

猪大腸桿菌症菌苗製造改進與田間應用試驗

陳清¹ 呂清泉¹ 詹益波¹ 林再春² 周寬典³ 賴俊雄¹
吳金島³ 張天桂¹ 李健郎³ 林旭志¹ 陳光男³

以具線毛及產生腸毒素之大腸桿菌菌株，分別培養所得之混合菌液，經福馬林不活化處理後，佐以氫氧化鋁膠或完全佐劑研製之菌苗，以小白鼠、懷孕母豬為材料，實施免疫試驗結果，鋁膠組菌苗被吸收較佳，無硬結腫脹之現象，但完全佐劑組菌苗則有硬結腫脹，試驗結束後尚留有膿瘍或肉芽增生等現象。

對於小白鼠之免疫效力，無論是鋁膠組或完全佐劑組菌苗免疫者，其耐過攻擊存活率均在 90 - 100% 之間，對於試驗室免疫母豬，抗忌熱性腸毒素及抗 K 88 線毛之抗體價均以完全佐劑組較高，但抗 K 99 及 987 P 線毛之抗體價，則以鋁膠組菌苗免疫者較佳。而哺乳仔豬之抗忌熱性腸毒素及線毛抗體與其母豬抗體情形略同。

在田間二個農場，以鋁膠組菌苗實施應用試驗之結果，懷孕母豬免疫後，其血清中抗線毛之抗體價較免疫前均早顯著上升，哺乳仔豬血清中之抗體價亦高。至於抗忌熱性腸毒素之抗體，母豬免疫前均未能測出，而免疫後其抗體價，無論是 A 農場或 B 農場均在 2 - 32 倍之間，其中以 4 倍者所佔比例最大，在 A 農場 22 頭採樣血清中，有 8 頭抗體價高達 ≥ 32 倍。仔豬之被動抗體則以 4 - 8 倍者所佔比例最多，在 A 農場仔豬抗忌熱性腸毒素抗體高達 ≥ 32 倍者亦有 6 頭 (13.6%) 之多。臨床之保護效果，免疫組母豬所生 710 頭仔豬中發生下痢者只有 76 頭 (10.7%)，對照組母豬所生 441 頭仔豬中有 163 頭 (37%)。其最後之轉歸，免疫組之斃死率只有 12 頭 (1.7%) 餘均恢復，而對照組則高達 112 頭 (25.4%)。得知以本菌苗免疫懷孕母豬，對於其哺乳仔豬之大腸桿菌症，可獲致相當好的預防保護效果。

仔豬早發性大腸菌症之防治，世界各國學者專家不斷的積極努力，對於致病機序，致病因子之探討，以及有效菌苗之開發等等均不遺餘力^(1, 2, 3, 4, 6, 7, 11, 13, 16, 18)。Jayppa 等⁽¹⁵⁾經實驗後認為引起定著因子 (Colonization factor) 除了 K88, K99 及 987 P 外，一型 (Type 1) 線毛，可能也扮演重要角色之一。因此在有效菌苗，開發研究方面也就有了新的構想。然而，迄至目前為止，其致病因子仍然以腸毒素 (Heat - Stable & Heat - Labile Enterotoxins) 及線毛 (K 88, K 99 及 987 p pili) 等二大類因子為主。而菌苗之開發研究及使用方式等仍以免疫懷孕母豬，經由初乳保護初生仔豬，為最經濟、有效與可行之方法^(8, 9, 12, 17, 22)。在本試驗中，主要在探討不同佐劑對於免疫效果產生情形，及其實用性如何，加以試製、試驗與評估，以期改進本菌苗之製造技術，俾利養豬業者，供為防治本病之用。

試驗材料與方法

試驗材料：

1. 供試菌株：依筆者 (陳) 等⁽⁸⁾之報告所用之菌株供用，為具有線毛及產生腸毒素菌株。
2. 培養者：依筆者等報告所用之培養基產製。
3. 菌苗製造用佐劑：以本研究室自製之氫氧化鋁膠 (Aluminum hydroxide gel) 每 cc 中含 33mg 及美製 freund's complete adjuvants (Difco) 為材料供試。
4. 供試抗原：免疫血清及初乳等抗體測定用 K 88, K 99 及 987 P 線毛抗原，與忌熱性腸毒素抗原，均依筆者 (陳)⁽⁹⁾所報告者相同方法製備供試。

5. 供試動物：小白鼠為 13—15 公克經 48 小時觀察後健康佳良者始供試。試驗室所用之懷孕母豬，係向省畜產試驗所苗栗種畜繁殖場購入之產前一個月初胎母豬。而田間應用試驗者均於雲林縣下，由有生農場及順發興農場所提供者供試。

試驗方法：

1. 菌苗之製造：

依筆者等⁽⁶⁾所報告之方法，將培養所得之菌液，經處理後，分別以鋁膠及 freund's 完全佐劑試製二種不同佐劑配製供試，鋁膠組菌苗含有 6—7 mg/ml 鋁膠菌苗，freund's 完全佐劑組菌苗則以不活化菌液與等量 freund's complete adjuvants 經乳化後製成。

2. 效力試驗：

對小白鼠之免疫試驗及對懷孕母豬之免疫方法，均與前報⁽⁶⁾方式同。

3. 免疫抗體之測定法：

免疫母豬血清，初乳及哺乳仔豬血清中抗 K 88, K 99 及 987 P 線毛抗體，均仍分別以平板凝集反應 (Slide Agglutination test) 測定之。而抗熱性腸毒素抗體則仍以免疫擴散試驗法 (Agar gel immunodiffusion test) 加以測定。

試驗結果

一試製不同佐劑菌苗對小白鼠之免疫效力：

將試製所得之二種不同佐劑菌苗，以小白鼠作免疫試驗，經 1、2、3 及 4 週等不同免疫期間後實施攻擊試驗之結果，二組菌苗之免疫效果均能達 90—100% 之效力，單純不活化菌液組 (不加佐劑) 之免疫效果不佳，而對照組則均無一生存，詳如表一所示。

表一 不同佐劑大腸桿菌苗對小白鼠之免疫試驗成績

Table 1: Results of the Immunization Test in Mice with *E. coli* Vaccine Prepared with Different Adjuvants.

菌苗類別 Kind of vaccine	免疫期間及攻擊後活存 (%) Immunized period & survival after challenged 週			
	1	2	3	4 weeks
鋁膠菌苗 Al-gel vaccine	9/10 (90)	10/10 (100)	9/10 (90)	9/10 (90)
完全佐劑菌苗 complete adjuvant vaccine	10/10 (100)	9/10 (90)	9/10 (90)	9/10 (90)
未加佐劑菌液 Bacterial cells suspension only	9/10 (90)	6/10 (60)	5/10 (50)	7/10 (70)
對照 Control	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)

Remark :

A mixed suspension of 18-20 hr. broth culture of strains 0149:K91+88⁺LT⁺ST⁺, 0147:K? ST⁺, 0114:K90.99⁺, 089:K? 987 P⁺ were used for challenge. Each mouse was IP inoculated with 0.1 ml of mixed suspension (about 8-9×10⁸ cfu/ml)。

二免疫母猪及其哺乳仔猪抗線毛抗體之測定成績：

試製之二組菌苗，各以二頭懷孕母猪為一組，於產前四週基礎免疫注射 5 ml，產前二週再補強注射 10 ml，免疫前，免疫後（產後）採血分離血清，及採取初乳，分別測定抗線毛抗體，所得結果，二組菌苗雖無顯著之差異，但在 K 88 抗體價，以完全佐劑組較高，K 99 及 987 P 則以鋁膠組較佳。而其所生之哺乳仔猪，於 4 日齡時採得之血清，其抗體價亦與其母猪相似，詳如表二及表三所示。

表二 大腸桿菌苗免疫懷孕母猪抗線毛抗體之檢出成績
Table 2: Detection on Anti-Pili Antibodies of Pregnant Sows Immunized with *E. coli* Vaccine.

菌苗類別 (Kind of vaccine)	Sow No.	抗線毛之抗體價 (Anti-pili antibody titer)								
		K88			K99			987p		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
鋁膠菌苗 (Al-gel vaccine)	1965	<1	8	8	32	256	512	64	1,024	≥1,024
	448	<1	16	32	16	256	512	16	512	≥1,024
完全佐劑菌苗 (complete adjuvant vaccine)	990	8	32	512	16	128	1,024	32	128	1,024
	406	<1	32	1,024	4	128	512	16	128	1,024

備註 : 1. 免疫前 (Before vaccination)。
(Remarks) 2. 免疫後 (After vaccination)。
3. 初乳 (Colostrum)。
凝集反應抗體價示血清 (包括初乳) 最高稀釋倍數呈現陽性反應之逆數值 (The titers of agglutination test represent the reciprocal of the highest serum (include colostrum) dilution showing positive response.)

表三 大腸桿菌苗免疫母猪所生哺乳仔猪被動性抗線毛抗體之檢出成績
Table 3: Detection on Passive Anti-Pili Antibodies of suckling Piglets Borne by Immunized Sows.

菌苗類別 (Kind of vaccine)	供試胎數 No. of litters tested	供試仔豬數 No. of piglets tested	抗線毛力價 (範圍) Anti-pili titer (range)			幾何平均值 Geometric mean		
			K88	K99	987P	K88	K99	987P
鋁膠菌苗 Al-gel vaccine	2	16	4-16	64-256	128-512	9.2	168.9	327.9
完全佐劑菌苗 Complete adjuvant vaccine	2	8	8-16	16-128	64-128	15.1	38.1	71.8

三免疫母豬及其哺乳仔豬抗忌熱性腸毒素抗體之測定成績：

在實驗室二組菌苗免疫母豬，於免疫前採血測定抗忌熱性腸毒素抗體之結果，均未能檢出有抗體之存在，但免疫後血清及分娩時所採得之初乳，經處理後測定之結果，二組菌苗免疫者其抗體價均呈顯著之上昇。哺乳仔豬於4日齡時所採取之血清，亦均能檢出被動免疫抗體。由表四成績得知，完全佐劑組之抗體價似較鋁膠組菌苗免疫者為高。其中406母豬於基礎免疫及補強注射均加倍劑量試驗之結果，其抗體價顯示更明顯之上昇，詳如表四所示成績。

表四 菌苗免疫母豬及其哺乳仔豬抗忌熱性腸毒素抗體之檢出成績
Table 4: Results of the Anti-Heat Labile Enterotoxin Antibody Detection from Vaccinated Pregnant Sows and Their Suckling Piglets.

菌苗類別 Kind of Vaccine	母豬號 Sow No.	母豬抗忌熱性腸毒素之抗體價 Anti-LT antibody titer of sow.			供試仔豬數 No. of piglets tested	仔豬抗體價 Anti-LT titer of Piglets	
		免疫前 Before vaccination	免疫後 After vaccination	初乳 colost-rum		範圍 Range	幾何平均 G.M.
鋁膠菌苗 Al-gel Vaccine	1965	<1×	2×	8×	7	2×	2×
	448	<1×	4×	16×	9	4-16×	6.9×
完全佐劑菌苗 Complete adjuvant vaccine	990	<1×	8×	32×	6	4×	4×
	406*	<1×	16×	64×	2	64×	64×

*示基礎免疫及補強注射均使用二倍劑量 (Inoculated with double doses at both basic & booster vaccination)。

四菌苗田間試驗，母子免疫及其抗線毛抗體之檢出成績：

以鋁膠組菌苗實施田間應用試驗之結果，在二個農場所有供試懷孕母豬，均無任何不良之接種反應，而免疫前採取血清樣本測定之結果，得知抗K88，K99及987P線毛抗體，均可測出低倍之抗體價，但免疫後三種線毛抗體價均呈顯著上升。仔豬於2—14日齡採血測定血中之抗體亦頗高，足證母子免疫被動性抗體之存在。詳細如表五所示之成績。

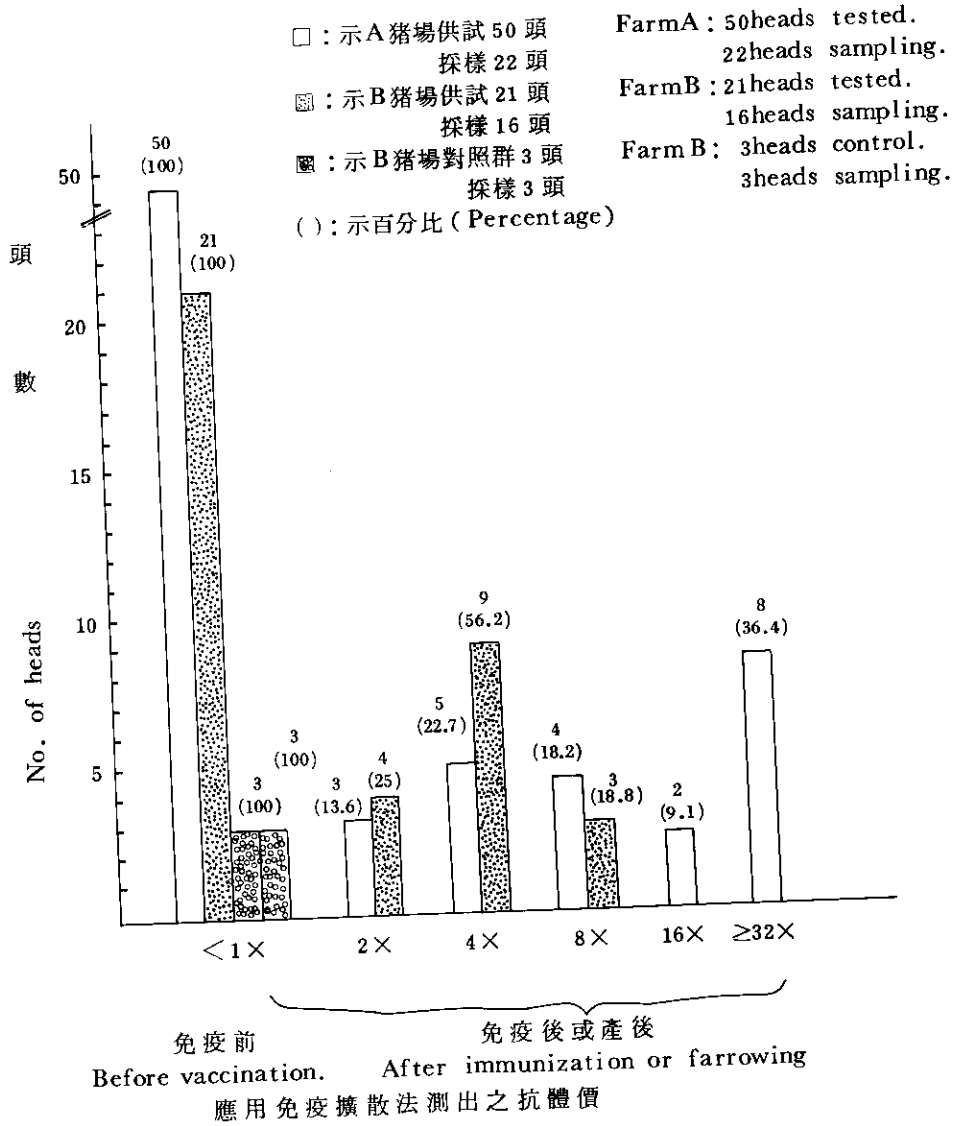
五菌苗田間應用母子免疫及其抗忌熱性腸毒素抗體之檢出成績：

懷孕母豬於菌苗免疫前及免疫後所採取之血清樣本，哺乳仔豬之血清檢體，除實施抗線毛抗體之測定外，並以瓊脂免疫擴散反應法測定抗忌熱性腸毒素之抗體價，所得結果，供試母豬免疫前之血清樣本，均未能檢出抗體。但免疫後其抗體價，均呈顯著之上昇，自2~≥32倍不等，而以4~8倍之分佈較多。其中A農場≥32倍者，在22頭血清樣本中有8頭(36.4%)。B農場則集中於2~8倍，尤以4倍者較多，在16頭血清樣本中有9頭(56.2%)。而對照三頭，不論免疫前或產後採取之血清檢體，其抗體價均為陰性。至於哺乳仔豬之抗體價，每胎採血二頭測定之結果，在A農場雖抗體價≥32倍有6頭(13.6%)，但二個農場供試母豬所生哺乳仔豬之被動抗體，均以4~8倍為最多，形成一常態之分佈，詳如圖一及二所示成績。

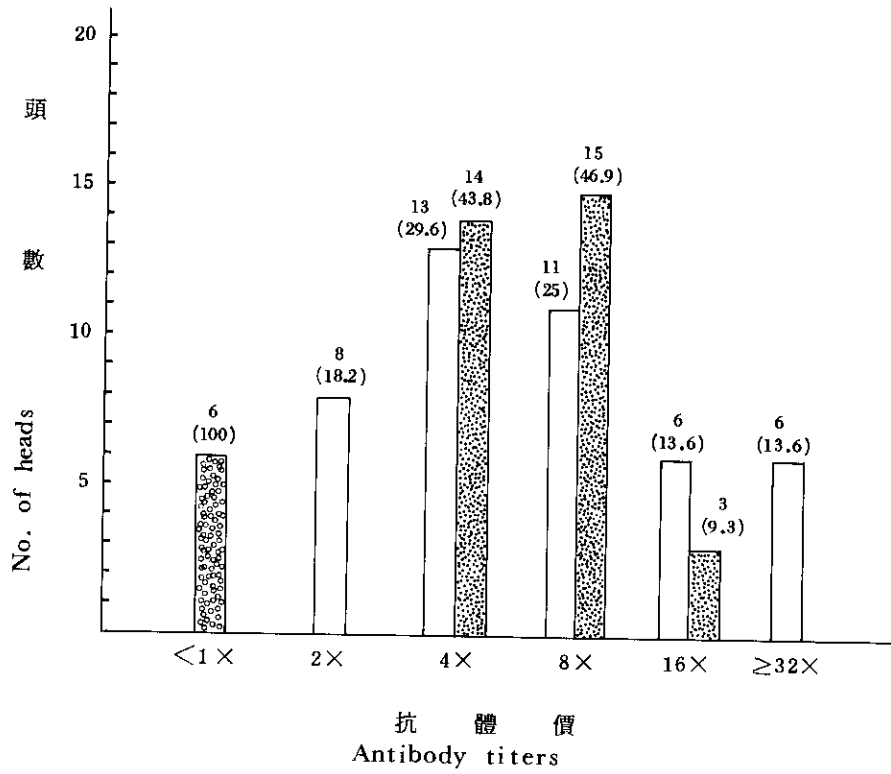
表五 田間懷孕母猪接種大腸桿菌苗其母子免疫抗線毛抗體之檢出成績
 Table 5 : Results of the Anti-Pili Antibodies Detection from Vaccinated Pregnant Sows and Their Suckling Piglets in Field Tests.

農場別 Farm	供試頭數 No. of tested	採樣頭數 No. of Sampling	母猪抗體價 (範圍) (Range) Antibody titers of Sows				母乳仔猪 採樣頭數 No. of Suckling Piglets Sampling	仔猪抗體價 (範圍) Antibody titers of Piglets		採樣仔猪 日 齡 Age on Sampling (day)		
			免 疫 前 Before Vaccination		免 疫 後 After Vaccination			K 88	K 99		K 88	K 99
			K 88	K 99	987P	987P						
A	50	16	<1	4	4	8	32	4	2	8	2~14	
			?	?	?	?	?	?	?	?		
			4	64	128	512	1,024	1,024	128	256		1,024
			G. M.	1.30	11.81	34.90	86.67	224.80	583.06	10.15		39.74
B	21	14	<1	2	4	4	4	64	4	4	2~10	
			?	?	?	?	?	?	?	?		
			4	16	64	64	64	1,024	64	128		512
			G. M.	1.10	3.28	18.56	15.23	23.78	156.03	17.23		23.19

G.M. : (幾何平均) Geometric means 。凝集反應抗體價示血清最高稀釋倍數呈現陽性反應之逆數值。
 (The titers of agglutination test represent the reciprocal of the highest serum dilution showing positive responses) 。



圖一 田間懷孕母豬接種大腸桿菌菌苗後抗熱性腸毒素抗體之檢出成績
 Fig. 1 : Results of Anti-Heat Labile Enterotoxin Antibody Detection from Vaccinated Pregnant Sows in the Field Tests.



- : A猪場 22 胎，每胎仔猪採樣 2 頭
共 44 頭供試 (2~14 日齡)
- ▨ : B猪場 16 胎，每胎 2 頭共 32 頭
(2~10 日齡)
- : B猪場對照 3 胎，每胎採樣 2 頭
(4 日齡)
- () : 百分比 (Percentage)

- Farm A : 22 litters tested.
44 piglets sampling
(2~14 day-old)
- Farm B : 16 litters tested.
32 piglets sampling
(2~10 day-old)
- Farm B : 3 litters for control.
6 piglets sampling
(4-day-old)

圖二 哺乳仔猪抗熱性腸毒素移行抗體之分佈

Fig. 2 : Distribution of the Passive Antibody in Anti-Heat Labile Enterotoxin Detected from Suckling Piglets.

六田間應用試驗，免疫懷孕母豬，藉初乳之被動性抗體，預防仔猪下痢之臨床保護效果：

由臨床應用二個農場共 71 頭母豬所生產之 710 頭仔猪中，於 10 日齡以內所發生之仔猪下痢病例，只有 76 頭佔 10.7%。而對照組 46 頭母豬中，生產 441 頭仔猪，於相同期間內有 163 頭發生下痢，佔 37%，而其最後轉歸死亡者，免疫組只有 12 頭，佔 1.7%，其餘均恢復健康。對照組死亡者高達 112 頭，佔 25.4%。由本試驗得知以本菌苗免疫懷孕母豬，使其產生之抗體經由初乳之媒介，對於其哺乳仔猪大腸菌症之預防，可獲致相當好之保護效果，詳如表六所示成績。

表六 母豬經大腸桿菌疫苗免疫後哺乳仔猪對大腸菌症之保護效果
Table 6: Protection Effect from Colibacillosis in the Piglets Borne by Vaccinated Sows.

場別 Farm	組別 group	供試 頭數 No. of tested	生產仔 豬頭數 No. of piglets farrowed	發病頭數(日齡) Diarrhea occurrence day old					轉歸 To change			
				1-3	4-6	7-9	小計 subtotal	%	恢復 Recover	%	死亡 Death	%
A	免疫群 Experiment	50	512	24	18	12	54	10.5	46	8.9	8	1.5
B	免疫群 Experiment	21	198	11	8	3	22	11.1	18	9.1	4	2
合計 (Total)		71	710	35	26	15	76	10.7	64	9.0	12	1.7
A	對照組 control	25	246	48	27	23	98	39.8	36	14.6	62	25.2
B	對照組 control	21	195	25	21	19	65	33.3	15	7.6	50	25.6
合計 (Total)		46	441	73	48	42	163	37.0	51	11.6	112	25.4

討 論

仔猪大腸桿菌性下痢症，為害養豬業由來已久，雖對病原致病性之探討，改善飼養環境，加強衛生管理，保溫設備及有效菌苗之開發研究等不遺餘力^(10,13,14,20)。惟迄至目前為止，大腸菌性下痢症，對種豬業為害者仍大。在致病性之研究方面，最近 Jayappa 等⁽¹⁵⁾認為 Type I 線毛在仔猪腸管中之定著，可能也是一個重要的因子。而彼等在菌苗之開發研究方面，證實純化一型線毛及全菌體菌苗對於預防仔猪早發性大腸菌症，具有相當的效果。Dobrescu 等⁽¹²⁾在多價菌苗之研究方面，主要之因子包括 K88ac、K88ab、LT⁺、K99、及 987 P 等等。嚴等⁽⁵⁾、Wilson 及 Svendsen⁽²²⁾等則以福馬林處理之活菌苗，以口服、乳房內接種及肌肉注射以免疫懷孕母豬，使哺乳仔猪獲得被動性免疫抗體，亦獲得相當的保護效果。而 Nagy 等⁽¹⁹⁾在其試製之菌苗中，除含有主要線毛抗原外，另加入 beta 梭狀穿破桿菌之類毒素。Moon 等⁽¹⁶⁾將大腸桿菌耐熱性腸毒素 (Heat - Stable *Escherichia coli* Enterotoxin) 以牛免疫球蛋白 G (Bovine immunoglobulin G) 結合後，免疫懷孕母豬，在其血清及初乳，以放射免疫試驗 (Radioimmunoassay)，測出很高的抗體價。雖然其中和抗體力價不高，對於新生仔猪之攻擊試驗，尚無法獲得保護作用，但由此事實，可證明耐熱性腸毒素仍具有抗原性，與適當佐劑結合後，作為抗原可使之產生相當的免疫抗體。由此可見在目前世界各國有關菌苗之開發研究，仍以腸毒素及線毛為研究之主題，與筆者(陳)⁽⁹⁾之創見觀念及研究方針頗為吻合。

在本試驗中，對於菌苗佐劑之選擇及製造技術之改進，雖然曾試行以 DEAE - dextran，

freund's complete adjuvants 及 Aluminum hydroxide gel 等佐劑，試驗之結果，以 DEAE-dextran 所製成之菌苗，對於接種之小白鼠可引起局部潰瘍，形成爛斑、結痂。至於以 freund's complete adjuvants 為佐劑所試製之菌苗，在實驗室所做之免疫試驗，雖可使菌苗延緩吸收，使其抗體價之產生情形較以 Aluminum hydroxide gel 為佳，但由於其成本較貴、取得不易，加上使用上不便，因係油性佐劑，注射不易及對局部會形成膿瘍及肉芽增生等不良反應。因此在本試驗之田間應用仍以 Alhydrogel 為佐劑所研製之菌苗供試，所得成績仍頗為滿意。且以本菌苗對小白鼠免疫試驗之結果，其所得之耐過活存率幾為相同。得知以本菌苗免疫懷孕母猪，使其產生之抗體，經由初乳之媒介，以預防其哺乳仔猪早發性大腸菌症，可獲得相當好之保護效果。

誌 謝

本研究計劃 承蒙行政院農業委員會 73-農建-4.1-產 112(3)經費之補助，本所邱仕炎所長之指導與提供寶貴之參考資料，雲林縣家畜疾病防治所李典光技正、蔡貴雄股長及劉彩來先生等之諸多協助，又試驗進行中承育生農場及順發興農場提供試驗材料與給予之協助，於此謹併誌萬分之謝忱。

主 要 參 考 文 獻

- 1.張照夫、蘇金田、董明澄(1974)：本省仔猪下痢症之研究，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)：仔猪大腸桿菌症之病原菌血清型，台灣畜牧獸醫學會會報，40,1-5。
- 3.林進入、郭登志、貝仁興、許正成、蔡德斌(1976)：台灣南部地區引起猪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)：猪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)：仔猪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)：猪大腸桿菌症菌苗之研製，1 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、洪典戎、梁振賢、張文章(1984)：猪大腸桿菌線毛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(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。
- 10.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學位論文。
- 11.Ahre'n, 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。
- 12.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。
- 13.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°
14. Gilligan, Peter H., John C. Brown and Donald C. Robertson (1983) : Immunological Relationships Between Cholera Toxin and *Escherichia coli* Heat-Labile Enterotoxin, Infect, Immun. 42, 2, 683-691 °
 15. 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.
 16. Moon, 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 °
 17. Nagy, B., Moon, 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.
 18. Nagy, B., Ørskov, Ida, & Ratz, F. (1980) : Occurrence of the 987 p antigen on enterotoxigenic *E. coli* of typical porcine serotypes. Proc. Int. pig Vet. Soc. 1980 Cong. Copenhagen, Denmark. 140.
 19. 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* (K88 ab. ac, K 99, 987 P), Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1984. Cong. Belgium. 81 °
 20. Pesti, L., & Semjen, G. (1976) : Control of diseases caused by enteropathogenic *Escherichia coli* in Hungary. Proc. Int. Pig Vet. Soc. 1976 Cong., Iowa, USA. J 5 °
 21. 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 °
 22. 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 °

IMPROVEMENT OF VACCINE PRODUCTION AND FIELD APPLICATION FOR SWINE COLIBACILLOSIS CONTROL

Ching Chen¹, C. C. Lu¹, I. P. Chan¹, T. C. Lin², K. T. Chou³,
J. S. Lai¹, K. T. Wu², T. G. Chang¹, C. L. Li³, S. T. Lin¹, and K. N. Chen³

Mice and sows were taken as the subjects in this experiment. The strains with pili and enterotoxins producible of the *Escherichia coli* were cultivated respectively. Then, the cultured cell suspensions were mixed and treated with formalin for inactivation. The vaccine was produced with aluminum hydroxide gel or Freund complete adjuvant. The results obtained in the immunizing experiment indicated that the vaccine of aluminum hydroxide gel group had been absorbed better, and no induration or tumefaction phenomenon had been observed. On the other hand, the complete adjuvant vaccine group had side effects. There was still abscess or granulation tissue remaining in the vaccinated region till the test was completed.

As to the capability of immunization in mice with the vaccine, both Al-gel group and the complete adjuvant group were resistant to the challenge. Their survival rate was between 90-100%. For the sows immunized in the laboratory, the titers of the anti-labile enterotoxin and anti-k88 pili antibodies were higher in the complete adjuvant vaccine group. But the titer of anti-k99 and 987p pili were higher in the Al-gel Vaccine group. The suckling piglets had a similar condition to that of their mothers.

The results obtained in the field application tests with aluminum hydroxide gel vaccine group indicated that the anti-pili titer in sera of the pregnant sows significantly increased after immunization. The titer in sera of their suckling piglets was also high. The antibody of heat labile enterotoxins in sows was undetectable before vaccination. But the antibody titer after immunization on farm A or B indicated an increase in amount between 2-32 times, while the mode was 4 times. Among 22 sows on farm A, 8 had the titer in the serum specimen up to ≥ 32 times. Passive antibody of piglets on farm A had antibody of heat labile enterotoxins up to ≥ 32 times (13.6%).

In terms of the clinical protective effect, among the 710 piglets of immunization group, diarrhea of 76 piglets (10.7%) was observed, while that of 163 piglets (37%) among the control group of 441 piglets was recorded. As regards the final mortality, there were 12 piglets dead (1.7%) in the experimental group. In the control group, 112 piglets died (25.4%). This proves that an excellent protective effect can be obtained, which keeps piglets from colibacillosis if this vaccine is used to immunize the pregnant sows.

-
1. Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.
 2. Council of Agriculture, Executive Yuan.
 3. Yunlin Hsien Livestock Disease Control Center.