

# 臺灣猪麥可菌病之研究

## I. 麥可菌種之分離同定及補體結合抗原之研製

蘇杰夫 林地發 林榮福 邱朝齊

(臺灣省家畜衛生試驗所)

林再春 (農復會) 劉正義 (屏東農專)

林茂勇 (檢驗局動植物檢疫中心)

### 摘 要

由罹患慢性呼吸器病之小豬及具有肺炎病灶之屠宰肉豬蒐集肺臟標本，以分離麥可菌，前者之分離率為60% (6/10)；後者為 8.6% (3/35)。

分離株與標準抗血清實施生長阻止及代謝阻止試驗，同定為 *M. hyopneumoniae* 者 2 株 (係分離自小豬)，其餘 7 株皆為 *M. hyorhinis* (係分離自小豬及屠豬)。分離株接種於 SPF 小豬，以明其病原性；經 *M. hyopneumoniae* 接種者，7 週後呈現明顯之麥可菌性肺炎病變，而 *M. hyorhinis* 則否。此項成績引證了 *M. hyopneumoniae* 是麥可菌性肺炎的主要病原。

*M. hyopneumoniae* 於接種後 4 週可測得補體結合抗體，而 7 週後其抗體力價達 40 倍；*M. hyorhinis* 則於 5 週後始測出補體結合抗體，7 週後抗體力價達 20 倍。製成之補體結合抗原與各免疫血清間的交叉試驗、僅同種 (Homologous) 間可反應，而異種 (Heterologous) 間則否，表示其血清反應的特異性。

### 緒 言

由豬體分離到的麥可菌種<sup>1,10,13-14,17,35,38,41-42,44,49</sup> (*Mycoplasmas*)，迄今為止至少有 5 種以上；但對豬隻有病原性的，目前已被證實的，僅引起猪麥可菌性肺炎 (*Mycoplasma pneumoniae*) 之 *M. hyopneumoniae*<sup>13,16,24-25,33,44</sup>，麥可菌性多發性漿膜炎關節炎 (*Mycoplasma polyserositis-arthritis*) 之 *M. hyorhinis*<sup>2,10-11,40-42,44</sup>，及麥可菌性關節炎 (*Mycoplasma arthritis*) 之 *M. hyosynoviae*<sup>41-42,44</sup> 等 3 種。其中尤以麥可菌性肺炎最受重視，因本病使養豬業在經濟上遭受重大損失<sup>28</sup>，因此許多學者皆致力於菌苗<sup>10-21,23,32,54</sup> 及血清學之研究<sup>3-5,9,15,18,22,26-27,30-31,33,37,39,50</sup>，並用以淘汰患畜淨化豬場。此外，由於本菌培養上困難，亦有甚多學者致力於研究培養本菌的方法<sup>1,12,51-53</sup>。

在臺灣早有麥可菌性肺炎之報告<sup>30</sup>，但多未行本病的病原分離及同定。民國63年陳等<sup>7</sup>從屠宰肉豬肺炎病材中分離出本菌，但未曾鑑定菌型及究明其對豬隻之病原性。民國64年張等<sup>6</sup>曾將屠宰肉豬肺炎病材製成乳劑接種於 SPF 小豬，以引發肺炎，但仍難以確定是否係由麥可菌引起的肺炎。麥

可菌的病原性在菌種 (Species) 之間有其差異，分離本菌必須進一步同定菌種才具意義。但是僅藉形態學、生化學性狀仍不易以予鑑定菌種；生長阻止<sup>8)</sup> (Growth inhibition; 簡稱 GI)，代謝阻止<sup>48)</sup> (Metabolic inhibition; 簡稱 MI)，及其他血清反應對於本菌之菌種同定較具確實性。臺灣豬隻普遍罹患麥可菌病，尤其是麥可菌性肺炎更是造成養豬業界嚴重之威脅。究竟在臺灣引起麥可菌性肺炎之菌種，以及其他麥可菌病之病原為何？有進一步究明之必要。此外，研製血清學反應之抗原，以摘出感染種豬根除本病，亦是重要之研究課題。

## 材料及方法

### 1. 供試病材及培養基：

由屏東縣轄患有慢性呼吸器病及發育不良之小豬10例，行安樂死術，剖檢並採取肺材；及從桃園民聯公司蒐集屠宰肉豬具有肺炎病變之肺材35例，這些病材僅於肺之尖，心葉末端呈肝樣之病變。病材皆以冷藏輸送箱保存攜返省家畜衛生試驗所，供病原分離。所用之培養基依 Goodwin<sup>24-25)</sup>、Switzer<sup>44)</sup>、Friis<sup>12)</sup>等氏報告之處方配製而成，而其組成大抵是於 Hank's 液中加入豬血清、Lactalbumin、牛心浸出液、新鮮酵母抽出液及抗生素等成分。

### 2. 供對照之標準菌株及抗血清：

*M. hyopneumoniae* (簡寫為 *M. hyop.*) 及 *M. hyorhinis* (簡寫為 *M. hyor.*) 係由美國菌種收集中心 (The American Type Culture Collection; ATCC) 引進。抗血清則向加拿大 Dr. L'Ecuyer 索贈，以供同定分離株，計有：Anti-*M. hyop.*、Anti-*M. hyor.* 及 Anti-*M. hyosynoviae* 等3種家兔免疫血清。

### 3. 麥可菌之分離培養及純化：

將病材約 1g 加入適量的海沙於乳鉢中磨碎，再加入 10ml 的培養液製成乳劑；經 2,500rpm，10分鐘之遠心，取上清液並通過 0.45 $\mu$  之 Gelman 牌濾過膜，濾過除菌；將此除菌濾過液 0.2ml 接種於含有 1.8ml 培養液之螺旋蓋試管中，置於 37°C 定溫箱培養。以後每隔 3~5 天繼代一次，直至第 3 代，再將其移植於固體培地，並置於含有 5—10%CO<sub>2</sub> 之厭氧缸中培養 3~7 天。觀察菌落的形成，並將單獨之典型菌落用血管刀片連同培地取下，重新移植於液體培養基中，即得純化之菌株。

### 4. 麥可菌之同定：

(i) 仿 Cycle 法<sup>8)</sup> 進行 GI 試驗。即以直徑 6.5mm 的濾紙吸取未經稀釋之標準抗血清 0.025ml，放置於冰箱一夜，使之乾燥；再移置於已接種過，待同定之分離株的固體培地上，培養 4~7 天，並觀察生長阻止圈的形成。若為同種則形成阻止圈，而異種則否。(ii) 依 Taylor-Robinson<sup>48)</sup> 法實施 MI 試驗。即將標準抗血清以二倍稀釋法，自 10 倍開始稀釋至 10,240 倍，然後將此稀釋的血清以 1.8ml 分注各試管中；加入待檢之菌液 0.2ml，置於 4°C 使之感作一夜，再取出培養於 37°C 定溫箱中，每日觀察 PH 值之變化。若為同種則 PH 值不改變，異種則 PH 值變化顯着。

### 5. SPF 豬感染試驗：

選取分離到的 *M. hyop.* 及 *M. hyor.* 各 1 株，經液體培養基培養 4 天之後，將培養菌液收集分裝於試管中，每支各為 5 ml，並置於 -20°C 凍結保存，於使用時分批取出，各取 5 ml (其菌量為 10<sup>6</sup>/ml) 鼻腔接種於無麥可菌種抗體 6 週齡 SPF 小豬各 1 頭，每天一次連續接種 3 天，對照豬僅接種培養液，各接種豬隻並單獨飼養。7 週後剖檢，取肺材再行病原之分離及組織病理學之檢驗。試驗期間並詳細觀察及記錄實驗豬之臨床變化。

### 6. 高度免疫血清之製備：

將菌種大量培養後，以 30,000G 超高速遠心洗滌，把菌液濃縮為原量之 1/100 即成免疫抗原液。仿 Kenny<sup>29)</sup> 之免疫法，將此抗原液與等量之加强的 Freund 氏佐藥 ( Freund's complete

adjuvant) 混合後，以 2 ml 皮下接種家兔；3 週後，再分別以單獨之抗原液 0.1 至 0.5ml 逐步增加其注射量，每隔 3 天靜脈注射一次；經 1 週後，再注射 1 ml，3 天後開始採血測定抗體價，直至已達所需力價時放血，分離血清備用。

#### 7. 補體結合抗原之製備及補體結合試驗：

依 Slavik & Switzei<sup>43)</sup> 及 Takatori<sup>46)</sup> 所述方法製備與處理。即菌液經濃縮成 1/100 倍之後，以凍結及解凍方法反覆 10 次，使菌體破裂，再經 100°C 熱處理 10 分鐘，遠心取上清液即為補體結合抗原，補體結合試驗係仿 Laboratory Branch Complement Fixation Method (LBCF 法)<sup>49)</sup> 進行。受檢血清 0.025ml，加上適當力價抗原（即 4 單位）0.025ml 及 50% 單位補體 0.050ml 充分混合，置於 4°C 感作一夜後，再加入 2.8% 感作綿羊血球液，0.025ml 置於 37°C 定溫水槽中感作 30 分鐘之後判定。

### 試驗成績

#### 1. 猪麥可菌種之分離培養：

本菌之分離，經 3 次之液體繼代培養後，可在固體培地上形成荷包蛋樣而具有中央突起及無突起之菌落兩種（圖 1、2）。分離株經 GI 及 MI 試驗，鑑定為 *M. hyor.* 7 株，其中 4 株得自患病小豬，3 株得自於屠猪肺炎病材；*M. hyop.* 2 株均得自患病小豬之肺材（見表 1）。

表 1、從剖檢小豬及屠猪肺材分離及同定之麥可菌種  
Table 1. Isolation and Identification of Mycoplasmas from the Lungs of Necropsied and Slaughtered Pigs

試 材 Samples from	受 檢 頭 數 No. of cases	分 離 及 同 定 之 麥 可 菌 Isolation and identification of swine mycoplasmas	
		<i>M. hyor</i>	<i>M. hyop</i>
罹病剖檢小豬 Necropsied piglets*	10	4	2
屠 宰 肉 猪 Slaughtered pigs**	35	3	0
Total	45	7	2

註：\* 係自然感染慢性呼吸器病小豬  
\*\* 係具有肺炎病變之屠宰猪

Remarks: \* Young pigs naturally infected with chronic respiratory disease.  
\*\* Market pigs with pneumonia lesion.

#### 2. 分離株對 SPF 小豬之感染試驗：

經由分離株人工感染猪之臨床症狀及病理變化分述如下：(1) 經以 *M. hyop.* 接種之 #16 猪於接種 18 天後，出現咳嗽及被毛粗剛現象，但食慾仍正常；於 7 週後剖檢，在肺之尖、心葉末端可見明顯的肺炎病變（圖 3、4）。肺門淋巴節也有腫大現象，病灶區鏡下變化以支氣管及血管周圍淋巴細胞浸潤和類淋巴組織增生，肺泡間隔細胞增殖及脫落為特徵（圖 5、6）。(2) 經 *M. hyor.* 接種之 #17 猪及對照組 #18 猪却未見臨床症狀及病理變化。又病原體僅由人工感染組之 #16，#17 猪中收復，而對照組之 #18 猪則仍呈陰性。

#### 3. 補體結合抗原力價測定及交叉試驗：

( 4 )

以美國 ATCC 贈與之標準菌株及本試驗所分離之臺灣分離株製備補體結合抗原。製成之抗原經 100°C，10分鐘之熱處理以除去非特異性抗補體因子，再與各種血清行抗原力價測定。所測得結果，M. hyor. 的補體結合抗原力價似較 M. hyop. 的稍高（見表 2）。又製成之 CF 抗原與免疫血清進行交叉試驗，僅 Homologous 間可反應，而 Heterologous 則否（見表 3）。

表 2、猪麥可菌之補體結合抗原力價測定

Table 2. Complement-Fixation Antigen Titration of Swine Mycoplasmas

抗 原 來 源 Antigen prepared from	補 體 結 合 抗 原 力 價 Antiserum against (CF antigen titer)	
	M. hyop-A	M. hyor-A
標 準 菌 株 Standard strain	M. hyop-A*	32
	M. hyor-A*	NT
分 離 菌 株 Isolated strain	M. hyop-T**	64
	M. hyor-T**	NT

註：\* 係由美國 ATCC 引進之標準菌株  
 \*\*係臺灣分離株  
 NT：未經試驗  
 Remarks：\* Standard strain from ATCC  
 \*\*Taiwan isolated strain  
 NT：Not test

表 3、猪麥可菌補體結合抗原與家兔免疫血清之交叉反應

Table 3. Complement-Fixation Antigens Cross Reacted with Rabbit Sera Hyperimmunized by Swine Mycoplasmas

抗 原 Antigen	交 叉 反 應 補 體 結 合 抗 體 力 價 CF antibody titer in cross reaction Antiserum against			
	M. hyop-A	M. hyor-A	M. hyop-T	M. hyor-T
M. hyop-A	80	< 5	80	< 5
M. hyor-A	< 5	160	< 5	80
M. hyop-T	80	< 5	80	< 5
M. hyor-T	< 5	160	< 5	80

4. 人工感染試驗猪補體結合抗體之測定：

SPF 猪經接種分離株後，逐週採血測定補體結合抗體力價。接種 M. hyop. 之#16猪於第 4 週始測出抗體；隨之，抗體逐漸上升，到第 7 週試殺時其補體結合抗體力價達 40 倍。#17猪則於接種 M. hyor. 後第 5 週始測出抗體，到第 7 週試殺時，其補體結合抗體力價僅達 20 倍（見表 4）。#18 對照猪皆未現出任何麥可菌種之結合抗體。

表 4、人工感染試驗豬麥可菌補體結合抗體之測定  
Table 4. Development of CF Antibody Titer in the SPF Piglets Experimentally  
Inoculated with Isolated Swine Mycoplasmas

豬 號 Pigs No.	接 種 菌 株 Inoculated organisms	接種後每週測定之補體結合抗體力價 CF antibody titer (Weeks after inoculation)													
		M. hyop							M. hyor						
		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
# 16	M. hyopneumoniae	—	—	—	10	20	20	40	—	—	—	—	—	—	—
# 17	M. hyorhinis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	10	20
# 18	Culture medium	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

## 討 論

筆者等由罹患慢性呼吸器病之小豬及具有肺炎病灶之屠宰肉豬，蒐集肺臟標本，進行麥可菌之分離，得知前者之分離率較後者為高，此與 Whittlestone<sup>52)</sup>之調查試驗相近。豬隻麥可菌很難靠其生化性狀及形態予以同定菌種；雖然許多研究者認為在固體培地上之菌落，若無中心突起（Central elevation）者即可斷為 *M. hyopneumoniae*；但近年來 Friis<sup>14)</sup>由豬肺炎病材中分離出 *M. flocculare*，亦無中央突起之菌落，故在形態上很難與 *M. hyopneumoniae* 區別；後來他引用 GI 及 MI 等方法始將此兩種不同的菌株區別之。筆者將分離株與加拿大 Dr. L'Ecuyer 贈送之標準抗血清進行 GI 及 MI 試驗以同定菌種，結果以 *M. hyorhinis* 較 *M. hyopneumoniae* 之分離率為高；此與陳等<sup>7)</sup>以性狀及形態之同定法，所得結果頗有差異。Furlong & Turner<sup>16)</sup>在澳大利亞所做豬麥可菌試驗，從 5 例試材中分離出 *M. hyorhinis* 4 例，僅有 1 例為 *M. hyopneumoniae*；其分離率與菌之分本次試驗之結果相近。又一般研究者<sup>2,11,36,39,44)</sup>認為 *M. hyorhinis* 通常潛伏在肺炎豬之肺中，故在分離時，往往影響 *M. hyopneumoniae* 之分離率；故筆者等認為 *M. hyorhinis* 之分離率高於 *M. hyopneumoniae* 是可能的。

筆者等曾進行 GI、MI 及 CF 等三項血清反應之比較試驗，皆能得一致的結果；在異種間皆不能構成反應，顯示出血清反應在本菌同定上是相當可靠的。

將分離株行家兔免疫試驗，60 天所得之免疫血清其抗體力價不高，筆者等認為此與麥可菌種之具有無細胞壁（Cell wall）的特性有關。Friis<sup>12)</sup>因而在行家兔免疫時，增加注射量及次數，並把免疫期間延長至 90 天以上，以期獲得高力價血清。

在動物人工感染方面，*M. hyopneumoniae* 可獲典型之肺炎病變，又可由其病灶區再分離出本菌；此引證了 Switzer<sup>44)</sup>，Goodwin<sup>24)</sup>等所述本菌為造成麥可菌性肺炎之主因；至於 *M. hyorhinis* 接種豬，雖未引起臨床症狀及病理變化，但仍可由接種豬之肺材中再分離出本菌。Switzer<sup>44)</sup>以腹腔接種 *M. hyorhinis* 於 3~6 週齡小豬可引起多發性漿膜炎；而 Bathal 等<sup>2)</sup>，Roberts 等<sup>40)</sup>及 Danson 等<sup>10)</sup>對豬人工感染試驗，曾達 6 個月之久始見臨床症狀；故對本菌之感染試驗，似應考慮到試驗動物之年齡，菌株毒力之強弱，感染經路以及本菌對組織之親和性等問題。本次試驗豬隻嫌少，俟來日再行追試，確立分離株之病原性。

又 Slavik 等<sup>43)</sup>之試驗，人工接種豬快者可於第 2 週測得補體結合抗體，最遲則需 7 週；Tak-

( 6 )

atori<sup>47)</sup> 等之試驗也於第2週即可測出 *M. hyopneumoniae* 之補體結合抗體，但也有延至4週以上者；本次試驗於第4週出現抗體，乃介於彼等所述範圍之間，至於抗體之消長，尚待來日加以追試。

我國養豬事業冠於東南亞，而麥可菌引起之疾病，又以慢性不顯性感染者居多，致使感染豬對飼料利用率及成長率降低，造成經濟上損失頗鉅。又豬隻感染麥可菌病乃以哺乳期經母畜感染者為多，Switzer & Preston<sup>45)</sup> 曾以補體結合法摘出陽性種畜，加以淘汰，對本病之控制可獲理想成果，筆者等以為菌苗尚未開發前，應該應用特異性甚高之血清學方法摘出感染種畜，進而根除本病，以保障養豬業者之經濟利益。又筆者擬進以應用此試製成之 CF 抗原，繼續進行我國豬隻本病之補體結合抗體調查，以究明臺灣豬隻對麥可菌感染情形，結果尚待來日報導。

### 誌 謝

本試驗承蒙農復會之經費補助，省家畜衛生試驗所陳所長守仕殷切指導與鼓勵，Dr. L'Ecuyer 提供標準免疫血清，Dr. Whittlestone, Dr. Switzer 及 Dr. Frris 等熱誠提供寶貴的研究資料；又屏東縣家畜疾病防治所，桃園民聯公司同仁之協助採樣，使本試驗得以順利完成，謹申謝忱。

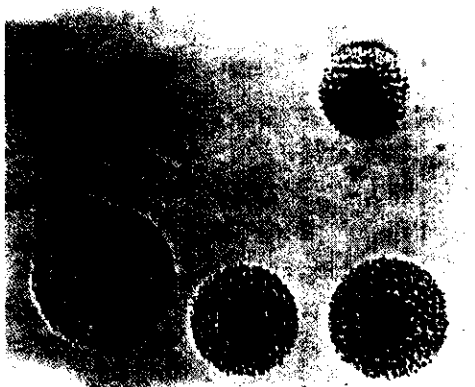


Fig 1



Fig 2



Fig 3

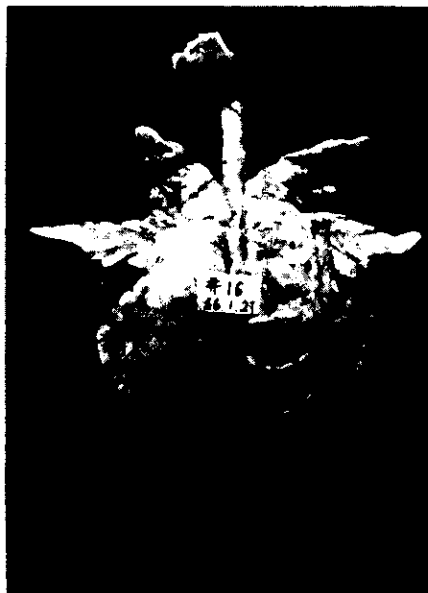


Fig 4

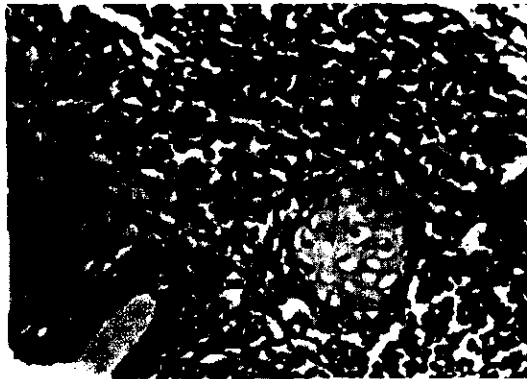


Fig 5



Fig 6

說明： 圖1：臺灣分離之猪 *M. hyorhinis* 菌落培養4天后，菌落呈荷包蛋樣之中心乳突，70倍。

Fig. 1: Colonies of Taiwan isolated *M. hyorhinis* 4 days after incubation. The colonies appear central nipple resampling fried-egg in type. 70x

圖2：臺灣分離之猪 *M. hyopneumoniae* 菌落培養6天后，菌落呈顯顆粒狀、無中心乳突，70倍。

Fig. 2: Colonies of Taiwan isolated *M. hyopneumoniae* 6 days after incubation. It appear granular in type without a central nipple. 70x

圖3、4：分離株 *M. hyopneumoniae* 接種於 SPF 小豬後49天，在肺之尖，心葉頂端呈典型之麥可菌性肺炎病變。

Fig. 3 & Fig. 4: Pneumonic lesions involving apical and cardiac lobes of lungs in SPF piglet, 49 days after inoculated with Taiwan isolated *M. hyopneumoniae*.

圖5：圖3、4之肺炎病灶區之組織相，鏡下可見支氣管粘膜及其周圍軟組織明顯之淋巴組織浸潤和增生現象，125倍。

Fig. 5: Histologic preparation of pneumonic lesion shown in Fig. 3 & 4. Marked lymphocytic infiltration and lymphoid hyperplasia in bronchial mucosa and in peribronchial tissue. 125x

圖6：圖3、4肺炎病灶區之組織相、血管周圍類淋巴細胞浸潤及增生現象，125倍。

Fig. 6: Histologic preparation of pneumonic lesion shown in Fig. 3 & 4. Note that lymphocytic-type cells completely surrounded blood vessel 125x

文獻參考

1. Barile, M. F. (1974) : General principles of isolation and detection of mycoplasmas. *Inserm.* 33 : 135-142.
2. Barthel, C. H., Duncan, J. R. & Ross, R. F. (1972) : Histologic and histochemical characterization of synovial membrane from normal and *M. hyorhinis* infected swine. *Am. J. Vet. Res.* 33 : 2501-2510.
3. Boulanger, P. (1970) : Complement-fixation test for the diagnosis of porcine enzootic pneumonia. *Vet. Rec.* 86 : 448-456.
4. Boulanger, P. & L'Ecuyer, C. (1968) : Enzootic pneumonia of pigs : Complement-fixation tests for the detection of mycoplasma antibodies in the serum of immunized rabbits and infected swine. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sic.* 32 : 547-554.
5. Bruggman, S. T., Kellar, H., Berschinger, M. U. & Engberg, B. (1976) : A new method for the demonstration of antibodies against *M. suis* pneumoniae in pig sera. *Vet. Rec.* 99 : 101.
6. Chang, Y. F., Lee, C. H., Lin, D. F., Lee, C. & Lin, T. C. (1975) : The Experimental infection of swine enzootic pneumonia in Taiwan. *Taiwan Prov. Res. Inst. Ann. Hlth Exp. Rep.* 12 : 69-72.
7. Chen, C., Chen, C. S., Lin, D. F., Chang, Y. F., Lin, Y. P., Lee, C., Lee, Y. L., Fu, H. M., Lee, C. C., Chiu, T. C., Chen, S. S. & Lin, T. C. (1975) : Studies on swine enzootic pneumonia in Taiwan. *Taiwan J. Vet. Med. Ann. Husb.* : 16-30.
8. Clyde, W. A. (1964) : Mycoplasma species identification based upon growth inhibition by specific antisera. *J. Immun.* 92 : 958-965.
9. Dinter, Z., Danielsson, D. & Bakos, K. (1965) : Differentiation of porcine mycoplasma strains. *J. Gen. Microbiol.* 41 : 77-84.
10. Duncan, J. R. & Ross, R. F. (1973) : Experimentally induced *M. hyorhinis* arthritis of swine : Pathologic response to 26th postinoculation week. *Am. J. Vet. Res.* : 363-366.
11. Friis, N. F. (1971) : *M. hyorhinis* as a causative agent in pneumonia of pigs. *Acta. Vet. Scand.* 12 : 116-119.
12. Friis, N. F. (1971) : A selection medium for *M. suis* pneumoniae. *Acta. Vet. Scand.* 12 : 454-456.
13. Friis, N. F. (1972) : Isolation and characterization of a new porcine mycoplasma. *Acta. Vet. Scand.* 13 : 284-286.
14. Friis, N. F. (1973) : The pathogenicity of *M. flocculare*. *Acta. Vet. Scand.* 14 : 344-346.



15. Fujikura, T., Namioka, S. & Shibata, S. (1970) : Tube agglutination test of *M. hyopneumoniae* infection in swine.  
Nat. Inst. Ann. Hlth. Qtr. 10 : 42-43.
16. Furlong, S. L. & Turner, A. J. (1975) : The isolation of *M. hyopneumoniae* and its association with pneumonics in pigs.  
Aust. Vet. J. 51 : 28-31.
17. Furlong, S. L. & Turner, A. J. (1975) : The isolation of *M. hyosynoviae* and exposure of pigs to experimental infection.  
Aust. Vet. J. 51 : 291-293.
18. Gois, M. & Kuska, G. (1975) : Diagnoses and differentiation of porcine mycoplasmas by the growth-precipitation test.  
Zbl. Vet. Med. 22 : 850-855.
19. Goodwin, R. F. G. (1969) : Some experiments relating to artificial immunity in enzootic pneumonia of pigs.  
J. Hyg. 67 : 465-472.
20. Goodwin, R. F. W. (1973) : Enzootic pneumonia of pigs : Immunization attempts inoculating *M. suis* pneumoniae antigen by various routes and with different adjuvants.  
Brit. Vet. J. 129 : 456-466.
21. Goodwin, R. F. W. (1973) : Field trials with a formalized vaccine against enzootic pneumonia of pigs.  
Brit. Vet. J. 129 : 465-469.
22. Goodwin, R. F. W. & Hodgson, R. G. (1970) : The passive haemagglutination test for the detection of *M. suis* pneumoniae and passive diagnosis of enzootic pneumonia of pigs.  
J. Hyg. 68 : 327-336.
23. Goodwin, R. F. W., Hodgson, R. C., Whittlestone, P. & Woodhams, R. L. (1969) : Immunity in experimentally induced enzootic pneumonia of pigs.  
J. Hyg. 67 : 193-208.
24. Goodwin, R. F. W., Pomeroy, A. P. & Whittlestone, P. (1965) : Production of enzootic pneumonia in pigs with a mycoplasma.  
Vet. Rec. 77 : 1247-1249.
25. Goodwin, R. F. W., Pomeroy, A. P. & Whittlestone, P. (1967) : Characterization of *M. suis* pneumoniae : A Mycoplasma causing enzootic pneumonia of pigs.  
J. Hyg. 65 : 85-95.
26. Hodges, R. T. & Betts, A. O. (1969) : Complement-fixation tests in the diagnosis of enzootic pneumonia of pigs : I. Experimental studies.  
Vet. Rec. 85 : 452-455.
27. Holmgren, N. (1974) : An indirect haemagglutination test for detection of antibodies against *M. hyopneumoniae* using formalized tanned swine erythrocytes.  
Rec. Vet. Sci. 16 : 341-346.
28. Hung, R. G. (1970) : Swine enzootic pneumonia : Incidence and effect on rate of body weight gain.

- Am. J. Vet. Res. 31 : 1997-1099.
29. Kenny, G. E. (1971) : Serological cross-reaction between lipids of *M. pneumoniae* and *M. neurolyticum*.  
Infect. Immu. 4 : 149-153.
  30. Keusters-Klasens, M., Hill, W. K. W. & Akkermans, J. P. W. M. (1974) : The use of a rapid serum plate test antigen for the detection of *M. hyopneumoniae* antibodies in pigs serum.  
Abstr. Proc. 3rd. Congr. Intern. Pig. Vet. Soc. R5 : 2.
  31. Lam, K. M. (1971) : Mycoplasmal pneumonia of swine : Development of an indirect hemagglutination test.  
Am. J. Vet. Res. : 1731-1736.
  32. Lam, K. M. & Switzer, W. P. (1971) : Mycoplasmal pneumonia of swine : Active passive immunizations.  
Am. J. Vet. Res. 32 : 1737-1741.
  33. L'Ecuyer, C. & Boulanger, P. (1970) : Enzootic pneumonia of pigs : Identification of a causative mycoplasma in infected pigst and in cultures by immunofluorescent staining.  
Can. J. Comp. Med. 34 : 38-46.
  34. Lui, G. I., Chang, C. F. & Cheng, C. M. (1972) : A study on the porcine pneumonias in the slaughter houses.  
Taiwan J. Vet. Med. Ann. Husb. 20 : 18-31.
  35. Livingston, C. W., Stair, E. L., Underdahl, N. R. & Mebus, C. A. (1972) : Pathogenesis of mycoplasmal pneumonia in swine.  
Am. J. Vet. Res. : 2249-2258.
  36. Meyling, A. (1971) : *M. suis* pneumoniae and *M. hyorhinis* demonstrated in pneumonia pig lung by the fluorescent antibody technique.  
Acta. Vet. Scand. 12 : 137-141.
  37. Meyling, A. & Friis, N. F. (1972) : Serological identification of a new porcine mycoplasmas species *M. flocculare*.  
Acta. Vet. Scand. 13 : 287-289.
  38. Moore, R. W., Redmond, H. E. & Livingston, C. W. (1966) : *Mycoplasma* as the etiology of a metritis-mastitis syndrome in sows.  
Vet. Med. /Small animal Clin. 61 : 883-887.
  39. Potgier, L. N. D. & Ross, R. F. (1972) : Identification of *M. hyorhinis* and *M. hyosynoviae* by immunofluorescence.  
Am. J. Vet. Res. 33 : 91-98.
  40. Roberts, E. D., Switzer, W. P. & Ramsey, F. K. (1963) : The pathology of *M. hyorhinis* arthritis produced experimentally in swine.  
Am. J. Vet. Res. 24 : 19-31.
  41. Ross, R. F. (1973) : Pathogenicity of swine mycoplasmas.  
An. N. Y. Acad. Sic. 225 : 347-368.
  42. Ross, R. F. & Duncan, J. R. (1970) : *M. hyosynoviae* arthritis of swine.

- J. Am. Vet. Med. Assoc. 157 : 1515-1518.
43. Slavik, M. F. & Switzer, W. P. (1972) : Development of a micro-titration complement-fixation test for diagnosis of Mycoplasmal swine pneumonia.  
Iowa : 117-128.
  44. Switzer, W. P. (1972) : Mycoplasmal pneumonia of swine.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 160 : 651-653.
  45. Switzer, W. E. & Preston, K. S. (1974) : Application of the complement-fixation test to the control of Mycoplasma pneumonia in swine.  
Abstr. 11th An n. Meeting Am. Vet. Med. Assoc
  46. Takatori, I. (1969) : Demonstration of complement-fixation antibody against M. hyopneumoniae in Japan.  
Nat. Inst. An. Hlth. Qtr. 9 : 183-184.
  47. Takatori, I., Huhn, R. G & Switzer, W. P. (1968) : Demonstration of complement-fixation antibody against M. hyopneumoniae in the sera of pigs infected with swine enzootic pneumonia.  
Nat. Inst. An. Hlth. Qtr. 8 : 195-203.
  48. Taylor-Robinson, D., Purcell, D. H., Wong, D. C. & Chanock, R. M. (1966) : A colour test for the measurement of antibody to certain mycoplasma species based upon the inhibition of acid production.  
J. Hyg. 64 : 91-104.
  49. U. S. Public Health Service (1974) : Standardized diagnostic Complement-fixation method and adaptation to micro test.  
Public Health Monograph. 40 : 31-34.
  50. Wallis, A. S. & Thomposon, G. W. (1969) : The evaluation of a complement-fixation test for the diagnosis of porcine enzootic pneumonia.  
Vet. Rec. 85 : 573-576.
  51. Whittlestone, P. (1974) : Isolation techniques for mycoplasmas from animal disease.  
Inserm. 33 : 143-152.
  52. Whittlestone, P. (1976) : Isolation and detection of mycoplasmas.  
Proc. Soc. Gen. Microbiol. 4 : 136-137.
  53. Yamamoto, K., Koshimizu, K. & Ogata, M. (1971) : Selective isolation of M. suis-pneumoniae from pneumonic lesions in pigs.  
Nat. Inst. An. Hlth. Qtr. 11 : 168-169.
  54. Zimermann, B. J. (1975) : Characterization of the antibody response of swine to M. hyosynoviae vaccination.  
M. S. Thesis. Iowa State University, Ames, Ia.

## Studies on Swine Mycoplasmosis in Taiwan:

### I. Isolation and Identification of Swine Mycoplasmas and Complement-Fixation Antigens Preparation

J. F. Su, D. F. Lin, Y. F. Lin, T. C. Chiu,

T. C. Lin, C. I. Liou, M. Y. Lin,

### English Summary

Nine strains of *Mycoplasma* were isolated from the lungs of piglets naturally infected with chronic respiratory disease and from the pneumonic lungs of slaughtered pigs. Of which, 2 strains from piglets and 7 strains from both piglets and market pigs were identified as *M. hyopneumoniae* and *M. hyorhinitis*, respectively by growth-inhibition and metabolic-inhibition tests.

The pathogenicity of the isolated strains was determined by nasal inoculation with SPF piglets. Only *M. hyopneumoniae* induced a typical lesion of mycoplasmal pneumonia 7 weeks after inoculation. The CF antibodies were initially detected in the SPF piglets 4 weeks after inoculating with *M. hyopneumoniae* and 5 weeks after inoculating with *M. hyorhinitis*. The CF titers reached 40x and 20x respectively 7 weeks after inoculating. The specificity of CF test was proven satisfactory by cross reaction in this study.