

# 猪大腸桿菌症菌苗對小白鼠免疫效力之評估試驗

陳 清 呂清泉 詹益波 賴俊雄 張天桂 林旭志

台灣省家畜衛生試驗所

試製之各種猪大腸桿菌菌苗與參考菌苗，以腹腔注射免疫小白鼠作效力評估試驗之結果，得知，不同血清型菌株試製之菌苗，其菌體抗原及表面抗原構造雖有所不同，但彼此間仍有交叉免疫性，其保護力可達 90-100 %。如將攻擊菌液提高 10 倍濃度，攻擊後，即使是同型菌株所製成之菌苗 (Homologous strain vaccine)，其耐過攻擊之存活率，最高亦僅有 50 % 及 80 %。而不含菌體或菌體表面抗原之預防液，其耐過攻擊之存活率常偏低。

因此，對於猪大腸桿菌菌苗在小白鼠效力評估上，認為以免疫組耐過攻擊存活率在 80 % 以上，而對照組之斃死率在 80 % 以上者，或其防禦指數 (Protection index)  $\geq 10^{0.5}$  (免疫組 LD<sub>50</sub> / 對照組 LD<sub>50</sub>)，均可視為具保護效果較為合適。

猪大腸桿菌症 (Colibacillosis) 對於養猪事業之威脅很大，其中尤以早發性大腸桿菌症 (Neonatal colibacillosis) 對於初生仔猪之為害經濟上之損失最為嚴重。企業養猪場，能否順利的開展其事業，除了客觀因素如市場供需情形及國際經濟狀況等有所影響之外，最重要且直接的應是經營理念，仔猪之繁殖與飼養管理之成敗。也就是說仔猪飼養成功，那麼其整個養猪企業定有所成就。因此如何保護仔猪免受疾病之為害，乃世界各國學者專家及企業經營者共同努力追求的目標之一。其中尤以病原之探討及有效菌苗的開發，更是不遺餘力<sup>(21, 25, 26, 29)</sup>。

對於仔猪大腸菌症之防疫，除了注意飼養環境之整潔，適度的保溫之外，在預防上最經濟，有效與可行之方法，當以免疫懷孕母猪，使其產生高度免疫抗體，分娩後經由初乳之媒介，使初生仔猪獲得立即性被動免疫抗體最為有效<sup>(8, 9, 22)</sup>。然而，目前世界各國在預防用菌苗之研究開發方面，不外使用分離率較高血清型之單價或多價大腸桿菌弱毒化或不活化菌苗<sup>(4, 5, 28)</sup>，菌體表面之線毛 (Pili) 菌苗<sup>(22)</sup>，毒素菌苗<sup>(24, 27)</sup>，菌體線毛與腸毒素混合菌苗<sup>(8, 9)</sup>，以及霍亂類毒素預防液<sup>(24)</sup>等。而對於菌苗或預防液等效力評估，由於產品之不同，及各國使用方法互異，徒增困擾。筆者等為使猪大腸桿菌症菌苗或其預防液對於小白鼠免疫效力之評估上有更符合實際需要，且對本病之防疫有所幫助起見，乃試製各種菌苗及搜集參考菌苗依其使用說明，及國家標準進行本研究，以期改進猪大腸桿菌症菌苗之製造與檢定技術，俾利養猪業者防治本病之用。

## 材料與方法

### 試驗材料：

供試菌株：單價不活化菌苗製造所用菌株之抗原構造為 O 147 : K 88<sup>+</sup>，(J-10)、O 147 : K 89, K 99<sup>+</sup>, LT<sup>-</sup>, ST<sup>-</sup> (C-62)，O 20 ab : K 91, 987p<sup>+</sup>, LT<sup>-</sup>, ST<sup>-</sup> (C-117) 等三株。多價線毛、腸毒素不活化菌苗製造株之抗原構造為 O 149 : K 91, 88<sup>+</sup>, LT<sup>+</sup>, ST<sup>+</sup>, O 147 : ST<sup>+</sup>, O 114 : K 90 : K 99<sup>+</sup>, O 89 : 987p<sup>+</sup> 等四菌株。攻擊菌株除上述四株外另加入 O 8 : K 87, 88<sup>+</sup> LT<sup>+</sup>, ST<sup>+</sup> 等。

供試菌苗：分為研製之單價不活化菌苗，多價線毛、腸毒素菌苗與多價不活化菌苗及霍亂類毒素疫苗等輸入供試之參考菌苗。

供試小白鼠：體重 13 ~ 15 公克，經 48 小時觀察健康佳者供試。

## 試驗方法：

單價菌苗製造用菌株之致病力試驗：

以Tryptic soy broth培養基於37°C下培養24小時所得之菌液，經菌數計算後，將培養原液，稀釋菌液及濃縮菌液各腹腔接種0.1ml於13~15公克之健康小白鼠10隻，觀察5日，並記錄其斃死情形以測定其致病斃死率。

菌苗之製造：

單價不活化菌苗及多價線毛腸毒素不活化菌苗等之製作，依筆者等<sup>(8,9)</sup>所報告之方法，將培養所得之菌液，經添加0.2%福馬林不活化處理及添加佐劑研製成鋁膠菌苗。

對小白鼠免疫效力試驗：

分為二組，一組為國家標準(70年公佈)試驗法實施。另一組為研擬設計之新試驗法，即將供試菌苗以緩衝生理食鹽水10倍稀釋後，每隻小白鼠腹腔注射0.5ml，經二週後以攻擊菌株培養所得之不同濃度在單價菌苗行交叉免疫攻擊試驗，經5天之觀察以測定其存活率。多價菌苗則以不同濃度之菌液攻擊，經5天之觀察後，求取LD<sub>50</sub>，計算其防禦保護力，並評估其免疫效力。

## 試驗結果

## 一、供試單價菌苗株對小白鼠之致病力試驗成績：

各菌株分別以肉羹培養所得之菌液，雖其菌數約略相同，經腹腔接種後觀察5日，所得成績得知，各菌株對於小白鼠之致病力並非一致，但如果將其濃縮10倍，則供試小白鼠之斃死率均達100%，詳如表一。

表一 猪大腸桿菌菌株對小白鼠之致病性試驗成績

Table 1: Pathogenicity of the Escherichia coli strains in mice.

菌株 Strain	接種菌液濃度及斃死率 Bacterial concentration & mortality (%)			Original suspension contains (CFU/ml)
	TSB 24 hrs cultured suspension	2X diluted suspension	10 X condensed suspension	
J-10	10/10 (100)	8/10 (80)	10/10 (100)	1.4-1.5×10 <sup>9</sup>
C-62	8/10 (80)	0/10 (0)	10/10 (100)	2.6-2.8×10 <sup>9</sup>
C-117	2/10 (20)	0/10 (0)	10/10 (100)	1.4-1.9×10 <sup>9</sup>

備註：每隻小白鼠腹腔注射0.1ml。

Remark: Each mouse was inoculated with 0.1 ml I.P.

## 二、研製單價菌苗對小白鼠交叉免疫試驗成績：

將研製之各單價不活化菌苗，以PBS(→)10倍稀釋後，分別接種於供試10隻小白鼠之腹腔，經二週後以同型菌株，異型菌株培養液及同型菌株培養之10倍濃縮菌液攻擊之結果，得知供試之三株單價菌苗，雖其菌體抗原及表面抗原構造有所不同，但彼此間仍有交叉免疫性，其保護力可達90~100%，但如將攻擊菌液濃縮10倍，即使是同型菌株製成之菌苗，其耐過攻擊之存活率，亦僅有50%及80%，詳如表二。

表二 試製菌苗對小白鼠交叉免疫試驗成績

Table 2 : Results of the cross immunization of the monovalent *Escherichia coli* vaccine in mice

菌苗製造 菌 株 Strain used for vaccine preparation	攻擊菌株及活存數 Challenge strain & survival (%)			10 倍濃縮菌液攻擊後活存數 Survival after challenge with 10X condensed suspension (%)		
	J-10	C-62	C-117	J-10	C-62	C-117
J-10	<u>10/10 (100)</u>	9/10 (90)	9/10 (90)	<u>5/10 (50)</u>		
C-62	10/10 (100)	<u>10/10 (100)</u>	9/10 (90)		<u>0/10 (0)</u>	
C-117	9/10 (90)	9/10 (90)	<u>9/10 (90)</u>			<u>8/10 (80)</u>

備註：1.小白鼠以 10 倍稀釋菌苗腹腔注射 0.5 ml。

2.免疫二週後以 TSB 肉羹 24 小時培養液 0.1 ml 腹腔攻擊。

Remarks : 1. Immunized with 0.5 ml of 10<sup>-7</sup> dilute vaccine I P.

2. Challenged with 0.1 ml of tryptic soy broth 24 hrs culture suspension 2 weeks after immunization.

三各種大腸桿菌苗對於小白鼠之保護效力試驗成績：

以含有不同抗原構造成分之菌苗，皮下及腹腔內接種免疫小白鼠，經二週後再以統一標準之攻擊菌液攻擊之結果得知，各組之皮下注射群（70年國家標準）顯較腹腔注射群之效力差。而線毛腸毒素菌苗組及多價不活化菌苗組之腹腔注射免疫群，其免疫效力恒較優。如以對照組之斃死率為 100 %時，免疫組之耐過攻擊率均在 80 %。而無菌體抗原之菌苗或無菌體表面抗原之菌苗，其免疫效果常偏低，詳如表三所示成績。

表三 各種大腸桿菌苗對於小白鼠之保護效力試驗成績

Table 3 : Results of protective efficacy of the various vaccines against colibacillosis in mice.

菌苗種類 Kind of vaccine	劑量及免疫途徑 Dosage & route of immunization	攻擊菌液及耐過存活率 (%) Challenge suspension & survival (%)			LD <sub>50</sub>
		1.9~2.1×10 <sup>8</sup> /ml 0.1 ml	10 <sup>9</sup>	10 <sup>10</sup>	
Pili & Enterotoxins vaccine	10 <sup>-7</sup> 0.2 ml S.C.	10/10 (100)	2/20 (10)	0/20 (0)	10 <sup>8.56</sup>
	10 <sup>-7</sup> , 0.5ml IP	10/10 (100)	16/20 (80)	0/20 (0)	10 <sup>9.33</sup>
Polyvalent vaccine *	10 <sup>-7</sup> 0.2 ml S.C.	10/10 (100)	0/20 (0)	0/20 (0)	10 <sup>8.5</sup>
	10 <sup>-7</sup> , 0.5ml IP	10/10 (100)	16/20 (80)	0/20 (0)	10 <sup>9.33</sup>
Cholera toxoid vaccine *	10 <sup>-7</sup> 0.2ml S.C.	10/10 (100)	0/20 (0)	0/20 (0)	10 <sup>8.5</sup>
	10 <sup>-7</sup> , 0.5ml IP	10/10 (100)	8/20 (40)	0/20 (0)	10 <sup>8.83</sup>
Control		10/10 (100)	0/10 (0)	0/10 (0)	10 <sup>8.5</sup>

Remark : \* Both of them were used for reference vaccine.

## 討 論

豬大腸桿菌性下痢症防治之研究，以對病原菌之分離，特性之探討及有效疫苗之開發研究最為積極<sup>(1,2,3,4,6,7,11,13,15,18)</sup>。在致病性研究方面，Deprez等<sup>(16)</sup>報告，可由有臨床症狀之小豬空腸後部及迴腸分離出溶血性大腸桿菌。Jayappa等<sup>(20)</sup>認為 type 1 線毛在小豬腸管中定著，可能也是一個重要的因子，而他們在疫苗之開發研究上也證明了純化一型線毛及全菌體疫苗對於預防早發性大腸桿菌症之功效。To等<sup>(30)</sup>亦試驗說明了三種線毛對於疾病之重要性。To<sup>(31)</sup>更舉出疾病過程中缺乏三種主要線毛抗原(K 88、K 99及 987 P)外，尚有 F 41 線毛之存在。因此在疫苗之製造，其組成似應包括 type 1、F 41，菌體抗原、莢膜抗原及腸毒素(LT、ST)抗原等因子。Dobrescu等<sup>(17)</sup>在多價疫苗之研究方面，主要之因子則包括K 88、K 99、987 P及LT<sup>+</sup>等。嚴等<sup>(5)</sup> Wilson及 Svendsen<sup>(33)</sup>等則以福馬林處理之活疫苗，以口服、乳房內及肌肉注射免疫懷孕母豬，其中以口服最為方便與有效，使哺乳仔豬獲得被動性免疫。Truszczynski及 Ciosek<sup>(32)</sup>則使用活疫苗免疫懷孕母豬及離乳前後之小豬。

陳<sup>(12)</sup>及陳等<sup>(8,9)</sup>曾以三種主要線毛(K 88、K 99及 987 P)之大腸桿菌菌株及二種產生腸毒素(LT<sup>+</sup>及 ST<sup>+</sup>)菌株分別培養研製及改進之疫苗，免疫懷孕母豬及田間應用試驗，獲得良好之免疫效果。張等<sup>(10)</sup>曾以固體培養基製造並以濃縮 100 倍所製成之所謂新型疫苗，據報告成本低廉，製造簡便，甚少污染及便於運輸與使用。Gillgan等<sup>(19)</sup>曾對霍亂類毒素(cholera toxoid)及忌熱性腸毒素(Heat-labile enterotoxin)加以研討其相關性。Nagy等<sup>(22,23,24)</sup>亦曾以線毛抗原疫苗免疫懷孕母豬，作為保護仔豬之試驗，更以霍亂類毒素及其他三種線毛等作為免疫抗原以預防大腸菌症。由此可知對於大腸菌症之致病因子及防疫疫苗之研究，確不遺餘力<sup>(25,26,28,29)</sup>。然而，對於開發生產疫苗究應如何加以評估其免疫力，除了臨床田間應用，以研討其免疫效果外，在試驗室如何以試驗小動物如小白鼠等來評估其免疫力，報告資料則甚感缺乏。雖然產品之主要組成均各不相同，很難定出一個標準作為效力評估之準則，但以疫苗開發研究之角度上而言，疫苗效力評估方法則須加以探討。筆者等鑑於以往國家檢定標準(台灣省政府公報70年冬字19期)，豬大腸桿菌疫苗防禦指數要 $\geq 10^{4.5}$ (免疫組LD<sub>50</sub>/對照組LD<sub>50</sub> $\geq 10^{4.5}$ )，頗為懷疑。因此乃試製三種單價疫苗，免疫小白鼠，再以同型菌株攻擊試驗之結果，亦無法獲得標準或以上之成績，顯然此一標準值得重新商討修訂。另一方面以試製之線毛、腸毒素疫苗及參考之多價大腸桿菌疫苗與霍亂類毒素預防液免疫懷孕母豬，俟分娩後仔豬於三日齡時使用胃管攻擊試驗之結果，線毛、腸毒素疫苗免疫母豬初乳之保護效果二胎中一胎雖有二頭仔豬發生下痢，但均恢復，其保護力均為100%，而對照組母豬所生仔豬全部發生下痢後斃死，無保護效果<sup>(8)</sup>。參考之多價疫苗免疫母豬，分娩後仔豬於3日齡時以同樣方式攻擊之結果，二胎仔豬雖有部份發生下痢及斃死，其保護力仍達70%及100%，而對照組母豬所生之仔豬則無一幸存。由此可見在小白鼠之免疫力達80%以上者，如用以免疫懷孕母豬，則其初乳對於哺乳仔豬具有相當的保護攻擊之效力。惟在無菌體抗原及菌體表面抗原之預防液，如用以免疫懷孕母豬，其初乳則無法認出具有多大之保護效果(尚未正式發表)。因此具有保護效力之大腸桿菌疫苗如能正式提供養豬業者使用，然後再進一步要求品質的提升，這對於防治豬大腸桿菌症，尤以早發性大腸桿菌症，料將有很大之幫助。至於在本試驗中三種單價疫苗，其抗原構造雖不相同，但彼此間仍有相當程度的交叉免疫性，可能與彼此間具有共通的抗原性有關，山口等<sup>(14)</sup>曾由 *Shigella sonnei*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa* 及 *Vibrio cholerae* 等 9 種腸內細菌，經超音波處理後，以免疫電泳法(Immunoelectrophoresis)測得其分子量為 60 Kilodaltons 之交叉反應蛋白抗原(Cross-reacting protein antigen, CRPA)來加以解釋。也就是說具有共通抗原(Common antigens)。不同屬(Genus)之腸內細菌間都有共同之蛋白抗原，何況同屬不同種

(Species)之大腸菌，自然更有其相近之蛋白抗原應可被吾人所接受。所以雖菌型互異，其具有交叉免疫抗原性可想而知，惟其究竟如何具有相關性及其程度多少，仍待吾人進一步的研究。

## 參 考 文 獻

- 1.張照夫、蘇金田、董明澄(1974)：本省仔豬下痢症之研究，I分離之大腸菌血清型及其藥劑感受性試驗，屏東農專畜牧獸醫學會會報11卷2期21-27。
- 2.張照夫(1982)：仔豬大腸桿菌症之病原菌血清型，台灣畜牧獸醫學會年報，40，1-5。
- 3.林進入、郭登志、貝仁興、許正成、蔡德斌(1976)：台灣南部地區引起豬大腸菌症菌型之調查，台灣省畜牧獸醫學會會報，28，15-22。
- 4.林進入、郭登志、貝仁興(1976)：豬大腸菌症菌苗的開發研究，台灣省畜牧獸醫學會會報，28，23-29。
- 5.嚴家清、翁仲男、王貞富、沈詠梅(1976)：大腸桿菌福馬林化活菌苗免疫效力之研究，台糖公司畜產研究所64-65年期研究報告，155-163。
- 6.嚴家清、張靖男、沈詠梅、王貞富、劉堂輝、羅麗華(1978)：仔豬病原性大腸菌內毒素與病原性的鑑定，動物醫學，2期：82。
- 7.陳清、謝快樂、吳義興、呂清泉、林再春(1979)：豬大腸桿菌症菌苗之研製，I，種菌株腸毒素之測定及免疫血清之力價測定試驗，中華民國獸醫學會雜誌，5，53-60。
- 8.陳清、呂清泉、林再春、謝快樂、黎南榮、詹益波、張天桂、林旭志、洪典戊、梁振賢、張文章(1984)：豬大腸桿菌線毛線腸毒素菌苗之免疫性與田間應用試驗。台灣省家畜衛生試驗所研究報告，19，35-45。
- 9.陳清、呂清泉、詹益波、林再春、周寬典、賴俊雄、吳金島、張天桂、李健郎、林旭志、陳光男(1985)：豬大腸桿菌症菌苗製造改進與田間應用試驗：台灣省畜牧獸醫學會會報，45期：43-54。
- 10.張靖男、沈詠梅、俞寶華(1985)：仔豬早發性大腸菌性下痢新型菌苗之研製，台糖公司畜產研究所73-74年期研究試驗報告，133-144頁。
- 11.張文發(1985)：仔豬死亡原因之調查及下痢仔豬大腸桿菌血清型之研究，台灣畜牧獸醫學會會報，46期：13-20。
- 12.陳清(1982)：台灣における哺乳豚の下痢症由來Escherichia coliに關する研究，日本北里大學博士學位論文。
- 13.柏崎守(1973)：豚の大腸菌症に關する研究，日本北海道大學博士論文。
- 14.山口博之、田口晴彦、石山業弘、金森政人、緒方幸雄(1986)：グラム陰性桿菌に分布する共通たんぱく抗原について，日本細菌學雜誌41(4)701-707。
- 15.Ahrens, Christina M. and Ann-Mari L. Svennerholm (1982)： Synergistic Protective Effect of Antibodies Against Escherichia coli Enterotoxin and Colonization Factor Antigens Infect, Immun, 38, 1, 74-79。
- 16.Deprez, P., C. Van Den Hende, E. Muylle and W. Oyaert(1986)：The importance of Intestinal Adhesion in the Pathogenesis of E. coli Enterotoxaemia in Pigs. Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1986 Cong. Spain. Chapter 2, P.127。
- 17.Dobrescu Lucia, Johan Descamps, and Albert Brown(1984)：Immunogenicity of Polyvalent E. coli Vaccine in Sows. Proc. Int Pig Vet. Soc. 1984 cong. Belgium 83。
- 18.Dreyfus, Lawrence A, Joseph C. Frantz and Donald C. Robertson(1983)：Chemical Properties of Heat-Stable Enterotoxins Produced by Enterotoxigenic

- Escherichia coli of Different Host Origins, Infect, Immu. 42,2,539-548.
19. Gilligan, Peter H., John C. Brown and Donald C. Robertson (1983) : Immunological Relationships Between Cholera Toxin and Escherichia coli Heat-Labile Enteroxin, Infect, Immun. 42, 2, 683-691.
  20. Jayappa, H., J.G. Strayer, and R.A. Goodnow (1984) : Efficacy of Escherichia coli Bacterin Containing K 88, K 99, 987 P and Type I antigens in Controlling Natural and Laboratory Induced Colibacillosis in Neonatal Pigs. Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1984. Cong. Belgium. 86.
  21. Mood, Harley W., Albert L. Baetz and Ralph A. Giannella (1983) : Immunization of Swine with Heat-Stable Escherichia coli Enterotoxin coupled to a Carrier Protein Does not Protect Suckling Pigs Against an Escherichia coli Strain that Produces Heat-Stable Enterotoxin, Infect. Immun., 39, 2, 990-992.
  22. Nagy, B., Hoon, H.W., Isaacson, R. E., To, C.C. & Brinton, C.C. (1973) : Immunization of suckling pigs against enteric enterotoxigenic Escherichia coli infection by vaccinating dams with purified pili. Infect Immun., 21, 269-274.
  23. Nagy, B., Ørskov, Ida. & Ratz, F. (1980) : Occurrence of the 987p antigen on enterotoxigenic E. coli of typical porcine serotypes. Proc. Int. pig Vet. Soc. 1980 Cong. Copenhagen, Denmark. 140.
  24. Nagy, L. K., K, Painter, T. Mackenzie and P.D. walker (1984) : Immunisation of Piglets Against Enteric Colibacillosis using (I) Cholera Toxoid, (II) Adhesins of E. coli (K 88 ab. ac, K99, 987P), Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1984. Cong. Belgium. 81.
  25. Olsson, E., C. J. Smyth, O. Söderlind, A.M. Svennerholm and R. Möllby (1986) : Development of Intestinal Antibodies Against Escherichia coli Antigens in Piglets with Experimental Neonatal E. coli Diarrhoea. Veterinary Microbiology, 12, 119-133.
  26. Paniagua, C., P. Rubio, M. Alvarez Y S. Suarez (1986) : Modulacion de la Expresion en Presencia de Anticuerpos de Cepas EPEC de Origen Porcino. Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1986 Con. España. Chapter 2, 133.
  27. Pesti, L., & Semjen, G. (1976) : Control of diseases caused by enteropathogenic Escherichia coli in Hungary. Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1976 Cong., Iowa, USA. J5.
  28. Porter, P., Kenworthy, R., Holme, D. W., & Horsfield, S., (1973) : Escherichia coli antigens as dietary additives for oral immunisation of pigs : Trials with pig creep feeds Vet. Rec., 92, 630-636.
  29. Söderlind, O., R. Mollby and B. Thafvelin (1986) : Virulence Factors in Escherichia coli Strains Isolated from Swedish Piglets with Enteric Disorders. Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1986 Con. Spain. Chapter 2, 131.
  30. To, S., D. B. Porter and B. S. Swites (1983) : Prevention of Colibacillosis in Neonatal Swine by Vaccination. Swine Practice Pitman-Moore, Inc.

- Washington Crossing, NJ 08560 P. 327-329 °
31. To, Sam C.M. ( 1984 ) : F41 Antigen Among Porcine Enterotoxigenic Escherichia coli Strains Lacking K88, K99 and 987p pili. Infection and Immunity. Vol. 43 , No. 2 , P. 549-554 °
  32. Truszczynski, M., and D. Ciosek ( 1986 ) : Production Method and Efficacy Evaluation of Live Oral Vaccine Against Enteric Colibacillosis in Piglets. Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1986 Con. Spain. Chapter 2 P. 151 °
  33. Wilson, M. R. & Svendsen, J. ( 1971 ) : Immunity of Escherichia coli in pigs : serologic response of sows given formalin-treated live Escherichia coli vaccine. Am. J. Vet., Res, 32. 891-898 °

**Evaluation on the Efficacy of Swine Escherichia coli Vaccine in Mice**

Ching CHEN, C. C. Lu, I. P. CHAN J.S. LAI, T. G. CHANG and S. T. LIN

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

The evaluation of protection efficacy of the various trial vaccines and reference vaccines for swine colibacillosis control was carried out on mice by intraperitoneal immunization test. The results indicated that the vaccines prepared with different serotypic strains had cross immunization with each other in spite of the differences of their somatic and/or surface antigen structures. The potency was up to 90-100%. If the bacterial suspension used for challenge was 10 times condensed, even in homologous strains, the survival rates were down to 80% or less. For bacterial cell free or surface antigen free vaccine, the protection efficacy in mice was usually lower.

Therefore, in the evaluation on protection efficacy of swine Escherichia coli vaccine, it is recognized to be with protection value either the survival rate was  $\geq 80\%$  in experimental group and mortality was  $\geq 80\%$  in control group or the protective index ( $LD_{50}$ ) was equal to or more than  $10^{0.5}$ .