

Proteksi Vaksin Hidup *Pasteurella multocida* B:3,4 terhadap Penyakit *Septicaemia epizootica* pada Sapi

ADIN PRIADI dan LILY NATALIA

Balai Penelitian Veteriner, PO BOX 151, Bogor 16114, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 29 Desember 2001)

ABSTRACT

A. PRIADI and L. NATALIA. 2001. Protection of a live *Pasteurella multocida* B:3,4 vaccine against haemorrhagic septicaemia in cattle. *JITV* 7(1): 55-61.

Cross protection conferred by a live *Pasteurella multocida* B:3,4 vaccine to infection by *P. multocida* B:2, the haemorrhagic septicaemia causing bacteria in cattle was investigated. Intranasal aerogenic immunization and subcutaneous injection of the live vaccine were applied to groups I and II of 5 Bali cattle respectively. Another group (III) of 5 cattle were vaccinated with standard oil adjuvant killed vaccine intramuscularly. Cattle were observed for clinical signs and body temperatures were measured. Sera were collected monthly for 12 months and kept at -20°C for further testing by ELISA. No adverse sign was observed at cattle of groups I and II after vaccination with the live vaccine. Both intranasal and subcutaneous vaccination of live vaccine showed a similar serological response which started at month-5, peaked at month-(6-7) after vaccination and still sustained at the level above positive cut-off (88 ELISA Unit) at the end of observation month-12. Cattle vaccinated with killed adjuvanted vaccine responded earlier, peaked at 5-6 months after vaccination and declined steadily till the end of investigation. At 6 and 12 months after vaccination cattle were challenged with *P. multocida* B:2. All vaccinated cattle challenged at 6 months (C-1) and 12 (C-2) months after vaccination survived and showed no clinical signs. Body temperatures of all vaccinated cattle were normal and ranged from 38.1°C to 39.1°C and 38.5°C to 39.5°C for cattle challenged at C-1 and C-2 respectively. However, there was 1 cattle of group I at C-1 showed an initial increase of body temperature to 40°C and decreased to normal at 42 hours after challenge. One cattle of group II had a body temperature of 40.7°C detected at 5 hours post C-2 and reached a normal temperature at hour-11. Both unvaccinated cattle at C-1 and C-2 died and had body temperatures of 41.4°C and 41.1°C respectively at the time of death. This investigation shows that live vaccine *P. multocida* B:3,4 is safe and can protect cattle from haemorrhagic septicaemia for at least 12 months. This vaccine is promising to be used to replace oil adjuvanted killed bacterin for haemorrhagic septicaemia.

Key words: Live aerosol vaccine, protection, haemorrhagic septicaemia, cattle

ABSTRAK

A. PRIADI dan L. NATALIA. 2001. Proteksi vaksin hidup *Pasteurella multocida* B:3,4 terhadap penyakit *septicaemia epizootica* pada sapi. *JITV* 7(1): 55-61.

Telah dilakukan pengamatan tingkat proteksi vaksin hidup *Pasteurella multocida* B:3,4 terhadap penyakit *Septicaemia epizootica*. Aplikasi vaksin hidup ini dilakukan dengan cara aerosol (semprotan ke hidung) dan suntikan subkutan di daerah leher masing-masing pada 5 ekor sapi Bali per kelompok. Lima ekor sapi pada kelompok 3 divaksinasi dengan vaksin mati beradjuvant minyak secara intramuskular. Perubahan klinis dan suhu tubuh sesudah pemberian vaksin dan uji tantang diamati. Pada semua ternak, serum dikumpulkan setiap bulan dan disimpan pada suhu -20°C untuk diuji dengan ELISA. Tidak terlihat perubahan klinis pada semua sapi yang divaksin. Serum pada sapi kelompok I dan II menunjukkan gambaran respon yang sama, dimulai pada bulan ke-5, mencapai puncak reaksi pada bulan ke-6, ke-7 pascavaksinasi dan masih bertahan di atas batas positif (88 Unit ELISA) hingga akhir pengamatan. Sapi kelompok III memberikan respon lebih awal, dimulai pada bulan ke-3, mencapai puncak pada bulan ke-5, ke-6 pascavaksinasi dan menurun sesudahnya seperti pada kelompok I dan II. Uji tantang pada bulan ke 6 (C-1) dan bulan ke-12 (C-2) pascavaksinasi dengan *P. multocida* B:2 tidak menyebabkan kematian pada kelompok I, II dan III. Gejala klinis juga tidak teramati. Suhu tubuh sapi pada C-1 dan C-2 berkisar dari 38,1°C - 39,1°C dan 38,5°C-39,5°C masing-masing pada C-1 dan C-2. Seekor sapi kelompok I pada C-1 mengalami kenaikan suhu hingga 40°C dan menjadi normal kembali sesudah 42 jam pascavaksinasi. Pada C-2 seekor sapi pada kelompok II mengalami kenaikan suhu hingga 40,7°C sejak 5 jam pascatantang dan bertahan hingga jam ke 16, kemudian normal kembali. Sapi kontrol yang tidak divaksinasi mati pada C-1 dan C-2 dengan suhu tubuh masing-masing mencapai 41,4°C dan 41,1°C pada saat kematian. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa vaksin hidup *P. multocida* B:3,4 cukup aman dan dapat melindungi sapi dari infeksi *P. multocida* B:2. Vaksin ini dapat dipakai sebagai pengganti vaksin mati beradjuvant minyak untuk penyakit SE.

Kata kunci: Vaksin hidup aerosol, proteksi, *Septicaemia epizootica*, sapi

PENDAHULUAN

Penyakit ngorok (*Septicaemia epizootica*) adalah penyakit yang disebabkan oleh *Pasteurella multocida* B:2, menyerang hewan sapi dan kerbau, bersifat akut dan sangat fatal. Penyakit ini tersebar di Asia Selatan dan Tenggara termasuk Indonesia, Filipina, Thailand, Malaysia dan Timur Tengah. Di Afrika, penyakit ini terjadi di Afrika Tengah dan Afrika Selatan. Di Jepang, Amerika (USA), Australia dan negara-negara Eropa, kejadian penyakit ini sudah jarang dilaporkan (DE ALWIS, 1992).

Kerugian ekonomi terbesar akibat penyakit ini terjadi di Asia. Walaupun estimasi kuantitatif kerugian ekonomis akibat penyakit ini jarang dilakukan, tetapi menurut BAIN *et al.* (1982) di Asia kematian per tahun mencapai 100.000 ekor. Di Indonesia kematian sapi/kerbau pada tahun 1997 akibat penyakit ngorok mencapai 9.288 ekor dengan kerugian 27,9 miliar rupiah (DIREKTORAT BINA KESEHATAN HEWAN, 1998).

Karena sifat penyakit SE yang dapat berbentuk akut atau menimbulkan adanya hewan *carrier* yang asimtomatik (SINGH, 1948; HIRAMUNE dan DE ALWIS, 1982) maka pengendalian penyakit ini sangat tergantung pada tindakan profilaksis yaitu vaksinasi. Berbagai macam vaksin telah dicoba dengan tingkat perlindungan yang bervariasi (CARTER *et al.*, 1991; CHANDRASEKARAN *et al.*, 1993; KENNETT *et al.*, 1993; DAWKINS *et al.*, 1993; MOSIER, 1993). Di Indonesia, vaksin *killed broth bacterin* mulai digunakan dari 1910-1970 (SYAMSUDIN, 1971). Tanpa adjuvant bakterin hanya dapat memberikan perlindungan kurang dari 4 bulan. Vaksin mati beradjuvant minyak dikembangkan di BALAI PENELITIAN VETERINER pada tahun 1970 bekerjasama dengan Australia dan pada tahun 1978 produksi vaksin ini dilakukan di PUSAT VETERINARIA FARMA, (SYAMSUDIN, 1993). Vaksin beradjuvant ini dapat memberi perlindungan 6 hingga 12 bulan (PUTRA, 1993; JAMALUDIN, 1993). Walaupun vaksinasi sudah dijalankan secara rutin tetapi kerugian akibat penyakit ngorok masih dilaporkan (DIREKTORAT BINA KESEHATAN HEWAN, 1998). Vaksin yang selama ini digunakan di Indonesia, yaitu vaksin mati beradjuvant minyak, mempunyai viskositas yang tinggi sehingga sulit disuntikkan, mudah mengalami kerusakan dalam penyimpanan pada suhu kamar, masa kadaluarsa yang singkat, terkadang menyebabkan reaksi lokal yang hebat dan efek *post vaccination shock* yang fatal (BAIN *et al.*, 1982).

Untuk mengatasi kekurangan vaksin mati beradjuvant dalam pengendalian SE, salah satu rekomendasi kelompok ahli FAO adalah pengembangan vaksin hidup (FAO, 1991). Pengembangan vaksin hidup ini didasari oleh hasil pengamatan sapi/kerbau di lapang yang menunjukkan bahwa sapi/kerbau yang terinfeksi secara subklinis mempunyai tingkat kekebalan yang tinggi

terhadap infeksi *P. multocida* (DE ALWIS dan SUMANADASA, 1982; MYINT, 1994). Pengamatan ini memicu pengembangan vaksin hidup *P. multocida* yang dapat menimbulkan infeksi sub klinis ringan dan singkat yang menyerupai kondisi di daerah endemis penyakit SE. Vaksin hidup yang mengandung kuman *P. multocida* sudah dikenal sejak zaman PASTEUR (1880). Vaksin hidup ini sudah diuji pada ayam (BIERRE dan ELIEZER, 1968; FRIEDLANDER *et al.*, 1991), dan pada kalkun (MAHESWARAN *et al.*, 1973). Imunisasi terhadap penyakit SE menggunakan vaksin hidup aerosol sudah pernah dilaporkan di beberapa negara (MOSIER, 1993; MYINT, 1994). Tulisan ini akan membahas keefektifan vaksin hidup *P. multocida* B:3,4 yang diberikan secara aerosol dan subkutan dalam perlindungan terhadap uji tantang oleh *P. multocida* B:2 penyebab penyakit SE.

MATERI DAN METODE

Galur bakteri

Pasteurella multocida serotipe B:3,4, isolat asal rusa (JONES dan HUSSAINI 1982) dipakai sebagai galur vaksin. Bakteri diperbanyak dengan menumbuhkan koloni murni ke dalam *brain heart infusion broth* selama 6 jam pada suhu 37°C yang dilanjutkan dengan perbanyakan pada *blood agar*. Sesudah diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C, kuman dipanen dengan penambahan NaCl fisiologis steril. Bakteri tantang *P. multocida* serotipe B:2 Buffalo B (M1404/0332) dipasase sebanyak 2 kali pada mencit dan diperbanyak seperti kuman *P. multocida* B:3,4. Suspensi kuman *P. multocida* B:2 ini juga dipakai sebagai antigen untuk uji ELISA. Galur Katha (0132) dipakai sebagai galur untuk pembuatan vaksin mati beradjuvant minyak.

Hewan percobaan

Sebanyak 15 ekor sapi Bali dibagi menjadi 3 kelompok dengan masing-masing 5 ekor per kelompok. Kelompok I divaksinasi dengan vaksin hidup *P. multocida* B:3,4 dengan dosis 1×10^7 colony forming unit (CFU) secara subkutan. Kelompok II divaksinasi seperti kelompok I tetapi dengan cara aerosol intranasal. Kelompok III divaksinasi dengan vaksin mati *P. multocida* B:2 beradjuvant minyak secara intramuskular dan 2 ekor sapi tidak divaksinasi dipakai sebagai hewan kontrol.

Pemantauan respon antibodi terhadap vaksinasi

Darah dari semua sapi diambil tiap bulan, serum dipisahkan dan disimpan pada suhu -20°C hingga saat pemeriksaan. Titer antibodi terhadap *P. multocida* B:2 diuji dengan menggunakan ELISA (NATALIA *et al.*, 1993). Ringkasan prosedur ELISA adalah sebagai berikut: Antigen hasil sonikasi kuman *P. multocida* B:2 dipakai untuk melapis permukaan lempeng plastik

ELISA (Maxisorp, Nunc-Denmark) dengan menggunakan bufer bikarbonat pH 9,6. Inkubasi dilakukan selama 24 jam. Antigen yang tidak terikat dibuang dan lempeng plastik dicuci 3 kali dengan phosphate buffer saline (PBS), tween 20. Sebanyak 100 µl serum yang diencerkan 1/100 dalam Trish-EDTA-NACl (TEN)-tween-casein 0,2% dimasukkan ke dalam lubang lempeng plastik (2 lubang per sampel). Serum diinkubasikan selama 1 jam pada suhu ruangan. Serum yang tidak terikat dibuang, lempeng dicuci 3 kali seperti sebelumnya. Konjugat *rabbit anti bovine IgG* yang dikonjugasi dengan enzim *horseradish peroxidase* (Jackson Laboratories, USA) diencerkan 1/3000 dengan TEN-tween kasein 0,2%, ditambahkan ke dalam lubang lempeng sebanyak 100 µl dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruangan. Konjugat yang tidak terikat dibuang dan lempeng dicuci 3 kali seperti sebelumnya. Substrat ABTS (Sigma) ditambahkan sebanyak 100 µl per lubang dan perubahan warna reaksi dibaca sesudah 1 jam dengan ELISA *reader* menggunakan panjang gelombang 414 nm. Hasil bacaan densitas optik substrat dikonversikan ke dalam Unit ELISA menggunakan ELISA *software* (ACIAR).

Uji tantang

Pada bulan ke-6 dan bulan ke-12 sesudah vaksinasi sebanyak 2 ekor sapi per kelompok yang divaksinasi dan 1 ekor hewan kontrol ditantang dengan *P. multocida* B:2 0332 sebanyak 5×10^7 CFU yang disuntikkan secara subkutan di daerah leher. Hewan diamati terhadap gejala klinis dan suhu tubuh diukur setiap 5 jam hingga hari ke-9.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama percobaan sapi yang divaksinasi tidak menunjukkan kelainan pada tempat suntikan. Pembengkakan sebesar 10-15 cm yang pernah dilaporkan oleh LITTLE (1993) sesudah penyuntikan vaksin hidup *P. haemolytica* tidak ditemukan pada suntikan subkutan *P. multocida* B:3,4. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin hidup *P. multocida* B:3,4 untuk digunakan baik secara aerosol maupun subkutan. Pada bulan ke-3, masing-masing 1 ekor sapi pada kelompok I dan III mati karena *malignant catarrhal fever*. Bulan ke-4 sapi kelompok II juga mati karena penyakit yang sama.

Secara umum vaksin mati beradjuvant minyak memberikan respon serologis yang lebih awal dan lebih tinggi daripada vaksin hidup. Respon terhadap vaksin mati sudah terlihat pada bulan ke-3 pascavaksinasi, sama seperti yang pernah dilaporkan oleh NATALIA *et al.* (1993). Sementara itu, vaksin hidup memberikan respon serologis pada bulan ke-5. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan kandungan kuman

dalam masing-masing vaksin. Vaksin mati mengandung 3×10^{10} CFU per dosis sedangkan vaksin hidup hanya mengandung 1×10^7 CFU. Di samping itu, vaksin hidup yang diberikan secara aerosol juga lebih banyak menstimulasi IgA (KÖHLER *et al.*, 1993) dan *specific localised humoral immunity* (DONACHIE *et al.*, 1986) yang tidak dapat dideteksi dengan uji ELISA yang menggunakan konjugat anti-IgG (NATALIA *et al.*, 1993). Tingginya kandungan kuman vaksin mati ($3000 \times$ jumlah kuman vaksin hidup) dan adanya adjuvant minyak merupakan *immunomodulator* yang dapat segera menggetarkan sistem kekebalan tubuh untuk berespon terhadap stimulasi antigen yang ada (GUPTA *et al.*, 1993).

Gambaran respon sapi terhadap vaksin hidup yang diberikan baik secara suntikan subkutan maupun aerosol adalah sama. Hal ini dapat menjelaskan bahwa kuman yang disuntikkan secara subkutan juga akan mencapai daerah predileksi di rongga hidung dalam waktu 24 jam (PRIADI dan NATALIA, 2000).

Respon serologis sapi yang divaksinasi dengan vaksin mati beradjuvant minyak mencapai puncak pada bulan ke-5 sampai ke-6 pascavaksinasi, sedangkan pada vaksin hidup, puncak respon terjadi pada bulan ke-6 sampai ke-7 pascavaksinasi. Sesudah puncak respon, titer antibodi antara sapi yang divaksinasi dengan kedua macam vaksin itu menurun dengan tingkat yang hampir sama (Gambar 1 dan Gambar 2). Sesudah uji tantang 6 bulan pascavaksinasi, terjadi penurunan titer pada sapi yang diberi vaksin hidup, sedangkan sapi yang diberi vaksin mati menunjukkan kenaikan titer. Semua sapi yang divaksinasi dengan kedua vaksin menunjukkan penurunan titer sesudah uji tantang 12 bulan pascavaksinasi.

Tantangan dengan *P. multocida* B:2 6 pascavaksinasi tidak menimbulkan kematian pada semua kelompok sapi yang divaksinasi. Sapi-sapi tidak menunjukkan gejala klinis. Suhu tubuh berkisar $38,1^{\circ}\text{C}$ - $39,1^{\circ}\text{C}$ selama pengamatan 22 hari (Gambar 3). Perubahan suhu yang mencolok terjadi pada seekor sapi dalam kelompok I, yaitu suhu mencapai 40°C , pada 30 jam sesudah uji tantang. Suhu menjadi normal kembali 12 jam kemudian. Sapi kontrol yang tidak divaksinasi mengalami perubahan klinis yang jelas yaitu timbulnya keluar ingus dari hidung, mata merah, daerah leher bengkak, hewan lesu dan mati 30 jam sesudah uji tantang. Suhu mencapai $41,4^{\circ}\text{C}$. Gejala ini sama seperti yang dilaporkan oleh PRIADI dan NATALIA (2000).

Sapi dari kelompok yang divaksinasi dan ditantang 12 bulan pascavaksinasi tidak mengalami kematian seperti sapi kontrol yang mati 30 jam sesudah uji tantang. Sapi-sapi tidak menunjukkan gejala klinis yang berarti. Namun demikian terjadi kenaikan suhu hingga $40,7^{\circ}\text{C}$ pada seekor sapi dalam kelompok II, 5 jam pasca uji tantang dan normal kembali pada jam ke-11.

Gambar 1. Respon serologis sapi pasca vaksinasi dengan vaksin hidup subkutan, vaksin hidup aerosol, vaksin mati beradjuvant minyak dan ditantang pada 6 bulan pasca vaksinasi

Gambar 2. Respon serologis sapi pasca vaksinasi dengan vaksin hidup subkutan, vaksin hidup aerosol, vaksin mati beradjuvant minyak dan ditantang pada 12 bulan pasca vaksinasi

Gambar 3. Perubahan suhu tubuh harian sapi yang divaksinasi dengan vaksin hidup subkutan, vaksin hidup aerosol, vaksin mati beradjuvant minyak dan ditantang pada 6 dan 12 bulan pasca vaksinasi

Seekor sapi pada kelompok I menunjukkan suhu $>40^{\circ}\text{C}$ hingga 16 jam pasca ujiantang dan normal kembali 2 jam kemudian. Hingga akhir pengamatan pada hari ke-11, suhu berkisar $38,5-39,5^{\circ}\text{C}$ (Gambar 3). Pada sapi kontrol yang mati karena ujiantang, suhu tubuh mencapai $41,1^{\circ}\text{C}$.

Hasil ujiantang ini menunjukkan bahwa vaksin hidup *P. multocida* B:3,4 dapat memberikan proteksi silang terhadap infeksi *P. multocida* B:2, penyebab penyakit ngorok/SE. Laporan tentang keefektifan vaksin hidup ini juga pernah dibahas di Myanmar (MYINT, 1994). Proteksi silang yang diberikan oleh vaksin hidup ini mungkin disebabkan oleh pertumbuhan *in-vivo* vaksin ini sehingga timbul ekspresi antigen unik yang disebut *cross protection factors* seperti pernah dilaporkan oleh WANG dan GLISSON (1994a) pada unggas. RIMLER (1987) juga melaporkan bahwa serum hasil imunisasi dengan *P. multocida* A:3 yang ditumbuhkan secara *in-vivo* dapat memberikan proteksi silang terhadap ujiantang oleh *P. multocida* A:1, A:4, A:5, A:9 dan A:12. Pada *P. multocida* yang ditumbuhkan secara *in-vivo* ini timbul ekspresi antigen tambahan dengan bobot molekul 204, 192, 179 dan 153

kiloDalton yang tidak diekspresikan pada pertumbuhan *in-vitro* (WANG dan GLISSON, 1994b). Dalam percobaan *passive mouse protection test*, RIMLER (1996) melaporkan bahwa serum anti *P. multocida* B:3,4 memberi proteksi silang yang paling baik dibandingkan dengan *P. multocida* A:1, A:3, A:5, B:1, B:2, B:4 dan E:2. Kenyataan ini memungkinkan penggunaan 1 galur *P. multocida* yang dapat dipakai sebagai vaksin untuk unggas maupun untuk sapi/kerbau. Penelitian lanjutan ke arah ini perlu dilakukan.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vaksin hidup *P. multocida* B:3,4 dapat memberikan proteksi silang terhadap infeksi *P. multocida* B:2 penyebab penyakit ngorok (SE) pada sapi dan kerbau. Pemberian vaksin ini baik secara aerosol-intranasal maupun suntikan subkutan tanpa menimbulkan efek-samping yang tidak diinginkan. Dengan proteksi yang mencapai 1 tahun, vaksin ini dapat digunakan sebagai pengganti vaksin mati beradjuvant minyak yang selama ini digunakan, selain itu vaksin ini mudah diaplikasikan.

DAFTAR PUSTAKA

- BAIN, R. V. S., M. C. L. DE ALWIS, G. R. CARTER, and B. K. GUPTA. 1982. Haemorrhagic Septicaemia. FAO of the United Nations, Rome.
- BIERRE, B. W. and T. H. ELIEZER. 1968. Continuous use of a live vaccine in the drinking water against fowl cholera infection in turkeys. *Poult Sci.* 47: 258-1260.
- CARTER, G. R., A. MYINT., R. VAN KHAR, and A. KHIN. 1991. Immunisation of cattle and buffaloes with live haemorrhagic septicaemia vaccine. *Vet. Rec.* 129: 203.
- CHANDRASEKARAN, S., L. KENNETT, N. MUNIANDY, P.C. YEAP, B. RANI and T. K. S. MUKKUR. 1993. Characterization of the immune response and duration of immunity in buffalo vaccinated with cellular haemorrhagic septicaemia vaccines. In: ACIAR Proceedings no. 43: *Pasteurellosis in Production Animals*. B.E. PATTEN et al., (Eds). 165-169.
- DAWKINS, H. J. S, RAMDANI, R. B. JOHNSON, and T. L. SPENCER. 1993. Protection to Haemorrhagic Septicaemia induced in mice by vaccination with oil adjuvant and broth bacterin vaccines.. In: ACIAR Proceedings no. 43: *Pasteurellosis in Production Animals*. B.E. PATTEN et al., (Eds). 135-143.
- DE ALWIS, M. C. L. and M. A. SUMANADASA. 1982. Naturally acquired immunity to haemorrhagic septicaemia among cattle and buffaloes in Sri Lanka. *Trop. Anim. Health Prod.* 14: 27-28.
- DE ALWIS, M. C. L. 1992. Haemorrhagic Septicaemia. A General Review. *Brit.Vet. J.* 148: 99-112.
- DIREKTORAT BINA KESEHATAN HEWAN. 1998. *Bulletin Kesehatan Hewan*. 3: 74.
- DONACHIE, W., C. BURRELLS, A. D. SUTHERLAND, J.S. GILMOUR, and N.J.L. GILMOUR 1986. Immunity of specific pathogen-free lambs to challenge with aerosol of *Pasteurella haemolytica* biotype A serotype 2. Pulmonary antibody and cell responses to primary and secondary infections. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 11: 265-279.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. 1992. Future lines of research. Proceedings of the fourth international workshop on haemorrhagic septicaemia, Sri Lanka. 145.
- FRIEDLANDER, R. C., L. D. OLSON and E. L. MCCUNE. 1991. Comparison of live virulent M-9, Minnesota, and CU fowl cholera vaccine. *Avian Dis.* 35: 51-256.
- GUPTA, R. K., E. H. RELYVELD, E. B. LINBLAD, B. BIZZINI, S. BEN-EFRAM, and C.K. GUPTA. 1993. Adjuvants - a balance between toxicity and adjuvancy. *Vaccine.* 11: 293306.
- HIRAMUNE, T. and M. L. C. DE ALWIS. 1982. Haemorrhagic Septicaemia carrier status of cattle and buffaloes in Sri Lanka. *Trop. Anim. Health Prod.* 14: 91-92.
- JAMALUDIN, R. 1993. Country reports. Malaysia. 238-239. In: ACIAR Proceedings no. 43: *Pasteurellosis in Production Animals*. B.E. PATTEN et al., (Eds).
- JONES, T. O., and S. N. HUSSAINI. 1982. Outbreak of *Pasteurella multocida* septicaemia in fallow deer (*Dama dama*). *Vet. Rec.* 372: 552-555.
- KENNETT, L., N. MUNIANDY, and T. K. S. MUKKUR. 1993. Comparative protective potential of non-living intact cells and purified outer membrane and associated proteins of *Pasteurella multocida* type 6:B grown under iron-regulated conditions.: 144-148. In: ACIAR Proceedings no. 43: *Pasteurellosis in Production Animals*. B.E. PATTEN et al., (Eds).
- KOHLER, H., A. BERNDT, and G. MULLER. 1993. Local Immune reactions in pigs after infection and immunization with *P. multocida* aerosol. In: Smaldone, G.C., (Ed.). The 9th congress "Aerosols in medicine". 30 March-3 April 1993. Garmisch-Partenkirchen, Germany. *J. Aero. Med.* 6 (Suppl.), 29.
- LITTLE. 1993. Variation of abscess formation in cattle after vaccination with a modified live *Pasteurella haemolytica* vaccine. *A. J. Vet. Res.* 1244-1248.
- MAHESWARAN, S. K., J. R. MCDOWELL and B. S. POMEROY. 1973. Studies on *Pasteurella multocida*. I. Efficacy of an avirulent mutant as a live vaccine in Turkeys. *Avian Dis.*, 17: 396-405.
- MOSIER, D. 1993. Prevention and control of Pasteurellosis. 121-134. In: ACIAR Proceedings no. 43: *Pasteurellosis in Production Animals*. B.E. PATTEN et al., (Eds).
- MYINT, A. 1994. Use of intranasal aerosol vaccine: hope for haemorrhagic septicaemia eradication in Asia and the Pacific region. *Asian Livestock* 19:101-104.
- NATALIA, L., B. PATTEN, and A. SYAMSUDIN. 1993. Evaluation of bovine antibody responses to haemorrhagic septicaemia vaccine using ELISA and PMPT. In: ACIAR Proceedings no. 43: *Pasteurellosis in Production Animals*. B.E. PATTEN et al., (Eds). 219-223.
- PRIADI, A. and L. NATALIA. 2000. Patogenesis *Septicaemia Epizootica* (SE) pada sapi/kerbau: Gejala klinis, perubahan patologis, reisolasi, deteksi *Pasteurella multocida* dengan media kultur dan polymerase chain reaction (PCR). *JITV* 5: 65-71.
- PASTEUR, L. 1880. De l'attenuation du virus de cholera des poules. *C.R. Acad. Sci.* 91: 673-680.
- PUTRA, A. A. G. 1993. Country reports. Indonesia. In: ACIAR Proceedings no. 43: *Pasteurellosis in Production Animals*. B.E. PATTEN et al., (Eds). 229-231
- RIMLER, B. B. 1987. Cross-protection factor(s) of *Pasteurella multocida* passive immunization of turkeys against fowl cholera caused by different serotypes. *Avian Dis.* 31: 884-887.
- RIMLER, R. B. 1996. Passive immune cross-protection in mice produced by rabbit antisera against different serotypes of *Pasteurella multocida*. *J. Comp. Pathol.* 114: 347-360.
- SINGH, N. 1948. Nasal carriers in bovine pasteurellosis. *Indian J. Vet. Sci. Anim. Husband.* 18: 261-278.
- SYAMSUDIN, A. 1971. Oil adjuvant vaccine for haemorrhagic septicaemia. *Bulletin LPPH* 1: 21-29.

- SYAMSUDIN, A. 1993. Control of haemorrhagic septicaemia in Indonesia - A short history. *In*: ACIAR Proceedings no. 43: *Pasteurellosis in Production Animals*. B.E. PATTEN *et al.*, (Eds). 180-181.
- WANG, C and J. R. GLISSON. 1994a. Passive cross-protection provided by antisera directed against *in-vivo*-expressed antigens of *Pasteurella multocida*. *Avian Dis.* 38: 506-514.
- WANG, C and J. R. GLISSON. 1994b. Identification of common antigens of serotype 1 and serotype 3 *Pasteurella multocida* in poultry expressed *in vivo*. *Avian Dis.* 38: 334-340.