

S a t e t y
 a n d
 P o t e n c y
 o f F i v e -
 i n - o n e
 I n a c t i v a t
 e d
 V a c c i n e
 A g a i n s t
 E r y s i p e l o
 t h r i x
 r h u s i o p a t
 h i a e
 C h a l l e n g e
 i n M i c e
 * C h i n g
 C H E N ,
 H a o - J a n
 K O , T g y -
 F o n g
 C H I O U ,
 J i u n -
 s h o n g

*Corresponding Author

Reprinted from J Chin Soc Vet Sci 27(3):148-155. 2001

L A I ,
 B a o - R e n
 J I A N G a n d
 S h i u - Y u h
 L I N
 N a t i o n a l
 I n s t i t u t e
 f o r A n i m a l
 H e a l t h ,
 C o u n c i l o f
 A g r i c u l t u r e
 e ,
 E x e c u t i v e
 Y u a n
 T a n s u i ,
 T a i p e i ,
 T a i w a n
 2 5 1 , R O C
 (R e c e i v e d :
 O c t o b e r 5 ,
 2 0 0 0 .
 A c c e p t e d :
 A p r i l 7 ,
 2 0 0 1 .)

A B S T R A C T
 A f i v e - i n -
 o n e
 i n a c t i v a t e
 d v a c c i n e
 c o n s i s t i n g
 o f
B o r d e t e l l
a b r o n c h e
p t e r i c a (**B b**) ,
P a s t e u r e l l
a u t o c i d a
 (**P m**) ,

A c t i n o b a c t e r i a
i l l u s t r a t e d
p l e u r o p n e
u m o n i a e
(A p p) ,
E r y s i p e l o t
h r i x i o p a t
r h u s i o p a t
h i - a e (E r)
a n d
p s e u d o r a b
i e s v i r u s
w a s
t o
i m m u n i z e
m i c e . I n
t h i s a r c h ,
r e s e a r c h e
b o t h e - i n -
f i v e
o n e
i n a c t i v a t e
d v a c c i n e
a n d t h e
m o n o v a l e n
t
E r y s i p e l o t
h r i x i o p a t
r h u s i o p a t
b a c t e r i n
w e r e
t e s t e d
w i t h o u t w o
m e t h o d s :
N a t i o n a l
S t a n d a r d
B i o s a y
R e g u l a t i o
n s (N S B R)
a n d
m o d i f i e d
m e t h o d .
P o - t e n c y
t e s t s
s t s
i n

d u p l i c a t e
 a g a i n s t
 E r y s i p e l o t
 h r i x s i o p a t h
 r h u s i o p a t h
 h i a e w i t h
 0 . 5 m L o f
 t h e
 t i m e s
 d i l u t e d
 f i v e - i n -
 o n e c c i n e i n
 m i c e ,
 a d m i n i s t e r
 r e d r a p e r i t
 i n n e j e c t (I P)
 m e t h o d
 p r o t e c t i o n
 i n d e x e s o f
 1 0 ² . 4 ²
 (2 6 3) a n d
 1 0 ² . 7
 (5 0 1 . 2) ,
 r e s p e c t i v e
 l y .
 H o w e v e r ,
 t h e s a m e
 d o s a g e
 i n j e c t e d
 s u b c u -
 t a n e o u s l y
 h a d w e r y
 l o w e r
 u n d e r t h e c t a
 b l e
 p r o t e c t i o n
 W h e n u s i n g
 t h e N S B R
 m e t h o d o f
 a d m i n i s t r e
 r - i t
 w i t h 0
 m L b y

s u b c u t a n e
 o u s
 i n j e c t i o n
 (S C)
 r e s u l t e d
 i n
 p r o t e c t i o n a
 i n d e x
 1 0 0 . 8 2
 (6 . 6) a n d
 1 0 0 . 9
 (7 . 9) . T h e
 p r o t e c t i o n
 i n d e x e s
 w e r e
 i n c r e a s e d
 t o 1 0 1 . 3 1
 (2 0 . 4) a n d
 1 0 4 . 1 6
 (1 4 4 5 4 . 4)
 r e s p e c t i v e
 - l y . W h e n
 t h e s a m e
 d o s a g e
 a d m i n i s t r e d
 r e d b y I P
 m e t h o d
 O b v i o u s l y ,
 t h e s e
 r e s u l t s
 i n d i c a t e d
 t h a t
 v a c c i n a t i o n
 n u s i n g
 t h e I P
 m e t h o d
 m o r e
 e f f e c t i v e
 t h a n
 S C m e t h o d .
 T h e r e
 s o m e
 l o s s e s
 m i c r o b i o l o g i c a l
 a n d
 u n s a b l e

o f s a f e t y ,
 t h a t c m i g h t
 b e h c a u s e d
 b y h e r t h e
 h i g h e r t r a t
 c o n c e n t r a t
 i o n o f t h e
 b a c t e r i a .
 O n t h e h a n d ,
 o t h e r n c y
 t h e e n c y
 p o t e n t i n
 t e s t e f o r
 m i c e f o r
 t h e t r i a l
 o f
E y s i p *p* e l o t
h r i x r h u -
s i o p a t h i a e
 m o n o v a l e n
 t b a c t e r i n
 w i t h l 0 -
 0 . 5 m L
 a d m i n i s t e
 r e d b y I P
 m e t h o d
 a
 p r o t e c t i o n
 i n d e x 9 9
 1 0 2 .
 (9 7 7 . 2) . T
 h e s a m e
 d o s a g e
 a d m i n i s t e
 r e d b y S C
 m e t h o d
 a
 p r o t e c t i o n
 i n d e x 1 5
 1 0 1 .
 (1 . 4 1) .
 W h e n u s i n g
 t h e N S B R
 p r o c e d u r e
 w i t h a

d o s a g e o f
 0 . 2 m L
 (1 : 1
 d i l u t e d) ,
 t h e
 p o t e n c y
 t e s t
 r e s u l t e d
 f r o m t h e
 I P m e t h o d
 w a s
 b e t t e r
 t h a n t h a t
 f r o m t h e
 S c m e t h o d .
 B a s e d o n
 t h e s e
 f i n d - i n g s ,
 w e s u g g e s t
 t h a t t h e
 p o t e n c y
 p r o c e d u r e
 f o r t h e
E r y s i p
h r i x
r h u s i o p a t
h i a e
 b a c t e r i a
 n e e d s
 b e d i f f e r e n t
 a c c o r d i n g
 t o n e t h e
 i m m u n e
 m e t h o d s
 u s e d .
 s u g g e s t
 p r o - r e s
 c e d u r e s
 a r e l l o w s .
 F i n a c t i v a t h e
 d b a c t e r i n

s h o u l d b e
 d i l u t e d l 0
 t i m e s . ,
 S e c o n d ,
 a d -
 m i n i s t e r
 0 . 5 m L o f
 t h e
 d i l u t e d
 b a c t e r i n
 b y e s i n g
 t h e I P
 m e t h o d .
 A f t e r l 4
 d a y s ,
 c h a l l e n g e
 b o t h e
 e x p e r i m e n t
 t a l a n d
 c o n t r o l
 g r o u p s
 m i c r o a n d
 o b s e r v e
 f o r t w o
 w e e k s .
 D u r i n g
 t h e i s o d ,
 p e r i o d ,
 r e c o l t s
 b o t h t e h e
 i m m u n i z e d
 a n d t h e
 c o n t r o l
 g r o u p s .
 T h e n ,
 c a l c u l a t e
 t h e L D₅₀
 u s i n g
 R e e d
 M u n c h
 m e t h o d .
 T h e r e s u l t
 o f t e s t
 p r o t e c t i o n
 i n d e x f o r

0 2 - 2 6 2 1
 2 1 1 1 e x t .
 2 3 0 , F A X :
 0 2 - 2 6 2 2
 5 3 4 5 , E -
 m a i l : B i o p
 r o d @
 m a i l . t a h r i
 . g o v . t w]

K e y w o r d s :

E r y s i p

o t h e r i x
r h u s i o p a
t h i a e ,
M o n o v a l e
n t
b a c t e r i n ,
F i v e - i n -
o n e
v a c c i n e ,
M o d i f i e d
b i o a s s a y
m e t h o d

I N T R
O D
U C
T I
O N

i o p a
t h i a
e
 (E R .
) ,
 w h i c
 h i s
 d i s -
 t r i b
 u t e d
 w o r l
 d i d
 e i n
 p i g
 f a r m
 s .
 T h i s
 o r g a
 n i s m
 c a u s
 e s

S w i n
 e e
 e r y s
 i p e l
 a s
 (S E)
 i s
 c a u s
 e d b y
E y r s
i p e l
o t h e r
i x
r h u s

a c u t b e e n
 e i s o l
 s e p t a t e d
 i c e m f r o m
 i a , t h e
 u r t i b o d y
 c a r i o r g a
 a l s o f
 l e s i m a n y
 o n s , s p e c
 e n d o i e s
 - c a r d w i l d
 i t i s a n d
 a n d m e
 p o l y s t i c
 a r t h m m
 r i t i a l s
 s i n a n d
 p i g s b i r d
 [1 1] . s
 I t [1 3 ,
 a l s o 1 4 , 1
 c a u s 5] .
 e s I n
 p o l y h u m a
 a r t h n s ,
 r i t i E r .
 s i n c a u s
 s h e e e s
 p , e r y s
 l a m b i p e l
 s a n d o i d ,
 s e r i a l o c a
 o u s t l s k i n
 d e a t l e s i
 h o s s o n
 - e s o n
 i n t h a t
 t u r k o c -
 e y . c u r s
 T h i s m a i n
 o r g a n a s
 n i s m a n s
 h a s o c c u

p a t i i n e
 o n a l a n d
 d i s e a n t i
 a s e b i o t
 i n i c
 p e o p w e r e
 l e e d e v e
 [6] . l o p e
 T h e d ,
 o r g a t h e
 n i s m o u t b
 c a n r e a k
 o c c a o f
 s i o n s w i n
 a l l y e r y s
 b e i p e l
 i s o l a s
 a t e d h a s
 f r o m a b e e n
 h u m a r e m a
 n c a s e r k a b
 s o f l y
 e n d o r e d u
 c a r d c e d
 i t i s [1 2] .
 a n d I n e v
 r a r e i t a b
 l y ,
 c a u s t h e r
 e a r e
 a c u t a l w a
 e s e p t s o m e
 i c e m c a s e
 i a s e r e p o
 d i s e r t e d
 a s e i n
 [1 6] . T a i w

 S i n c e
 e t h e
 a t t e
 n u a t
 e d
 v a c c

h a n d , a t e d
a c c o v a c c
r d i n i n e
g t o i n
t h e p i g s .
r e p o T h e r
r t b y e f o r
L u e t e , i n
a l . o r d e
[7] , r t o
a n t i m a k e
m i c r t h e
o b i a m o n o
l v a l e
a d d i n t o r
t i v e p o l y
s v a l e
c o n t n t
a i n i i n a c
n g t i v a
a m o x t e d
i c i l b a c -
l i n t e r i
a n d n s
c h l o w i l l
r a m p b e
h e n i m o r e
c o l a c c e
u s e d p t a b
i n e d l e t o
f e e d t h e
c o u l f a r m
d b e e r s ,
i n t e t h e
r f e r s a f e
r e d t y
w i t h a n d
t h e i m m u
i m m u
n i t y e f f i
e f f e c y
c t s v a l
o f u a t i
t h e o n
a t - a n d
t e n u e x p l

o - a s e
r a t i p i g s
o n o f i n a
t h e p i g
b a c t f a r m
e r i n i n
s a r e T a i -
e s s e w a n ,
n t i a w h e r
l . e a n

M A T E
R I A L
S
H A E N D H
O D S

M o n o
v a l e
n t
b a c t
e r i n
p r e p
a r a t
i o n
A n
e r y s
i p e l
o t h r
i x
r h u s
i o p a
t h i a
e
s t r a
i n
(l a
) ,
w h i c
h
w a s
i s o l
a t e d
f r o m
d i s e

a s e
p i g s
i n
p i g
f a r m
i n
T a i -
w a n ,
w h e r
e a n
o u t b
r e a k
o f
e r y s
i p e l
a s
o c c u
r r e d
[2] .
T h e
b a c t
e r i a
l
s e r o
t y p e
l a
s t r a
i n
w a s
u s e d
f o r
c u l t
i -
v a t i
o n i n
T y r p
t o s e
p h o s
p h a t
e
b r o t
h
(D i f
c o)
c o n -
t a i n

i	n	g	t	i	-	
0	.	l	v	a	t	e
%			d			
T	w	e	e	w	i	t
n		8	0	a		h
(M	e	r	f	i	n
c	k	,		l		a
G	e	r	m	c	o	n
a	n	y)	e	n	c
w	i	t	h	a	t	r
p	H			n		o
a	d	j	u	0	.	f
s	t	e	d		2	%
t	o			f	r	m
7	.	6		a	l	n
a	n	d		(M	e
t	h	e		c	k	,
c	u	l	t	G	e	r
u	r	e		a	n	y
w	a	s		a	n	d
s	h	a	k	p	r	e
e	n		a	e	r	v
3	7	°C	t	d		e
f	o	r		w	i	t
l	6			0	.	h
h	r	s		%	0	l
[2]	T	h	i
T	h	e		e	r	m
b	a	c	t	a	l	s
e	r	i	a	(S	i
l				g	a	m
c	e	l	l	U	S	,
c	o	n	c	A		A
e	n	t	r	l	0)
a	-			(V	%
t	i	o	n	m	i	/
w	a	s		d	x	V
a	d	j	u	a	j	e
s	t	e	d	v	a	u
t	o		3	o	f	t
x				e	q	a
l	0	¹	¹	l	u	
C	F	U	/	v	o	l
m	L			m	e	o
a	n	d		E	m	f
i	n	a	c	s	i	l
				n	g	e

(M	V	P	,	i	n	s	
U	S	A)	u	s	e	d
+					<i>B</i>	<i>o</i>	<i>r</i>	<i>d</i>
A	l	-			<i>e</i>	<i>t</i>	<i>e</i>	<i>l</i>
g	e	l			<i>l</i>	<i>a</i>		
(p	r	<i>b</i>	<i>r</i>	<i>o</i>	<i>n</i>
e	p	a	r		<i>c</i>	<i>h</i>	<i>i</i>	<i>s</i>
e	d		i	n	<i>e</i>	<i>p</i>	<i>t</i>	<i>i</i>
o	u	r			<i>c</i>	<i>a</i>		
l	a	b	o		(B	b	,
r	a	t	o		s	t	r	a
r	y)	,	i	n		
w	h	i	c		l	2	-	l
h		w	a	s	p	h	a	s
a	d	d	e		e		l)
d			t	o	<i>P</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>t</i>
p	r	e	p		<i>e</i>	<i>u</i>	<i>r</i>	<i>e</i>
a	r	e			<i>l</i>	<i>l</i>	<i>a</i>	
t	h	e			<i>m</i>	<i>u</i>	<i>l</i>	<i>t</i>
m	o	n	o		<i>o</i>	<i>c</i>	<i>i</i>	<i>d</i>
v	a	l	e		<i>a</i>			
n	t				(<i>P</i>	<i>m</i>
b	a	c	-		t	y	p	e
t	e	r	i		A			
n	,				a	n	d	
t	h	e	n		<i>P</i>	<i>m</i>	-	
s	t	o	r		T	y	p	e
e	d		a	t	D)
4	°C				<i>A</i>	<i>c</i>	<i>t</i>	<i>i</i>
b	e	f	o		<i>n</i>	<i>o</i>	<i>b</i>	<i>a</i>
r	e				<i>c</i>	<i>i</i>	<i>l</i>	<i>l</i>
u	s	e	.		<i>u</i>	<i>s</i>		
					<i>p</i>	<i>l</i>	<i>e</i>	<i>u</i>
F	i	v	e		<i>r</i>	<i>o</i>	<i>p</i>	<i>n</i>
-	i	n	-		<i>e</i>	<i>u</i>	<i>m</i>	<i>o</i>
o	n	e			<i>n</i>	<i>i</i>	<i>a</i>	<i>e</i>
p	o	l	y		(<i>A</i>
v	a	l	e		<i>p</i>	-		<i>p</i>
n	t				s	e	r	o
v	a	c	c		v	a	r	-
i	n	e			l		a	n
p	r	e	p		<i>A</i>	<i>p</i>	<i>p</i>	-
a	r	a	t		s	e	r	o
i	o	n		:	v	a	r	-
S	e	e	d		5)
s	t	r	a		<i>E</i>	<i>r</i>	<i>y</i>	<i>s</i>

i p e l m e n t
o t h r i o n e
i x d
r h u s a b o v
i o p a e
t h i a w e r e
e u s e d
 (E r . f o r t
 S e r o b a c t
 v a r - e r i a
 l a) , l
 p s e u c e l l
 d o r a s
 b i e s s u s p
 v i r u e n s i
 s o n d /
 (T N o r u
 L s t r a
 i n) . s u s p
 e n s i
 B a c t
 e r i a
 l e l
 c , l l
 s i r u
 v u s p
 s n s i
 o n d
 a i v e
 f i n -
 - i n e
 o n a c
 i n i a
 t i e d c
 t v c c
 v a e p
 i n r a t
 p r e
 a r a
 i o n
 T h e
 s t a i
 n s

erysipelas vaccine. The vaccine was prepared from a strain of *Streptococcus pyogenes* (Erysipelothrix rhusiopathiae) which was isolated from a patient with erysipelas. The vaccine was prepared by growing the bacteria in a medium containing 1% yeast extract and 1% peptone. The bacteria were then killed by heating at 60°C for 30 minutes. The vaccine was then inactivated by formalin and adjuvanted with aluminium hydroxide. The vaccine was then stored at 4°C until use.

t i v a t e r i
 t e d n s
 c o m b a g a i
 i n a t n s t
 i o n c c *E r y s*
 v a c c *i p e l*
 i n e o t h r
 w a s i x
 t h e r h u s
 s a m e i o p a
 a s t h i a
 t h a t e .
 d e s c W a s
 r i b e c o n d
 d b y u c t e
 C h e n
e t l .
 [3 , t o
 4] .
S a f e
t y
a n d
p o t e
n c y
t e s t
s
 T h e
 s a f e
 t y
 a n d
 p o -
 t e n c
 y s t
 s o f
 t h e
 m o n o
 v a l e
 n t
 a n d
 p o l y
 v a l e
 n t
 b a c -

t e r i
 n s
 a g a i
 n s t
E r y s
i p e l
o t h r
i x
r h u s
i o p a
t h i a
e .
 W a s
 c o n d
 u c t e
 d
 a c c o
 r d i n
 g t o
 t h e
 m e t h
 o d s
 o f
 b o t h
 N a -
 t i o n
 a l
 S t a n
 d a r d
 B i o a
 s s a y
 R e g u
 l a t i
 o n s
 (N S B
 R)
 f o r
 a n i m
 a l
 d r u g
 s
 [1]
 a n d
 m o d i
 f i e d

e x p e e s
 r i m e w e r e
 n t a l a s
 m e t h f o l l
 o d s d .
 u s e d F i r s
 b y u s
 i n
 t h i s
 s t u d
 y . I n
 t h e
 N S B R
 m e t h
 o d ,
 t h e
 m i c e
 w a s c
 v a c c
 i n e d
 w i t h
 0 . 1
 m L
 (o r
 0 . 2
 m L
 o f
 1 : 1
 d i l u
 t e d)
 v a c c
 i n e
 u s i n
 g S C
 a n d /
 o r I P
 i n j e
 c t i o
 n s
 m e t h
 o d s .
 O u r
 m o d i
 f i e d
 p r o c
 e d u r

e s
 w e r e
 a s
 f o l l
 o w s .
 F i r s
 t ,
 t h e
 i n a c
 t i v a
 t e d
 v a c c
 i n e
 w a s
 d i l u
 t e d
 1 0
 t i m e
 s ,
 a n d
 0 . 5
 m L
 o f
 t h e
 s a m e
 l e
 w a s
 a d m
 i n i s
 t e r e
 d a c
 c o u
 s e
 u s i
 n g I P
 a n d S C
 o r f t e
 r a y s
 t h e
 e x p e
 r i m e
 n t a l

c o n t
 r o l
 g r o u
 p s o f
 m i c e
 w e r e
 c h a l
 l e n g
 e d
 w i t h
 v a r i
 o u s
 c o n c
 e n t r
 a t i o
 n s o f
 b a c
 t e r i
 a l l
 c e l l
 s u s p
 e n s i
 o n d
 a n s e
 r v e d
 f o r i
 p e r i
 o d o f
 t w o
 w e e k
 s .
 D u r i
 n g
 t h a t
 p e r i
 o d ,
 t h e
 s t a t
 u s o f
 t h e
 i m m
 u n e
 d a n
 d t h e

c o n t
 r o l
 g r o u
 p s
 w a s
 r e c o
 r d e d
 T h e
 t h e
 L D₅₀
 w a s
 c a l c
 u l a t
 e d ,
 u s i n
 g t h e
 R e d
 & M
 c h e n
 m e t h
 o d .
 T h e
 p r o t
 e c t i
 o n d
 e x f o r
 t h e
 i m m
 u n i
 z e d
 g r o u
 p s h o
 u b e
 l d q u
 a t o
 o r e a
 t e r
 t h a n
 10⁶ .
 T i t r

a t i o a c c o
 n o f r d i n
 g r o w g t o
 t h
 a g g l m e t h
 u t i n o d
 a t i o d e s c
 n t i t e r i b e
 r s S a w a y
 T h e d a e t
 g r o w a l .
 t h [1 0]
 a g g l a n d
 u t i n C h e n
 a t i o e t
 n a l .
 (G A) [2] .
 t e s t A
 f o r l o c a
 t h e l l y
 a n t i i s o l
 s e r a t e d
 c o l l .
 e c t e S t r a
 d f r o m (l a)
 i m m u w a s
 n i z e u s e d
 d a i c e , t h e
 a t a n t i
 v a r i g e n
 o u s f o r
 i m m u t h e s
 - e t e s t
 n i z a
 t i o n
 p e r i
 o d s
 (w e e
 k)
 w a s
 c a r r
 i e d
 o u t

R E S U
 L T S
 E x p e
 r i m e
 n t a l
 r e s u

l	t			n	i	z	a	
f	r	o	m	t	i	o	n	
t	h	e		r	o	u	t	
s	a	f	e	e	s		o	f
t	y			t	h	e		
t	e	s	t	i	n	a	c	
o	f			t	i	v	a	
b	o	t	h	t	e	d		
i	n	a	c	<i>B</i>	<i>o</i>	<i>r</i>	<i>d</i>	
t	i	v	a	<i>e</i>	<i>t</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	
t	e	d		<i>l</i>	<i>a</i>	,		
f	i	v	e	<i>P</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>t</i>	
-	i	n	-	<i>e</i>	<i>u</i>	<i>r</i>	<i>l</i>	
o	n	e		<i>l</i>	<i>a</i>	,		
P	o	l	y	<i>A</i>	<i>c</i>	<i>t</i>	<i>i</i>	
v	a	l	e	<i>n</i>	<i>o</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	
n	t			<i>c</i>	<i>i</i>	<i>l</i>	<i>l</i>	
v	a	c	-	<i>u</i>	<i>s</i>	,		
c	i	n	e	<i>E</i>	<i>r</i>	<i>y</i>	<i>s</i>	
a	n	d		<i>i</i>	<i>p</i>	<i>e</i>	-	
a	d	j	u	<i>l</i>	<i>o</i>	<i>t</i>	<i>h</i>	
v	a	n	t	<i>r</i>	<i>i</i>	<i>x</i>		
s				a	n	d		
a	l	o	n	p	s	e	u	
e				d	o	r	a	
F	o	l	l	b	i	e	s	
o	w	i	n	v	i	r	u	
g		t	h	s				e
i	n	o	c	f	i	v	e	
u	-			-	i	n	-	
l	a	t	i	o	n	e		
o	n		o	c	o	m	b	
v	a	r	i	i	n	a	-	
o	u	s		t	i	o	n	
c	o	n	c	v	a	c	c	
e	n	t	r	i	n	e	,	
a	t	i	o	t	h	e		
n	s			m	i	c	e	
a	n	d		w	e	r	e	
v	o	l	u	o	b	s	e	
m	e	s		r	v	e	d	
o	f			f	o	r		
v	a	c	-	t	w	o		
c	i	n	e	w	e	e	k	
a	n	d		s	.			
i	m	m	u	T	h	e		

r e s u b y
 l t s i n -
 i n d i t r a p
 c a t e e r i t
 d o n e a
 t h a t l
 t h e i n j e
 m o u s c t i o
 e n
 c a s u (g r
 a l - o u p
 t i e s A)
 w e r e w a s
 d i f f t h e
 e r e n l o w e
 t s t .
 a m o n O n
 g t h e t h e
 f o u r o t h e
 g r o u
 p s o f h a n d ,
 m i c e m i c e
 i n o c o f o u
 u l a t g r o u
 e d . p s C
 T h e a n d
 c a s u D
 a l t y w e r e
 i n c e i n o c
 m h i c u l a t
 w h i c e d
 u s i n
 g I P
 i n o c a n d /
 u - o r S C
 l a t e a c c o
 d w i t h g d i n
 0 . 5 t h e t o
 m L N S -
 o f B R ,
 l 0 - l i
 d i l u r
 t e d c a s u
 v a c c a l t i
 i n e e s

w e r e n t s
 h i g h a l o n
 e r e ,
 t h a n s h o w
 t h o s e d
 e o f a p p a
 g r o u r e n t
 p s A h a r d
 a n d e n i n
 B . g ,
 T h e s w e l
 r e s u l i n g
 l t s o r
 a r e u l c e
 d e t a a t
 i l e d t h e
 i n n o c
 T a b l u l a t
 e i o n e
 l . I n s i t e
 t h e s .
 a b s o S i d e
 r p t i r e a c
 o n -
 t e s t t i o n
 s , w a s
 m i c e n o t
 w h i c o b s e
 h r v e d
 w e r e i n
 i n j e t h e
 c t - m i c e
 e d i n j e
 S C c t e d
 w i t h I P
 f i v e e i t h
 - i n - e r
 o n e w i t h
 c o m b 0 . 2
 i n a t m L
 i o n o f
 v a c c l : l
 i n e d i l u
 a n d t e d
 a d - b y
 j u v a p h y s

i o l o A l -
 g i c a g e l
 l o r
 s a l i E m u l
 n e s i g e
 o r
 w i t h a d j u
 0 . 5 v a n t
 m L
 o f
 l 0 - l e d i d
 d i l u n o t
 t e d c a n y
 v a c c s . o b s e
 i n e s . r v a b
 B u t , l e
 t h e
 m i c e s i d e
 v a c c c r e a c
 i n a t t i o n .
 e d
 w i t h l i n g
 h i g h c o
 c o n c o
 e n t r
 a t i o f
 n o f
 v a c c
 i n e
 h a d
 h i g h
 e r s u
 c a l t y
 a l t y e .
 r a t e . o f
 O n e m i c e
 t h e
 o t h e
 r a n d , w i t h
 t h e
 m i c e
 i n o c
 u l t
 e d
 w i t h

h	a	d		l	e	n	g
s	o	m	e	e	d		
i	n	f	l	w	i	t	h
u	e	n	c	l	i	v	i
e	.			n	g		
T	h	e		c	e	l	l
d	e	t	a	s			o
i	l	e	d	E	.		f
r	e	s	u	r	h	u	s
l	t	s		i	o	p	a
a	r	e		t	h	i	a
l	i	s	t	e			
e	d		i	(T
T	a	b	l	b	l	e	a
e		3	.	4)	.	
O	n						
t	h	e		G	r	o	w
o	t	h	e	t	h		
r				a	g	g	l
h	a	n	d	u	t	i	n
t	h	e		a	t	i	o
m	o	n	o	n			
v	a	l	e	t	i	t	e
n	t			r	s		o
v	a	c	c	s	e	r	a
i	n	e		o	f		
o	f			m	i	c	e
E	y	s	i	i	n	o	c
p	e	l	o	u	l	a	t
t	h	r	i	e	d		
x				w	i	t	h
r	h	u	s	E	r	y	s
i	o	p	a	i	p	e	l
t	h	i	a	o	t	h	r
e		w	a	i	x		
a	s			r	h	u	s
p	o	t	e	i	o	p	a
n	t		a	t	h	i	-
t	h	e		a	e	,	
p	o	l	y	f	i	v	e
v	a	l	e	-	i	n	-
n	t			o	n	e	
v	a	c	c	a	n	d	
i	n	e		m	o	n	o
w	h	e	n	v	a	l	e
c	h	a	l	n	t		

v	a	c	c		v	a	c	c	
i	n	e	s		i	n	a	t	
T	h	e			e	d		b	y
p	o	o	l		i	n	t	r	
s	e	r	a		a	p	e	r	
o	f			a	i	t	o	n	
r	a	n	d		e	a	l		
o	m				i	n	j	e	
s	a	m	p		c	t	i	o	
l	i	n	g		n				
o	f				w	e	r	e	
m	i	c	e		h	i	g	h	
a	t				e	r			
v	a	r	i		t	h	a	n	
-		o	u	s	t	h	o	s	
i	m	m	u		e				
n	i	z	e		s	u	b	c	
d					u	t	a	n	
s	t	a	g		e	o	u	s	
e	s				i	n	j	e	
(w	e	e		c	-			
k)				t	i	o	n	
w	e	r	e		w	i	t	h	
u	s	e	d		t	h	e		
f	o	r			s	a	m	e	
g	r	o	w		d	o	s	a	
t	h				g	e	.		
a	g	g	l		T	h	e		
u	t	i	n		d	e	t	a	
a	t	i	o		i	l	s		
n					a	r	e		
t	e	s	t		l	i	s	t	
s	.				e	d		i	n
T	h	e			T	a	b	l	
r	e	s	u		e		5	.	
l	t	s							
i	n	d	i		D	I	S	C	
c	a	t	e		U	S	S	I	
d						O	N		
t	h	a	t						
t	h	e							
G	A				A	c	c	o	
t	i	t	e		r	d	i	n	
r	s		o	f	g			t	o
t	h	e			t	h	e		
m	i	c	e		f	e	d	e	

ral of an
 regu ar
 lator
 on s
 No .
 113 .
 67
 gove
 rnin
 g an
 alim
 ann
 d
 ann
 im
 al
 p
 uc
 of
 th
 e
 U
 n
 i
 t
 e
 d
 S
 t
 a
 t
 e
 s
 ,
 T
 h
 e
 E
 r
 y
 s
 i
 p
 e
 l
 o
 t
 h
 r
 i
 x
 r
 h
 u
 s
 i
 o
 p
 a
 t
 h
 i
 a
 e
 (E
 r
 c
 c
 .)
 v
 a
 c
 c
 i
 n
 e
 s
 h
 a
 l
 b
 e
 p
 r
 e
 p
 a
 r
 e
 d
 a
 s
 a
 d
 e
 s
 i
 c
 c
 a
 t
 e
 d
 i
 v
 e
 c
 u
 l
 t
 u
 r
 e
 o
 f
 a
 v
 i
 r
 u
 l
 e
 n
 t
 o
 d
 i
 f
 i
 e
 d
 s
 t
 r
 a
 i
 n
 .
 E
 r
 .
 T
 h
 e
 M
 a
 s
 t
 e
 r
 S
 e
 e
 d
 w
 h
 i
 c
 h
 h
 a
 s
 b
 e
 e
 n
 e
 s
 s
 t
 a
 b
 l
 i
 s
 h
 e
 d
 a
 s
 p
 u
 r
 e
 ,
 s
 a
 f
 e
 ,
 a
 n
 d
 i
 m
 m
 u
 n
 o
 g
 e
 n
 i
 c
 s
 h
 a
 l
 l
 b
 e
 u
 s
 e
 d
 f
 o
 r
 v
 a
 c
 c
 i
 n
 e
 p
 r
 o
 d
 u
 c
 t
 i
 o
 n
 .
 O
 n
 t
 h
 e
 o
 t
 h
 e
 r
 h
 a
 n
 d
 ,
 r
 e
 g
 u
 l
 a
 t
 i
 o
 n
 s
 .
 N
 o
 .
 113 .
 119

i n d i t e s t
 c a t e m e t h
 s o d .
 t h a t D o s a
 t h e g e
 b a c t r e q u
 e r i n i r e d
 s h a l f o r
 l b e m o u s
 p r o d e i s
 u c e d l / l 0
 f r o m o f
 a t h e
 c u l t l e a s
 u r e t
 o f d o s a
 E r . g e
 , t h a r e c o
 t h a s m m e n
 b e e n d e d
 i n a c o n
 - t i v a l a b e
 t e d l f o r
 a n d s w i n
 i s e . I f
 n o n t t h e
 o x i c r e l a
 (9
 C F R) p o t e
 [5] . n c y
 I n (R P)
 U S A , o f
 t h e t h e
 E r . u n -
 B a c t k n o w
 e r i n n
 p o t e g r o u
 n c y p w a s
 t e s t m o r e
 u s e s t h a n
 m o u s 0 . 6
 e (t h e
 p r o t r e c i
 e c t i p r o c
 o n a l o f

5 0 t h e
 p e r c r e g u
 e n t l a t i
 e n d p o n s
 o i n t u s e d
 d i l u i n
 t i o n T a i w
 o f a n .
 u n k n
 o w n / O n
 r e c i t h e
 p r o - o t h e
 c a l r
 o f 5 0 h a n d ,
 p e r c i n
 e n t J a p a
 e n d p
 o i n t t h e
 o f N o .
 s t a n l 4 2 4
 d a r d (9 /
) , l 2
 t h e l 9 9 7)
 s e r i a n n o
 a l u n c e
 b e i n m e n t
 g o f
 t e s t t h e
 e d M i n i
 w o u l s t r y
 d b e o f
 c o n s A g r i
 i d e r -
 e d a s c u l -
 s a t i t u r e ,
 s f a c F o r e
 t o r y s t r y
 [5] . a n d
 T h e r F i s h
 e f o r e r i e
 e , i t s [8]
 i s
 d i f f u l t
 e r e n t
 f r o m (l)

t h e l d
 p o t e u s e a
 n c y m o u s
 t e s t e
 o f m o d e
 i n a c l o f
 t i v a l 0
 t e d m i c e ;
 E r . e a c h
 B a c t m o u s
 e r i n e
 s h o u
T a b l e 1 .
 s a f e l y
 t e s t s i n
 m i c e a f t e r
 i n o c u l a t e d
 w i t h
 d i f f e r e n t
 c o n c e n t r a t
 i o n s o f
 v a c c i n e
 a n d
 i m m u n i z a t i o n
 o n r o u t e s
 o f
 B o r d e t e l l a
 b r o n c h i s e p
 t i c a ,
 P a s t e u r e l l
 a
 m u l t o c i d a ,
 A c t i n o b a c i
 l l u s
 p l e u r o p n e u
 m o n i a e ,
 E r y s i p e l o t
 h r i x
 r h u s i o p a t h
 i a e a n d
 p s e u d o r a b i
 e s v i r u s
 f i v e - i n -
 o n e
 i n a c t i v a t e
 d v a c c i n e .

							N o . o f m i c e u s e d f o r n e x t c h a l l e n g e
G r o u p	D o s a g e (m L)	R o u t e o f v a c c i n a t i o n	T e s t N o .	N o . o f m i c e u s e d	N o . o f c a s u a l t y	M o r t a l i t y (%)	
A	1 : 1 0 0 .	I P	a	5 0	0	0	5 0
	5 m L			5 5	1	1 . 8	5 4
	1 : 1 0 0 .			5 0	2	4 . 0	4 8
	5 m			5 5	3	5 . 5	5 2
B		S C	b				

	L								
	1						2		
	:		a	5	1	6	3		
	1			0	3	.	7		
	0					0			
	.					1			
C	2	I		5		6	4		
	m	P	b	5	9	.	6		
	L					4			
	1					1			
	:		a	5		0	4		
	1			0	5	.	5		
	0					0			
	.					1			
D	2	S		5		2	4		
	m	C	b	5	7	.	8		
	L					7			
a			:			D	a	t	e
o	f						t	h	e
f	i	r	s	t					
e	x	p	e	r	i	m	e	n	t
					I	P			:
I	n	t	r	a	p	e	r	i	t
o	n	e	a	l					
i	n	j	e	c	t	i	o	n	
b			:			D	a	t	e
o	f						t	h	e
s	e	c	o	n	d				
e	x	p	e	r	i	m	e	n	t
S	C								:
S	u	b	c	u	t	a	n	e	o
u	s								
i	n	j	e	c	t	i	o	n	
T	a	b	l	e				2	.
R	e	s	u	l	t	s		o	f
t	h	e							
a	b	s	o	r	p	t	i	o	n
t	e	s	t					i	n
m	i	c	e				f	o	r
t	h	e							
<i>B</i>	<i>o</i>	<i>r</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>t</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>l</i>	<i>a</i>
<i>P</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>t</i>	<i>e</i>	<i>u</i>	<i>r</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>l</i>
<i>a</i>	,								

A	c	t	i	n	o	b	a	c	i
l	l	u	s	,					
E	r	y	s	i	p	e	l	o	t
h	r	i	x				a	n	d
p	s	e	u	d	o	r	a	b	i
e	s				v	i	r	u	s
f	i	v	e	-	i	n	-		
o	n	e							
i	n	a	c	t	i	v	a	t	e
d			v	a	c	c	i	n	e
a	n	d							
a	d	j	u	v	a	n	t		
a	l	o	n	e	.				
						N			
						o			
						.			
						o			
						P	f		
						e	m		
						r	i		
						i	c		
						o	e		
						d	C		
K	i			N	o	o	h		
n	d			o	.	f	a		
o	f	D		o	o	o	l		
v	a	o		f	o	b	l		
c	c	s		m	s	e	e		
i	n	a		i	e	r	n	R	e
	e	g		c	r	v	g	s	u
o	r	e		e	v	a	e	l	t
a	d	(t	a	t	d		s
j	u	m		e	t	i	f		
v	a	L		s	o	o	r		
n	t)		t	n	p			
u	s			e	(o			
e	d			d	d	t			
						a	e		
						y	n		
						s	c		
)	y		
							t		
							e		
							s		
							t		

[illegible]

[illegible]

[illegible]

l S C	g e n (O i l - i n w a t e r A d j u v a n t)	O r i g i n a l	0 . 5	1 0	1 4	—	g o a s s r t o	o d b o p i n
M x d A j v n (l g l + E u s g n	i e f u a t A - e m l i e)	l : l 0 O r i g i n a l	0 . 5	1 0	1 4	—	g o a s s r t o s e l n , i c m l t a s r t o	o d b o p i n w l i g n o p e e b o p i n

—				:			N	o	t
d	o	n	e	,		S	C		:
S	u	b	c	u	t	a	n	e	o
u	s								
i	n	j	e	c	t	i	o	n	,
I	P								:
I	n	t	r	a	p	e	r	i	t
i	o	n	e	a	l				
i	n	j	e	c	t	i	o	n	.
T	a	b	l	e				3	.
R	e	s	u	l	t	s		o	f
t	h	e							
p	o	t	e	n	c	y			
t	e	s	t	s			f	o	r
<i>B</i>	<i>o</i>	<i>r</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>t</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>l</i>	<i>a</i>
<i>P</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>t</i>	<i>e</i>	<i>u</i>	<i>r</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>l</i>
<i>a</i>	,								
<i>A</i>	<i>c</i>	<i>t</i>	<i>i</i>	<i>n</i>	<i>o</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>i</i>
<i>l</i>	<i>l</i>	<i>u</i>	<i>s</i>	,					
<i>E</i>	<i>r</i>	<i>y</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>p</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>o</i>	<i>t</i>
<i>h</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	<i>x</i>				a	n	d
p	s	e	d	o	r	a	b	i	e
s					v	i	r	u	s
f	i	v	e	-	i	n	-		
o	n	e							
i	n	a	c	t	i	v	a	t	e
d			v	a	c	c	i	n	e
a	g	a	i	n	s	t			
<i>E</i>	<i>r</i>	<i>y</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>p</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>o</i>	<i>t</i>
<i>h</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	<i>x</i>						
<i>r</i>	<i>h</i>	<i>u</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>o</i>	<i>p</i>	<i>a</i>	<i>t</i>	<i>h</i>
<i>i</i>	<i>a</i>	<i>e</i>							
c	h	a	l	l	e	n	g	e	
i	n		m	i	c	e	.		
G r o u p		D		R		T			P
		o		o		i			r
		s		u		m			o
		a		t		e	L		t
		g		e		o	D		e
		e		o		f	5		c
		(f		t	0		t
		m		v		e			i
		L		a		s			o
)		c		t			n

		c i n a t i o n	e d	*
A	1 : 1 0	I P	a	1 0 - 6 . 7 5
	0 . 5 m L		b	1 0 - 6 . 7 5
	1 : 1 0		a	< 1 0 - 9
	0 . 5 m L		b	1 0 - 9 . 3 5
	1 : 1 0		a	1 0 - 7 . 8 6
B	0 . 5 m L	S C	b	1 0 - 9 . 3 5
	1 : 1 0		a	1 0 - 7 . 8 6
	0 . 5 m L		b	1 0 - 9 . 3 5
	1 : 1 0		a	1 0 - 7 . 8 6
	0 . 5 m L		b	1 0 - 9 . 3 5
C	0 . 2 m L	I P	b	1 0 - 5 .
	1 : 1 0		a	1 0 - 7 . 8 6
	0 . 2 m L		b	1 0 - 5 .
	1 : 1 0		a	1 0 - 7 . 8 6
	0 . 2 m L		b	1 0 - 5 .

							2	6	
							9		
							1		
							0	1	
							-	0	
D	1				a		8	0	
	:						.	.	
	1						.	8	
							3	2	
				S			5		
				C			1		
	0						0	1	
	.						-	0	
	2				b		8	0	
	m						.	.	
	L						5	9	
							5		
							1		
							0		
							-		
					a		9	—	
C							.		
o							1		
n							7		
t		—					1		
r							0		
o							-		
l					b		9	—	
							.		
							4		
							5		
<hr/>									
※	T	h	e						
E	r	y	s	i	p	e	l	o	t
h	r	i	x						
r	h	u	s	i	o	p	a	t	h
i	a	e			s	t	r	a	i
(l	a)						
i	s	o	l	a	t	e	d		
f	r	o	m		C	h	i	a	-
y	i			c	o	u	n	t	y
w	a	s							
c	u	l	t	u	r	e	d		
i	n								
T	r	y	p	t	o	s	e		
p	h	o	s	-					
p	h	a	t	e					
b	o	r	o	t	h			a	t

3	7	°C		f	o	r		l	6
h	r	s				u	s	e	d
f	o	r							
c	h	a	l	l	e	n	g	e	,
e	a	c	h		m	o	u	s	e
i	n	o	c	u	l	a	t	e	d
w	i	t	h				0	.	2
m	L		S	C	.				
P	r	o	t	e	c	t	i	o	n
i	n	d	e	x					=
L	D	s	o	%				o	f
i	m	m	u	n	i	z	e	d	
g	r	o	u	p	/				
L	D	s	o	%				o	f
n	o	r	m	a	l				
c	o	n	t	r	o	l			
g	r	o	u	p					
T	a	b	l	e				4	.
R	e	s	u	l	t	s		o	f
t	h	e							
p	o	t	e	n	c	y			
t	e	s	t				f	o	r
<i>E</i>	<i>r</i>	<i>y</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>p</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>o</i>	<i>t</i>
<i>h</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	<i>x</i>						
<i>r</i>	<i>h</i>	<i>u</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>o</i>	<i>p</i>	<i>a</i>	<i>t</i>	<i>h</i>
<i>i</i>	<i>a</i>	<i>e</i>							
m	o	n	o	v	a	l	e	n	t
i	n	a	c	t	i	v	a	t	e
d		b	a	c	t	e	r	i	n
w	i	t	h						
v	a	r	i	o	u	s			
d	o	s	a	g	e	s			
a	n	d		r	o	u	t	e	s
i	n		m	i	c	e	.		
G r o u p	D	R	C	o	n	c			P
	o	o	e	n	t	r			r
	s	u	a	t	i	o			o
	a	t	n		o	f			t
	g	e	b	a	c	t		L	e
	e	o	e	r	i	a		D	c
	(f						5	t
	m	v	s	u	s	p		0	i
	L	a	e	n	s	i			o
)	c	u	o	n				n
		c		s	e	d			i

			i F o r n							
			n c h a l d							
			a l e n g e							
			t e a d x							
			i a n d							
			o s u r v							
			n i v a l							
			o f							
			m i c e							
			1	1	1	1	1	1	1	
			0	0	0	0	0	0	0	
			-	-	-	-	-	-	-	
			5	6	7	8	9		1	
									0	
1	1	0	I P	7	4	6	3	6		1
		.		/	/	/	/	/	—	0
		5		1	1	1	1	1		-
		m		5	0	0	0	0		6
		L		b						.
2	1	0	S C		2	5	2	5	5	1
		.		—	/	/	/	/	/	0
		2			1	1	1	1	1	-
		m			0	0	0	0	0	8
		L								.
3	1	0	I P	9	1	7	9	8		3
		.		/	0	/	/	/	—	1
		2		1	/	1	1	1		0
		m		0	1	0	0	0		-
		L			0					5
4	1	0	S C		6	6	6	7	8	1
		.		—	/	/	/	/	/	0
		2			1	1	1	1	1	-
		m			0	0	0	0	0	7
		L								.
C	—		—		0	0	0	2	5	1
				—	/	/	/	/	/	0
					1	1	1	1	1	-
					0	0	0	0	0	9
n	—		—							
t	—		—							

r	.								
o								8	
l								2	
a	:						T	h	e
E	r	y	s	i	p	e	l	o	t
h	r	i	x						
r	h	u	s	i	o	p	a	t	h
i	a	e							
(s	e	r	o	v	a	r		
l	a)							
i	s	o	l	a	t	e	d		
f	r	o	m		C	h	i	a	-
y	i			c	o	u	n	t	y
w	a	s							
c	u	l	t	u	r	e	d		
i	n								
T	r	y	p	t	o	s	e		
p	h	o	s	-					
p	h	a	t	e					
b	r	o	t	h				a	t
3	7	°C		f	o	r		l	6
h	r	s				u	s	e	d
f	o	r							
c	h	a	l	l	e	n	g	e	,
e	a	c	h		m	o	u	s	e
w	a	s							
i	n	o	c	u	l	a	t	e	d
w	i	t	h				0	.	2
m	L		S	C	.				
b	:		N	o	.			o	f
s	u	r	v	i	v	a	l		/
N	o	.						o	f
t	e	s	t	e	d	.			
S	h	o	u		m	L			
l	d		b	e	o	f			
s	u	b	c		m	a	t	e	
u	t	a	n		r	i	a	l	
e	o	u	s		(b	a	c	
l	y				t	e	r	i	
i	m	m	u		n)			
n	i	z	e		t	w	i	c	
d					e			a	t
w	i	t	h		t	w	o		
0	.	5			w	e	e	k	

i n t e (l a)
 r v a l ; b r o t
 a n o t h
 h e r c u l t
 l 0 u r e
 m i c e s u s -
 s h o u p e n s
 l d b e i o n
 u s e d a s u b c
 a s a u t a n
 c o n t e o u s
 r o l y ;
 g r o u (3)
 p ; t h e
 (2) t w o
 t w o e k p s o f
 s l a t e s h o u
 r , l d b e
 t h e r e c o
 e x p e r d e d
 r i m e f o r 7
 n t a l d a y s
 a n d p o s t
 c o n t c h a l
 r o l e n g
 g r o u e ;
 p s h o u a n d
 l d b e (4)
 c h a l r e s u
 l e n g l t i n
 e d g s u r v
 w i t h i v o r
 0 . l s o f
 m L
 o f
 l 0 ³
 C F U /
 m L
 o f
 F u j i
 z a w a
 s t r a
 i n m o r e

t	h	a	n	a	n	d	
7	0	%	,	F	i	s	h
a	n	d		e	r	i	e
m	o	r	t	s		[9
a	l	i	t	c	o	n	t
y			o	f	a	i	n
t	h	e		a			s
c	o	n	t	n	e	w	
r	o	l		b	i	o	a
g	r	o	u	s	s	a	y
p				r	e	g	u
m	u	s	t	l	a	t	i
b	e			o	n		
m	o	r	e	f	o	r	
t	h	a	n	i	n	a	c
9	0	%	.	t	i	v	a
T	w	o		t	e	d	
y	e	a	r	E	r	y	s
s				i	p	e	l
l	a	t	e	a	s		
r	,			b	a	c	t
a	n	o	t	e	r	i	n
h	e	r		(T	o	c
a	n	n	o	o	p	h	e
u	n	c	e	r	o	l	
m	e	n	t	A	c	e	t
N	o	.		a	t	e	
l	2	4	7	a	d	j	u
(9	/	3	v	a	n	t
0)	.		I
l	9	9	9)	t	h	i
o	f			m	e	t	h
M	i	n	i	o	d	,	
s	r	y		t	h	e	
o	f			e	x	p	e
A	g	r	i	r	i	m	e
c	u	l	t	n	t	a	l
u	r	e	,	g	r	o	u
F	o	r	e	p			
s	t	r	y				
T	a	b	l	e			5
G	r	o	w	t	h		.
a	g	g	l	u	t	i	n
i	o	n		t	i	t	e
f	o	r					a
B	o	r	d	e	t	e	l
							l
							a

<i>P</i>	<i>a</i>	<i>s</i>	<i>t</i>	<i>e</i>	<i>u</i>	<i>r</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>l</i>
<i>a</i>	,								
<i>A</i>	<i>c</i>	<i>t</i>	<i>i</i>	<i>n</i>	<i>o</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>i</i>
<i>l</i>	<i>l</i>	<i>u</i>	<i>s</i>	,					
<i>E</i>	<i>r</i>	<i>y</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>p</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>o</i>	<i>t</i>
<i>h</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	<i>x</i>				<i>a</i>	<i>n</i>	<i>d</i>
<i>p</i>	<i>s</i>	<i>e</i>	<i>u</i>	<i>d</i>	<i>o</i>	<i>r</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>i</i>
<i>e</i>	<i>s</i>				<i>v</i>	<i>i</i>	<i>r</i>	<i>u</i>	<i>s</i>
<i>f</i>	<i>i</i>	<i>v</i>	<i>e</i>	-	<i>i</i>	<i>n</i>	-		
<i>o</i>	<i>n</i>	<i>e</i>							
<i>i</i>	<i>n</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>t</i>	<i>i</i>	<i>v</i>	<i>a</i>	<i>t</i>	<i>e</i>
<i>d</i>			<i>v</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>i</i>	<i>n</i>	<i>e</i>
<i>a</i>	<i>n</i>	<i>d</i>							
<i>E</i>	<i>r</i>	<i>y</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>p</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>o</i>	<i>t</i>
<i>h</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	<i>x</i>						
<i>m</i>	<i>o</i>	<i>n</i>	<i>v</i>	<i>a</i>	<i>l</i>	<i>e</i>	<i>n</i>	<i>t</i>	
<i>b</i>	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>t</i>	<i>e</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	<i>n</i>		
<i>a</i>	<i>g</i>	<i>a</i>	<i>i</i>	<i>n</i>	<i>s</i>	<i>t</i>			
<i>E</i>	<i>r</i>	<i>y</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>p</i>	<i>e</i>	<i>l</i>	<i>o</i>	<i>t</i>
<i>h</i>	<i>r</i>	<i>i</i>	<i>x</i>						
<i>r</i>	<i>h</i>	<i>u</i>	<i>s</i>	<i>i</i>	<i>o</i>	<i>p</i>	<i>a</i>	<i>t</i>	<i>h</i>
<i>i</i>	<i>a</i>	<i>e</i>						<i>i</i>	<i>n</i>
<i>m</i>	<i>i</i>	<i>c</i>	<i>e</i>	.					
					<i>G</i>	<i>r</i>	<i>o</i>	<i>w</i>	
						<i>t</i>	<i>h</i>		
					<i>R</i>	<i>a</i>	<i>g</i>	<i>g</i>	<i>l</i>
					<i>o</i>	<i>u</i>	<i>t</i>	<i>i</i>	<i>n</i>
					<i>t</i>	<i>a</i>	<i>t</i>	<i>i</i>	<i>o</i>
							<i>n</i>		
						<i>t</i>	<i>i</i>	<i>t</i>	<i>e</i>
						<i>r</i>	(<i>l</i>	:
							<i>X</i>)	
							<i>a</i>	<i>t</i>	
						<i>v</i>	<i>a</i>	<i>r</i>	<i>i</i>
						<i>o</i>	<i>u</i>	<i>s</i>	
						<i>i</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>u</i>
						<i>n</i>	<i>i</i>	<i>z</i>	<i>e</i>
							<i>d</i>		
						<i>s</i>	<i>t</i>	<i>a</i>	<i>g</i>
						<i>e</i>	<i>s</i>	(<i>w</i>
						<i>e</i>	<i>e</i>	<i>k</i>)
							<i>o</i>	<i>f</i>	
						<i>m</i>	<i>i</i>	<i>c</i>	<i>e</i>
					<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>		
<i>F</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>I</i>	<i><</i>	<i>≤</i>				
<i>i</i>	:	.	<i>P</i>	<i>2</i>	<i>2</i>		<i>2</i>		

v	1	5							
e	0								
-	1								
i	:	0	S	<	<	≤			
n	1	.	C	2	2	2			
-	0	5							
o	1	0	I	<	≤				
n	:	.	P	2	2	4			
e	1	2							
v	1	0	S	<	<	≤			
a	:	.	C	2	2	2			
c	1	2							
c	1	0							
i	:	.	I	<	2	4			
n	1	5	P	2					
e	0								
M	1	0							
o	:	.	S	<	<	2			
n	1	5	C	2	2				
o	0								
v	1	0	I						
a	:	.	P	2	4	8			
l	1	2							
e									
n									
t									
b									
a	1	0	S	<	<				
c	:	.	C	2	2	4			
t	1	2							
e									
r									
i									
n									
C									
o									
n									
t				<	<	<			
r				2	2	2			
o									
l									

A s t r a i n l o c a l
w a s s p r e p a r e
t o h e
(l a)
(s e d
a r e

b	a	c	t	e	r	i	a	l	
s	u	s	p	e	n	s	i	o	n
a	s		a	n	t	i	g	e	n
f	o	r						G	A
t	e	s	t	s	.				
s	h	o	u		w	i	t	h	
l	d				0	.	l		
c	o	n	s		m	L			
i	s	t			o	f			
o	f		l	0	a	p	p	r	
m	i	c	e		o	x	i	m	
a	n	d			a	t	e	l	
e	a	c	h		y		l	0	0
m	o	u	s		L	D	5	0	
e		h	a	s	/		0	.	l
t	o		b	e	m	L			
v	a	c	c		o	f			
i	n	a	t		F	u	j	i	
e	d				z	a	w	a	
w	i	t	h		s	t	r	a	
0	.	5			i	n		o	r
m	L				t	h	e		
o	f				s	a	m	e	
b	a	c	t		v	i	r	u	
e	r	i	n	.	l	e	n	t	
T	h	r	e		s	t	r	a	
e					i	n			
w	e	e	k		c	u	l	t	
s					u	r	e		
l	a	t	e		s	u	s	p	
r	,				e	n	s	i	
t	h	e			o	n			
e	x	p	e		s	u	b	c	
r	i	m	e		u	t	a	n	
n	t	a	l		e	o	u	s	
a	n	d			l	y	.		
c	o	n	t		T	w	o		
r	o	l			g	r	o	u	
g	r	o	u		p	s		o	f
p	s				m	i	c	e	
w	i	l	l		s	h	o	u	
b	e				l	d		b	e
c	h	a	l		r	e	c	o	
l	e	n	g		r	d	e	d	
e	d				f	o	r		7

d a y s l t s ,
 p o s t a l t h
 c h a l o u g h
 l e n g h i g h
 e d . c o n c
 T h e e n t r
 r e s u a t i o
 l t i n n o f
 g v a c c
 s u r v i n e
 i v o r (l : l
 s f o r d i l u
 t h e t e d
 e x - a d m i
 p e r i n -
 m e n t i s t r
 a l a t e d
 g r o u I P i n
 p m i c e
 m u s t d e v e
 b e o p e
 m o r e d
 t h a n h i g h
 8 0 % , a n t i
 a n d y
 m o r t e
 a l i t r s
 y f o r (T a b
 t h e 5) ,
 c o n t t h e
 r o l u p o t e
 g r o u n c y
 p t e s t
 m u s t s h o w
 b e r e d
 m o r e t h a t
 t h a n t
 9 0 % . t h e
 B a s e n p r o -
 d o n i o n d e
 o u x p e x e
 r i m e w e r e
 n t a l u n s t
 r e s u a b l e

(T a b a n d
l e 3) , p o t e
w h i c n c y
h t e s t
m i g h s i n
t b e m i c e
d u e b y
t o i n t r
t h e a p e r
d i f f i t o n
e r e n e a l
t i m m u c t i o
n e n
r e s p (l 0 -
o n s e l
s o f d i l u
t h e t e d
i n d i b a c t
v i d u e r i n)
a l m e t h
r e a c o d
t i o n . w e r e
T h e r n o t
e f o r o n l y
e ,
o u r e r
e x p e t h a n
r i m e t h o s
n t -
t a l m i
r e s u n i s t
l t s e r e d
i n d i b y
c a t e s u b c
d h a t n e o u
t h e s
g r o w i n j e
t h g l b u t
a g i n b u t
u t i n a l s o
a t i o m o r e
n i t e s t a b
r s l e

a n d
a c c u
r a t e
t o
o b t a
i n
t h e
r e s u
l t s .

A O D
E N T
C W G
K L E
N E M

T h i s
s t u d
y w a s
s u p p
o r t e
d p a r t
l y
b y
t h e
r e -
s e a r
c h e r
g r a n
t f r o m
8 8 -
B T -
2 . 3 -
B A P H
I Q -
0 1
(1) .
T h e
a u t h

o r s
w o u l
d i k e
t o
t h a n
k
D r .
C h u n
g P o
f o r
h i s
r e v i
e w
a n d
c o r r
e c t i
o n
o f
t h e
m a n u
s c r i
p t .

R E F E
R E N C
E S

1 . C o
u n c i
l f o
A g r i
c u l t
u r e ,
E x e c
u t i v
e
Y u a n .
I n :
T h e
N a t i
o n a l
s t a n
d a r d
B i o a
s s a y
R e g u

l a t i S e o l
 o n s o g i c
 f o r a l
 A n i m i n v e
 a l s t i g
 D r u g a t i o
 s . n o f
 L o n g E r y s
 - i p e l
 h s i a o t h r
 n g i x
 P r i n r h u s
 t C o . i o p a
 L t d . t h i a
 T a i p e
 e i i s o l
 T a i w a t e s
 a n a n d
 T a i p v a c c
 e i . i n e
 3 1 - i m p r
 3 3 , o v e -
 9 9 - m e n t
 1 0 0 , t o
 1 9 8 8 . c o n t
 (i n r o l
 C h i n e r y s
 e s e) i p e l
 2 . C h a s
 e n C , i n
 C h a n s w i n
 I P , e . J
 L u , C h i n
 C C , S o c
 L a i V e t
 J S , S c i
 K o 2 1 :
 H J , 2 1 2 -
 L u 2 2 ,
 T C , 1 9 9 5 .
 H u a n (i n
 g J T , C h i n
 C h a n e s e)
 g Y L , 3 . C h
 Y e h e n C ,
 C M . L u

C C , u T F ,
 L i n K o
 S C , H J ,
 K u o L a i
 N W , J S ,
 C h a n C h a n
 I P . g W C ,
 C o m p H s i a
 a r i s w H M ,
 o n C h e n
 o f M J ,
 s a f e C h i u
 t y L H ,
 a n d L e e
 e f f i C Y ,
 c a c y H u a n
 o f P T .
 E r y s D e v e
 i p e l l o p m
 a s e n t
 i n a c a n d
 t i v a f i e l
 t e d d
 a n d t r i a
 a t t e l o f
 n u a t *B o r d*
 e d *e t e l*
 v a c c ,
 i n e s *P a s t*
 i n *e u r e*
 m i c e *l l a ,*
 a n d *A c t i*
 p i g s . *n o b a*
 J c i l l
 C h i n u s ,
 V e t E r y s
 S c i i p e l
 2 4 : o t h r
 7 3 - i x
 8 1 , r h u s
 1 9 9 8 . i o p a
 4 . C h t h i a
 e n C ,
 L u w i t h
 C C , p s e u
 C h i o d o r a

b i e s a n i m
 v i r u a l s
 s a n d
 i n a c a n i m
 t i - a l
 v a t e p r o d
 d u c t s ,
 c o m b P a r t
 i n e d l t o
 v a c c l 9 9 .
 i n e T h e
 f o r O f f i
 s w i n c e
 e . o f
 E x p t h e
 R e p F e d e
 N I A H r a l
 T a i w R e g i
 a n s t e r
 3 5 : N a t i
 l 9 - o n a l
 2 7 , A r c h
 l 9 9 9 . i v e s
 (i n a n d
 C h i n R e c o
 e s e) r d s
 5 . C o A d m i
 d e n i s t
 o f r a t i
 F e d e o n
 r a l W a s h
 R e g u i n g t
 l a t i o n
 o n s . D C ,
 E r y s -
 i p e l 5 6 2 .
 o t h r 5 8 4 -
 i x 5 8 5 ,
 r h u s l 9 9 8 .
 i o p a (s p e
 t h i a c i a l
 e e d i t
 v a c c i o n)
 i n e , 6 . I m
 b a c t a i z u
 e r i n , m i K .

S w i n w H M ,
 e C h e n
 e r y s M J ,
 i p e l C h i u
 a s , L H ,
 I n : L o
 z o o n J S .
 o s i s , F i e l
 J a p a d
 n e s e t r i -
 V e t - a l s
 e r i n o f
 a r y p o l y
 M e d i -
 c a l v a l e
 A s s o n t
 c i a t b a c t
 i o n . e r i n
 R e s e s
 a r c h f o r
 T e x t e r y s
 b o o k , i p e l
 T o k y a s
 o , I I c o n t
 8 - 2 r o l -
 l 9 9 8 . e v a l
 (i n a u a t i
 J a p a o n
 n e s e) o f
 7 . L u i m m u
 C C , n i t y
 C h e n e f f e
 C , c t s
 L a i o n
 J S , p i g s
 K o v a c c
 H J , i n a t
 G u o e d
 N W , w i t h
 C h a n e r y s
 I P , i p e l
 Y e h a s
 C M , v a c -
 C h a n c i n e
 g W C , s
 H s i a w i t h

f e e d e r i n ,
 c o n t A n n o
 a i n i u n c e
 n g m e n t ,
 a n t i T o k y
 m i c r o ,
 o b i a N o .
 l l 4 2 4 ,
 a d d i S e p .
 t i v e l 9 9 7 .
 s . (i n
 E x p J a p a
 R e p n e s e)
 N I A H 9 . M i
 T a i w n i s t
 a n r y
 3 3 : o f
 4 7 - A g r i
 5 7 , c u l t
 l 9 9 7 . u r e ,
 (i n F o r e
 C h i n s t r y
 e s e) a n d
 8 . M i F i s h
 n i s t e r i e
 r y s ,
 o f J a p a
 A g r i n .
 c u l t I n :
 u r e , I n a c
 F o r e t i v a
 s t r y t e d
 a n d e r y s
 F i s h i p e l
 e r i e a s
 s , b a c t
 J a p a e r i n
 n . (t o c
 I n : o p h e
 I n a c r o l
 t i v a a c e t
 t e d a t e ,
 e r y s a d j u
 i p e l k -
 a s v a n t
 b a c t e d) ,

A	n	n	o	l	i	v	e
u	n	c	e	v	a	c	c
m	e	n	t	,	i	n	e
T	o	k	y	J	a	p	
o	,			J			
N	o	.		V	e	t	
l	2	4	7	,	S	c	i
S	e	p	.	4	l	:	
l	9	9	9	.	5	9	3
(i	n		6	0	0	,
J	a	p	a	l	9	7	9
n	e	s	e)			
l	0	.	S				
a	w	a	d				
a		T	,				
M	u	r	a				
m	a	t	s				
u		M	,				
S	e	t	o				
K	.						
R	e	s	p				
o	n	s	e				
o	f						
g	r	o	w				
t	h						
a	g	-					
g	l	u	t				
i	n	a	t				
i	n	g					
a	n	t	i				
b	o	d	y				
a	n	d					
p	r	o	t				
e	c	t	i				
o	n						
o	f						
p	i	g					
i	n	o	c				
u	l	a	t				
e	d						
w	i	t	h				
s	w	i	n				
e							
e	r	y	s				
i	p	e	l				
a	s						

1 1 . S a s h i
 a w a d T ,
 a T . S a w a
 E r y s d a T ,
 i p e l T a k a
 a s M ,
 v a c c S e t o
 i n e . K ,
 J K a n z
 V e t a k i
 M e d M ,
 8 2 0 : M u -
 2 8 - r a y a
 3 1 , m a T .
 N o v S e r o
 1 9 8 9 . t y p e
 (i n s o f
 J a p a *E* *r* *y* *s*
 n e s e) *i* *p* *e* *l*
 1 2 . S *o* *t* *h* *r*
 a w a d *i* *x*
 a T . *r* *h* *u* *s*
 E r y s *i* *o* *p* *a*
 i p e l *t* *h* *i* *a*
 a s . *e*
 I n : s t r a
 s w i n i n s
 e i s o l
 v a c c a t e d
 i n e s . f r o m
 K i n o s l a u
 k a g h t e
 B o o k r
 s p i g s
 S t o r a f f e
 e , c t e d
 T o k y w i t h
 o , c h r o
 1 7 7 - n i c
 1 9 0 , e r y s
 1 9 9 3 . i p e l
 (i n a s .
 J a p a J p n
 n e s e) J
 1 3 . T V e t
 a k a h S c i

*Corresponding Author

Reprinted from J Chin Soc Vet Sci 27(3):148-155. 2001

4 6 : a t e -
 1 4 9 - e d
 1 5 3 , f r o m
 1 9 8 4 . s l a u
 1 4 . T g h t e
 a k a h r
 a s h i p i g s
 T , a f f e
 S a w a c t e d
 d a T , w i t h
 S e t o c h r o
 K , n i c
 M u r a e r y s
 m a t s i p e l
 u M , a s .
 M u r a J p n
 y a m a J
 T , V e t
 k a n z S c i
 a k i 4 7 :
 M . l - 8 ,
 P a t h l 9 8 5 .
 o g e n 1 5 . T
 i c i t a k a h
 y o f a s h i
 E r y s T ,
 i p e l Z a r k
 o t h r a s i e
 i x K ,
 r h u s M a r i
 i o p a a n a
 t h i a S ,
 e S u m a
 s t r a d i ,
 i n s O g a t
 s e r o a M .
 v a r s S e r o
 1 a , l o g i
 3 , 5 , c a l
 6 , 8 , a n d
 1 l , p a t h
 2 l o g e n
 a n d i c
 t y p e c h a r
 N a c t e
 i s o l r i z a

t i o n I n :
 o f L e m a
 E r y s n A D ,
 i p e l G l o c
 o t h r k R D ,
 i x M e n g
 r h u s e l i n
 i o p a g
 t h i a W L ,
 e P e n n
 i s o l y
 a t e s R H C ,
 f o r m S c h o
 t o n s l l E ,
 i l s S t r a
 o f w B
 s l a u D i s e
 g h t e a s e s
 r o f
 p i g s s w i n
 i n e .
 i n - 5 t h
 d o n e e d ,
 s i a . t h e
 V e t l o w a
 M i c r S t a t
 o b i o e
 l 2 l : U n i v
 l 6 5 - e r s i
 l 7 5 , t y
 l 9 8 9 . P r e s
 l 6 . W s ,
 o o d A m e s ,
 R L . I o w a ,
 E r y s 4 5 7 -
 i p e l 4 7 0 ,
 a s , 1 9 8 1 .

巴肺丹 五合對攻疫
、膜、病混鼠菌免
菌胸菌 犬化小狀與
狀 氏、桿 狂活疫絲全 力
絲 德菌線 性不免毒安 效
毒 博桿放 假一苗丹之
豬氏炎 及合疫豬擊

然 雄鉦 員 所 會
浩 俊士 驗 8 9
柯 賴林 試： 日 0) 年 接 4
清 峰仁 農 生 期 5 7
陳 資寶 院 畜 稿 日 月 1
邱姜 政 家 收 1 0 月 1
* 行 家 收 日 1 0 月 1
(年 受 日 1 0 月 1
受 日 1 0 月 1

、
菌 菌 狂
氏 桿 性
德 線 假
博 放 及
豬、菌
菌 狀
桿 絲
要 氏 毒
摘 巴 丹

犬合鼠後試活毒前者比活為抗得菌腔防1 (1 (而注指測定皮其1 (1 (劑注分1 (1 () 現試 (穩不價

病疫，小驗化不國等較化材豬知苗免

五苗其鼠中菌活家之試菌料丹如0疫

合，結會試苗化檢改驗苗，毒以注

一接果損製及菌定進。，重效15射數

不種免失五單苗標方五使複力0m分

活試疫。合價，準式合用測之倍L法

化驗注在一豬依及作一小試結稀，別

混小射本不丹目筆一不鼠其果釋腹其為及，下禦法檢L者為及同疫數為及4表供失不價力釋

禦2.6012)皮防無家m疫別)

相射數知劑下防禦指數分)

同免卻。量注禦指數分)

量射如者別改，以其提腹防腔禦升但免指)

雖，小21%至丹，

佳，定活試

菌腔指1(相疫1(國m效射各凝成績不時免劑菌0疫觀對依M算試≥(之且確浩雄豬症症線菌化對免誌

苗注0同0家L力者組集績，活，疫苗

0射劑者檢定劑量免下至清如本正檢試法將

數量皮則劑量

5疫者其防

m可

L

腹禦達

，免有以1之注疫育示成毒準下疫化液免毒及錄&計果須進施與柯俊鈺血血放桿活鼠與醫：

029772)

1115)

141劑量0

者疫免發所驗丹標皮免活

釋腔攻組記

法結數

改實定、賴士敗敗炎狀不小性獸

100方將[邱寶氏、、性疫毒力

27

(3)

1 4 8 - 1 5 5 ,
2 0 0 1 。 * 聯 絡
人 T E L : 0 2 -
2 6 2 1 2 1 1 1
e x t . 2 3 0 ,
F A X : 0 2 -
2 6 2 2 5 3 4 5 ,
E - m a i l :
B i o p r o d @ m
a i l . t a h r i .
g o v . t w]

鍵 詞 : 丹 毒 絲 狀 菌 ,
單 價 不 活 化 毒 苗 , 五
合 一 不 活 化 疫 苗 , 改
進 檢 定 方 法