

# Bb 不活化ワクチンと Pm トキソイドワクチンの併用接種による豚萎縮性鼻炎の予防効果

北崎宏平・山本英二<sup>1)</sup>・村上徹哉・大和碩哉・今村和彦<sup>2)</sup>  
(畜産研究所)

豚の萎縮性鼻炎 (AR) の予防法として、母豚と子豚に *Bordetella bronchiseptica* 不活化ワクチンと *Pasteurella multocida* トキソイドワクチンを併用接種する場合のより効果的な接種方法を明らかにするため、肥育豚を母子免疫区 (母豚に Bb 不活化ワクチン 1 回、Pm トキソイドワクチン 2 回、子豚時に Pm トキソイドワクチン 2 回接種)、母免疫区 (母豚に Bb 不活化ワクチン 1 回、Pm トキソイドワクチン 2 回接種、子豚時の接種なし)、対照区 (母豚に Bb 不活化ワクチン 1 回接種、子豚時の接種なし) で比較した。その結果、母子免疫区の肥育豚は、予防に有効な Pm-DNT 中和抗体価を肥育後期の 21 週齢まで維持した。さらに母子免疫区の肥育豚は、対照区と比べて鼻甲介骨病変が有意に低減した ( $P < 0.05$ )。以上のことから、AR 予防に最も効果的なワクチン接種法は母子免疫法であることが明らかとなった。

[キーワード: 豚萎縮性鼻炎, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, ワクチン, 抗体価]

The Effect of the Combined Vaccination of *Bordetella bronchiseptica* Inactivated Vaccine and *Pasteurella multocida* toxoid vaccine against Atrophic Rhinitis. KITAZAKI Kouhei, Eiji YAMAMOTO, Tetsuya MURAKAMI, Hiroya YAMATO and Kazuhiko IMAMURA (Fukuoka Agricultural Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 20: 101-104 (2001)

This study was conducted to decide a better procedure of vaccination of the *Bordetella bronchiseptica* inactivated vaccine and *Pasteurella multocida* toxoid vaccine against Atrophic Rhinitis. A Sow-piglet immunity group (sow: inoculated with Bb inactivated vaccine once, Pm toxoid vaccine twice, piglet: inoculated with Pm toxoid vaccine twice.) and a Sow immunity group (sow: inoculated with Bb inactivated vaccine once, and Pm toxoid vaccine twice, piglet: no vaccination) were compared with a control group (sow: inoculated with Bb inactivated vaccine once, piglet: no vaccination). As a result, piglets of the Sow-piglet immunity group maintained effective Pm-DNT neutralizing antibody titer at phylaxis to the final fattening stage. Furthermore, the levels of turbinate atrophy were reduced significantly in the piglets of the Sow-piglet immunity group compared with those in the groups of the Sow immunity and the control. Therefore, the best administration procedure of vaccination against Atrophic Rhinitis was determined to be brought about by Sow-piglet immunity procedures.

[Key words: atrophic rhinitis, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, vaccine, antibody titer]

## 緒言

豚萎縮性鼻炎 (AR) はくしゃみ、鼻汁などの急性カタル性鼻炎を初期症状とし、次第に鼻甲介の形成不全や萎縮による“鼻曲がり”や鼻出血へと進行し、さらに肺炎等の呼吸器の二次感染が起こりやすく、発育遅延や飼料効率の低下をもたらす慢性呼吸器疾患である。その伝播は咳やくしゃみの飛沫や鼻端の接触による母豚から子豚への垂直感染と、子豚同士の水平感染であり、その蔓延は養豚経営に大きな被害をもたらす<sup>6, 19)</sup>。

従来、AR の発症は *Bordetella bronchiseptica* (Bb) が原因菌と考えられ<sup>12, 14)</sup>、我が国では予防のため母豚に Bb 不活化ワクチンを接種し、初乳中の移行抗体を介して子豚に免疫賦与する方法が行われてきたが、必ずしも十分な効果は得られていなかった。近年、AR による鼻甲介骨の萎縮は Bb と混合感染した *Pasteurella multocida* (Pm) が産生する皮膚壊死毒素 (DNT) の作用で骨芽細胞が変性・壊死し、生体由来の破骨細胞が活性化して骨融解をもたらすことにより、強い症状を呈す

ことが明らかとなり<sup>1, 2, 4, 13)</sup>、我が国の AR 疫学調査においても AR 発症農場の豚から Bb と Pm が高率に分離され、これらの混合感染が広がっていることが認められた<sup>15, 16)</sup>。そこで、Bb と Pm に対する感染対策として、Bb 不活化ワクチンと Pm トキソイドワクチンを併用接種する場合のより効果的な接種方法について検討した。

## 材料および方法

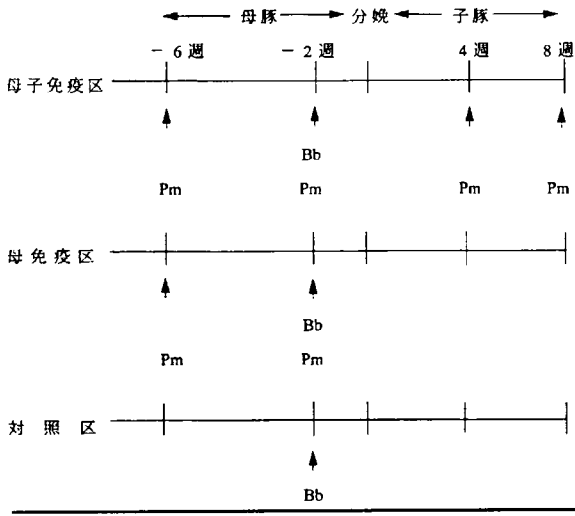
予防接種に使用したワクチンは、AR 原因菌である Bb 赤血球凝集素を主成分とする油性不活化ワクチンと、Pm から生成された DNT を主成分とするトキソイドワクチンを用いた。

### 1 試験区分

試験区分はワクチン接種法の違いにより母子免疫区、母免疫区、対照区の 3 区とし、試験期間は試験豚の体重が 105kg に到達した後のと畜検査までとした。母子免疫区では、母豚に Bb 不活化ワクチンを分娩前 2 週に 1 回、Pm トキソイドワクチンを分娩前 6 週と 2 週の 2 回接種し、子豚時に Pm トキソイドワクチンを 4 週齢と 8 週齢に 2 回接種した。母免疫区では、母豚は Bb 不活化ワクチンを分娩前 2 週に 1 回、Pm トキソイドワクチンを

1) 現筑豊家畜保健衛生所 2) 現中央家畜保健衛生所

分娩前6週と2週の2回接種し、子豚時はワクチンを接種しなかった。また、対照区では分娩前2週の母豚にBb不活化ワクチンのみを1回接種し、子豚時にはワクチンを接種しなかった(第1図)。



第1図 試験構成

2 調査項目と方法

子豚の血清中Bb抗体価, Pm-DNT中和抗体価, と畜時までの肥育成績, と畜体の鼻甲骨と肺の病理所見を調査した。

抗体価測定用の血液は3, 7, 11, 21週齢時に頸静脈より採血し, 遠心分離器(3000回転, 20分)を用いて血清を分離した後, 検査に供するまで-80℃で凍結保存した。Bb抗体価はAR凝集反応抗原の市販品を用い, 定法に従って測定した。96穴マイクロプレート上でリン酸緩衝食塩液を用いて2段階希釈した被検血清0.05mlに50倍希釈したBbH-16株の凝集反応抗原0.05mlを加え, 37℃の恒温器内に2時間, さらに4℃の保冷庫に1昼夜おいた後, 明らかな凝集が見られた血清の最大希釈倍数を抗体価として判定した。また, Pm-DNT中和抗体価の測定はPm-DNT中和試験<sup>1)</sup>を実施した。96穴マイクロプレート上でEagle's minimum essential medium (EMEM)を用いて2段階希釈した被検血清0.05mlに等量のPm-DNT液(8EBL単位/0.05ml)を加え, 37℃の恒温器内に1時間置き, さらに

牛胎児胚細胞浮遊液(25万個/ml)0.1mlを加え, 37℃のCO2恒温器内器で培養し, 3日目と5日目にCPE(細胞変性効果)を観察, CPEが認められなくなる最大血清希釈倍数を中和抗体価とした。

鼻甲骨の病理所見は, と畜体の第1臼歯と犬歯の間で鼻部を切断し, 鼻甲骨萎縮の程度をMaedaら<sup>2)</sup>の方法に従って正常, 軽度, 中程度, 重度, 極度に分類した。また, 肺病変所見はTRACクリニック法<sup>3)</sup>で病変割合を肉眼的に分類した。

ワクチン接種方法の違いによる肥育成績を比較するために, 105kg到達日齢と1日平均増体量を測定した。

結果

BbとPmの野外株感染による鼻出血, 鼻曲がりなどの明らかなAR症状を示した豚は, いずれの区においても見られなかった。

母豚へのBb不活化ワクチン接種による子豚血清中凝集抗体価(GM値)は, 3週齢時において母子免疫区1810, 母免疫区2348, 対照区1560と比較の高い値を示したが, 7週齢時では母子免疫区296, 母免疫区247, 対照区195と急激に低下し, 肥育後期の21週齢では10前後まで低下した。なお, 各週齢とも各区間のBb凝集抗体価に有意な差は認められなかった。

Pm-DNT中和抗体価(GM値)は3週齢時において母子免疫区59, 母免疫区83, 対照区3と母子免疫区と母免疫区が対照区と比べて有意に高い値を示した。7週齢時では母子免疫区13, 母免疫区13といずれも対照区の1と比べて有意に高い値を示した。肥育中期の11週齢時においては, 母子免疫区は子豚へのPmトキソイドワクチンの2回接種により99と能動免疫を獲得し, 母免疫区10, 対照区1に比べて有意に高い値を示した。さらに, 肥育後期の21週齢では, 母子免疫区13, 母免疫区1, 対照区1と母子免疫区が他の2区よりも有意に高い値を示した。(第1表)

と畜体の鼻甲骨病理所見では, 正常所見は母子免疫区66.7%, 母免疫区47.1%, 対照区14.2%であり, 母子免疫区と対照区の間で有意差が認められた(第2表)。

また, と畜体の肺病理所見では, 正常所見は母子免疫区77.8%, 母免疫区58.8%, 対照区28.6%であり, 有意差は認められなかったが, 母子免疫区は対照区に比べて軽減する傾向が認められた(第3表)。

第1表 子豚血清中抗体価の推移

| 抗体価    | 試験区  | 頭数 | 抗体価 (GM値)       |                 |                 |                 |
|--------|------|----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|        |      |    | 3週令             | 7週令             | 11週令            | 21週令            |
| Bb     | 母子免疫 | 8  | 1810            | 296             | 80              | 11              |
|        | 母免疫  | 8  | 2348            | 247             | 73              | 13              |
|        | 対照   | 7  | 1560            | 195             | 44              | 10              |
| Pm-DNT | 母子免疫 | 8  | 59 <sup>a</sup> | 13 <sup>a</sup> | 99 <sup>a</sup> | 13 <sup>a</sup> |
|        | 母免疫  | 8  | 83 <sup>a</sup> | 13 <sup>a</sup> | 10 <sup>b</sup> | 1 <sup>b</sup>  |
|        | 対照   | 7  | 3 <sup>b</sup>  | 1 <sup>b</sup>  | 1 <sup>c</sup>  | 1 <sup>b</sup>  |

1) 抗体価は幾何平均値 (GM値) で表示  
 2) 縦列異符号間に有意差 (p < 0.01) あり (Mann - Whitney's Utest)

第2表 と畜体の鼻甲介骨病理所見

| 試験区  | 頭数 | 鼻甲介骨病変の程度と頭数          |         |         |         |
|------|----|-----------------------|---------|---------|---------|
|      |    | 正常                    | 軽度      | 中程度     | 重度      |
| 母子免疫 | 18 | 12(66.7) <sup>a</sup> | 4(22.2) | 2(11.1) | 0       |
| 母免疫  | 17 | 8(47.1)               | 6(35.3) | 3(17.6) | 0       |
| 対照   | 7  | 1(14.2) <sup>b</sup>  | 2(28.6) | 2(28.6) | 2(28.6) |

1) 縦列異符号間に有意差 (p &lt; 0.05) あり (Fisher's exact probability test)

2) ( ) はパーセント

第3表 と畜体の肺病理所見

| 試験区  | 頭数 | 正常 (0)   | ≤ 10%   | ≤ 20%   | ≤ 30%   |
|------|----|----------|---------|---------|---------|
| 母子免疫 | 18 | 14(77.8) | 1(5.6)  | 1(5.6)  | 2(11.0) |
| 母免疫  | 17 | 10(58.8) | 3(17.6) | 3(17.6) | 1(6.0)  |
| 対照   | 7  | 2(28.6)  | 1(14.3) | 1(14.3) | 3(42.8) |

1) ( ) はパーセント

肥育成績では、いずれの区の間にも105kg到達日齢、1日平均増体量とも有意差は認められなかった(第4表)。

第4表 肥育成績

| 試験区  | 頭数 | 105kg到達日齢(日) | 1日平均体重(g) |
|------|----|--------------|-----------|
| 母子免疫 | 16 | 167±13       | 643±52    |
| 母免疫  | 16 | 166±12       | 647±50    |
| 対照   | 7  | 167±9        | 635±41    |

1) 平均値±標準偏差

## 考 察

ARは生後早い時期に原因菌の感染を受けるほど発症率が高く、より強い慢性経過を呈する<sup>6, 19)</sup>。従って、ワクチン接種によってARを予防するためには、子豚が原因菌に対する抵抗性を獲得するまで予防に十分な抗体価を維持する必要がある。今回の結果では、母豚へのBb不活化ワクチン接種により、子豚の移行抗体価はいずれの区においても3週齢では概ね必要な抗体価を維持しているが、7週齢において、すでに195~296まで低下しており、予防効果の低下が懸念される。一般的にBbに関しては2000前後の凝集抗体価を9週齢まで維持する必要があるとされているが、移行抗体のみで子豚時に2000前後の高い抗体価を3週齢以降まで維持することは困難であることが報告されている<sup>9, 10)</sup>。さらに、新生子の免疫応答は、移行抗体中の免疫血清IgGのフィードバック調節作用により抑制される<sup>9)</sup>ことが知られおり、子豚時にBb不活化ワクチンを接種しても抗体価が上昇しない<sup>11)</sup>ため、実際に接種は行われていない。

また、Pmトキソイドワクチンの接種については、母子免疫区の肥育豚は移行抗体と能動免疫獲得により肥育後期の21週齢まで十分な中和抗体価を維持できた。しかし、母免疫区の肥育豚は移行抗体により肥育中期の11週齢までは十分な中和抗体価を維持したものの、肥育後期の21週齢では1まで低下した。さらに、対照区では母豚からの移行抗体がなく、子豚時の能動免疫獲得もないことから抗体価はほとんど上昇しなかった。一般的に、Pmに関しては2以上の中和抗体価を15週齢前後ま

で維持する必要がある<sup>3, 18)</sup>とされているため、母免疫区と対照区の肥育豚は、より重度のAR発症の危険性が高まると考えられる。なお、対照区の3週齢時にPm-DNT中和抗体価がわずかに上昇しているが、これは母豚がPm野外株に不顕性感染して免疫を獲得したことによる子豚への移行抗体価が測定されたものと推察される。

と畜体の病理所見において、鼻甲介骨病変が最も少なかったのは母子免疫区の肥育豚であり、このことは肥育後期までPm-DNT抗体価を維持したためであると考えられ、特に肥育中期以降のPm-DNT抗体価の維持が重要であることを示している。肺の病理所見でも母子免疫区の肥育豚の病変が少なくなる傾向が認められたのは、鼻甲介骨病変の軽減による正常な鼻腔内構造の維持が細菌、ウイルス等の経気道感染に対する予防効果を高めたためと考えられる。ただし、ワクチン接種法の違いにより肥育成績に差が認められなかったのは、いずれの区においても重度のAR症状を呈する個体がいなかったためであり、AR汚染が広がっている場合には母子免疫による予防効果が期待できる。

以上のことから、母豚に対しBb不活化ワクチンを分娩前2週の1回、およびPmトキソイドワクチンを分娩前6週と2週の2回接種し、子豚に対してはPmトキソイドワクチンを4週齢と8週齢の2回接種する母子免疫法は、より効果の高い豚のAR予防法であることが明らかとなった。また、重度のAR発症がほとんど認められない當場においても母子免疫法により鼻甲介骨や肺の病変の発生率が低減したことから、AR予防のためには母子免疫法を実施することが推奨される。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、Pm-DNT中和試験を実施していただいた(財)化学及血清療法研究所菊池研究所病性鑑定センターの秋山俊介氏および関係職員の皆様に深謝します。

## 引用文献

1) Chanter, N., Magyar, T., Rutter, J. M. (1989) :

- Res.Vet.Sci. **47** : 48 - 53
- 2) de Jong, M. F., Akkermans, J. P. W. M. (1986) : Investigation into the pathogenesis of atrophic rhinitis in pigs. Vet. Quart. **8** : 204 - 214
  - 3) de Jong, M. F. (1992) : (Progressive) Atrophic rhinitis. In Disease of swine. Iowa State University Press. : 414 - 435
  - 4) Elling, F., Pedersen, K. B. (1986) : 豚における毒素産生性 *Pasteurella multocida* による持続性鼻甲介萎縮の病理発生. 日獣会誌 **39** (4) : 225
  - 5) Ivan Roitt, Jonathan Brostoff, David Male (1995) : 免疫学イラストレイテッド (原書第3版). 多田富雄監訳. 東京 : 南江堂. PP125 - 138
  - 6) 石川整 (1999) : 萎縮性鼻炎. 豚病学 (第4版). 東京 : 近代出版. PP286 - 294
  - 7) 小林糾 (1986) TRAC クリニックについて. 獣医界. **127** : 26 - 31
  - 8) Maeda, M., Inui, S., Konno, S. (1969) : Lesions of nasal turbinates in swine atrophic rhinitis. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. **9** : 193 - 202
  - 9) 輿水馨 (1979) : 母子免疫の機序. 豚の萎縮性鼻炎. 東京 : 文永堂. PP86 - 88
  - 10) 中瀬安清 (1987) : 萎縮性鼻炎. 豚病学 (第3版). 東京 : 近代出版. PP407 - 416
  - 11) 中瀬安清 (1974) : 豚ボルデテラ感染症予防液. 動物のワクチン. 北里研究所編東京 : 養賢堂. PP111 - 123
  - 12) 尾形学・輿水馨・清水健他 (1979) : 豚の萎縮性鼻炎. 東京 : 文永堂. PP1 - 44
  - 13) Rutter, J. M., Rojas, X. (1982) : Vet Rec. **110** : 531 - 535
  - 14) Sawata, A., Nakai, T., Tsuji, M. (1984) : Dermonecrotic activity of *Pasteurella multocida* strains isolated from pigs in Japanese field. J. Vet. Sci. **46** : 141 - 148
  - 15) Sakano, T., Taneda, A., Okada, M., et al (1992) : J. Vet. Med. Sci. **54** : 403 - 407
  - 16) 牛島稔大 (1994) : 豚萎縮性鼻炎の疫学調査. 動物用生物学的製剤協会報. **27** : 10 - 19
  - 17) 牛島稔大・長尾和哉・河合透・高瀬公三・山田進二 (1996) : 野外豚の *Pasteurella multocida* 皮膚壊死毒素中和抗体の保有状況. 化血研所報黎明. **5** : 42 - 48
  - 18) 牛島稔大・永野理恵・河合透・酒井英史・本田隆・種子野章 (1991) : パスツレラ・マルトシダ DNT トキソイド免疫豚およびモルモットに対する攻撃試験. 第112回日本獣医学会講演要旨集. 岐阜 : P105
  - 19) 山本孝史 (1989) : 萎縮性鼻炎. 獣医伝染病学 (第3版). 東京 : 近代出版. PP251 - 253