資 料

タイにおける口蹄疫の調査

三 浦 康 男*・笹 原 二 郎*

AREE WUDHIPRECHA**・UDOM CHARUTAMRA***

I. ウイルス分離

タイでは南部の一地域を除いて、全域的に毎年口蹄疫の発生があるが、補体結合反応を用いた血清学的診断が行なわれているのみで、ウイルスの分離・同定はほとんど実施されてなかった。

1971年3月から同年12月までに、病性鑑定材料として研究所に送付された23例のウシ、水牛、ブタの病変部(舌上皮、口唇上皮、蹄の皮膚)がウイルス分離に用いられた。可検材料は滅菌グリセリンを等量加えて、培養細胞に接種するまで -10°C に保存された。

細胞培養は1962年より北大獣医学部で継代されたブタ胎児腎株化細胞(ESK)とBHK-21細胞を使用した。細胞増殖培養液はEagle M.E.M.に10%トリプトース・ホスフェイト・ブロス(TPB)、コウシ血清10%、カナマイシン $100\text{ }\mu\text{g/ml}$ 、ファンギゾン $2.5\text{ }\mu\text{g/ml}$ を加えた。細胞維持培養液は細胞増殖培養液からコウシ血清を5.5%ウシアルブミン2%にかえたものであった。培養液のpHの調整は7.5%炭酸水素ナトリウムで行なった。培養細胞に検査材料を接種して 37°C で5日間細胞変性の発現を観察し、陰性のものは -80°C と冷水の凍結融解を1回行ない、3,000 rpm 15分遠心上清を接種材料として3代継代した。

その成績は表1に示す通りBHK-21細胞では初代で4例、ESK細胞では初代で7例からウイルスが分離された。BHK-21細胞で分離された材料ではすべてESK細胞でも分離された。

分離されたウイルスの同定は感染組織培養液を抗原として、補体結合反応で実施した。さらに、型別の指示免疫血清で型をきめた。

BHK-21細胞で分離した4株およびESK細胞で分離した7株のウイルスのCF抗原性はすべてO型であつた。

* 農林省家畜衛生試験場

** タイ・畜産局口蹄疫研究所

*** タイ・畜産局血清およびワクチン部

表 1 口蹄疫ウイルス分離状況

材料 番号	口蹄疫発生場所	CFによる 診断	ウイルス分離	
			BHK- 21	ESK
1	Singburi	—	—	—
2	Singburi	O	—	—
3	Singburi	O	—	—
4	Kanchanaburi	O	+	+
5	Phetchabun	A	—	—
6	Ratchaburi	O	—	—
7	Ratchaburi	O	+	+
8	Khon kean	A	—	—
9	Khon kean	A	—	—
10	Khon kean	O	—	—
11	Khon kean	O	—	—
12	Suphanburi	O	—	+
13	Buriran	O	—	—
14	Buriran	O	—	—
15	Nakhon Ratchasima	A	—	—
16	Bangkok	O	—	—
17	Chaiyaphum	O	+	+
18	Khon kean	O	—	—
19	Chaiyaphum	O	—	+
20	Nakhon Ratchasima	O	—	—
21	Khon kean	—	N.D	N.D
22	Phetchbun	O	—	+
23	Phetchbun	O	+	+
24	Chaiyaphum	A	N.D	N.D
25	Kanchanaburi	ASIA-1	—	—
26	Saraburi	O	N.D	N.D

た。この成績は野外の可検材料でのCF抗原証明による診断とすべて一致していた。

また、1971年のタイにおける口蹄疫の発生は47例で、口蹄疫研究所で陽性と診断されたものは41例であつた。残りの6例は臨床的に診断され届けられた。このうち、O型のものが $33/47$ (70.2%)で、もつとも多く、ついでA

型⁵/₄₇(10.6%), Asia-1 型³/₄₇(6.4%), 型の不明⁹/₄₇(12.8%)であつた。月別ではその発生に顕著な差が認められなかつた。

II. フレンケル・不活化ワクチン接種によるブタの抗体産生

タイで飼養されているブタは約450万頭あるが、口蹄疫ワクチンの接種は実施されていない。しかし、多頭飼育の養豚場での被害はかなり大きい。ウシ用のフレンケル・不活化ワクチンをブタに接種して、抗体産生の状況を調査した。

ブタは生後約2カ月のヨークシャ種のコブタ14頭を使用した。

ワクチンは Asia-1 型のフレンケル・不活化ワクチンで、1971年5月に製造された Lot. 814 であつた。

ワクチン接種方法は第1群は5ml 皮下1回、第2群は5ml ずつ皮下に2週間間隔で2回、第3群は5ml ずつ皮下に4週間間隔で2回、第4群は10ml 皮下に1回接種であつた。各群3頭ずつ供試した。

抗体測定は可検血清を56°C、30分加熱し、2進法による希釈例をつくり、それぞれ200 TCID₅₀ のウイルスを等量加え、37°C 1時間感作後、その0.1ml ずつを ESK 細胞試験管4本に接種し、37°C 1時間の吸着後0.5ml の細胞維持液を加えて、37°C で回転培養を行ない、5日間観察し CPE を抑制した50%有効血清希釈倍

数によつて中和抗体価とした。

その成績は表2に示す通り、各群とも1～2頭に低い中和抗体価の上昇を認めたのみで、抗体の持続期間も短いことが推測された。現在製造されているウシ用フレンケル・不活化ワクチンはブタに応用しても効果が期待できないように思われた。ブタの防疫に応用しうるワクチンの開発がのぞまれる。

III. 3価フレンケル・不活化ワクチン接種によるウシの抗体産生

タイの口蹄疫未発生である南部地域と北部発生地域の中間の地域は防疫のため、ウシの予防接種が活発に行なわれている。6か月ごとにそれぞれの型のワクチンが応用されている。

省力化を期待して3価混合ワクチンの応用の可否を抗体産生の面から検討した。

試験牛はタイ在来種で1～1.5歳の11頭を用いた。試験には各群3頭ずつ、非接種対照を2頭とした。

ワクチンはO型1970年11月製造の Lot. 214, A型同年9月製造の Lot. 714, Asia-1 型1971年製造の Lot. 814 で、接種前に各型のワクチンを等量混合し、その15ml を接種した。

ワクチンの接種方法は第1群に3価ワクチンを2週間間隔で2回皮下、第2群に4週間間隔で2回皮下、第3群は1回皮下である。採血は接種前と、接種後は1週間間

表2 Frenkel ワクチン (ASIA-1) 接種による中和抗体の推移

群	豚番号	ワクチン量と回数	週						
			0	1	2	3	4	5	6
1	45	5 ml	∠4	6.4	4	5	∠4	5	6.3
	46		∠4	13.9	5.6	∠4	∠4	∠4	∠4
	50		∠4	∠4	—	—	—	—	—
2	47	5 ml—5 ml*	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4
	48		∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4
	49		∠4	9	11.5	4	∠4	5.6	5.6
3	51	5 ml—5 ml**	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4
	52		∠4	4	20.1	17	6.8	28.4	16
	53		∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4
4	54	10ml	∠4	4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4
	55		∠4	9	4	∠4	∠4	∠4	5.6
	56		∠4	5.6	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4
5	57	非接種対照	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4
	58		∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4	∠4

* 2回接種、接種間隔2週

** 2回接種、4週間隔

隔で6週まで、その後は2週間間隔で20週まで行なった。

細胞培養には ESK 細胞を用い、増殖細胞液、維持培養液および中和抗体測定法は既述の通りであつた。

間接補体結合反応 (ICF) は楠、徳田の方法に準じた。抗原はウシの舌上皮細胞培養ウイルス液を用いた。56°C 30分非動化血清を2倍段階希釈 (0.1 ml) し、これに抗原1単位 (0.1 ml) を加え、37°C 30分感作後指示血清1単位 (0.1 ml) と補体1.5単位 (0.1 ml) を加えて37°C 30分感作したのち、溶血系 (0.1 ml) を加えて、さらに30分感作した。100%溶血する血清希釈倍数の逆数を補体結合抗体 (CF) 価とした。

成績は次の通りであつた。すなわち第1群では各型に対する CF 抗体は2回接種後 O 型^{2/8}、A 型^{2/8}、Asia-1 型^{2/8}に上昇を認めたが4~8倍で、その持続も短かつた。第2群では3型に対し全例が上昇し、O 型と A 型に対しては8~32倍、Asia-1 型には8~256倍の CF 抗体価を示した。また、接種後10~12週まで持続した。第3群では CF 抗体の産生がみられなかつた。非接種対照群では CF 抗体価の変動がなく、試験期間中すべて4倍以下であつた。

中和抗体の産生をみると、第1群では1回接種後の O 型に対する中和抗体価は約8倍であつたが、2回接種後すみやかに上昇し1週後には約332倍に達し、18週後でも約38倍に持続していた。図1に示す通り、A 型および Asia-1 型に対する中和抗体の産生の態度は O 型に対する場合とほぼ同様の傾向が認められた。また、これらの成績は別に実施した Asia-1 型単価ワクチンの Asia-1 型ウイルスに対する補体結合抗体および中和抗体の産生の態度をみた成績とほとんど変わりがなかつた。

第2群では図2に示す通り、各型に対する中和抗体は2回接種後、著しい上昇を示した。しかし16週後では第1群の場合とほとんど差異がなかつた。第3群では図3に示すように、接種後おおむね2~3週で各型に対する最高価の中和抗体価を示したが、その程度は8~16倍で

図1 3価ワクチン接種後の3型に対する中和抗体の分布

図2 3価ワクチン接種後の3型に対する中和抗体の分布

図3 3価ワクチン接種後の3型に対する中和抗体の分布

あつた。しかし、O 型に対しては3例中1例が128倍の高い中和抗体価を示した。20週後ではおおむね4~8倍に低下したが、A 型、Asia-1 型の各1例を除いた7例が持続していた。

非接種対照の4群では2例中1例が各型に対してすべて4倍以下であつたが、他の1例はA 型に対し6週時に4倍、2週時に8倍、O 型に対し6週時に8倍の値を、Asia-1 型に対し20週時に8倍を示した。

これらの成績をまとめてみると、3価ワクチンの接種によつて、ウシはそれぞれの型に対する補体結合抗体および中和抗体を産生するが、2週間間隔2回接種法よりも4週間間隔2回接種法のほうが、より高い抗体上昇を示した。各抗体は16~20週後までは持続されるように思われる。この方法は野外で実際に応用することができよう。

参考文献

- 1) 熊谷哲夫：口蹄疫，日獣会誌，22，405-410 (1969)。
- 2) 楠 肇：口蹄疫に関する研究，熱帯農研集報 No. 21，101-103 (1971)。
- 3) 徳田悟一：口蹄疫に関する研究，熱帯農研集報 No. 21，103-109 (1971)。