鶏伝染性喉頭気管炎生ウイルスワクチンのブロイラーひな接種試験

山田進二* 上川慎一* 竹内講二*

(昭和 53 年 1 月 20 日受付)

Avian Infectious Laryngotracheitis Live Virus Vaccine for Broiler Chicks

SHINJI YAMADA et al. (Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, Inc., Kumamoto)

SUMMARY

Two groups, 1 and 2, of broiler chicks were inoculated with avian infectious laryngotracheitis live virus vaccine at the age of 4 and 14 days, respectively. Mild reaction was noticed, but disappeared by 7 days after inoculation. Mean neutralizing antibody titer was 0.2 ~ 0.7 in group 1 and 0.5 ~ 1.1 in group 2 at the age of

40 ~ 70 days.

There was a relationship between the neutralizing antibody titer and the rate of prevention of chicks from infection.

When that titer exceeded 1.1, this rate was more than 80 per cent.

鶏伝染性喉頭気管炎（以下ILTと略す）は、わが国では 1933 年に発生し、さらに 1936 および 1937 年に続発したが、その後長い間発生を認めなかった。吉村ら¹⁶⁾は 1962 年大阪府下の病性鑑定鶏からILTウイルスを分離したが、それ以来本病はわが国でも流行しはじめ、各地で散発的に発生するようになった。九州では 1971 年初めてILTの発生をみたが、1976 年 12 月には宮崎県において、33 戸 94,510 羽の死亡とう汰鶏を記録した。この流行はこれまでの散発的な発生とは異なり、せまい地域内でのブロイラーにおける集団的な大発生であった。

本病の予防にはすでにILT生ウイルスワクチンが開発^{11,12,14)}市販されている。しかしこれまでブロイラーでのILTの発生が少なかったため、本ワクチンのブロイラーに対する安全性、有効性および接種プログラムについては十分検討されていなかった。今回宮崎県のブロイラーでの発生例から、現在市販されているILT生ウイルスワクチンのブロイラーに対する安全性および有効性について、早急に検討する必要性にせまられ試験を行なったので、その成績を述べる。

実験材料および方法

ひな：ハバード系のブロイラーひなで、4 日齢 144 羽および 14 日齢 136 羽の計 280 羽を用いた。

ワクチン接種：ワクチンは市販品（化血研製の Lot 29）を用い、点鼻あるいは点眼で接種した。凍結乾燥ワクチンを付属の溶解用液に溶解し、点滴器具で鼻孔あるいは眼に 1 滴滴下した。接種されたウイルス量は $10^{4.7}$ TCID₅₀/羽であった。ワクチン接種後 10 日間開口呼吸、クシャミ、鼻汁および結膜炎の出現を観察し、接種反応の有無を判定した。

感染防御試験：生ウイルスワクチン接種ひなは 10, 20, 30, 40, 50 および 70 日齢時に攻撃された。攻撃には NS-175 株および 52-1-5 T 株（宮崎県の発生例より分離¹⁰⁾し、鶏腎細胞で増殖させ、凍結乾燥したもの）を用いた。攻撃は気管内に 0.1 ml ($10^{5.0}$ TCID₅₀/羽) 接種した。攻撃後 10 日間は開口呼吸、クシャミ、鼻汁および結膜炎の有無を観察した。

中和試験：ILTウイルス NS-175 株を 10 倍階段希釈列とし、5 倍希釈の非動化血清を等量に加え、37℃ で 1 時間感作させた後、1 希釈あたり鶏腎細胞培養試験管 4 ~ 5 本に 0.2 ml あて接種し、37℃ で 1 時間吸着させた。その後細胞培養試験管には 0.8 ml の培地を加え回転装置にかけ、5 ~ 6 日間 37℃ で培養し、細胞の変化を観察して判定した。中和価は REED and MUENCH の方法により算出した。

成 績

1. ワクチンの接種反応

ワクチン接種ひなに認められた反応を接種時の日齢および接種部位別に分けると表 1 に示すような成績が得られた。接種反応はおもに鼻汁の漏出で、その他にはクシャミおよび結膜炎を認めた。反応は 3 日目より出現し、7 ~ 10 日目まで持続した。しかし開口呼吸および死亡す

表 1 ブロイラーひなに対するワクチンの接種反応

接種 日 齢	接種 部 位	供 試 数	反 応 出現数 (%)	反 応 の 種 類			
				く し や み	鼻 汁	眼 瞼 腫 脹	く し や み と 眼 瞼 腫 脹
4	点眼	67	4 (6.0)	3		1	
	点鼻	77	20 (26.0)	3	13		4
14	点眼	62	2 (3.2)	1		1	
	点鼻	74	3 (4.1)		3		

(接種後 5 日目の成績)

* 化学及血清療法研究所（熊本市清水町大窪668）

る例は認められなかった。反応は4日齢接種群よりも14日齢接種群で軽い傾向を認めた。接種部位により反応が若干異なり、点鼻接種では鼻汁漏出例が多く、4日齢点鼻接種群で26.0%と高かったが、4日齢点眼、14日齢点鼻および点眼接種群では3.2~6.0%の範囲内であった。なお実験の期間中ワクチン接種群および対照群の間で体重増加率に差は認められなかった。

2. 中和抗体価の推移

ワクチンを4および14日齢時に、接種後40日齢から10日目ごとに70日齢時まで中和抗体価を測定した。個体別の中和抗体価は、点眼接種では0~2.0、また点鼻接種では0~2.3であった。また接種日齢別個体の中和抗体価は4日齢接種群では0~2.0、14日齢接種群では0~2.3の範囲内に分布した。平均中和抗体価の成績は図1に示すとおりで、4日齢接種群で0.2~0.7を示した。その上昇はよくなかった。14日齢接種群では0.5~1.1の値を示し、4日齢接種群よりも中和抗体価の上昇がよい傾向を認めた。中和抗体価の変動を日齢別にみると4日齢点眼接種群では点鼻接種群に比較し、40および50日齢時の中和抗体価の上昇が悪かった。また14日齢接種群では60日齢時に最も高く、70日齢時には下降する傾向があった。しかし4日齢接種群はこの傾向を示さなかった。

図1 ワクチン接種後の平均中和抗体価の推移

3. 感染防御試験

ワクチン接種ひなを10, 20, 30, 40, 50および70日齢時に強毒ウイルスで攻撃し感染防御能を検討したところ、図2に示すような成績が得られた。ワクチン接種日齢別にみると4日齢接種群では10~70日齢時に、点鼻接種群の40日齢時の52-1-5 T株攻撃群を除き、20~100%の感染防御率が、また14日齢接種群では60~100%の感染防御率が、それぞれ得られた。4日齢接種群では10~40日齢までに比較し50および70日齢時には感染防御率が高かった。14日齢接種群では日齢の進むとともに感染防御率が上昇し、50日齢時には100%を示した。4および14日齢の両接種群ともに感染防御率は50日齢時に最も高く、70日齢時には下降する傾向を認めた。接種部位別の感染防御率をみると点眼接種群では0~100%、また点鼻接種群では60~100%を示した。

ワクチン接種部位と日齢

□ : NS-175 株による攻撃

▨ : 52-1-5 T 株による攻撃

* : 実施せず

図2 各日齢によるワクチン接種部位別感染防御率

点眼接種群の感染防御率は点鼻接種群に比較し若干低い成績が得られた。攻撃ウイルス別に感染防御率を比較するとNS-175株および52-1-5 T株との間には、点鼻接種群の40日齢時のものを除き差は認められなかった。

4. 中和抗体価および感染防御との関係

ワクチン接種後40, 50および70日齢時に攻撃を行なったひなの中和抗体価および感染防御の関係を検討したが、その成績は表2に示すとおりである。ワクチン接種群では中和抗体価0~0.5のもので72.2%の感染防御率が得られ、中和抗体価が高くなると感染防御率も上昇する傾向を認めた。中和抗体価1.1以上のものでは80%以上の感染防御率が得られた。いっぽう非接種対照群は中和価0~0.5のもので3.4%の感染防御率を示し、ワクチン接種群と比較し著しく低かった。接種部位別に比較すると中和抗体価1.1以上の群では差は認めなかったが、中和抗体価1.0以下の群では点鼻接種群で点眼接種群に比較し感染防御率が高かった。また接種日齢別にみると、4日齢接種群よりも14日齢接種群で高い感染防御率が得られた。攻撃ウイルス別にはとくに差は認めなかった。

表2 中和抗体価および感染防御の関係

中和抗体価	ワクチン接種群	非接種対照群
0~0.5	39/54 (72.2) ¹⁾	1/29 (3.4)
0.6~1.0	26/34 (76.5)	
1.1~1.5	8/10 (80.0)	
1.6~2.0	13/15 (86.7)	
≥2.1	1/1 (100.0)	

¹⁾ 分母は攻撃数, 分子は感染防御数 () 内は感染防御率

考 察

点鼻あるいは点眼用のILTワクチンを, ブロイラーひなに接種したときの接種反応については, 初生ひなおよび成鶏よりも中・大すうにおいて反応の強いこと, また反応の出現は5日目に最も強いことが報告されている¹⁾。いっぽう産卵鶏の3日齢ひなにワクチンを接種したところ0.3%のものにごく軽い反応の出現した例¹²⁾および反応の出現しない例⁷⁾が報告された。今回のブロイラーひなを用いた成績では3.2~26.0%のものに反応が認められた。とくに4日齢点鼻接種群では, 26.0%と他の接種群よりも接種反応の出現率が著しく高かった。しかしこれらの反応はごく軽度であるため, 実際野外で使用されるときには, 接種反応を原因として死亡とう汰鶏の増加することはないものと考えられる。

ワクチン接種後の中和抗体価については, 日齢の進んだものほど上昇のよいことが報告されている^{3,6,12)}。今回の例では4および14日齢ひなは, とともにこれまで報告された成績よりも低い傾向を示した。この原因が鶏種によるものかは不明である。また4日齢接種群では14日齢接種群に比較し抗体価の上昇が低かった。2週齢以下のひなでは抗体産生能の低いことが報告されているが^{5,7,9)}, 4および14日齢ひなの間にも差があり, 4日齢で低いことがわかった。

ワクチン接種後の感染防御能に関する報告は多いが, 日齢の若いひなを用いた実験例は少ない。ブロイラー2日齢ひなにワクチンを接種し, 2週目に90%の感染防御率を示した例¹⁾, および産卵鶏の3日齢ひなに接種し, 2~3週目に80%以上の感染防御率を示した例¹²⁾がそれぞれ報告されているにすぎない。また, ワクチン接種後免疫の出現までの時期は, 2~4日目であったことが報告されている^{1,2,7,9,12~14)}。今回のブロイラーひなの例では接種後6日目に35~65%の防御率を得たが, 4日齢ひなでは14日齢ひなよりも低かった。これは免疫産生能力が4日齢の方で未発達であるためと考えられる。これらの感染防御率はこれまでの報告に比較し低い, この違いは鶏種, ワクチン中のウイルスの量あるいは攻撃の条件などの差によりでてきたものと推察され

る。

つぎに接種部位別に免疫の産生状況を検討し, 点鼻あるいは点眼接種が他の部位よりもよい免疫が得られた報告¹²⁾, あるいは点鼻接種が他の部位に接種するよりもよかつた^{8,10)}とする報告がある。今回の成績では点鼻接種の方が点眼接種よりもよい成績が得られた。

若齢ひなにワクチンを接種して免疫の持続が検討されている¹²⁾。産卵鶏の3日齢ひなに接種すると6週目に最高となり, 以後次第に下降することが述べられた。今回の成績において感染防御率(4および14日齢接種群)および中和抗体価(14日齢接種群)は50~60日齢時に最も高く, 70日齢時には下降しており, ブロイラーひなにおいても産卵鶏のひなと同様の成績が得られた。

ワクチン接種後得られる中和抗体価と感染防御の関係を検討し, 両者間に関係ありとする報告¹²⁾とないという報告⁶⁾がある。今回の成績では全体的にみると関係のあるという成績が得られたが, 個々の例を詳細に検討すると一致しない例も認められた。とくに4日齢接種群の中和抗体価の低い例では, 両者の一致しない例が多かったので, 若齢ひなのワクチン効果には中和抗体価の測定と同時に感染防御能についても検討されるべきである。

ILTウイルスの免疫学的な型は一つであると報告されているが, 今回宮崎県の発生例で分離した52-1-5 T株による感染防御率と標準株であるNS-175株による感染防御率に差がなかった。このことから現在NS-175株の弱毒株で製造されているワクチンは, 野外流行株に対しても予防効果を現わすものと思われる。

要 約

ブロイラーの4および14日齢ひなに鶏伝染性喉頭気管炎ワクチンを接種し, その安全性および有効性について検討を行ない, つぎのような成績が得られた。

- 1) ワクチン接種後, 4日齢接種群では6.0~26.0%, また14日齢接種群では3.2~4.1%のものに軽い反応を認めたが, 死亡あるいはとう汰されたものはなく, 反応は4~7日目には消失し, 増体率に影響を与えなかった。
- 2) ワクチン接種後の平均中和抗体は40~70日齢時に4日齢接種群で0.2~0.7%, また14日齢接種群で0.5~1.1%に上昇した。
- 3) 感染防御率は10~30日齢よりも, 40~70日齢の方がよく60~100%を示したが, 70日齢時には下降する傾向を認めた。
- 4) 日齢別にみると4日齢よりも14日齢接種群で, 接種部位別にみると点鼻接種群が点眼接種群よりも, それぞれ中和抗体価および感染防御率が若干高かった。
- 5) 中和抗体価と感染防御率の間には若干関係があり, 中和抗体価1.1以上のものでは80%以上の感染防

御率が得られた。

文 献

- 1) ALLS, A. A., IPSON, J. R. and VAUGHAN, W. D.: *Avian Dis.*, 13, 36~45 (1969).
- 2) BENTON, W. J., COVER, M. S. and GREENE, L. M.: *Avian Dis.*, 2, 383~396 (1958).
- 3) CHOMIAK, T. W., LUGINBUHL, R. E. and HELMBOLDT, C. F.: *Avian Dis.*, 4, 235~246 (1960).
- 4) CHURCHILL, A. E.: *Vet. Rec.*, 77, 1227~1234 (1965).
- 5) COVER, M. S., BENTON, W. J. and KRAUSS, W. C.: *Avian Dis.*, 4, 467~473 (1960).
- 6) FITZGERALD, J. E. and HANSON, L. E.: *Amer. J. Vet. Res.*, 24, 1197~1303 (1963).
- 7) GELENCZEI, E. F. and MARTY, E. W.: *Avian Dis.*, 9, 44~56 (1965).
- 8) HAYLES, L. B., NEWBY, W. C., GASPERDONE, H.

and GILCHRIST, E. W.: *Canad. J. Compt. Med.*, 40, 129~134 (1976).

- 9) HITCHNER, S. B. and WHITE, P. G.: *Poultry Sci.*, 37, 684~690 (1958).
- 10) 上川慎一, 福田輝俊, 内布洋一, 富永篤徳, 小原速美, 山田進二: 第84回日獣学会講演, 宮崎市(1977).
- 11) 幸田裕一, 山田進二, 市原 強, 市原鶴雄: 日獣会誌, 25, 668~671 (1972).
- 12) 幸田裕一: 麻獣大研究報告, No. 31, 133~202 (1976).
- 13) SAMBERG, Y. and ARONOVICI, I.: *Refuah. vet.*, 26, 158~167 (1969) [*Vet. Bull.*, 40, No. 3438 (1970)].
- 14) 佐々木文存, 平原 正: 日獣学誌, 30(学会号)153 (1968).
- 15) SHIBLEY, G. P., LUGINBUHL, R. E. and HELMBOLDT, C. F.: *Avian Dis.*, 7, 184~192 (1963).
- 16) 吉村昌吾, 小田切美晴, 井上哲夫: 日獣学誌, 26(学会号) 393 (1964).

技術講座

養 殖 魚 類 の 白 点 病 と そ の 治 療 対 策 (Ⅱ)

阿 部 勲 雄*

6. 治 療 対 策

治療にはもっぱら薬浴法が用いられる。また、水温の上昇をはかることも行なわれ、この両者を併用すれば効果的である。後者は観賞用の小さな水槽や加温式の養鰻池では実行可能であるが、その他の養魚池では一般に困難である。

薬浴には一定濃度の薬溶液に魚を一定時間浸漬する方法、あるいは飼育池に薬剤を一定濃度になるように散布する方法がとられる。薬液濃度は池に薬剤を散布するような長時間浴もしくは永久浴に比較して短時間浴では高くなるのが一般的である。薬剤濃度と薬浴時間の関係は、魚の種類と病状、水温、水質(pHなど)の諸条件によって異なってくるが、これらの点は判然としていない。

1) 治療に用いられる薬剤

白点虫が魚の皮膚や鰓の組織内に侵入していない場合は薬剤によって容易に殺虫することが可能である。しかし、本虫は他の寄生性の纖毛虫類と異なり、魚体の上皮内に侵入しているため、完全に駆除するには数回の薬浴を必要とする。

わが国の養殖魚類の白点病に使用されるおもな薬剤と

* 日清製粉(株)中央研究所(埼玉県入間郡大井町鶴ヶ岡177-3)

用法について、魚種別に整理すると表1のようである。

ここにあげた薬剤と用法は、現場での実用性と適用魚種が明確なものという2点から、ほとんどが実技書の類に紹介されているものに基づいた。表示した薬浴濃度および処理時間の出所を明らかにするため引用書を付記した。なお、混合薬については割愛した(混合薬の項参照)。白点病の治療には現在、主として8種類の薬剤が使われている。しかし、これらの薬剤は *I. multifiliis* に対してのみ選択性をもつものではなく、むしろ、魚類の外部寄生虫、とりわけ纖毛虫類の駆除に広く使われている。白点病病原虫に対する薬浴は2~3回の反復浴が必要であり、その間隔は概して2~7日である。

つぎに、おもな薬剤の実施効果、魚に及ぼす影響等について触れる。

ホルマリン:ホルマリン水(局方)が用いられる。使用濃度は本剤を原液とみなし、その希釈をもって示される。一般に魚の体表や鰓に寄生する原虫類や吸虫類の駆除に使われる。多くの場合、250 ppm (250 ml/m³) の濃度で5~60分間の短時間薬浴が行なわれ、ウナギでは30 ppm, 24時間の薬浴法が用いられる。ホルマリンの病原虫に対する駆除効果は一様でなく、魚体に対する影響も大きい。とくに水温が高いほどその影響は著しく、VAN DUYN²⁴⁾は水温18℃以下で使用すべきであるとし