

# 動物用日本腦炎疫苗之製造試驗

## 第一報：白鼠腦水劑疫苗之試製及其免疫性試驗

林再春 廖述吉 陳清

臺灣省家畜衛生試驗所

### 一、緒言

本省近來初產母猪之流死產例輒有所聞，且人之日本腦炎亦常有發生之報告，並咸認豬為其宿主。本所自民國五十三年初以來，即對本病展開有關調查及疫苗製造試驗。由調查 HI 抗體而得知本省家畜含有甚高之抗體，因此本省家畜被該病之感染則無可置疑。筆者（林）曾於民國四十三年赴日研修時獲知該國對於本病之防治甚為重視而積極進行有關之研究及大量製造疫苗供應等，於返國時即向該國分讓疫苗製造用之種毒，以及陽性陰性血清及大量 HI 試驗用抗原等携回本所以供於本省大規模進行調查該病有否發生時之用，但由於當時未有該病發生之報告，致未受重視而僅作該種毒之繼代而已。本試驗開始時，即聘請日本椿原博士來臺作有關之技術指導茲將該項水劑疫苗製造之有關成績報告於后：

### 二、試驗材料

#### 1. 供試毒株：

共有中山株、富士株、及 HV-1 株等三株，前二株係椿原博士由日本携來贈送本所，HV-1 株係由美國海軍第二醫學研究所王三聘先生分讓。

- 中山株—供疫苗製造用其 1,000 倍之腦乳劑接種於小白鼠腦內，約於第四天即發病痲痺，Virus Titer 為  $>10^{-7}$  且與既知陽性馬血清 #388（係筆者（林）於 1955 年由日本生物科學研究所分讓携回並保存於  $-25^{\circ}\text{C}$  冷凍箱）之中和對數為 3.0 中和指數為 1,000。
- 富士株—供抗原製造用以 1,000 倍之腦乳劑接種於小白鼠腦內，第四天即發病痲痺 Virus Titer 為  $>10^{-7.5}$ 。
- HV-1 株—供疫苗効力試驗之攻擊用毒株，以白鼠繼代，凍結乾燥後保存於  $-60^{\circ}\text{C}$  冷凍箱 1,000 倍腦乳劑接種於白鼠腦內第四天即發病痲痺 Virus Titer 為  $>LD_{50} 10^{-8}$ 。

2. 小白鼠—為本所自家飼養或自外面動物商購進 3~4 週齡其體重 8~9 gm Viremia 抑制試驗之仔白鼠為 2~4 日齡仍由母白鼠哺乳。

3. 毛豬—係向外面購進者體重在 20kg 左右田間應用試驗之豬隻則為臺糖公司之竹南種豬場及新營繁殖場所飼養者。

### 三、試驗方法及成績

#### 1. 水劑疫苗之試製：

製造法：將病毒中山株接種白鼠腦內，發病痲痺後採腦→以 M/150 P.B.S 作成 10% 腦乳劑→遠心取上清液→作 Virus 力價測定後加入 0.3% Formalin →冷室 7 日以上不活化（每日振盪一次）不活化檢查→以 M/150 P.B.S. 液作 4 倍稀釋→檢定。

#### a) 免疫効力試驗：

將試製疫苗 2.5% 溶液腦組織以 0.1ml 接種於小白鼠腹腔內於第四天後再依上述方法注射一次

( 10 )

七天後以中山株10倍腦毒乳劑0.2ml 注入腹腔內攻擊結果均達到合格之標準生存率80%以上(對照羣斃死率為90%以上)詳細之成績如表 1 :

表 1 試驗疫苗之免疫効力

疫苗批號	免疫組生存率	對照組斃死率
試 lot 1	93.0%	73.0%
" " 2	93.0%	73.0%
" " 3	93.4%	100.0%
" " 4	86.7%	100.0%
" " 5	91.0%	100.0%
" " 6	83.0%	90.0%
製 lot 1	94.3%	96.2%
" " 2	80.0%	80.0%
" " 3	89.6%	100.0%

註：製 lot 1. 2. 3.係由檢定課檢定合格之成績。

b ) 保存性試驗：

將試 lot 1. 2. 5. 6.及正式製售之 lot 1 疫苗分別保存於冷室或溫室經一定期間後取出檢定其免疫効力，以試其保存性之良否，經試驗結果，室溫(25~31°C)保存性較差，其一週後之試驗白鼠生存率降低為60~70%反之冷室(2~6°C)保存性甚佳，6個月後尚在82%以上12個月後則降低為30%以下，詳細成績如表 2。

表 2 試製疫苗之保存性

疫苗批號	保存期間		製造直後	室溫一週 (25~31°C)	冷室三個月 (2~6°C)	冷室六個月 (2~6°C)	冷室一年 (2~6°C)
	成績						
試 lot 1	生存率(免疫組)	93.0%	70.0%	84.0%	89.0%	23.8%	
	斃死率(對照組)	73.0%	90.0%	100.0%	75.0%	90.4%	
" " 2	生存率(免疫組)	93.0%	60.0%	100.0%	94.0%	28.5%	
	斃死率(對照組)	73.0%	90.0%	100.0%	75.0%	90.4%	
製 lot 1	生存率(免疫組)	96.2%		85.4%	83.4%		
	斃死率(對照組)	100.0%		90.0%	91.4%		
試 lot 5	生存率(免疫組)	91.0%		82.0%			
	斃死率(對照組)	100.0%		100.0%			
" " 6	生存率(免疫組)	83.0%					
	斃死率(對照組)	90.0%					

## 2. 對猪隻之免疫性試驗：

## a) HI 試驗之方式：

供用抗原為富士株，即採取HA 價之4單位，其被檢血清先經非働化后再經丙酮處理除去正常抑制素后再施行HI試驗。

## b) HI 抗體產生情形：

為明瞭試製疫苗對猪隻之免疫性，將試製 lot1, 4 及製售 lot 1 等水劑疫苗接種於小豬經一定期間後採血行 HI 試驗，以觀察其抗體之產生情形，於實驗室對小豬之試驗前後實施三次，並於新營繁殖場對未經產乳成猪50頭實地田間應用試驗，其詳細之成績如表 3 - A.B.C.D。

表 3 - A 試製 Lot 1 疫苗接種小豬之 HI 抗體價 (第一次試驗)

類別	供試猪		疫苗注射量及次數	H I 價		
	號碼	體重 (kg)		注射前	注射后 14 天	注射后 21 天
免 疫 組	# 73	19.0kg	4ml 一次	10	20	40
	# 75	19.0kg	" "	<10	40	80
	# 76	14.5	" "	10	40	160
	# 77	14.5	" "	<10	10	40
	# 84	18.0	2ml 二次	10	80	160
	# 85	16.0	" "	<10	160	160
	# 86	19.0	" "	<10	40	80
	# 87	19.0		<10	<10	<10
	# 88	20.0		10	10	10
對照組	# 90	20.0		<10	<10	<10

表 3 - B 製 Lot 1 疫苗接種小豬之 HI 抗體價 (第二次試驗)

類別	供試猪隻		疫苗注射量及次數	H I 價			
	號碼	體重 (kg)		注射前	注射后 7 天	注射后 14 天	注射后 28 天
免 疫 組	#686	19.5	2ml 二次	<10	40	160	160
	#687	22.0	" "	10	20	80	80
	#688	19.5	" "	10	40	40	80
	#689	22.0	4ml "	10	80	160	160
	#690	20.0	" "	<10	160	160	320
	#691	21.0	" "	10	40	160	160
	#692	20.0	6ml 一次	<10	80	320	320
	#493	20.0	" "	<10	160	160	320
	#694	19.0	" "	10	80	320	320

( 12 )

對	#695	19.5	<10	<10	<10	<10
照	#696	21.0	<10	<10	<10	<10
組	#697	22.0	<10	<10	<10	<10

表 3—C 試 Lot 4 疫苗接種小豬之 HI 抗體價 (第三次試驗)

類 組別	供試豬隻		疫苗注射量及次數	H I 價			
	號碼	體重 (kg)		注射前	注射後 7 天	注射後 14 天	注射後 21 天
第一組	# 61	15.0	2ml 一次	10	20	40	40
	# 62	16.0	" "	<10	10	20	20
	# 63	20.0	" "	<10	20	20	10
第二組	# 67	14.5	" 二次	<10	20	40	80
	# 68	20.5	" "	<10	10	20	80
	# 69	25.5	" "	10	20	40	160
第三組	# 64	17.5	4ml 一次	<10	40	40	160
	# 65	18.0	" "	<10	20	40	>40
	# 66	29.5	" "	<10	10	10	20
第四組	# 70	20.0	6ml "	<10	40	80	>160
	# 71	25.5	" "	<10	20	40	>160
	# 72	23.0	" "	<10	20	20	>80
對照組	# 73	21.0		<10	<10	<10	<10
	# 74	25.0		10	10	10	10
	# 75	15.5		10	10	10	10

表 3—D 未經產牝成豬接種之 HI 抗體價 (於新營繁殖場應用試驗 50 頭)

採血別	H I 價						供試毛豬 總隻數
	×10	×20	×40	×80	×160	>320	
注射前	39(48%)	8(16%)	3(6%)	0	0	0	50隻
注射後 14 天	7(14%)	7(14%)	19(38%)	11(22%)	5(10%)	1(2%)	50隻
注射後 21 天	2(4%)	0	7(14%)	13(26%)	17(34%)	11(22%)	50隻

註：數字表示隻數，括弧內者表示百分比

(在臺南縣學甲鄉)

表 3—E 試製 Lot 6. 日本腦炎疫苗野外應用效果試驗成績  
(應用於母豬 HI 及中和抗體產生情形)

豬號碼	HI價	中 指	和 數	豬號碼	HI價	中 指	和 數	豬號碼	HI價	中 指	和 數	豬號碼	HI價	中 指	和 數
# 1	20	4		# 23	20	6		# 40	80	200		# 53	—	0	
# 5	80	160		# 25	>320	1100		# 41	10	0		# 54	—	0	
# 8	40	26		# 29	160	1000		# 44	>320	1600		# 55	80	160	
# 9	—	0		# 31	>320	1600		# 45	>320	1500		# 57	40	100	
# 12	—	0		# 32	800	100		# 47	40	400					
# 14	—	0		# 34	160	320		# 49	>320	1600					
# 17	>320	160		# 35	160	1100		# 50	—	0					
# 19	40	32		# 36	20	2		# 51	>320	1000					
# 21	80	100		# 39	40	0		# 52	10	0					

註：1. 應用於 HI 價陰性之母豬共 31 頭。

2. 初次注射日期為 55.5.17 第二次為 55.5.21 共注射二次間隔四天各注射 2 ml 於皮下。

3. 經四十五天後採血作 HI 抗體及中和指數之測定。

4. 一佔 19.3%，×10 佔 6.45%，×20 佔 9.6%，×40 佔 16%，×80 佔 16.1%，×160 佔 9.6%，  
×320 佔 22.5%，(HI 抗體檢查之結果)

5. 中和抗體檢查之結果，陰性者佔 6.5%，疑陽性者佔 38.6%，陽性者佔 54.83%。

c) Viremia 抑制試驗：

將試製 lot 1, 4 及正式製售 lot 1 等水劑疫苗分別接種於 HI 抗體陰性小豬，前後實施三次試驗 (表 3 HI 抗體價試驗小豬) 第一次試驗分為疫苗 4 ml 一次注射及 2 ml 以 7 天間隔行二次注射等二組，經過 40 天後以 HV-1 株 50 倍腦乳劑 0.5 ml 接種攻擊。第二次試驗則分 2 ml 及 4 ml 以 7 天間隔行二次免疫注射及 6 ml 之一次注射等三組，經 21 天後攻擊接種，第三次試驗則分 2 ml, 4 ml 及 6 ml 各一次及 2 ml 以 7 天間隔行二次免疫注射等四組，經 21 天後接種攻擊，每次均於攻毒之前及攻毒後 7 天內每天採血，分別以其 0.01 ml 腦內及 0.02 ml 皮下注射之方式接種於生後 2~4 天之仔白鼠，觀察是否能抑制 Viremia 之出現，作為疫苗効力之參考，其詳細成績如表 4—A B C 免疫豬隻雖未能完全抑制其 Viremia 之出現，但免疫組其出現率較對照組豬隻為輕微。

表 4—A 水劑疫苗接種小豬之 Viremia 抑制試驗 (第一次)

組別	供試豬隻		疫苗注 射前之 HI 價	疫苗注射量		Viremia 出現情形						
	號碼	體重 (kg)		及次數	攻擊前	攻擊後 第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
第免	#73	19.0	<10	4ml 一次	0/3	0/2	—	—	6/7	0/2	0/7	0/7
	#75	19.0	"	" "	0/6	0/1	—	2/2	1/1	0/7	0/7	0/7
組疫	#76	14.5	"	" "	0/5	—	0/5	—	1/5	0/7	0/5	0/7
	#77	14.5	"	" "	0/1	0/7	0/2	5/5	1/2	4/7	2/7	0/3

第免 組疫	#84	18.0	"	2ml 二次	0/6	0/2	0/6	—	—	1/6	1/7	0/7			
	#85	16.0	"	" "	0/5	—	—	—	2/2	3/6	0/6	0/7			
	#86	19.0	"	" "	0/6	0/6	0/6	0/1	4/4	0/4	3/6	0/5			
							原×1000	原×1000	原×1000						
對 照 組	#87	19.0	<10				3/6	0/7	0/5	—	—	0/6	0/6	0/7	—
	#88	20.0	"				0/5	0/5	—	5/5	0/2	0/7	0/6	0/6	0/6
	#90	20.0	"				—	1/7	3/4	2/5	—	5/7	0/7	0/6	0/6

註：1. 供試疫苗試 lot 疫苗初次注射53年6月10日第二次6月18日

2. 攻擊日期53年7月11日以HV-1株50倍腦乳劑0.5ml 皮下注射。

3. 供試自鼠生後2~4天齡，表中分母表示供試隻數，分子表示供試斃死隻數。

4. 本次試驗用部份仔自鼠於試驗期中被母鼠咬死，致供試隻數不一，不無影響其試驗成績。

表4—B 水劑疫苗接種小豬之 Viremia 抑制試驗 (第二次)

組別	供試豬隻		疫苗注 射前 HI 價	疫苗注射量 及次數	Viremia 出現情形											
	號碼	體重 (kg)			攻擊前	攻擊後 第1天	第2天	第3天	第4天	第5天	第6天	第7天				
第免 組疫	#686	19.5	<10	2ml 二次	0/6	0/7	0/3	0/6	0/8	0/4	6/7	0/7				
	#687	22.0	10	" "	0/5	0/5	0/5	0/8	0/6	0/6	0/5	0/5				
	#688	19.5	10	" "	0/7	0/4	0/4	0/8	1/6	0/7	0/5	0/5				
第免 組疫	#689	22.0	10	4ml 二次												
	#690	20.0	<10	" "	0/7	0/7	0/8	0/5	0/6	1/6	0/6	0/6				
	#691	21.0	10	" "	0/8	0/2	1/8	0/6	0/6	0/6	0/7	0/2				
第免 組疫	#692	20.0	<10	6ml 一次	0/7	0/5	1/6	0/6	1/8	0/6	0/6	0/7				
	#693	20.0	<10	" "	0/3	0/6	0/5	0/5	0/8	0/5	0/5	0/5				
	#694	19.0	10	" "	0/7	0/2	0/4	1/6	0/6	0/7	0/8	0/5				
							原×1000	原×1000	原×1000	原×1000						
對 照 組	#695	19.5	<10		0/6	0/7	1/5	1/7	0/4	0/6	2/9	2/6	1/5	6/8	2/4	5/7
	#696	21.0	<10		0/5	0/8	0/6	0/8	0/5	0/6	4/7	3/7	5/7	4/6	3/6	3/7
	#697	22.0	<10		0/8	1/5	1/6	0/4	0/5	0/5	2/2	4/8	6/7	0/4	2/5	2/7

註：1. 供試疫苗為正式製售之lot 1，初次注射於54.12.17. 第二次於54.12.24。

2. 攻毒日期係55.1.14. 以HV-1株50倍腦乳劑0.5ml 皮下注射。

3. 供試自鼠生後2~4天齡，表中分母表示供試隻數，分子表示斃死隻數。

4. 本試驗因部份仔自鼠於試驗期中被母鼠咬死，致供試隻數不一，不無影響試驗成績。

表 4—C 水劑疫苗接種小豬 Viremia 抑制試驗 (第三次)

組別	供試豬隻 號碼	供試豬隻 體重 (kg)	疫苗注射前		Viremia 出現情形							
			HI 價	及次數	攻擊前	攻擊後 第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
第免 一 組疫	#61	15.0	10	2ml 一次	0/3	0/4	2/6	1/5	2/4	0/2	0/6	0/0
	#62	16.0	<10	" "	0/5	0/4	1/7	1/4	0/4	0/4	2/5	0/6
	#62	20.0	<10	" "	0/5	0/8	0/5	2/5	0/6	0/3	1/6	0/5
第免 二 組疫	#67	14.5	<10	2ml 二次	0/5	0/3	0/5	0/4	1/6	0/4	0/2	0/6
	#68	20.5	<10	" "	0/4	0/2	0/7	1/6	0/6	0/3	—	0/3
	#69	25.5	10	" "	0/6	0/8	0/5	0/2	1/7	0/1	0/5	0/4
第免 三 組疫	#64	17.5	<10	4ml 一次	0/4	0/5	0/5	0/6	0/7	0/4	0/4	0/4
	#65	18.0	<10	" "	0/5	0/5	0/7	0/4	0/5	0/4	0/5	0/5
	#66	24.5	<10	" "	0/5	0/4	0/6	0/3	0/1	0/6	0/2	0/5
第免 四 組疫	#70	20.5	<10	6ml 一次	0/3	0/6	0/8	—	1/6	0/2	0/5	0/5
	#71	25.5	<10	" "	0/4	0/2	0/4	0/5	0/7	0/1	0/4	0/6
	#72	13.0	<10	" "	0/3	—	0/5	1/6	0/7	0/3	0/6	0/4
對 照 組							原×1000	原×1000	原×1000	原×1000		
	#73	21.0	<10		0/5	0/8	1/5 0/3	2/4 1/6 3/4	1/6 2/7	0/3	2/7	0/4
	#74	25.0	10		0/5	1/6 0/4	1/5 3/6	1/8 4/5	2/7 1/5	—	1/6	0/4
	#75	15.5	<10		0/4	0/5 2/7	0/6 3/4	1/7 2/6	0/5	—	1/3	0/5

註：1. 供試疫苗為試 lot 4，初次免疫注射於 55.2.19，第二次於 55.2.26。

2. 攻毒日期於 55.3.24，以 HV-1 株 50 倍腦乳劑 0.5ml 皮下注射。

3. 供試白鼠生後 2~4 天齡，表中分母示供試隻數，分子示斃死隻數。

4. 本次試驗因部份仔白鼠於試驗期中被母鼠咬死，致供試隻數不一，不無影響其試驗成績。

#### 四、討 論

本次日本腦炎疫苗製造試驗係使用白鼠感染腦先行試製水劑疫苗前後共製造 9 批疫苗供為其免疫性試驗等，每批疫苗以白鼠測定其免疫効力之產生情形，結果均能達到合格標準 80% 以上之免疫効果。此外尚接種於豬隻測定其 HI 抗體之消長情形，Viremia 之抑制，田間牝豬之應用等試驗。至其免疫効力，據先進報告，白鼠腦乳劑疫苗較其感染鷄胎兒為高，本次供試之 7 批疫苗，如上述均得 80% 以上之生存耐過率，又豬隻經注射後其 HI 抗體上昇明顯，高者至 320 倍，且野外應用試驗牝豬迄今尚未有確實之流死產發生報告（其成績擬於下次報告）。又經屢次之 Viremia 抑制試驗，雖免疫羣亦遠較其對照羣於攻毒後之 Viremia 出現率為輕微，但尚未能完全抑制之。

為期達到實際之需，今後擬繼續就其注射量以及注射次數再作進一步之研討外，並調查實施應用之實際効果，例如於同一區域將初產母豬分為受接種及未受接種之二羣，以便詳細調查記錄其流死產實際情形（並進而求其流死產原因），作為比較，供為疫苗改進之參考並將以組織培養法研製疫苗，以提高効力減低成本。

至於該水劑疫苗於冷室之保存性尚佳，經保存 6 個月後尚能保持約 90% 之生存耐過率，惟其室溫保存性則差於 25~31°C 一週後即降低為 60%，為配合實際之需，今後擬試製冷凍乾燥疫苗，供為各項之試驗。

## 五、結 論

1. 供試水劑疫苗共 7 批（試製 6 批及正式製售交檢 1 批）使用白鼠行効力試驗結果，其攻擊耐過率 90% 以上者 5 批，80~90% 者 2 批（對照白鼠斃死率為 73~100%）。
2. 水劑疫苗之冷室保存性甚佳，其試 lot 1 及 2 於冷室（2~6°C）6 個月免疫白鼠羣之攻擊生存率為 89% 及 94%（對照白鼠斃死率為 75%）冷室 1 年之白鼠生存率即降低為 23.8% 及 28.5%（對照白鼠斃死率為 90.4%）於室溫（22~31°C）之保存性則較差，其保存一週後之白鼠生存率已降至 70% 及 60%（對照白鼠之斃死率為 90%）
3. 豬隻經疫苗接種後其 HI 抗體之產生有顯著上昇，試驗小豬經疫苗注射後 14 天或 21 天後其 HI 價，高者為 320 倍且對於未經產牝成豬 50 頭試驗結果，於疫苗注射後 21 天 160 倍者佔最多有 17 隻（34%），80 倍者次之佔 13 隻（26%）， $\geq 320$  倍者佔 11 隻（22%）
4. 本疫苗 2~6 ml 以 1 次或 2 次免疫注射之豬隻經 21 天或 40 天後再以強毒（HV-1 株， $\times 50$  白鼠腦毒 0.5 ml 攻擊觀察其 Viremia 之抑制情形結果免疫豬羣之 Viremia 出現率較對照豬羣為輕微。

註：本試驗報告摘要已於 54 年臺灣省畜牧獸醫學會官讀報告，「本試驗承蒙前任黃所長文池之指導及現任王所長銘堪之指導及校閱以及日籍專家椿原彥吉博士來臺對於技術之懇切指導謹此一併誌謝。

## 參 考 文 獻

1. 高松泰人等：日本腦炎預防液對豬死產之預防試驗，日本獸醫會雜誌第 7 卷第 4 號 156~159 頁。1954
2. 中村稔治等：仔豬之日本腦炎經鼻感染及疫苗應用試驗。日本獸醫協會雜誌第 3 卷第 8 號。1950
3. 藤江昇等：關於日本腦炎疫苗之力價檢查。日本動物藥品檢查所。1953
4. 玉崎幸二等：關於流死產發生狀況之調查及中和抗體之消長，日本獸醫師會雜誌第 13 卷第 7 號 313~316 頁。1960
5. 椿原彥吉等：日本腦炎病毒之血球凝集反應。日本農林省家畜衛生試驗場研究報告第 25 號。1947
6. 渡邊守松等：關於日本腦炎病毒抗原變異之實驗研究，Virus 第四卷第 3 號。1954。
7. 高松泰人等：日本腦炎，獸醫界第 67 號。1962。

# Experiments on the Manufacturing of Japanese Encephalitis Vaccine

## I. Efficacy of the wet type vaccine prepared from artificially infected mouse brains

T. C. Lin, S. C. Liao, C. Chin

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

### ENGLISH SUMMARY

1. The Potency test of 7 lots of the wet type vaccine Prepared at the Institute



- showed a result of 90% or higher protection in 5 lots, 80-90% in 2 lots, while the mortality rate of control mice were between 73-100%.
2. Keeping quality of the wet type vaccine at cold place is very high. 2 lots of vaccines were used for preservation test and maintained 89% and 94% protection respectively after 6 months preservation in a refrigerator at 2-6°C (the mortality of control mice 90.4%), while the results at room temperature showed very bad as 70% and 60% protection respectively even only after one week kept at 22-31°C (the mortality of control mice 90%).
  3. The HI antibodies in vaccinated small pigs apparently rise to as high as 320X at 14 and 21 days after vaccination. Another test for gilts at 21 days after vaccination, of 50 gilts tested, 17 gilts (34%) showed 160X, 13 gilts (26%) 80X and 11 gilts (22%) 320X or higher.
  4. A test of the occurrence-inhibition rate of viremia studied among small pigs which vaccinated with 2 to 6 ml. once or 2 times respectively, and then challenged with 0.5 ml of 50 times mouse brain emulsion of Japanese Encephalitis virus (HV strain) after 21 or 40 days vaccination. The better results were obtained for vaccinated pigs than the unvaccinated control pigs.

NOTE: The outline of this paper was read before the 1964 Annual Meeting of the Taiwan Association of Animal Husbandry and Veterinary Medicine.