

# 水禽雷氏桿菌症 3 價不活化菌苗之效力試驗

喻昭芳\*、黃金城

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

**摘要** 為瞭解自行研發的水禽雷氏桿菌症第1、2和6血清型3價不活化菌苗大量產製後應用於田間水禽場，其菌苗對鴨及鵝隻的保護力是否與之前實驗室內小批進行的結果一致。將量產1萬劑量菌苗分別實施於北京鴨場，番鴨場與白羅曼鵝場，適齡時帶回本所攻毒，以Beherens-Karber法計算LD<sub>50</sub>防禦指數評估菌苗效力。試驗成績均可達到其他不活化菌苗國家動物用藥品檢定標準，顯示免疫本菌苗後經人工感染可產生良好的保護效果。有鑑於乾淨試驗動物難尋，另嘗試使用小白鼠測試，結果顯示小白鼠免疫3價菌苗後，血清凝集抗體及ELISA抗體價均可快速爬昇，免疫後攻毒成績亦說明人工感染可成立。

**關鍵詞：**水禽雷氏桿菌，不活化菌苗，田間效力試驗，小白鼠模式

## 緒言

由 *Riemerella anatipestifer* ( RA ) 引起的水禽雷氏桿菌症為台灣重要的水禽傳染性疾病，鴨和鵝在1~8週齡時對本病最具感受性，主要引起病禽敗血症、全身性漿膜炎、恢復禽隻生長遲緩及不合格屠體增加<sup>(9)</sup>，不良的飼養環境及其他疾病併發皆會造成本病的爆發，發病率可由5%~75%<sup>(3)</sup>，發病場常一再發病，且清除不易而重複發生，造成業者經濟損失<sup>(9)</sup>，故發展有效菌苗防疫為一必然趨勢。

本菌的血清型別複雜，目前共有21種血清型別<sup>(3、16)</sup>，Loh及張等人發現第5與第9型間；第12與6和16型間；第13與17型間；以及第17與第2和13型間具微弱交叉反應，其餘之間皆無交叉保護力<sup>(5、6、14)</sup>，而造成預防上的困難。最理想的方式是突破血

清型別的限制，找出可產生保護力之致病或毒力因子來開發菌苗防疫<sup>(7)</sup>，目前雖有本菌相關毒力因子的報告<sup>(8、12、20)</sup>，但病原的致病機轉仍不明，國內亦缺乏快速檢測試劑與商業化疫苗<sup>(2)</sup>，所以現階段施打有效的多血清型多價菌苗，應是最佳的防治方式與暫時解決的方法。

96 年本所已選定臺灣流行之第 1、2 和 6 血清型菌株研製與開發 3 價不活化菌苗<sup>(10)</sup>，並已製備小批菌苗於實驗室測試，結果顯示不論使用於北京鴨、番鴨亦或白羅曼鵝，其保護效果皆令人滿意。本次研究則進一步瞭解此 3 價菌苗大量產製後應用於田間水禽場，其菌苗對鴨及鵝隻的保護力是否與之前實驗室內小批進行的結果一致。本病在台灣水禽場與孵化場普遍污染，乾淨試驗動物取得困難，另嘗試同時免疫小白鼠與鴨隻獲得兩種動物的效力成績後進行評

\*抽印本索取作者

估，以瞭解是否可使用小白鼠模式測定取代對象動物。

## 材料與方法

### 3 價不活化菌苗製備

將 96 年選定的台灣田間分離第 1、2 和 6 血清型 RA 菌苗株於 37℃ 下培養於胰蛋白浸膏培養基 ( Tryptic Soy Broth, BD ) 18~22 小時大量產製，以 0.3% 福馬林溶液 ( Formaldehyde Sol. 37%, Merck ) 予以不活化，離心調整至適當濃度，再加上氫氧化鋁膠 ( Aluminum Hydroxide Gel ) 調製成 3 價不活化菌苗<sup>[13]</sup>。

### 效力試驗

於第 1 及 2 週齡時在實驗室免疫北京鴨與白羅曼鵝各約 45 隻，另未注射各 45 隻供作對照，而在 4 週齡時使用同型 ( homologous ) 3 種血清型菌株各分 3 階段濃度菌液 ( 如： $10^{10}$ 、 $10^9$ 、 $10^8$  CFU/mL ) 每階段 5 隻動物分別肌肉注射攻毒免疫組及對照組，攻擊後觀察 2 週內兩組死亡結果，以 Beherens-Karber 法計算兩組  $LD_{50}$  防禦指數 ( 例：免疫組之  $LD_{50}$  為  $10^{10.0}$ ，對照組為  $10^{9.0}$ ，則兩組之  $LD_{50}$  對數差為  $10^{1.0}$  )<sup>(1)</sup>，以此評估本菌苗的效力。之後應用於雲林縣和嘉義縣轄內水禽場，免疫注射各 1,500 隻北京鴨與番鴨，及 2,000 隻白羅曼鵝，屆 4 週齡時由免疫組與未注射組隨機取各 45 隻帶回所裡攻毒，同上法計算其  $LD_{50}$  防禦指數，最終獲得 3 價菌苗對田間水禽場鴨和鵝隻的效力試驗成績。

### 小白鼠與鴨隻效力試驗一致性比較

以 3 價菌苗同上法免疫鴨隻，同批菌苗稀釋 2~5 倍腹腔注射 10~15g 健康小白鼠，基礎免疫及補強注射間隔 1 週，鴨隻達 4 週齡時對鴨與小白鼠攻毒，同上法觀察 2 週，最終得到鴨和小白鼠的  $LD_{50}$  防禦指數，並比較菌苗對兩種動物的保護性是否一致。

### 小白鼠免疫後抗體消長檢測

小白鼠免疫 3 價菌苗後，補免後每週採血 5 隻，至第 8 週結束，取得的血清進行平板凝集試驗及 ELISA 試驗，檢測 3 種血清型血清抗體力價消長，ELISA 方法詳見本所第 43 期研究報告，僅於二抗部份改為 10 萬倍稀釋 HRP 標示羊抗鼠抗體 ( Goat-Anti-Mice IgG, KPL )，由血清 OD 值計算出 S/N 比 ( Sample / Negative Ratio )。

## 結果

### 效力試驗

本次研究結果顯示，在實驗室方面菌苗的效力試驗成績，北京鴨於免疫 3 價菌苗後分別攻擊 3 種血清型菌株的  $LD_{50}$  防禦指數為  $10^{1.66}$  (RA1)、 $10^{0.875}$  (RA2) 與  $10^{0.83}$  (RA6) (表 1)；而在鵝為  $10^{1.89}$  (RA1)、 $10^{0.87}$  (RA2) 及  $10^{1.5}$  (RA6) (表 2)。另外田間試驗部份，對北京鴨與番鴨的  $LD_{50}$  防禦指數為  $10^{0.84}$  (RA1)、 $10^{1.205}$  (RA2) 與  $10^{1.5}$  (RA6)； $10^{0.73}$  (RA1)、 $10^{1.33}$  (RA2) 和  $10^{0.83}$  (RA6) (表 3 和表 4)；對鵝則是  $10^{4.17}$  (RA1)、 $10^{6.0}$  (RA2) 和  $10^{1.47}$  (RA6) (表 5)。

### 小白鼠與鴨隻效力試驗一致性比較

表 6 為 3 價菌苗同時免疫及攻毒小白鼠和鴨隻，免疫 3 價菌苗後的防禦指數成績為 RA1： $10^{0.2}$  (鼠)、 $10^{0.78}$  (鴨)；RA2： $10^{0.5}$  (鼠)、 $10^{1.78}$  (鴨)；RA6： $10^{0.75}$  (鼠)、無法計算 (鴨)，對鴨隻攻毒第 6 血清型菌株時，免疫組及對照組均出現不死亡情形，因此本項無法比較。

### 小白鼠免疫後抗體消長試驗

小白鼠免疫 3 價菌苗後 3 種血清型抗體力價由補免後第 2~3 週開始均出現快速上昇情形，結果詳見圖 1 和圖 2，凝集抗體力價介於 2~16 倍，ELISA 之 S/N 比則為 2.7~5.5，兩種抗體則分別於第 5~6 及第 7~8 週達到高峰。

## 討論

本次田間試驗白羅曼鵝攻毒第 1 與 2 血清型菌株時出現攻毒後免疫與對照組均不死亡情況，導致最終無法得到效力成績。為改善此一現象，擴大攻毒濃度範圍重作試驗，由 3 階段改為 5~8 階段濃度菌液攻毒，或是隔 1~2 階段(次方)擴大濃度範圍方式進行，例： $10^{10}$ 、 $10^9$ 、 $10^8$  改為  $10^{10}$ 、 $10^8$ 、 $10^6$  或  $10^{10}$ 、 $10^7$ 、 $10^4$  以利獲得  $LD_{50}$  濃度成績，最後可得到表 5 結果。RA 菌常在於水禽場為一個普遍現象，Ryll 等人發現，於北京鴨牧場外觀健康鴨隻 49 隻咽喉部採樣，結果可分離 44 株 RA 菌株，RA 菌似乎為鴨隻之咽喉正常菌群(8、9、17)，鴨隻自然對 RA 菌產生一些免疫耐受性(13)，可能因此造成動物  $LD_{50}$  濃度的大差異。Layton 及 Ryll 等人提到，因 RA 菌常在環境中對鴨(鵝)持續性的小劑量免疫，造成鴨(鵝)體內普遍含有低力價抗體，前次攻毒不死亡情形與重作試驗攻擊  $10$ 、 $1,000$  及  $10$  萬倍稀釋第 1 血清型菌液皆死亡一半情況，原因應該是田間鵝隻體內已有的低幅抗體干擾造成。

關於菌苗效力評估方面，目前仍以攻毒方式測試菌苗效力，文獻上使用單濃度菌液攻擊獲得免疫與對照組死亡率，之後再計算出防禦指數(對照組死亡率 - 試驗組死亡率)  $\times 100\%$  / 對照組死亡率作為效力試驗結果(15、19)，使用此種計算方法，倘若攻毒後免疫組死亡率為 0%，對照組死亡率不論低或高(0%、60%或 100%)，其防禦指數皆為 100%，似乎並無法呈現出正確的菌苗保護效果。效力試驗改使用 3 階段濃度菌液攻毒，再分別以 Beherens-Karber 法計算與比較免疫與對照組的  $LD_{50}$  防禦指數，此法更能確切的表示菌苗的效力結果，且可因應不同來源試驗動物。

本菌苗在台灣缺乏藥品檢定標準，先行參考其他不活化菌苗的標準暫作為目前菌苗效力成績檢視標準(如：大腸桿菌多價不活化菌苗及豬萎縮性鼻炎不活化菌苗-巴氏桿菌之  $LD_{50}$  防禦指數需  $\geq 10^{0.5}$ ) (1)。由本次研究的 5 次效力試驗結果(表 1~5)，其  $LD_{50}$  防禦指數介於  $10^{0.73}$ ~ $10^{6.0}$ ，均可達到暫訂的本項菌苗檢定標準，顯示免疫本菌苗後經人工感染同型 3 種血

清型菌株可產生滿意的保護效果。Sandhu 等人研發包含 1、2 與 5 血清型 3 價菌苗，且於次年應用於田間水禽場〔13、18〕，近期的程等人亦發表 4 價鋁膠菌苗的研究報告〔4〕，二者皆可獲得良好的保護效力。

另外因為乾淨試驗動物難尋，嘗試使用小白鼠作為本菌苗效力測定模式試驗動物。

Asplin 等人曾報告 RA 菌對小白鼠不具病原性〔11〕，惟在本研究中試製 3 價菌苗免疫小白鼠後攻毒的成績得知，免疫組對第 1、2 和 6 血清型菌之 LD<sub>50</sub> 分別為  $5 \times 10^{9.83}$  CFU/mL、 $2 \times 10^{11.0}$  CFU/mL 和  $5 \times 10^{10.38}$  CFU/mL，而對照組則是  $10^{9.63}$ 、 $10^{10.5}$  與  $10^{9.63}$ ，其防禦指數詳如表 6 成績，顯示小白鼠人工腹腔感染試驗可以成立。而小白鼠免疫 3 價菌苗攻擊後耐過存活者之凝集抗體價，亦皆可檢出各特異抗原的抗體價為 2~8 倍，最高可至 16 倍。另外在小白鼠免疫後抗體消長部份，補強免疫後均可檢出 3 種血清型 2~8 倍凝集抗體，以及 S/N 比 2.7~5.5 的 ELISA 抗體價，且可維持至第 5~8 週。由小白鼠免疫菌苗後血清抗體爬昇情形，可明瞭試製菌苗具足夠的免疫效果，據此推論是否可使用此法取代攻毒鴨（鵝）評估菌苗效力呢？未來將進行更進一步試驗佐證之。由於本菌苗尚無國家檢驗標準，因此目前暫使用對象動物鴨與鵝隻為材料，供菌苗效力測試之用。

## 誌謝

本研究承蒙本所前製劑研究系系主任陳清博士不吝撥冗回所教導與協助，日本獸醫生命科學大學澤田拓士教授（Dr.Takuo Sawada）及泰國國家動物衛生試驗研究所細菌組主任 Pornpen Pathanasophon 博士蒞所指導與慨贈寶貴試驗材料，多項試驗得能順利完成，謹併誌萬分謝忱。

## 參考文獻

1. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。動物用藥品檢驗標準(II)。2009。
2. 吳芳、周紅、蔡建平、陸承平、范紅結。1株無致病力的鴨疫里氏桿菌的分離與鑑定。畜牧與獸醫39(9)：13-15，2007。
3. 洪柏懿。*Riemerella anatipestifer*之生物學特性。碩士論文，國立台灣大學獸醫學研究所。1995。
4. 程安春、汪銘書、郭宇飛、方鵬飛、劉兆宇、陳孝躍、周毅。鴨疫里氏菌鋁膠佐劑與鋁膠複合佐劑4價滅活疫苗的比較。中國獸醫學報25(2)：152-157，2005。
5. 張大丙、郭玉璞。鴨疫里氏桿菌2型與17型之間交叉反應的研究。中國預防獸醫學報24(3)：192-194，2002。
6. 張大丙、郭玉璞。鴨疫里氏桿菌6型、12型與16型之間的交叉反應。中國獸醫學報22(6)：565-566，2002。
7. 黃培峻。*Riemerella anatipestifer*菌苗之研製。碩士論文，國立中興大學獸醫學研究所。2004。
8. 黃國安。鴨疫里氏桿菌(*Riemerella anatipestifer*)毒力相關蛋白基因vapD1之次單位疫苗及DNA疫苗建構及對鴨隻免疫保護效果。碩士論文，國立台灣大學獸醫學研究所。2002。
9. 劉育宗。鴨*Riemerella anatipestifer*感染症之研究：保菌及排菌研究、聚合酶鏈鎖反應診斷技術之建立及外膜蛋白A基因序列分析。碩士論文，國立台灣大學獸醫學研究所。2002。
10. 陳燕萍。台灣水禽雷氏桿菌血清型別之調查。行政院農業委員會家畜衛生試驗所研究報告43：35-41，2008。
11. Asplin F.D. A septicemic disease of ducklings. The Veterinary Record 67：854-858, 1955.
12. Crasta K.C., Chua K.L., Subramaniam S., Frey J., Loh H., Tan H.M. Identification and characterization of CAMP cohemolysin as a potential virulence factor of *Riemerella anatipestifer*. Journal of Bacteriology 184：1932-1939, 2002.
13. Layton H.W. and Sandhu T.S. Protection of ducklings with a broth-grown *Pasteurella anatipestifer* bacterin. Avian Diseases 28：718-726, 1984.
14. Loh H., Teo T.P., Tan H.C. Serotype of *Pasteurella anatipestifer* isolate from ducks in Singapore：a proposal of new serotype. Avian Pathology 21：453-459, 1992.
15. Pathanasophon P., Sawada T., Pramoolsinsap T., Tanticharoenyos T. Immunogenicity of *Riemerella anatipestifer* broth culture bacterin and cell-free filtrate in ducks. Avian Pathology 25：705-719, 1996.
16. Pathanasophon P., Phuektes P., Tanticharoenyos T., Narongsak W. and Sawada T. A potential new serotype of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand. Avian Pathology 31：267-270, 2002.
17. Ryll M., Christensen H., Bisgaard M., Christensen J.P., Hinz K.H., Kohler B. Studies on the prevalence of *Riemerella anatipestifer* in the upper respiratory tract of clinically healthy ducklings and characterization of untypable strains. Journal of Veterinary Medicine Series B 48：537-546, 2001.
18. Sandhu T.S. Immunization of white Pekin ducklings against *Pasteurella anatipestifer* infection. Avian Diseases 23：662-669, 1979.
19. Sandhu T.S. Immunogenicity and safety of a live *Pasteurella anatipestifer* vaccine in white Pekin ducklings：Laboratory and field trials. Avian Pathology 20：423-432, 1991.

20. Subramaniam S., Huang B., Loh., Kwang J.,  
Tan H.M., Chua K.L., Frey J. Characterization  
of a predominant immunogenic outer  
membrane protein of *Riemerella anatipestifer*.  
Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology  
7 : 168-174, 2000.

Table 1 : Efficacy of trivalent *R. anatipestifer* bacterin in Pekin ducklings against homologous serotype challenge.

Groups	No. of Ducklings for Test	Survival Rate(%) after Challenge with 3 Level Concentrations of Bacterial Suspensions from 3 Homologous Serotypes Strains			LD <sub>50</sub> Portection Index
<u>Challenge with Serotype 1</u>					
		100×Condensed	10×Condensed	Original	
Immunized	13	25(1/4)	60(3/5)	75(3/4)	PI = 10 <sup>1.66</sup>
Control	12	0(0/4)	0(0/4)	0(0/4)	
<u>Challenge with Serotype 2</u>					
		20×Condensed	10×Condensed	Original	
Immunized	14	60(3/5)	80(4/5)	100(4/4)	PI = 10 <sup>0.875</sup>
Control	12	0(0/4)	0(0/4)	100(4/4)	
<u>Challenge with Serotype 6</u>					
		300×Condensed	30×Condensed	3×Condensed	
Immunized	13	75(3/4)	100(5/5)	100(4/4)	PI = 10 <sup>0.83</sup>
Control	11	50(2/4)	50(2/4)	100(3/3)	

Table 2 : Efficacy of trivalent *R. anatipestifer* bacterin in goslings against homologous serotype challenge.

Groups	No. of Ducklings for Test	Survival Rate(%) after Challenge with 3 Level Concentrations of Bacterial Suspensions from 3 Homologous Serotypes Strains			LD <sub>50</sub> Portection Index
<u>Challenge with Serotype 1</u>					
		10 <sup>3</sup> ×Diluted	10 <sup>4</sup> ×Diluted	10 <sup>5</sup> ×Diluted	
Immunized	13	100(4/4)	100(5/5)	75(3/4)	PI = 10 <sup>1.89</sup>
Control	13	25(1/4)	20(1/5)	75(3/4)	
<u>Challenge with Serotype 2</u>					
		10 <sup>9</sup> ×Diluted	10 <sup>10</sup> ×Diluted		
Immunized	8	100(4/4)	100(4/4)		PI = 10 <sup>0.87</sup>
Control	10	20(1/5)	100(5/5)		
<u>Challenge with Serotype 6</u>					
		<u>Original</u>	<u>10×Diluted</u>	<u>100×Diluted</u>	
Immunized	13	0(0/4)	60(3/5)	75(3/4)	PI = 10 <sup>1.50</sup>
Control	13	0(0/4)	0(0/5)	0(0/4)	

Table 3 : Efficacy of trivalent *R. anatipestifer* bacterin on commercial Pekin duck farm against homologous serotype challenge.

Groups	No. of Ducklings for Test	Survival Rate(%) after Challenge with 3 Level Concentrations of Bacterial Suspensions from 3 Homologous Serotypes Strains			LD <sub>50</sub> Portection Index
<u>Challenge with Serotype 1</u>					
		20×Condensed	2×Condensed	5×Diluted	
Immunized	15	20(1/5)	40(2/5)	80(4/5)	PI = 10 <sup>0.84</sup>
Control	15	0(0/5)	20(1/5)	40(2/5)	
<u>Challenge with Serotype 2</u>					
		30×Condensed	10×Condensed	Original	
Immunized	15	80(4/5)	80(4/5)	100(5/5)	PI = 10 <sup>1.205</sup>
Control	15	0(0/5)	0(0/5)	60(3/5)	
<u>Challenge with Serotype 6</u>					
		400×Condensed	40×Condensed	4×Condensed	
Immunized	15	20(1/5)	80(4/5)	60(3/5)	PI = 10 <sup>1.5</sup>
Control	15	0(0/5)	20(1/5)	20(1/5)	

Table 4 : Efficacy of trivalent *R. anatipestifer* bacterin on commercial Muscovy duck farm against homologous serotype challenge.

Groups	No. of Ducklings for Test	Survival Rate(%) after Challenge with 3 Level Concentrations of Bacterial Suspensions from 3 Homologous Serotypes Strains			LD <sub>50</sub> Portection Index
<u>Challenge with Serotype 1</u>					
		2×Condensed	5×Diluted	50×Diluted	
Immunized	15	100(5/5)	60(3/5)	100(5/5)	PI = 10 <sup>0.73</sup>
Control	15	60(3/5)	60(3/5)	75(1/4)	
<u>Challenge with Serotype 2</u>					
		5×Diluted	50×Diluted	500×Diluted	
Immunized	15	100(5/5)	100(5/5)	100(5/5)	PI = 10 <sup>1.33</sup>
Control	13	0(0/5)	75(3/4)	75(3/4)	
<u>Challenge with Serotype 6</u>					
		100×Condensed	50×Condensed	10×Condensed	
Immunized	13	100(4/4)	100(4/4)	80(4/5)	PI = 10 <sup>0.83</sup>
Control	14	40(2/5)	60(3/5)	75(3/4)	



Table 5 : Efficacy of trivalent *R. anatipestifer* bacterin on commercial goose farm against homologous serotype challenge.

Groups	No. of Goslings for Test	Survival Rate(%) after Challenge with 4 Level Concentrations of Bacterial Suspensions from 3 Homologous Serotypes Strains				LD <sub>50</sub> Portection Index
<u>Challenge with Serotype 1</u>						
		10×Condensed	10×Diluted	10 <sup>3</sup> ×Diluted	10 <sup>5</sup> ×Diluted	
Immunized	16	75(3/4)	75(3/4)	100(4/4)	100(4/4)	PI = 10 <sup>4.17</sup>
Control	16	0(0/4)	50(2/4)	50(2/4)	50(2/4)	
<u>Challenge with Serotype 2</u>						
		10×Condensed	10×Diluted	10 <sup>5</sup> ×Diluted	10 <sup>8</sup> ×Diluted	
Immunized	16	25(1/4)	50(2/4)	100(4/4)	75(3/4)	PI = 10 <sup>6.0</sup>
Control	16	50(2/4)	0(0/4)	0(0/4)	25(1/4)	
<u>Challenge with Serotype 6</u>						
		Original	10×Diluted	100×Diluted		
Immunized	15	40(2/5)	100(5/5)	75(3/4)		PI = 10 <sup>1.47</sup>
Control	14	0(0/5)	40(2/5)	40(2/5)		

Table 6 : Efficacy of trivalent *R. anatipestifer* bacterin in mice and ducklings against homologous serotype challenge.

Groups	No. of Animals for Test	Survival Rate(%) after Challenge with 3 Level Concentrations of Bacterial Suspensions from 3 Homologous Serotypes Strains			LD <sub>50</sub> Portection Index	
<b><u>Challenge with Serotype 1</u></b>						
	<b><u>Mice</u></b>	10×Condensed	Original	10×Diluted	<b>PI=10<sup>0.2</sup></b>	
Immunized	15	0(0/5)	40(2/5)	100(5/5)		
Control	15	0(0/5)	20(1/5)	100(5/5)		
	<b><u>Ducklings</u></b>					
Immunized	15	40(2/5)	80(4/5)	100(5/5)	<b>PI=10<sup>1.78</sup></b>	
Control	13	0(0/5)	60(3/5)	66.7(2/3)		
<b><u>Challenge with Serotype 2</u></b>						
	<b><u>Mice</u></b>	10×Condensed	Original	10×Diluted		<b>PI=10<sup>0.5</sup></b>
Immunized	20	50(5/10)	100(5/5)	100(5/5)		
Control	15	0(0/5)	100(5/5)	100(5/5)		
	<b><u>Ducklings</u></b>					
Immunized	15	60(3/5)	40(2/5)	80(4/5)	<b>PI=10<sup>1.78</sup></b>	
Control	13	20(1/5)	40(2/5)	100(3/3)		
<b><u>Challenge with Serotype 6</u></b>						
	<b><u>Mice</u></b>	10×Condensed	Original	10×Diluted		<b>PI=10<sup>0.75</sup></b>
Immunized	15	80(4/5)	100(5/5)	100(5/5)		
Control	15	20(1/5)	100(5/5)	100(5/5)		
	<b><u>Ducklings</u></b>					
Immunized	15	100(5/5)	100(5/5)	100(5/5)	can't be evaluated	
Control	13	100(5/5)	100(5/5)	100(3/3)		

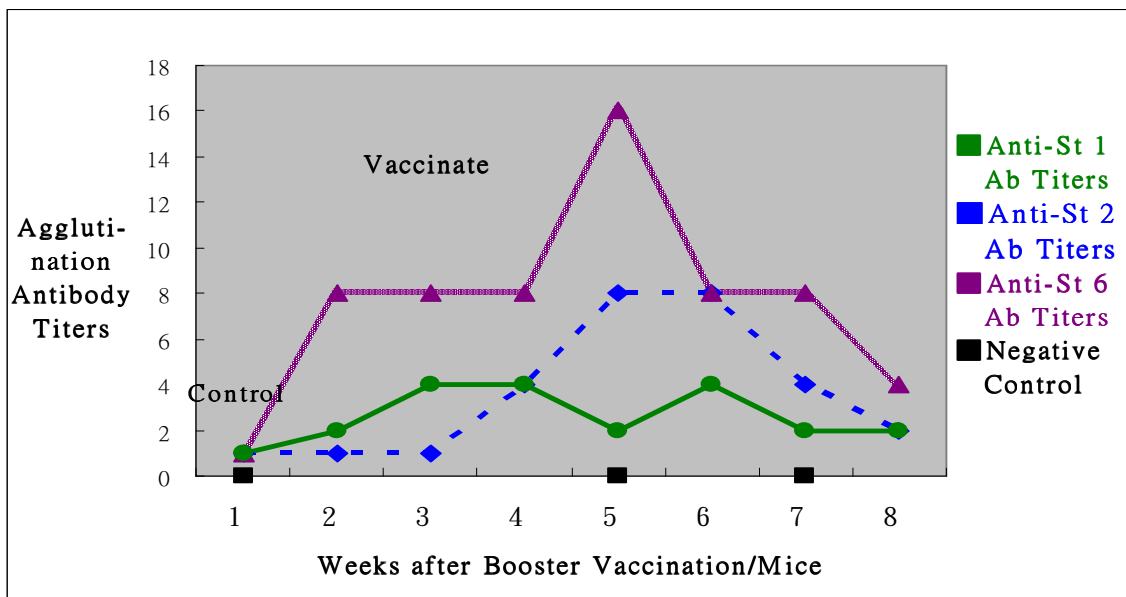


Figure 1 : Detection of *R. anatipestifer* sera antibodies with agglutination test from mice, following administered trivalent bacterin intraperitoneally.

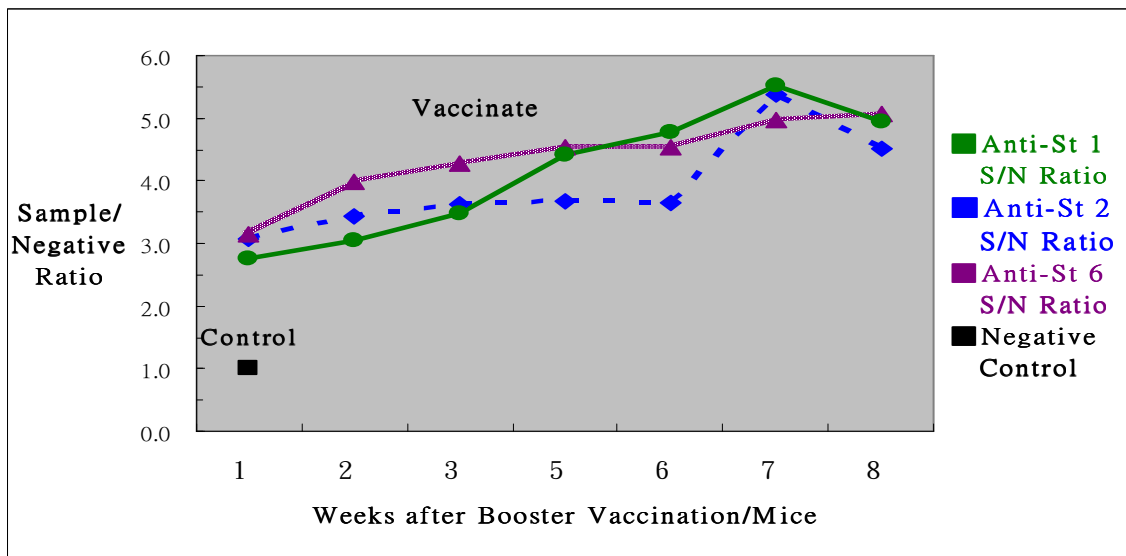


Figure 2 : Detection of *R. anatipestifer* sera antibodies with ELISA from mice, following administered trivalent bacterin intraperitoneally.

# **The Potency Test of Trivalent Inactivated Bacterin Against *Riemerella anatipestifer* Infection : Laboratory and Field Trials**

C. F. Yu\*, C. C. Huang

Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan

**Abstract** To investigate the potency of a trivalent bacterin containing serotypes 1,2 and 6 against *Riemerella anatipestifer* infection, a bacterin was manufactured on a large scale and tested in the laboratory and on waterfowl farms. The Beherens-Karber method was used to evaluate the protection index based on LD<sub>50</sub> from vaccinated and control animals. The results showed that all of the protection indices achieved the national standards of animal drug inspection. This bacterin was found to provide protection against experimental homologous serotype challenges. We performed efficacy tests as well as detection of sera antibody in mice, the results indicating that vaccinated mice exhibit a strong response to immunogens against *Riemerella anatipestifer*.

**Keywords:** *Riemerella anatipestifer*, inactivated bacterin, potency test, field trial, mouse model

