

鶏コクシジウム症の免疫学的予防の試み

誌名	鶏病研究会報
ISSN	0285709X
著者	大永, 博資
巻/号	26巻増刊号
掲載ページ	p. 37-46
発行年月	1990年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



鶏コクシウム症の免疫学的予防の試み

Approach of Prophylactic Immunization in Chicken Coccidiosis— A review

大 永 博 資

財団法人 日本生物科学研究所, 〒198 東京都青梅市新町 2221-1

Hiroshi ONAGA

Nippon Institute for Biological Science, 2221-1 Shinmachi,
Ome, Tokyo 198

はじめに

従来、鶏コクシウム症の予防は主として薬剤の使用に依存されてきた。しかし、薬剤には耐性問題が常に存在し、また養鶏生産物への残留のからみによりその使用期間には一定の規制がある。新規薬剤開発に関しては開発費高騰のためであろうか、過去の一時期ほど目ざましくはなく、一、二の候補はあるものの、当面、現存する薬剤のローテーションにより、本症予防を克服していく以外にないように思考される。

薬剤に関するこのような現況を背景として、最近、世界的に免疫による予防対策が注目され、安全かつ実用的ワクチンの開発に向け、旺盛なる研究が進められている。

国外においてすでに使用されてきた非弱毒コクシウムによる生ワクチンに加え、弱毒生ワクチンは開発途上にあり、また遺伝子工学手法を駆使したリコンビナントワクチンについても検討されており、最近これに関連した報告が蓄積されつつある。以下、これらの文献を中心として免疫の実際応用についての研究および現状を詳述したい。

鶏コクシウムの免疫現象

表1に示すように、各種鶏コクシウムのオーシストを少量から順次増量させつつ1週間間隔で2~3回投与すると、以後の攻撃に対して鶏は強度の免疫状態を獲得し、オーシストを全く排泄しないようになる^{25,74)}。しかしな

表 1. 各種鶏コクシウムの繰り返し感染による免疫効果 (ROSE and LONG, 1962)

感 染 種	免 疫 感 染			攻 撃 感 染	
	1回(0日)	2回(7日)	3回(14日)	1回(38日)	2回(48日)
<i>E. acervulina</i> 接種数 ^{a)}	500,000	5,000,000	10,000,000	20,000,000	20,000,000
再生産オーシスト指数 ^{b)}	1,026	12	(86:1) ^{c)}	— ^{d)}	—
<i>E. tenella</i> 接種数	500	5,000		100,000	100,000
再生産オーシスト指数	64,000	4,600	(14:1)	—	—
<i>E. necatrix</i> 接種数	500	5,000	50,000	100,000	100,000
再生産オーシスト指数	12,000	1,360	(9:1)	—	—
<i>E. maxima</i> 接種数	500	5,000		100,000	100,000
再生産オーシスト指数	30,000	5.2	(5,700:1)	—	—

注) a: オーシスト数/羽, b: 総生産オーシスト数/接種オーシスト数, c: 1回接種の再生産指数: 2回接種の再生産指数, d: オーシスト生産陰性を示す

1990年6月30日受付
鶏病研報, 26巻, 増刊号, 37-46 (1990)

から、この様に完全な免疫状態は比較的短期間の持続にとどまる。実際、平飼いにおける長期飼育鶏ではオーシスト排泄が完全に終息することはなく、一旦排泄が減少または陰転しても、やがて同種コクシジウムのオーシストの排泄が再開されるようになる。実験的にもオーシストの排泄を完全に抑制できる免疫期間は短い(1~2カ月間)ことが報告^{25,38)}されている。しかし、野外の平飼い鶏群において、鶏コクシジウム症が発生し、耐過了後は同一種による発病を繰り返すことは希であり、また発病せずとも、排泄オーシストの推移により初期の感染の克服が確認された鶏群では、その後同種の感染による発病は認め難い。この見かけ上の終生免疫は、糞中に存在するオーシストにより鶏は軽度の感染を持続的に受け、それが免疫刺激となって、発病を防止できる免疫状態を維持しているにはほかならないように推考される。

鶏コクシジウム種間の免疫については、ある特定の種間では交差性が報告されているが^{68,69)}、一般的には感染による免疫は鶏コクシジウムの種に特異的であり、免疫された以外の種の攻撃に対して交差抵抗性は低いか、または認められないとされている⁷⁰⁻⁷²⁾。従って、弱病原性種での免疫により強病原性種に対する抵抗性付与は期待できず、このため後述の計画感染や弱毒生ワクチンでは免疫付与を目的とする複数種のコクシジウムが使用されている。

また、少数オーシストによる感染では、コクシジウム種により免疫の形成程度に差がみられ、*E. maxima* は最も免疫の早い種であり、わずか500コの1回投与で強度の免疫を獲得し、2回目の感染による生産オーシスト数を極度に低下する⁷⁴⁾。これに反し*E. tenella* や*E. necatrix* では、強度の免疫を獲得するには2回以上の感染の繰り返しが必要であり、とくに*E. necatrix* では免疫形成が遅い傾向にある⁶⁸⁾。

免疫に関係する主要な抗原ステージは第2代メロゴニー期と言われてきた^{73,68)}。このステージは、*E. maxima* 以外の種では主要な病原性発現のステージでもあり、感染による免疫付与において、鶏に対する影響を如何に軽減するかが問題とされ、結局弱毒化が指向されてきた。また、このステージによる免疫感作が免疫の種特異性に関係するようにも推察されている。一方、スポロゾイトを抗原として用いた最近の試験では^{8,8)}、多量のスポロゾイトが長期間鶏の腸管に滞留することにより、軽度の免疫付与が可能であり、この免疫はコクシジウム種に非特異的である可能性のあることが示唆された。この非特異的免疫原性は多種のスポロゾイトが共通して保有する同一抗原性の構造物、例えば refractile body に依存

するように推考されており⁵⁹⁾、この抗原物質を標的にして作成されたりコンビナントワクチンでは交差免疫性が期待できるように推測されている。

鶏コクシジウムの免疫現象を血清学的に観察すると、感染により、または原虫抗原の接種により、1週間前後から血清中にIgM, IgA および IgG 抗体が検出され、初感染に限っては17日前後で抗体レベルはピークに達し、21日前後で下降するという⁸²⁾。また、再感染を受けた鶏群では抗体の上昇及び持続傾向を示す^{66,75)}。しかし、これらの血清抗体のレベルが抵抗性の程度を反映しているかどうかについては、感染時のヒナの日齢、感染の程度により抗体感応に若干の高低が見られるため、野外で無作為に採取した材料については一概には論じられない⁶⁰⁾。従って、血清反応は実験感染ではともかくとして、野外応用に関してはワクチン使用にともなう免疫評価の目安にしか利用できないように思われる。また、現在の血清試験ではコクシジウム種間における抗原・抗体間の交差反応性が強い^{67,75)}、混合感染鶏血清については、種特異的に抗体測定をできない欠点がある。なお、血清試験法に関しては、原虫の溶解反応^{11,49)}、原虫凝集反応²⁶⁾、染色試験⁶⁰⁾、間接蛍光抗体法^{1,61,81)}、酵素抗体法(ELISA)^{65,67,75)}などの報告があるが、ELISAは多数の検体を処理でき、応用性が高い。

計 画 感 染

計画感染(planned immunization²⁰⁾)は少数のオーシスト投与により、感染を軽度に調節して鶏に免疫を付与させる方法である。

平飼い鶏群については、免疫付与を目的とする数種のコクシジウムのオーシスト数量を、それぞれの種について1羽あたり500~1,000コに調整し、数日齢~2週齢のヒナに対して、飲水または飼料中に混合して投与する方法が用いられる。それにより増殖され、糞中に排泄されたオーシストは再感染の源となり、ヒナが強度の免疫を獲得するまで感染が繰り返されるが、時に、免疫不十分のヒナが大量のオーシストを摂取して発病する可能性もある。とくに高温、多湿の環境においては、また投与材料中に*E. necatrix* オーシストが含まれる場合には、投与後2~3週で強度の発病を示す場合が想定され、これを予防するためには治療剤の併用が必要とされる。

この方法を効果的に実施するため、米国ではCocciVac (Sterwin Lab.)、カナダではImmucox (AAP TEK Ingredients) という製品が用いられている。これらの商品は基本的にはプロイラーを含む平飼い用であり、プロイラーでの野外試験の成績^{39,40)}が見られるが、

実際の使用の状況は定かではなく、圧倒的に種鶏が対象とされている模様である⁴⁰⁾。

一方、採卵鶏などケージ飼育鶏に対する計画感染法として、少数オーシストの長期間連続投与による免疫方法(Trickle infection)が提唱されている^{19, 31-33)}。

JOYNER らは 1 羽あたり 5 コの *E. tenella* オーシストを 4 週間にわたって連日ケージ飼育鶏に経口接種して免疫し、その総数(140 コ)を 1 回接種した鶏と攻撃感染に対する抵抗性を比較した結果、前者の免疫力が格段に優れていることを見いだした³²⁾。この方法は、鶏糞中に排泄されたオーシストによる再感染を受けにくいケージ飼育鶏の免疫には好都合である。しかし、実際には少数のオーシストを連日投与することについての労力や技術的問題を包含している。これを解決する 1 手段としてオーシストを包含した小粒子を飼料中に混合または散布して投与する方法が考案されている^{19, 64)}。この粒子は全く毒性のないアルギン酸塩を基材として用い、その溶液中にオーシストを混合したのち、混合液を塩化カルシウム液中に滴下することにより固化させたものである。粒子状のワクチンは液状のワクチンを飲水中に投与する場合より、使用上の利点を持つように考えられる。

最近の報告^{31, 46)}では、*E. tenella*, *E. acervulina* 及び *E. maxima* については、1 日齢と 8 日齢での 2 回、ケージ飼育ヒナに比較的少数のオーシストを経口接種することにより軽度ないし中等度の免疫を付与できるとされている。

過去、日本国内では一部の種鶏場において、独自でまたは他の機関を介してオーシストを調整し、計画感染が実施されてきた経緯がある。しかし、昭和 62 年 12 月 2 日付畜産局長通達(62 畜 A 第 4887 号)により免疫付与用オーシストはワクチンとしての行政上の正式見解を受けたため、オーシストの調整、配布等については製造許可を受ける必要があり安易に実施できない状況にある。

弱毒生ワクチン

弱毒化された鶏コクシジウムのオーシストは弱毒生ワクチンとして利用できる可能性を持つ。

鶏コクシジウムの弱毒化に関しては、古典的にはオーシストに対する紫外線照射をはじめとして各種の物理化学的処理が試みられたが、概ね不成功に終わった²⁸⁾。

有効な弱毒法の一つとしては発育鶏卵での順化が *E. tenella*^{24, 42, 44, 45)}, *E. necatrix*^{24, 77, 78)} および *E. mivati*⁴³⁾ で報告され、また、*E. tenella* および *E. necatrix* については七面鳥の発育卵でも報告されている³⁷⁾。これらの種では、スポロゾイトを発育卵の尿液腔

内に接種することにより、漿尿膜細胞内での発育環が完成され、オーシストが収集されるため、継代が可能である。長期間、発育鶏卵で継代された株はヒナおよび発育鶏卵双方にたいして病原性を減弱させており、*E. tenella* 順化株感染ヒナにおける観察では⁴⁴⁾、第 2 代メロント(シゾント)は通常の寄生部位である粘膜固有層から消滅し、粘膜上皮に局限して発育したという。しかも通常より小型の形状を持ち、これが病原性減弱の原因とされている。

E. tenella の発育鶏卵順化株を用いた平飼試験⁴⁸⁾、および野外試験⁶⁾では良好な鶏コクシジウム症予防効果が得られ、そのワクチン候補株としての有効性は認められているものの、順化できるコクシジウム種に限られるため、他の種については強毒株やその他の弱毒化株(早熟株)との混合を余儀なくされている。

他の弱毒法として早熟系(precocious line)の作出が JEFFERS²⁷⁾により試みられ、その後多くの研究者によりほぼ全種について達成された。(表 2)。早熟系はヒナにオーシストを接種したのち、最短期間で生産されたオーシストを次回の接種材料とし、繰り返し継代する間に徐々にオーシスト生産までの期間を短縮することによ

表 2. 早熟系の作出

コクシジウム種	株名	Prepatent period (時間)	文献 No.
<i>E. tenella</i>	NIAH/P20	112	34
	Wis-F 125	125	27, 53
	Wis-F 96	96	53
	HP	109	55
	Penn State	112	47
	J-I-Sp	108-110	5
<i>E. necatrix</i>	HP	117	79
	FS 105	120	47
<i>E. acervulina</i>	HP	62, 70	50, 52
	H & C	72	47
<i>E. mitis</i>	HP	67	51
	FS 50	76	47
<i>E. precox</i>	HP	49-64	80
	GA	66	47
<i>E. maxima</i>	MF, WP	107	56
	MX 10	106	47
<i>E. brunetti</i>	VA	76	47

って作成され、機序的には早熟系の選抜増殖とされる。作出過程の1例を図1に示す。*E. tenella* の Wis-F 株の場合、150代継代までに早熟株の起源である Wis 株に比較して、接種後オーシストの生産されるまでの期間 (prepatent period) は約40時間短縮されている²⁸⁾。早熟系の感染ヒナにおける組織学的観察では、コクシジウムの種及び株によって原虫の発育様相が異なり、第2代メロゴニーを欠如する場合^{27, 53, 54)}、または第2代メロントの寄生部位には変化はないが形状が小型化し、かつ数量が減少した場合^{34, 54, 57)}が報告されており、この第2代メロゴニーの変化が病原性低下の原因と考えられている。また、第2代メロントの減少または消失にともない、第2代メロゴニー以後の増殖性が悪くなり、オーシストの生産性は一般に低下する。

早熟系の安定性はきわめて高く、1例として *E. tenella* の Wis-F 株では、早期に生産されるオーシストに限らず、全生産期間にわたり収集されたオーシストを継

代材料として25代継代しても病原性の復帰はないとい²⁷⁾、この安定性はワクチン材料として絶大な長所と考えられている。

一方、早熟株の免疫原性については、ヒナへの同数のオーシスト投与では親株である強毒株に比較して低い傾向が認められるが³⁰⁾、投与オーシスト数を増加してヒナ体内で生産されるオーシスト数を親株のそれと同一にすることにより、親株の免疫力に匹敵する程度まで増強できることも示されている⁵³⁾。

最近、英国において開発された多種の早熟株により構成される生ワクチンを用いた平飼い試験^{21, 63)}および英国における野外試験¹²⁾の成績をそれぞれ表3および4に示す。平飼い試験²¹⁾ではブロイラー鶏群に対して、3日齢、6日齢、または9日齢で飲水によりワクチンが使用され、また野外試験¹²⁾においては、平飼い試験とほぼ同日齢でブロイラー、種鶏およびレイヤー鶏群について試験され、鶏コクシジウム症予防剤を用いた場合との

図1. 弱毒株の作出の1例 (Wis-F 株: *E. tenella*) (JEFFERS, T.K., 1975)

オーシスト投与	オーシスト採取 (時間)	継代数	接種オーシスト数 (/羽)	再生産指数* (全継代の平均)
0	125	9	2,500	1,098±443
		↓		
0	120	8	5,000	510±164
		↓		
0	115	10	10,000	55±18
		↓		
0	110	5	25,000	10±4
		↓		
0	105	6	25,000	19±19

*再生産指数: $\frac{\text{採取オーシスト数}}{\text{接種オーシスト数}}$

表3. ブロイラーの平飼い試験における弱毒生ワクチンの効果 (EVANS, N.A. et al., 1989)

試験期間	群	増体重 (g/羽)		飼料摂取量 (g/羽)		飼料要求率		死亡率(%)
		0-28日	0-49日	0-28日	0-49日	0-28日	0-49日	
免疫 (49日間)	対照群	1282	2736	1869	5207	1.457	1.903	6.5
	投与群	1286	2795	1903	5318	1.480	1.903	8.4
攻撃* (6日間)	非攻撃対照群	440.0		997		2.25		0.54
	攻撃対照群	256.5		1080		4.21		8.9
	投与群 3日齢	386.0		939		2.43		0.71
	投与群 6日齢	395.0		998		2.52		1.07
	投与群 9日齢	418.5		978		2.34		0.89
	モネンシン使用群	401.8		945		2.35		0.36

* 攻撃オーシスト (/羽): *E. acervulina* (200,000), *E. brunetti* (10,000), *E. maxima* (20,000), *E. mitis* (15,000), *E. necatrix* (30,000), *E. praecox* (150,000), *E. tenella* (30,000)
140羽/平飼い区, 各群4区使用

表 4. 英国における弱毒性ワクチンの野外試験 (BUSHELL, J. E. *et al*, 1989)

実施条件 および 検査項目	ブ ロ イ ラ ー		種 鶏		レイヤー更新用鶏	
	免疫群	投薬群	免疫群	投薬群	免疫群	投薬群
使 用 鶏 数	347,732	345,356	67,980	65,283	31,380	39,200
1 ド ー ズ 使 用	7 カ所	7 カ所	3 カ所	3 カ所	1 カ所	1 カ所
3 ド ー ズ 使 用	3 カ所	3 カ所	1 カ所	1 カ所	1 カ所	1 カ所
総 試 験 群 数	16	16	?	?	?	?
治 療 剤 使 用 群	0	0	0	1	0	4
死亡鶏中コクシジウム 病変発生率 (%)	0.38	1.63	6.1	23.1	0	20
総 死 亡 率 (%)	5.90	6.09	3.6	4.1	1.8	2.8

生産性の比較が行なわれている。平飼試験では、30日齢時での攻撃感染において明瞭な抵抗性を認めるとともに、良好な生産性が得られ、また野外試験においては予防剤投与群より鶏コクシジウム症による死亡鶏の発生は少なく、本症の治療を実施した鶏群もなかったといい、英国以外で実施した野外試験成績もほぼ同様であったとされている。

また、BEDRNIK ら^{6,7)}は独自で開発した弱毒ワクチン (*E. tenella* 発育鶏卵順化株, *E. maxima* 早熟系, *E. acervulina* 非弱毒株) を用いて野外試験を実施した結果、ワクチンに使用するコクシジウムの種については、*E. tenella* および *E. acervulina* の2種のみで事実上充分であり、*E. maxima* の混合は鶏糞の湿潤状態を招き、好ましくないように述べている。

以上の野外試験の報告から、早熟系コクシジウムを用いた弱毒生ワクチンは本性予防に貢献する可能性が示唆され、その実用化も近いように予測される。

リコンビナントワクチン

従来、鶏コクシジウム症の免疫は感染にのみ依存し、不活化した原虫や抗原物質を接種しても有効な免疫は得られないように考えられてきた^{71,72)}。最近、*E. tenella* 感染ヒナ組織乳剤を感受性ヒナの腹腔に⁵⁸⁾、またスポロゾイト抗原を筋肉内に⁸²⁾接種して免疫することにより、攻撃に対して軽度の抵抗性が確認されている。また、七面鳥のコクシジウムである *E. adenoides* オーストを鶏に繰り返し経口接種した場合、スポロゾイトの腸管への侵入があり、その後の発育はみられず死滅してしまうものの、侵入したスポロゾイトの抗原により *E. tenella* 攻撃に対する軽度の免疫が形成されたといわれ、スポロゾイト抗原による免疫は感染免疫と異なり、種特異性が低いように考えられている³⁾。

このような背景において、米国および英国ではリコンビナントワクチンの研究が進められており、関連の報告も蓄積されつつある。ワクチンを目的とする抗原物質は、遺伝子組替え操作を用いて生産された原虫抗原に対応する蛋白であり、現在、*E. tenella* や *E. acervulina* のスポロゾイトやメロゾイトがその基にされている。

操作の概略について説明すると、まず、各種のスポロゾイトやメロゾイトの抗原に対する単クローン性抗体が作成され、その単クローン性抗体の性格が決定されている^{2,4,13,16,76)}。また、原虫の構成抗原自体の解析もなされている^{3,22)}。これらの単クローン性抗体のうち、免疫活性あるいは抗原虫活性を有するものが組替え遺伝子のクローン選択に使用されている。

次に図2に示すように^{16,17)}、孢子形成オーシストからメッセンジャー RNA (mRNA) が取り出され、これを鋳型として相補性 DNA (cDNA) が形成されている。これがファージベクターの DNA に組み込まれ、ファージの寒天培養において多数のプラークが形成される。このプラークのうち、原虫の抗原物質を生産しているクローンが免疫血清や上記の単クローン性抗体の反応性により抽出される。つづいてファージベクターの DNA より原虫抗原をコードする cDNA が取り出され、プラスミドの DNA に再び組み込まれたのち、大腸菌に挿入される。その大腸菌を培養することにより、原虫の抗原に対応する蛋白が生産されている。

この様な操作により生産され、現在報告にあるリコンビナント蛋白については表5にその特徴を示す。これらの蛋白については、ヒナにおける抗体生産能や^{29,36,41)}、T細胞活性化能^{29,41)}などが確認され、また免疫鶏に対する攻撃試験により腸管病変の抑制効果⁶⁰⁾やオースト生産抑制効果^{35,59)}などが認められている。

現在報告されている限りでは、リコンビナント蛋白に

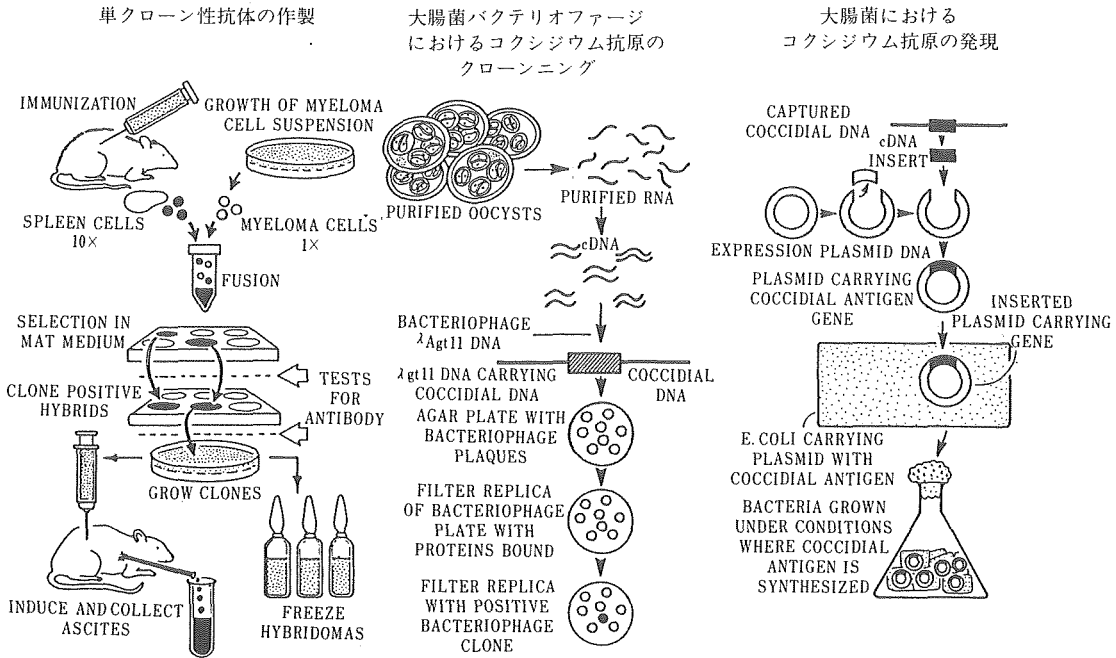


図 2. リコンビナント蛋白作製過程の 1 例 (DANFORTH, H.D. & AUGUSTINE, P.C., 1986)

表 5. 現在報告されているリコンビナント蛋白

コード名	クローン選択の元原虫	抗原分子量	試験された抗原虫作用	文献
GX 3262	<i>E. tenella</i> sporozoite (refractile body)	12-KDa β -galactosidase- fusion 蛋白として (β -gf 蛋白) 115-KDa	鶏に対する免疫反応 (免疫はコクシジウム種 に非特異的可能性あり)	59
3264	<i>E. tenella</i> sporozoite, oocyst	31-KDa β -gf 蛋白 150-KDa	鶏胎児に接種— 孵化雛における免疫反応	23
CsZ-1	<i>E. acervulina</i> sporozoite surface antigen	β -gf 蛋白 130-KDa	T細胞介在性免疫反応	29, 41
CsZ-8	<i>E. acervulina</i> merozoite surface antigen	β -gf 蛋白 150-KDa		
<i>E. coli</i> transformant (N6405)	<i>E. acervulina</i>	250-KDa merozoite merozoite surface antigen を認識	鶏に対する免疫反応	36
5401	<i>E. tenella</i>	?	血清抗体の生産及び 鶏に対する免疫反応	16
RA-1	<i>E. tenella</i> sporozoite	100-KDa 66-KDa	鶏に対する免疫反応 (複数の抗原を混合して 免疫の増強効果を確認)	18
RA-2, 3	<i>E. tenella</i> および <i>E. acervulina</i> sporozoite	17~28-KDa		
RA-4	<i>E. tenella</i> sporozoite	20~175-KDa		
RA-5	<i>E. acervulina</i> merozoite	20~175-KDa		

よる免疫効果は、感染免疫に及ばないように感じられるが、リコンビナント蛋白により免疫されたのち、オーストによる感染を受けるとヒナの免疫反応は増強されるため、少なくとも初期の免疫感作には利用できる可能性はある。また複数の抗原物質を混合して用いることにより免疫は増強されるように言われている¹⁸⁾。

リコンビナントワクチンの投与方法については、精製抗原の筋肉内接種¹⁵⁾、皮下接種¹⁸⁾、発育鶏卵の時期における鶏胎児接種²³⁾などの報告や、原虫抗原の遺伝子クローンを含有したプラスミドを大腸菌に挿入し、不活化(バクテリン)して皮下に接種する方法⁵⁹⁾、及びクローン含有プラスミドを挿入した大腸菌生菌を経口的に投与する方法³⁵⁾などの報告があり、未だ検討段階ではあるが多彩をきわめる。

一方、最近抗イデオタイプ抗体(抗 Id-抗体)が鶏コクシジウムワクチンとして応用できる可能性も示唆された^{9,10)}。この抗 Id-抗体(コード名: anti-Id 1073)は、*E. tenella* のスポロゾイトに反応する単クローン性抗体で家兎を免疫して作製したポリクローナル抗体であり、*E. tenella* スポロゾイト抗原のエピトープと類似の構造部位を有するように考えられている。Anti-Id 1073 で免疫された鶏は皮内反応により、または T 細胞の増殖活性により細胞性免疫反応を示し、また *E. tenella* の攻撃に対して軽度の病変形成抑制効果を示したという。また、*E. tenella* に対する単クローン性抗体をスポロゾイトに作用させた場合、感染性が抑制されるとともに、単クローン性抗体自体の接種により鶏に抵抗性を付与できたという報告もある¹⁴⁾。

リコンビナントワクチンや Id-抗体の特長は、感染を受けないため、感染に関連した諸種の問題が解消され、また大量製造が可能なる点にある。ただし、製剤化されるには効力や製品価格等の問題が解決される必要があり、将来の進展に期待する以外にない。

おわりに

過去、本症対策において多くの薬剤が使用されてきたにもかかわらず、本原虫の蔓延および本症の発生は依然として全国的にみられ、尋常の手段では撲滅不可能として映る。また対策上、薬剤のみでは対応しきれない場面もあり、他の予防法が切望されていることも事実である。免疫による予防法は薬剤が有効に奏功してない鶏群においては薬剤に代替し、生産性の向上に貢献するように予測される。

本編で述べたように、安全性の高い弱毒生ワクチンが近未来、製品化されるように予測され、またリコンビナ

ントワクチンについてもある程度の期待は持て、今後の展開に興味が持たれる。

参 考 文 献

- 1) ALI, N.A. *et al.*: Circulation antibody response to *Eimeria tenella* oral and subcutaneous infections in chickens. *Vet. Parasitol.*, **1**, 309-316 (1976)
- 2) AUGUSTINE, P.O.: A study of the invasion of cells by *Eimeria* sporozoites using monoclonal antibodies generated against sporozoites and cultured host cells. In: *Research in avian coccidiosis*, (MCDUGALD, L.R.: JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 602-608 (1986)
- 3) AUGUSTINE, P.C. & DANFORTH, H.D.: Avian *Eimeria*: invasion in foreign host birds and generation of partial immunity against coccidiosis. *Avian Dis.*, **34**, 196-202 (1990)
- 4) AUGUSTINE, P.C. & DANFORTH, H.D.: Effects of hybridoma antibodies on invasion of cultured cells by sporozoites of *Eimeria*. *Avian Dis.*, **29**, 1212-1223 (1985)
- 5) BEDRNIK, P. *et al.*: Results of experiments on pathogenicity and immunization with selected lines of *Eimeria tenella*. In: *Research in avian coccidiosis*, (MCDUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 510-525 (1986)
- 6) BEDRNIK, P. *et al.*: Field vaccination of broilers against coccidiosis. *Avian Pathol.*, **18**, 255-264 (1989)
- 7) BEDRNIK, P.: The role of different *Eimeria* species in a prospective coccidiosis vaccine. In: *Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs*, 5th International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989. (YVORE, P. ed), *Ed. INRA Publ.* 667-670 (1989)
- 8) BHANUSHALI, J.K. & LONG, P.L.: Role of sporozoite induced immune responses in protection against *Eimerias tenella*: *in vivo* and *in vitro* studies. In: *Research in avian coccidiosis*, (MCDUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 526-534 (1986)
- 9) BHOGAL, B.S. *et al.*: Anti-idiotypic antibody with potential use as an *Eimeria tenella* sporozoite antigen surrogate for vaccination of chickens against coccidiosis. *Infect. Immun.*, **56**, 1113-1119 (1988)
- 10) BHOGAL, B.S. *et al.*: Parasite exposure elicits a preferential T-cell response involved in protective immunity against *Eimeria* species in chickens primed by an internal-image anti-idiotypic antibody. *Infect. Immun.*, **57**, 2804-2810 (1989)
- 11) BURNS, W.C. & CHALLEY, J.R.: Serum lysins in chickens infected with *E. tenella*. *J. Parasitol.*, **51**, 660-668 (1965)
- 12) BUSHELL, J.E. *et al.*: Coccidiosis control in chickens using a live attenuated vaccine. II. Field trial results. *Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs*, 5th International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989. *Ed. INRA Publ.* 689-692 (1989)
- 13) CRANE, M. J., GNOZZIO, M.J. & MURRAY, P.K.:

- Biological effects of polyclonal and monoclonal antibodies against *Eimeria tenella*. In: Research in avian coccidiosis, (MCDUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 609-616 (1986)
- 14) CRANE, M.J. *et al.*: Passive protection of chickens against *Eimeria tenella* infection by monoclonal antibody. *Infect. Immun.*, **56**, 972-976 (1988)
 - 15) CRANE, M.J. *et al.*: Vaccination against coccidiosis with recombinant antigens. In: Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs, 5th International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989. (YVORE, P. ed), *Ed. INRA Publ.* 649-653 (1989)
 - 16) DANFORTH, H.D. & AUGUSTING, P.C.: Use of hybridoma antibodies and recombinant DNA technology in protozoan vaccine development. *Avian Dis.*, **30**, 37-42 (1985)
 - 17) DANFORTH, H.D.: Use of hybridoma antibodies combined with genetic engineering in the study of protozoan parasites: a review. In: Research in avian coccidiosis, (MCDUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 574-590 (1986)
 - 18) DANFORTH *et al.*: The use of genetically engineered antigens in eliciting protective immune response to *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella*. In: Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs, 5th International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989. (YVORE, P. ed), *Ed. INRA Publ.* 645-648 (1989)
 - 19) DAVIS, P.J. *et al.*: Immune response of chickens to oral immunization by 'trickle' infection with *Eimeria*. In: Research in avian coccidiosis, (MCDUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 618-633 (1986)
 - 20) EDGAR, S.A.: Practical immunization of chickens and turkeys against coccidia. In: Research in avian coccidiosis, (MCDUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 617 (1986)
 - 21) EVANS, N.A. *et al.*: Coccidiosis control in chickens using a live attenuated vaccine. I. Experimental studies. In: Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs, 5th International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989. (YVORE, P. ed), *Ed. INRA Publ.* 683-688 (1989)
 - 22) FILES, J.G., PAUL, L.S. & GABE, J.D.: Identification and characterization of the gene for a major surface antigen of *Eimeria tenella*. In: Molecular strategies of parasitic invasion, Alan R. Liss, Inc. 713-723 (1987)
 - 23) FREDERICKSEN, T.L. *et al.*: In ovo administration of a potential recombinant coccidial antigen vaccine in poultry. In: Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs, 5th International coccidiosis conference, Tours (France), 17-20 October 1989. (YVORE, P. ed), *Ed. INRA Publ.* 655-659 (1989)
 - 24) GORE, T.C. *et al.*: Attenuation of *Eimeria necatrix* and *E. tenella* of U.S. origin by serial embryo passage. *Avian Dis.*, **27**, 569-576 (1983)
 - 25) HEIN, H.E.: *Eimeria acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, and *E. necatrix*: low dose of oocysts immuniz young chickens. *Exp. Parasitol.*, **40**, 250-260 (1976)
 - 26) HERLICH, H.: Effect of chicken antiserum and tissue extracts on the oocysts, sporozoites of *Eimeria tenella* and *E. acervulina*. *J. Parasitol.*, **51**, 847-851 (1965)
 - 27) JEFFERS, T.K.: Attenuation of *Eimeria tenella* through selection for precociousness. *J. Parasitol.*, **61**, 1083-1090 (1975)
 - 28) JEFFERS, T.K.: Attenuation of coccidia—a review. In: Research in avian coccidiosis, (MCDUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 482-501 (1986)
 - 29) JENKINS, M.C., LILLEHOJ, H.S. & DAME, J.B.: *Eimeria acervulina*: DNA cloning and characterization of recombinant sporozoite and merozoite antigens. *Exp. Parasitol.*, **66**, 96-107 (1988)
 - 30) JOHNSON, J. & REID, W.M.: Practical immunization of chickens against coccidiosis using an attenuated strain of *Eimeria tenella*. *Poultry Sci.*, **58**, 37-41 (1979)
 - 31) JOHNSON, J.K. *et al.*: The immune response of young chickens given 'graded' or 'trickle' infections with coccidis. In: Research in avian coccidiosis, (MCDUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 634-641 (1986)
 - 32) JOYNER, L.P. & NORTON, C.C.: The immunity arising from continuous low-level infection with *Eimeria tenella*. *Parasit.* **67**, 333-340 (1973)
 - 33) JOYNER, L.P. & NORTON, C.C.: The immunity arising from continuous low-level infection with *Eimeria maxima* and *Eimeria acervulina*. *Parasit.* **72**, 115-125 (1976)
 - 34) KAWAGUCHI, H., KONISHI, T. & NAKAMURA, T.: Characteristics of a precocious line of *Eimeria tenella*: pathogenicity and endogenous development. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **50**, 445-452 (1988)
 - 35) KIM, K., JENKINS, M.C. & LILLEHOJ, H.S.: Immunization of chickens with live *Escherichia coli* expressing *Eimeria acervulina* merozoite recombinant antigen induces partial protection against coccidiosis. *Infect. Immun.*, **57**, 2434-2440 (1989)
 - 36) KIM, K.S., LILLEHOJ, H.S. & JENKINS, M.C.: Evaluation of serum and secretory antibody responses to an immunodominant recombinant merozoite surface antigen, p. 150, using a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Dis.*, **33**, 431-437 (1989)
 - 37) KOGUT, M.H., GORE, T.C. & LONG, P.L.: Serial passage of *Eimeria tenella* and *E. necatrix* in turkey embryos. *Parasit.* **86**, 199-209 (1983)
 - 38) LEATHEM, W.D. & BURNS, W.C.: Duration of acquired immunity of the chicken to *Eimeria tenella* infection. *J. Parasitol.*, **54**, 227-232 (1968)
 - 39) LEE, E-H.: Vaccination against coccidiosis in commercial roaster chickens. *Can. Vet. J.*, **28**, 434-436 (1987)
 - 40) LEE, E-H.: Control of coccidiosis in broiler chickens by vaccination. Field trial comparison between «Immucox» (coccidiosis vaccine) and halofuginone, salinomycine program in Texas, USA. In: Coccidia

- and Intestinal Coccidiomorphs, 5th International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989. (YVORE, P. ed), *Ed. INRA Publ.* 661-665 (1989)
- 41) LILLEHOJ, H.S. *et al.*: *Eimeria acervulina*: evaluation of the cellular and antibody responses to the recombinant coccidial antigens in B-congenic chickens. *Exp. Parasitol.*, **67**, 148-158 (1988)
 - 42) LONG, P.L.: *Eimeria tenella*: reproduction, pathogenicity and immunogenicity of a strain maintained in chick embryos by serial passage. *J. Comp. Pathol.*, **82**, 429-437 (1972)
 - 43) LONG, P.L.: *Eimeria mivati*: reproduction, pathogenicity and immunogenicity of a strain maintained in chick embryos by serial passage. *J. Comp. Pathol.*, **82**, 439-445 (1972)
 - 44) LONG, P.L.: Endogenous stages of a 'chick embryo-adapted' strain of *Eimeria tenella*. *Parasit.* **66**, 55-62 (1973)
 - 45) LONG, P.L.: Further studies on the pathogenicity and immunogenicity of an embryo-adapted strain of *Eimeria tenella*. *Avian Pathol.*, **4**, 255-268 (1974)
 - 46) LONG, P.L.: Immunisation of young broiler chickens with low level infections of *Eimeria tenella*, *E. acervulina* or *E. maxima*. *Avian Pathol.*, **15**, 271-278 (1986)
 - 47) LONG, P.L. & JOHNSON, K.: *Eimeria* of American chickens: characteristics of six attenuated strains produced by selection for precocious development. *Avian Pathol.*, **17**, 305-314 (1988)
 - 48) LONG, P.L. & MILLARD, B.J.: *Eimeria*: immunisation of young chickens kept in litter pens. *Avian Pathol.*, **6**, 77-92 (1977)
 - 49) LONG, P.L., ROSE, M.E. & PIERCE, A.E.: Effects of fowl sera on some stages in the life cycle of *Eimeria tenella*. *Exp. Parasitol.*, **14**, 210-217 (1963)
 - 50) McDONALD, V., BALLINGALL, S. & SHIRLEY, M.W.: A preliminary study of the nature of infection and immunity in chickens given an attenuated line of *Eimeria acervulina*. *Parasit.* **84**, 21-30 (1982)
 - 51) McDONALD, V. & BALLINGALL, S.: Attenuation of *Eimeria mivati* (= *mitis*) by selection for precocious development. *Parasit.* **86**, 371-379 (1983)
 - 52) McDONALD, V. & BALLINGALL, S.: Further investigation of the pathogenicity, immunogenicity and stability of precocious *Eimeria acervulina*. *Parasit.* **86**, 361-369 (1983)
 - 53) McDONALD, V., ROSE, M.E. & JEFFERS T.K.: *Eimeria tenella*: immunogenicity of the first generation of schizogony. *Parasit.* **93**, 1-7 (1986)
 - 54) McDONALD, V. & SHIRLEY, M.W.: The asexual development of precocious lines of *Eimeria* spp. in chicken. In: Research in avian coccidiosis, (Mc DOUGALD, L.R., JOYNEY, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 502-509 (1986)
 - 55) McDONALD, V., SHIRLEY, M.W. & MILLARD, B.J.: A comparative study of two lines of *Eimeria tenella* attenuated either by selection for precocious development in the chicken or by growth in chicken embryos. *Avian Pathol.*, **15**, 323-335 (1986)
 - 56) McDONALD, V., SHIRLEY, M.W. & BELLATTI, M.A.: *Eimeria maxima*: characteristics of attenuated lines obtained by selection for precocious development in the chicken. *Exp. Parasitol.*, **61**, 192-200 (1986)
 - 57) McDONALD, V. and SHIRLEY, M.W.: The endogenous development of virulent strains and attenuated precocious lines of *Eimeria tenella* and *E. necatrix*. *J. Parasitol.*, **73**, 993-997 (1987)
 - 58) MCKENZIE, M.E. & LONG, P.L.: Immunization of chickens against coccidiosis with extracts of *Eimeria*-infected tissues. *Poult. Sci.*, **65**, 892-897 (1986)
 - 59) MILLER, G.A. *et al.*: Characterization and vaccine potential of a novel recombinant coccidial antigen. *Infect. Immun.*, **57**, 2014-2020 (1989)
 - 60) MORITA, C., TSUTUMI, Y. & SOEKAWA, M.: Detection of humoral antibody for *Eimeria tenella* infection by a dye test. *Zbl. Vet. Med. B*, **19**, 782-784 (1972)
 - 61) MOVESJAN, M. *et al.*: Circulating and local antibodies in infection. *Acta Veterinaria* (Beograd), **25**, 59-64 (1975)
 - 62) MURRAY, P.K. *et al.*: *Eimeria tenella*-in vivo immunization studies with sporozoite antigen. In: Research in avian coccidiosis, (McDOUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds), Univ. of Georgia, 564-573 (1986)
 - 63) NORTON, C.C., CATCHPOLE, J. & EVANS, N.A.: Performance of an attenuated coccidiosis vaccine in floor pen challenge studies. In: Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs, 5th International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989. (YVORE, P. ed), *Ed. INRA Publ.* 676-682 (1989)
 - 64) NORTON, C.C. & JOYNER, L.P.: Avian coccidiosis: the administration of encapsulated oocysts. *Parasit.* **92**, 499-510 (1986)
 - 65) ONAGA, H. *et al.*: An enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of coccidiosis in chickens: use of single serum dilution. *Avian Dis.*, **30**, 658-661 (1986)
 - 66) ONAGA, H. *et al.*: The use of an enzyme-linked immunosorbent assay for estimation of the immune status of chickens artificially immunized against coccidiosis. *Vet. Parasitol.*, **33**, 199-205 (1989)
 - 67) OZ, H.S. *et al.*: Enzyme-linked immunosorbent assay and indirect haemagglutination techniques for measurement of antibody responses to *Eimeria tenella* in experimentally infected chickens. *J. Parasitol.*, **70**, 859-863 (1984)
 - 68) ROSE, M.E.: Immunity to *Eimeria tenella* and *Eimeria necatrix* infection in the fowl. *Parasit.* **57**, 567-583 (1967)
 - 69) ROSE, M.E.: Immunity to *Eimeria brunetti* and *Eimeria maxima* infections in the fowl. *Parasit.* **57**, 363-370 (1967)
 - 70) ROSE, M.E.: Coccidiosis: immunity and the prospects for prophylactic immunization. *Vet. Rec.*, **98**, 481-484 (1976)
 - 71) ROSE, M.E.: Immunity. In: The Biology of the

- coccidia. Long, P.L. ed., 329-371, Univ. Park Press (1982)
- 72) ROSE, M.E. : Immune responses to *Eimeria* infections. In : Research in avian coccidiosis, (McDOUGALD, L.R., JOYNER, L.P. & LONG, P.L. eds.) Univ. of Georgia, 449-469 (1986)
- 73) ROSE, M.E. & HESKETH, P. : Immunity to coccidiosis : stages of the life-cycle of *Eimeria maxima* which induce, and are affected by the response of the host. *Parasit.* **73**, 25-37 (1976)
- 74) ROSE, M.E. & LONG, P.L. : Immunity to four species of *Eimeria* in fowls. *Immunology*, **5**, 79-90 (1962)
- 75) ROSE, M.E. & MOCKETT, A.P.A. : Antibodies to coccidia : detection by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Parasite Immunol.*, **5**, 479-489 (1983)
- 76) SPEER, C.A., WONG, R.B. & SCHENKEL, R.H. : Ultrastructural localization of monoclonal IgG antibodies for antigenic sites of *Eimeria tenella* oocysts, sporocysts and sporozoites. *J. Protozool.*, **30**, 548-554 (1983)
- 77) SHIRLEY, M.W. : *Eimeria necatrix* : the development and characteristics of an egg-adapted (attenuated) line. *Parasit.* **81**, 525-535 (1980)
- 78) SHIRLEY, M.W., BELLATTI, M.A. & MILLARD, B.J. : An egg-adapted (attenuated) line of *Eimeria necatrix* : further studies on its reproduction, pathogenicity and immunogenicity. *Parasit.* **84**, 215-226 (1982)
- 79) SHIRLEY, M.W. & BELLATTI, M.A. : *Eimeria necatrix* : selection and characteristics of a precocious (and attenuated) line. *Avian Pathol.*, **13**, 657-668 (1984)
- 80) SHIRLEY, M.W. *et al.* : *Eimeria praecox* : selection and characteristics of precocious lines. *Avian Pathol.*, **13**, 669-682 (1984)
- 81) SOKOLIC, A. *et al.* : Immunofluorescence in studies on *Eimeria tenella*. *Acta Veterinaria Beograd*, **24**, 55-60 (1974)
- 82) TREES, A.J. *et al.* : Class-specific circulating antibodies in infections with *Eimeria tenella*. *Vet. Parasitol.*, **18**, 349-357 (1985)