

マレック病の免疫方法に関する研究
とくに七面鳥ヘルペス ウイルスに由来するワクチンの
開発について

藤 川 英 雄

財団法人、化学及血清療法研究所

目 次

| | | | |
|-----|-------------------------|-------|----|
| 第一章 | 緒 論 | ----- | 1 |
| 第二章 | 野外からのMDHVの分離および その性状 | ----- | 13 |
| 第一节 | 実験材料および方法 | ----- | 13 |
| 第二节 | 実験成績 | ----- | 20 |
| 1 | MDHVの分離 | ----- | 20 |
| 2 | MDHV分離株の性状 | ----- | 22 |
| 1) | 理化学的性状 | ----- | 22 |
| 2) | 鶏に対する病原性 | ----- | 26 |
| 第三节 | 考 察 | ----- | 29 |
| 第四节 | 小 結 | ----- | 32 |
| 第三章 | MDの疫学的検討 | ----- | 34 |
| 第一节 | 実験材料および方法 | ----- | 34 |
| 第二节 | 実験成績 | ----- | 36 |
| 1 | 抗体の分布 | ----- | 36 |
| 1) | 県別抗体陽性率 | ----- | 36 |

| | | |
|--------|--------------------------|----|
| 2) | 日齡別抗体陽性率 | 36 |
| 3) | 養鶏場別抗体陽性率 | 37 |
| 4) | 鶏の種類別抗体陽性率 | 38 |
| 5) | 移行抗体の保有状況 | 38 |
| 2 | 移行抗体の消長とイラスト分 離 | 39 |
| 3 | 鶏以外の動物血清中の抗体分 布 | 41 |
| オ 3 節 | 考 察 | 42 |
| オ 4 節 | 小 括 | 45 |
| オ IV 章 | 野外からの HVT の分離および その性状 | 47 |
| オ 1 節 | 実験材料および方法 | 48 |
| オ 2 節 | 実験成績 | 48 |
| 1 | HVT の分離 | 49 |
| 2 | 分離 HVT の性状 | 50 |
| 1) | 理化学的性状 | 50 |
| 2) | 鶏に対する病原性 | 54 |
| 3) | 発育鶏卵内におけるイラスト | |

| | | |
|-------|---------------------|----|
| | スの分布 | 54 |
| 4) | 実験用小動物に対する病原性 | 55 |
| オ 3 節 | 考察 | 56 |
| オ 4 節 | 小 括 | 59 |
| オ V 章 | HVT 採結生ワクチンの野外応用試験 | 61 |
| オ 1 節 | 実験材料および方法 | 62 |
| オ 2 節 | 実験成績 | 67 |
| 1 | 産卵鶏に対する MD ワクチン接種試験 | 67 |
| 1) | 死亡と回収数 | 67 |
| 2) | 死亡と回収の原因 | 68 |
| 3) | 日齢別腫瘍発生数 | 70 |
| 4) | MD 発生数 | 71 |
| 5) | MD 病変の出現部位 | 73 |
| 6) | ワクチンウイルスおよび MD | 74 |
| | HV の分離 | 74 |
| 7) | ワクチン接種有無と 2, 3 | |

| | | |
|-----|----------------------------|----|
| | 病原体に対する抗体の動き | 75 |
| 1) | MDHV あよむ HVT ゲル内沈降抗体の動き | 76 |
| 2) | IBウイルス中和抗体の動き | 77 |
| 3) | MG凝集抗体陽性率の動き | 78 |
| 8) | MDワクチンの他種ワクチンと効果にあよぶ影響 | 79 |
| 9) | 体重の変動 | 80 |
| 10) | 産卵に対する影響 | 80 |
| 2 | 肉用鶏に対するMDワクチン接種試験 | 80 |
| 1) | 死亡と回収数 | 80 |
| 2) | MD発生数 | 82 |
| 3) | 体重の変動 | 82 |
| 4) | ワクチンウイルスあよむMDHVの分離とゲル内沈降反応 | 83 |
| 5) | 飼料要求率あよむ経済計算 | 84 |
| 第3節 | 考察 | 86 |

| | | | |
|-------|-----|-------|----|
| オ 4 節 | 小 括 | ----- | 95 |
|-------|-----|-------|----|

| | | | |
|-------|--------------------|-------|----|
| オ V 章 | HVT 凍結乾燥 ワクチン に関する | | |
| | 3 検 討 | ----- | 99 |

| | | | |
|-------|----------------|-------|-----|
| オ 1 節 | 実験材料 あ ゝ び 方 法 | ----- | 100 |
|-------|----------------|-------|-----|

| | | | |
|-------|------|-------|-----|
| オ 2 節 | 実験成績 | ----- | 102 |
|-------|------|-------|-----|

| | | | |
|---|-----------------------|-------|-----|
| 1 | ワクチンライルスの作出とその の性状 | ----- | 102 |
|---|-----------------------|-------|-----|

| | | | |
|----|--|-------|-----|
| 1) | ワクチンライルスの作出あ る び 細胞フリーライルスの 出現状況 | ----- | 102 |
|----|--|-------|-----|

| | | | |
|----|-------------|-------|-----|
| 2) | ワクチンライルスの同定 | ----- | 103 |
|----|-------------|-------|-----|

| | | | |
|----|--------------|-------|-----|
| 3) | ワクチンライルスの純粋性 | ----- | 104 |
|----|--------------|-------|-----|

| | | | |
|----|-------------------------|-------|-----|
| 4) | ワクチンライルスの び 接種 種 討 験 | ----- | 106 |
|----|-------------------------|-------|-----|

| | | | |
|---|---------------|-------|-----|
| 2 | 乾燥ワクチンの野外応用試験 | ----- | 108 |
|---|---------------|-------|-----|

| | | | |
|----|--------|-------|-----|
| 1) | 死亡と感染数 | ----- | 109 |
|----|--------|-------|-----|

| | | | |
|----|--------|-------|-----|
| 2) | MD 発生数 | ----- | 110 |
|----|--------|-------|-----|

| | | | |
|----|-----------------------------|-------|-----|
| 3) | ワクチンライルス あ ゝ び MD HV の分離 | ----- | 112 |
|----|-----------------------------|-------|-----|

| | | |
|-------|--------------------------|-----|
| 4) | HVT あ り び MDHV ゲ ル 内 沈 降 | |
| | 抗 体 の 動 態 ----- | 113 |
| 5) | 体 重 の 変 動 ----- | 114 |
| ア 3 節 | 考 察 ----- | 114 |
| ア 4 節 | 小 括 ----- | 119 |

| | | |
|-------|--|-----|
| ア 四 章 | M D ・ N D 混 合 生 ら イ ル ス ワ | |
| | ウ 4 ン に 関 する 討 論 ----- | 121 |
| ア 1 節 | 実 験 材 料 あ り び 方 法 ----- | 122 |
| ア 2 節 | 実 験 成 績 ----- | 124 |
| 1 | HVT あ り び NDV B ₁ 株 の 干 渉 ----- | 124 |
| 2 | 混 合 の ウ 4 ン に 対 する DMSO の 影 響 ----- | 125 |
| 3 | 混 合 の ウ 4 ン の 安 全 性 ----- | 126 |
| 1) | 接 種 反 応 ----- | 126 |
| 2) | 病 理 組 織 学 的 所 見 ----- | 127 |
| 4) | 混 合 の ウ 4 ン の 免 疫 効 果 ----- | 128 |
| 1) | SPH における 接 種 討 論 ----- | 128 |
| 2) | 移行 抗 体 保 有 における 接 種 討 論 ----- | 130 |
| 3) | 接 種 部 位 の 比 較 討 論 ----- | 131 |

| | | |
|-------|--------------------|-----|
| 4) | ワクチン接種後のウイルス | |
| | 回収試験----- | 132 |
| 5) | ND ワクチン接種試験----- | 132 |
| 5 | 混合ワクチンの同居感染----- | 133 |
| 6 | 混合ワクチンの野外応用試験----- | 134 |
| 第 3 節 | 考 察----- | 136 |
| 第 4 節 | 小 括----- | 141 |

| | | |
|-------|----------|-----|
| 第 四 章 | 総 括----- | 143 |
|-------|----------|-----|

| | | |
|-------|-----------|-----|
| 第 五 章 | 参考文献----- | 151 |
|-------|-----------|-----|

第 I 章 緒 論

鶏のマレック病（以下 MD と略す）は当初白血病の中の 1 つのタイプとして分類されていたが、1907 年ハンガリーの Marek は、鶏白血病の中のリンパ性白血病に属するもののうち、神経病変を示すものは、他の白血病とは異なるものであることと、病理学的に証明し報告した。その後この病気は世界各国で散発し、病理学的に腫瘍性あるいは炎症性の変化と、みることが意見が分かれ、そのため 2, 3 異なった病名で呼ばれた時代もあった^{92, 59, 61}。その後 1957 年にアメリカおよび 1965 年にイギリスで 30 ~ 60 日令の若齢雛が集団的に発病し、死に至る病気であることがわかった。1962 年 Benton³⁷⁾ および 1965 年 Dunlop³⁶⁾ は、この病気はリンパ性白血病とよかれと類似していることから急性白血病あるいは幼若型白血病と呼んだ。しかしその後病理学的研究が進むにしたがい腫瘍というよりも炎症性の強い病気である

ことが判明し、可成り Marek が報告している疾
 病と同じものであると考えられるようになった。
 Biggs は 1961 年世界獣医家禽疫病学会の
 席上、このウイルスに発生する、急性白血病
 に類似する疾病を MD と命名する案を提出し
 承認され、ここに正式に MD なる病名が成立
 した。MD は感染症であるとの立場から、多
 数の研究者により病原体の分離および病気の
 病原性について研究が進められた。1962 年 Se-
 voian は¹¹⁾、1963 年 Biggs and Payne¹⁰⁾ により鶏の系
 統により本病に対する感受性に差のあること
 が報告され、また 1963 年 Biggs and Payne¹⁰⁾ が最初
 に MD の人工感染に成功した。その後イギリ
 スで 1967 年 Churchill and Biggs²⁸⁾ により病原体とし
 て細胞随伴性の強いヘルペスウイルス（以下
 MDHV と略す）が分離された。またアメリカに
 あっても 1968 年 Nazerian は⁸²⁾ あらび Solomon は¹¹²⁾
 により病原ウイルスの分離が成功した。つづ
 いと 1968 年 Eidson and Schmittle⁴²⁾、Biggs は⁸⁾、1969
 年 Witter は¹²⁵⁾ により MD と分離ウイルスとの関

係が報告された。25) に 1968 年 Chubb and Churchill²⁵⁾, 1969 年 Calnek and Hitchner²⁰⁾, 1970 年 Calnek²⁶⁾, 1970 年 Nazarian and Witter⁸²⁾, 1970 年 Purchase⁹⁵⁾, 1972 年 Biggs¹³⁾ により野外のほとんどの鶏群に MDHV の存在していることが報告されている。1972 年 Biggs and Milne により野外から分離された MDHV の病原性は、急性の MD と起す MDHV, 古典的は病変を示す MDHV あよび非病原性の MDHV の 3 つのタイプに分けられ、これらのタイプのいずれも多くの鶏群に浸透していることが述べられた⁹⁾。また 1972 年 Kenzy and Cho^{68, 69)} は MD 感染鶏は数ヵ月間ウイルスを排泄しキャリアになりうることを証明し、また 1971 年 Witter¹²⁹⁾, 1972 年 Biggs¹³⁾ は、MDHV の感染は鶏の生存している限り持続することと述べ感染、発症あよび抗体の間に相互に関係のみされはいることが報告された。

MDHV の性状については 1967 年から 1968 年にかけて Kottaridis⁷³⁾, Eidson and Schmittle⁴⁴⁾, Witter¹²²⁾, Nazarian⁸⁴⁾, Churchill²⁸⁾, Solomon¹¹²⁾,

Nazarian ⁸²⁾ あ る び Witter ¹²⁴⁾ に よ り 報 告 さ れ た
 。 MDHV は DNA タ イ プ の ら イ ル ス だ り , 大 き
 さ は 95 ~ 100 nm, 165 個 の カ プ リ ム ア ー を 持 ち , 生
 体 あ る び 培 養 細 胞 の 組 織 標 本 だ り A 型 核 内 封
 入 体 と 作 り , 鶏 腎 線 維 芽 細 胞 (以 下 CKF と 略
 す) , 鶏 胎 胆 線 維 芽 細 胞 (以 下 CEF と 略 す)
 ア ル 胎 胆 線 維 芽 細 胞 (以 下 DEF と 略 す) は
 ど の 培 養 細 胞 で 癒 合 性 の 細 胞 変 性 効 果 (以 下
 CPE と 略 す) と 示 し 生 体 内 あ る び 試 験 管 内 だ
 も 感 染 性 は 細 胞 随 伴 性 だ る こ と が 述 べ ら れ
 た 。 ま た MDHV の 伝 播 に 関 す る 報 告 と し て は 19
 68 年 Colwell and Schmittle ³³⁾ は MDHV 感 染 鶏 と 入 れ た 隔
 離 飼 育 箱 か ら 感 受 性 鶏 の い る 別 の 箱 へ 空 気 と
 送 る と 容 易 に 空 気 感 染 が 起 る こ と と 証 明 し た
 。 ま た 1968 年 Eidson and Schmittle ⁴³⁾ は 感 染 鶏 の 鼻 腔
 洗 滌 液 が MDHV は 伝 染 し , 感 染 性 は こ の 洗 滌 液
 の 遠 心 沈 澱 に よ っ て 失 わ れ る こ と と 報 告 し
 て い る 。 さ ら に 1968 年 Witter ¹²³⁾ は , MD の 病
 原 体 は 敷 わ ら 中 に 16 週 間 生 存 し て い た こ と と
 述 べ た 。 1969 年 Calnek ¹⁹⁾ あ る び 1970 年 Purchase

95) は MD 感染鶏の表皮の羽毛根部の上皮細胞に多数の成熟ヘルペスウイルス粒子が認められ、これからウイルスの感染源となることと報告している。また今回感染について、MD 病原体が介卵感染したことと 1968 年 Sevoian¹¹⁰⁾ により報告されたが、その後 1970 年には Solomon¹¹³⁾ により MDHV は介卵感染しないことが証明された。また 1969 年 Brewer¹¹⁷⁾ は MD の伝播に蚊が関係しているのではないかと考査実験を行なったところ蚊は Vector にはなりなかつたと報告した。

いっぽう我国における MD の研究に関しては、病理学的に、1930 年江本あやむ宮本⁴⁷⁾ が神経型リンパ腫症の存在することと報告したものが最初と考えられる。また病原体の分離は 1969 年湯浅¹¹⁹⁾ が MD 発症鶏の腎と直接培養する方法によりヘルペスウイルスと分離したのが最初であり、その後 1969 年から 1971 年にかけて伊沢^{56, 58)}、加藤⁶²⁾、中井⁸¹⁾、野村⁸⁶⁾、吉田¹³¹⁾、湯浅¹²⁰⁾ により MDHV は

分離され、かつ我国にありて MDHV は鶏の間に伝染かつ濃厚に浸潤してゐることが報告された。

MD の予防に關する研究は、病原ウイルスが分離され、各種の性状が検討されはじめると同時にはじめられ、ワクチンの研究は、もとより本病の予防についていろいろの検討がなされた。また 1969 年 Drury ³⁵⁾, 1972 年 Burmes-
ter and Witter ¹⁸⁾ は完全に外界から遮断した環境で鶏を飼育することにより MD の感染と防ごうと試みたことと報告し、また孵化後一定期間 MD の感染と防ごうとすることにより、その後の感染にありては日齢抵抗性があつてゐるのを發病するものは少なくあることを實驗的に証明した。次に 1947 年 Hutt and Cole ⁵²⁾, 1963 年 Biggs and Payne ¹⁰⁾, 1967 年 Purchase and Biggs ⁹⁷⁾, 1968 年 Crittenden ³⁴⁾, 1968 年 Sevoian ¹⁰⁹⁾, 1968 年 Biggs ¹⁴⁾, 1968 年 Cole ³¹⁾, 1969 年 Han ⁵⁰⁾, 1970 年 Morris ⁷⁷⁾ は鶏の系統により MD に對する抵抗性が異なることを報告してゐる。また 1968 年 Biggs ¹⁴⁾, Cole

31) 1970年 Morris³¹⁾ は人工的にMD抵抗性の
 系統を容易に作出することかぞえたこと述べた。
 次に治療を目的として1971年 Colmano and Cross³²⁾
 はジクロロジフェニールシクロエタン(以下
 DDDと略す)を飼料にkg当り500mgの割合
 に加えて、与えたところMDの発生が若干減
 じたと報告した。しかしこのDDDは腎細胞に
 蓄積して多くの副作用があり、飼料添加で
 MD発生を予防する化学療法剤としては適さ
 るものではなかった。次に1968年 Eidson⁴⁶⁾
 は1969年 Chubb and Churchill²⁶⁾ は種鶏群に高度の免
 疫を与え、初生雛に高い移行抗体を作らせ
 ることによりMDを防御する方法を検討して
 いる。この方法は高度の移行抗体を雛に付
 与することにより日齢抵抗性が与えられるまじら
 イルス感染を阻止しようとするものであった
 が、しかしその後の研究により移行抗体を保有
 していても強毒なイルスの感染は防ぎ得ない
 こと、また3週齢頃になると移行抗体もほと
 んど消失しそのため期待する効果は得られず

、この方法は実用的ではいいことがわかった。
 。その他野外でMDの発病しない成鶏鶏舎の
 敷わらと初生ひな群にを入れることによりMD
 の発症を防御する試みも行われた。この方法
 ではよい成績の得られることもあったが、こ
 の感染に確実性がなくMDはもとより他の疾
 病に対しても危険性が大きかった。そこでこ
 れまで述べてきた方法はいずれも有効性、安全
 性および経済性からみて実用的ではなく、いつ
 かの開発が要望された。

MDに対するワクチンについては、1969年
 Churchill ^{29, 30)} がはじめに報告してゐる。Church-
 hill は野外で流行してゐる強毒のMDHVを培養
 細胞に継代することにより弱毒化に成功した。
 。1970年 Biggs ¹²⁾ によりこのライルス株(HRR-
 -16株)で作成したワクチンは実際の野外応用
 試験でMD予防に効果のあることが確認され
 た。その後このタイプのワクチンは1970年 Na-
 zerian ³⁹⁾ (JM株)、1971年 Eidson and Anderson ³⁸⁾
 (GA株)および1972年 Blaxland ¹⁵⁾ (Becken

ham株)も報告してゐる。このMDHVに共通する性質として鶏に對して病原性がなく、抗原的にみると病原性に関連するA抗原が消失してあり、培養細胞上では強毒ライルスに比較し、かなり、スミナブラックと作りCEHおよびDEFに感染しよく増殖する。またこのMDHVはこの細胞内で細胞遊離性のライルスと産生するがその量は少ない。このワクチンライルス(細胞随伴性)を1日齢ひよこに接種すると1~2週間後強毒ライルスの発病と阻止するに十分な免疫が得られる。しかしこのワクチンライルスと接種し、MDVの発病性があることも接種した鶏は野外の強毒ライルスの侵入と阻止ができずワクチンライルスとともに鶏体内で長期間持続感染をみこし、しかもワクチン接種鶏は、全感染した強毒ライルスが毛のう上皮細胞でふえ成熟することと阻止できない。しかしワクチンライルス自身は毛のう上皮細胞内で成熟ライルスとはならず、したがってワクチンライルスの同居感染

は起し難い, などの性根が報告された。その後 1972 年 Rispen ^{103, 104)} とあま Zander ¹³⁴⁾ は自然界の弱毒 MDHV と分離し, こゝが M.D 予防に効果のあることと報告した。Rispen ¹⁰³ は非病原性株 (CV1998 株) と培養細胞で増殖させた凍結型のワクチンを作成した。このワクチンからイルスは鶏群の 10% に接種すると 4 週目から免疫がござはじの 7 週目に最高となり, また 1 日齢 14 日にワクチンと接種した, 3 週令¹² まで, ワクチン未接種ひねと同居させると, 同居後 3 週目から免疫がござはじの, 5 週目に最高になると報告された¹⁰³。次に Zander ¹³⁴⁾ の報告したものは非病原性弱毒ウイルス (HN, CHV) と SPF の鶏に接種し, その後血液を採取し, この血液をワクチンとして使用可能なものである¹³⁴⁾。したがって凍結保存はせず凝固防止された血液は 24 時間以内に 1 日齢 14 日に接種される。このワクチンからイルスの同居感染は比較的遅く, 同居感染により鶏群を免疫させるには 5~10 週間が必要であると述べられ

した。また、1972年 Biggs and Milne ⁹⁾ も Zander と同様の非病原性ウイルスと分離し得たと報告した。いっぽうアメリカでは、1970年 Witter ¹²⁾ は七面鳥からヘルペスウイルス（以下 HVT と略す）と分離し、その後この HVT の性状が、ゲル内沈降反応および同接蛍光抗体法で MDHV と互い違いを類似していることが明らかにされた。また 1970 年 Witter ¹²⁾ によりこの HVT は鶏に対して非病原性であることも実験的に確かめられ、さらに 1970 年 Okazaki ⁸⁾ により実際野外に於いて MD の発症も阻止することが述べられた。この報告の後多くの研究者により七面鳥より HVT が分離され、これが鶏に対して病原性を示さず MD に対しての防御能力を持つことが追証確認された ^{37, 41, 48, 38, 99)}。我国に於いては 1971 年 加藤 ⁵⁾ によりホルマリンで不活化する不活化ワクチンが開発され、1971 年 鳥嶋 ¹¹⁸⁾ はこの不活化ワクチンを用いて野外応用試験を行い、ワクチン接種群は対照群の MD 発症数より 30 ~ 33 % 少なかったことと

報告した。また生ワクチンについては1971年から1972年にかけて合田¹⁾、稲見⁵⁴⁾、伊沢⁵⁸⁾、金子⁶⁶⁾、加藤⁶¹⁾、小島⁹¹⁾、野村⁸⁷⁾、吉田¹³¹⁾により実用可能な成績が報告され、その後、実際野外で応用されるようになった。

著者は1970年より本病予防のためのワクチンの開発について研究を進め、またワクチン接種時の省力を目的としたMDおよびニエーカッスル病（以下NDと略す）の混合生ウイルス予防液の開発とも検討して来た。本論文の主な内容は、1) 野外からのMDHVおよびHVTの分離とその性状、2) MDの疫学的検討、3) 予防液の実用化に必要な諸条件および野外応用試験について詳細に検討した成績である。

第二章 野外からのMDHVの分離およびその性状

すでに述べた通りMDは鶏の肉に広く存在していることが報告されており、その経済的被害は乏かぬと大いである。著者は本病予防のためワクチンの開発を主目的として研究を進めているが、この研究を進めるにあたり特に免疫の程度を測定するために、毒量ライルスが必要である。またいっぽう、MDの予防方法と確立するためにMDHVそのものの性状をも詳細に検討する必要を認める。このようなところから、著者はまず野外に於けるMD罹患鶏からMDHVの分離を試み、その結果分離されたライルスの性状を詳細に検討して来た。

本章に於いてはMDHVの分離状況と性状の詳細について述べる。

第1節 実験材料及び方法

ウイルス分離供試鶏：1970年8月佐賀県の某養鶏場において70日齢頃より食欲廃絶，起立不能，乳白色下痢便，よくそうあよび出血などとし120日齢までに2,000羽中約300羽が死亡するいはとうな経過をた。この120日齢時とうな鶏10例をウイルス分離材料とした。

病理組織学的診断：供試鶏を解剖し各臓器の変化を観察すると同時に肝，脾，腎，肺，脾，卵巣，小腸，大腸，腺胃，Hのうあよび神経とその他を採材し10%ホルマリンで固定した。その後薄片標本を作成してヘマトキシリン・エオジン染色を行ない鏡検を行なった。

組織培養法：初代培養細胞としてCKF，CEF，鶏胎肝の肝，脾，腎細胞，発育鶏卵巣尿膜細胞，土佐島腎，近腎，モルモット腎，マウス胎肝，マウス胎肝の腎，豚腎，牛腎あよび牛腎細胞，継代培養細胞としてGMC（猿腎由来），PK-1（豚腎由来），FL-1（人羊膜），HmLu（ヒムスロー肺由来）あよびBHK-21

(ヒムスター腎) が用いされた。初代および継代細胞の GMC, HmLu および FL-1 細胞の培養は常法に準じておこはいい、増殖用培養液 (以下 GM と略す) はイーグル MEM に 10 % の割合にトリプトース・ホスフェート・ブロス (以下 TPB と略す) および 5 ~ 10 % の割合に牛血清を加えたもの、また維持用培養液 (以下 MM と略す) はイーグル MEM に 10 % の割合に TPB および 2 ~ 5 % の割合に牛血清を加えたものと、それぞれ用いた。BHK-21 細胞には L2-Hanks 液およびイーグル MEM 液と等量に混合し、これに 10 % の割合に牛血清を加えたものと GM とし、L2-Hanks 液と MM とした。PK-15 および PS 細胞の GM には 10 % 牛血清加 L2-Hanks 液、MM には GM より牛血清を除いたものを用いた。

ウイルス分離法：分離材料には腎を用い、無菌的に採材した腎を常法によりトリプシンで消化、直径 5.5 cm のプラスチックシャーレに培養する方法とイーグル MEM が 10 % 乳剤と作

成して CEF あよび DEF に接種する方法を用いた。MDHV による特異的 CPE の認められたものは陽性とし、CPE の認められなかった場合には次代へ継代し3代まで CPE が出現しない場合は陰性とした。

抗体の測定方法：MD については寒天ゲル内沈降反応によった。抗原の作成は次のようにして行なった。分離株である MDHV SD-3 株と CKH に接種し、8～10 日 37°C で培養して、CPE が 50% 以上出現したときに、この培養液が収集された。この液を 2 回凍結融解し、この遠心沈澱 (3,000 r.p.m., 15 分間) した上清と透析膜を用いて $1/20 \sim 1/50$ に濃縮し抗原とした。沈降反応用寒天は $M/15$ の Na_2HPO_4 あよび KH_2PO_4 を用いて作成した磷酸緩衝液 (PH 7.4) に 8.0% の割合に NaCl は 5μ に 1% の割合に Special Agar (Difco 社製) を加え加熱溶解したものである。これにマーザニンが 0.01% 加えられ使用時まで 4°C で保存された。約 5 ml の溶解した上記反応用寒天をスライドグラス上に

流して凝固させ、その後、この容器の上に直径 3 mm の孔を明け、これを中心とし、その周辺部に中心の孔から 5.6 mm の間隔に 6 個の 3 mm の孔を 6 個をあける。中心の孔には抗原、また周辺部の孔には被検血清を、それぞれ 1 滴滴下し反応を行なった。血清は非動化せずとも用いた。反応は 37°C で行ない、3 日目に判定を行なった。抗原および血清の間に白色の沈降線の観察されたものを陽性とし、沈降線の認められなかったものを陰性とした。はた実験ごとに陽性および陰性の対照をあいに行なった。

白血病は中和試験により実施した。反応液はまず被検血清を 10% 牛血清加トリス緩衝液で 2 倍にして 56°C 30 分非動化を行なった。

この非動化血清 0.2 ml と指示ライルス液 2000 FFU (Focus 形成単位) / 0.2 ml とを混和し 37°C 60 分感作後、その 0.1 ml づつを 4% の CEF 2 代目培養細胞シャーレ 2 枚に接種した。翌日容器を培地を重層し 6 日間培養、その後、Focus を数え、対

照の抗体を含む材料を接種した RSV の Focus の数と比較し、その比が $\frac{1}{10}$ 以下のものと陽性と考えた。

RIF test の方法：RIF test は Rubin の方法¹⁰⁵⁾ に準じ 2% の CEF 初代培養細胞（シャーレに培養）に材料を 0.2 ml 接種し、3～4 日ごとに 3 代継代を行ない、継代ごとにその一部のシャーレに、それぞれ 1,000 FFU の RSV (RAV-1) と RSV (RAV-2) を接種した。翌日寒天培地と重層し 2 6 日間培養し、Focus の数を数え、対照の感受性培養細胞に於ける RSV の Focus 数との比較を行なった。対照の感受性培養細胞に於ける RSV の Focus の数との比が $\frac{1}{10}$ 以下のものと陽性とした。

マウス接種試験：供試マウスは化血研で飼育され 2 11 日齢の SPF の 0～1 日齢マウスを用い、接種材料は分離ウイルス SD-3 株を CEK で培養し CP 率が 50% 以上出現したときの感染細胞浮遊液（ 1×10^7 細胞/ml）である。この材料を 0.2 ml 宛 1 日齢マウスの腹腔内に接種した。マウスは実験期

肉中びニールアイソレータの中ど飼育を行な
った。

封入体および巨細胞の観察：カバークラス
に入れに5.5cmのプラチックシャーレにCEK
を培養し、完全にシートが形成されたのを分
離ウイルスを接種した。毎日CPEを観察する
と同時にカバークラスを取り出し、ブアン固
定後のマトキシリン・エオジンで染色し封入
体および巨細胞の出現の観察を行なった。

核酸型の決定方法：ウイルスの核酸型の決
定法はDNA合成阻害剤であるデオキシウリジ
ンのヒロゲン誘導体を用いる内接法を採用し
た。ウイルスを接種したCEKに5-ヨード-
2'-デオキシウリジン (IU DR) を50 μ /ml加えて
そのとMMを用い、4~5日内培養した後に出
現したプラック数と数え、両者の比較を行な
った。

赤血球凝集試験：アルスバーを加えて採血
した鶏、モルモット、兎、牛および馬の血液
を生理食塩液で3回洗浄し0.5%赤血球浮液

を作成した。反応の術式は2倍階段希釈したライルス液0.5 mlに0.5%赤血球液を0.5 ml加え4℃で1夜(15~18時間)および37℃に静置後判定した。

電子顕微鏡による観察：観察材料にはライルス感染後5~7日目のDEFおよびCEFが用いられた。その際の感染細胞はグルタールアルデハイドオスミラム酸2重固定後Luftの方法⁷⁵⁾に準じてEpon包埋し超薄切片標本を作成して日立Hu11型電子顕微鏡で観察した。切片の染色には酢酸らうニラムおよびReynoldsの鉛染色を施した。

第2節 実験成績

1 MDHVの分離

ライルス分離を試みた鶏の臨床症状、病理組織学的所見およびライルス分離状況は表1、2に示す通りである。臨床的にみると発病鶏は食欲廃絶、起立不能、よくそう、全血の

よび乳白色下痢便等の症状が全例に観察され、剖検では9例中7例、また組織学的にみると全例に病変がみられた。その詳細は表2に示可通りである。剖検では肝、脾、腎、心および肺に著明な結節および腫大がみられたが、咽頭、小腸、腺胃および神経にはほとんど変化はみられなかった。組織学的にみると剖検時変化のみされた臓器の他咽頭、腺胃、小腸および神経にも大小不同のリンパ様細胞から構成された病巣がみられた。ライルス分離は腎の直接培養により試みられたが、その結果9例中6例より屈光性の強い円型細胞および多核細胞の出現を特徴とするCPEが認められた。この中で剖検および組織学的に病変の最も著明であったNo3鶏の腎の直接培養により分離されたライルスとSD-3株と命名した。供試鶏のMD抗体と分離株(SD-3)およびHVTで作成した抗原を用いてゲル内沈降抗体の測定を行った。その結果分離株に対し2は9例中7例、HVT抗原に対し2は8例中4例が

陽性で、抗体価はいずれも20倍以下であった。また腫瘍ウイルスである白血病ウイルス（以下ALVと略す）の存在有無を知るためにRIFT testおよび中和試験を行った。その結果これらの供試鶏はRIFT testではRSV (RAV-1) およびRSV (RAV-2) ともに全例検査できず陰性であり、ALVの感染はなかった。ALVに対する中和抗体はRSV (RAV-1) に対して9例中4例およびRSV (RAV-2) は9例中1例に陽性が見られた。

2 MDHV分離株の性状

分離した6株はCKHにおけるCPEの所見、発現速度はと類似していたので、このうちの1株 (SD-3株) を代表株に之について詳細にその性状を検討した。

1) 理化学的性状

SD-3株は鶏胎腎細胞 (CEK), およびDEHに接種すると4～6日目にCPE (細胞が丸くなり、屈光性が強くなったもの) が若干あり

ェび細胞癒合体) が現われた。この CPE は培
 養液と交換し培養を続けると次第に下まくな
 った。またこの CPE は培養細胞により継代と
 進めるに従い、明瞭にかつ早期に出現する
 ようになった(写真1)。これら CPE の認め
 る細胞をギムザ染色およびヘマトキシリン・
 エオジンで染色し、観察すると、細胞が集ま
 り、細胞膜が癒合して多核巨細胞となり、こ
 れらの核の中には A 型の核内封入体の形成が
 認められた(写真2)。SD-3 感染 ^DCEA 細胞
 の超薄切片についで電子顕微鏡で観察すると、
 核内に多数のヘルペスウイルスの形態を示し
 た粒子がみられた(写真3)。

分離ウイルスの CEK 継代 16 代目の感染細胞
 ($500\frac{1}{ml}$) および培養液を材料として凍結融解
 , 遠心沈澱および浮遊試験を行ない細胞フリ
 ーウイルスが出現するかどうかが検討した。細
 胞フリーウイルスの存在は材料を処理した後
 CEK に接種してウイルスによる特有の CPE の
 出現有無によって判定を行なった。その成績

は表3に示す通りである。感染細胞を1 ml宛小試験管にとり、ドライアイスとアルコール混合液にて急速凍結融解を3回くり返し、その後遠心沈澱(3,000 r.p.m. 10分間)した上清にウイルスは存在せず、また感染細胞培養液の遠心沈澱上清および200 mmのミリポアフィルターで濾過した濾液にも感染性はなかった。

次にウイルス核酸の種類を決定するため、分離ウイルスと接種した細胞の培養液中に500 μ g/mlの5-Iodo-2-Deoxy uridine (以下 IUDR と略す) を添加した。その成績は表4に示す通りで IUDR 添加によりウイルスによる特異的 CPE の出現が阻害された。

発育鶏卵に対する病原性と尿腔内、漿尿膜上および卵莖のう内に感染細胞(1,000万個/ml)を0.2 ml 接種し観察した。その成績は表3に示す通りで10日令尿腔内と7日間培養および5日令の卵莖のう内接種後13日間培養では胎児は死にしたり外見上変化を示すものはなかった。11日令の漿尿膜上の接種では8日間培養で

胎膜の死をあよび外見上変化を示すものはなかったが漿尿膜上にポック (写真4) が認められた。

感染細胞液 (1,000個/ml) と发育鶏卵の尿膜あよび漿尿膜に接種し7日間培養し, その後採取した尿液の赤血球凝集性と検討した。その成績は表3に示す通りである。鶏, モルモット, 兎, 牛あよび馬の0.5%血球液とライルス液と等量に混合し, 振盪混合後4あよび37°Cに静置して反応を行なった。その結果全例陰性の成績が得られた。

分離ライルスの各種の培養細胞に対する病原性と検討した。供試各細胞にライルスと接種した後7~10日に液層と細胞層と混合し, 次代の新鮮な細胞に移植継代し, 7代, 49日間細胞の変性の有無を観察した。最終継代材料は液層あよび細胞層ともにCEKに接種しCPEの出現によりライルス回収の有無を判断した。その成績は表5に示す通りである。鳥類 (鶏, アヒルあよびヒヨコ) の細胞で

1代目で CPE が出現した。しかし哺乳動物の細胞では CPE の出現は認められず、7代まで各代継代した材料についてモザイクの回収はできず、これらの細胞ではウイルスは増殖しなかった。

2) 鶏に対する病原性

分離株の鶏に対する病原性が SPF 1 日齢の雛に接種して検討された。SD-3 株と CEK で培養し CPE が 50% 以上に出現したときに、これを採材し、その感染細胞 1×10^7 /羽に雛の腹腔内に接種した。接種後 20, 44 および 70 日目に 6-8 例宛殺処分し、剖検および組織学的所見、接種ウイルスの回収試験およびゲル内凝集抗体の産生状況について実験を行った。また接種感染の有無をみるために未接種の雛と接種雛の接種直後より試験終了時とで同居させ 44 日目と 70 日目に同様に検査した。その成績は表 6 に示す通りである。接種後 2 週間以内では臨床症状はほとんど出現しなかった。

った。その後元気消失，食欲減退，さくそう
 はど一般状態の悪化を示すものが接種後20あ
 よび70日目に各1羽みられた。20あよび70日
 齢時の剖検で肉眼病変のみとみられたものは
 17～50%出現し接種後の日数を経過するほど
 著明になり出現率も高かった。組織学的所見
 も同様の傾向を示した病変の出現率は71.4
 ～100%であった。同居鶏は44日目と70日目に
 殺処分したところ若干病変の出現率は低かつ
 たが同様の病変が認められた。接種ウイルス
 の回収試験では接種あよび同居ひつとも20
 日齢時から100%のものがさらウイルスが回収さ
 れた。ゲル内沈降抗体の陽性率は20日目まで
 0%であったが，44日目から接種あよび同居
 鶏とも17～50%の陽性率を示した。表7は剖
 検所見と個体あよび臓器別に病変の強さを示
 したものである。病変の強さは一では異常な
 し，±では若干腫大してゐるか，また縮小し
 てゐるものがあるもの，+では明らかに腫大し
 てゐるか，ありいは縮小があるものなどの程

度により Ⅲ ～ Ⅳ と示した。その結果接種後 44 日目までは接種鶏および同居鶏ともに 1 ～ 2 例の肝と脾に著明な腫瘍病変がみられた。しかし他の臓器に病変はみられなかった。70 日齢になると肝、腎、脾、肺および腸の各臓器に著明な病変が出現し、接種鶏では 8 例中 4 例 (50 %)、同居鶏では 6 例中 2 例 (33.3 %) 病変と示した。表 8 は組織学的所見と示したものである。病変の強さを Ⅰ ～ Ⅳ で表わし、空疎は観察しなかったことと示している。その成績では接種ひなは 20 日齢時病変が 71 % の鶏に、また 44 日齢以上では 100 % に現われた。同居鶏では 44 日齢では 50 % のものに病変が出現したが 70 日齢では 100 % のものに認められた。病変の出現部位および強さは個体により異なったが、Ⅳ のうを除いて全臓器に病変がみられた。図 1 は病変の臓器別出現頻度と示したものである。黒の棒グラフは肉眼病変および白は組織病変の出現率と示した。観察臓器は肝、脾、腎、心、肺、卵巣、小腸、腺胃

、脾、脳、神経および肝のうであるが、その結果剖検では肝、腎、脾、心、肺および腺胃に病変がみられ、肝、脾および腎では25～30%と他の臓器に比べてその出現率は高かった。組織学的にみると病変は肝のうを除いて全臓器にみられた。腎および腺胃は77%と最も病変の出現率が高く、肝、脾、心、肺、咽頭、小腸および脳は30～50%、また脾および神経は8%と低い傾向を認めた。

オ 3 節 考 察

MDHVの発病鶏からの分離についてはその報告^{28, 32, 112, 42, 8, 125, 25, 13, 20, 24, 82, 95)}は、分離ライルスの各種の性状について詳細に検討され^{9 68, 69, 13, 129, 73, 44, 122, 84, 124)}ている。また我が国においてもMDHVの存在が検討され、多くの分離報告^{119, 120, 56, 58, 62, 81, 86, 131}がなされた。著者も佐賀県内にあって臨床的にMDと診断された120日齢の鶏より7株の病原ライルスと分離することができた。これを分離株の代表株とした。

SD-3 株の性状は、細胞随伴性が強く、CKF、CEK、DEF、CEH 及びヒト胎腎培養細胞に於いて感染力の強い内型細胞及び多核細胞の出現を特徴とする CPE がみられ、ウイルスは増殖した。ウイルスの培養細胞の組織標本に於いて A 型の核内封入体及び巨細胞の出現がみられた。IUDR 添加により増殖は阻害され、電子顕微鏡で観察するとヘルペスウイルス型の粒子が観察された。发育鶏卵の尿腔内、漿尿膜上及び卵莖のう内に接種すると漿尿膜上接種に於いて膜上に白色のホツクがみられた。また RIF test の結果陰性の成績を得、これらの分離ウイルス材料中には ALV の混入していることが証明された。これらの成績は Churchill and Biggs²⁸⁾, Eidson and Schmittle⁴⁴⁾, Witter¹²²⁾, Kottaridis¹⁷³⁾, Nazerian⁸⁴⁾、及び Solomon¹¹²⁾ の報告と一致するもので、著者が分離したウイルスは MDHV であると思われる。分離株の培養細胞に対する病原性は前述の他、鶏胎肝、脾及び漿尿膜、培養細胞に於いても CP

E が観察され、常法により培養可能な鶏由来の細胞にはすべて CPE を示すウイルスが増殖するものと考へる。哺乳動物由来の初代および継代細胞に対する病原性については Calnek⁵²⁾、および加藤⁶³⁾ は病原性を示さないと報告したが、Bedigian and Sevoian^{4, 5)} はハムスター腎およびモルモット腎培養細胞に CPE が出現したと報告した。著者の成績は Calnek の成績と同じく、哺乳動物の細胞に対しては病原性を示さないとこの成績を得た。この差がウイルスの株によるものか、培養条件によるものか不明である。いずれにしても哺乳動物の細胞に対する MDHV の病原性は無いから、ほぼほとんど無いものと考へられる。MDHV の赤血球凝集性は鶏、モルモット、ウサギ、牛および馬の血球ではみられず、MDHV はこれらの動物血球と凝集させないものと推察される。MDHV の鶏に対する病原性の程度および病変の好発部位は株により、かなり差を認めることが報告されている^{9, 11, 12, 21, 42)}。著者が分離した SD-3 株

は発病率が高く、また病変は神経より内臓に著明に発現する内臓親和性の強いウイルスと考えられる。

オ 4 節 小 括

臨症的に MD と診断された鶏より MDHV の分離を試み、次のごとき成績が得られた。

1) CKF 直接培養により 9 例中 6 例よりウイルスを分離することができた。

2) 分離ウイルスは、細胞随伴性が強く、CKF、DEF、CEK、CEF 培養細胞に CPE を現わし、細胞は多核巨細胞となり、これらの核内には A 型封入体が観察された。

3) IUDR 添加によりウイルスの増殖は阻害され、DNA 型ウイルスで、また電鏡で観察するとヘルペス型ウイルス粒子と認めた。

4) 発育鶏卵の漿尿膜上に接種すると漿尿膜に白色のポックと認めた。

5) 鶏、モルモット、兎、牛、馬、ヒツジ、豚、犬、猫、人に対してウイルスは凝集性を示さなかった。

6) 分離ウイルスは哺乳動物の初代および継代細胞では増殖しないが、鶏、アヒルおよびニシキ鳥由来の初代細胞ではCPEを示し増殖した。

7) 分離ウイルスは鶏に対し病原性を示し、主な病変は神経より内臓に著明に認められた。

以上の成績から分離ウイルスはMDHVと同一とされた。

第四章 MD の疫学的検討

MDHV は鶏の肉に広く分布していることが報告されているが^{56, 58, 62, 81, 86, 131, 120)}、MD の疫学に関する報告は少ない^{108, 129, 4)}。また本病ライルズが鶏の肉にいつ頃から流行しはじめたものかも明らかにされていない。著者は当研究所において 1964 年に、別の目的で収集されていた鶏血清および 1968 ~ 1971 年病性鑑定のために持込まれた材料から得られた血清を用い、本病の疫学的検討を行なった。また鶏のほか、数種動物の血清についても本病ライルズの抗体保有の有無を検討して見た。

本章ではその得られた成績について述べる。

第一节 実験材料および方法

供試血清：供試した血清は 1964 年（A 群）に九州各県から収集した、2 倍血清として凍

結保存としていた544例, また1968年～1971年
 (B群)に当研究所に病性鑑定材料として持
 込まれた血清871例の計1,415例である。その他
 1969年～1971年に熊本, 山口および大阪の各
 府県から収集されたセ面鳥61例およびアヒル
 5例, 熊本県から収集された鳩4例, 牛109例
 , 犬48例および人47例の血清についても検査
 が行なわれた。供試鶏の日齢は1～720日齢,
 セ面鳥, アヒルおよび鳩血清は成鳥, 牛血清
 は6ヵ月～13歳, 犬血清は野犬よりなり6ヵ
 月～2歳までのものおよび人では20～40歳の
 ものである。

供試鶏：市販の白色レグホン種1日齢のひ
 ちが用いられた。

抗体の測定方法：抗体検査の術式は寒天ゲ
 ル内凝降反応により, 寒天, 抗原の作成およ
 び術式は第二章第一节で述べた方法によった。
 。抗原作成用のウイルスには前章で分離した
 SD-3株が用いられた。

ウイルスの分離法：第二章第一节で述べた

方法で行なった。

オ 2 節 実験成績

1 抗体の分布

1) 果別抗体陽性率

各果別の抗体陽性率は表 9 に示す通りである。A 群の血清では検査全果に陽性例が認められ、陽性率は低いもので 15.4 %、また高いものでは 44.8 % を示した。また B 群の血清では 0 ~ 84.3 % の陽性率が得られた。佐賀および長崎県のものでは血清を採取した鶏の日齢が若かったためか陽性例と認められた。A および B 両群ともに果別により若干陽性率に差が認められた。両群の合計した陽性率は A 群 33.1 %、B 群では 47.0 % であった。

2) 日令別抗体陽性率

佐賀県血清の日令を 30 日毎に区切って日令別

にその陽性率の推移を検討したところ、表10に示す如き成績が得られた。日齢の進むとともに陽性率は増加し、AおよびB群ともに91～120日齢で70.0～72.4%に達した。しかし121日齢はいずれもそれ以上のものでは91～120日齢のものより若干陽性率が低かった。また養鶏場別に2群以上の日齢の鶏を調査した7カ所の養鶏場について、日齢別の抗体陽性率を検討したところ表11の如き成績が得られた。いずれの養鶏場においても、日齢の進むにしたがい陽性率が高くなる傾向を示した。

3) 養鶏場別抗体陽性率

B群の血清について100日齢以上の鶏で、1養鶏場で7羽以上検査した鶏群の陽性率は次の通りである。福岡県のものでは50.0 (8例中4例陽性, 以下 $\frac{4}{8}$ と略す), 53.3 ($\frac{8}{15}$), 57.1 ($\frac{4}{7}$), 79.1 ($\frac{19}{24}$), 80.0 ($\frac{8}{10}$), 84.6 ($\frac{11}{13}$), および84.8 ($\frac{28}{33}$)%, 熊本県のものでは38.7 ($\frac{12}{31}$), 67.4 ($\frac{29}{43}$), 75.0 ($\frac{6}{8}$), 85.0 ($\frac{17}{20}$), 86.2 ($\frac{25}{29}$), 94.7 ($\frac{11}{12}$)%。

$\frac{18}{19}$) あよび 100 ($\frac{7}{7}$) % , 大分県のものでは 44.4 ($\frac{4}{9}$) , 45.5 ($\frac{5}{11}$) , 66.7 ($\frac{6}{9}$) あよび 81.8 ($\frac{9}{11}$) % , 山口県のものでは 66.7 ($\frac{20}{30}$) , 88.9 ($\frac{20}{45}$) あよび 93.4 ($\frac{21}{33}$) % はよびに大阪府のものでは 82.4 ($\frac{28}{34}$) % が陽性であった。養鶏場により陽性率にかなり差が認められた。

4) 鶏の種別別抗体陽性率

A群の100日齢以上の血清について鶏の種別別抗体陽性率を検討した。その成績は表12に示す通りである。検査した全種別に陽性例が認められ、デカルグあよびギヤリリン種などの種別では陽性率が高いが、ハニドレスあよびフリマスロックなどの種別では低かった。血清を収集した鶏の種別別の陽性率には差が認められた。

5) 移行抗体の保有状況

熊本県内で得られた1~3日齢のひな7群について移行抗体の保有状況を検討した。各

群の陽性率は 0 ($\frac{0}{10}$) , 55.0 ($\frac{11}{20}$) , 60.0 ($\frac{24}{40}$) , 62.5 ($\frac{5}{8}$) , 64.6 ($\frac{11}{17}$) , 72.7 ($\frac{8}{11}$) あよび 83.3 ($\frac{15}{18}$) % であつた。1 群と除き各群いずれもかなり高い陽性を示した。なお、これは移行抗体の抗体価は全例 10 倍以下であつた。

2 移行抗体の消長とライルス分離

実験的に汚染環境として前回で飼育に用いた育ち器とそのまゝ消毒せず、10 日間あけ、この中で同一日に孵化したヒヨコ 300 羽の飼育を行つた。この群のヒヨコ 20 ~ 40 羽を 3 日間隔で採血し、その血清について移行抗体の消長状況を検討した。また血清を採取したヒヨコの一部は、その卵を直接培養し MDHV の分離を試みた。その成績は表 13、図 2 に示す通りである。移行抗体は 0 ~ 6 日齢では 55 ~ 75 % のものが陽性であつたが、その後日齢が進むとともに陽性例は少なくなるなり、15 日齢では検討した全例が陰性となつた。いっぽう、ライ

ルスは0～3日齢時には検出できなかったが、9日齢時に20例中、1例から分離された。その後日齢が進むとともにライルス分離例は増加し、36日齢時には95%のものから検出された。ライルス感染による能動抗体は30日齢時から出現しはじめ、日齢が進むとともに陽性例も増加し、36日齢時には80%の陽性率が得られた。

次に環境を消毒した条件下（野外の養鶏場）でMDHVの侵入の状況および抗体の上昇について検討した。5群について4～5日齢毎にライルス分離を行なったところ、ライルスは28, 31, 32および33日齢時にそれぞれ分離された。またライルス感染による能動抗体は39, 61, 92, 97および100日齢時に認められ、群によりかなり差を認めた。この関係と飼育環境との関連性が検討したところ、舎飼の場合には青空飼育のものよりも、また近くに成鶏舎のある養鶏場ではそうでない養鶏場よりも抗体の陽転する時期が早かった。野外から分離

した MDHV SP-3 株を 1 日齢 ひひの 腹腔内に接種
 ((CKH で培養し CPE が 50 % にお現したとこの
 1×10^7 の感染細胞/羽)) し隔離飼育した。その
 後、このひひの抗体の上昇を検討したところ
 表 14 に示す如き成績が得られた。接種後 20 日
 目では抗体は全例陰性であった。しかし 44 日
 目には 33.3 %、70 日目には 50 % のものが抗体陽
 性を示した。また接種ひひと同居した不接種
 ひひにたいしても接種ひひと同様の傾向がみられ
 た。はち接種のイルスは 20、44 および 70 日
 目に接種および不接種同居ひひとともに全例が
 回収された。

3 鶏以外の動物血清中の抗体分布

鶏以外の鳥類および哺乳動物の血清につい
 て MDHV 抗原に対する抗体の有無を検討した。
 この結果七面鳥 6 例、ワル 5 例、鳩 4 例、
 牛 10 例、犬 4 例および人 4 例の血清は全例陰
 性であった。

第 3 節 考 察

MD の血清反応については 2, 3 報告されているが, 術式が年輕であるためゲル内沈降反応が広く行われるとしている^{25, 45, 94)}。

MD に関する疫学的研究は欧米では多数報告されている。これによると鶏では日齢の高いものでは低いものよりも陽性率が高く, 系統により抗体陽性率に差のあること, また移行抗体は 2 ~ 3 週齢時までに保有されているが, 以後消失し, 能動抗体が 60 ~ 70 日令で上昇しはじめ成鶏ではかなり高い陽性率を示すことが記載された^{25, 11, 58, 96, 130)}。

著者の今回の成績では 1964 年九州地区から収集した 2 倍稀釈した A 群血清で 33.1% の陽性率が得られ, 当時から MDHV は九州地方に広く浸透していたことがわかった。また B 群血清では平均 47% の陽性率を示した。A, B 両群血清の陽性率を果別にみると若干の差が

みられた。これは血清を収集した条件の違いによりでてきた差と思われる。日齢別陽性率の検討では日齢の高いもので陽性率が高い傾向を認めた。日齢別には42、91～120日齢群のものよりも121日齢以上のもので陽性率が若干低くなったというが、これは121日齢のものでは抗体が陽転し、病変のあった鶏が120日齢以上にはなつてから死せるものか、ごく少数のため低くなったものと考えられる。鶏の系統別には陽性率には、養鶏場毎に若干程度の違いもあると思われるが、差のあることがわかった。次に移行抗体であるが、7群の検査中1群のみが陰性で、その他は55～83.3%の陽性率を示し、母鶏からの移行抗体のあることが証明された。検討した群の移行抗体の消失の時期が15日齢時と若干他の報告に比較し早い。これは対象とした群の移行抗体が低いものを用いたためであろう。

MDHVの野外に於ける感染時期についてはすでに報告されている^{130, 126, 120)}。今回著者の成績

では汚染された環境下では、移行抗体がまだ保有している9日齢時から分離されたが、消毒した環境下では28～33日齢から分離されているので、環境の消毒、使用器具機材の消毒が、本病感染時期に著しい影響を与えていることがわかった。また、このように移行抗体と保有しているひびであつても感染が成立することは、本病の疫学を考察する上で重要なことであろう。環境による抗体上昇の時期についてはすでに報告されている⁽¹⁰⁸⁾。今回の検討にあつてもらいルス感染後の抗体の上昇は早いものでは30日、遅いものでは100日齢時と差が認められた。これは環境の汚染状況、飼養条件あるいは飼養形態などの差によるものと考えられる。

鶏以外の動物血清については、七面鳥、アヒル、鶺鴒、ツバメ、キジ、ムクドリ、カラス、鳩、サルおよび人などのものが検討されている^{3, 53, 64, 80)}。今回の成績では七面鳥、アヒルおよび鳩の鳥類、犬、牛および人の哺乳

動物血清中に MDHV の抗体が認められなかった。
また、人血清での成績が先の報告^{64, 80)}と異なっ
ているが、これは収集した材料および検査法の
相違によるものと考へる。

第4節 小 括

1964年(A群)および1968~1971年(B群)
に収集した鶏、七面鳥、アヒル、鵞、牛、
犬および人血清について、MDHV抗原を用いて
、ゲル内沈降反応を行ない、次の如き成績が
得られた。

1) A群血清(2倍稀釈血清)は33.1% ($\frac{18}{54}$)
)、B群血清(原血清)では47.1% ($\frac{40}{85}$)の陽
性率を示し、1964年当時よりすでに九州地区
では本症が広く浸透していたことが明らかと
なった。

2) 日齢の進んだものでは、若いものより
も抗体陽性率が高く、91~120日齢で最高70.0~
72.4%となった。

3) 抗体陽性率は養鶏場および鶏の系統により差を認めた。

4) 移行抗体(0日齢で55%陽性)は12日齢まで認められたが、15日齢以降は全例陰性となった。

5) 汚染環境下では9日齢まではライルスを分離できなかったが、消毒の行われた環境下では28~33日齢時から検出された。

6) ライルス感染後の能動抗体は早いもので30日齢、また遅いもので100日齢より認められた。

7) 七面鳥61例、アヒル5例、鵞4例、牛109例、犬48例および人47例の血清はMDHV抗原に全例反応した。

第四章 野外からの HVT の分離およびその性状

可成りに述べた通り、MDHV は罹患発病した鶏から容易に分離することができ、またこのウイルスを用いて疫学的に検討したところ、鶏の間には非常に高率に、本ウイルスの抗体を保有していることがわかった。また 1964 年収集血清にも抗体陽性例が高率に認められるところから、本病ウイルスは以前から、日本にありとも存在していたと考えられる。

さていっぽう、本病ウイルスは鶏に対して腫瘍病変を作り、かつあるゆる日齢の鶏でも発病が認められるため、その経済的損失はきわめて大きい。このようにことから本病を予防するため種々の手法が検討されている。Wether¹²⁷⁾ は土面鳥から HVT を分離し、これが MDHV と同じ抗原性の有ることと、また Okazaki⁸⁹⁾ は野外にありとも MD 予防に効果のあることを報告した。このようにことから著者

も HVT の有用性に着目し、日本で飼育されたい
るセ面鳥から HVT の分離を試みたところ、多
数のライルス株が分離できた。これを得られ
たライルスの性状は詳細に検討された。

本章にありては分離した HVT の性状につい
て記述する。

オ 1 節 実験材料および方法

ライルス分離供試セ面鳥：1970～1971 年に
かけ、熊本および山口県に飼育されていた健
康なセ面鳥 80 羽がライルス分離供試セ面鳥と
された。

供試ひよ：白血病および MD フリーの SPH
鶏由来のひよが用いられ、ビニ
ールアイソレータで飼育された。

その他の方法はオ II 章オ 1 節に準じて行な
った。

オ 2 節 実験成績

I HVT の分離

熊本および山口県下から収集した七面鳥の血液、腎および皮膚について HVT の分離が行われた。七面鳥から採取したヘパリン加血液は軽く遠心沈澱（500r.p.m. 5 分間）し、その白血球層を DEF に接種し観察した。また腎は直接培養を行ない、毛のう部についてはイーグル MEM で 10% 乳剤を作成し、血液と同様に CEF および DEF に接種を行なった。5~7 日間 37°C で培養した後 CPE の発現しないものは、これをトリプシンで消化し次代に継代した。継代方法は消化した細胞と初代 DEF 細胞と等量に加えてシャーレにまいた。各材料は 5 枚宛シャーレで培養を行なった。その成績は表 15 に示す通りである。熊本県から収集した材料 37 例の血液、腎および毛のう部から 1 例もウイルスは分離されなかった。山口県から収集した 2 群の七面鳥からは 20 例中 20 例（100

%) あよび 23 例中 19 例 (82.6 %) に CPE と示す
 らイルスが分離された。これらの分離された
 らイルスは DEF 2 ~ 3 代目で CPE が明瞭に
 出現するようになり、この代表株と YF-7 株と
 命名した。らイルスの分離されたセ面鳥の由
 来は、下関市 - (1) 群では兵庫県下のあまつア
 ームから購入されたミニ・ターキー種の雌が
 20 カ月齢のもの、また下関市 - (2) 群は商社と
 通じてアメリカより輸入された雄が 4 カ月齢
 、系統はベルツビルホワイト種であった。

検討したセ面鳥の血清について HVT (分離
 された YF-7 株) 抗原あよび MDHV (SD-3 株) 抗
 原に対するゲル内凝集抗体を測定したところ
 全例陰性の成績が得られた。

2 分離 HVT の性状

1) 理化学的性状

分離した 39 株のらイルスは DEF 上にあける

CPE の所見および発現速度などが類似して
いたもので、このうちの1株、YT-7 株を代表株に
えらび、この株について詳細に性状を検討し
た。その成績は表16に示す通りである。YT-7
株は DEF あるいは CEF に接種すると4~5日
目に細胞が丸くなり、屈光性の強い CPE を現
れ、これが時間の経過とともに大きくなり
、いわゆるプラックの形を示すようになった
(写真5)。これを CPE の認められた細胞を
染色(ギムザあるいはヘマトキシリン、エオ
ジン染色)し、その標本を観察すると、細胞
が集まり、細胞膜が癒合して多核巨細胞とな
り、これらの核の中には A 型の核内封入体の
形成が認められた(写真6)。分離ライルス
は電子顕微鏡で観察したところヘルペス型ラ
イルスの形態を示した(写真7)。分離ラ
イルスの DEF 継代5代目の感染細胞(500個/ml
)および培養液と材料と12凍結融解、遠心
沈澱および浮遊試験を行ない細胞フリーライ
ルスが出現するかの検討を行なった。細胞フ

1) — ライルスの存在は材料を処理した後 DEH
 に接種し、ライルスによる特有の CPE の出現
 有無によつて判定した。まず感染細胞を凍結
 融解 5 回くり返し、その後遠心沈澱 (3,000 r.p.m.
 , 10 分間) した上清について検討したところ
 ライルスが存在していた。しかしそのライル
 スの量は処理前の細胞液に比較し著しく少な
 かった。いっぽう細胞培養液の遠心沈澱 (3,00
 0 r.p.m., 10 分間) した上清にも量は少ないが細
 胞フリーライルスが存在した。凍結融解材料
 の遠心沈澱上清と 200 mm のミリポアフィルター
 で濾過したところ、その濾液には感染性は存
 在した。次に感染細胞および凍結融解材料と
 接種した細胞の培養液中に 500/ml の IUDR を添加
 するとライルスによる特異的 CPE の出現が阻
 害された。発育鶏卵にみけるライルスの病原
 性についてみると、10 日齢の漿膜上で 7 日
 間培養すると胎児は死にしたり外形上変化を
 示すものばかりだったが、漿膜上に白いポツ
 クが出現した (写真 8)。感染細胞液 1,000 個/ml

を3回凍結融解し、その遠心沈澱上清を發育鶏卵の卵黄のう内、尿腔および漿尿腔に接種し、7~13日間培養した後、尿液について赤血球凝集反応が行なわれた。鶏、モルモット、牛および馬の0.5%血球液とライルス液を等量に混合し、振とう混和後4°C、室温(25°C)および37°Cに静置して反応を行なった。その結果全例陰性の成績が得られた。

分離ライルスの各種の培養細胞に対する病原性を検討した。検討各細胞にライルス接種した後7~10日目に液層と細胞層を混合し次代の新しい細胞に移植継代し、7代、49日間細胞の変性の有無を観察された。最終継代材料は液層および細胞層ともにDEFに接種し、CPEの出現によりライルス回収の有無を判断した。その成績は表17に示す通りである。鳥類(鶏、アヒルおよび七面鳥由來)の細胞では1~2代目でCPEが出現した。しかし哺乳動物の細胞ではCPEの出現は認められず、7代まで各代継代した材料についてライル

その回収はできず、これらの細胞ではウイルスは増殖しなかった。

2) 鶏に対する病原性

分離株の鶏に対する病原性がSPH1日齢の仔は20羽に接種して検討された。YT-7株とDEFで培養しCPEが70%以上出現したとき、その感染細胞 1×10^7 /羽を腹腔内に接種した。これは接種後70日内臨床症状と観察し、その後殺処分された。剖検および組織学的所見はすべてにゲル内沈降抗体が検討された。その結果、接種した仔は実験期内中臨床症状を認めずものは1例もなく正常に発育した。また70日齢時の剖検および組織学的所見に異いとも変化を示したものはなかった。また抗体は全例陽性であった。

3) 発育鶏卵内におけるウイルスの分布

土面鳥から分離したYT-7株と発育鶏卵の胚腔内、漿膜上および卵黄の内部に接種して

~ 13 日 内 培 養 後 ら イ ル ス の 回 収 を 試 み た。こ
 の 成 績 は 表 18 に 示 す 通 り で あ る。尿 腔 内 播 種
 例 の 尿 液 (5 例 中 1 例 分 離 陽 性, 以 下 $\frac{1}{5}$ と 略
 す) あ り び 胎 児 (肝, 脾 あ り び 腎 乳 剤, $\frac{4}{4}$)
 か ら イ ル ス が 回 収 さ れ た。漿 尿 膜 上 播 種 で
 は 漿 尿 膜 ($\frac{8}{8}$), 胎 児 ($\frac{5}{6}$) か ら イ ル ス が
 回 収 さ れ た が, 尿 液 ($\frac{0}{3}$) あ り び 腎 直 接 培 養
 ($\frac{0}{4}$) か ら は 分 離 さ れ な か っ た。子 羊 卵 黄 の
 う 内 播 種 で は 漿 尿 膜 ($\frac{6}{6}$), 卵 黄 ($\frac{5}{8}$) あ り
 び 腎 直 接 培 養 ($\frac{6}{8}$) か ら イ ル ス が 分 離 さ れ た
 が, 尿 液 ($\frac{0}{8}$) で は 分 離 陰 性 で あ っ た。な お
 こ れ ら 試 験 胎 児 の 中 に は 剖 検 で 脾 の 腫 大 が 認
 め ら れ た も の も あ っ た。

4) 実験用小動物に対する病原性

分離 ら イ ル ス の 実 験 用 小 動 物 に 対 す る 病 原
 性 に つ い て 検 討 し た。動 物 と し て 乳 の み あ り
 び 成 熟 マ ラ ス, 乳 の み モ ル モ ッ ト あ り び 家 兎
 が 用 い ら れ た。乳 の み マ ラ ス で は 脳 内 (0.01 ml
) あ り び 胸 腔 内 (0.01 ml) に 各 10 頭 宛, 成 熟 マ

うスでは脳内 (0.01 ml) , 腹腔内 (0.1 ml) あま
び皮下 (0.1 ml) に各 10 頭宛 , 乳のみモルモッ
トでは脳内 (0.02 ml) , 腹腔内 (0.1 ml) あまび
皮下 (0.2 ml) に各 2 頭 , 家兎では静脈内 (1.0
ml) , 皮下 (0.5 ml) あまび皮下内 (0.05 ml) 各 2
羽宛 , これをそれぞれ分離ライルス感染細胞 (500 万個
/ml) に接種し 10 週間臨床症状を観察した。
その結果 , 各動物では臨床的に症状を認めな
ものは 1 例もなく , また 10 週目に殺処分し ,
剖検あまび病理組織学的に病変の有無を
検討したが , 病変を示したものはなかった。

第 3 節 考 察

HVT の分離についてはいくつに報告され , そ
の性状についても記載された^{67, 127)}。また
我国においても HVT の存在が検討され , 分離
報告がなされた^{57, 90, 117)}。著者も熊本あまび山
口県内から収集した土佐馬の血液 , 腎あまび
そのう部についてライルス分離を行なったと

ころ、山口県の2地区のものからHVTに分離
 することができた。これはHVTが分離された
 土面鳥は一部は外国から通商に輸入されたも
 の、また一部輸入した土面鳥と同居した経歴
 を有するものであった。HVTは、我が国ではま
 だ土面鳥の飼育がそれほど行なわれてはいな
 いので、広範囲に滑潤していきとほ考えられ
 ない成績を示した。HVTの性状についてはKawar-
 murai⁶⁹⁾, Witter¹²⁹⁾、およびその他の多くの研究
 者によりMDHVと類似した性状を示すことが報
 告されている^{57, 90, 117)}。著者の分離したライル
 スの性状もCEFおよびDEFにCPEと現われ、多
 核巨細胞を伴い、核内にA型の核内封入体を
 認め、電顕によりヘルペスウイルス型の粒子が
 観察された。次にILDRに添加すると増殖が阻
 害され、また細胞随伴性は強いが凍結融解に
 より若干の細胞フリーウイルスがみられるの
 の性状を示し、これらの性状は前人の報告
 と一致するものであった。次に発育鶏卵に接
 種すると漿尿膜上に下ッウが出現することが

報告されてゐるが^{67, 127)} 今回の試験にありても尿膜上および卵黄のう内接種にありても同様の成績が得られた。また胎児は正常に發育してゐたが胎児を剖検したところ脾が腫大してゐるものが見られた。このやうな胎児からイルヌ回收と訂正したところ高率にイルヌが回收され、胎児に対しこのイルヌは若干病原性を示すものと考えらる。哺乳動物由来の培養細胞には癌毒性のないことが報告されてゐる⁶⁵⁾。著者も初代培養細胞として腎、モット腎、マウス胎児、マウス腎、豚腎、牛腎、および牛睾丸、継代培養細胞としてGMC, PK-1, PS-1, HmLu, BHK-21, およびFL-1細胞に接種して観察したか病原性はないことがわかった。また実験用小動物接種試験にありても異常と認められたものはなく、HVTは哺乳動物には病原性がないものと思ふ。鶏に対する病原性についてはWitter¹²⁷⁾ およびOkazaki⁸⁹⁾ により初生びんに接種しても異常の認められないことが報告されてゐるが最近の研究によれば、ある時期には

若干病変が出現するようである¹²⁸⁾。しかし著者の今回行なった接種試験では接種後の日齢にもよると思われ、臨床および病理組織学的には異常が認められなかった。

第4節 小 括

七面鳥の血液より HVT に分離し、その性状を検討したところ次の如き成績が得られた。

1) 七面鳥の血液、腎および心臓からの HVT の分離は熊本県収果例 37 例では全例陰性であったが、山口県収果の 43 例中 39 例の血液から分離された。

2) 分離ウイルスは CEF および DEF に CPE を現わし多核巨細胞を形成した。またこのような細胞の核内には A 型の核内封入体が認められた。

3) 分離ウイルスは細胞随伴性で感染細胞と凍結融解すると感受性は著しく低下し、 $\frac{1}{10}$ 程度に落ちた。

4) 發育鶏卵の卵黄のうみよび漿尿膜上に分離ライルスと接種すると漿尿膜上にポックルが出現し、胎児よりライルスが回収された。

5) IUDR 添加により分離ライルスの増殖は阻害され、電顕で観察するとヘルペス型ライルス粒子が観察された。

6) 鶏、モルモット、マウス、牛および馬血球に対して分離ライルスは凝集性を示さなかった。

7) 分離ライルスは鶏、アヒルおよびセキセイインコの培養細胞では増殖したが哺乳動物由来の培養細胞では増殖しなかった。

8) 分離ライルスは実験用小動物に対して病原性を示さなかった。

9) 1日令ヒナに対して分離ライルスは病原性を示さなかったが、抗体と上昇させた。

以上の成績から分離ライルスは HVT と同定された。

オ D 章 HVT 凍結生ワクチンの野外応用 試験

M D の予防方法には、遺伝的に抵抗性と獲得させること、閉鎖環境下に飼育することおよびワクチンと接種して個体を免疫することの3つの方法がある。実際の養鶏界にあつては前二者の実施は経済的に著しく負担が大きいのでオ D の方法と希望する者が多い。

最近ワクチンについては、鶏に病原性を示す MDHV を用いるよりも MDHV と抗原的にかなり似ており、かつ鶏に病原性とはほとんど示さない HVT と、M D ワクチンとして利用しようという試みが行なわれた。実際野外で HVT と M D 予防^のワクチンとして応用したところかなりよい成績が得られた⁸⁹⁾。その後この HVT を用いる M D の予防はひろがりつつある^{37, 41, 43, 38, 99)}。

日本においても M D 予防に HVT を使用しようという動きがあつたことから、著者もこの方法について検討を行なつた。HVT を用い

る M D の 4 種には凍結の 4 種と乾燥の 4 種の 2 種類があるが、本章に於いては凍結の 4 種について検討した成績を述べる。

さていっぽう M D は産卵鶏の 4 種の肉用鶏に於いても問題である。しかし肉用鶏に於いては生存日数の短いことおよび経済的理由から、ワクチン中のウイルス量を減じても M D がある程度は予防できるのではないかと考えた。本章に於いてはこの点についても検討したので、その成績とあわせて述べる。

第 1 節 実験材料および方法

供試ひひ：産卵鶏としてデカルブ、バブコックおよびシェースタークロス 288 系、また肉用鶏としてスチュードラー、石井 707 およびブル 4 ラミートの 1 ～ 2 日齢ひひが用いられた。

ワクチンウイルス：アメリカの X ルクシヤ

— ノンドー・インコーポレーテッド社より分
与えられた HVT FC-126 株が用いされた。

ワクチン作成法：HVT FC-126 株と DEH 2 4 ~
5 日間培養し、この感染胎児細胞をトリプシ
ンで消化し遠心沈澱した後、凍結用培地で固
浮遊、凍結保存（ -100°C 以下）とされている、
いわゆる凍結ワクチンである。本ワクチンは
使用に際してサルモネラ属菌、マイコプラズマ
マ加里セブチカム（M. H. G.）および ALV、そ
の他登革熱ウイルス、CKF などで検出される異種ウ
イルスの含有は低いことと確かめた。

ワクチン接種方法：凍結ワクチンは流水中
で溶解し、これをワクチンの溶解液（199-F10
）で産卵鶏用として 1,000 PFU 1 ドーズとし、
また肉用鶏用として 1,000 PFU 1 ドーズとし、
その $\frac{1}{2}$ ドーズ、 $\frac{1}{4}$ ドーズにそれぞれ希釈した
。希釈調整したワクチンウイルスは振盪混和
後供試ひの腹腔内にあるいは皮下に 0.2 ml 宛接
種した。接種時内はワクチン溶解後 90 分以内
に終る可きように行なった。産卵鶏に認可さ

接種試験に供した鶏群は表 19 に示す如く 5 群で 2,000 ~ 2,100 羽にワウケンと接種し, また対照として 1 群 894 ~ 1,050 羽と準備した。肉用鶏に對する接種試験に供した鶏群は表 32 に示す通り, 4 群で 965 ~ 33,260 羽にワウケンと接種し, また対照として 1 群 1,030 ~ 32,689 羽と準備した。

ワウケンの効果判定: 産卵鶏の効果判定のための観察はワウケン接種後 180 日以内に行なつた。供試鶏のうち, 死亡と判断したものはいずれも解剖し, 病理組織学的に MD 病変出現有無を検討した。効果の判定はワウケン接種および対照群の MD 病変出現数の比較で行なつた。肉用鶏は 49 ~ 70 日齡時, 舎鶏処理場での解体に立ち合い腫瘍病変の出現状況と観察した。腫瘍病変は外景的には皮膚, また内臓病変としては肝および脾と肉眼的に観察した。

死亡と判断原因の検討: 臨床症状, 病理解剖および組織学的所見と総合的に検討し, 死亡と判断の原因と決定した。各臓器は示す

リン固定後切片標本を作成してハマトキシリン・エオジン染色と行ない観察した。検査した臓器は肝、脾、腎、心、肺、神経、脳、腺胃および腸である。いずれも死亡という決の原因と見られる病変ととりまじめたが、数種類の病変が認められたものは最も強く出現した変化を原因とした。

抗体の測定法：M.D. についてはゲル内沈降抗体を検討したが実天および抗原作成法はすでに併司は第二章第一节で述べた方法によった。伝染性気管支炎（以下IBと略す）は中和抗体を測定した。併司はライルス稀釈法、細胞はCKFと、ライルスは練馬株を用いた。ライルスは10倍階段稀釈とし、これに5倍稀釈した非動化血清と等量加え、4°C 18時間感作させた。その後この混合液とCKF培養試験管4本に0.2 ml宛接種し37°C 21時間ライルスと吸着させた後、2%牛血清加YLEと0.8 ml加え、37°C で回転培養、3~4日目に細胞の変化を観察した。感染価はベールンス、ゲルバ

一の方法により算出し、中和価を求めた。ニ
 ューカッスル病（以下NDと略す）は赤血球
 凝集抑制（以下HIと略す）抗体を測定したが、
 併式は家畜伝染病診断学に準じ、またHI用
 抗原は石井株のエーテル処理抗原を用いた。
 なお、平均HI価は幾何平均で示した。マイコ
 プラズマガリセプタカム（以下MGと略す）
 凝集反応は試験管法で行ない血清稀釈50倍以
 上を陽性とした。この白痢の凝集反応はスラ
 イド凝集反応で行ない、1分以内の凝集を陽
 性と考えた。

ウイルス回収法：産卵鶏は腎臓培養法に
 より、また肉用鶏は血液よりウイルスの回収
 が行なわれた。MDHVおよびHVTによる特異的
 CPEの認められたものを陽性とし、初代でCP
 Eの認められなかった場合は3代まで継代し判定
 した。EPMおよびMMには牛血清を5～2%
 加えたイーグルMEM培地を用いた。HVTおよ
 び野外のMDHVの区別はDEHにおけるCPEの大
 小、形態および増殖の速度で判定した。

第 2 節 実験成績

1 産卵鶏に対する M D ウツクシ接種試験

1) 死亡とう汰数

試験鶏群と 180 日間観察し、その間に死亡とう汰した数と、ウツクシ接種および対照群に分けて示すと表 20 の通りである。接種群では 3.3 % ~ 10.1 % の死亡とう汰率で、平均 7.5 % であった。いっぽう対照群では 6.8 ~ 23.2 %、平均 14.4 % の死亡とう汰率を示した。対照群の数と 100 とし、接種群の減少率を示すと 5.8 ~ 68.3 %、平均すると 48.1 % であった。各鶏群の対照群に対する接種群の死亡とう汰率は鶏群 1, 2 および 3 で推計学的 (χ^2 -test) に有意差 ($P < 0.001$) が認められ、接種群で低かった。しかし 4 および 5 群では差がなかった。なお、表中の接種群は皮下および腹腔内接種群とまと

めを示しているが、両接種方法の間には死亡
とう汰の割合に有意差 ($P < 0.001$) と認め腹
腔内が多かった。

2) 死亡とう汰の原因

使討鶏の死亡とう汰の原因はM1のう4ン
接種有無の面から検討した。その成績は表2
に示す通りである。管理面からみると虚弱
ひの死亡とう汰数が最も多く、事故およびカ
ニバリズムがこれに次いだ。これらの虚弱
ひは鶏群1, 4および5が多かった。事故
の原因は接種時の失敗(胸腔内接種群のみ)
および飼養中に4-ジには2まれと死亡した
もの、また鶏群4および5のものは外敵(
イタチ, イヌ, ネコなどによる)および風水
害によるものであった。カニバリズムは鶏
群1および2で他の鶏群よりも多発した。日
齢別にみると虚弱ひは60日齢時より、発
育不良, カニバリズムおよび事故では150~
180日齢時より平均して発生がみられた。疾病

による死亡とう頭数は種類および対照群ともに M D が最も多く、その他は慢性呼吸器病 (以 RCRD と略す)、白血病、コリーガおよび胸膜炎などが多く発生した。鶏群別にみると M D および白血病は鶏群 1 および 2、CRD は鶏群 2 および 5、肝炎、腎炎および肺炎は鶏群 5 でそれぞれ多い傾向を認めた。その他表に示す如き病変は各鶏群で平均して発生を示した。これら各疾病の発生と日齢別にみると M D は 31 ~ 60 日齢時より発生し、151 ~ 180 日齢まで認め、151 ~ 180 日齢時に最も多かった。コリーガは 61 ~ 90 日齢時、CRD は 91 ~ 120 日齢時、白血病は 121 ~ 150 日齢時よりそれぞれ出現し、日齢の進むとともに増数した。発生数の少ない病変の大部分は 151 ~ 180 日齢時に出現したものである。

ワウケン種および対照群の内の死亡とう頭数にかなり差が認められた。また、管理面の死亡とう頭数にかなり差が認められた。また、管理面の死亡とう頭数を除き、供試数に

対する疾病のみの発生率は接種群では3.2% ($\frac{321}{10,174}$) および対照群では10.7% ($\frac{533}{4,972}$) であり、両者間には統計学的に有意差 ($P < 0.001$) を認めた。この場合対照群の発生数 ($\frac{533}{4,972}$) を100とした場合の接種群の発生減少率は70.1%であった。これは疾病発生率の大きい原因は両群ともにMD発生数の多いことによるもので、MDを除いた疾病について比較すると対照群3.6% ($\frac{178}{4,972}$) に対し接種群の発生率は2.0% ($\frac{205}{10,174}$) と少なかった。 ($P < 0.001$, 減少率62.8%)。接種群の各疾病発生数は発生例数の少ないものであるが、卵巣異常を除いたすべての疾病で減少していた。ほかMDおよび不明を除いたすべての疾病の発生は対照群 ($\frac{84}{4,972}$) に比較し接種群 ($\frac{71}{10,174}$) では62.8%の減少と認めた。

3) 日齢別腫瘍発生数

肉眼的に腫瘍と診断された例 (MDおよびリンパ性白血病 (以下LLと略す)) を含む)

日齢別および鶏群別に示すと表 22 に示す通りである。腫瘍病変は 61 ~ 90 日齢から認められ、日齢の進むにしたがい増加した。30 日齢の出現数は 61 ~ 90 日齢 19 例、91 ~ 120 日齢 88 例、121 ~ 150 日齢 150 例および 151 ~ 180 日齢 208 例であった。接種有無別にすると接種群 ($117/1,174$) および対照群 ($398/4,972$) の腫瘍発生率は対照群が多く統計学的に有意差 ($P < 0.001$) が認められた。鶏群別にすると腫瘍発生数は接種および対照群ともに鶏群 1 および 2 によく、鶏群 3 が最も少なかった。またいずれの鶏群においても接種群は対照群より少なく有意差 ($P < 0.001$) が認められた。

4) M D 発生数

日齢が 30 日齢以上で、神経病変があり、内臓、眼、皮膚および筋肉などに病変があり、かつ内臓病変は結節型で、腫大がそれほど著明でなく、病巣部の細胞は大小不同のリンパ様細胞から構成されているものを、総合的に

みしMDと診断した。いっぽう、120日齢以上で神経病変がはく、病巣の細胞はほぼ同一なリンパ様細胞をもつもののELLとLMと区別した。MDと診断されたものの日齢別および鶏群別の発生数は表23に示す通りである。なお、表中()内に示す数字はMDとLLの区別の明確にできなかったものである。

日齢別にMDの発生状況とみると31~60日齢時から発生し、日齢の進むとともに増数してあり、151~180日齢時に最も多かった。また鶏群別の発生数とみると対照群が多い場合、接種群にも多い傾向を認めた。鶏群1および2で多く、鶏群3で最も少なかった。各鶏群の接種および対照群のMDの発生数の間にはいずれも統計学的に有意差(鶏群3は $P < 0.01$ 、その他の群は $P < 0.001$)が認められた。

各鶏群の接種および対照群のMD発生数(MDとLLの区別がなかったものを含む)および対照群を100とした場合の減少率は表24に示す通りである。

各鶏群のMD発生率は接種群では0.5~1.9%、平均1.1%、対照群では1.8~13.2%、平均7.1%、また、接種群の発生減少率は71.1~87.6%、平均84.0%であった。接種および対照群の間のMD発生数には統計学的に有意差($P < 0.001$)が認められた。また、接種群の中で腹腔内接種群(5,094羽中74羽)は皮下接種群(5,083羽中MD 42羽)に比較し、MD発生数が多く、両者間に有意差($P < 0.001$)を認めた。

5) MD病変の出現部位

MD病変の認められた接種群116例および対照群355例についてその病変の出現状況が検討された。その成績は表25に示す通りである。接種および対照群ともに病変出現率の高い臓器は肝であったが、その他に50%以上の病変出現率を示したものは脾、腎、神経および卵巣であった。接種別に臓器の病変出現率を検討したところ各鶏群ともに合計したものと同一傾向が認められた。またこれら出現した病変の

程度は接種および対照群で差を示さなかった。

6) ウグチンライルスおよび MDHV の分離
接種群および対照群のとう汰された鶏につ
いて胃の道接種法によりライルスの回収が
行われた。その成績は表 26 に示す通りであ
る。ウグチン接種時 (1 ~ 2 日齢) に行なっ
た各群 10 例宛、計 50 例からライルス分離は
陰性であった。しかし接種群では 2 ~ 30 日齢
時、ウグチンライルスは 100 % 分離され、その
後 151 ~ 180 日齢時まで 91.4 ~ 100 % の割合に分離で
きた。このことから長期間ウグチンライルス
が鶏体内に持続感染を及ぼしていることがわ
かった。なお、腹腔内および皮下接種群のラ
イルス分離陽性率および鶏群内の分離率には
差を認めなかった。また、この群について 31
~ 61 日齢時から野外 MDHV の分離を行なったと
ころ、151 ~ 180 日齢時まで 52.1 ~ 97.2 % のものがラ
イルスが分離された。ウグチン接種鶏は、

野外 MDHV の感染を防御せすいうウイルスと重感染してゐることがわかった。

対照群かゝの野外 MDHV は 2 ~ 30 日齢時かゝ分離しはじめ、日齢の進むにしたがい、陽性率が高くなり、151 ~ 180 日齢時には 100 % 分離した。各鶏群間における分離率には差は認められなかった。

接種群と同居飼育してゐた対照群へのいうウイルスの感染が検討された。表 26 に示すように 31 ~ 60 日齢 (鶏群 3) , 91 ~ 120 日齢 (鶏群 3 あよび 5) あよび 151 ~ 180 日齢時 (鶏群 2 あよび 4) にそれぞれ 1 ~ 2 例にいうウイルスが分離された。少数例ながらこのいうウイルスと同居感染の成立してゐることがわかった。

7) いうウイルス接種有無と 2, 3 病原体に 対する抗体の動き

とう添された鶏の血清について MDHV, HVT
ゲル内沈降抗体, IB いうウイルス中和抗体あよ

2. MG 抗体保有状況について検討した。収集
 した血清は MD 4 種接種時 (1 日齢)
 , 2 ~ 30, 31 ~ 60, 61 ~ 90, 91 ~ 120, 120 ~ 150
 および 151 ~ 180 日齢に得た血清の抗体価の
 平均値をとるとし, 30, 60, 90, 120, 150 お
 よび 180 日齢としてまとめた。

(1) MDHV および HVT ゲル内沈降抗体の動 向

中和抗体は？

MDHV 抗原に対する 4 種接種および対照
 群のゲル内沈降抗体の陽性率は 図 3 に示す通
 りである。検討した移行抗体陽性率は地区
 3 の 0% を除き 62.5% ~ 83.3% を示した。その後
 30 ~ 60 日齢時には移行抗体が消失し, 陽性率
 は 0% となった。抗体陽性例の出現は地区に
 よりかなり差を認め地区 1, 2, 3 および 4
 では 60 ~ 90 日齢時より, 地区 5 では 120 日齢時
 より認め, 以後陽性率は上昇した。また, 180
 日齢時地区 3 の接種および対照群, 地区 4 の
 接種群のものは 15 ~ 35% の陽性率を示した

が、その他の地区では48～72%の陽性率に達した。接種群と対照群の差をみると10～15%の範囲内にあるものが多いが、地区4では30%の差を認め、対照群が高かった。また、地区では接種および対照群の抗体の上昇期に差が認められた。これらの地区のものを総計すると表27に示す通りになり、初生時をもっていった移行抗体は30日齢以内に下降し、その陽性率は低くなった。その後次第に陽性率は上昇し、151～180日齢時には45.4～52.2%に達した。いさばう HIV に対する抗体陽性率は犬猫 MIB の陽性率に近い値を示した。

(2) IBウイルス中和抗体の動態

つう4と接種有無によるIBウイルス中和抗体の平均値は図4に示す通りである。供試5地区のひは全群移行中和抗体価を保有し、あり1～2日齢時3.2±の平均中和価を示した。平均中和価は60～90日齢時に最低となり、以後次第に上昇した。地区1では7および

28日齡時にIB生らイルスウク4ンと投与した。この地区では30日齡時の平均中和価は接種群では対照群に比較し高かった。Mロウク4ン接種有無で平均中和価に差を認め、小た群は地区4の4で、90~120日齡時対照群が接種群よりも平均中和価で1.2~1.5高い値を示した。しかしその後150および180日齡時には差が現われなかった。その他の地区では接種および対照群の抗体の上昇時期および平均中和価の動きは同じ傾向を示した。なお、各鶏群の平均中和価は表28に示す通りで、91~120日齡時から中和価は1.0±となった。

(3) MG凝集抗体陽性率の動き

MG抗体陽性率の動きは図5に示す通りである。1日齡時移行抗体の検出でいた例はなかった。地区2, 3および5のものでは90~150日齡時から陽性率が急速に高くなり、最も陽性率の高い群では85%にも達した。180日齡時の抗体陽性率は地区1および地区4のもの

では他の3地区のものに比較し低い値を得た。
また、表29は各地区の接種および対照群と
よとめを示したものであるが接種および対照
群の陽性率間には差は認められなかった。

8) M D ワクチンの他種ワクチンの効果 におよびる影響

野外実験に用いられた鶏群には一般に市販
されているND全および不活化ワクチンと接
種した。ここではMDワクチン接種有無から
みた抗体価の変動を検討した。その成績は図
6および表30に示す通りである。各地区ごと
にNDワクチン接種プログラムが異なるので
地区別の比較はできなかったが、MDワクチ
ン接種有無で比較すると地区1, 2, 3およ
び4では平均HI価にはほとんど差が認められ
なかった。地区5のものは30, 60および150
日齢時の平均HI価に差があり対照群に高い値
が得られた。

9) 体重の変動

ワウ４ン接種後 30 日目毎に接種および対照群から各群 40 羽宛の鶏をうとぐみに抽出して体重を測定し、平均値と比較した。その結果、どの期間においても差が認められた。

10) 産卵に対する影響

各鶏群の産卵開始日齢およびその後の産卵数について検討した。産卵開始日齢は 120 ~ 148 日間で鶏群 2 および 3 では接種および対照群の間に 2 ~ 8 日間の差があり、鶏群 5 では 12 日間の差を認めた。また、各鶏群の 170 ~ 180 日齢時 10 日間のヘンデイ指数を計算したところ各鶏群の接種および対照群の間に差を認められた。

2 肉用鶏に対する M D ワウ４ン接種試験

1) 死亡と回収数

供試鶏群の 49 ~ 70 日齢時出荷までの死亡と

う滅数は表 32 に示す通りである。死亡率は各鶏群により異なるが平均して鶏群 1 が最も高く、鶏群 3 が低かった。また対照群の死亡率と 100 とした場合の接種群の死亡率減少率は、対照群よりも死亡率の多かった鶏群 1 の $\frac{1}{4}$ ドーズおよび鶏群 3 の 1 ドーズで接種群を除く、20.5 ~ 34.3 % であった。また、鶏群 1 および 3 にあいては接種群と対照群の死亡率に統計学的に差を認めなかったが、鶏群 2 では 5 %、また、鶏群 4 では接種した全群で 0.1 % の危険率で有意差があり、この 4 つの接種群で死亡率が少なかった。これらの死は 1 ~ 2 週齢以内であつたものが半数で、主に虚弱ひがたあつたものであつた。鶏群 4 については 30 日齢以上で死したものは全例解剖を行ない、その死亡原因を検討した。検査 1,265 例中主は死亡原因は呼吸器病、大腸菌症、MD、発育不良および事故などであつた。死亡原因のうち MD を除く、接種および対照群間で有意差の認められるものはなかった。

2) M D 発生数

M D の ウ 4 2 接種有無による4群鶏群の M D 病変の発生状況は表 33 に示す通りである。M D 病変の発生は各鶏群ではいずれも M D の ウ 4 2 と接種した群で対照群よりも発生数が少なくて、対照群の M D 病変発生数と 100 とした接種群の発生減少率と計算すると 72.8 ~ 92.6 % であった。また鶏群 1, 3 および 4 群の M D 発生率について χ^2 -test による検定を行なうと 27.17 ~ 80.96 の数値が得られ、いずれも 0.1 % の危険率で有意差を認め、ウ 4 2 接種群では対照群に比較し M D 病変の発生数が少なかった。

3) 体重の変動

各鶏群について、各回 50 ~ 150 羽について体重を測定し、その平均値と分散を求めたところ表 34 の如き成績が得られた。鶏群 1 では 17 日齢時の体重は対照群の方が接種群よりも重かったが、67 日齢時にはこの関係が逆になった。

た。同じ傾向は鶏群 2 の 17 日齢時と 49 日齢時に認められた。鶏群 3 では 33 日齢時からすでに接種群の体重が重く、70 日齢時には 2.5 にこの差がひきいた。鶏群 1 ~ 3 の各時期における平均体重からのばりつえは対照群と接種群よりも入まかった。鶏群 4 については各週齢時の体重をゲルマで測定したので、これから平均体重を計算し接種および対照両群の平均体重の差を求めた。体重は図 7 に示す如く 5 週齢時から差が出現し、出荷時前後で最も差がひきいた。はた一部のものに出荷時に対照群と差の少なくなったものがあった。

4) ワクチンウイルスおよび MDHV の分離とゲル内沈降反応

供試鶏群のうち 1 ~ 3 群についてはウイルス分離を行なったところ表 35 に示す成績が得られた。各供試鶏群 1 日齢時の血液からは HVT および野外 MDHV も分離できた。しかし 17 日齢時に接種群では 88.9 ~ 89.5 % のものが HVT が、また、55.6 ~ 63.2 % のものが MDHV が、49

日齡時および67日齡時には例数は少ないが、接種群では全例からHVTおよびMDHVが分離された。対照群ではHVTは分離できなかったが、MDHVは95～100%のものに証明された。

次に供試鶏群より得られた血清を用い、ゲル内沈降抗体の働きを検討した。その成績は表36に示す通りである。供試鶏群の1日齡時には17～90%のものに移行抗体が認められた。17日齡時には抗体陰性となったが、その後33～35日齡時には抗体の産生があり、出荷時には6.7～90%のものにHVTおよびMDHV抗原に陽性を示した。鶏群3および4では1週間接種量の少ない群ほどHVT抗原に対する陽性率が低かった。

5) 飼料要求率および経済計算

供試鶏群の出荷時の生体重量および給与した飼料から飼料要求率の計算をしたところ表37に示す通りの成績が得られた。接種群と対照群の間には飼料要求率に差がみられ、その

差は $\frac{1}{4}$ ドーズの接種群では $0.06 \sim 0.10$, $\frac{1}{2}$ ドーズの接種群では 0.10 , 1 ドーズの接種群では $0.06 \sim 0.11$ であり、いづれも対照群よりも少なかった。しかし $\frac{1}{4}$ ドーズの接種群の飼料要求率の向には特に差のあるという傾向は認められなかった。各鶏群内の飼料要求率は、飼育期間に差があり、また鶏種によることがあるのでも比較できるかった。

次に各鶏群の実際に費した収入と支出金額について経済計算を行なった。使試ひの購入費および飼料代の合計したものを経費として、また育成したひのの販売費と収入とを普通経費のみが計算された。収入から支出を引いて、得られた数値を使試ひの数で除くと、1羽当りの収入と対照群の1羽当りの収入から引いたものと、 $\frac{1}{4}$ ドーズ接種したことによる増収とした。その結果 $\frac{1}{4}$ ドーズ接種したことにより、接種群では1羽当り $10.15 \sim 19.82$ 円の増収があった。

牙 3 節 考 察

HVT を用いた M D ウ フ 4 2 の実験室内および野外応用試験の成績はすでに報告されている。ウ フ 4 2 接種群は対照群に比較し M D の発生率および死亡とう汰率が著しく減少し、体重増加率および産卵率にも影響を与えず完全なものとなつてゐる^{38, 48, 54, 58, 66, 61, 91, 89, 89, 99, 118, 131)}。

今回著者も HVT の M D ウ フ 4 2 を用い野外応用試験を行つた。その成績では、死亡とう汰数が対照群に比較し接種群で 48.1% 減少し、統計学的にも有意差 ($P < 0.001$) を認め、また M D の発生数は各鶏群ともに接種および対照群の間に有意差 ($P < 0.01 \sim 0.001$) があり、接種群で少なかつた。その他体重の増加率および産卵率はともに接種および対照群で差を認めなかつた。また接種群では対照群に比較し著しく死亡とう汰数が減少してゐることから、本ウ フ 4 2 は M D に対しのみならず、その他の疾病発生に対してもよい影響を与えて

いると思われろ。

M D 野外応用試験の際に死亡とう死の原因となつた主なものはコウシジラム, 窒息, カニバリズム, C R D, 内臓型瘧疾および出血症であつたと報告された^{38, 41}。M D に罹患した場合コウシジラム症に感受性が高くなることも述べられた³⁸⁾。今回著者が行つた野外応用試験の例では死亡とう死した鶏にコウシジラムの症例は認められなかつた。多発した死亡とう死の原因は, 養鶏場により若干の差はあつたが, 産弱ひひ, 事故, カニバリズム, 發育不良, M D, L L, C R D などであつた。死亡とう死原因のうち産弱ひひ, 事故および卵巣異常を除き, その他の原因では対照群が多かつた。このように揺種群で死亡とう死数が少なくなつたことはワウ4ンライルスが強毒MDHVによる発病をあるため, 鶏に対するストレスが減少したことによるためと思われろ。M D ワウ4ン揺種群にあって, M D は対照群よりも発生が少なかつた

が、それでもかなりの数を認めた。この点について、MDワクチンは試験養鶏場で接種されたものの、一部のひねで輸送中あるいは接種までの間に野外MDHVに感染したこと、また、ワクチンウイルスが鶏体内で増殖しているために野外のMDHVが濃感染したことが考えられる。また今回のMD発生数の集計には白血病と明確に区別できなかったものも含まれていることも、MD発生数の多くなった原因であろう。ワクチン接種部位については、[△]腹腔内および皮下接種法によるMD発生率には差があったと報告されているが、死亡率という点では前者が若干少ないことが述べられている^{28, 99)}。今回の実験で死亡率が皮下よりも腹腔内接種法で高いのは、30日齢以内に多数発生していることから、接種時の技術的困難によるものと理解される。しかしながらMD発生数に差の認められた理由については不明である。

死亡率に占めるMDの割合は日齢の若[↑]

ものでは、わめと少いだが、日齢の進むとともに高く、約 151 ~ 180 日齢時が最も多かった。また MD と診断された例のうち、とうとうこれたものの症状は主にさくそうと神経麻痺であり、特に神経症状を除いた以外は一般状態の悪化のみで、MD に特有の所見はみられなかった。MDHV は殊にさくそうと神経あるいは内臓に高率に病変を伴うことが知られていゝる。しかし今回の例では特別に^{神経}あるいは内臓に多発する傾向の認められる鶏群はなかった。また接種および対照群の間に各臓器の病変出現率に差がなかった。病変出現状況に对照と差のなかった理由については不明である。

ワウチンウイルスは接種群の中で、やはり長期肉存在することが報告されていゝるが^{89, 99, 129)}、著者の成績に於いても接種後 180 日間、91.4 ~ 100% にウイルスを証明した。またその割合は先の報告と一致するものであった。ワウチンウイルスの同居感染はほとんどないが^{82, 89)}あつても 5% 以内であると記載されていゝる

(27, 99) 。今回野外 MDHV あよび HVT の鑑別に CPE あよび DEH を用い CPE の型, 下まゝあよび増殖の速度で判定したところ 5 群中 4 群の対照群が 5 1 ~ 2 例のあよび 4 ンライルスが回復した。低率ではあよび 4 ンライルスの同居感染があつたものと表へされる。なお今回は抗体の面から同居感染の有無は, MDHV あよび HVT によるこれらの抗体をゲル内凝集反応では区別することからなつたので, 判断できない。

HVT を 4 ン接種後は野外 MDHV の感染を阻止できないと報告されている^{89, 99}。今回の成績にあつても 4 ン接種後 96.4 ~ 100 % にあよび 4 ンライルスが, また同時にこの 57.1 ~ 91.2 % のものに野外 MDHV の感染の成立していることがわかつた。

MD のゲル内凝集抗体はいずれの供試鶏群にあつても, 28 ~ 33 日齢時にはあよび 4 ンライルスが分離され, また野外 MDHV が供試鶏群に侵入しているにもかかわらず, 60 ~ 90 日齢時から上昇

して、この地区および120日齡時から上昇した地区と抗体上昇時期に差のあることを認めた。この原因として飼育環境、飼育方法、飼育密度あるいは鶏の系統などが考えられるが、今回の試験では、このいずれの点が原因であったのか確認できなかった。陽性率が先の報告(2, 28, 74, 37, 38)よりも若干低いが、これは抗原作成方法および抗原の量異なるためと考えられる。

M D ウウ4シの接種はN D 不活性化ウウ4シの受疫効果に対し影響を与えないことが報告されている¹⁶⁾。今回の使試鶏群は180日齡時までにN D 全および不活性化ウウ4シと2~3回接種されているが、5地区中4地区ではほとんどM D ウウ4シ接種有無に関係なく大略同じ平均HI価の動きを示した。地区5では30および60日齡、また、150日齡時に若干平均HI価に差を認めたが、M D ウウ4シ接種と関連性があったのかどうか判明しない。なお今回の接種鶏群のうち1地区(地区1)でIB全ウウ

4-1 に投与した群があった。この群の30日齢時の平均中和価に差を認めたが、これは佐討血清がMDワクチン接種群のとう添鶏が移行抗体の消失しないう年齢時の矛にかたよったためで、MDワクチンによる影響では無いと考えられる。しかしこの点は今後さらに検討して結論づけるべきことであろう。

その他野外で広く分布しているMG感染による抗体陽性率およびIBウイルス中和抗体の産生にMDワクチンが影響を与えていないことがわかった。

肉用鶏に対する野外応用試験は1972年 Kilgore⁷⁰⁾により1ドーズ接種した場合、出荷時白血病 Complex の出現率が対照群よりも75~94%減少し、56~57日間の短い飼育期間でもかなり効果のあることが報告された。免疫に必要なウイルス量は、移行抗体のない雛を用いた場合、1~10 PFU/羽を接種しても鶏はウイルスに感染し、また中和抗体およびゲル内現存抗体を産生し、MD強毒ウイルスの攻撃

に対し¹⁰⁰⁾ても耐過することゝ報告された^{132, 135, 23,}
 。 一 つ ほう 移行抗体を保存してゐる市販の
 種鶏に 300 ~ 500 PFU/羽 と接種した例に於いては
 1,000 PFU 接種したものよりもかなり劣るが、
 若干のワクチン効果のあったことが記載され
 てゐる¹⁰¹⁾。 著者は 250 ~ 1,000 PFU/羽 と肉用鶏に
 接種した場合のワクチン効果について検討を
 加えた。 その成績では接種群の腫瘍病変を示
 すものは対照群と比較し著しく少なり (72.8 ~ 92.6
 % 減少した。 また病変の出現程度も接種群で
 は小さく、剖検した限りに於いては接種群と
 対照群の病変の大きさに明瞭な差を認めた。
 このことから MD ワクチンは肉用鶏でも著し
 くよい効果を示したと考へる。 MD ワクチン
 と 1,000 PFU 以下、肉用鶏に接種する場合、肉
 題となるのは移行抗体の量および受疫がどう
 なるかの期間である。 MD の移行抗体は一般
 のワクチンのごとく、MD ワクチンの受疫産
 生を若干阻害するという報告がなされてゐる
 23, 27, 40, 93, 133) 。 また一 つ ほう 乾燥ワクチンは影

響をうけるが凍結ワクチンにはほとんど影響を
 受けていないとも報告されている^{115, 88)}。著者の成績で
 は250PFU接種群においても17~33日齢時に88.9
 ~100%のものからワクチンウイルスが回収さ
 れ、ゲル内凝降抗体の産生もよかった。これ
 の成績から70日齢時までは250PFU接種で100
 0PFU接種と同様だけの効果があったものと
 考えられる。免疫がでるまでの期間には今回
 は確認できなかった。次にMDワクチン接種
 群の体重は対照群と比較し差がみられた。こ
 れまで産卵鶏および種鶏で行われた試験に
 おいては体重に特別差が認められないうと報告
 されている⁹⁹⁾。著者の成績では33日齢以上お
 よび出荷時の49~70日齢時にかなり接種群と
 対照群の間に体重の差があり、また対照群で
 は体重のバウツキが入っていた。これは肉用
 鶏は育成期間が短かく発育速度が早いため疾
 病による影響を強く受け、それが増体量の遅
 れに与えるものと考えられる。可成りMDに
 よって死に至るまでには至らないが、体内で

作られ、MID病変に増体がかかり影響を受けるものと思われる。

これらの成績から本ウッケンは産卵鶏および肉用鶏に対して有効で安全なウッケンと考えられる。

オ 4 節 小 括

HVTを用いたMID凍結ウッケンの野外応用試験を行った次のような成績を得た。

1 産卵鶏に対する接種試験

1) ウッケン接種群の死亡とう率は17.5%であったが、対照群では14.4%で、接種群は対照群に比較し死亡とう率が48.1%減少した。また、統計学的にも両者間に有意差 ($P < 0.001$) と認められた。

2) 死亡とう原因の主なものは虚弱、事故、カンニバリズム、發育不良、MID、そして、およびCRDであった。虚弱、事故、および卵巣異常を除いた死亡とう原因

因はワクチン接種群で対照群よりもその発生が少なかった。

3) MD 発生数ではワクチン接種群で 1.1 % , 対照群で 7.1 % で両者間には推計学的に有意差 ($P < 0.001$) が認められた。また, 接種群の MD 発生数は対照群に比較し 84 % 減少した。

4) ワクチン接種鶏から 180 日間 91.4 ~ 100 % にワクチンライルスと回収することができた。

5) ワクチンライルスは 5 群中 4 群で低率ではあるが, 同属感染と認めた。

6) ワクチン接種により MDHV の感染と阻止せず, 鶏体に重感染が成立していた。

7) MD のゲル内沈降抗体の動態はワクチン接種および対照群の間に差と認めなかった。

8) IB ライルス中和抗体価および MG 凝集抗体陽性率の上昇はワクチン接種および対照群の間に差と認めなかった。

9) つうぐし接種群のND生および不活性化つうぐし接種後の平均HL価の動きは5群中4群に差を認められた。他の1群では30, 60および150日齢時に対照群で平均HL価が高かった。

10) つうぐし接種および対照群の間に体重の増加率および産卵率に差が認められなかった。

2 肉用鶏に対する接種試験

1) 死亡数には接種および対照群で差が認められなかった。

2) 接種群の腫瘍発生数は対照群に比較し88.7%減少した。

3) 接種群の平均体重は対照群に比較しかなり重く, また平均体重からのバウツキも少なかった。

4) 供試鶏群からのウイルス分離は17日齢時から陽性となり, またゲル内沈降抗体も33日齢から検出された。

5) 飼料要求率は接種群で対照群よりと

0.09 少い、経済計算すると1羽当り 14.38 円
の増収がある。

第五章 HVT凍結乾燥のウツシに関する 検討

前章にあり、HVTを用いたMD凍結のウツシは安全で、かつ有効のウツシである成績の得られた。しかし凍結のウツシはウツシを -100°C 以下の温度で保存および輸送が行われるため、取扱い上不便があるとの問題があった。凍結のウツシの研究と平行して、この点が解決できる乾燥のウツシの研究も行われるに至った。MDHVを用いる乾燥のウツシは細胞フリーウイルスの出現可能な量の少ないことから不可能視され、HVTを用いるものが検討された。HVTを用いる乾燥のウツシも通常のウツシで凍結乾燥時に用いられる安定剤を加えて、凍結乾燥が行われると感染価が著しく低下することから、乾燥のウツシの製造はかなり難しいと考えられてきた。しかし1970年 Calnek²¹⁾により凍結乾燥時に用いる安定剤として SPGA が用いられること以来、乾燥の

ワクチンの製造も不可能ではなかつた。この乾燥ワクチンを用いて鶏接種試験は2~3報告^{96, 106, 116)}。著者は第IV章で述べた分離ライルスYF-7株をCEHに継代し、細胞フリーライルスの産生を高めるように順化し、この株を用いて乾燥ワクチンを作成した。本章においてはこの乾燥ワクチンの実験室内および野外応用試験の成績について記述する。

第1節 実験材料および方法

供試ひは：実験室内の試験にはL.L.およびMDフリーのSPF鶏由来GおよびMD系のみが用いられ、ビニーレアイソレータで飼育された。また野外応用試験には市販のシェパースタークロス、デカルブおよびバブコック系の1~2日齢ひで通常の方法で飼育されたものを用いされた。

2. ワクチンの作成法：ワクチンは細胞で継代(DEFに代およびCEH40代)したライルス(

Y-7株) に CEH で増殖させ、その感染細胞を
 収集して SPGH (0.218 M, ナツカロース, 0.0038 M
 リン酸-カリウム, 0.0072 M, リン酸ニカリウム
 , 0.0049 M, ガルクトン酸ソーダ (一価) , 1%
 ナルゲンミトサネ) に再浮遊 (2,000羽/ml) し
 , これを音波処理した後、小分、分注して凍
 結乾燥した。

ワクチン接種方法：乾燥ワクチンと2%牛
 血清加イーガル MEM 液で溶解し、振盪混和後
 供試鶏の皮下に 0.2 ml ($0.2 \sim 9.0 \times 10^{3.0}$ PFU) を接
 種した。接種時間はワクチン溶解後 90 分以内
 に終わるように行なった。野外応用試験に
 供試した鶏群は表 43 に示す通り 5 群で 712 ~ 3,12
 6 羽にワクチンとを接種し、また対照として、
 309 ~ 1,042 羽を準備した。

ワクチンの効果判定：効果判定のための観
 察は鶏群 2 と除きワクチン接種後 150 日以内に行な
 った。鶏群 2 は 89 日以内観察した。供試鶏のう
 て死に至らなかったものは全例解剖し、病理組
 織学的にその原因を検討した。その方法はオ

Ⅶ 章 Ⅰ 節 に 準 じ て 行 っ た。

感 染 防 御 試 験：ウツケシ 播 種 後 3 週 目 に 強
毒 MDHV SD-3 株 感 染 鶏 に 同 居 し て、死 亡 鶏 は そ
の つ と、子 だ、生 存 鶏 と は 同 居 後 74 日 目 に 剖
検 し て 腫 瘍 病 変 の 有 無 を 観 察 し た。

と の 他 の 方 法 は Ⅱ 章 Ⅰ 節 に 準 じ て 行 っ
た。

Ⅱ 章 Ⅱ 節 実 験 成 績

1 ウツケシ ライルスの作出とその性状

1) ウツケシ ライルスの作出および細胞
フリー ライルスの出現状況

Ⅱ 章 で 分 離 し た HVJ の う 5-1 株、YT-7 株
と 組 織 培 養 細 胞 に 継 代 を 行 っ た、細胞フリー
ライルス株の作出と検討した。

ライルスは分離当初 DEF で 12 代 継 代 し た、
その後細胞を か へ て CEF で 40 代 ま で 継 代 し た。
この間 16, 20, および 29 代 目 に それ ぞ れ

イルスの1プロラックEとリ継代Eを行なった。
 これを各継代時に感染細胞E 1,000個/mlに調
 整し、これを3回凍結融解し3,000 r.p.m 10分間
 遠心沈澱した上清について感染価が測定され
 た。その成績は表38に示す通りである。継代
 の進むにしたがいライルス感染価は上昇し、
 CEF継代40代目には 6.5×10^6 PFU/ml になった。
 いっぽう細胞培養液の中の細胞フリーライル
 スはDEF継代時には測定できなかったが、CEF
 継代14代目には5 PFUであった。しかし継代
 の進むとともに細胞フリーライルスは増加し、
 CEF継代40代目には 6.5×10^4 PFU/ml にまで達
 した。

このDEFおよびCEFで52代継代ライルスE
 を用いて乾燥ワクチンを作成した。この材料に
 ついてHVTとしての同定、純粋性、その接種
 試験が行われた。

2) ワクチンライルスの同定

継代したライルスがHVTであること

と確認するため、次のごとく性状を検討した。
 。 DEH および CEH 上で円形の屈折性の強い CP
 E の出現すること、また感染細胞の染色標本
 で多核巨細胞および核内封入体の出現すること、
 IUDR 添加培地中でのライルス増殖の阻害、
 凍結融解による感染価の低下、2、3 動物
 血球に対し血球凝集性のないこと、ゲル内現
 降抗原により既組陽性血清中の抗体が検出で
 えることなどが確認された。これらの性状は
 分離当初の HVT の性状とかわらず、ウウ４シ
 ライルスは HVT であることが確認された。

3) ウウ４シライルスの純粋性

普通寒天、血液寒天およびウ４オグリコレー
 ト培地に乾燥ウウ４シを 1.0 ml 接種し培養した
 が、いずれの培地にも細菌の発育は認められ
 なかった。MG 用の液体培地に乾燥ウウ４シ
 を接種し、7 日間培養した。その後、次の新
 しい培地に $\frac{1}{10}$ 量（新しい培地量の）を接種し
 3 代まで継代、25 に MG 用寒天培地に移植

して 37°C の 1 日間培養し細胞の有無を判定した。
 この結果液体培養地と変化するものあり、寒
 天培養地で生育する細菌の出現は陰性であった。
 。

次に SPH 鶏由来の 5, 10 及び 11 日齢发育
 鶏卵の卵黄のうち、尿腔および漿尿腔上に 0.2 ml
 の乾燥した 4 種がそれぞれ接種された。この
 結果いずれの部位から接種にあっても、死
 亡した胎児は認められなかったが、卵黄のうち
 および漿尿腔上に接種のものでは漿尿腔上にホ
 ックが形成された。またこれらの接種卵の卵黄
 時採取した尿液について、鶏血球を用いて血
 球凝集反応を行なったが、全例陰性であった。
 。

白血病フリーの SPH 鶏卵 (%) 由来の CEF
 に 10 種 4 種ウイルスと HVT 高良免疫血清で中
 和した後接種し、5 日目ごとに 3 代継代し、
 この材料について RIF および Cofal test が行な
 われた。この結果両テストともに陰性の成績
 が得られた。

4) ワクチンウイルスの皮下接種試験

ワクチンウイルスを 200 あふに 9,000 PFU/0.2 ml にするよう調整して 1 日齢雛の皮下に 0.2 ml を接種し、15 週内観察が行われた。その成績は表 39 に示す通りである。200 あふに 9,000 PFU/羽接種群はともに臨床的に接種反応を示すものはなく、また MD を発病するものもなかった。ケル内血清抗体は 15 週齢時、接種両群ともに 80 % の陽性率を示し、ワクチンウイルスは 100 % のものが回収された。なお接種あふと対照群の平均体重には差が認められなかった。

次に 1 日齢雛には 200 あふに 9,000 PFU のウイルスを接種した後 3 週目に強毒ウイルス接種鶏と同居させ、同居後 15 週目まで観察をした。その成績は表 40 に示す通りである。ワクチン接種した 2 群、対照群あふと強毒ウイルス接種群はともに死にえるものと認められた。しかし 15 週目に殺処分し、MD 病変の有無を検討したところ、強毒ウイルス接種群は 14

例中 9 例 (64 %) を対照群は 10 例中 8 例 (80 %) のものに病変を認めた。しかし 200 あま び 9,000 PFU/羽接種群には M の病変を示すものはなかった。

同居感染の有無を検討するため 1,600 PFU/0.2 ml のウツクシウイルス液と作成し、1 日齢のひよこに接種した。いわゆる同居対照群としてウツクシを接種しない同日齢のひよこを準備し、ウツクシを接種した日より 33 日内同居させた。その成績は表 41 に示す通りである。供試ひよこは 10 週齢時に殺処分し、剖検したが、両群ともに M の病変と認めるものはなく、また対照群のひよこはウイルスの分離された例および抗体の陽転した例も観察できなかった。このことから本ウツクシウイルスは実験室内では同居感染が成立しなかった。

ウツクシウイルスをひよこに接種する際の最小感染量と測定するため、移行抗体の保有ひよこ (HVT 抗原に対するゲル内沈降抗体が 40 % に陽性となるひよこ群) および移行抗体陰性

のヒナを用い実験を行なった。ウツクシライルスの $10^{1.0} \sim 10^{4.0}$ PFU/羽と1日齢ヒナの皮下に接種し、その後7～42日齢時に殺処分し、その腎を直接培養する手法でライルスが体内に存在するかどうかについて検討した。その成績は表42に示す通りである。

移行抗体の陽性例では $10^{1.0}$ のライルス量と接種したヒナ群で、7日齢時に40%、14日齢時に80%のものにウツクシライルスが証明された。 $10^{2.0}$ 以上のものは $10^{1.0}$ 接種群よりも高いウツクシライルス回収率が得られた。また、いっぽう移行抗体の保存例にあっては7日齢時20%、12日齢時に40%で移行抗体陰性群のものよりもウツクシライルス回収率は低かった。この群のウツクシライルス分離陽性率が100%に達したのは34日齢時からであった。

2 乾燥ウツクシの野外応用試験

乾燥ウツクシの野外応用試験は熊本県内の

4 地区 4 養鶏場を選擇して実施した。使用した鶏の種類、ひなの日齡および供試羽數は表 43 に示す通りである。つううしはひなの皮下に 0.2 ml を接種し、5 カ月齡まで觀察した。ほみ、これを試験鶏群のうち、鶏群 2 では養鶏場の都合により 89 日齡時まで觀察し、また鶏群 3 および 4 では出登時にそれぞれ独立して接種したが、試験の途中で行はれた鶏の移動により両群と区別することができなくなったため、1 群としてまとめる + 4 群とした。試験は死亡と感染數、M.D. 發生數、供試鶏からのウイルス分離およびゲル内沈降抗体の出現状況について行はった。

1) 死亡と感染數

供試鶏群の觀察期間中に死亡と感染した數とつううし接種および対照群に比べて示すと表 44 のような成績が得られた。接種群の死亡と感染率は 2.3 ~ 8.5 で平均 4.5 %、対照群では 2.3 ~ 19.3 %、平均 7.6 %であった。対照群の死亡

とう汰散を100とし、接種群の減少率と計算すると、鶏群1では減少してはかつたが、鶏群2～5群では19.7～55.8%、全群の平均では35.9%であった。なお、観察期間中の種かつた鶏群2を除いて計算すると接種群9,663羽中433羽(4.5%)、対照群では3,272羽中252羽(7.7%)が死にあり、これはとう汰工水、接種群では41.8%死にとう汰散が減少していった。次に χ^2 -testによつて接種および対照群間の死亡とう汰率に有意差があるかどうかの検定を行つた。鶏群3+4では1%以下、また鶏群5では0.1%以下の危険率で有意差が認められ、接種群よりも対照群で死亡とう汰散数が多いことがわかった。

2) MD発生数

肉眼的に腫瘍と診断できた例は接種群では10,384羽中104羽(1.1%)、また対照群では3,581羽中121羽(3.4%)であった。鶏群別にみると接種および対照群ともに鶏群3+4および5群で腫瘍発生例が多かった。日齢別にみると

鶏群¹では 174 日齢，鶏群 2 では 69 日齢，鶏群 3
 + 4 では 53 日齢，また鶏群 5 では 67 日齢より
 出現しはじめ，日齢の進むとともに腫瘍発生
 例が増加し，121 ~ 150 日齢時に最も多かった。
 死に至った鶏について各臓器の病理組織
 切片を作成し，観察を行なった。M.D. と L.L.
 の区別はオ'D章オ'2 節の判定基準にしたがっ
 た。供試鶏群の M.D. の発生数は表 45 に示す通
 りである。接種群では 0 ~ 3.2 %，平均 1.1 % の
 発生率，また対照群では 0.2 ~ 11.8 %，平均 3.7 %
 に M.D. が発生した。鶏群 1 では接種群の M.D.
 発生率は対照群よりも多く，37.5 % 対照群が少
 なかった。またその他の群の発生減少率は 74.6
 ~ 100 %，全群を平均すると接種群で 69.7 % 減少
 した。これらの M.D. 発生数について推計学的
 に有意差 (χ^2 -test) を検討したが，鶏群¹では
 意味なく鶏群 2 では発生数が少ないのだけ計
 算しはかった。鶏群 3 + 4 または 5，また総
 計したものにあっては 0.1 % の危険率で有意差
 があり，接種群で対照群よりも M.D. の発生が

りなかつた。

3) ワクチンウイルスおよびMDHVの分離
 接種および対照群のとうろくされた鶏につい
 て腎の通接種培養法によりウイルス回収が行な
 われた。その成績は表46に示す通りである。
 ワクチン接種時(1~2日齢)に行なつた鶏
 群1および5の6例宛、計12例からのウイルス
 分離は陰性であった。ワクチン接種後31日
 齢以上のものについてウイルス分離が行なわ
 れた。30日ごとにとめると、接種群では
 HVTが79~90%に、MDHVが89~100%に分離
 された。対照群ではHVTは121~150日齢時に1
 例(4.0%)分離されたがその他は陰性であつ
 た。MDHVは94~100%に検出された。これら
 イルス分離率は各供試鶏群に差を認めるか
 った。接種群にあってはHVTおよびMDHVの重感
 染が供試例79例中77例(98.7%)に成立して
 いた。対照群では供試57例中61~90日齢の1例
 (1.8%)を除き全部MDHVが証明された。また

同居感染は対照群の 57 例の検査中 121 ~ 150 日齢の鶏群 3 + 4 の 1 例 (1.8 %) に認められた。

4) HVT および MDHV 血清内沈降抗体の動態

佐討鶏群の HVT および MDHV 抗原に対する血清内沈降抗体陽性率は表 47 に示す通りである。佐討鶏群は 1 週間接種時 HVT に対し 64 %、また MDHV に対し 52 % 移行抗体と保有していた。HVT に対する抗体は接種群では 2 ~ 30 日齢時 0 % と低かったが、31 ~ 60 日齢時から出現しはじめ、121 ~ 150 日齢時には 72 % に達した。対照群では接種群と大略同じ傾向を示し、121 ~ 150 日齢時には佐討例の 73 % が陽性であった。MDHV に対する抗体は両群ともに 31 ~ 60 日齢時から陽転しはじめ、91 ~ 120 日齢時から急に陽性率が高くなり、121 ~ 150 日齢時には 60 ~ 61 % の陽性例が認められた。HVT 抗原に対しては対照群が接種群よりも抗体陽性率の上昇が若干遅れる傾向を示した。

5) 体重の変動

ワケチン接種後 30 日毎に接種および対照群
から各群 40 羽の鶏をランダムに抽出して体重
を測定し、その平均値と比較した。その結果
各鶏群の接種および対照群の間にほどの時期
にありとも差が認められなかった。

第 3 節 考 察

HVT を用いた MD 乾燥ワケチンの実験室内
および野外応用試験の結果はすでに報告され
ている (61, 21, 98, 106, 116, 23)。乾燥ワケチンは凍結ワ
ケチンと同様に、ワケチン接種群は対照群に
比較し MD 発生率および死滅率の比率が著し
く減少し、体重増加率および産卵率にも悪い
影響を与え得る全にであったと記載された。ま
た、著者と前章にあり、凍結ワケチン接種群
の MD 発生数は対照群と比較し有意に減少し
せるという成績の得られたことを述べた。本
章では HVT の YT-17 株と DEF および CEF を 52 代

継代し、この株を用いて乾燥いう42を作成し、基礎的の性状を検討し、その後野外応用試験を行なった。

YT-7株は強い細胞随伴性の性質をもっているが、これとDEFが12代、25にその後CEFが40代継代と進むたところ、細胞フリーのウイルスはかなりの量に発生するウイルス株を得ることができた。また、この継代作成された細胞フリーウイルスは細胞随伴性の原株と同じような性状を有し、鶏に対して安全で、かつ免疫性のあることがわかった。HVTとCEFで継代と進むると細胞フリーウイルスの出現することがわかったが、今回DEFおよびCEF52代継代して得られたウイルス株のCEFにおける増殖性が最高であるかは今後にも継代と進む検討する必要がある。27uの感染するためにいう42ウイルスの量かどの位必要であるかについて¹³に検討され、 $1 \sim 10^2$ PFU/羽接種したかともウイルスが回収されると報告されている^{100, 132, 135}。今回の実験で著者

が細胞よりライルスで検討したところ、移行抗体のはいひは $10^{1.0}$ PFU/羽 でも接種後2週目には80%のライルスを回収できた。しかしこの回収率は $10^{2.0} \sim 10^{4.0}$ PFU/羽 を接種したものでありは低く、同じ回収率に達するまでに7日遅れた。このことから4シライルスの量がかかり少なくて感染はするが、ライルスの回収できるまでの時期が遅れることがわかった。また移行抗体 (HVT 抗原) 陽性ひには $10^{3.0}$ PFU/羽 のライルスを接種すると、移行抗体のはいひに比較し、ライルスの回収率はかわるはかたが、同じ回収率にはるまでに移行抗体のはいひよりも遅れていた。これらのことから供試ひに認められた移行抗体 (HVT 抗原で検出された) が4シライルスの増殖に影響を与えていることがわかった。HVT は実験室内で同居感染しはいが、野外飼育例では5%以下に成立することが報告されている^{82, 89, 99)}。今回の著者の実験にあっても、実験室内の3回の実験では成立しはか

つたが、野外応用試験群では鶏群3+4の1例に成立し、伝率ではあるが同属感染のあることが確認された。

HVTを用いた凍結および乾燥M₁のうぐ₄の実験室内および野外応用試験の結果はすでに報告しているがその発病予防効果は両者でほとんど差のないことが記載されている^{37, 38, 41, 66, 61, 91, 1, 43, 51, 54, 55, 58, 87, 89, 114, 131, 21, 76, 106, 116, 23)}

。今回著者はHVT Y-7株とDEFおよびCEFで52代継代したものをを用いた乾燥うぐ₄を作成し、基礎的性質は検討した後野外応用試験を行なった。その成績では死亡頭数や対照群に比較し接種群では35.6%減少し、推計学的にも有意差があった。またM₁の発生率では対照群よりも接種群で少なく、両者間には有意差が認められた。しかし体重差については接種および対照群間には差がなかった。

次にうぐ₄ウイルスであるHVTが体内に長期間存在すること、また、うぐ₄接種鶏は野外MDHVの感染を阻止しないことはよく

の研究者にふりかへて報告されたところ^{89, 99, 127)}
 。著者も凍結したマウスの試験(前章第2節)
)および今回の試験にふいても同様の成績が
 得られた。

Mマウスのマウスも他のマウスと同様に移
 行抗体の存在により免疫能に影響をうけるこ
 とが考えられるが、最近にはこの点に関
 連視されるようになってきた^{23, 26, 89, 93, 106, 133, 136)}

。特に HVT の乾燥したマウスは HVT の移行抗体
 の影響をかなり強くうけることが報告された
^{133, 135)}。今回著者が乾燥したマウスの野外試験に
 使用したものは70%に移行抗体を保存してい
 たが、この移行抗体が HVT 由来のものか、あ
 るいは MDHV 由来のものであるかはあきらか
 ではないので、移行抗体が今回の試験成績に
 何の影響を及ぼしているかは判断できなかった。
 前章にふいて著者は同一地区で凍結型の
 MDマウスの野外応用試験を計りていすが
 この時得られたMD発生減少率(150日齢まで
 の累計)は平均84.4%であり、今回の成績の69.7

よりも若干よい成績を得ている。しかし、これらのM₁発生減少率は試験毎に鶏群あるいは条件などがことなるため移行抗体のために出てきた差か、あるいは乾燥のうすやうと凍結のうすやうの違いによつて生じた差か判断できないかった。

第4節 小 括

HVT YF-7株を細胞に継代馴化し、この株を用いて乾燥生ワクチンを作成し実験室内および野外応用試験を行なった。その結果次のことと成績が得られた。

1) 分離ライルスEDEFおよびCEFに継代を重ねると細胞フリーのライルス量が次第に増加した。また、DEFおよびCEFの52代継代の細胞フリーライルスは出発株と同一性状を有している。

2) 継代ライルスを用いて乾燥生ワクチンを作成し、ひよこに接種したところ安全で、し

かも十分な免疫力が残っていた。また同居感染は成立しなかった。ワクチンウイルスの $10^{6.0}$ PFU/羽接種ではウイルスは回収できなかった。その回収率は大量接種の場合に比較して低かった。また移行抗体はウイルスの感染に影響を与えた。

3) 乾燥ワクチンの野外応用試験を行なったところ、Mの発生率では接種群で1.1%、対照群では3.7%と両者間には統計学的に有意差が認められた。また接種群のMの発生数は対照群に比較して69.7%減少していた。接種鶏から150日間79~90%にワクチンウイルスが回収された。ワクチンウイルスは5群中1群(鶏群3+4)に同居感染した例(1例)を認めた。ワクチン接種鶏は野外MDHVの感染を阻止せず重感染が成立していた。接種群のワクチンウイルスに対するゲル内沈降抗体は121~150日齢時72%の陽性率を示した。

第四章 M・D・N・D混合生ウイルスワク チンに関する試験

現在、我が国では多数の鶏が飼育され、その
ため多種類の鶏病が発生し、養鶏界に甚大は
被害を与えてゐる。これらの鶏病を予防する
ため各種のワクチンが開発され、それぞれ独
立した接種方法により用いられつゝきた。最近
の養鶏業界にあつては経済性および省力化の
方法に主眼があかれ、ワクチンについても受
疫期間の長いものあるいは接種時省力化のび
えるワクチンが期待されるようになってきた。
。ワクチン接種の省力化という点から数種の
ワクチンと混合するものが研究され、現在で
は2, 3の混合ワクチンが製造、市販される
ようになってきた。このようになるところから著
者は省力化を目的にM・DおよびN・Dワクチンの
混合生ウイルス（以下混合と略す）ワクチン
を作成し検討した。本章では混合ワクチンの
安全性と受疫原性について実験を行つたの

2) の成績を述べる。

オ 1 節 実験材料および方法

供試ひな：実験室内の試験には SPH および市販のハイライン、デカルブ系の 0 ~ 1 日齢ひなが用いされた。飼育方法はビニールアイリレータ内あるいは隔離した実験鶏舎で飼育した。また野外応用試験にはバブコック系の 1 日令ひなで通常の方法で飼育されたものを用いされた。

ワクチン：MD ワクチンライルスは HVT (FC-126 株), また ND ワクチンライルスは B1 株 (以下 NDV と略す) を用いて製造した。供試した混合ワクチンは HVT 1,200 ~ 2,200 PFU/羽, NDV $10^{6.1} \sim 10^{6.5}$ EID₅₀/羽を含むものである。混合ワクチンは MD 凍結ワクチンと同様に製造後 -100°C 以下に保存された。混合ワクチンは流水中で融解後, 溶解液を稀釈し, ひなに 0.2 ml/羽接種した。

感染防御試験：M D は強毒 SD-3 株の感染鶏（感染後 3 ～ 5 週目）血液を 0.2 ml/羽 宛腹腔内に接種し、死に鶏はとめつと、また、生存鶏では 60 日目に剖検して腫瘍病変の有無を観察した。N D では強毒佐藤株の 10,000 MLD₅₀/羽 宛筋肉内に接種し、14 日内発症の有無を観察した。

抗体価の測定法：M D の中和価は音羽処理した細胞より - 5 5 2 400 PFU/0.1 ml の HVT 液と等量の倍數稀釈被検血清と混合し、室温で 1 時間感作後、CEH 培養シャーレに接種した。吸着 1 時間後、寒天液を加え 37°C に培養し、接種後 7 日目に出現したプラック数と数え、Behrens - kærber 法によつて 50% のプラック数を示す血清の稀釈倍數を求め抗体価とした。その他の抗体価の測定法は第二章第 1 節に準じた。

HVT・NDV の干渉作用：術式は Kalata and Bankowski⁶⁰⁾ の記載する手法に準じて実施した。60 mm 径のプラスチックシャーレに培養した CKH に HVT とシャーレ当り 10,000 PFU 接種し、その後

1, 2, 3, 4, 6, 12 日目 に $10^{8.0}$ TCID₅₀/2 ml の NDV が接種された。その後 37°C 60 分感作後に清と捨てる, 遊離ウイルスを除くため細胞と培養液 5 ml で洗浄した。25 に血球吸着陰性細胞の表面に残留している NDV を除くため NDV 高度免疫血清 (中和指数 $10^{8.0}$ 以上のもの) と加えて中和を行なった。20 分感作後血清と捨てる, 培養液と入れ 15 時間培養が行われた。この材料に通常法により赤血球吸着試験 (赤血球の吸着は 4°C で 20 分間) と行なった。NDV 単味および不接種のものに対照として準備した。

ウイルス回収法: 第五章第 1 節に準じて行なった。

第 2 節 実験成績

1 HVT および NDV B1 株の干渉

HVT が接種した CKF に NDV が重感染して赤血球吸着試験を行なったところ表 48 に示すよ

うな成績が得られた。この結果 NDV 接種後 1 ~ 12 日目のものではいずれの例にありとも 100% に赤血球吸着があり HVT と NDV とは干渉しない成績であった。また同じ試験を 3 回くり返し行なったが、同様な成績が得られた。

2 混合のうち 4 に対して DMSO の影響

MD 凍結のうち 4 にはジメチルホルムアミド (以下 DMSO と略す) が凍結保護剤として必要である。そこで MD および ND 全ウイルスのうち 4 の各原液を混合した後、これに 5 ~ 15% の割合に DMSO を加え、 -100°C 以下に保存し、NDV に対する DMSO の影響を検討した。この成績は^表49 に示す通りである。対照とした DMSO を添加せずに保存したものと、5 ~ 15% DMSO を添加したものとを比較すると NDV の感染価の低下は認められず、DMSO もこの範囲内の濃度では NDV に対し影響しないことがわかった。また HVT においても NDV の混合された後に凍結しても感染価の低下はなかった。

3 混合ワクチンの安全性

1) 接種反応

市販（移行抗体価，ND-HI 2 ~ 256，HVT 中和価 < 4 ~ 128）および SPF の 0 日齢ヒヨコ 150 羽に混合ワクチン（HVT 1,200 PFU/羽，NDV $10^{6.5}$ EID₅₀/羽）を 1 羽当り 0.2 ml 宛皮下に接種した。接種時，ヒヨコを観察しやすいように 30 羽を 1 群として飼育し，反応を認めたものは別室に移し，反応の程度と持続期間を観察された。その結果，市販ヒヨコでは異常を認めるものはなかったが，SPF ヒヨコでは 10% のヒヨコにクシャミの出現するものが認められた。クシャミと可る頻度は 5 ~ 10 分間に 1 ~ 2 回程度で，接種後 5 ~ 7 日目から出現し，1 ~ 3 日間持続した。これらのヒヨコは，いずれも回復し，死なせるものは 1 例もなかった。次に SPF および市販（ND 移行 HI 抗体価 8 ~ 64）0 日齢ヒヨコ 5 ~ 10 羽に 1 および 10 ドーズの混合ワクチン接種し，接種反応（クシャミの出現

) の観察と反応による発育への影響と考へ、
 14 日齢時の体重の測定と行なつた。その結果、
 SPH 及び 10 ドーミ種群で 6 27 日
 に 5 例中 1 例、1 ドーミ種群で 5 例中 1 例
 にそれぞれウシヤミが観察された。市販及び
 10 ドーミ及び 1 ドーミ種群ともにウシヤミの認められたのは 1 例もなかった。体重
 の測定では SPH 及び市販及び対照群に
 比較し差は認められなかった。次に SPH の日
 齢及びの揺種反応の原因を追求するため SPH の日齢と 4 日齢を用いて混合及び NID 単
 味のうち 4 種による揺種反応の比較と行なつた。
 その成績は表 50 に示す通りである。揺種反
 応及び増体量ともに NID 単味のうち 4 種の
 が悪く、各々の 4 種と混合することにより、
 反応がより強くなるという成績は得られな
 った。

2) 病理組織学的所見

混合及び NID 単味のうち 4 種と SPH 及びの 0 及び

5 日 4 日 齡 の 子 に 接 種 し、接 種 後 3 日 間 隔 で
 21 日 齡 子 に 各 群 の 羽 脱 殺 菌 を し、呼 吸 器 系 器
 官 の 剖 検 およ び 組 織 所 見 を 観 察 し た。剖 検
 上 は 全 例 異 常 と 認 め る 所 見 は 得 ら れ な かつ た。
 組 織 所 見 の 成 績 は 表 51 に 示 す 通 り で あ る。
 接 種 後 6 ~ 12 日 目 の も の に 上 皮 細 胞 の 増 殖 (杯
 上 皮 の 増 殖)、上 皮 の 剥 離、粘 液 の 分 泌、
 固 有 層 等 の リン 巴 球 細 胞 の 浸 潤 等 が み ら れ、
 ND 単 独 の 4 日 齢 と 同 程 度 の 変 化 が あ っ た。
 組 織 所 見 に お い て も HVT およ び ND の 両 つ の
 4 日 齢 と 混 合 可 る こ と に よ る 反 応 の 増 強 は 認 め
 ら れ な かつ た。

4. 混 合 の 4 日 齢 の 受 疫 効 果

1) SPF の 接 種 試 験

混 合 の 4 日 齢 の SPF の 子 に 接 種 し た
 後、HVT およ び NDV に 対 す る 抗 体 の 産 生 およ
 び 強 毒 ら イ ル ス に 対 す る 感 染 防 御 の 成 績 は 表
 52 に 示 す 通 り で あ る。HVT 中 和 価 価 混 合 の 4

4シ接種後3週目に17.22～31に上昇し、また、HVTの回収率は82～100%であった。強毒ウイルスの攻撃では、皮下接種群で1例病変が出現した。この5の混合ワクチンの成績はHVT単独ワクチンと比較すると、抗体価は若干低かったが、HVTの回収率および感染防御率には差を認めなかった。

次にND-HI価の動きをみると、混合ワクチン接種群では80～140の平均値が得られ、また、強毒ウイルス攻撃では混合ワクチン接種群はいずれも100%の感染防御率が得られた。この成績を単独ワクチンと比較すると、ND-HI価はかなり高く、また、感染防御率では差を認めなかった。

混合ワクチンの免疫効果と接種部位別にみると腹腔内は筋肉内および皮下に比較し、ND-HI価とMD感染防御率が若干高い値を得たが、HVT中和価、HVTの回収率およびNDの感染防御率の成績ではとくに差がなかった。

2) 移行抗体保有ひね接種試験

混合のうぐすしと移行抗体のある市販のD日齢ひねに接種し、その後、抗体の産生およびHVTの回収について検討した。その成績は表53に示す通りである。HVTに対する移行中和価が平均16, 42および100の3群を用いたが、3週齢時の抗体価はそれぞれ59, 46および37で、移行中和価の低い群が若干高い傾向を認められた。また、鶏群1および3では単味のうぐすしと混合のうぐすしよりもHVT中和価が高かった。HVTの回収率は鶏群1および3では混合のうぐすし接種群と単味のうぐすし接種群とくに差を認めなかった。

NDVに対する移行ND-HI価は13, 5.7および73の群を用いたが、接種後3週目には10, 16および3.2とあり、上昇する傾向を示した。移行ND-HI価の高い群では低い群よりもND-HI価が低かった。また、混合のうぐすし接種群は単味のうぐすし接種群よりも接種

後 3 週目の ND-HI 価が若干高かった。しかし、ND 攻撃試験では混合および単味のうぐすく接種群はほぼ同様の感染防御率を示した。

3) 接種部位の比較試験

混合のうぐすくの接種部位別の免疫原性が検討された。移行抗体を保有している SPF 雛に与える免疫効果はすでに表 52 に成績を示した。移行抗体保有率を用いた成績は表 54 の通りである。

接種部位別にみると HVT 中和価は筋肉内および腹腔内で高く、皮下では若干低い値を得た。また、HVT の回収率は 70 ~ 90 % で、筋肉内接種群で最も高かった。ND-HI 価では接種前の 73 のものが、3 週目には 2 ~ 5 となり上昇する傾向を示さず、接種部位別に大きな差が認められなかった。なお、この ND-HI 価は対照として点鼻投与した ND 単味のうぐすく群とほとんどかわらなかった。また、感染防御率は腹腔内接種と他の部位よりも若干高

い成績を得た。混合のうぐすくし接種群のND-HI価は単味のうぐすくし群に比較し、いずれの接種部位においても若干高い成績を示した。

4) うぐすくし接種後のライルス回収試験
混合およびMD単味のうぐすくしとSPHの日齢6に接種し、接種後3日肉隔で15日齢まで血液よりMDのうぐすくしライルスの回収を試みた。その成績は表55に示す通りである。混合およびMD単味のうぐすくしともMDのうぐすくしライルスは3日齢では30%、また6日齢以降では86~100%回収できた。混合およびMD単味のうぐすくしの間のライルス回収率の差はほとんど認められなかった。

5) NDのうぐすくし肉接種試験

混合のうぐすくしの初回(皮下)接種が、次のND全うぐすくし肉接種に与える影響を検討した。NDのうぐすくしの肉接種は14および28日齢時に1~2回、通常の接種方法で行なった。

この成績は表 56 あ よ ひ 図 8 に示す通りである。
 ・ 初回に混合 あ よ ひ は ND 単味 のう 4 ン と 接種
 種 し , 14 あ よ ひ 28 日 齡 時 に 1 ~ 2 回 ND 単味
 のう 4 ン と 同 接種 し た 群 の ND - HI 価 あ よ ひ
 感染 防 御 率 は ほ と し と 同 様 に 推 移 し , HVT 及
 ND 全 のう 4 ン の 免 疫 効 果 に 影 響 と な り な
 った。

5 混合 のう 4 ン の 同 居 感 染

混合 のう 4 ン と 胸 腔 内 あ よ ひ 皮 下 に 接種 し
 た ひ は 群 か ら 同 居 ひ は に のう 4 ン う イ ル ス が
 伝 播 と あ る か ど う か と 検 討 し た。 接種 群 と
 同 一 時 期 に ふ 化 し , 隔 離 飼 育 し た ひ は と , 混
 合 のう 4 ン 接種 直 後 , 5 , 10 あ よ ひ 15 日 目 に
 同 居 と し て , 3 週 目 に HVT の 中 和 抗 体 あ よ ひ う
 イ ル ス 回 収 , ND - HI 価 あ よ ひ 感 染 防 御 試 験
 が 行 な れ た。

市 販 ひ は (移 行 抗 体 価 , ND - HI 13 , HVT
 中 和 価 16) に あ け る 成 績 は 表 57 に 示 す 通 り だ

ある。混合ワクチン接種直後に同居させた群では HVT が 5 例中 1 例のみ回収されたが、中和価は全例 4 倍以下であった。いっぽう ND-HI 価は上昇せず、感染防御の成立する例も認めなかった。ほか対照としてあった ND 単味ワクチン点鼻投与群に同居させたものは接種後 10 日目まで 20 ~ 80 % のものに同居感染が成立した。同様の試験を SPF 豚について実施したがその成績は表 58 に示す通りである。混合ワクチン接種群に同居させたものは、全例 HVT の回収は陰性であったが、NDV においては、接種後 5 日目に同居させたものは 1 例に感染防御したのみで、同居感染が成立していった。いっぽう対照にであった ND 単味ワクチン点鼻投与群に同居させたものは接種後 15 日目まで 33 ~ 100 % のものに同居感染が成立していった。

6 混合ワクチンの野外応用試験

混合のウチ4シの野外応用試験は熊本県内の2地区2養鶏場を選挙して実施した。使用した鶏の種類は2地区ともバブコック系2匹の日齢は0日齢、伝羽数は鶏群1では混合のウチ4シ接種群936羽、鶏群2は混合およびM10単味のウチ4シ接種群とも2078羽用いた。接種方法は鶏群1は0日齢混合のウチ4シ接種後14日齢にND・IB混合生ウチ4シが接種され、鶏群2は0日齢混合のウチ4シ接種、また対照群にはM10単味のウチ4シが接種された。接種後の観察は120日齢まで行ない、試験は接種後の反応、死亡頭数、体重の変動、M10のウチ4シウイルスの回収およびND HI抗体価について行なった。その成績は表59に示す通りである。接種後の反応の有無についてはウチ4シ接種後3週間毎日観察したか全例反応と示すものはなく、健康であった。接種後の体重は2週齢および4週齢時に各群20羽宛測定した。その結果混合のウチ4シ接種群の2週齢時の平均体重は108~110g、また4週齢時では

226 ~ 231 g であつた。これは対照としたM D 単味のうぐすし種群とほとんど差はなく、個体のばらつきも少なかった。M D のうぐすしイルスの回収は接種後2週齢および4週齢時に各群5 ~ 10羽のヒナの血液より行つたが、全群100%回収された。M D - HI価は接種後2週齢および4週齢時に各群20羽について測定した。対照としたM D 単味のうぐすし種群と比較して、混合のうぐすし種群はHI抗体価は若干高かった。死亡とう汰数については120日齢時までに1ヵ月毎に累計したが、鶏群1は3.9%、また鶏群2の接種群は1.2%、対照群は1.4%で1および2群ともに育成率は良好であつた。なお、死亡とう汰の主な原因は事故、虚弱、及びおかしなニバリスによる腫瘍病変によるものはほとんど認められなかった。

第3節 考察

M D のうぐすしと他種うぐすしとの関係につ

い 2 は可成に 2, 3 報告されてゐる。弱毒 MD
 HV を用いた MD ウグ 4 2 は ND 不活性化ウグ 4
 2 の免疫効果に影響を与えないこと¹⁶⁾, HVT
 を用いた MD ウグ 4 2 は NDV BI 株および鶏痘
 ウグ 4 2 の免疫効果に影響を与えないこと¹⁷⁾
 が報告された。また著者も本章に於いて述
 べたごとく HVT を用いた MD ウグ 4 2 を接種
 した野山例の観察では NDV BI 株生ウグ 4 2 の
 抗体産生に影響を与えない成績を得てゐる。
 また最近には、HVT と NDV La Sota 株および H
 株との混合ウグ 4 2 について検討され、両ウ
 グ 4 2 ライルスは干渉作用がなく、相互の抗
 体産生に及ぼす影響を与えないことが報告さ
 れた^{79, 72)}。しかし、いっぽうでは、培養細胞
 中で HIV は NDV BI 株に干渉して、その増殖を
 あげ、また、鶏体内でも ND 生ウグ 4 2 の
 抗体産生に影響を与えることが述べられた⁷¹⁾
 。また、Kaleta and Bankowski は HVT を接種した CK
 H に NDV Cal-11914 株を接種すると、赤血球吸着
 が陰性になることが試験管の中では干渉が

あつたと述べている⁶⁰⁾。

今回著者は HVT と NDV B₁ 株を用いて, kaleta and Bankowski の術式⁶⁰⁾に準じて試験を行なったが, いずれの接種後日数のものにあっても培養細胞に赤血球が吸着され, HVT と NDV B₁ 株とは干渉しない成績が得られた。次に実験室内および野外応用試験を行なった混合ワクチンの免疫効果は単味の M D あるいは N D ワクチンに比較し, 同等かそれ以上の成績が得られ, HVT および NDV B₁ 株の両には鶏体内で干渉の起こらないことがわかった。また, M D 単味のワクチン接種後, 再接種した N D 生ワクチンの効果に影響と与えることが報告されたが⁷¹⁾, 今回の成績では初回と混合あるいは単味のワクチンのいずれと接種しても N D - HI価および感染防御率はほとんどかわらず, 初回混合ワクチンの接種は, 再接種時の N D 生ワクチンの免疫効果に影響と与えなかった。混合ワクチン接種群では N D 単味のワクチンに比較し N D - HI価の上昇がよかった。これは使用し

にM口ろうがンが凍結型であったため、混合ろうがンには生存細胞が含有され、ろうがン原液と混合する際にM口ろうがンウイルスが細胞内に侵入し、このため移行抗体の影響も若干はかすやうな難くはなっているためである。

混合ろうがン接種後のM口ろうがンウイルスの同居感染は、SPH細胞群の5日目同居感染の1例にのみ証明され、その他の実験例では陰性であった。対照としたND草味ろうがン接種後の同居感染はSPHおよび市販細胞とも0～15日間で20～100%のものに同居感染が成立した。混合および草味ろうがンのこの同居感染率の差は接種部位の違いによるものと推定される。この同居感染率の低いことは、ろうがンと接種した初生細胞を輸送する場合、ろうがンウイルスの散逸し難いことを示すものと考えられる。

次に本混合ろうがンの安全性については、SPH細胞で若干反応を示すものも認められた

が、この发育にはほとんど影響せず、また、これとの反応はND単味のうけしにありても、同程度に出現することから、仮定SPHのNDV B1株に対する感受性がさくともある。また、HVTとNDV B1株を混合することによって病原性がとくに強くなるためこの反応も考えられる。また混合のうけし接種後反応の出現したものの病理組織学的所見を見ると、呼吸器系統の鼻腔、気管および肺に軽度の変状がみられたが、ND単味のうけし接種群と異なり、これはGross⁴⁹⁾が報告しているNDV B1株接種ものの病理変化と同程度のものがあった。いずれにしてもこの混合のうけしは一般に市販されているものでは実験室にありて全く反応を示さず、野外応用試験にありても全例反応陰性で育成率も良好であった。このことから、この混合のうけしのSPHのものは若干出現する接種反応は実際面ではほとんど問題にはならないと考えられる。

第 4 節 小 括

HVT あ り ぬ NDV B1 株 を 用 い て MD・ND 混合 せ る う 4 種 を 作 成 し、その 安 全 性、免 疫 原 性 あ り ぬ 同 属 感 染 性 に つ い て 検 討 し、次 の こ と を 成 績 が 得 ら れ た。

1) HVT あ り ぬ NDV B1 株 の 間 に 相 互 に 干 渉 作 用 は 認 め ら れ ず。

2) 混合 う 4 種 の 接 種 し た 鶏 雛 0 ~ 1 日 齢 に 対 し は 全 く 反 応 は 見 ら れ ず かつ た。また SP 5 日 齢 に 対 し は H の 単 味 う 4 種 と 同 程 度 の 軽 い 反 応 が 見 ら れ た が、発 育 に は 影 響 を 与 え ず かつ た。

3) 鶏 仔 内 で は、両 う 4 種 ら い ル ス 間 に 干 渉 と は 認 め ら れ ず、混合 う 4 種 接 種 で、各 単 味 う 4 種 と 同 程 度 の 免 疫 効 果 が 得 ら れ た。

4) 混合 う 4 種 の 接 種 部 位 に 対 し 免 疫 効 果 と 比 較 し た と こ ろ、腹 腔 内 接 種 が 筋 肉 内 あ り ぬ 皮 下 接 種 より も 著 々 よ い 成 績 を 示 し た。

5) 混合ワクチン接種後 M の ワクチンウイルスを回収したところ、6 日目以降には 86 ~ 100 % 回収でき M の 単味ワクチンと差はなかった。

6) 混合ワクチンの接種は、その後単独接種された M の 全ワクチンの免疫効果に影響を与えなかった。

7) 同底感染試験では市販の H は あ り SPH は 群ともに混合ワクチン接種群では、M の 単味ワクチンと点鼻投与した群より起りにくかった。

8) 混合ワクチンの野外応用試験を行なったところ、反応と認めるものはなく、育成率は 96.1 ~ 98.8 % で良好であった。また M の ワクチンウイルスは 100 % 回収でき、ND - HI 抗体を上昇させていた。

第四章 総 括

著者は野外のMD発病鶏からMDHVおよび健康なセ面鳥からHVTを分離し、その性状を詳細に検討し、さらにMDHVの疫学検討を行うとともにMDワクチンの開発を目的にHVTを用いた凍結および乾燥ワクチンを作成し、その効果を検討した。さらに省力化を目的に混合生ワクチンの実験室内および野外応用試験を実施して見た。これより得られた成績は以下の通り総括できる。

1) 臨床上にMDと診断された鶏よりMDHVの分離と検討したところ9例中7例よりライルスが分離できた。分離ライルスは、細胞随伴性が強く、鶏、アヒルおよびセ面鳥の初代培養細胞に病原性を示し、発光性の強いCPEを現わした。また感染細胞は癒合して多核巨細胞となり、核内にはA型の封入体が認められた。しかし哺乳動物の初代および継代細胞で

はウイルスは増殖しなかった。またウイルスは発育鶏卵の尿膜上に増殖しポックと作るが、ILDR添加により増殖は阻害された。電顕により形態学的な追求を行なったところヘルペス型のウイルス粒子が認められた。また分離ウイルスは鶏、モルモット、マウス、牛、馬血球を凝集しなかった。ウイルスを接種すると鶏は発病し、剖検すると腫瘍性の病変が出現し、その部位は神経より内臓に多い傾向を認めた。以上の成績から分離ウイルスはMD ALVと一致し、HVと同定された。

2) 牛の肉斑降反症により抗体調査を行なったところ1964年収集血清にも抗体陽性例と認め、MBHVは当時よりすでに九州地区には広く浸透していたことが明らかになった。また抗体陽性率は系統および日齢により差が認められた。MBHVの移行抗体は12日齢まで認められたが、15日齢以上では陰性とした。ウイルス感染後の能動抗体は早いものでは30日齢、また遅いものでは100日齢より認められた。

その他七面鳥, アヒル, 鶏, 牛, 犬および人の血清は MDHV に対する抗体を保有していることがわかった。

3) 分化後日齢全にライルス分離試験を行なったところ, 浮梁環境下では 9 日齢のヒナから, 消毒の行なわれた環境下では 28 ~ 33 日齢時からはライルスは検出された。

4) 七面鳥の血液, 腎および心臓からライルス分離を行なったところ, 熊本県収集 37 例は全例陰性であったが, 山口県収集の 43 例中 39 例の血液からはライルスが分離できた。分離ライルスは CEF および DEF に感作性の強い CPE を現わし, 感染細胞は多核巨細胞となり, また核内には A 型核内封入体を形成した。またライルスは細胞結合性が強く, 発育鶏卵中で増殖が認められた。鶏, モルモット, 豚, 牛および馬の血球にライルスは凝集しなかった。分離ライルスは実験用小動物に対して病原性を示さず, また哺乳動物の初代および継代細胞では増殖しないが, 鶏, アヒル, 犬

よびヒゲ鳥の初代細胞では増殖した。しかし培養液中に IUDR を添加するとライルスは増殖しなかった。これに対して分離ライルスは病原性を示す抗体を上昇させた。以上の成績から分離ライルスは HVT と同定された。

5) HVT を用いた MD 凍結生ワクチンを作成し産卵鶏を用い野外応用試験を行った。その結果、接種群の死亡頭数および MD 発生数は対照群と比較すると 48.1% ~ 84% 減少し、統計学的に有意差と認められた。死亡頭数の主なものは虚弱、事故、カンニバリズム、發育不良、MD、白血症、CRD などであった。虚弱、事故および卵巣異常を除いた死亡頭数原因はワクチン接種群では対照群より少なかった。ワクチンライルスは 180 日内 96.4 ~ 100% 回収され、また伝播力はあるが同属感染と認められた。鶏にワクチンを接種すると野外 MDHV の感染と阻止できず、鶏体では重感染が成立した。MDHV 血清内現存抗体陽性率、I B ライルス中和抗体価、MG 凝集抗体陽性率

あまた N D - H I 価は接種群と対照群との間に
差を認めず、また体重の増加率あまた産卵率
にみいても差を認めなかった。

6) HVT 凍結生ワクチンの 1,000 PFU を 1 ド
ーズとして 1, 1/2, 1/4 羽量を固甲鶏に接種し
ワクチン効果の試験を行った。この結果、
死亡と感染数では接種各群で差を認められ
たが、腫瘍発生数は対照群に比較し接種群で
は 88.7% 減少した。接種群の平均体重は対照群
に比較し軽微で、また平均体重が 5 の体
重のばらつきも少なかった。ワクチンライル
スは 17 日齢時から回収され、またゲル内現降
抗体も 33 日齢から陽性となった。飼料要求率
は接種群で対照群よりも 0.09 少しく、経済計算
をみると 1 羽当り 14.38 円の増収があった。

7) HVT 分離株 (YT-7 株) は DEH あまた CE
H で 52 代継代することにより細胞フリーライ
ルスの産生が増加した。この継代ウイルスを
用いて凍結乾燥生ワクチンを作成し、これに
接種したところ安全で、しかも免疫力が十分

残っていた。またこのライルス株では同属感染は成立しなかった。ウーゲンライルスの回収試験を行なったところ、 $10^{1.0}$ PFU/羽接種ではあいともライルスの回収はできた。しかし大量 ($10^{2.0} \sim 10^{5.0}$ PFU/羽) 接種の場合に比較し、その回収率は低かった。また移行抗体は少量のライルスと接種した場合感染に影響を与えた。次に野外応用試験を行なったところ MID 発生数は接種群では対照群に比較し 69.7% 減少し、統計学的に有意差が認められた。ウーゲンライルスは 150 日間 79 ~ 90% のものが回収され、また、5 群中 1 群に同属感染した例があった。ゲル内現降抗体は 121 ~ 150 日齢時に 72% の陽性率を示した。ウーゲン接種鶏は野外 MDHV の感染を阻止せしめ感染が成立していった。

8) HVT および NDV B1 株は試験管内および鶏体内でも相互に干渉は起^こさず、混合ウーゲン接種で、各単味ウーゲン接種と同程度の免疫効果が得られた。接種部位は腹腔内がよく

, M D の う り 4 ン ら イ ル ス は 接 種 後 6 日 目 で 86
 ~ 100 % 回 収 さ れ , M D 単 味 の う り 4 ン と 比 較 し
 差 を 認 め り か っ た 。 ま た 混 合 の う り 4 ン 接 種 に
 よ り , そ の 後 同 接 種 し た N D 生 の う り 4 ン の
 免 疫 効 果 は 影 響 さ れ ない 傾 向 と 示 し た 。 N D
 生 の う り 4 ン ら イ ル ス の 同 居 感 染 試 験 は 市 販 あ
 り の SPH 試 材 と も に N D 単 味 の う り 4 ン よ り 混
 合 の う り 4 ン で 起 こ り に く か っ た 。 市 販 あ り の
 SPH 試 材 と 用 い て 安 全 試 験 を 行 な っ た と こ ろ
 , 市 販 試 材 だ け は 全 例 接 種 反 応 は 陰 性 だ っ た
 が , SPH 試 材 だ け は N D 単 味 の う り 4 ン と 同 程 度
 の 軽 い 反 応 が み ら れ た 。 し か し 反 応 と 示 し た
 試 材 に あ り ても 発 育 程 度 は 影 響 さ れ ない だ っ た
 。 次 に こ の う り 4 ン の 野 外 試 験 を 行 な っ た と
 こ ろ , 接 種 反 応 と 認 め た 試 材 は 少 く , 120 日 齢
 ま で の 育 成 率 は 96.1 ~ 98.8 % と 良 好 だ っ た 。 ま
 た こ れ で 接 種 試 材 か ら M D の う り 4 ン ら イ ル ス
 は 100 % の も の か ら 回 収 さ れ , N D - HI 抗 体 も
 上 昇 し て い た 。

謝 辞

本論文の作成に終始御指導と賜、大阪府歌
臣科大学今井信実教授、本研究に御協力御
援助といたただいた山田進二博士、内布洋一
博士、その他化血研取臣に深謝し可。

参 考 文 献

- 1) 合田光昭, 木村孝二, 高橋和男, 中嶋清, 吉村昌吾, 秋江昭治, 広瀬正裕, 松倉文明, 肥田正志, 藤不正之. 日獣学誌, 33 (学会号), 275, 1971.
- 2) Bankowski, R. A., Moulton, J. E., and Mikami, T. Am. J. Vet. Res., 30, 1667, 1969.
- 3) Baxendale, W. Vet. Rec., 85, 341, 1969.
- 4) Bedigian, H. and Sevoian, M., J. Natl. Cancer. Inst., 50, 129, 1973.
- 5) Bedigian, H. and Sevoian, M. Avian Dis., 17, , 1973.
- 6) Benton, W. J. and Cover, M. S. Avian Dis., 1, 320, 1957.
- 7) Benton, W. J., Cover, M. S., and Krauss, W. C. Avian Dis., 6, 430, 1962.
- 8) Biggs, P. M., Churchill, A. E., Roques, D. G., and Chubb, R. C. Perspectives in Virology., 6, 211, 1968.
- 9) Biggs, P. M., and Milne, B. S. IARC scientific publication No 2 Lyon France. 88
- 10) Biggs, P. M. and Payne, L. N. Vet. Rec., 75, 177, 1963

- 11) Biggs, P.M. and Payne, L.N. Res. Vet. Sci., 8, 440, 1969.
- 12) Biggs, P.M., Payne, L.N., Milne, B.S., Churchill, A.E. Vet. Rec., 87, 704, 1970.
- 13) Biggs, P.M., Powell, D.G., Churchill, A.E. and Chubb, R.C. Avian pathology, 1. 1972.
- 14) Biggs, P.M., Thorpe, R.J., and Payne, L.N. Brit. Poultry Sci., 9, 37 1968.
- 15) Blaxland, J.D., Macleod, A.J., Baxendale, W. and Hall, T. Vet. Rec., 90, 341, 1972.
- 16) Box, P.G., Furminger, G.S. and Warden, D. Vet. Rec., 89, 425, 1971.
- 17) Brewer, R.N., Reid, W.M., Johnson, J. and Schmittle, S.C. Avian Dis., 13, 83, 1969.
- 18) Burmester, B.R. and Witter, R.L. Appl. Microbiol., 23, 505, 1972.
- 19) Calnek, B.W., Addinger, H.K. and Kahn, D.E. Avian Dis., 13, 219, 1969.
- 20) Calnek, B.W. and Hitchner, S.B. J. Nat. Cancer Inst., 43, 935, 1969.
- 21) Calnek, B.W., Hitchner, S.B. and Addinger, H.K. App. Microbiol., 20, 727, 1970.
- 22) Calnek, B.W., Madin, S.H. and Kniagett, A.J. Am. J. Vet. Res., 30, 1403, 1969.

- 23) Calnek, B. W. and Smith, M. W. *Avian Dis.*, 16, 954, 1972.
- 24) Calnek, B. W., Ubertini, T. and Adldinger, H. K. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 45, 341, 1970.
- 25) Chubb, R. C. and Churchill, A. E. *Vet. Rec.*, 83, 4, 1968.
- 26) Chubb, R. C. and Churchill, A. E. *Vet. Rec.*, 85, 303, 1969.
- 27) Churchill, A. E., Baxendale, W. and Carrington, *Vet. Rec.*, 92, 327, 1973.
- 28) Churchill, A. E. and Biggs, P. M. *Nature.*, 215, 528, 1967.
- 29) Churchill, A. E., Chubb, R. C. and Baxendale, W. *Journal of general Virology.*, 4, 557, 1969.
- 30) Churchill, A. E., Payne, L. N. and Chubb, R. C. *Nature.*, 221, 744, 1969.
- 31) Cole, R. K. *Avian Dis.*, 12, 9, 1968.
- 32) Colmano, G. and Cross, W. B. *Poult. Sci.*, 50, 850, 1971.
- 33) Cowell, W. M. and Shmittle, S. C. *Avian Dis.*, 12, 724, 1968.
- 34) Crittenden, L. B. *World's Poultry Science Journal.*, 24, 18, 1968.
- 35) Drury, L. N., Patterson, W. C. and Beard, C. W. *Poult. Sci.*, 48, 1640, 1969.
- 36) Dunlop, W. R., Kottaridis, S. D., Gallagher, J. R., Smith, S. C. and Strout, R. G. *Poult. Sci.*, 32, 585, 1965.

- 37) Eidson, C.S. and Anderson, D.P. AVian Dis., 13, 636, 1969.
- 38) Eidson, C.S. and Anderson, D.P. AVian Dis., 15, 68, 1971.
- 39) Eidson, C.S. and Anderson, D.P. poult. Sci., 50, 1837, 1971.
- 40) Eidson, C.S., Anderson, D.P. and King, D.O. AVian Dis., 16, 57,
1973.
- 41) Eidson, C.S., Anderson, D.P., Kever, S.H. and Brown, J.
AVian Dis., 15, 312, 1971.
- 42) Eidson, C.S. and Schmittle, S.C. AVian Dis., 12, 467, 1968.
- 43) Eidson, C.S. and Schmittle, S.C. AVian Dis., 12, 549, 1968.
- 44) Eidson, C.S. and Schmittle, S.C. J. Amer. Vet. Med. Assoc.,
152, 1351, 1968.
- 45) Eidson, C.S. and Schmittle, S.C. AVian Dis., 13, 744, 1969.
- 46) Eidson, C.S., Washburn, K.W. and Schmittle, S.C. poult.
Sci., 47, 1646, 1968.
- 47) 江本修, 宮本一雄. 日獣学誌., 9, 308,
1930.
- 48) Goon, H.C., Sheppard, C.C. and Purchase, H.G. poult. Sci.,
51, 211, 1972.
- 49) Gross, W.B. AVian Dis., 7, 417, 1963.
- 50) Han, P., Smyth, T.K., Sevoian, M. and Dickinson, F.H.

poult. sci., 48, 26, 1969.

51) 原田芳明, 藤坂恭一, 余川崇子, 菊地忠天, 田村茂明, 根岸文佐, 屋部憲清, 木内明寿, 桶屋雅弘, 関口正保. 日獣学誌 34 (学会号), 281, 1972.

52) Hutt, F.B. and Cole, R.K. Science, 106, 339, 1947.

53) Iancu, M. and Samberg, Y. Avian Dis., 15, 177, 1971.

54) 稻見芽治, 小島明広, 佐久内貞重, 八十島昭, 土井邦雄, 仁田修治, 岡庭梓. 34, (学会号), 280, 1972.

55) 稻見芽治, 小島明広, 土井邦雄, 八十島昭, 佐久内貞重, 岡庭梓, 高久慶典, 高辻壮男, 吉田巖, 加藤四郎. 日獣学誌, 34 (学会号), 280, 1972.

56) Izawa, H. J. Vet. Med., 18, 219, 1971

57) 伊沢久天, 長环俊彦, 瑞川正天, 斎藤保二. 日獣学誌 34 (学会号), 51, 1971

58) 伊沢久天, 長环俊彦, 森口良三, 瑞川正天, 原田良昭, 金子史郎, 山本明. 日獣学誌, 34 (学会号) 91, 1972.

- 59) Jungheer, E., Doyle, P. and Johnson, E.P. Amer. J. Vet. Res., 2, 116, 1941.
- 60) Kaleta, E.F. and Bankowski, R.A. J. nat. Cancer Inst., 48, 1303, 1972.
- 61) 加藤宏光, 吉本昌俊, 永井文則, 井上哲夫, 石川豊敏, 小野耕一, 高久慶典, 加藤四郎。日獣学誌, 34 (学会号), 98, 1972.
- 62) 加藤四郎, 小野耕一, 新居志郎, 土居俊之, 岩信造, 小野田哲夫, 高辻壮男, 森陽一, 太田新作, 小馬栄猛, 上田昭夫, 小島裕, 永井明男。日獣学誌, 32 (学会号), 20, 1970
- 63) Kato, S., Ono, K., Naito, M., Doi, S., Iwa, S., Mori, Y. and Onoda, T. Biken Journal, 13, 93, 1970.
- 64) 加藤四郎, 内藤又夫, 小野耕一, 土居俊之, 宮本博行, 田辺鍾雄, 太田新作, 小馬栄猛, 上田昭夫。日獣学誌, 32 (学会号), 21, 1970.
- 65) 加藤四郎, 鶏岡会報, 8, 44, 1972.
- 66) 金子次郎, 小杯銅可, 上富義弘, 小島

栄猛, 岸田 瑞通天, 石川 豊数, 土居 俊之, 長
船 匡幸, 吉田 巖, 高延 壮男, 高久 茂典, 加藤
四郎。日獣学誌, 34 (学会号) 96, 1972.

67) Kawata, H. D., King, J. and Anderson, D. P. AVian Dis.,
13, 853, 1969.

68) Kenzy, S. G., and Cho, B. R., J. Amer. Vet. Med. Assoc.,
152, 1354, 1968.

69) Kenzy, S. G. and Cho, B. R. AVian Dis., 13, 211, 1969.

70) Kilgore, R. L. AVian Dis 16, 72, 1972.

71) 北島 千里, 東原 万郎, 大眉 博, 多田 紀
文, 日獣学誌, 34 (学会号), 281, 1972.

72) Koh, J. G. W. and Iswaran, S. J. Vet. Bull., 44, 157, 1974.

73) Kottaridis, S. D., Luginbuhl, R. E. and Fredrickson, T. N.,
AVian Dis., 12, 246, 1968.

74) Kottaridis, S. D., and Luginbuhl, R. E. Nature., 221, 1258, 1969.

75) Luft, J. H. Anat. Rec., 133, 305 1959.

76) 森 泰良, 岡 義昌, 榎本 千可志, 牙 15 (日
日獣学会口頭).

77) Morris, J. R., Ferguson, A. E. and Jerome, F. N. Can.
J. Anim. Sci., 50, 69, 1970.

78) Mueleman, G., Halem, P., Schyns, P. and Bruymooghe, D.,
Vet. Sec., 89, 325, 1971.

79) Mueleman, G., Vinderogel, H., halem and, P. and schyns, P.,
Avian path., 3, 37, 1974.

80) 内藤又天, 小野耕一, 田辺鎮雄, 岩信
造, 土居俊之, 山田彪史, 加藤四郎. 日数学
誌, 33 (学会号), 51, 1971

81) 中井正久, 平松計久, 佐々木文彦. 日
数学誌, 33 (学会号), 48, 1971.

82) Nazarian, K., Solomon, J.I., Witter, R.L. and Burmester,
B.R. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1968.

83) Nazarian, K., J. Nat. Cancer. Inst., 44, 1257, 1970.

84) Nazarian, K., Witter, R.L. and Solomon, J.I. Poult. Conf.,
3, 1968.

85) Nazarian, K. and Witter, R.L. J. Virology., 53, 88, 1968.

86) 野村吉利, 大滝幸三郎, 福所金松, 田
島正典, 中村稔治. 日数学誌, 33 (学会号)
49, 1971.

87) 野村吉利, 平井敏, 大滝幸三郎, 川島
裕子, 福所金松. 日数学誌, 34 (学会号),

96, 1972.

88) 野村吉利, 田金研正, 18, 18, 1972.

89) Okazaki, W., Purchase, H.G. and Burmester, B.K. Avian Dis., 14, 413, 1969.

90) 小野耕一, 田辺鎮雄, 内藤又天, 土居俊之, 加藤四郎, 森陽一. 日獣学誌, 33 (学会号), 50, 1971.

91) 小島明広, 稲見若治, 川合是彰, 八十島昭, 土井邦雄, 仁田修治, 佐久間直重, 岡庭稔. 日獣学会, 34 (学会号), 93, 1972.

92) Pappenheimer, A.M., Dunn, L.C. and Cone, V. Storrs Agricultural Experiment Station Bulletin, 143, 187, 1926.

93) Patrascu, J.U., Calnek, B.W. and Smith, M.W. Avian Dis 16, 86, 1972.

94) Purchase, H.G. J. Virology, 3, 557, 1969.

95) Purchase, H.G. Cancer Res., 30, 1898, 1970.

96) Purchase, H.G. and Biggs, P.M. J. Nat. Cancer. Inst., 39, 281, 1967.

97) Purchase, H.G. and Biggs, P.M. Res. Vet. Sci., 8, 440, 1967.

98) Purchase, H.G. and Biggs, P.M. J. Nat. Cancer. Inst., 40, 583, 1968.

- 99) Purchase, H.G., Okazaki, W. and Burmester, B.R. *poult. sci.*, 50, 775, 1971.
- 100) Purchase, H.G., Okazaki, W. and Burmester, B.R. *Vet. Rec.*, 91, 99, 1972.
- 101) Purchase, H.G., Okazaki, W. and Burmester, B.R. *Avian Dis.*, 16, 57, 1972.
- 102) Rispens, B.H., Vanuloten, J. and Mass, H.L. *Brit. Vet. J.*, 125, 445, 1969.
- 103) Rispens, B.H., Vanuloten, H., mastenbroeck, N. and Mass, H.J. *Avian Dis.*, 16, 108, 1972.
- 104) Rispens, B.H., Vanuloten, H., mastenbroeck, N., Maas, H.J. and Schat, K.A. *Avian Dis.*, 16, 126, 1972.
- 105) Rubin, H., *Virology*, 10, 29, 1960
- 106) 西条加澄江, 今野伸也, 小幡不二雄, 佐川輝男, 藤川昂治。日獣学誌, 34 (学会号), 97, 1972.
- 107) 佐藤隆, 藤井弘, 長井臣幸, 鶏病研究会報, 10, 31, 1974.
- 108) 関令二, 吉田賢治, 梶並芽弘, 酒井弘幸, 原田三七夫。日獣学誌, 33 (学会号),

53, 1971.

109) Sevoian, M., *poult. sci.*, 47, 628, 1968.

110) Sevoian, M., *poult. sci.*, 47, 1644, 1968.

111) Sevoian, M., chamberlain, D.M. and Counter, F. *Vet. Med.*, 57, 500, 1962.

112) Solomon, J.J., Witter, R.L., Nazerian, K. and Burmester, B.K. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 127, 173, 1968.

113) Solomon, J.J., Witter, R.L., Stone, H.A. and champion, L.R. *Avian Dis.*, 14, 552, 1970.

114) Spencer, J.L. and Robertson, A. *J. Vet. Res.*, 33, 393, 1972.

115) 杉野繁, 今田光春, 堀本善明. 牙 179 回
日獣学会口演, 86, 1975.

116) 高延壮男, 吉田蔵, 明石正明, 田五国
明, 小野耕一, 高木光生, 高久慶典, 国田信
治, 加藤四郎. 日獣学誌, 34, (学会号), 98
, 1972,

117) 田島正典, 木谷貞三, 板橋正文. 日獣
学誌, 33 (学会号), 52, 1971.

118) 鳥海徹, 小野耕一, 高延壮男, 高久慶
一, 加藤四郎, 太田外之, 長谷川修. 日獣学

誌, 33 (学会号), 235, 1971.

119) 湯浅襄, 川町寿, 橋原彦吉, 堀内貞治, 伊藤. 家畜衛生研究報告, 59, 9, 1970.

120) 湯浅襄, 川町寿, 橋原彦吉. 日獣学誌, 32, (学会号), 124, 1970.

121) Witter, R.L., and Burmester, B.R. *proc. Soc., Experi, Biolo. Med.*, 124, 59, 1967.

122) Witter, R.L., Burgoyne, G.H. and Solomon, J.J. *AVIAN DIS.*, 12, 169, 1968.

123) Witter, R.L., Burgoyne, G.H. and Burmester, B.R. *AVIAN DIS.*, 12, 522, 1968.

124) Witter, R.L., Burgoyne, G.H. and Solomon, J.J. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 152, 1350, 1968.

125) Witter, R.L., Burgoyne, G.H. and Solomon, J.J. *AVIAN DIS.*, 13, 171, 1969.

126) Witter, R.L., Moulthrop, J.I., Burgoyne, G.H. and Connell, H.C. *AVIAN DIS.*, 14, 255, 1970.

127) Witter, R.L., Nazarian, K., Purchase, H.G. and Burgoyne, G.H. *Am. J. Vet. Res.*, 31, 525, 1970.

128) Witter, R.L. and Sharma, J.M. 70回日本獣医学会

22"2 会議資料, 鶏病研会報, 12, 3, 1976.

129) Witter, R.L., Solomon, J.J., champion, L.R. and Nazerian, K. AVIAN Dis 15, 346, 1971.

130) Witter, R.L., world.poultry.sci., J., 26, 755, 1970.

131) 吉田 勲, 石野 清之, 松田 一男, 湯浅 襄, 橋原 彦吉. 日獣会誌, 33 (学会号), 52, 1971.

132) 吉田 勲, 湯浅 襄, 橋原 彦吉, 石野 清之, 松田 一男, 堀内 貞治. 日獣会誌, 34 (学会号), 282, 1972.

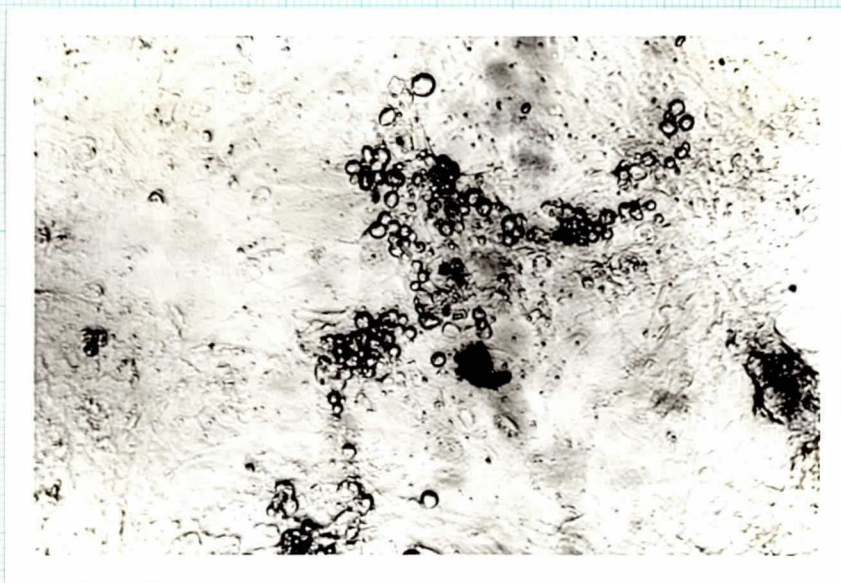
133) 吉田 勲, 湯浅 襄, 橋原 彦吉, 堀内 貞治, 第75回日獣学会口演, 1973.

134) Zander, D.V., Hill, R.W., Raymond, R.G., Balch, R.K., Mitchell, R.W. and Dunsing, J.W. AVIAN Dis., 16, 163, 1972.

135) Zygraich, N. and Hugelen, C. AVIAN Dis., 16, 293, 1972.

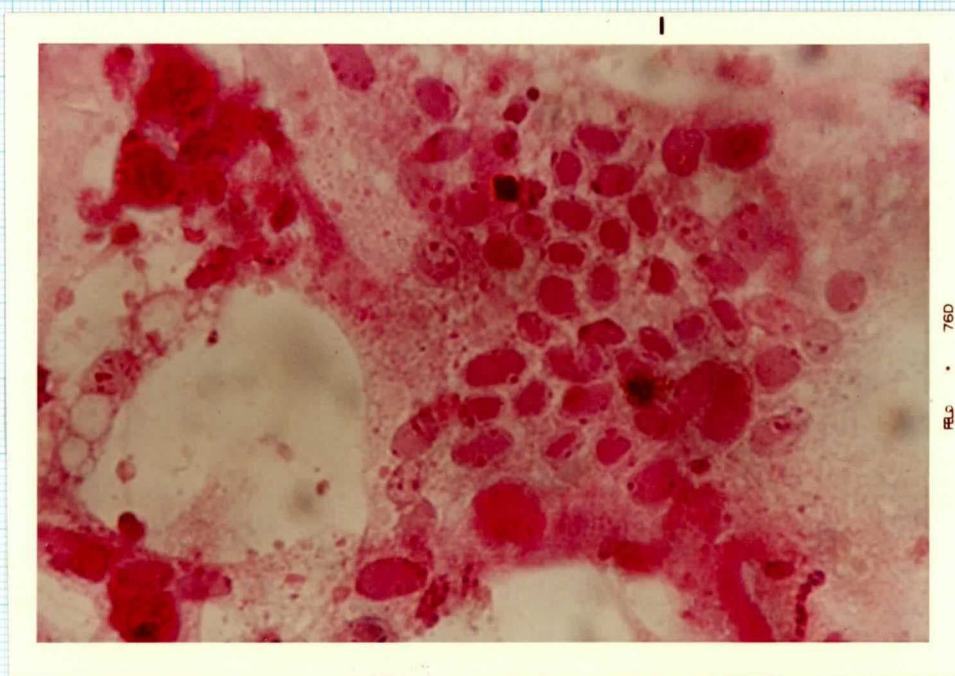
136) Zygraich, N. and Hugelen, C. Vet. Rec., 90, 281, 1972.

写真 1



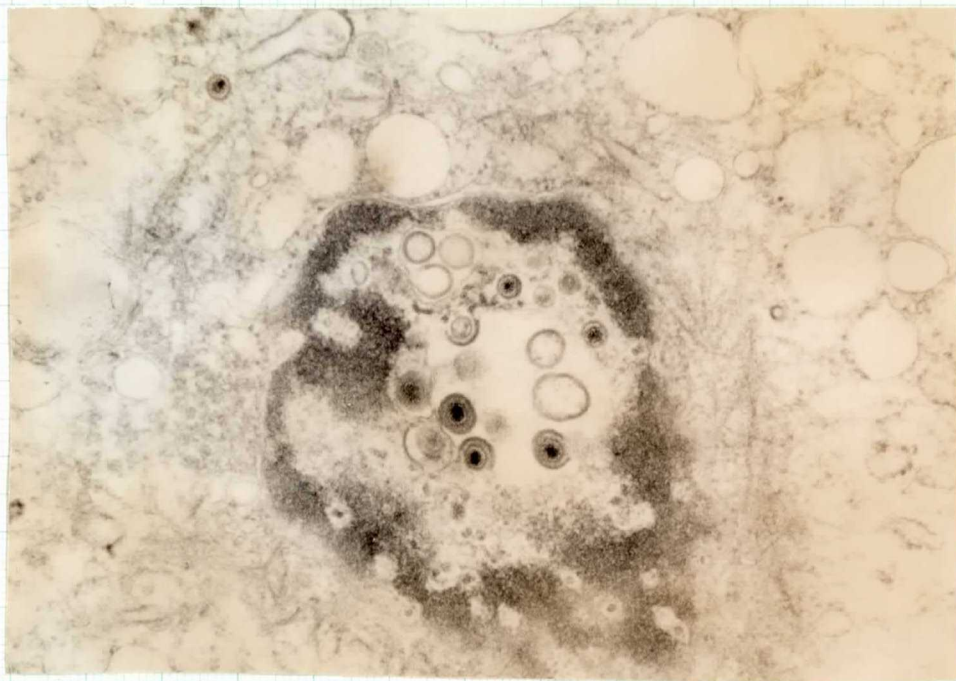
SD-3株 感染 CEK の CPE

写真 2



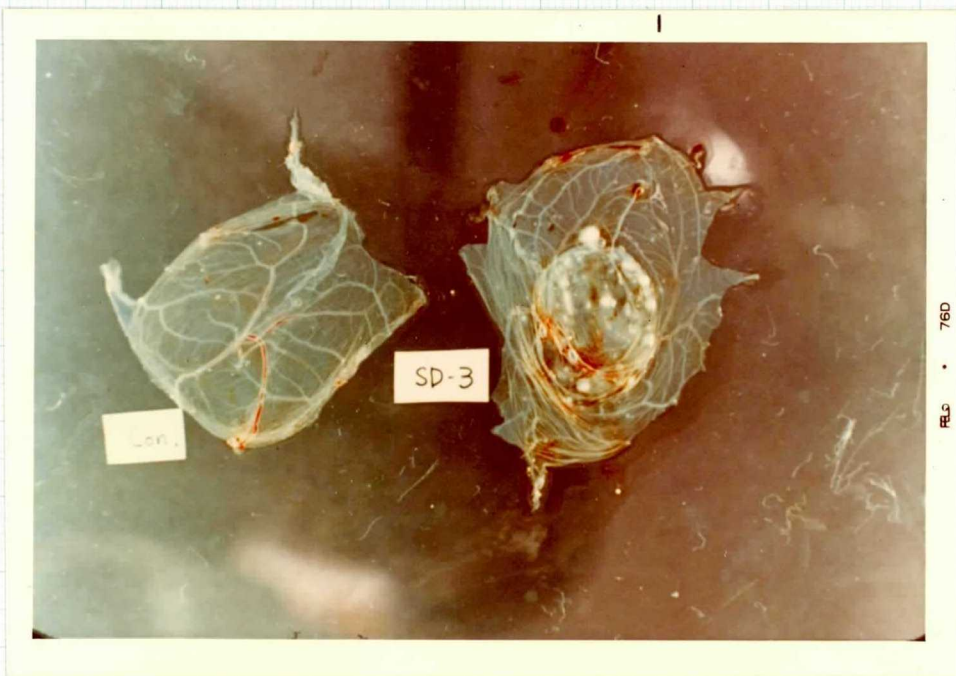
SD-3株 感染 DEF の 多核巨細胞および核内封入体 H.E. $\times 1500$

写真 3



SD-3株感染DEFの電顕写真 X25000, 核内に大きな空胞が形成されその腔胞内に Nuclear Membrane type の Enveloped particle (150~180nm) が認められ、核傍部には 数個の Naked particle がみえる。

写真 4



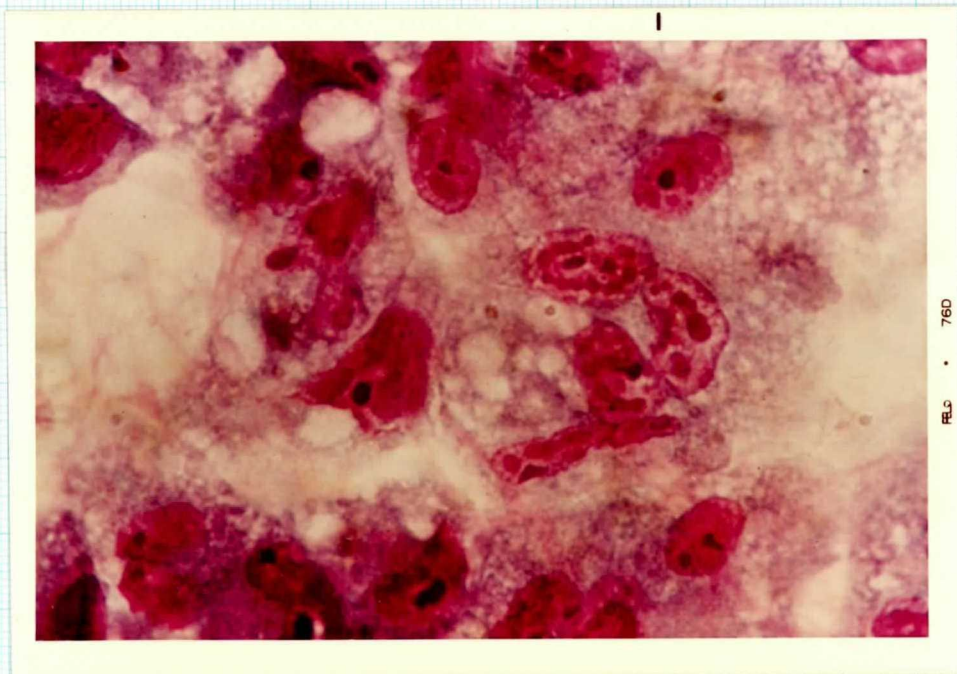
SD-3株感染発育鶏卵の漿尿膜上のポック
左: 正常 右: SD-3 感染漿尿膜

写真 5



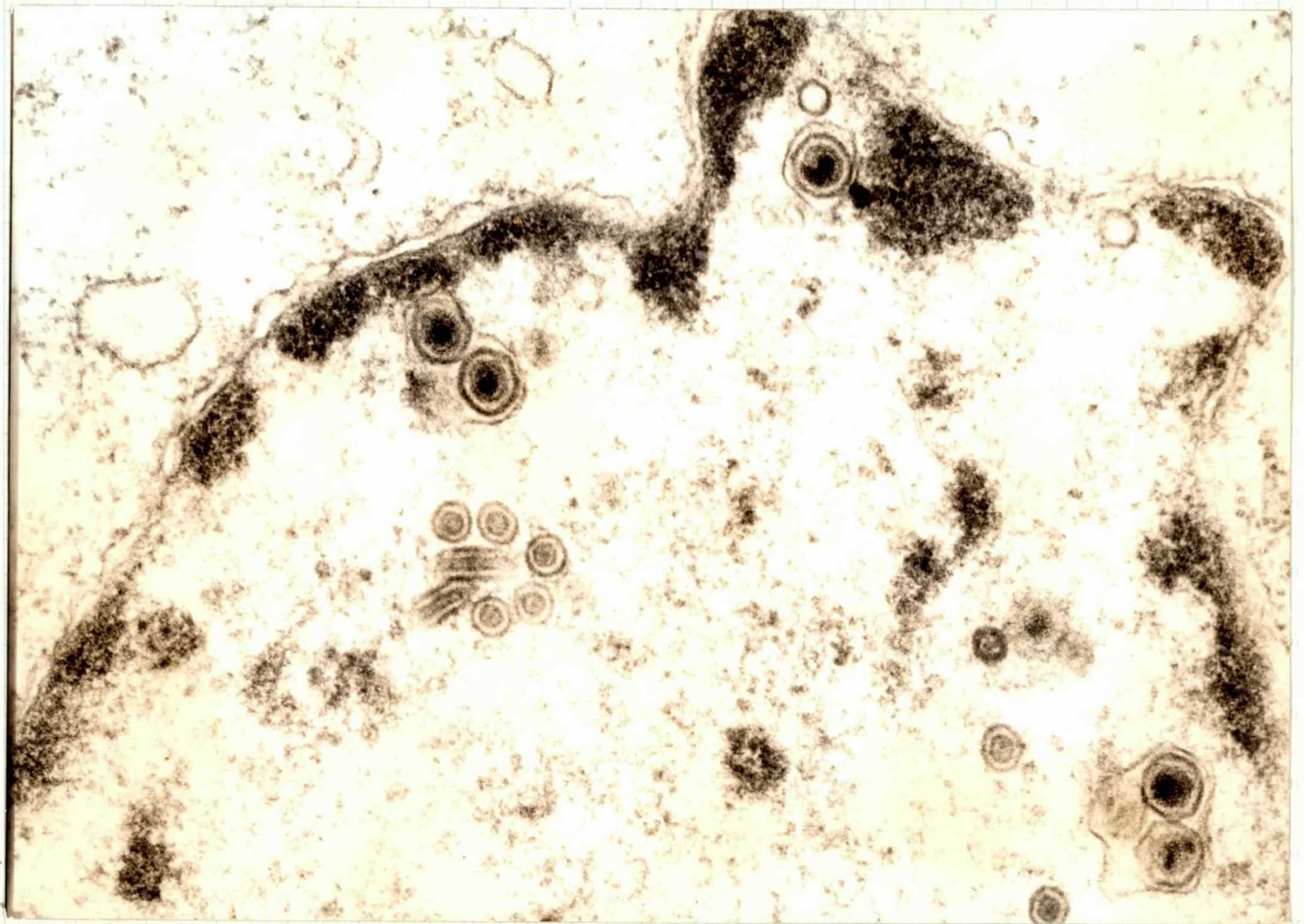
YF-7 株 感染 DEH の CPE X200

写真 6



YF-7 株 感染 DEH の 多核巨細胞および核内封入体, H.E X 3000

写真 7



YT-7株感染DEFの電顕写真, $\times 50000$

核内に小空胞を形成しその中に Nuclear Membrane type の Enveloped particle (150~180nm) が認められ、その周辺には数個の Naked particle がみられる。

写真8



YT-7株 感染発育鶏卵の漿尿膜

左： 正常 右： YT-7株 感染漿尿膜

表 1 MDHV の 分離

| 供試鶏 番 号 | 1) 病 変 | | 2) ウイルスの分離 | 3) 白 血 病 | |
|------------|--------|-------|------------|---------------|----|
| | 症状の有無 | 肉眼 組織 | HT MbHV | RIF | 中和 |
| 1 | + | + | + | ++ (<10) | — |
| 2 | + | — | — | — | — |
| 3 | + | + | + | (SD-3) + (40) | — |
| 4 | + | + | — | — + (40) | — |
| 5 | + | + | + | — + (<10) | — |
| 6 | + | + | + | ++ (20) | — |
| 7 | + | — | — | NT | — |
| 8 | + | + | + | ++ (10) | — |
| 9 | + | + | + | — + (10) | — |

1) 食欲廃絶, 起立不能, 乳白色下痢便, さくそうなどを示す

2) 腎の直接培養およびDEFHに接種

供試鶏日令: 120日 とう汰鶏

3) ゲル内沈降反応

4) RSV (RAV-1)

5) RSV (RAV-2)

表 2 ウイルス分離鶏の剖検および組織学的所見

| 鶏番号 | | 病 変 部 位 | | | | | | | | |
|--------|---|---------|---|---|---|---|----|----|----|--------------|
| | | 肝 | 脾 | 腎 | 心 | 肺 | 卵巣 | 小腸 | 腺胃 | 神経 |
| 剖検所見 | 1 | ± | — | + | — | 卅 | — | — | — | — |
| | 3 | 卅 | 卅 | 卅 | 卅 | + | — | — | ± | — |
| | 5 | ± | 卅 | ± | ± | — | — | — | ± | ± |
| | 6 | — | 卅 | — | — | — | — | — | — | — |
| | 8 | — | + | — | — | — | — | — | — | — |
| | 9 | 卅 | 卅 | 卅 | — | — | — | — | — | — |
| 組織学的所見 | 1 | + | + | + | + | 卅 | 卅 | | | |
| | 3 | 卅 | 卅 | 卅 | + | 卅 | 卅 | + | + | { Fのう 脾大腸 |
| | 5 | + | + | + | — | — | 卅 | 卅 | 卅 | |
| | 6 | — | — | — | — | — | 卅 | — | + | 卅 |
| | 8 | 卅 | + | + | + | | | | + | + |
| | 9 | 卅 | + | 卅 | — | 卅 | 卅 | | 卅 | |

— ~ 卅: 病変の強さを現わす

空欄: 観察していない

表3 MDHV分離株の性状
理化学的性状

| 性 状 | 条 件 | 成 績 |
|-----------------|-------------------------------------|-----|
| 封入体出現 | CEK・HE染色 | + |
| 巨細胞出現 | " | + |
| 細胞結合性 | 凍結融解(3回) | — |
| | 培養遠沈上清 (1500rpm. 10分) | — |
| | 濾過 (ミリポアフィル9-200 m μ) | — |
| | 凍結保存 (DMSD 10% 添加) ¹⁾ | + |
| 核酸の種類 | IUDR 添加 ²⁾ (50r/ml) | — |
| | 無 添 加 | + |
| 発育鶏卵に 対する病原性 | 尿腔内(10日令7日間) | — |
| | 漿尿膜上(11日令8日間) | + |
| | 卵黄のう内(5日令13日間) | — |
| 血球凝集性 | 鶏 (4. 37°C) | — |
| | モルモット(") | — |
| | 兔 (") | — |
| | 牛 (") | — |
| | 馬 (") | — |

1) Dimethylsulfoxide

2) 5-Iodo-2'-Deoxyuridine

使用ウイルスはCEKで16代継代したもの、

表 4 IUDR 添加によるウイルス増殖の阻害

| ウイルスの希釈 | IUDR | |
|-----------|------------------|------------------|
| | 添加 ¹⁾ | 不添加 |
| 10^{-1} | 0.0.0 | NC ²⁾ |
| 10^{-2} | 0.0.0 | 60.69.85 |
| 10^{-3} | 0.0.0 | 14.17.19 |
| 10^{-4} | 0.0.0 | 0.0.0 |

供試ウイルス : SD-3

- 1) IUDR (5-Iodo-2'-Deoxyuridine) 50 γ /ml 添加
- 2) 計算できなかった

表5 MDHV分離株の性状
培養細胞に対する病原性

| | | 継代数 | | | |
|--------|-----------------------------------|-----|---|---|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | CEK... |
| 初代培養細胞 | 鶏 { 胎児の線維芽 肝 脾 腎 臓 尿 膜 腎 | + | + | + | |
| | アヒル胎児線維芽 | + | + | + | |
| | 七面鳥腎 | + | + | + | |
| | 兎腎 | — | — | — | — |
| | モルモット腎 | — | — | — | — |
| | マウス胎児線維芽・腎 | — | — | — | — |
| | 豚腎 | — | — | — | — |
| | 牛腎・睪丸 | — | — | — | — |
| 継代培養細胞 | GM C (猿腎) | — | — | — | — |
| | PK-1 (豚腎) | — | — | — | — |
| | PS-1 (豚腎) | — | — | — | — |
| | Hm Lu (ハムスター肺) | — | — | — | — |
| | BHK-21 (ハムスター腎) | — | — | — | — |
| | FL-1 (人羊膜) | — | — | — | — |

継代3代後CPEの有無を判定。陰性はさらにCEKに接種し判定。

種ウイルスはCEK2代継代したものをを用いた。

表6 鶏鳥に対する病原性

1 日令ひな接種試験¹⁾

| 接種後 日数 | 接種 有無 | 供試数 | 症状 ³⁾ 出現数 | 病変 肉眼 組織 | ウイルスの回収 ⁴⁾ (%) | 抗体の出現 ⁵⁾ (%) | |
|-----------|------------------|-----|-------------------------|-------------|------------------------------|----------------------------|----------|
| 20 | 接種 | 7 | 1 | 1 | 5 | 7/7 (100) | 0/7 (0) |
| 44 | 接種 | 6 | 0 | 1 | 5 | 6/6 (100) | 2/6 (33) |
| | 接触 ²⁾ | 6 | 0 | 2 | 3 | 6/6 (100) | 1/6 (17) |
| 70 | 接種 | 8 | 1 | 4 | 8 | 8/8 (100) | 4/8 (50) |
| | 接触 | 6 | 0 | 2 | 6 | 6/6 (100) | 3/6 (50) |

1) ウイルス接種量：CEKに培養しCPEが50%のとき 1×10^7 の細胞を腹腔内接種

2) 接触：接種ひなと接種直後より試験終了時まで同居

3) 元氣消失、食欲減退、さくそう著明

4) 腎の直接培養

5) ゲル内沈降抗体

ウイルス株：SD-3 継代数 2 代

表7 鶏に対する病原性

1日令接種ひなの剖検所見

| 接種後日数 | 接種の有無 | 鶏番号 | 部 位 | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-----|-----|---|---|---|---|---|----|----|----|---|-----|
| | | | 肝 | 脾 | 腎 | 膵 | 心 | 肺 | 卵巣 | 神経 | 腺胃 | 腸 | 下のう |
| 20 | 接種 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 3 | 卅 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 7 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 44 | 接種 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 2 | 卅 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | 接触 | 1 | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 | | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 3 | | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 4 | | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 5 | | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 6 | | — | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| 70 | 接種 | 1 | — | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 2 | — | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 3 | 卅 | 卅 | 卅 | — | ± | + | — | — | — | + | — |
| | | 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 5 | — | — | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 6 | — | — | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 7 | — | — | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 8 | + | — | + | + | — | — | — | — | — | 卅 | — |
| | 接触 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 3 | — | 卅 | ± | — | ± | — | — | — | ± | — | — |
| | | 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 6 | + | 卅 | 卅 | + | — | + | — | — | ± | + | — | | |

— ~ 卅 : 病変の強さを現わす

表8 鶏に対する病原性

1 日令接種ひなの組織学的所見

| 接種後日数 | 接種の有無 | 鶏番号 | 部位 | | | | | | | | | | | | | Fのり |
|-------|-------|-----|----|---|---|---|---|---|----|----|----|---|----|----|----|-----|
| | | | 肝 | 脾 | 腎 | 膵 | 心 | 肺 | 気管 | 卵巣 | 神経 | 脳 | 腺胃 | 小腸 | 大腸 | |
| 20 | 接種 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 4 | + | — | 卅 | 卅 | — | + | — | — | — | 卅 | + | — | — | — |
| | | 5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 卅 | + | — | — | — |
| | | 6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 卅 | + | + | — | — |
| | | 7 | ± | — | ± | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — |
| 44 | 接種 | 1 | + | ± | 卅 | + | ± | + | — | + | — | — | — | — | — | — |
| | | 2 | + | ± | — | — | 卅 | 卅 | — | — | — | — | 卅 | + | — | — |
| | | 3 | — | — | — | — | + | — | — | — | 卅 | — | 卅 | — | — | — |
| | | 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 5 | — | ± | ± | — | — | ± | — | — | — | — | ± | — | — | — |
| 44 | 接触 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 2 | + | — | — | — | — | + | — | — | — | — | + | + | — | — |
| | | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — |
| | | 5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — |
| | | 6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 70 | 接種 | 1 | — | — | + | — | — | — | — | 卅 | + | + | + | + | — | — |
| | | 2 | — | ± | + | — | — | — | — | + | — | + | + | + | — | — |
| | | 3 | 卅 | 卅 | 卅 | — | — | 卅 | — | + | — | 卅 | + | + | + | — |
| | | 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 5 | — | — | ± | — | + | — | + | — | — | — | ± | — | — | — |
| | | 6 | ± | — | + | — | — | ± | — | — | — | + | — | ± | — | — |
| | | 7 | + | + | 卅 | — | + | + | + | + | — | — | + | ± | — | — |
| | | 8 | + | + | 卅 | — | + | + | + | + | — | — | + | 卅 | — | — |
| 70 | 接触 | 1 | ± | + | + | — | — | ± | — | + | — | — | + | — | — | — |
| | | 2 | — | ± | ± | — | — | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 3 | — | — | ± | — | ± | + | + | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 4 | — | ± | + | — | — | — | — | — | — | + | ± | — | — | — |
| | | 5 | + | + | + | — | — | — | — | + | — | — | + | 卅 | — | — |
| | | 6 | + | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | ± | ± | — |

— ~ 卅 : 病変の強さを現わす, 空欄: 観察していない

図1 鶏に対する接種試験
病変出現頻度 (26例)

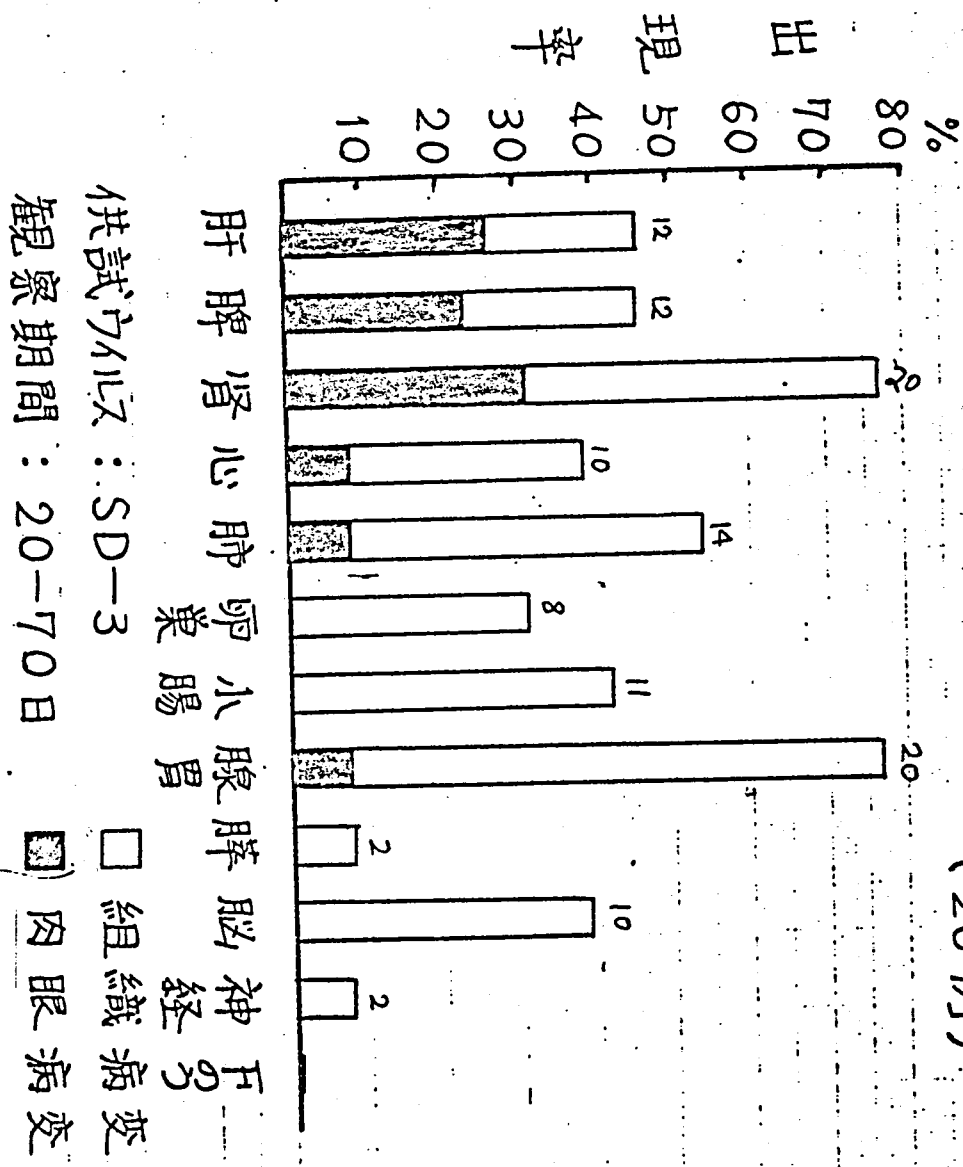


表 9 | 県別抗体陽性率

| 県 名 | 血 清 収 集 群 ¹⁾ | | | | | |
|-----|-------------------------|-----------|------|--------|-----------|------|
| | A | | | B | | |
| | 日令の範囲 | 陽性数 総数 | 陽性率 | 日令の範囲 | 陽性数 総数 | 陽性率 |
| 福岡 | 不明 | 7/184 | 41.3 | 1-360 | 119/241 | 49.4 |
| 佐賀 | 48-545 | 30/67 | 44.8 | 1-30 | 0/23 | 0 |
| 長崎 | 425-730 | 13/49 | 26.5 | 1-30 | 0/11 | 0 |
| 熊本 | 35-300 | 38/143 | 26.6 | 1-360 | 144/409 | 35.2 |
| 大分 | 300-365 | 15/49 | 30.6 | 31-90 | 27/45 | 60.0 |
| 鹿児島 | 180-600 | 8/52 | 15.4 | | | |
| 山口 | | | | 61-90 | 91/108 | 84.3 |
| 大阪 | | | | 91-120 | 28/34 | 82.4 |
| 計 | | 180/544 | 33.1 | | 409/871 | 47.0 |

1) A 群: 1964 年収集, 2倍血清で検査

B 群: 1968-1971 年収集, 原血清で検査

表10 | 日令別抗体陽性率

| 日 令 | 血 清 収 集 群 ¹⁾ | | | |
|----------|-------------------------|------|-----------------------|------|
| | A | | B | |
| | 陽性数 検査数 | 陽性率 | 陽性数 検査数 | 陽性率 |
| 1 ~ 30 | — | — | 2/136 | 1.0 |
| 31 ~ 60 | 7/101 | 6.9 | 17/104 | 16.3 |
| 61 ~ 90 | 3/10 | 30.0 | 118/164 | 72.0 |
| 91 ~ 120 | 14/20 | 70.0 | 55/76 | 72.4 |
| 121 ≦ | 84/198 | 42.4 | 96/191 | 50.3 |

1) A群: 1964年度収集血清, 2倍血清で検査

B群: 1968~71年度収集血清. 原血清で検査

表 11 養鶏場別. 日令別抗体陽性率¹⁾

| 日令別 | 養 鶏 場 ²⁾ | | | | | | | 計 (9.) |
|--------|---------------------|------|------|-----|------|-----|-----|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| 1~30 | 1/13 | 0/2 | | 1 | 0/9 | | | 1/24 (4.2) |
| 31~60 | 1/13 | | 1/6 | 1/7 | 0/20 | 0/5 | 0/3 | 3/54 (5.6) |
| 61~90 | | | 2/7 | 0/4 | | 1/3 | | 3/14 (21.4) |
| 91~120 | | | 8/10 | 3/3 | 6/18 | 4/4 | | 21/35 (60.0) |
| 121 ≧ | 12/17 | 8/15 | | 2/2 | | | 3/5 | 25/39 (64.1) |

1) B群血清

2) 20以上の日令を検査した養鶏場

3) 分母は供試数. 分子は陽性数

表12 鶏の種類別抗体陽性率

| 鶏の種類 | 供試数 | 陽性数 | 陽性率 |
|---------|-----|-----|------|
| デカルブ | 16 | 11 | 68.8 |
| ギマリソン | 8 | 5 | 62.5 |
| 白色レホン | 73 | 42 | 57.5 |
| ロックホーン | 19 | 10 | 52.6 |
| ニューパプリア | 28 | 10 | 35.7 |
| コーニッシュ | 36 | 9 | 25.0 |
| キンバー | 5 | 1 | 20.0 |
| アリス・ドッグ | 11 | 2 | 18.2 |
| ハンドレス | 30 | 3 | 10.0 |
| 計 | 226 | 93 | 41.2 |

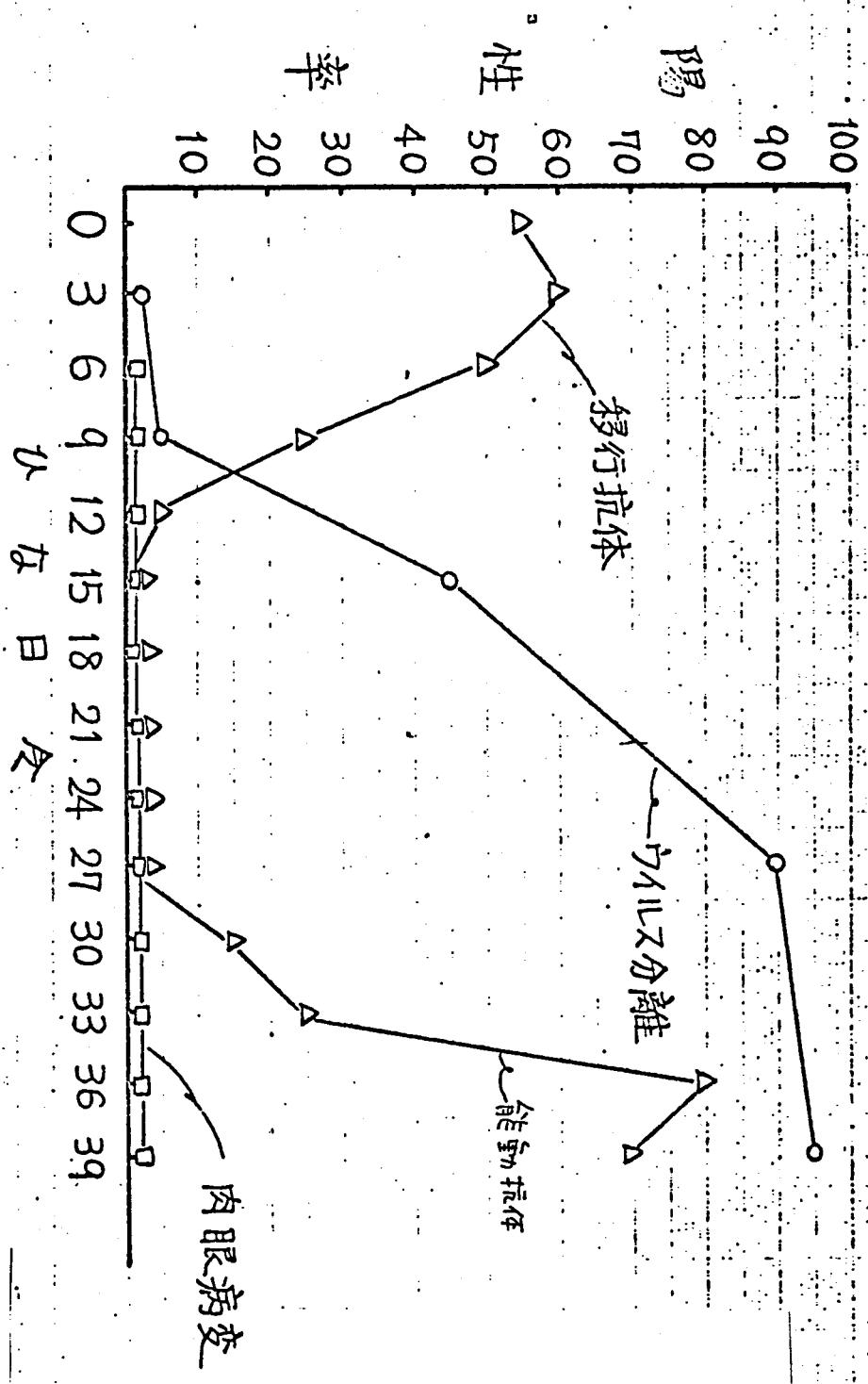
B群血清：2倍血清で検査，100日令以上もの

表13 抗体の消長とウイルスの分離

| 日令 | 沈降抗体 | | ウイルス分離 ¹⁾ | |
|----|---------|------|----------------------|------|
| | 陽性数/供試数 | % | 陽性数/供試数 | % |
| 0 | 11/20 | 55.0 | 0/20 | 0 |
| 3 | 24/40 | 60.0 | 0/20 | 0 |
| 6 | 15/20 | 75.0 | | |
| 9 | 5/40 | 12.5 | 1/20 | 5.0 |
| 12 | 1/21 | 4.8 | | |
| 15 | 0/20 | 0 | 9/20 | 45.0 |
| 18 | 0/20 | 0 | | |
| 21 | 0/20 | 0 | | |
| 24 | 0/20 | 0 | | |
| 27 | 0/20 | 0 | 18/20 | 90.0 |
| 30 | 3/20 | 15.0 | | |
| 33 | 5/20 | 25.0 | | |
| 36 | 16/20 | 80.0 | 19/20 | 95.0 |
| 39 | 14/20 | 70.0 | | |

1) 腎の直接培養による

図 2 抗体の消長およびウイルスの分離



供試ひな数

ウイルス分離，腎直接培養
 ゲル内沈降抗体 20~40羽

表14 ウイルス接種後の抗体の上昇

| 接種後 日数 | 条件 | 沈降抗体 | | ウイルスの分離 |
|-----------|-------------------|------------|------|---------|
| | | 陽性数 供試数 | 陽性率 | |
| 20 | 接種 | 0/7 | 0 | 7/7 |
| 44 | 接種 | 2/6 | 33.3 | 6/6 |
| | 不接種 ²⁾ | 1/6 | 17.0 | 6/6 |
| 70 | 接種 | 4/8 | 50.0 | 8/8 |
| | 不接種 | 3/6 | 50.0 | 6/6 |

1) 1日令ひなの腹腔内に接種; SD-3株

2) 接種ひなと1日令ひなが同居させる。

表15 HVTの分離

| 材料採取場所 | 供試数 | 検 索 部 位 | |
|--------|---------|---------|-----------------------|
| | | 腎 | 血液 毛 根 |
| 熊本県 | 阿 蘇 (1) | 6 | 0/6 ²⁾ 0/6 |
| | " (2) | 14 | 0/14 |
| | " (3) | 7 | 0/7 |
| | 熊本市 | 6 | 0/6 |
| 山口県 | 八代市 | 4 | 0/4 0/4 |
| | 下関市 (1) | 20 | 20/20 |
| 山口県 | " (2) | 23 | 19/23 |
| 合 計 | | 80 | 0/4 39/80 0/6 |

- 1) 細胞はCEKおよびDEFを用いた
- 2) 分母は供試数，分子は陽性数

表 16 分離 HVT の性状
理化学的性状

| 性状 | 条件 | 成績 |
|-----------------|--|----|
| 封入体出現 | CEK・HE 染色 | + |
| 巨細胞出現 | " | + |
| 細胞結合性 | 凍結融解 (5回) | + |
| | 培養遠沈上清 (1500rpm, 10分) | + |
| | 濾過 (ミリポア フィルター 200m) | - |
| | 凍結保存 (DMSO 10% 添加) ¹⁾ | + |
| 核酸の種類 | IUDR 添加 ²⁾ (50 γ /ml) | - |
| | 無 添 加 | + |
| 発育鶏卵に 対する病原性 | 尿腔内 (10日令 7日間) | - |
| | 漿尿膜上 (11日令 8日間) | + |
| | 卵黄のう内 (5日令 13日間) | + |
| 血球凝集性 | 鶏 (4 $^{\circ}$, 37 $^{\circ}$ C) | - |
| | モルモット (") | - |
| | 兎 (") | - |
| | 牛 (") | - |
| | 馬 (") | - |

1) Dimethyl sulfoxide

2) 5-Iodo-2'-Deoxyridine

使用ウイルスは DEF で 2代継代したもの

表17 分離HVTの性状
培養細胞に対する病原性

| 細胞の種類 | | 継代数 | | | DEF |
|--------|------------------------------|-----|---|---|-----|
| | | 1 | 2 | 3 | |
| 初代培養細胞 | 鶏 { 胎児の線維芽 肝臓 脾臓 腎臓 腎臓 | + | + | + | |
| | アヒル胎児線維芽 | + | + | + | |
| | ヒメ鳥腎 | + | + | + | |
| | 兎腎 | — | — | — | — |
| | モルモット腎 | — | — | — | — |
| | マウス胎児線維芽腎 | — | — | — | — |
| | 豚腎 | — | — | — | — |
| | 牛腎 睪丸 | — | — | — | — |
| 継代培養細胞 | G M C (猿腎) | — | — | — | — |
| | P K-1 (豚腎) | — | — | — | — |
| | P S-1 (") | — | — | — | — |
| | HmLu (ハムスター肺) | — | — | — | — |
| | BHK-21 (ハムスター腎) | — | — | — | — |
| | F L-1 (人羊膜) | — | — | — | — |

継代3代後CPEの有無を判定。陰性はさらにDEFに接種し判定した。
種ラウスはDEF継代1代したものを用いた。

表18 発育鶏卵内におけるウイルスの分布

| 接種部位 | 2) 培養期間 | | 部 位 | | | |
|------|---------|-------------------|-----|-------------------|----------------|-------|
| | (日) | 尿 液 ³⁾ | 漿尿膜 | 卵 黄 ⁴⁾ | 胎 児 (肝脾臓組織) | 腎直接培養 |
| 尿腔内 | 7 | 1/5 ⁵⁾ | NT | NT | 4/4 | NT |
| 漿尿膜 | 7 | 0/3 | 8/8 | NT | 5/7 | 0/4 |
| 卵黄の内 | 13 | 0/8 | 6/6 | 5/8 | NT | 6/8 |

- 1) 細胞はDEFを用い、3代継代して判定
- 2) 1000PFU/0.2mlを各部位より接種した
- 3) 尿液は3,000rpm.10分遠心沈澱した上清を検討した
- 4) 卵黄は増殖用培地で2倍に希釈してウイルス分離を行った
- 5) 分母は供試卵, 分子はウイルス陽性卵

表19 野外応用試験の条件(産卵鶏)

| 試験鶏群 | 試験場所 | シケル種 月 日 | シケル種類 | 接種日令 | シケル部位 | 供試数 |
|------|--------|-------------|-----------------|------|----------------|----------------------|
| 1 | 熊本県大津町 | 4.23. 1971 | デカル7" | 1 | 腹腔内 皮下 照 | 1000 1000 1000 |
| 2 | 熊本県鹿本町 | 4.30. 1971 | デカル7" | 1 | 腹腔内 皮下 照 | 1000 1000 1000 |
| 3 | 熊本県菊陽村 | 5.1. 1971 | シバ-24- クロ288 | 2 | 腹腔内 皮下 照 | 1050 1050 1050 |
| 4 | 熊本県城南町 | 5.4. 1971 | バグコック | 1 | 腹腔内 皮下 照 | 1041 1033 1028 |
| 5 | 熊本県西木町 | 5.7. 1971 | デカル7" | 1 | 腹腔内 皮下 照 | 1000 1000 894 |

表 20 死亡とう汰数

| 鶏群 | 接 種 群 | | 対 照 群 | | 減少率 ¹⁾ | 差 ²⁾ |
|----|---------------|------|---------------|------|-------------------|-----------------|
| | 死亡・淘汰数/供試数(%) | | 死亡・淘汰数/供試数(%) | | | |
| 1 | 178 / 2000 | 8.9 | 232 / 1000 | 23.2 | 61.4 | $P < 0.001$ |
| 2 | 139 / 2000 | 7.0 | 219 / 1000 | 21.9 | 68.5 | $P < 0.001$ |
| 3 | 70 / 2100 | 3.3 | 71 / 1050 | 6.8 | 50.7 | $P < 0.001$ |
| 4 | 171 / 2074 | 8.2 | 90 / 1028 | 8.8 | 5.8 | $P > 0.05$ |
| 5 | 201 / 2000 | 10.1 | 103 / 894 | 11.5 | 12.8 | $P > 0.05$ |
| | 759 / 10174 | 7.5 | 715 / 4972 | 14.4 | 48.1 | $P < 0.001$ |

1) 対照群の死亡とう汰数と 100 とした場合の減少数

2) χ^2 -Test

表21 死亡とう状の原因

| 区分 | 死亡とう状 の原因 | 接種群(10,174羽) | | | | | | 対照群(4,972羽) | | | | | | 発生減少率 ²⁾ | | |
|----|--------------|------------------|----|----|-----|-----|-----|-------------|-----|----|----|-----|-----|---------------------|-----|--------|
| | | 鶏日令 | | | | | | 鶏日令 | | | | | | | | |
| | | 0 | 31 | 61 | 91 | 121 | 151 | 計 | 0 | 31 | 61 | 91 | 121 | | 151 | 計 |
| | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | | |
| | | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 | | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 | | |
| 管理 | 虚弱 欠乏 | 187 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 211 | 91 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 92 | 12.1※ |
| | 事故 | 22 ¹⁾ | 20 | 7 | 5 | 2 | 65 | 121 | 5 | 15 | 13 | 3 | 0 | 0 | 36 | 169.8※ |
| | カンニバリズム | 16 | 18 | 26 | 6 | 2 | 0 | 68 | 1 | 2 | 3 | 26 | 0 | 0 | 32 | 7.7 |
| | 発育不良 | 8 | 9 | 0 | 21 | 0 | 0 | 38 | 2 | 3 | 0 | 3 | 3 | 11 | 22 | 42.0 |
| 疾病 | マレー病 | 0 | 3 | 7 | 18 | 37 | 51 | 116 | 0 | 5 | 26 | 86 | 90 | 148 | 355 | 84.0 |
| | 白血病 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 3 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 3 | 19 | 74.3 |
| | C R D | 0 | 0 | 0 | 3 | 11 | 17 | 31 | 0 | 0 | 0 | 2 | 11 | 14 | 27 | 43.4 |
| | コリーガ | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 4 | 0 | 0 | 1 | 4 | 0 | 1 | 6 | 67.4 |
| | 腹膜炎 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 5 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | 5 | 51.1 |
| | 肝炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 38.9 |
| | 腎炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | 5 | 80.4 |
| | 肺炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 38.8 |
| | 呼吸異常 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 22.2※ |
| | 痛風 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 4 | 87.5 |
| | 脳炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 4 | 100.0 |
| | 化膿性炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2.3 |
| | 腫瘍 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 75.6 |
| | 腸炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 51.1 |
| | 関節炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 100.0 |
| | 不明 | 3 | 21 | 23 | 13 | 43 | 31 | 134 | 3 | 17 | 28 | 1 | 24 | 26 | 94 | 30.3 |
| 計 | | 236 | 97 | 63 | 70 | 102 | 191 | 759 | 102 | 45 | 68 | 128 | 147 | 225 | 715 | 48.1 |

1) 接種時死亡した15例を含む。

2) 対照群の発生率を100とした場合の減少率。※は増加を示す。

表 22

| 鶏日令 | 試 験 群 | | | | | | 計 |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| | <u>1P SC C</u> | <u>1P SC C</u> | <u>1P SC C</u> | <u>1P SC C</u> | <u>1P SC C</u> | <u>1P SC C</u> | |
| 31~60 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 |
| 61~90 | 1 0 4 | 0 0 8 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 6 | 1 0 18 | 19 |
| 91~120 | 4 5 34 | 1 2 29 | 0 1 1 | 0 2 1 | 1 0 7 | 6 10 72 | 88 |
| 121~150 | 8 3 33 | 13 9 55 | 3 0 8 | 2 0 6 | 4 2 4 | 30 14 106 | 150 |
| 151~180 | 10 6 49 | 13 3 44 | 0 3 12 | 6 2 24 | 6 7 23 | 35 21 152 | 208 |

1) 腹腔内接种群

2) 皮下接種群

3) 对照群

23 14

27 14

136

4217

78

31

94

72 45

348

5

表23 鶏冠群別および日令別マレウノ病発生数

| 鶏日令 | 試 験 鶏 群 | | | | |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------|-------------------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | IP SC C ^a | IP SC C | IP SC C | IP SC C | IP SC C |
| 31 ~ 60 | 0 0 4 | 0 0 1 | 3 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 |
| 61 ~ 90 | 0 4 11 | 0 0 9 | 0 1 1 | 0 0 3 | 0 0 7 |
| 91 ~ 120 | 7 2 36 (3) | 1 3 31 (1) | 0 1 1 | 0 0 6 | 2 0 3 (2) |
| 121 ~ 150 | 8 0 23 (5) | 12 8 54 (3) (2) (11) | 3 0 8 | 0 0 7 (2) | 4 2 8 (1) (2) |
| 151 ~ 180 | 8 5 49 (1) (2) (9) | 12 2 37 (1) (1) (5) | 0 3 9 (1) | 6 2 24 (2) (7) | 6 7 23 (1) (4) |
| 計 | 25 11 123 (1) (2) (17) | 25 13 132 (4) (3) (17) | 6 5 19 (1) | 6 4 40 (2) (9) | 12 9 41 (1) (1) (8) |

()内は白血病と区別が明確でないもの
のIPは腹腔内播種、SCは皮下播種、Cはネオプラ

表24 ワカニ接種有無によるレプリカ病発生数

| 鶏群 | 接種群 | | 対照群 | | 減少率 ²⁾ | 差 ³⁾ |
|----|-----------------------|-----|----------|------|-------------------|-----------------|
| | MD発生数 | (%) | MD発生数 | (%) | | |
| 1 | 36/2000 ¹⁾ | 1.8 | 123/1000 | 12.3 | 85.4 | $P < 0.001$ |
| 2 | 38/2000 | 1.9 | 132/1000 | 13.2 | 85.6 | $P < 0.001$ |
| 3 | 11/2100 | 0.5 | 19/1050 | 1.8 | 71.1 | $P < 0.001$ |
| 4 | 10/2074 | 0.5 | 40/1028 | 4.0 | 87.6 | $P < 0.001$ |
| 5 | 21/2000 | 1.1 | 41/894 | 4.6 | 77.1 | $P < 0.001$ |
| 合計 | 116/10174 | 1.1 | 355/4972 | 7.1 | 84.0 | $P < 0.001$ |

1) 分母は供試数, 分子はレプリカ病発生数

2) 対照群のレプリカ病発生数を100とした場合の減少率

3) χ^2 -test

表25 MD病変の出現部位

| 群 | 検査数 | 臓器名 | | | | | | | | | |
|----|-----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| | | 肝 | 脾 | 腎 | 心 | 肺 | 神経 | 脳 | 腺胃 | 腸 | 卵巣 |
| 接種 | 116 | 88 (75.9) | 68 (58.6) | 81 (69.8) | 26 (22.4) | 47 (40.5) | 77 (66.4) | 14 (12.1) | 51 (44.0) | 15 (12.9) | 64 (55.2) |
| 対照 | 355 | 316 (89.0) | 248 (69.9) | 291 (82.0) | 102 (28.7) | 186 (52.4) | 208 (58.6) | 43 (12.1) | 151 (42.5) | 61 (17.2) | 222 (62.5) |
| 計 | 471 | 404 (85.8) | 316 (67.1) | 372 (79.0) | 128 (27.2) | 233 (49.5) | 285 (60.5) | 57 (12.1) | 202 (42.9) | 76 (16.1) | 286 (60.7) |

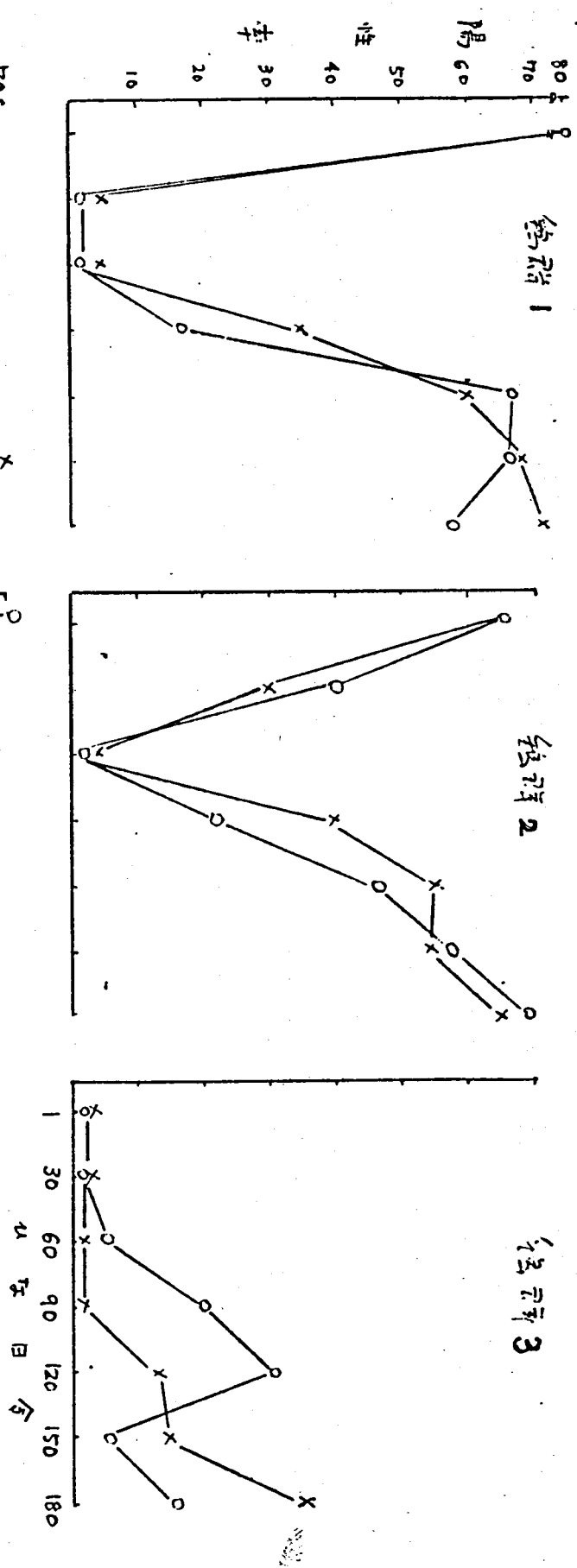
() 内は %

表2b 774シウイルスおよびMDHVの分離

| ウイルス | 接種種群 | | 対照群 | |
|---------|--------------------------------|---------------------------------|------------------|-------------------|
| | HVT ¹⁾ 分離数/供試数 % | MDHV ²⁾ 分離数/供試数 % | HVT 分離数/供試数 % | MDHV 分離数/供試数 % |
| 1 | - | - | 0/50 0 | 0/50 0 |
| 2~30 | 30/30 100 | - ³⁾ | 0/9 0 | 1/9 11.1 |
| 31~60 | 79/79 100 | 16/28 57.1 | 1/47 2.1 | 33/43 76.7 |
| 61~90 | 71/75 94.7 | 45/53 84.9 | 0/36 0 | 30/36 83.3 |
| 91~120 | 67/70 95.7 | 43/62 69.4 | 2/34 5.9 | 30/34 88.2 |
| 121~150 | 67/67 100 | 46/52 88.5 | 0/35 0 | 34/35 97.1 |
| 151~180 | 64/76 91.4 | 52/57 91.2 | 2/35 5.7 | 35/35 100 |

- 1) 774シウイルス
2) 野口ウイルス
3) 検査せず

図 3 シルク病ウイルス ゲル内沈降抗体陽性率の動向



○—○ シルク病ウイルス接種群
 x—x “ 接種対照群
 供試数： 各日令に 10~25羽

表27 MDHVおよびHV-Tゲル内沈降抗体の動き

| 鶏日令 | 接種 種 群 | | 対 照 群 | |
|---------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| | HVT | MDHV | HVT | MDHV |
| | 陽性数/供試数 % | 陽性数/供試数 % | 陽性数/供試数 % | 陽性数/供試数 % |
| 1 | — | — | 37/63 58.7 | 39/64 60.9 |
| 2~30 | 4/28 14.3 | 4/28 14.3 | 0/6 0 | 0/6 0 |
| 31~60 | 5/93 5.4 | 1/93 1.1 | 2/58 3.4 | 1/55 1.8 |
| 61~90 | 24/106 22.6 | 12/103 11.7 | 10/62 16.1 | 10/61 16.4 |
| 91~120 | 28/86 32.6 | 27/85 31.8 | 28/70 40.0 | 27/90 38.6 |
| 121~150 | 50/113 44.2 | 40/104 38.5 | 46/81 56.8 | 54/99 54.5 |
| 151~180 | 99/218 45.4 | 100/223 44.8 | 118/226 52.2 | 145/233 62.2 |

1) ヲウチウイルス抗原

2) 野外ウイルス病ウイルス抗原

図4 I Bウイルス中和抗体の動き

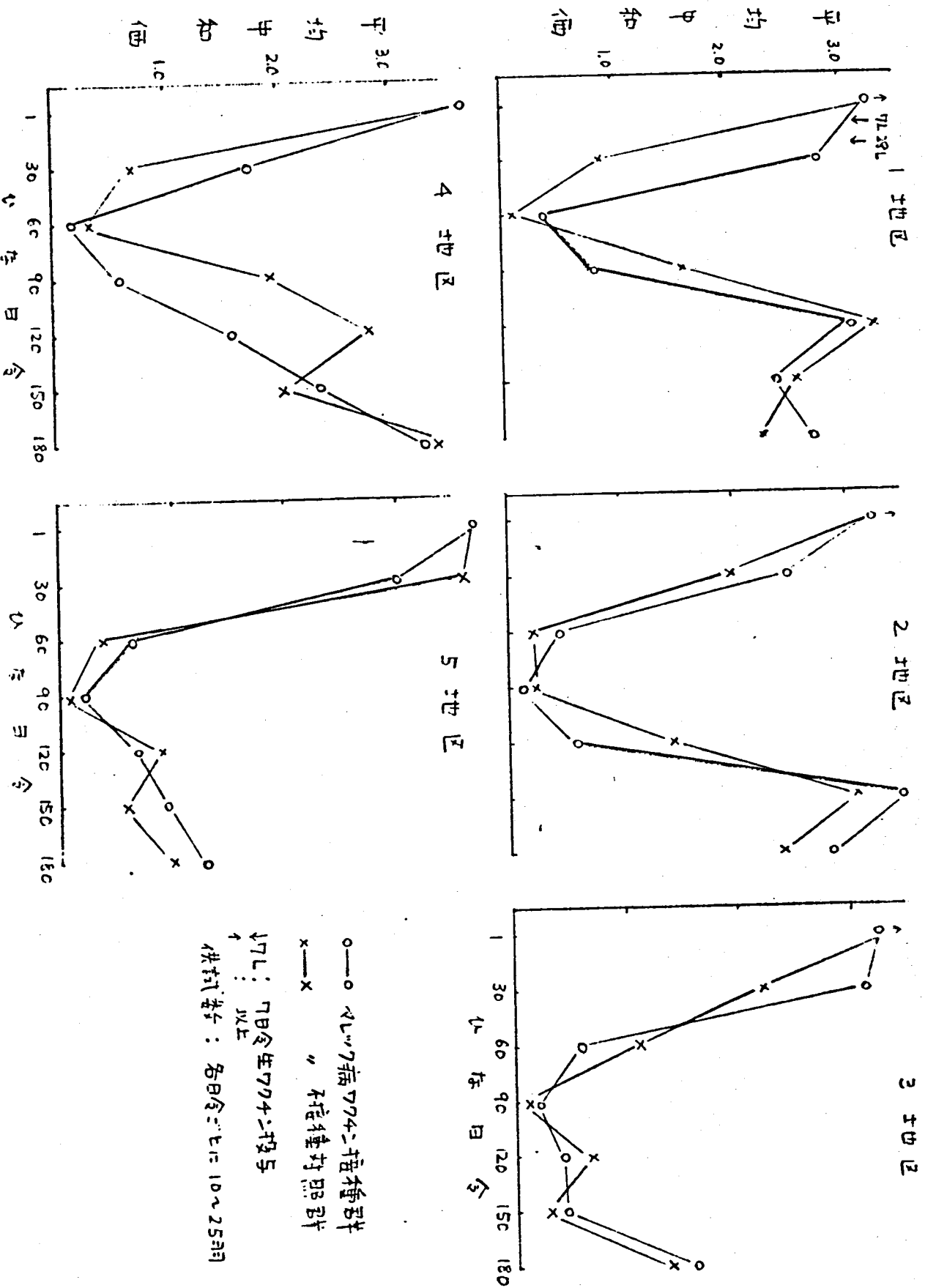
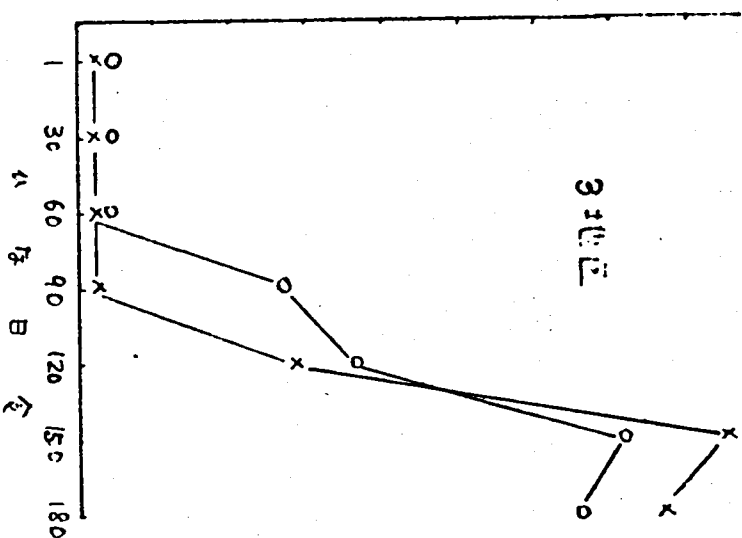
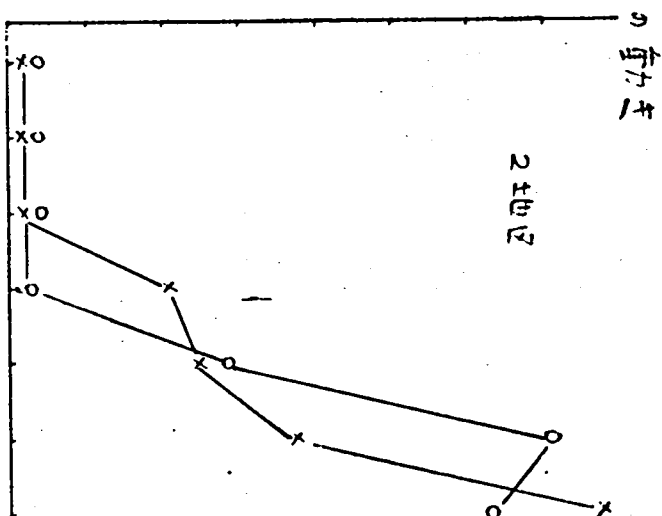


表 28 1 B 中和抗体価の働き

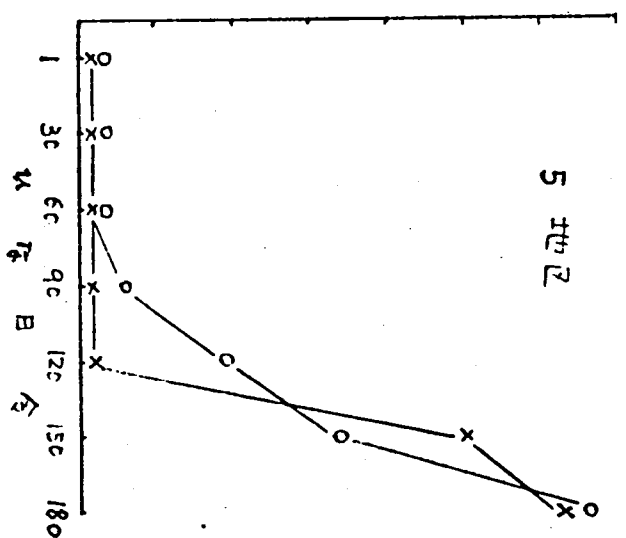
| | | 試 験 鶏 群 | | | | | | | | | | |
|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 鶏日令 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 平均 | | | | | | |
| 接種 | 接種 | 接種 | 接種 | 接種 | 接種 | 接種 | | | | | | |
| 対照 | 対照 | 対照 | 対照 | 対照 | 対照 | 対照 | | | | | | |
| 1 | 3.24 \leq | — | 3.24 \leq | 3.74 | 3.84 | 3.65 | | | | | | |
| 2~30 | 2.8 | 0.95 | 2.42 | — | 3.17 | — | 1.57 | 0.74 | 3.01 | 5.01 | 2.59 | 2.23 |
| 31~60 | 0.35 | 0.15 | 0.41 | 0.22 | 0.62 | 1.17 | 0.22 | 0.35 | 0.61 | 0.41 | 0.44 | 0.46 |
| 61~90 | <u>0.86</u> | <u>1.63</u> | <u>0.11</u> | <u>0.18</u> | <u>0.16</u> | <u>0.07</u> | <u>0.60</u> | <u>1.95</u> | <u>0.15</u> | <u>0.12</u> | <u>0.38</u> | <u>0.79</u> |
| 91~120 | 3.13 | 3.31 | 0.61 | 1.48 | 0.47 | 0.69 | 1.60 | 2.80 | 0.79 | 0.90 | 1.23 | 1.84 |
| 121~150 | 2.42 | 2.64 | <u>3.54</u> | <u>3.13</u> | 0.40 | 0.34 | — | 2.01 | 0.95 | 0.62 | 1.83 | 1.75 |
| 151~180 | 2.71 | 2.37 | 2.82 | 2.48 | 1.68 | 1.42 | 3.33 | 3.43 | 1.28 | 1.08 | 2.36 | 2.16 |

各群20~58羽の平均値 ($\log TCID_{50}$)

33



5 地区



○——○ 2Lの病の42.5%の重なり
 ×——× " 不重なりを計照せず
 供試材：各日令にて10-25日間

表29 MG凝集抗体陽性率の動き

| 鶏日令 | 接種群 | | 対照群 | | 計 | |
|---------|---------|------|---------|------|---------|------|
| | 陽性数/供試数 | 陽性率 | 陽性数/供試数 | 陽性率 | 陽性数/供試数 | 陽性率 |
| 1 | | | 0/69 | | 0/69 | |
| 2~30 | 0/30 | 0 | 0/19 | 0 | 0/49 | |
| 31~60 | 1/93 | 1.1 | 0/60 | 0 | 1/153 | 0.7 |
| 61~90 | 12/103 | 11.7 | 2/61 | 3.3 | 14/164 | 8.5 |
| 91~120 | 14/86 | 16.3 | 8/71 | 11.3 | 22/157 | 14.0 |
| 121~150 | 49/105 | 46.7 | 37/94 | 39.4 | 86/199 | 43.2 |
| 151~180 | 108/222 | 48.6 | 114/232 | 49.1 | 222/454 | 48.9 |

Mycoplasma 抗体陽転 鶏検出日令

| | |
|-----|------|
| 群1 | 52日令 |
| " 2 | 61 |
| " 3 | 63 |
| " 4 | 63 |
| " 5 | 64 |

図6 MDワタシの他種ワタシの交果におよぼす影響

NDワイルス平均HI価の動き

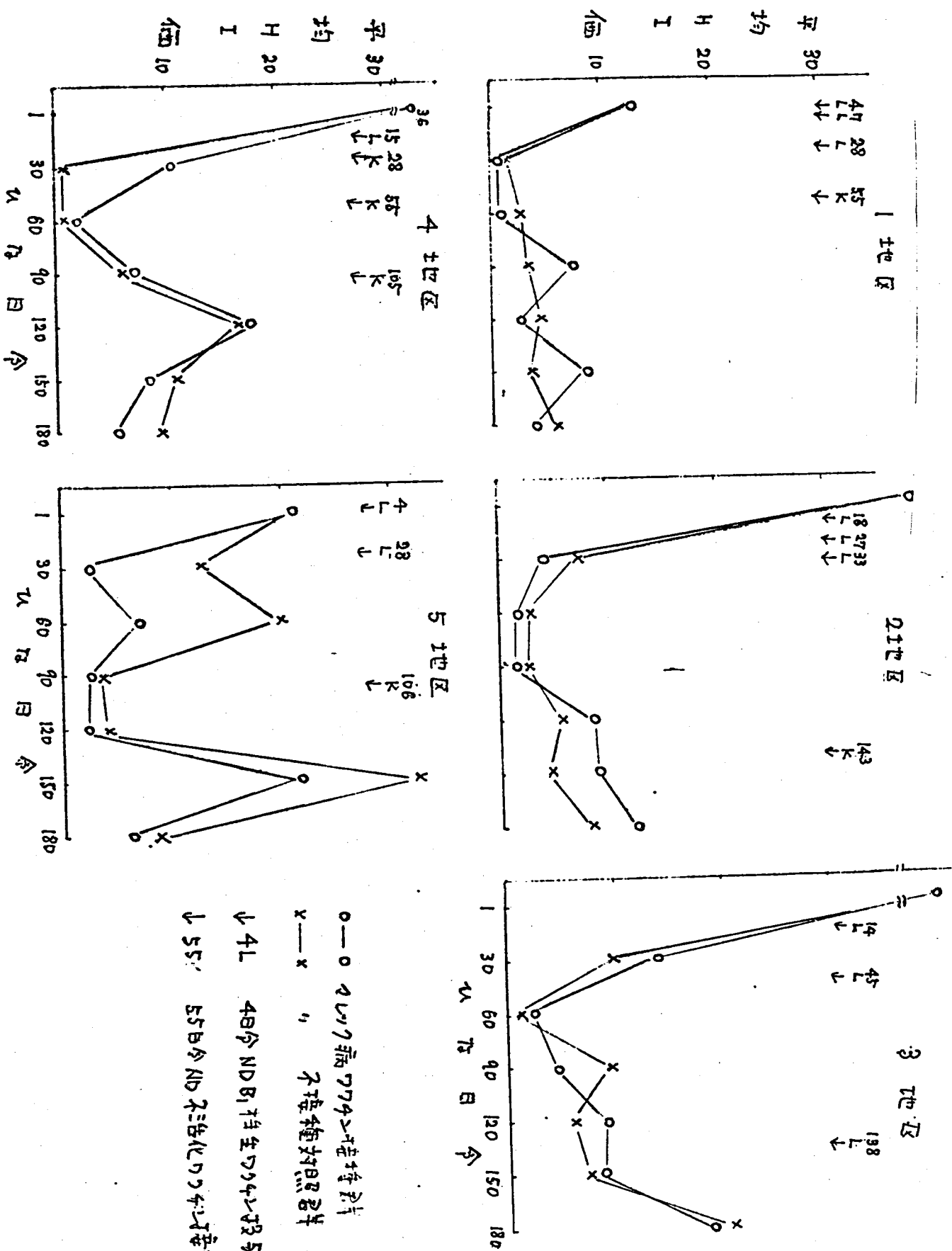


表 30 MD777タンパク質の他種タンパク質効果におよぼす影響
NDH1の働き

| 鶏日令 | 試 験 鶏 群 | | | | |
|-----------|---------|-------|-------|-------|-----------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | 接種 対照 | 接種 対照 | 接種 対照 | 接種 対照 | 接種 対照 |
| 1 | 13.5 | 38.5 | 47.9 | 36.8 | 20.9 |
| 2 ~ 30 | 1.5 | 1.7 | 4.1 | — | 13.4 |
| | | | | | 10.5 0.15 2.5 12.5 |
| 31 ~ 60 | 1.5 | 2.3 | 1.8 | 1.9 | 2.5 |
| | | | | | 1.9 1.8 1.7 7.0 20.0 |
| 61 ~ 90 | 7.6 | 3.1 | 1.4 | 1.7 | 4.2 |
| | | | | | 9.2 7.1 7.2 2.5 3.2 |
| 91 ~ 120 | 2.2 | 4.4 | 8.3 | 5.6 | 9.0 |
| | | | | | 5.1 17.6 17.1 2.1 3.8 |
| 121 ~ 150 | 8.5 | 3.3 | 8.9 | 4.4 | 8.6 |
| | | | | | 7.7 4 5.6 21.7 32.8 |
| 151 ~ 180 | 3.6 | 5.3 | 12.4 | 8.9 | 18.7 |
| | | | | | 20.5 5.5 9.4 5.8 8.3 |

各群20~68羽の平均値

表31 野外応用試験の条件(肉用鶏)

| 鶏群 | 鶏種 | 性別 | 育成 期間 | 供試鶏 | | 実験の時期 (月) |
|----|---------|----|----------|---------|--------|--------------|
| | | | | 羽量 g | 羽数 | |
| 1 | ヌタ-ブラ | 雄 | 67 | 1/4 | 1,200 | 9 ~ 11 |
| | | | | — | 1,200 | |
| 2 | ヌタ-ブラ | 雄 | 49 | 1/4 | 1,055 | 9 ~ 10 |
| | | | | — | 1,102 | |
| 3 | 石井707 | 混合 | 70 | 1 | 1,032 | |
| | | | | 1/4 | 965 | 11 ~ 1 |
| | | | | — | 1,030 | |
| | | | | 1 | 33,260 | |
| | | | | 1/2 | 33,116 | |
| 4 | ヒルチラビット | 混合 | 67 | 1/4 | 32,881 | 5 ~ 7 |
| | | | | — | 32,689 | |

表 32 死亡とう汰数

| 鶏群 | 接種量 | 供試数 | 死亡数(%) | 減少率 ¹⁾ | χ^2 値 |
|----|------------------------|--------------------------------------|--|----------------------|--|
| 1 | 1/4 — ³⁾ | 1.200 1.200 | 106 (8.8) 97 (8.1) | + 0.9 | 0.44 |
| 2 | 1/4 — | 1.055 1.102 | 55 (4.6) 83 (6.9) | 20.5 | 4.82 [*] |
| 3 | 1 1/4 — | 1.032 965 1.030 | 41 (4.0) 26 (2.7) 37 (3.6) | + 10.6 25.0 | 0.21 2.86 |
| 4 | 1 1/2 1/4 — | 33.260 33.116 32.881 32.689 | 1.069 (4.8) 1.564 (4.7) 1.334 (4.1) 2.017 (6.2) | 21.6 23.5 34.3 | 56.23 ^{**} 67.70 ^{**} 151.36 ^{**} |

- 1) フォクジを接種しない群の死亡率を100として計算、+は接種群で多いもの
 2) χ^2 -test か 5%の危険率で有意差あり、** 0.1%の危険率で有意差あり
 3) 対照群

表 33 M D 発生数

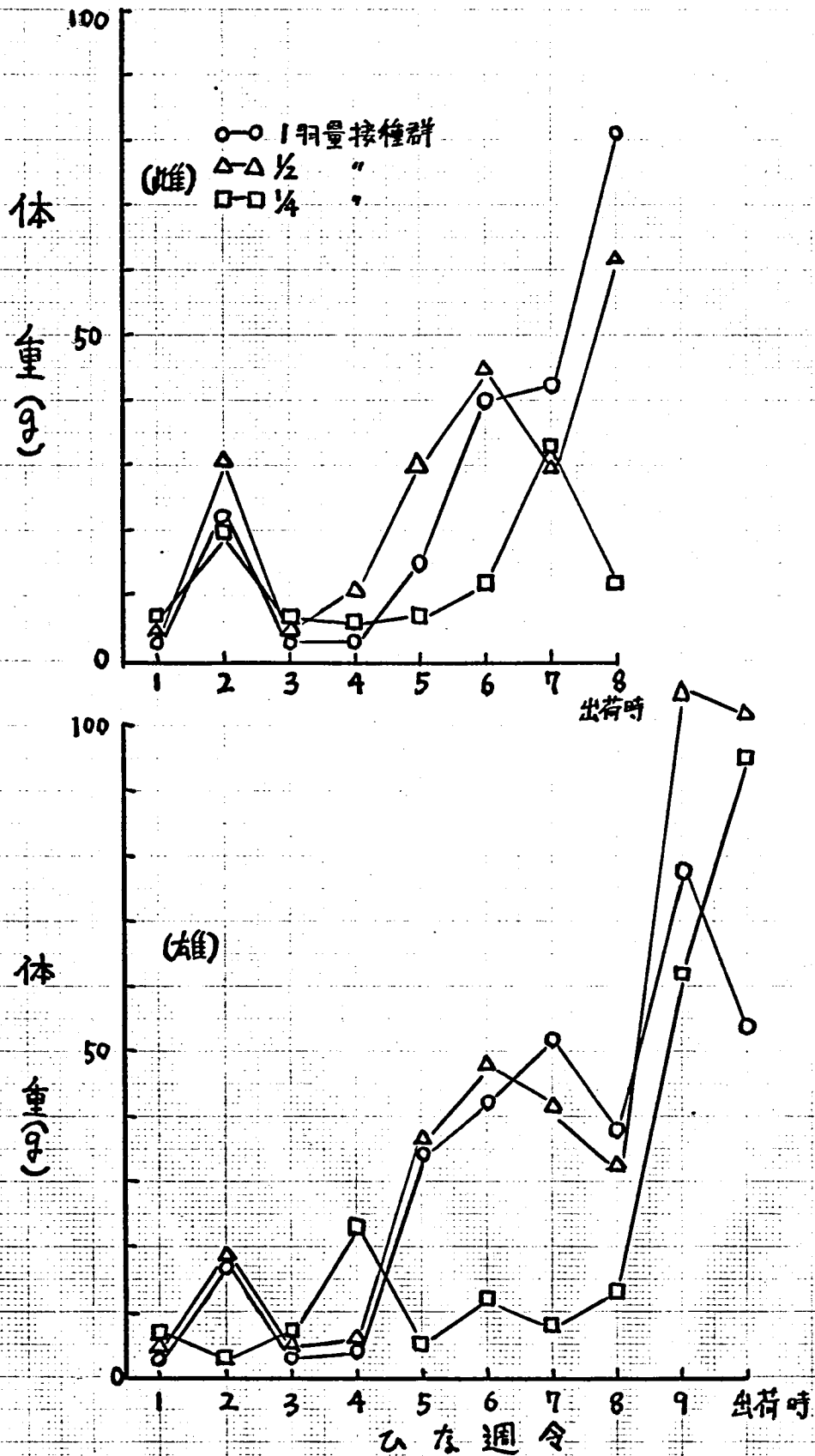
| 鶏群 | ワカシ 接種量 | 観察羽数 | M D 病変 | | | | 減少率 ¹⁾ | χ ² 値 ²⁾ |
|----|-----------------|-------|--------|------------------|----|------------|-------------------|--------------------------------|
| | | | 肝 | 脾 | 皮膚 | 計 (%) | | |
| 1 | 1/4 | 860 | 16 | NT ³⁾ | 0 | 16 (1.9) | 86.6 | 80.96 ^{**} |
| | — ⁴⁾ | 640 | 89 | NT | 1 | 90 (14.1) | | |
| 2 | 1/4 | 975 | 8 | NT | 0 | 8 (0.8) | | |
| | — | 1,019 | NT | NT | 3 | 3 (0.3) | | |
| 3 | 1 | 989 | 9 | 2 | 0 | | 91.2 | 80.79 ^{**} |
| | 1/4 | 939 | 7 | 1 | 0 | 8 (0.9) | 92.6 | 80.96 ^{**} |
| 4 | — | 993 | 100 | 2 | 0 | 102 (10.3) | | |
| | 1 | 1,144 | 16 | 0 | 1 | 17 (1.5) | 72.8 | 27.17 ^{**} |
| | 1/2 | 1,052 | 11 | 0 | 0 | 11 (1.1) | 80.8 | 37.15 ^{**} |
| | 1/4 | 1,026 | 9 | 0 | 0 | 9 (0.9) | 83.9 | 34.14 ^{**} |
| | — | 1,008 | 55 | 0 | 0 | 55 (5.5) | | |

1) 2) 表 32 を参照
3) 観察できなかった
4) 対照群

表 34 供試鶏群の体重の変動

| 鶏群 | ワカ 接種量 | 鶏 日 令 | |
|------|-----------|--------------|---------------|
| | | 17 | 33 ~ 49 |
| 1 | 1/4 | 289.9 ± 6.8" | 2424.0 ± 10.3 |
| | — | 300.2 ± 13.7 | 2306.0 ± 12.7 |
| 2 | 1/4 | 326.4 ± 4.8 | 1309.9 ± 8.3 |
| | — | 345.4 ± 2.7 | 1280.7 ± 27.2 |
| 3 | 1 | 711.9 ± 5.0 | 1822.4 ± 5.7 |
| | 1/4 | 663.4 ± 2.2 | 1811.4 ± 32.9 |
| | — | 643.4 ± 26.7 | 1717.6 ± 69.6 |
| 1) 8 | | | |

図7 平均体重差の変動



1) 接種群の体重が対照群より低い場合は0とした。各週令150羽測定し、その平均値の比較、数値は1羽当りの差

表 35 ワクチンウイルスおよびMDHVの分離

| 鶏群 接種量 | ワクチン 接種量 | 日 令 | | | | | | | | | |
|-----------|-----------------|-------------------|--------------------|-------|-------|-----|-----|-----|-----|-------|-------|
| | | 1 | | 17 | | 33 | | 49 | | 67~70 | |
| | | HVT ¹⁾ | MD ²⁾ | HVT | MD | HVT | MD | HVT | MD | HVT | MD |
| 1 | 1/4 | 0/10 | 0/10 ³⁾ | 17/19 | 12/19 | 4/4 | 4/4 | | | 10/10 | 1/1 |
| | — ⁴⁾ | | | 0/20 | 12/20 | 0/4 | 4/4 | | | 0/12 | 12/12 |
| 2 | 1/4 | 0/10 | 0/10 | 16/18 | 10/18 | | | 4/4 | 4/4 | | |
| | — | | | 0/19 | 11/19 | | | 0/4 | 4/4 | | |
| 3 | 1/4 | 0/10 | 0/10 | | | 6/6 | 6/6 | | | 19/20 | 19/20 |
| | — | | | | | 5/5 | 5/5 | | | 19/20 | 19/20 |
| | — | | | | | 0/7 | 7/7 | | | 0/20 | 19/20 |

1) ワクチンウイルス

2) スレット病ウイルス

3) 介母は検査数、分子は陽性数

4) 対照、

表 36 HVT と MDHV に対する 抗体 価

| 鶏群 | ワクチン接種量 | 日 令 | | | | | |
|----|-----------------|---------|--------------------|---------|------|---------|-------|
| | | 15 ~ 17 | | 33 ~ 35 | | 45 ~ 49 | |
| | | HVT | MD | HVT | MD | HVT | MD |
| 1 | 1/4 | 8/10 | 9/10 ³⁾ | 0/20 | 0/20 | 17/20 | 18/20 |
| | — ⁴⁾ | | | 0/20 | 0/20 | 10/20 | 16/20 |
| 2 | 1/4 | 8/10 | 9/10 | 0/20 | 0/20 | 7/20 | 6/20 |
| | — | | | 0/20 | 0/20 | 4/20 | 5/20 |
| 3 | 1 | | | 1/19 | 0/19 | 15/19 | 12/19 |
| | 1/4 | 9/10 | 8/10 | 0/20 | 0/20 | 9/19 | 5/19 |
| 4 | — | | | 0/20 | 0/20 | 15/20 | 17/20 |
| | 1 | | | 0/30 | 0/30 | 1/30 | 2/20 |
| 4 | 1/2 | 18/60 | 18/60 | 2/30 | 1/30 | 0/30 | 0/30 |
| | 1/4 | 14/60 | 10/60 | 0/30 | 0/30 | 3/30 | 2/30 |
| — | — | | | 1/30 | 0/30 | 13/30 | 15/30 |
| | — | | | 0/30 | 0/30 | 15/30 | 15/30 |

1) ワクチンウイルス抗原 2) ワクチンウイルス抗原
3) 分母は検査数、分子は陽性数 4) 対照群

表 37 飼料要求率および経済計算

| 鶏群 | 774日 接種量 | 生 体 重 量 (Kg) | 総飼料量 (Kg) | 飼料要求率(差) ¹⁾ | 1羽当り の増収 |
|----|-----------------|-----------------|--------------|------------------------|---------------------|
| 1 | 1/4 | 2756.7 | 5965.5 | 21.6 (-0.10) | 19.82 ³⁾ |
| | — ²⁾ | 2570.5 | 5798.3 | 22.6 | |
| 2 | 1/4 | 1454.2 | 2674.4 | 1.84 (-0.06) | 10.23 |
| | — | 1407.4 | 2677.0 | 1.90 | |
| 3 | 1 | 1777.8 | 5000.0 | 2.81 (-0.11) | 11.91 |
| | 1/4 | 1708.5 | 4858.0 | 2.84 (-0.08) | 10.90 |
| 4 | — | 1701.7 | 4964.0 | 2.92 | |
| | 1 | 53322.3 | 126000.0 | 2.36 (-0.06) | 10.15 |
| 4 | 1/2 | 53496.9 | 124000.0 | 2.32 (-0.10) | 15.05 |
| | 1/4 | 53329.8 | 124000.0 | 2.32 (-0.10) | 14.88 |
| | — | 49933.2 | 121000.0 | 2.42 | |

- 1) 接種群の飼料要求率 - 対照群の飼料要求率
 2) 対照群
 3) 円

表 38 マクドナルドウイルスの作出および細胞フリーウイルスの出現状況

| 使用細胞 | 継代数 | 細胞数 | 培養上清 ¹⁾ | 凍結融解 ²⁾ |
|------|-----|-------|--------------------|--------------------|
| | 4 | 1000万 | — | 5 ³⁾ |
| DEF | 8 | " | — | 4×10^3 |
| CEF | 14 | " | 5 | 1.2×10^4 |
| | 26 | " | 5×10^1 | 1.9×10^5 |
| | 28 | " | 1×10^2 | 1×10^5 |
| | 38 | " | 4.2×10^3 | 2.6×10^5 |
| | 40 | " | 6.5×10^4 | 6.5×10^6 |

- 1) 培養液の遠心沈澱上清 (3000 rpm 10分)
 2) 凍結融解3回後の遠心沈澱上清
 3) PFU/ml

表39 ワクチンウイルスの安全性および抗原性

| 試験群 | 接種ウイルス量 ¹⁾ | 供試数 | 観察期間 | MD ²⁾ 発症 | 抗体出現 ³⁾ | ウイルス分離 |
|-----|-----------------------|-----|------|---------------------|--------------------|--------|
| 1 | 200 | 20 | 15 | 0 | 16/20 | 20/20 |
| 2 | 9000 | 30 | " | 0 | 24/30 | 30/30 |
| 3 | — | 20 | " | 0 | 0/20 | 10/20 |

1) PFU/羽

2) ケル淡抗体

表40 ワクチンウイルスの安全性および抗原性

| 試験群 | 接種ウイルス量 ¹⁾ | 供試数 | 攻撃 ²⁾ | 観察期間 (週) | 結果 | |
|-----|-----------------------|-----|------------------|-------------|----|--------|
| | | | | | 死亡 | MD病変出現 |
| 1 | 200 | 12 | 同居 | 15 | 0 | 0 |
| 2 | 9000 | 24 | " | " | 0 | 0 |
| 3 | — | 10 | " | " | 0 | 8 |
| 4 | 血液0.5ml ³⁾ | 14 | — | " | 0 | 9 |

1) PFU/羽

2) ワクチン接種後3週目にはSD-3株感染鶏と同居

3) SD-3株感染鶏血液・腹腔内接種

表41 ワクチンウイルスの同居感染試験

| 試験群 | 接種量 | 同居 期間 | 供試 羽数 | 剖検 所見 | ウイルス ¹⁾ 分離 | 抗体 ⁴⁾ 出現 |
|-----|--------------------|----------|----------|----------|--------------------------|------------------------|
| 接種 | 1600 ²⁾ | | 15 | 0 | 15/15 ³⁾ | 12/15 |
| 同居 | — | 33 | 15 | 0 | 0/15 | 0/15 |

1) ワクチン接種10週めの検査成績

2) PFU/羽

3) 分母は供試数、分子は陽性数

4) ターミナル内沈降抗体

表42 ワクチンウイルスの回収試験

| 接種行抗体の有無 | 接種ウイルス量 ²⁾ | 接種後日数 | | | | | |
|------------------|-----------------------|--------------------|------|----|-------|-----|-------|
| | | 7 | 12 | 14 | 21 | 34 | 42 |
| 陰性 | $10^{4.0}$ | 8/10 ³⁾ | 9/10 | | | | |
| | $10^{3.0}$ | 6/8 | 6/6 | | | | |
| | $10^{2.0}$ | 6/9 | 6/7 | | | | |
| | $10^{1.0}$ | 4/10 | 4/5 | | | | |
| 陽性 ⁴⁾ | 10^3 | 2/10 | 4/10 | — | 16/20 | 5/5 | 29/20 |

1) 腎の直接培養

2) PFU/30

3) 介母は供試数，分子は陽性数

4) 1日令時のゲル内沈降抗体陽性率70%

表 43 乾燥ワラチシの野外試馬飼

| 地区 | ワラチシ 接種日 | 鶏の種類 | 日令 | 供試数 | | |
|----|-------------|----------|----|-------|------|-------|
| | | | | 接種日 | 対照 | 計 |
| 1 | 47.1.29 | シバスタ・クロム | 1 | 3126 | 1042 | 4168 |
| 2 | 2.3 | デカルブ | 1 | 721 | 309 | 1030 |
| 3 | 2.15 | バズコック | 2 | 1923 | 710 | 2633 |
| 4 | 2.18 | デカルブ | 1 | 1896 | 720 | 2616 |
| 5 | 2.25 | デカルブ | 1 | 2718 | 800 | 3518 |
| | | | | 10384 | 3581 | 13965 |

1) 皮下接種

表 44 死亡とう汰数

| 飼群 | 特種群 | | 対照群 | | 減少率 ²⁾ |
|-----------------|-----------|-----|----------|------|-------------------|
| | 陽性数/倍試数 | % | 陽性数/倍試数 | % | |
| 1 | 72/3126 | 2.3 | 24/1042 | 2.3 | 0 $P > 0.99$ |
| 2 ³⁾ | 35/721 | 4.9 | 19/309 | 6.1 | 19.7 $P < 0.5$ |
| 3~4 | 130/3819 | 3.4 | 74/1430 | 5.2 | 34.6 $P < 0.01$ |
| 5 | 231/2718 | 8.5 | 154/800 | 19.3 | 55.8 $P < 0.001$ |
| 計 | 468/10384 | 4.5 | 271/3581 | 7.6 | 35.9 $P < 0.001$ |

1) 対照群の死亡とう汰数 E 100 といて計算

2) χ^2 -test

3) 89 日までの死亡とう汰数

表45 MD発生数

| 鶏群 | 接種群 | | 対照群 | | 減少率 ¹⁾ | 差 ²⁾ |
|-----------------|-------------|------|------------|------|-------------------|-----------------|
| | MD発生数/供試数 | % | MD発生数/供試数 | % | | |
| 1 | 10 / 3126 | 0.32 | 2 / 1042 | 0.20 | +37.5 | — |
| 2 ³⁾ | 0 / 721 | 0 | 1 / 309 | 0.32 | 100 | P<0.6 |
| 3~4 | 19 / 3819 | 0.49 | 36 / 1430 | 2.5 | 80.4 | P<0.001 |
| 5 | 88 / 2718 | 3.2 | 94 / 800 | 11.8 | 74.6 | P<0.001 |
| 計 | 117 / 10384 | 1.13 | 133 / 3581 | 3.71 | 69.7 | P<0.001 |

1) 対照群のMD発生数を100として計算

2) χ^2 -test

3) 89日令までの発生数

表46 HIVトおよびMDHVの分離

| 鶏日令 | 接種群 | | 対照群 | |
|---------|-----------------------|--------------------|---------|------------|
| | HVT ¹⁾ | MDHV ²⁾ | HVT | MDHV |
| 1 | — | — | 0/12(0) | 0/12(0) |
| 31~60 | 7/8(88) ³⁾ | 7/7(100) | 0/4(0) | 4/4(100) |
| 61~90 | 26/33(79) | 33/33(100) | 0/18(0) | 17/18(94) |
| 91~120 | 8/9(89) | 8/9(89) | 0/10(0) | 10/10(100) |
| 121~150 | 26/29(90) | 29/29(100) | 1/25(4) | 25/25(100) |

1)ワグザンウイルス 2)野アスレック病ウイルス.

3)分母は供試数,分子は陽性数,()は%.

表 47

HVTおよびMDHVゲル内沈降抗体の動き

| 鶏日令 | 培 種 群 | | 対 照 群 | |
|---------|-------------------|--------------------|-----------|-----------|
| | HVT ¹⁾ | MDHV ²⁾ | HVT | MDHV |
| 1 | — | — | 16/25(64) | 13/25(52) |
| 2~30 | 0/50(0) | 0/49(0) | 0/50(0) | 0/49(0) |
| 31~60 | 5/79(6) | 5/77(6) | 5/78(6) | 2/76(3) |
| 61~90 | 14/60(23) | 4/53(8) | 5/60(8) | 4/53(8) |
| 91~120 | 27/41(66) | 27/42(64) | 21/35(60) | 24/36(67) |
| 121~150 | 46/64(72) | 38/64(60) | 41/56(73) | 34/56(61) |

1) フクザシウイルス 2) 野外スレック病ウイルス

3) 分母は供試数, 分子は陽性数, ()内は%

表 48 ^N HVT および NDV B₁ 株の干渉

| 接種種 | HVT 接種後の日数 | | | | | |
|---------|------------|-----|-----|-----|-------|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 6 | 12 |
| ウイルス | | | | | | |
| HVT-NDV | 3/3 | 3/3 | 8/8 | 4/4 | 12/12 | 2/2 |
| NDV | 2/2 | 2/2 | 2/2 | 2/2 | 2/2 | 3/3 |
| 不接種対照 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 |

1) 血球凝集を抑制した平板 / 供試平板数

供試細胞 CEK
供試ウイルス 648-15
HVT 10,000 PFU/平板
NDV B₁ 株 10^{6.0} TCID₅₀/平板

表49 混合ワクチンに対するDMSOの影響

| ワックス | DMSO ¹⁾ | HVT | 感 染 | 価 ²⁾ |
|------|--------------------|------|-----|-------------------|
| | | | | NDV |
| 混合 | 5 ^(%) | 1500 | | 10 ^{9.6} |
| 混合 | 7.5 | 1820 | | 10 ^{9.5} |
| 混合 | 10 | 1460 | | 10 ^{9.0} |
| 混合 | 15 | 1540 | | 10 ^{9.5} |
| HVT | 10 | 1620 | | |
| NDV | 0 | | | 10 ^{9.5} |

1) Dimethylsulfoxide.

2) 液体窒素内に1カ月間保存後測定

HVT PFU/10⁵ NDV TCID₅₀/70³-9³-1³

表50 混合ワグワグの安全性

接種反応

| 混合 ワグワグ 日令 | 接種 部位 ²⁾ | 羽数 | 接種後 日 数 | | | | | | | | | | | | | | 平均体重 ⁴⁾ | |
|------------------|------------------------|----|---------|---|---|---|---|---|-----------------|---|---|----|----|----|----|----|--------------------|-----|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 9 | 14 |
| 混合 | SC | 5 | - | - | - | - | - | - | 1 ³⁾ | 1 | 1 | - | - | - | - | - | 52 | 107 |
| | ND | SC | 5 | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | 55 | 111 |
| | IN | 5 | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 2 | 1 | - | 1 | - | - | - | 53 | 92 |
| 0 | " | DW | 5 | - | - | - | 2 | 2 | 2 | 5 | 2 | 2 | 1 | 1 | - | - | NT | 89 |
| 対照 | - | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 56 | 102 |
| 混合 | SC | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 73 | 125 |
| | ND | SC | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 65 | 108 |
| | IN | 5 | - | - | - | - | 2 | 3 | 4 | 4 | 4 | - | - | - | - | - | 68 | 103 |
| 4 | " | DW | 4 | - | - | - | 1 | 2 | 2 | 3 | 2 | - | - | - | - | - | 64 | 96 |
| 対照 | - | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 75 | 110 |

1) 接種ウイルス量/羽: 混合ワグワグ ND $10^{6.5}$ EID₅₀, MD(HVT) 1600PFU ND 単味ワグワグ $10^{6.5}$ EID₅₀

2) SC:皮下 IN:点鼻 DW:飲水 3) 反応を示した数 4) 9:9日目 14:14日目に測定

供試鶏: 化血研SPF混合 45羽

表51 混合ワケチンの安全性
病理組織学的所見

| 接種 後 日 令 | 0 日 令 | | | | | 4 日 令 | | |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 混合:SC | ND:SC | ND:IN | MD:SC | 対 照 | 混合:SC | ND:IN | MD:SC |
| 3 | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R |
| 6 | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R |
| 9 | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R |
| 12 | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R |
| 15 | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R |
| 18 | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R |
| 21 | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R | L T R |

—: 変化なし

T: 気管

R: 鼻

+: 軽度の上皮細胞増殖, ごく軽度のリンパ様細胞浸潤

+: 上皮細胞増殖(上皮の増殖)上皮の剥離, 粘液の分泌, 固有層等のリンパ様細胞浸潤等

NT: 検査せず

表 52 混合ワクチンの免疫効果

SPHひな、接種試験

| ワクチン 接種 部位 | N | | D | | H V T | | M D | |
|------------------|--------------------|---|--------------------|-------------------|----------------------|------------------|-----|--|
| | HI 価 ¹⁾ | D | 攻撃試験 ²⁾ | 中和価 ³⁾ | ウイルス回収 ⁴⁾ | 攻撃試験 | | |
| 混合 腹腔 | 140 (32~256) | | 18/18 100 | 31(4~256) | 12/12 100 | 5/5 100 | | |
| 混合 筋肉 | 115 (16~256) | | 16/16 100 | 22(6~85) | 9/11 82 | NT ⁵⁾ | | |
| 混合 皮下 | 80(4~256) | | 23/23 100 | 27(5~256) | 15/17 88 | 6/7 86 | | |
| N D 点鼻 | 54(16~256) | | 29/29 100 | <4 | NT | 1/5 20 | | |
| HVT 皮下 | NT | | NT | 48(6~256) | 6/7 86 | 7/8 88 | | |
| 対照 | 2(2~8) | | 0/9 0 | <2 | NT | 1/5 20 | | |

- 1) 幾何平均HI価 ()内はバラツキ
 2) 分母供試数、分子耐過数、数字は耐過率
 3) 幾何平均中和価 ()内はバラツキ
 4) 分母供試数、分子分離数、数字は分離率
 5) 実施せず
 (1) ワクチン接種後3~5日目の値

表53 混合ワクチンの免疫効果
移行抗体保有率の接種試験

| 鶏群 | 7777 | 0日目 | | HI価 | ND | 攻撃試験 | 3週間 | |
|----|------|------------|--------------------------------|----------|------------|--------------------------------|------------|-----|
| | | ND | HVT | | | | 中和価 | HVT |
| 混合 | | | | | | | | |
| | ND | 16(13~24) | 3 ¹ / ₄ | 81 | 46(16~128) | 2 ¹ / ₃ | 70 | |
| | HVT | 11(2~64) | 1 ¹ / ₂ | 92 | NT | NT | NT | |
| | 対照 | 5.4(2~16) | 46(20~128) | 1.7(2~4) | 0/7 | 0 | 74(32~128) | 4/5 |
| 混合 | | | | | | | | |
| | ND | 10(2~256) | 2 ³ / ₃₂ | 72 | 59(4~256) | 2 ⁴ / ₂₄ | 100 | |
| | HVT | 6(2~16) | 1 ⁰ / ₁₅ | 66 | <4 | NT | NT | |
| | 対照 | 3.1(2~4) | 0/3 | 0 | 7(5~10) | NT | NT | |
| 混合 | | | | | | | | |
| | ND | 3.2(2~256) | 2 ⁴ / ₉ | 62 | 37(4~128) | 2 ³ / ₂₉ | 75 | |
| | HVT | 1.4(2~16) | 2 ³ / ₄₂ | 52 | NT | NT | NT | |
| | 対照 | 1.1(2~2) | 0/6 | 0 | 46(16~128) | 3/5 | 60 | |

(1) 供試した市販の混合ワクチン

(2) 表中の条件は表52と同一

表 54 混合ワクチンの免疫効果
移行抗体保有率、接種部位の比較試験

| 接種部位 | 0日 今 | | 3 週 今 | | ワクチン回収 |
|------------------------|-------------|------|-------|-------------|---------|
| | ND | HVT | ND | HVT | |
| ワクチン | HI価 | 中和価 | HI価 | 中和価 | |
| 混合 腹腔 | | | | | |
| ND | 4.5(2~256) | 1/2 | 83 | 55 (36~128) | 6/9 77 |
| | 1.4(<2~16) | 4/8 | 50 | NT | NT |
| 混合 皮下 | | | | | |
| ND | 2.9(<2~16) | 6/13 | 46 | 15 (4~128) | 7/10 70 |
| | 1.3(<2~2) | 3/11 | 18 | NT | NT |
| 73(2~256) 100 (49~128) | | | | | |
| 混合 筋肉 | | | | | |
| ND | 2.3(<2~128) | 8/4 | 57 | 63 (19~128) | 9/10 90 |
| | 1.5(<2~16) | 5/12 | 42 | NT | NT |
| HVT 皮下 | | | | | |
| | 1.1(<2~2) | % | 0 | 46 (16~128) | 3/5 60 |
| 対照 | | | | | |
| | 1.1(<2~2) | % | 0 | 9 (4~128) | NT |

- (1) 供試鶏 市販 0日 今 今 今
(2) 表中の条件は表 52 と同じ

表55 ワクチン接種後のウイルス回収試験

| ワクチン | 接種後日数 | | | | |
|------|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 |
| 混合 | $\frac{3}{10}$ ¹⁾ (30) | $\frac{8}{7}$ (86) | $\frac{9}{10}$ (90) | $\frac{10}{10}$ (100) | $\frac{9}{10}$ (90) |
| MD | $\frac{3}{10}$ (30) | $\frac{10}{10}$ (100) | $\frac{10}{10}$ (100) | $\frac{10}{10}$ (100) | $\frac{9}{10}$ (90) |

1) 分母 供試数 分子 回収数 数字は回収率

供試品: SPF 0日令 100羽 分離材料: 血液

接種ウイルス量: 混合ワクチンNDV $10^{6.5}$ EID₅₀/羽, MD(HVT) 1600PFU/羽
単味ワクチンMD(HVT) 1600PFU/羽

表 56 NDワクチン再接種試験

| ワクチン 接種日令 | | | 日 令 | | | | | |
|------------------|---------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| | | | 14 | 28 | 42 | 56 | 70 | 84 |
| 混合 ¹⁾ | 0-14 | HI価 | 7 | 64 | 75 | 58 | 42 | 19 |
| | | 耐過率 | 60 | 100 | 100 | 100 | 80 | 75 |
| ND ²⁾ | 0-14 | HI価 | 9 | 95 | 95 | 83 | 26 |) |
| | | 耐過率 | 80 | 100 | 100 | 100 | 80 | |
| 混合 | 0-28 | HI価 | 7 | 6 | 128 | 205 | 110 | |
| | | 耐過率 | 60 | 60 | 100 | 100 | 100 | |
| ND | 0-28 | HI価 | 9 | 10 | 166 | 205 | 118 | |
| | | 耐過率 | 80 | 80 | 100 | 100 | 90 | |
| 混合 | 0-14-28 | HI価 | 7 | 64 | 55 | 128 | 58 | 46 |
| | | 耐過率 | 60 | 100 | 100 | 100 | 90 | 100) |
| ND | 0-14-28 | HI価 | 9 | 95 | 51 | 72 | 92 | 20 |
| | | 耐過率 | 80 | 100 | 100 | 100 | 100 | 62 |
| 対照 | | HI価 | 1.2 | 4 | 2.5 | 12 | 6 | 5 |
| | | 耐過率 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

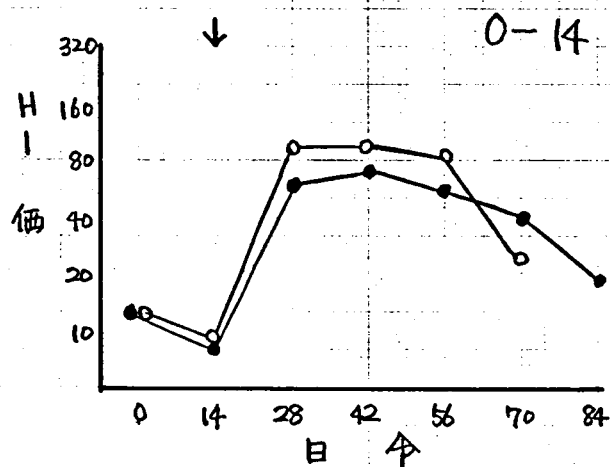
1) 初回(0日令) 混合ワクチン 14および28日令に1~2回 ND単味スプレー投与

2) 初回(0日令) ND単味点鼻 14および28日令に1~2回 ND単味スプレー投与

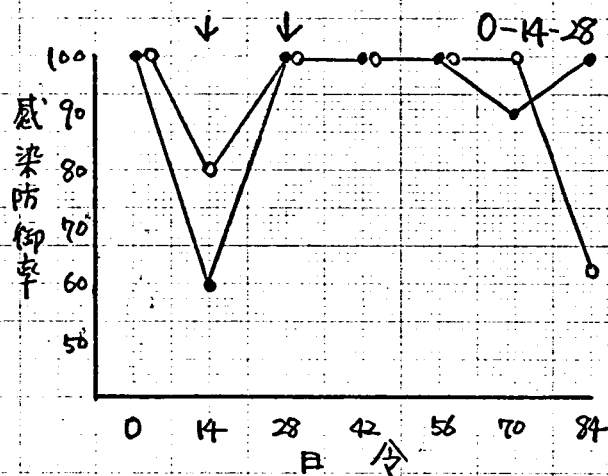
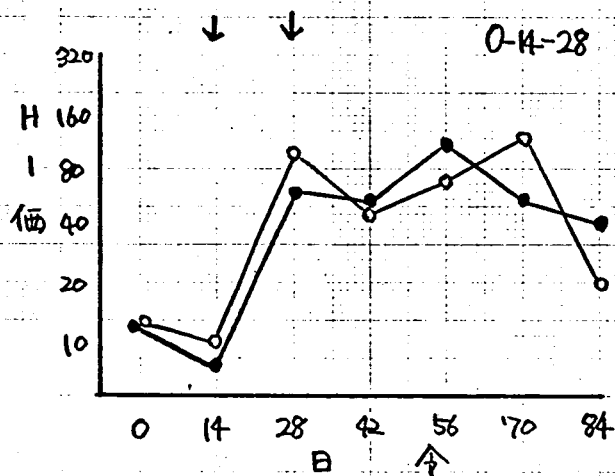
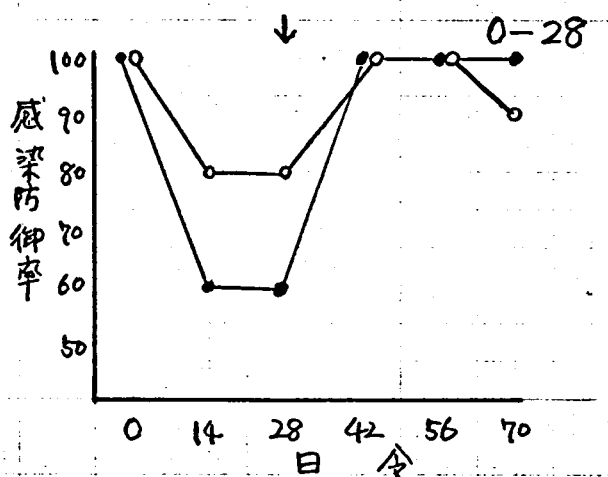
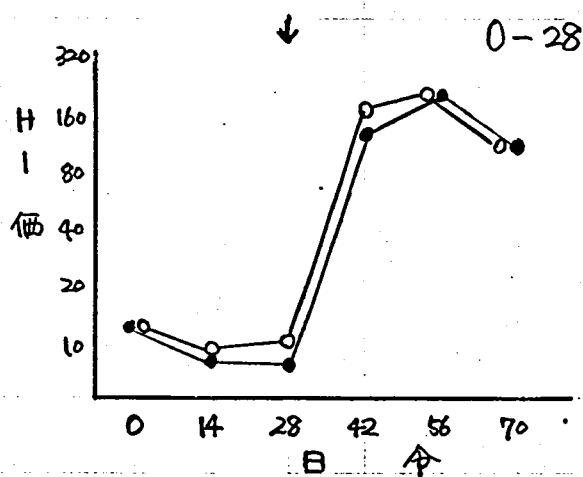
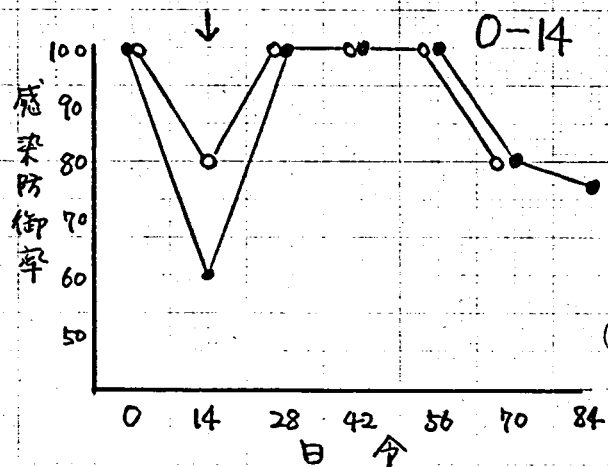
(1) 供試鶏 市販 0日令ヒナ. 移行HI抗体価 13倍

図8 NDワクチン再接種試験

H I価



感染防御率



● 初回混合ワクチン
○ 初回 ND ワクチン

↓はND単味スプレー投与

③

表57 混合ワケチの同居感染(市販ひな)

| ワケチ 接種 羽数 | 接種後同居 までの日数 | 同居 羽数 | ND | | HVT | | | |
|-----------------|----------------|----------|------------|------|-----|----------|-----|----|
| | | | HI価 | 攻撃試験 | 中和価 | ウイルス回収 | | |
| 混合 | 0 | 10 | 3.1(2~8) | 0/5 | 0 | <4 | 1/5 | 20 |
| 混合 | 5 | 10 | 2.3(2~4) | 0/4 | 0 | 9(<4~37) | 0/3 | 0 |
| 混合 | 10 | 5 | 3.1(2~4) | 0/3 | 0 | 4.6(4~5) | 0/2 | 0 |
| ND | 0 | 5 | 12 (4~128) | 4/5 | 80 | NT | | NT |
| ND | 5 | 5 | 7.0(2~16) | 3/5 | 60 | NT | | NT |
| ND | 10 | 5 | 3.3(2~4) | 1/5 | 20 | NT | | NT |

(1) 供試ひな 市販 0日今ヒナ 接種 HI価 13倍 ND中和価 16倍

(2) 接種部位 混合 腹腔内 ND 点鼻

(3) 成績は同居後3週目の値

(4) 表中の条件は1表と同じ

表 58 混合ワクチンの同居感染 (SPF 雛)

| ワクチン | 接種羽数 | 接種後同居日数 | 同居羽数 | MD (HVT) | | N D | |
|------------------|------|---------|------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------------|
| | | | | ウイルス沈 | 回収 | HI 価 | 攻撃試験 |
| 混合 ³⁾ | 23 | 0 | 5 | $\frac{0}{5}$ ¹⁾ | $\frac{0}{5}$ ¹⁾ | 2.3(2-4) ²⁾ | $\frac{0}{4}$ ¹⁾ 0 |
| | | 5 | 5 | $\frac{0}{5}$ | $\frac{0}{5}$ | 2.3(2-4) | $\frac{1}{5}$ 20 |
| | | 10 | 5 | $\frac{0}{5}$ | $\frac{0}{5}$ | 3.0(2-4) | $\frac{0}{5}$ 0 |
| | | 15 | 5 | $\frac{0}{5}$ | $\frac{0}{5}$ | 4.0(4-4) | $\frac{0}{4}$ 0 |
| ND ⁴⁾ | 22 | 0 | 5 | N T | | 13 (2-32) | $\frac{1}{1}$ 100 |
| | | 5 | 5 | | | 22 (16-32) | $\frac{4}{4}$ 100 |
| | | 10 | 5 | | | 37 (2-64) | $\frac{2}{4}$ 50 |
| | | 15 | 5 | | | 8 (2-16) | $\frac{1}{3}$ 33 |

1) 分母供試数, 分子は陽性または耐過数

2) 幾何平均値 () 内はばらつき

3) MD(HVT) 1600PFU, NDV $10^{6.5}$ EID₅₀/羽

4) NDV $10^{6.5}$ EID₅₀/羽

供試鶏: 化血研 SPF 雛 100羽 接種部位 混合 SC ND 単味 IN

攻撃試験: NDV 佐藤株 10000MLD/羽 筋肉内接種

成績は同居後3週目の値

表59 混合ワクチンの野外応用試験

| 実験 鶏群 | 供試 羽数 | 接種 方法 | 接種 後 反応 | 体重 | | ワクチン 回収率 | | NDHI価 | | 死亡羽数 | | | | 育成 率 | |
|-----------------|----------|---------------------------|---------------|-------------------|-----|---------------------|-------|--------------------------|----------|----------|----|----|----|---------|------|
| | | | | 2週 ³⁾ | 4週 | 2週 | 4週 | 接種前 | 2週 | 4週 | 1 | 2 | 3 | | 4(用) |
| 1 ¹⁾ | 936 | 0 混合 ¹⁴ N.B | — | 109 ⁴⁾ | 228 | 10/10 ⁵⁾ | 9/9 | 115(8~256) ⁶⁾ | 10(4~32) | 23(4~64) | 8 | 12 | 11 | 6 | 96.1 |
| 2 ²⁾ | 2078 | 0 混合 | — | 110 | 231 | 9/9 | 10/10 | 61(8~256) | 17(4~64) | 11(4~32) | 7 | 8 | 4 | 8 | 98.8 |
| | 2078 | 0 MD | — | 108 | 229 | 5/5 | 5/5 | 61(8~256) | 8(4~16) | 3(4~8) | 10 | 6 | 6 | 7 | 98.6 |

1) 接種場所 熊本県菊池郡大津町 1 養鶏場

バブコック 混合ワクチン Lot 5

2) 接種場所 熊本県山鹿市 Y 養鶏場

" " "

3) 接種後の追放

4) 20羽の平均体重(g)

5) 回収数/供試数

6) 20羽の平均値()内は標準誤差

7) 0-混合: 0日令混合ワクチン皮下接種

14NB: 14日令ND・IB混合ワクチン 飲水接種

0-MD: 0日令MD単味ワクチン 皮下接種