強いとするならば、今回実施されたようなレントゲン検査は、血統登録の上からも重視されるべきであろう。）

稿を終るにのぞみ、本調査にご協力いただいた日本警察犬協会の市田 進氏に深謝する。

〔なお、本研究の要は、昭和48年度日本臨床獣医学会（小動物、広島、1973）において報告した。〕

引用文献

1) BOWEN, J. M., et al.: *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 161, 899 (1972). 2) BROWN, S. G., et al.: *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 159, 1117~1121 (1971). 3) HENRICSON,

B., et al.: *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 203~210 (1959) 4) LUST, G.: *Current Vet. Therap.*, 466~469 (1971). 5) PETTIT, G. D.: *Canine Surgery*. 6) PRIESTER, A., et al.: *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 160, 735~739 (1972). 7) RISEL, H.: *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 144, 709~722 (1964). 8) SCHNELLE, G. B.: *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 135, 234~235 (1959). 9) SNAVELY, J. G.: *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 135, 201~205 (1959). 10) WHITTINGTON, B. F., et al.: *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 139, 791~806 (1961).

家畜衛生

日本脳炎生ワクチンと豚パルボウイルス不活化ワクチンの ブタでの混合注射について

井出誠弥* 山岸郭郎** 吉村政雄* 間庭英亮*** 安田弘太郎**** 五十嵐丈人****

(昭和51年6月23日受付)

Reaction of Pigs to Injection with a Bivalent Vaccine of Japanese B Encephalitis Virus and Porcine Parvovirus

SEIYA IDE,* et al. (Research Center of Veterinary Science, The Kitasato Institute,
Kashiwa, Chiba Pref., et al.)

SUMMARY

A bivalent vaccine consisting of Japanese B encephalitis (JE) live virus and ultraviolet-inactivated porcine parvovirus (PP) was examined for innocuity and potency in pigs. When injected with the bivalent vaccine, pigs showed no clinical manifestation, but formed HI antibodies against JE virus and PP. The titers of these antibodies were equivalent to those obtained with control monovalent vaccines, indicating that the combined vaccine was available for practical use.

There were no marked differences in the result of parturition among the groups of pigs which had received the bivalent vaccine or either control monovalent vaccine and nonvaccinated antibody-positive control pigs. No potency of the bivalent or control monovalent vaccines was proved on this result, because neither mummification nor malformation occurred to the nonvaccinated control group, and because common stillbirth was often seen in every vaccinated group.

まえがき

ブタ死流产予防のワクチンとして、現在日本脳炎生ワクチン（以下日脳生ワクチンと略）ならびに豚パルボウイルス不活化ワクチン（以下豚パルボワクチンと略）が作出されており、両者は繁殖用母豚を対象としたものである。したがって、両ワクチンを混合して使用することにより、ワクチン注射の省力化が期待できる。

* 北里研究所付属家畜衛生研究所（千葉県柏市松ヶ崎字立山1139-1）

** 北里研究所（東京都港区白金5-9-1）

*** 群馬県畜産試験場（群馬県勢多郡富士見村小暮）

**** 群馬県中央家畜病性鑑定所（群馬県勢多郡富士見村小暮）

このような見地から、両ワクチンを混合して注射した場合の効果について、基礎的な資料をうる目的で2、3の試験を行なったので報告する。

材料と方法

日脳生ワクチン：初代ウシ腎細胞にS⁻株を増殖させ、その培養液相をワクチン原液とし、これに安定剤を加えて凍結乾燥したものである。乾燥後のウイルス価は、バイアル1本を10mlの溶解用液で溶解し、VERO細胞で測定すると10^{6.8}TCID₅₀/mlであった。

豚パルボワクチン：ESK細胞（ブタ胎児腎株化細胞）に90HS株を増殖させ、培養液相を紫外線照射してウイルスを不活化したものをワクチン原液とした。不活化前のウイルス価は、ESK細胞で測定すると10^{6.0}TCID₅₀/

ml であった。

供試豚：43 日齢の SPF 由来のブタ 4 頭、90～119 日齢の肉豚 28 頭、および 9 カ月齢以上の繁殖豚 40 頭を用いた。SPF 由来のブタの試験は北里研究所において、肉豚ならびに繁殖豚の試験は群馬県畜産試験場（昭和50年5月8日初回免疫、同年6月5日第2回免疫）において実施した。

ワクチン注射：注射直前に、日脳生ワクチンのバイアル1本を豚パルボワクチン1本（10 ml）で溶解して混合し、1回につき1 ml を耳根部皮下に注射した。日脳生ワクチン単味バイアル1本を 10 ml の溶解用液で溶解して1回1 ml を、また豚パルボワクチン単味も1回1 ml をそれぞれ耳根部皮下に注射した。

抗体測定法：日脳HI抗体の測定は、血清または血液吸着濾紙材料を用い、マイクロプレート法で実施した。術式は CLARKE & CASALS の方法¹⁾ および濾紙法⁵⁾ に準じ、抗原には日脳ウイルス薬検中山株を使用した。また、豚パルボウイルスのHI抗体は、藤崎らが開発した方法²⁾ に準じてマイクロプレートを用い、90 HS 株を抗原として測定した。

娩出子の観察 濾繁殖豚からの娩出子について正常あるいは異常を観察するとともに、とくに異常子については死産子、黒子、ミイラおよび奇形子に区分した。なお、死産子とは体型が正常子と変わらないが死亡していたものを指す。

試験成績

1. SPF 豚での成績

SPF 由来のブタにおける日脳 HI 抗体の上昇は、日脳生ワクチン単味および両ワクチンの混合注射とも2週後で認められ、少なくとも10～14 週後まで10 倍の抗体価を持続した。

豚パルボウイルスに対する抗体は、豚パルボワクチン単味および両ワクチンの混合注射とも1 週後で上昇し、ピーク時には80～160 倍を示し、少なくとも10～14 週後まで10 倍の抗体価を持続した（表1）。

なお、14週にわたる試験期間を通じ、ブタは全例とも異常を示さなかった。

2. 肉豚での成績

ワクチン注射前の肉豚のHI抗体価は、日脳ウイルスに対しては全例（28/28）が、また豚パルボウイルスに対しては25%（7/28）が20 倍以下であった。

日脳生ワクチン単味注射群では、初回免疫後4 週に全例のブタに日脳HI抗体の上昇を認めた（抗体価40倍）。免疫後8 週では1 回注射群では全例20 倍以下に減少したが、2 回注射群では全例20 倍の抗体価を保持していた。

表2 肉豚でのワクチン注射後の日脳および豚パルボHI抗体の推移

供試 ワクチン	注 射 回	ブ タ No.	日脳HI価				豚パルボHI価			
			前	4	8*		前	4	8	
日脳・豚 パルボ (混合)	1	5	<20**	40	<20		80	1,280	640	
			6	<20	40	—	<20	1,280	—	
			7	<20	40	<20	80	1,280	320	
			8	<20	40	<20	<20	640	160	
	2	9	<20	40	20		80	80	80	
			10	<20	40	20	80	80	80	
			13	<20	40	20	<20	80	80	
			14	<20	40	20	<20	80	80	
	1	1	<20	40	<20		80	—	—	
			2	<20	40	<20	80	—	—	
			4	<20	40	<20	80	—	—	
			12	<20	40	<20	80	—	—	
豚パルボ	1	15	<20	—	—	<20	80	40		
			16	<20	—	<20	160	80		
			17	<20	—	80	80	40		
			18	<20	—	80	320	320		
	2	19	<20	—	—	<20	320	160		
			20	<20	—	80	160	160		
			22	<20	—	80	1,280	640		
			24	<20	—	80	2,560	—		
	無注射対 照	3	<20	<20	<20	160	160	160		
			11	<20	<20	<20	160	160	80	
			21	<20	<20	<20	160	160	40	
			23	<20	<20	<20	160	160	40	

* 注射後の週数 ** HI抗体価 — 検査しなかった

表1 SPF豚でのワクチン注射後の日本脳炎（日脳）および豚パルボウイルス（豚パルボ）HI抗体の推移

供試ワクチン	ブタ	日 脳 H I 価									豚 パ ル ボ H I 価								
	No.	前	1	2	3	4	5	6	10	14*	前	1	2	3	4	5	6	10	14
日脳・豚パルボ (混 合)	52	<10**	<10	10	20	20	20	10	10	10	<10	80	40	40	40	20	20	10	10
	58	<10	<10	10	40	20	10	10	10	<10	<10	80	40	20	20	20	10	10	10
日 脳	61	<10	<10	20	40	20	20	20	10	10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
豚 パ ル ボ	53	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	20	160	160	80	80	40	20	20	10

* 注射後の週数 ** HI抗体価

混合注射群の抗体の推移は、単味注射群と同様の成績であった。

無注射対照豚は試験期間を通じて全例が 20 倍以下であった。

豚パルボワクチン単味注射群の免疫 4 週後における豚パルボウイルスの H I 抗体価は、1 例 (No. 17) を除き、免疫前の抗体価に比べて 2 倍またはそれ以上の上昇を示した。また 1 回注射群、2 回注射群とも、初回免疫後 8 週においても抗体の持続を認めた。

混合注射の 1 回注射群では免疫後 4 週で 640~1,280 倍の抗体価を示し、8 週においても 160~640 倍を示した。2 回注射群では初回免疫後 4 週で全例が 80 倍を示したが、8 週においても同じ値であった。

無注射対照豚の抗体価は全例がすでに 160 倍であったが、8 週では 40~160 倍であった (表 2)。

ワクチン注射豚は、全試験期間を通じて全例とも異常を示さなかった。

3. 繁殖豚での成績

ワクチン注射前の繁殖豚 40 頭の抗体価は、日脳ウイルスに対して 65% (26/40)、豚パルボウイルスに対して 37.5% (15/40) が 20 倍以下であった。また、抗体の追跡調査を行なった 14 頭では、日脳ウイルスに対して 85.7% (12/14)、豚パルボウイルスに対して 57.1% (8/14) が 20 倍以下であった。

日脳生ワクチン単味注射群ならびに混合注射群の日脳ウイルス H I 抗体は、初回免疫後 4 週で全例が 40~160 倍に上昇した。1 回注射群では単味、混合ともに注射後 8~12 週で抗体価は 20 倍以下に減少したが、2 回注射の両群では 16 週においても 20~80 倍の抗体価を示した。

豚パルボワクチン単味注射群の豚パルボウイルス H I 抗体価は、注射後 4 週で全例が 160 倍を示し、16 週では 1 回注射群で 40 倍、2 回注射群では 160~320 倍の価であった。

混合注射群の抗体の推移は、1 回注射群、2 回注射群とも初回免疫後 4 週で 80~160 倍を示し、以後両群とも単味注射群とほぼ同様の抗体価を 16 週まで示したが、1 回注射群の 1 頭は 16 週で 20 倍以下となった。

無注射対照豚の日脳ウイルス H I 抗体価は供試時すでに 40~160 倍で、以後試験期間を通じて同程度の抗体価を持続した。また、豚パルボウイルス H I 抗体価は全期間を通じて 2,560 倍以上であった (表 3)。

ワクチン注射豚は、1 頭が初回免疫後 1 日目に食欲不振を示したほかは、全試験期間異常を示さなかった。

各ワクチンを注射した繁殖豚の分娩成績を産子数および正常子数 (ともに 1 腹平均) で比較すると、ワクチン注射した 3 群と無注射対照群 (抗体陽性) との間に大差は認められなかった。

つぎに、1 腹平均の異常子数を比較すると、混合注射群がもっとも少なく、豚パルボワクチン単味注射群がこれにつぎ、日脳生ワクチン単味注射群と無注射対照群はほぼ同程度であった。

また、異常子を死産子の群、および黒子、ミイラおよび奇形子からなる群の 2 群に分けて検討すると、前者は混合 2 回注射群を除く各群 (対照群を含む) にみられたが、後者は日脳生ワクチン単味 1 回注射群にのみ出現した (表 4)。

考 察

凍結乾燥した日脳生ワクチンを、豚パルボワクチンで

表 3 繁殖豚でのワクチン注射後の日脳および豚パルボ H I 抗体の推移

供試ワクチン	注射回数	ブタ No.	日 脳 H I 価					豚 パ ル ボ H I 価				
			前	4	8	12	16*	前	4	8	12	16
日脳・豚パルボ (混合)	1	22	<20**	40	<20	<20	<20	<20	80	80	160	160
		23	<20	40	<20	<20	<20	<20	160	80	80	<20
	2	27	<20	40	20	20	20	<20	160	160	160	80
		28	<20	40	40	40	80	<20	160	160	160	160
日 脳	1	5	<20	40	20	<20	<20	>2,560	—	—	—	—
		26	<20	40	<20	<20	<20	>2,560	—	—	—	—
	2	33	<20	160	160	160	80	>2,560	—	—	—	—
		40	<20	40	40	40	40	>2,560	—	—	—	—
豚 パ ル ボ	1	17	<20	—	—	—	—	<20	160	80	40	40
		18	<20	—	—	—	—	<20	160	40	40	40
	2	20	<20	—	—	—	—	<20	160	160	320	320
		21	<20	—	—	—	—	<20	160	160	160	160
無注射対照		14	160	320	320	160	160	>2,560	>2,560	>2,560	>2,560	>2,560
		34	40	40	40	20	40	>2,560	>2,560	>2,560	>2,560	>2,560

* 注射後の週数 ** H I 抗体価 — 検査しなかった

表4 ワクチンを注射した繁殖豚の分娩成績

調 査 項 目		ワ ク チ ン						対 照 無注射
		日 脳		豚・パルボ		日脳・豚・パルボ (混合)		
		V ₁ *	V ₂ **	V ₁	V ₂	V ₁	V ₂	
母 豚 数	総 数	6	4	5	3	6	5	4
	異常分娩数	5	3	2	2	1	0	3
産 子 数	総 数	59	37	59	34	56	42	48
	1 腹 平均	9.83	9.25	11.80	11.33	9.33	8.40	12.00
正常子数	総 数	48	32	57	31	55	42	41
	1 腹 平均	8.00	8.00	11.40	10.33	9.17	8.40	10.25
異常子数	総 数 < 死産子, ミイラ, 奇形子	11 < 7	5 < 5	2 < 2	3 < 3	1 < 1	0 < 0	7 < 7
	1 腹 平均	1.83	1.25	0.40	1.00	0.17	0	1.75
異常発生 率 (%)	母豚からみたとき	83.33	75.00	40.00	66.67	16.67	0	75.00
	産子からみたとき	18.64	13.51	3.39	8.82	1.79	0	14.58

* 1回注射群 ** 2回注射群

溶解して注射したブタは異常を示さなかった。しかも、これらブタでの両ウイルスに対する抗体の推移は、各単味ワクチン注射群とはほぼ同様であった。このことは、両ワクチンを混合して注射しても、抗体産生の増強あるいは抑制は惹起されないことを示すものと思われる。

今回の試験には種々の理由から両ウイルスに対する抗体陰性の対照群を設定しえなかったため、この群とワクチン注射群および抗体陽性対照群の間で分娩成績を比較することはできなかった。しかし、黒子を分娩したものはワクチン注射した29頭のうち日脳生ワクチン単味1回注射群の2頭にすぎないことは注目に価するものであろう。いっぽう、各注射群の異常子発生率にかなりの差異が生じたのは、死産子が異常な率で発生した群があったこと、および試験頭数が少なかったことなどが原因と思われる。

以上の諸成績から、両ワクチンの混合注射はブタに対して安全であり、少なくとも各ワクチンの単味注射の場合と同程度の血中抗体を産生することが明らかである。このことは、両ワクチンの混合注射がブタの死流産予防に役立つことを示すものと思われる。

繁殖豚の分娩成績は必ずしも満足できるものではなかった。しかし、上述の諸要因を考慮するとき、混合注射のみならず各ワクチン単味注射の真の死流産予防効果を今回の実験から評価するのは困難である。

最近、出水田ら⁴⁾および古川ら³⁾は、日脳生ワクチンと豚パルボワクチンを混合し、凍結乾燥混合ワクチンを試作してブタに注射し、著者らとはほぼ同様の成績をえている、著者らの試験も両ワクチンの同時・同部位注射であって、ワクチン効果の上で前記混合ワクチンとの間に差を生ずるとは考えられない。両者間に差があるといえ使用の簡便さなど実際応用上の事柄に関してであろう。ただ、ワクチンの混合に際して、日脳生ワクチンのウイ

ルスを失活させないような方法を豚パルボウイルスの不活化にあたって採用することはいうまでもなく、また両ワクチンの混合比あるいは注射量などに若干の検討を加える必要があろう。

要 約

日本脳炎生ウイルスワクチンを豚パルボウイルス感染症不活化ワクチンで溶解して混合ワクチンとし、これをブタに注射し、各単味注射群および無注射群(抗体陽性)を対照として、両ウイルスに対するH I抗体価の推移および分娩成績を検討した。

その結果、ワクチンを混合し注射されたブタに認むべき臨床変化はなく、各単味ワクチン注射群とはほぼ同程度の血中抗体を形成した。

試験豚の分娩成績を比較すると、各ワクチン注射群ならびに無注射対照群(抗体陽性)の間に大差はなかった。しかし、無注射対照群に黒子、ミイラならびに奇形子などの異常産が認められず、また各群に死産子が多発したことなど、分娩成績の面から混合注射および単味注射の効果を明確にすることは困難であった。

〔この論文の一部は、第79回日本獣医学会において追加発表した〕。

文 献

- 1) CLARKE, D. H. and CASALS, J.: *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 7, 561~573 (1958).
- 2) 藤崎優次郎: 日獣会誌, 28, 135~138 (1975).
- 3) 古川 誠, 落合美和子, 森下栄二, 江藤正信, 渡辺幸男: 第81回日本獣医学会講演.
- 4) 出水田昭弘, 高村恵三, 児玉和夫, 福山新一, 佐々木文存: 第79回日本獣医学会講演.
- 5) 信藤謙蔵, 倉田一明, 貝塚一郎, 佐藤修司, 小林信達: 動薬検年報. No. 5, 54~59 (1967).