據 1984 年 Inoue et al.,⁽²³⁾之報告, 將分離菌株(含鄰

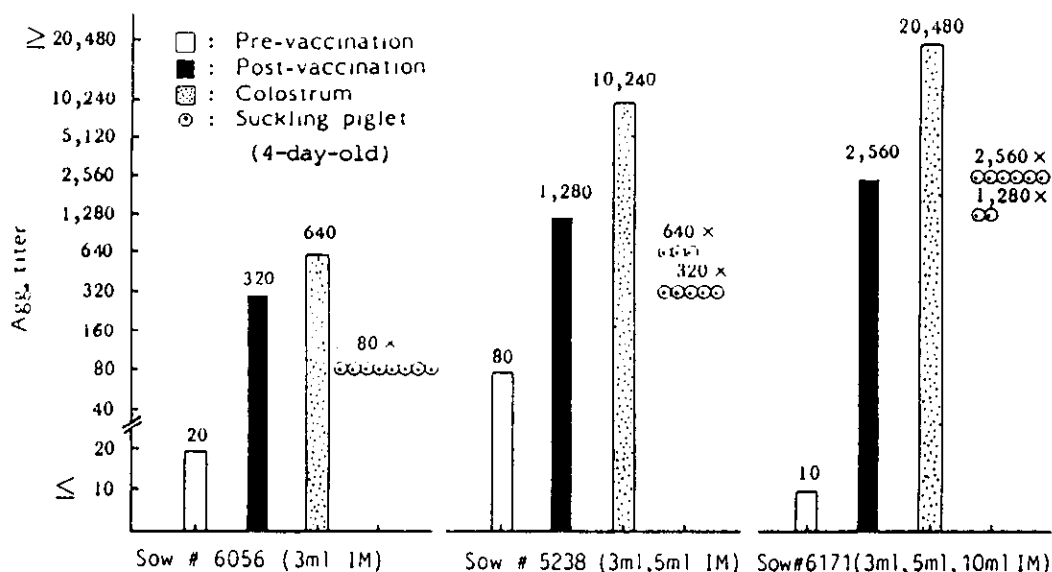


Fig. 1 Results of immune responses against *Bordetella bronchiseptica* in sows and their suckling piglets

近中韓兩國所提供各二株)共 109 株,作藥物敏感性試驗之結果,對於抗菌物質 Penicillin, Chloramphenicol, Tetracycline, Rifampicin, Trimethoprim 及 Furazolidon 均有高度之感受性,於 1974 年到 1982 年間,未見有耐性菌株之增加。但在 1989 年 Kawahara et al.,⁽²⁴⁾之報告,在 129 株供試嗜血桿菌中,1984 年以前分離之 28 株對於 10 種抗菌物質均有感受性,但 1985 年及 1986 年分離之半數以上 79 株,則對 Aminoglycosides, Tetracycline, Tylosin 及 carbadox 有抗藥性,且大部份呈現多藥劑耐性。1989 年 Suzuki et al.,⁽³²⁾於 1986-1987 年,由屠宰豬肺病巢分離之 *A. pleuropneumoniae* 190 株,對於供試藥劑,大部份雖均有感受性,但其中有 10 株呈現單藥劑或多藥劑抗藥性菌株,同年天野等⁽¹⁸⁾由健康豬鼻腔所分離之嗜血桿菌 101 株中,任取供試 21 株供試,即發現 14 株對 Kanamycin, Streptomycin, Sulfadimethoxine, Tylosin, Triamuline 及 Thiamphenicol 等有抗藥性。

在國內 1980 年陳及張⁽⁹⁾1987 年張等⁽⁵⁾對於嗜血性胸膜肺炎桿菌之敏感性試驗得知,

H. p. 桿菌對於 Nitrofurantoin, Cephalothin, Chloramphenicol, Lincospectin 最為敏感。Thiamphenicol, Trimethoprim, Ampicillin, Gentamicin 等次之。但對 Vancomycin, Clindamycin, Colistin 及 Novobiocin 等則幾完全抗藥性。且耐性菌株已有顯著增加之趨勢。同時由於肉品中藥物殘留問題亦受到消費者相當之關切,以抗菌物質之化學治療受到相當之考驗。因此開發有效菌苗,配合早已廣被使用之豬萎縮性鼻炎菌苗,來預防此等呼吸系統之疾病,已成為彼此共同努力的目標。由於養豬農戶對於懷孕母豬於產前 4-5 週及 2-3 週須預防接種之菌(疫)苗種類繁多及農村勞力普遍之缺乏,對於多價(多種抗原)菌苗一次免疫之需求至為迫切,以節省人力物力之負擔。

在本試驗中,菌苗之研製,係含有博德氏菌, A 型及 D 型巴氏桿菌及 1 型及 5 型之胸膜肺炎嗜血桿菌,可謂含有多種抗原因子,在供試之小白鼠力價試驗及懷孕母豬之免疫試驗中,對於博德氏菌之免疫結果尚稱滿意,詳細已如表 2 及圖 1 所示。至於巴氏桿菌之抗體測定,使用瓊脂免疫擴散試驗之結果,6056 母豬

之初乳對於 A 型及 D 型抗原均出現 1:4 之明顯沈降線。對於嗜血桿菌 1 型及 5 型亦呈 1:2 之沈降線。而 5238 及 6171 兩頭母豬之初乳，對於巴氏桿菌抗原雖未能測出明顯沈降線，但 6171 母豬之初乳對於嗜血桿菌 1 型抗原則呈現 1:2 之明顯粗大之沈降線。

另一試驗分別以 3 ml, 5 ml, 10 ml 之基礎免疫與 5 ml, 10 ml, 15 ml 較大劑量之補強注射懷孕母豬，無論其對博德氏菌產生之抗體價或其初乳對巴氏桿菌及嗜血性桿菌之抗體價，最高者可達 1:32，顯示效果相當好（尚未發表資料）。在本試製之菌苗，由供試實驗動物之安全性及小白鼠之力價測定成績得知，菌苗中雖含有多種不同抗原因子，但彼此並不發生牽制，而其安全性及保護力價，尚稱滿意。詳細已如表 1, 2, 3, 4 及 5。至於免疫後懷孕母豬之血清，初乳抗博德氏菌之抗體價，隨劑量之大小而略呈高低之反應。4 日齡哺乳仔豬血中之移行抗體價則隨母豬血中抗體價之高低成正相關性，且頗為平行。但較初乳之抗體價為低。詳已如 Fig. 1. 所示。此種正常之免疫反應，應可為吾人所接受。

在菌苗之濃度方面據 Kume 及 Nakai⁽²⁵⁾ 之報告，雙價嗜血桿菌性菌苗中至少應有 1×10^{10} CFU/ml 之濃度，而翁等⁽¹⁾ 所研製之 5 型單價嗜血性桿菌菌苗所含之菌體量為 10^{10} 與前者之報告頗為相似。張等⁽⁴⁾ 之報告則稱嗜血性桿菌菌苗免疫豬隻時如果每次注射 4 ml，免疫二次時，最佳之含菌量為 2×10^9 /ml，與前二者之報告為低。然而在菌苗之有效成分方面，1987 年羅⁽⁹⁾ 曾報告，以小白鼠之保護試驗結果，莢膜菌苗之存活率 52.2% 較不活化菌苗之存活率 44.1% 為優。1990 年張等⁽⁹⁾ 報告脂多醣內毒素對小白鼠之保護效果較全菌抗原好。惟在實際量產時將增加生產成本。

至於巴氏桿菌之抗體產生反應，據筆者陳等⁽¹⁵⁾ 以不活化菌苗免疫家兔及豬隻試驗之結果得知，其抗體產生一般均不高，但經攻擊而耐過者，其抗體價則呈明顯上昇。嗣後在量產時對於巴氏桿菌及嗜血性桿菌原料菌液之濃度或免疫設計上將進一步加以研討。

誌 謝

本研究承行政院農業委員會 77 農建-7.1 牧 34⁽⁵⁾ 經費之補助，得以順利完成，謹誌萬分之謝忱。

參考文獻

1. 翁仲男、徐興鎔、劉建榮(1976)：豬副溶血性嗜血桿菌肺炎之研究，福爾馬林死菌苗對豬隻免疫效果，中華民國獸醫學會雜誌，2, 67~71。
2. 徐興鎔、張靖男、羅麗華、胡大光、林柏蒼、劉福蔭、周凝元(1978)：豬副溶血性嗜血桿菌肺炎之研究，福馬林死菌苗對豬隻免疫效果，台糖畜產研究 66/67 年期研究報告，147~155。
3. 張惟茗、楊喜吟、賴秀穗(1990)：豬胸膜肺炎嗜血桿菌脂多醣之定性。中華民國獸醫學會雜誌，16, 1, 47~53。
4. 張靖男、羅麗華、朱賢主、沈詠梅(1979)：副溶血性嗜血桿菌肺炎菌苗之改良及其免疫上各種問題之探討，台糖畜產研究所 67/68 年期研究報告，163~173。
5. 張靖男、沈詠梅、俞寶華(1987)：各種化學治療劑對豬胸膜肺炎嗜血桿菌之抗菌效果。台糖公司畜產研究所 75/76 年期研究試驗報告，129~137。
6. 張靖男、沈詠梅、俞寶華(1990)：豬嗜血桿菌胸膜肺炎流行病學之研究。台糖公司畜產研究所 78/79 年期研究試驗報告，139~147。
7. 羅麗華、張靖男(1979)：豬副溶血性嗜血桿菌選擇培養基之開發研究。中華民國獸醫學會雜誌，5, 109~113。
8. 羅麗華(1987)：胸膜肺炎嗜血桿菌莢膜菌苗之免疫保護作用。中華民國獸醫學會雜誌，13, 119~126。
9. 陳鴻文、張靖男(1980)：胸膜肺炎嗜血桿菌對各種抗菌劑試管內之敏感性試驗。台糖公司畜產研究所 68/69 年期研究試驗

- 報告，159~167。
10. 陳清、李全、林地發、陳忠松、邱朝齊、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。
 11. 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。
 12. 陳清、呂清泉、詹益波、邱仕炎、賴俊雄、張天桂、林旭志、洪典戊、李肇祥(1984)：豬萎縮性鼻炎之研製與應用。台灣省畜牧獸醫學會會報，43，62~74。
 13. 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、吳森江、陳光男(1986)：豬博德氏菌與巴氏桿菌混合菌苗之研製與應用。台灣省家畜衛生試驗所研究報告，22，41~48。
 14. 陳清、呂清泉、賴俊雄、張天桂、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。中華民國獸醫學會雜誌，15，129~137。
 15. 陳清、沢田拓士(1990)：豬隻由來巴斯德桿菌 (*Pasteurella multocida*) 之型別鑑定及試製抗原對家兔及豬隻之免疫試驗。台灣省畜牧獸醫學會秋季學術研討會論文摘要，10。
 16. 吳兆奇(1991)：巴氏桿菌產毒株之分離與鑑定及實驗接種 D 型巴氏桿菌毒素引致豬萎縮性鼻炎之動物試驗。國立中興大學獸醫學研究所碩士論文，1~76。
 17. 鈴木祥子、高橋敏雄、村松昌武、大前憲一、小枝鐵雄、大石弘司、片岡辰雄、高木裕、和田信章、中島誠(1987)：屠場豚肺病巢かう分離された *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* の血清型及び藥劑感受性，動藥檢ニエース，83，3~4。
 18. 天野弘、梶尾規一、土屋守、柴田冒利、大村康治、坂野文俊、長谷川昌俊、梶涉、森健(1989)：健康豚鼻腔かう分離さのた *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型と藥劑感受性，日獸會誌，42，179~183。
 19. Bloxham, P.A. (1987)：Preliminary results on the efficacy of a *Haemophilus pleuropneumoniae* Vaccine in Pigs. Irish Veterinary News 9 (7), 37~38. (Cited from Veterinary Bulletin 1988, 58, 1, 7.)
 20. Fenwick, B.W., B.I. Osburn, and H.J. Olander, (1986)：Isolation and Biological Characterization of two Lipopolysaccharides and a Capsular enriched Polysaccharide Preparation from *Haemophilus pleuropneumoniae*. Am. J. Vet. Res. Vol 47, No. 7. 1433-1441.
 21. Gilbride, K.A., and S. Rosendal (1983)：Evaluation of a Selective Medium for Isolation of *Haemophilus pleuropneumoniae*, Can, J. Comp. Med. 47, 445-450.
 22. Gilbride, K.A. and, S. Rosendal (1984)：Antimicrobial Susceptibility of 51 Strains of *Haemophilus pleuropneumoniae*. Can. J. Comp. Med 48, 47-50.
 23. Inoue, A., K. Yamamoto, N. Hirano, and T. Murakami (1984)：Drug Susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* Strains Isolated from Pigs Jpn. J. Vet. Sci. 46(2) 175-180.
 24. Kawahara, K., M. Asano., T. Nakai., K. Kume and H. Danbara (1989)：Antibiotic Susceptibility of Serotype 2 and 5 Strains of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* Isolated from Swine from 1974 to 1986. Jpn. J. Vet. Sci. 51(2) 359-363.
 25. Kume, K. and T. Nakai (1988)：Efficacy of a Bivalent Vaccine Containing Serovar 2 and 5 strains of *Haemophilus*

- pleuropneumoniae* in Pigs or in Guinea Pigs Jpn. J. Vet. Sci. 50(1) 237-241.
26. Mittal, K.R., R.Higgins and S.Lariviere (1983) : Determination of Antigenic Specificity and Relationship Among *Haemophilus pleuropneumoniae* Serotypes by an Indirect Hemoagglutination Test. Journal of Clinical Microbiology 787-790.
 27. Mittal, K.R., R.H Iggins., S.Lariviere, and G.P. Martineau, (1987) : Effect of Heat treatment on the Surface antigens of *Haemophilus pleuropneumoniae*, Veterinary Record 120, 62~65.
 28. Nakai, T. and K. Kume (1987) : Serological and Bacteriological Survey of *Haemophilus pleuropneumoniae* Serovar 5 Jpn. J. Vet. Sci 49 : (6) 1141-1144.
 29. Ostle, A.G., D.C. Murtle and C.J. Welter (1986) : Reducing the Effects of Enzootic Pneumonia and Atrophic Rhinitis Veterinary Medicine 81(8) 772-775. (Cited from Veterinary Bulletin 1987, 57, 2 95.)
 30. Rutter, J.M. (1987) : Atrophic rhinitis in Pigs. Pig News and Information. No.4. 385-387.
 31. Straw, B.E., N.J. Maclachlan, W. T. Corbett, P.B.Carter and H.M. Schey, (1985) : Comparison of Tissue Reactions Produced by *Haemophilus pleuropneumoniae* Vaccines Made With Six Different Adjuvants in Swine. Can. J. Comp. Med. 49 149-151.
 32. Suzuki, S., K.Ohmae, K.Ohishi, M. Muramatsu, T. Takahashi, (1989) : Antimicrobial Susceptibility of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* Isolated from Pigs with Pleuropneumonia. Jpn. J. Vet. Sci. 51(2) 450-452.
 33. Sawada, T., B.R. B. Rimler and K. R. Rhoades (1982) : Indirect Hemoagglutination Test that uses Glutaraldehyde fixed sheep Erythrocytes Sensitized with Extract Antigens for Detection of *Pasteurella* Antibody. J. Clin. Microbiol. Vol. 15. 752-756.

THE SAFETY AND EFFICACY TESTS OF POLY-VALENT BACTERINS DEVELOPED FOR ATROPHIC RHINITIS AND ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIA CONTROL IN EXPERIMENTAL ANIMALS.

Chen Ching*, C.C.Lu, J.S.Lai, H.J.K'O, I.P. Chan and S.Y.Chiu,

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health

Bacterial cell suspensions of *Bordetella bronchiseptica* (*B.b.*), *Pasteurella multocida* (*P.m.*) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A.p.*) were separately collected, inactivated and their concentrations were adjusted. After cell suspensions were combined, poly-valent bacterin was adjuvanted with Aluminum hydroxide gel. This bacterin was found to be safe for mice, guinea-pigs and pregnant sows.

Satisfactory potency of bacterin was obtained when mice were used for bio-assay. The Protective index (PI) against *B.b.* was $\geq 10^{2.0}$ after intraperitoneally challenged. PIs against *P.m.* type A and D challenging were $\geq 10^{0.58}$ and $10^{1.5}$, respectively, PI against *A.p.* challenging more than 10 times potency was obtained.

Three pregnant sows immunized once (3 ml), twice (3 ml, 5 ml) or thrice (3 ml, 5 ml and 10 ml) with poly-valent bacterins their colostral antibody titer against *Bordetella bronchiseptica* were 1 : 640, 1 : 10, 240 and 1 : 20, 480, respectively. The high maternal antibody titers from 1 : 80 to 1 : 2, 560. of 4-day-old piglets born to vaccinated sows were detected. It was concluded that the poly-valent bacterins were safe and immunopotent to experimental animals.

Key works:

Atrophic rhinitis, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Poly-valent bacterins.

*Corresponding author

Reprinted from the J. Chinese Soc. Vet. Sci., 17:159-167, 1991

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