

No.

メキシコ家畜衛生センター 中間業務報告書

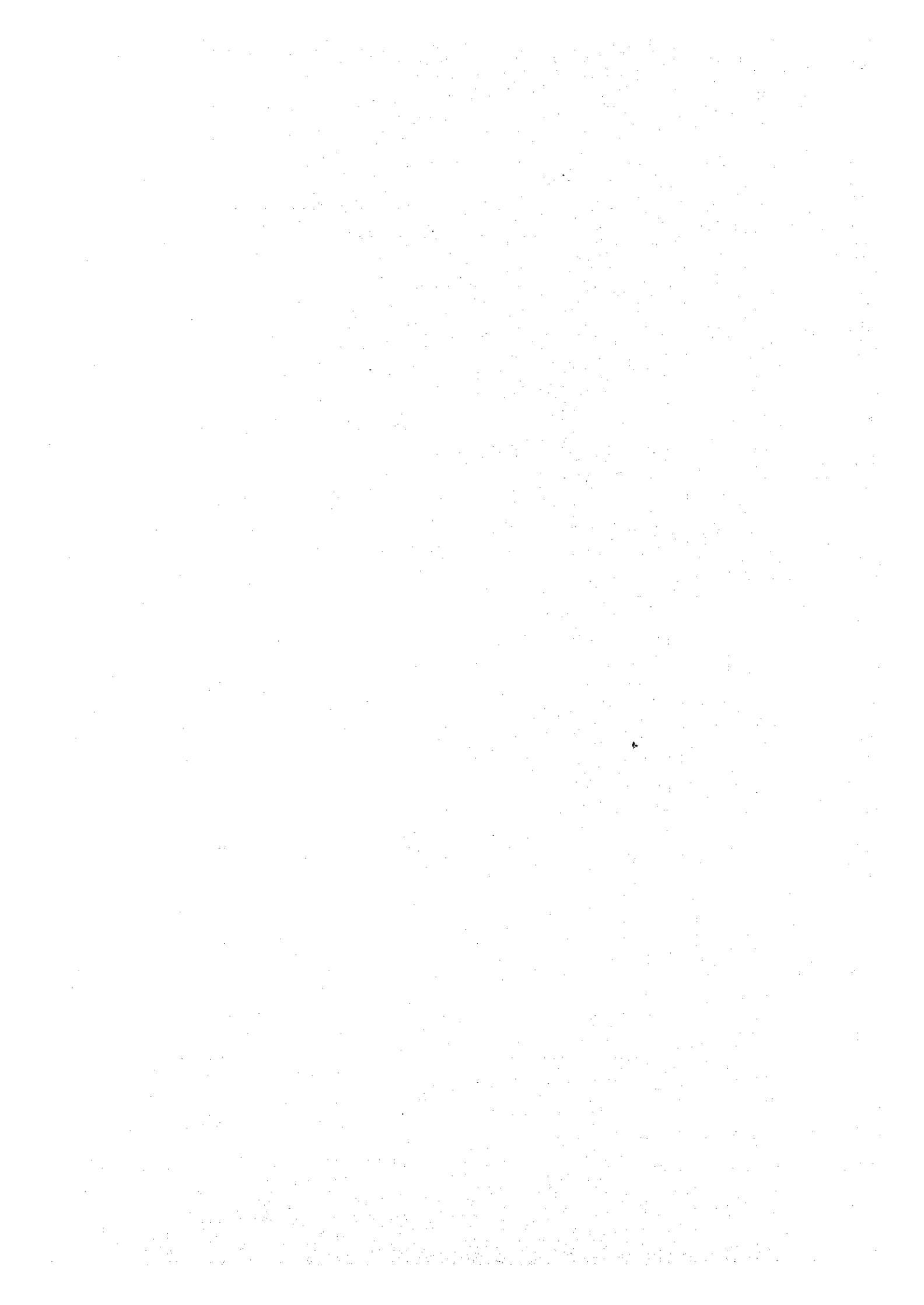
昭和60年1月

国際協力事業団

農開畜

J R

85 - 32



メキシコ家畜衛生センター 中間業務報告書

JICA LIBRARY



1052929[5]

昭和60年1月

国際協力事業団

国際協力事業団	
受入 月日 '85. 5. 31	615
	87.9
登録No. 11519	ADL

ま え が き

国際協力事業団は昭和56年6月1日から、5年間にわたり、メキシコにおける豚コレラG.P.ワクチンの試作・検定技術とウィルス病診断技術の確立を目的としたプロジェクト方式技術協力「メキシコ家畜衛生センター計画」を実施している。

本報告書は、昭和57年から昭和59年にかけて本プロジェクトに派遣された。三浦康男（チーム・リーダー。ウィルス病診断。農水省家衛試）、屋部憲清（ワクチン検定。JICA-特別囑託）および浜田洋（ワクチン製造。共立商事㈱）の三専門家の報告をとりまとめたものである。

本報告書の内容はワクチン製造、ワクチン検定、ウィルス病診断、施設整備、プロジェクトの運営等から成っており、残された期間の事業推進にあたり、両国関係者の間で活用され、この計画が更に、円滑かつ効果的に実施される事を願う次第である。

最後に本報告書の執筆にあられた専門家のご苦勞に感謝するとともに、御協力を頂いた、関係各位に深甚なる謝意を表す。

昭和60年1月

農 業 開 発 協 力 部 長
田 内 堯

目 次

1. はじめに	1
2. プロジェクトの推進について	2
2-1 ワクチン製造	2
2-1-1 モルモット腎細胞に迷入したウイルスの性状と同定	2
2-1-2 豚コレラGPワクチンの原種ウイルスの製造及び検定	4
2-1-3 検定用GPワクチンの製造及び検定	6
2-1-4 試作GPワクチンの製造及び検定	7
2-1-5 GPワクチン300万ドーズの原液の製造及び検定	12
2-1-6 GPワクチンの製造工程の概略	13
2-2 ワクチン検定	21
2-2-1 日本製GPワクチンの安全性と有効性	21
2-2-2 日本製GPワクチンの野外試験	23
2-2-2-1 野外試験農場での豚コレラウイルスの抗体調査	23
2-2-2-2 野外試験	24
2-2-3 メキシコ製豚コレラワクチンの安全試験	27
2-3 ウイルス病診断	28
2-3-1 ウイルス部における病性鑑定成績〔1983年2月-1984年5月〕	29
2-3-2 抗体調査	31
2-3-3 各種抗原及び免疫血清の作成	37
2-3-3-1 抗原の作成	37
2-3-3-2 免疫血清の作成	37
3. 施設整備について	39
3-1 純水装置の設置及び維持管理	39
3-2 生物学試験研究棟(生剤棟)の建設	39
3-3 検定検査部棟(検定棟)の建設	40
3-4 電子顕微鏡の設置と稼動状況	40
4. プロジェクトの運営について	43
4-1 首脳会議	43
4-2 メキシコ北西部の豚コレラ撲滅会議	43

4-3 普及活動	44
4-4 その他	45
4-4-1 派遣専門家	45
4-4-2 農業水資源省牧畜副省の機構改革	45
4-4-3 カウンターパート (C.P.) の動き	46
4-4-4 GPワクチンの製造許可承認	46
4-4-5 GPワクチンに関する報告書	46
5. 今後の問題点	48
6. おわりに	50
参 考	51
1. プロジェクトの概要	53
2. 報告書作成者の略歴	55
3. 西文要約	56

1. は じ め に

1984年4月14日に、日本とメキシコの両国政府間で締結署名された技術協力実施討議議事録(Record of Discussions)に基づくメキシコ家畜衛生センタープロジェクトは、豚コレラGPワクチンの試作製造技術及びワクチン検定技術の確立、豚コレラ、アフリカ豚コレラの診断技術の確立及び重要なウイルス疾病の診断技術の指導助言の2本柱として、1981年6月1日より開始された。

プロジェクト開始後1年数カ月は、プロジェクトサイトである家畜衛生センターの実験室整備、生物学試験研究棟(生剤棟)及び検定検査部棟の建設の遅延、純水(組織培養用)の供給不足、GPワクチンの原種ウイルスの製造に使用するモルモットにヘルペスウイルスの迷入などの悪条件が重なり、派遣専門家が心血を注いだにもかかわらず、プロジェクトは、なかなか進展しなかった。この間、ワクチン試作製造は、国の機関であり生物学的製剤を製造している国立動生剤製造所(PRONABIVE)の施設の一部を借りて試作製造の技術指導を行ってきた。実験室の整備、日本より準SPFモルモットの導入などで、順次環境整備がなされ、プロジェクト3年次には急激に進展してきた。GPワクチンの原種ウイルスの製造検定、原種ウイルスで製造した検定用ワクチンの製造検定及び試作GPワクチンの製造検定が完了した。検定用ワクチンをメキシコの国家検定を実施し、メキシコの国家検定基準をうわまわることが証明された。この結果に基づき、1984年5月18日付で、GPワクチンの仮製造許可承認がなされた。1984年1月からR/Dにのっとり大量生産の技術移転をPRONABIVEで開始した。即ち、GPワクチン3ロット、300万ドーズの製品化である。1984年6月に3ロットの原液の製造検定が完了し、現在凍結乾燥及び検定を実施中である。

診断分野についても、豚のウイルス病、牛のウイルス病、鶏の疾病の診断技術は重要疾病に関してはほぼ確立された。現在、地域の診断所へ診断液を配布できるように、各種の診断液の製品化を行っている。診断分野では、今後診断の精度を向上させるための技術移転が重要課題となるものと思われる。

メキシコ合衆国の経済危機で、大変厳しい状況下におかれている中で、1983年4月から生剤棟の建設が開始され1984年3月にはほぼ完成し、現在は内部の整備中で、スタンバイの状態である。また、検定検査部棟(検定棟)の建設も1984年4月に着工し、建物はほぼ完成した。

プロジェクトも後1年数カ月を残すのみとなり、豚コレラGPワクチン製造技術及びワクチン検定技術の総仕上げの段階になるものと思われる。

メキシコ合衆国の豚コレラも近い将来には撲滅されるものと確信する。

2. プロジェクトの推進について

1983年2月～1984年7月の1年6カ月間の主要な成果についてのみである。

1981年6月1日に開始されたプロジェクトは、幾多の困難を克服しながら1年数カ月経過し、先陣の専門家及びC.P.の努力で、基盤整備がなされ、軌道にのりかかっていた。この中間報告書は、先陣の基礎の上に、1983年2月～1984年7月に派遣されて任期をつとめた専門家の技術指導の成果である。

2-1 ワクチン製造

豚コレラGPワクチンの原種ウィルスの製造が1982年8月から本格的に開始された。当初は、原種ウィルスのウィルス量が低かったり、原種ウィルスの製造に使用するモルモットの腎細胞にヘルペスウィルスの迷入があったり、いろいろの難問の連続であった。しかし、幾多の障害を克服して、1983年8月に原種ウィルスの製造が完了した。次で、検定用ワクチン及び試作ワクチンの製造が順次完了した。これらの実績をふまえて家畜衛生総局よりPRONABIVEにGPワクチンの仮製造許可承認がなされた。1984年から本格的にR/Dにのって大量生産である300万ドーズのGPワクチンの製品化の技術指導を開始した。

2-1-1 モルモット腎細胞に迷入したウィルスの性状と同定

1982年8月～1983年3月に、原種ウィルスの製造中にモルモット腎(GPK)細胞に円形化の細胞変性効果(CPE)を示すウィルスの迷入が明らかとなった。分離ウィルスの迷入が明らかとなった。分離ウィルスの1株をMexico 83-11株(83-11株)と命名し、そのウィルスの同定と汚染源の究明を行った。

83-11株ウィルスの生物学的、理化学的及び電顕で形態学的性状を調べた。

83-11株ウィルスは、モルモット腎、牛精巣、豚腎の初代培養細胞とVero(ミドリサル腎)、MA-104(サル腎)の株化継代細胞で、CPEを伴って増殖するが、GPK細胞以外の細胞ではCPEは明瞭でなかった。83-11株ウィルスは、GPK細胞で明瞭なCPEを示し、好酸性の核封入体を生産した。

83-11株ウィルスは、IUDR(5-iodo-2'-deoxyuridine)存在下でウィルスの増殖が抑制され、ウィルス核酸はDNAと推定された。エーテル・クロロホルムの有機溶媒の処理で、ウィルス感染価は容易に失活し、また酸(pH 3.0)に対しても感受性であった。各孔径のメンブランフィルターで濾過試験を行ったところ、200nmのフィルターは容易に通過するが、100umのフィルターは通過しなかった。

電顕像では、エンベロープを被った直径約170nmの球形のウィルス粒子が認められた(写真1)。

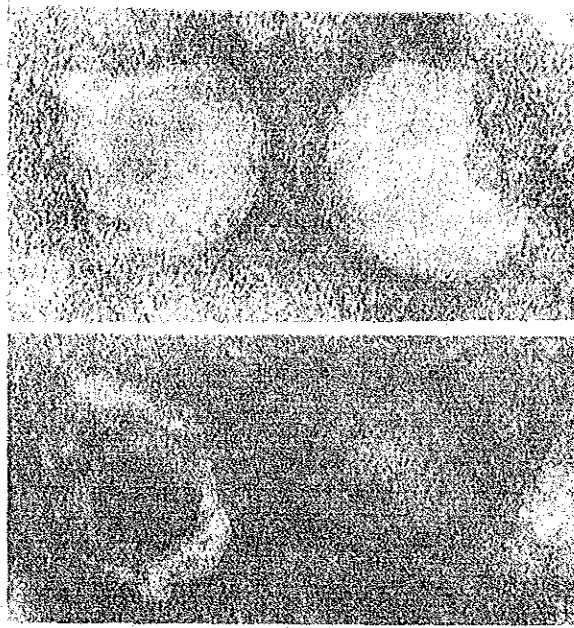


写真1. モルモットヘルペスウイルスのネガティブ像
飽和酢酸ウラニウム染色。X175,000
(原図 吉野知男)

これらの理化学的、形態学的にヘルペスウイルス群の性状と形態と一致した(表1)。

表1 分離ウイルスの性状

性 状	Mexico 83-11株
理化学的性状	
核 酸	DNA
エーテル・クロロホルム	感受性
酸 (PH 3.0)	感受性
濾過 (メンブランフィルター)	< 200 nm ~ > 100 nm
形態学的性状	
ウイルス粒子	球 形 エンベロープ 170 nm 前後
生物学的性状	
CPEを示す細胞	モルモット腎, 牛精巣, 牛腎, 豚腎 Vero, MA104
封 入 体	好酸性核封入体
抗体保有動物	モルモット

83-11株ウイルスに対する実験小動物での抗体保有状況では、モルモットのみで中和抗体が検出され、マウス、ウサギでは抗体は検出されなかった。家畜衛生センターで飼養していたモルモットでは、育成中のモルモット（3～4週齢）には抗体は検出されなかったが、繁殖に供していた成モルモットでは30%とかなり高率に抗体が検出された。また、家畜衛生センター以外の機関で生産された3～4週齢のモルモットでは10.5%の抗体保有率であった（表1）。一方、日本で生産されたモルモットには抗体は検出されなかった。

83-11株ウイルスは家畜衛生センターのモルモットに高率に伝播していたことが明らかになった。

原種ウイルスの製造中に迷入したウイルスは、ヘルペスウイルスで、その汚染源がモルモット腎に由来したことが明らかとなった。

メキシコ産のモルモットを製造に使用するには、モルモットを多数使用するために、迷入の確立が高く不適であった。そこで、GPワクチンの製造用に新しいモルモットのコロニーを確立するために、日本から準SPFモルモットを導入した。

2-1-2 豚コレラGPワクチンの原種ウイルスの製造及び検定

1982年8月から豚コレラGPワクチンの原種ウイルスの製造を開始したが、原種ウイルスの製造に使用したGPK細胞に、モルモットヘルペスウイルスの迷入が明らかとなった。また、メキシコ産モルモットには、10%程度に本ウイルスに対する中和抗体が検出され、原種ウイルスにモルモットヘルペスウイルスの迷入の危険性が高く、製造には不適と判断された。そこで、1983年6月、日本から製造用にモルモットの供与を受けて再び製造を開始した。

日本産モルモットで腎細胞を調製し、豚コレラウイルスの弱毒株であるGPE株ウイルスを用いて種ウイルス（原・原種ウイルス）2ℓを製造し、検定を平行して、2サブロットの原種ウイルス、総量20ℓ製造した（表2）。

2サブロットの原種ウイルスについて検定を行った。培養細胞、培養液、無菌、同定、ウ

表2 豚コレラGPワクチンの原種ウイルスの製造及び検定

ウイルス	GPK細胞の調整年月日	ウイルス接種日	採材月日	採取ウイルス量	検定
種ウイルス	1983. 6. 15	6. 22	6. 29	2ℓ	合格
原種ウイルスサブロット 1	1983. 7. 6	7. 13	7. 20	7ℓ	合格
原種ウイルスサブロット 2	1983. 7. 21	7. 27	8. 3	13ℓ	合格

ウイルス含量及び迷入否定試験の各検定項目に合格であった。そこで、2サブロットの原種ウイルスを混合して1ロットとした。

この原種ウイルスについて、無菌、同定、ウイルス含有量、迷入否定、マーカー、安全、効力及び同居感染試験を行い、これらの検定に合格であった(表3)。

原種ウイルスの検定の結果、GPE株ウイルスの諸性状と一致し、原種ウイルスとしての諸条件を十分にみたしていた。

原種ウイルスを100ml容量のガラス瓶に40mlずつ分注し215本作成した。他は1l容量のポリ瓶に600mlずつ16本に分注した。これら原種ウイルスにはラベルを-70°Cの超低温槽に厳重に保管している(表4)。

表3 メキシコ製豚コレラGPワクチンの原種ウイルスの検定

検 定 項 目	種ウイルス	原種ウイルス		原種ウイルス
		サブロット1	サブロット2	Lot 1. 26-8-83
培養細胞試験	合 格	合 格	合 格	
培養液試験	合 格	合 格	合 格	
無菌試験	合 格	合 格	合 格	合 格
同定試験	合 格	合 格	合 格	合 格
ウイルス含有量試験	5.75 ^{*1}	5.90	5.50	5.70
迷入ウイルス否定試験 ^{*2}				
GPK細胞	合 格	合 格	合 格	合 格
ST細胞	合 格	合 格	合 格	合 格
SK細胞	合 格	合 格	合 格	合 格
マーカー試験 ^{*3}				
E				合 格
T				合 格
G				合 格
安全試験				合 格
効力試験				合 格
同居感染試験				合 格

*1: log TCID₅₀/ml

*3: E; ENDマーカー

*2: GPK; モルモット腎細胞

T; 温度マーカー

ST; 豚精巣細胞

G; 増殖マーカー

SK; 豚腎細胞

40 ml 215本は、今後メキシコでのGPワクチンの製造に原種ウイルスとして使用する。残りの原種ウイルスは、一部はGPワクチンを製造して、野外で安全性と有効性を証明するための検定用ワクチンを製造して、野外試験を実施する。その残りの原種ウイルスは、メキシコで原種ウイルスを製造するための原・原種ウイルスとした。

2-1-3 検定用GPワクチンの製造及び検定

豚コレラGPワクチンの原種ウイルスの製造検定が完了し、この検定結果から、原種ウイルスは、メキシコでGPワクチンの製造用ウイルスとして使用できることがほぼ明らかとなった。しかし、この原種ウイルスでGPワクチンを製造して、野外で実際に多くの豚に接種して、安全性と有効性を証明する必要がある。

表4 原種ウイルスの保存方法と保存量

原種ウイルス ロット番号	製造年月日	保存容器	保存容量	保存数	総量
Lot 1	1983. 8. 26	ガラス瓶 (100ml)*1	40 ml	215	8.6 l
		ポリ瓶 (1 l)	600 ml	16	9.6 l

*1: 容器の容量

<p>Vacuna GP contra Cólera porcino</p> <p>VIRUS SEMILLA MAESTRA</p> <p>40 ml. Almacenar a -70° C</p> <p>Fecha de producción: 26-8-1983</p> <p>Lote No.: 1</p>	<p>Instrucciones para su uso: Diluir 100 veces con medio de cultivo. Inocular 10 ml. de la suspensión de virus a botellas de cultivo (1.6 lts.) conteniendo células de riñón de cuyo y añadir 100 ml. de medio. Colectar los fluidos de cultivo celular después de 6 días de incubación a 30° C.</p> <p>Producción: SARH - Dirección Gral. Sanidad Animal SURESA, Tecamac, Edo. de México.</p>
--	--

原種ウイルスのラベル

原種ウイルス 2.4 l を希釈液で 6 l とし、これに安定剤（等量）を加えて最終バルクとし、各バイアルに 2 ml ずつ分注し、5,170本のバイアルを凍結乾燥した。凍結乾燥の結果、バイアルの破損、ゴム栓不良、真空不良などの不良品は 852本で、検定用に 79本を抜取り、最終製品は 4,235本（84,700ドーズ）であった（表5）。

この検定用ワクチンについて、最終バルク、ロット及び溶解用液について検定を行った。最終バルクの検定では、無菌、染色及びウイルス含有量試験とも合格であった。ロットの検

表5 検定用GPワクチンの凍結乾燥

凍結乾燥機 番 号	分注総数	凍 結 乾 燥 製 品		検 定	製 品 (封 印)
		不 良 品	製 品		
1	1,837	323	1,514	64	1,450
2	2,293	394	1,899	15	1,884
3	1,040	139	901	0	901
合 計	5,170	856	4,314	79	4,235

期間：1983.11.4～1983.11.6

定では、無菌、特性、同定、含湿度、真空度、PH、ウィルス含有量、マーカー、安全及び効力試験とも合格であった。溶解用液の検定も合格であった（表6）。

検定用ワクチンを日本に送付して、農林水産省家畜衛生試験場に検定を依頼した。中間報告ではあるが、日本での検定も合格であった（表7）。

2-1-4. 試作GPワクチンの製造及び検定

メキシコで製造した原種ウィルスは、厳重な検定の結果、GPワクチンの製造に使用可能なことが明らかとなった。そこで、この原種ウィルスを使用して、1ロット80万ドーズのGPワクチンの試作製造を行った。

1983年10月から、原種ウィルス（40ml、1ロット分）を使用して、種ウィルスの製造を2回に分けて行った。これはメキシコ産モルモットを使用したため、モルモットヘルペスウィルスの迷入を防ぐために少数のモルモットを使用した理由であった。厳重な検定を行いながら、2サブロット、1.8ℓ（サブロット1：800ml、サブロット2：1,000ml）を製造し、個々の検定終了後に混合して、試作GPワクチンの製造の1ロット分の種ウィルスとした。

1984年2月から、日本産モルモットの供与を受けて、試作GPワクチンの製造を開始して、10.3ℓの原液を製造した（表8）。

種ウィルスの検定は、培養細胞、無菌、ウィルス含有量及び迷入否定試験を行ったが、すべての検査に合格であった。原液の検定では、培養細胞、無菌、同定、ウィルス含有量、迷入否定、マーカー及び安全試験を行ったが、すべてに合格であった（表9）。

次で、検定終了後、原液10.3ℓを希釈液で調整し、さらに安定剤を加えて最終バルクとし、8回（8サブロット）の凍結乾燥を行った。凍結乾燥に供したバイアル数は40,029本で、凍結乾燥後不良品は715バイアルで、製品数39,314バイアルであった。また、

表6 検定用GPワクチンの検定

検定過程	検定項目	検定結果(判定)
最終バルク (凍結乾燥前)	無菌試験	合格
	染色試験	合格
	ウイルス含有量試験	4.9 ^{*1}
ロット (凍結乾燥後)	無菌試験	合格
	同定試験	合格
	特性試験	合格
	含湿度試験	2.3%
	真空度試験	合格
	PH試験	7.2
	ウイルス含有量試験	3.3 ^{*2}
	マーカー試験	
	E-マーカー試験	合格
	安全試験	合格
	効力試験	
	1ドース	合格
	1/100ドース	合格
1/1,000ドース	合格	
溶解用液	特性試験	合格
	無菌試験	合格
	PH試験	7.2

*1: log TCIP₅₀/ml

*2: log TCID₅₀/dose

表7 検定用GPワクチンの日本における検定成績(中間報告)

ワクチン	検定項目	検定結果(判定)
検定用GPワクチン	無菌試験	合格
	特性試験	合格
	真空度試験	合格
	含湿度試験	1.29%
	同定試験	合格
	ウイルス含有量試験	3.0 ^{*1}

*1: log TCID₅₀/dose

実施機関: 農林水産省家畜衛生試験場

製剤研究部、豚コレラ研究室

表8 試作GPワクチンの製造

ウイルス	製造年月日	製造量	検定結果(判定)
種ウイルス	1983. 10. 15	800 ml	合格
	10. 22	1,000 ml	合格
		1,800 ml ^{*1}	
原液	1984. 2. 20	10,300 ml	合格

*1: 種ウイルスの総量(1ロット分の種ウイルス)

表9 種ウイルス及び原液の検定

検定項目	検定結果(判定)	
	種ウイルス	原液
培養細胞試験	合格	合格
無菌試験	合格	合格
同定試験	合格	合格
ウイルス含有量試験 ^{*1}	5.7	5.7
迷入ウイルス否定試験		
GPK細胞	合格	合格
ST細胞		合格
SK細胞		合格
マーカー試験		
Eマーカー		合格
Tマーカー		合格
Gマーカー		合格
安全試験		合格
製造量	1.8 l	10.3 l

*1: log TCID₅₀/ml

検定用として1サブロット40バイアルを抜取った。最終製品は38,994バイアル、779,880ドーズ(1バイアル、20ドーズ)であった(表10)。最終製品は、保管用木箱に詰めて封印し4°Cに厳重に保管した。

試作GPワクチンの検定は、最終バルク(凍結乾燥前)、サブロット、ロット及び溶解用液について行った。

最終バルクは、無菌、染色及びウィルス含有量試験で、8サブロットとも合格であった。サブロットでは、真空度、含湿度、PH、特性、無菌及びウィルス含有量試験を行って、すべての検査に合格であった(表11)。

溶解用液は、原液(10倍濃度溶液)を作成し、同一の原液より3回に分けて製造した。3サブロットの溶解用液の検定は、特性、PH及び無菌試験を行ったが、合格であった。

ロットの検定は、各サブロット(同数)を溶解用液で混合溶解したワクチンを用いて、安全及び効力試験を行い、これらの検査に合格で、安全でかつ有効であることが証明された(表12)。

779,880ドーズの試作GPワクチンの製造が達成され、メキシコでのGPワクチンの製造技術が確立された。

表10 試作GPワクチンの凍結乾燥成績

サブロット 番号	分注バイアル数	凍結乾燥製品		検定用抜取 本数	製 品 (封印)	ド ー ス
		不 良 品	製 品			
1	5,502	362	5,140	40	5,100	102,000
2	5,280	149	5,131	40	5,091	101,820
3	5,281	58	5,223	40	5,183	103,660
4	5,165	24	5,141	40	5,101	102,020
5	5,608	25	5,583	40	5,543	110,860
6	5,428	46	5,382	40	5,342	106,840
7	5,480	34	5,446	40	5,406	108,120
8	2,285	17	2,268	40	2,228	44,560
合 計	40,029	715	39,314	320	38,994	779,820

表1-1 最終バルク及びサブロットの検定成績

サブロット 番号	検定項目及び結果(判定)								
	最終バルク			サブロット					
	無菌	染色	ウイルス*1 含有量	真空度	含湿度 (%)	PH	特性	無菌	ウイルス 含有量
1	合格	合格	4.5	合格	2.25	7.11	合格	合格	3.3
2	合格	合格	4.7	合格	2.15	7.11	合格	合格	3.3
3	合格	合格	4.5	合格	1.74	7.11	合格	合格	3.1
4	合格	合格	4.5	合格	1.02	7.11	合格	合格	3.3
5	合格	合格	4.7	合格	1.60	7.11	合格	合格	3.3
6	合格	合格	4.7	合格	1.79	7.11	合格	合格	3.3
7	合格	合格	4.5	合格	2.08	7.11	合格	合格	3.3
8	合格	合格	4.9	合格	1.84	7.11	合格	合格	3.5

*1: log TCID50/ml

表1-2 ロットの検定

試験	豚番号	ワクチン 接種ドーズ	接種後14日観察期間	攻撃ウイルスと量 (log LD50)	接種後21日観察期間
			臨床症状		臨床症状
安全試験	1	100	-*1	*2	
	2	100	-	*	
	3	100	-	*	
	4	100	-	*	
同居感染試験	9	-*3	-	ALD株ウイルス	+*4 (死亡)
	10	-	-	5.0	+ (死亡)
効力試験	5	1	-		-
	6	1	-		-
	7	1	-		-
	8	1	-		-
対照	11	-*3	-		+ (死亡)
	12	-	-		+ (死亡)

1: 症状なし、 2: 攻撃なし、 3: 非接種

2-1-5 GPワクチン300万ドーズの原液の製造及び検定

これまでの原種ウイルス、検定用ウイルス、試作ワクチンの製造で、メキシコでのGPワクチンの製造技術は確立された。

すでに、1983年12月に、PRONABIVEにGPワクチンの仮製造許可承認がなされることが日本側と家畜衛生総局側とで約束されていた。一方、日本から供与された準SPFモルモットの繁殖生産計画もなされていた。

1984年1月下旬から、GPワクチン300万ドーズの大量生産を開始した。3ロット分の種ウイルスをメキシコ製原種ウイルスで製造し、種ウイルスロット1は1,000ml、ロット2、ロット3は2,250mlであった(表13)。これら3ロットの検定では、培養細胞、無菌、ウイルス含有量及び迷入否定試験を行い、すべての検査に合格であった(表14)。

1984年5月から、本格的に300万ドーズの原液の製造を開始し、原液ロット1は6ℓ、ロット2及び3は15ℓを製造した(表13)。

3ロットの原液の検定は、培養細胞、無菌、同定、ウイルス含有量、マーカー及び安全試験を行ったが、これらの検査にすべて合格であった(表14)。

3ロットの凍結乾燥には約3カ月かかり、PRONABIVE側の製剤の凍結乾燥計画との調整が出来ず、1984年11月～1985年1月の3カ月間専従で凍結乾燥を行うことになった。そこで、原液を長期間保存することとなり、また、原液のウイルス量の低下を防ぐために安定剤を添加し希釈調整して、1ロット分を8サブロット(1サブロット2.5ℓ)に分けて、3ロット、24サブロットを-70℃の超低温槽に保存した。

表13 300万ドーズのGPワクチンの種ウイルス及び原液の製造

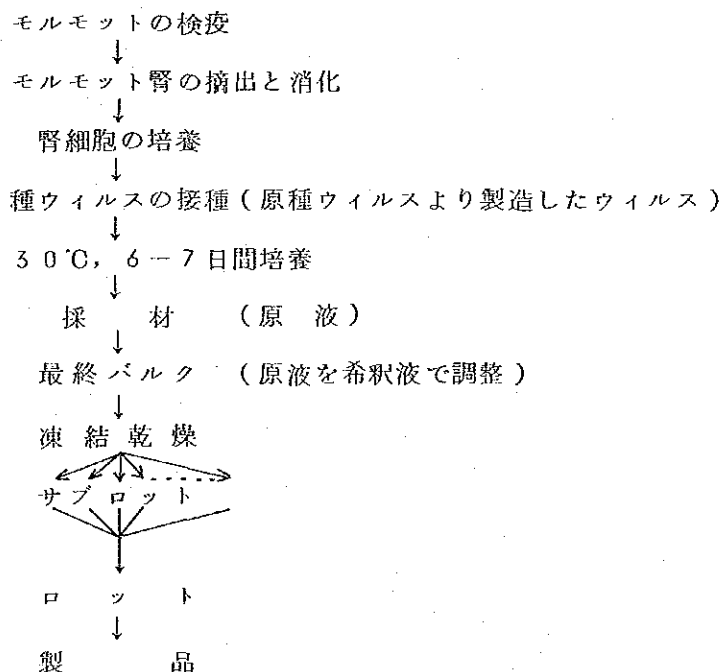
ウイルス	製 造 年 月 日			採材ウイルス液量
	モルモット腎の調整	ウイルス接種	採 材	
種ウイルス				
ロット1	1984. 1. 27	1984. 2. 2	1984. 2. 9	1,000 ml
ロット2	4. 25	5. 1	5. 8	4,500 ml 2,250ml (ロット2) 2,250ml (ロット3)
ロット3				
原 液				
ロット1	1984. 5. 7	1984. 5. 12	1984. 5. 17	6,000 ml
ロット2	5. 9	5. 15	5. 21	15,000 ml
ロット3	5. 11	5. 17	5. 23	15,000 ml

表14 種ウイルス及び原液の検定

検定項目	種ウイルス			原液		
	ロット1	ロット2	ロット3	ロット1	ロット2	ロット3
培養細胞試験	合格	合格	合格	合格	合格	合格
無菌試験	合格	合格	合格	合格	合格	合格
同定試験				合格	合格	合格
ウイルス含有量試験*1	6.1	5.9	5.9	6.1	6.3	6.1
迷入ウイルス否定試験						
GPK細胞	合格	合格	合格	合格	合格	合格
ST細胞				合格	合格	合格
SK細胞				合格	合格	合格
マーカー試験						
Eマーカー				合格	合格	合格
Tマーカー				合格	合格	合格
Gマーカー				合格	合格	合格
安全試験				合格	合格	合格

*1: log TCID50/ml

2-1-6 GPワクチン製造工程の概略



GP ワクチンは、上記の工程で製造される。培養細胞、種ウイルス、原液、最終バルク、サブロット、ロットは厳重な検定がなされる。製造工程の概要は写真 2 ～ 1 4 で示した。



写真2. モルモットより腎摘出



写真3. モルモット腎細胞の調整



写真4. モルモット腎細胞の培養

写真5. 凍結乾燥前のウイルス液の分注





写真 6. 凍結乾燥

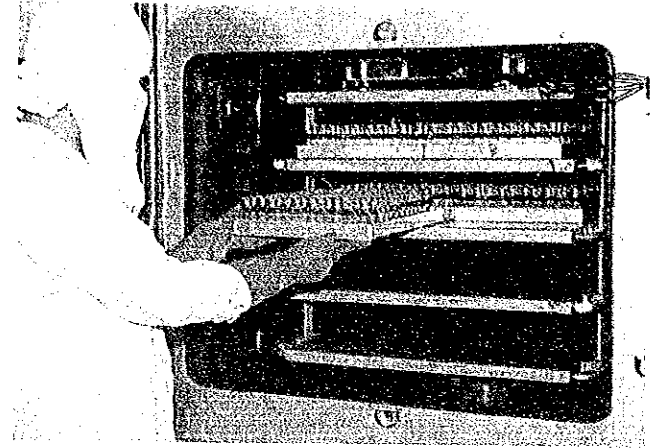


写真 7. 凍結乾燥



写真 8. 凍結乾燥後の巻縮

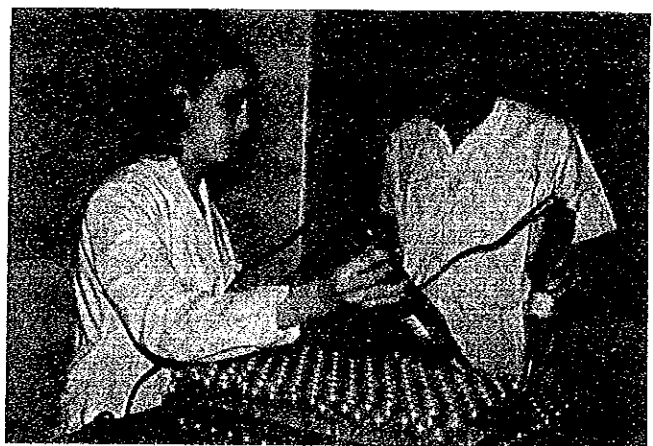


写真 9. 真空度の検査



写真10. GPワクチンの箱詰
(検定中の半製品)

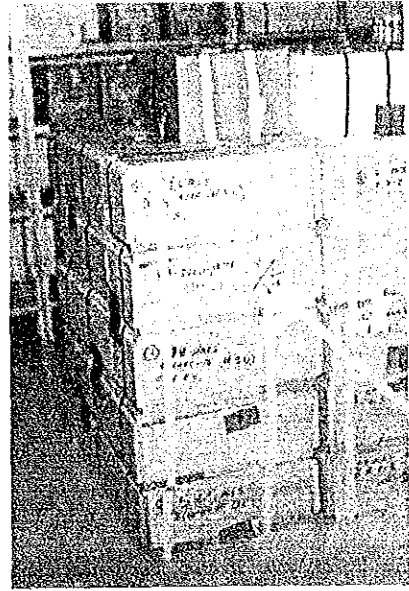


写真11. 検定中に箱詰封印された
GPワクチンの半製品



写真12. 卵ワクチンの自家検定



写真13. メキシコ製GPワクチン(1本、
20頭分)

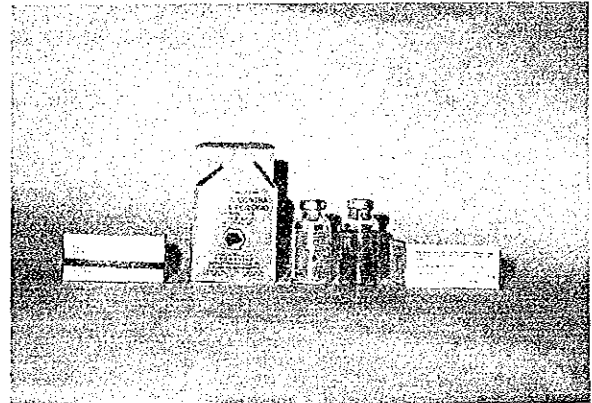
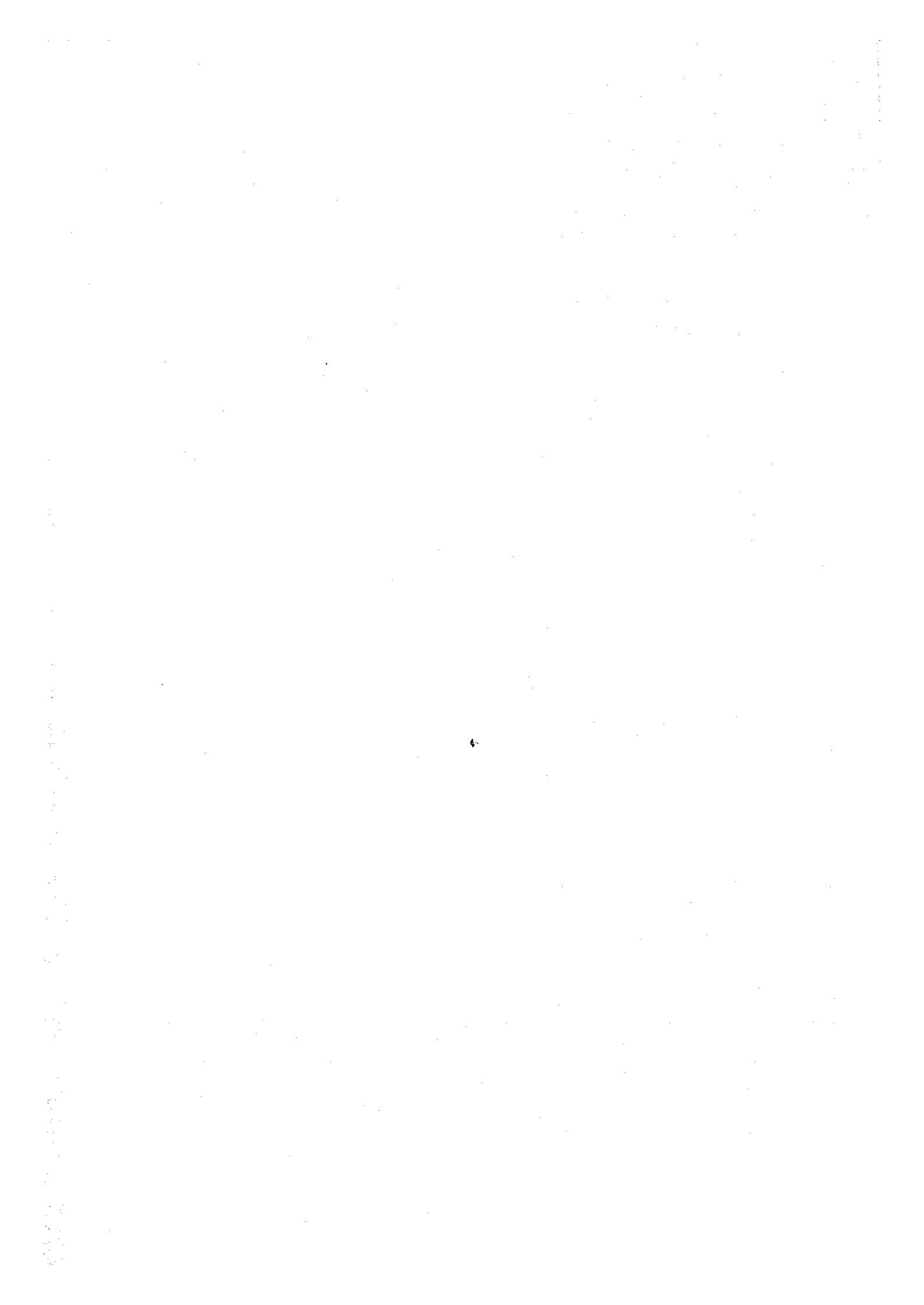


写真14. GPワクチンと包装箱



2-2 ワクチン検定

当初は、メキシコ合衆国で製造され、市販されている豚コレラの調査を実施した。メキシコでは18社の民間メーカーが18種の豚コレラワクチンを市場に出しており、すべて弱毒凍結乾燥ワクチンであった。ワクチンの使用弱毒株は、7種の弱毒ウィルスで、大別すると細胞培養で継代弱毒化したウィルスと家兎継代で弱毒した家兎化ウィルスである。

また、当初は豚コレラワクチンの検定技術の指導は、日本製GPワクチンを用いて行っていたが、GPワクチンの原種ウィルス、検定用ワクチン、試作ワクチンの製造が軌道にのり、これらメキシコ製のGPワクチンを用いて、主にGPワクチンの検定技術の指導を行って来た。

また、検定技術のみならず、各種の試験を実施して、基礎的な技術移転を行って来た。GPワクチンの検定技術に関しては、製造に密着している技術とも換言でき、すでに前項(2-1)で報告したので、ここでは主な試験について報告する。

2-2-1 日本製GPワクチンの安全性と有効性

日本で開発されて、1969年から唯一の豚コレラワクチンとして、豚コレラの予防に応用されているGPワクチンが、メキシコの豚に対して安全かつ有効であることの証明を、まず実験室内で行った。

試験に供した豚は、体重約40kgで、豚コレラウィルスの中和抗体陰性であった。

安全試験は、GPワクチン100ドーズを豚3頭に接種し、効力試験は1ドーズを3頭に接種した。100ドーズ接種群に、2頭の豚を同居させて接触感染の有無を調べた。

ワクチン接種後2週間の観察中、100ドーズ及び1ドーズ接種群とも、また同居群、対照群ともに発熱、白血球減少症、ウィルス血症、その他の臨床症状は認められなかった。

接種後2週目に、豚コレラウィルスの強毒株であるALD株ウィルスで攻撃した。100ドーズ及び1ドーズ接種群ともに、発熱、白血球減少症、ウィルス血症、その他臨床症状は全く認められず、強毒株ウィルスの攻撃に耐過した。一方、同居群と対照群は、著大な発熱、白血球減少症、ウィルス血症、重篤な症状を示して死亡又は頻死状態となった(表15)。死亡豚及び頻死期殺処分した豚の扁桃腺、脾臓、その他の実質臓器で、豚コレラウィルス抗原(FA抗原)が証明された(表16)。また、中和抗体の検出では、ワクチン接種群に、接種後2週目にすべての個体に抗体価4~64の中和抗体が検出された。

この試験成績で、メキシコ側(C.P.も含め)はGPワクチンの安全性と有効性を認識し、高く評価した。この試験は、プロジェクトの進展に加速を加えた。

表 15 日本製GPワクチンの安全性及び有効性

試験及び 豚番号	接種ドーズ (log TCID ₅₀)	ワクチン接種後14日間				攻撃 ^{*1} 後10日間			
		臨床症状		ウイルス血症 (7日間) ^{*2}	臨床症状		ウイルス血症 (10日間)		
		発熱	白血球減少症 その他		発熱	白血球減少症 その他			
安全 1	100	- ^{*3}	-	-	-	-	-	-	-
2	100	-	-	-	-	-	-	-	-
8	100 (5.2)	-	-	-	-	-	-	-	-
同居 3	- ^{*4}	-	-	-	+	+	+	+	+
6	-	-	-	-	+	+	+	+	+
効力 4	1	-	-	-	-	-	-	-	-
9	1	-	-	-	-	-	-	-	-
10	1	-	-	-	-	-	-	-	-
対照 5	-	-	-	-	+	+	+	+	+
7	-	-	-	-	+	+	+	+	+

*1: ALD株ウイルス、10^{6.0} TCID₅₀、*2: ワクチン接種後7日間、*3: 陰性、*4: 非接種

*5: 陽性、*6: 頻死期殺、*7: 死亡

表 1 6 A L D 株 ウィルス 攻撃 後 の 死亡 及 び 頻 死 期 殺 処 分 豚 よ り の 豚 コ レ ラ ウィルス 抗原 の 検 出

試験及び 豚 番 号	死亡及び頻死期 殺 処 分 日 数 (攻 撃 後 日 数)	豚 コ レ ラ ウィルス 抗原		
		臓 器		そ の 他 ^{*1}
		扁桃腺	脾	
同居感染試験				
3	11	+ ^{*2}	+	N.D. ^{*3}
6	7	+	+	N.D
対 照 群				
5	6	+	+	+
7	7	+	+	N.D

* 1 : 脳、肝、腎、リンパ

* 2 : 陽性

* 3 : 検査せず

2-2-2 日本製GPワクチンの野外試験

2-2-2-1 野外試験農場での豚コレラウィルスの抗体調査

野外試験実施予定農場で母豚及びそれらの子豚について、豚コレラウィルスの抗体調査を実施した。即ち、Michoacan 州の 2 農場と Guanajuato 州の 4 農場で、母豚 560 頭、子豚 415 頭の中和抗体の保有状況と抗体価の分布を調べた。

Michoacan 州の 2 農場では、母豚の抗体保有率は 100% で、平均抗体価 100~147 と高かった。子豚では、96~100% の抗体保有率で、平均抗体価 5.6 であった。Guanajuato 州の 4 農場では、母豚の抗体保有率は 75~100% で、平均抗体価 1.8~7 と低かった。子豚では 53~98% の抗体保有率で、平均抗体価 1~3.6 と低かった (表 17)。

2 州の農場での母豚の抗体価の異なりは、明らかに有意差があり、使用ワクチンの種類によるものと推定された。

なお、野外試験にあたって豚コレラの症状に類似の疾病であるオーエスキーウィルス及びトキソプラズマの浸潤状況を把握しておく必要があり、これらの病原体に対し、母豚で抗体調査を行った。トキソプラズマの抗体は 6 農場中 2 農場で検出され、抗体保有率は、

表17 野外試験農場での豚コレラウイルス中和抗体調査

州	農 場	母 豚			子 豚		
		検査数	陽性率 (%)	平均抗体価	検査数	陽性率 (%)	平均抗体価
Michoacan	Ejidal Porcina	51	100	7.20 ^{*1}	25	96.0	2.48
	La Rosa	23	100	6.65	36	100	2.42
Guanajuato	Mon	65	78.5	1.12	53	52.8	0.06
	El Zapote	235	74.9	0.83	139	87.1	1.57
	Petonche	41	100	1.27	40	95.0	0.10
	La Esperanza	145	100	2.81	122	97.5	1.85

*1: 2n

1.6～23.8%であった。オーエスキーウイルスの抗体はすべての農場で検出され、抗体保有率は27.5～100%であった。オーエスキー病には、母豚に不活化ワクチンが応用されており、そのため高率であるものと推定された(表18)。

2-2-2-2 野 外 試 験

野外試験の前に現地の調査が必要と考えられた。そこで、1984年11月17日～11月19日に、中間エパリュエシヨンの調査団とともに、野外試験予定農場で、経営規模、衛生状況等の調査を行った。Guanajuato州のLa Esperanza農場では、本年2～3月に豚コレラの発生があり、800頭が死亡し、その他オーエスキー病、下痢症、流死産の発生などが明らかとなった。野外試験農場には不適と判断され、この農場は除外した。また、Michoacan州のLa Rosa農場では、昨年豚コレラの発生で90頭の死亡が明らかになったが、過去1年以上の発生がなかったことから試験農場に選定した。その他の農場は衛生上問題はなかった。この調査で、Michoacan州の2農場(Ejidal Porcina, La Rosa)及びGuanajuato州の4農場(Mon, El Zapote I, II, Petonche)で実施することにした。

1983年11月30日～12月4日に、2州の6農場で、ワクチン接種を実施した。但し、Mon農場では、母豚については一部12月から1984年2月に接種した。

安全試験は、母豚273頭及び子豚1552頭にワクチンを接種して10日間の臨床観察を行ったが、この期間、母豚及び子豚とも異常を示したり、また死亡したりする豚は認

表18 野外試験農場における母豚の豚コレラ、オーエスキー及びトキソプラズマの抗体調査

州及び農場	種類 ^{*1}	検査数	陽性数	陽性率 (%)
Michoacan				
Ejidal Porcina	HC	51	51	100
	Auj.	42	42	100
	TP	42	10	23.8
La Rosa	HC	23	23	100
	Auj.	23	15	65.2
	TP	23	0	0
Guanajuato				
Mon	HC	65	51	78.5
	Auj.	73	30	41.1
	TP	73	0	0
EL Zapote	HC	235	176	74.9
	Auj.	293	252	86.0
	TP	293	0	0
Petonche	HC	41	41	100
	Auj.	44	12	27.5
	TP	44	0	0
EL Esperanza	HC	145	145	100
	Auj.	124	119	96.0
	TP	124	2	1.6

*1: HC; 豚コレラ、 Auj.; オーエスキー、 TP; トキソプラズマ

められなかった。ワクチン接種による異常は認められず安全であった(表19)。

効力試験は、約1~2カ月齢の子豚178頭に接種して行った。ワクチン接種前と接種後約2カ月に採血し、中和抗体を調べた。178頭中ワクチン接種前後のペアで採取できた169頭について調べた。ワクチン接種前の抗体保有率は63/169、37.3%で、

接種後は100%となった。平均抗体価では、接種前2.4であったが、接種後は14.4と上昇した(表20)。

表19 安全試験

州	農場数	ワクチン接種頭数		異常豚数	死亡豚数
		母豚	子豚		
Michoacan	2	22	66	0	0
Guanajuato	4	251	1,486	0	0
合計	6	273	1,552	0	0

表20 効力試験

州	農場	検査数	中和抗体					
			ワクチン接種前			ワクチン接種後		
			陽性数	陽性率(%)	平均抗体価(2n)	陽性数	陽性率(%)	平均抗体価(2n)
Michoacan								
	Ejidal Porcina	10	2	20.0	0.20	10	100	5.00
	La Rosa	20	5	25.0	0.30	20	100	2.55
Guanajuato								
	Mon	59	12	20.3	0.32	59	100	4.76
	EL Zapote I	27	15	55.6	1.15	27	100	3.41
	EL Zapote II	35	24	68.6	3.97	35	100	3.00
	Petonche	18	5	27.8	1.22	18	100	3.97
合計		169	63	37.3	1.29	169	100	3.83

ワクチン接種前に抗体陰性の106頭の子豚では、接種後はすべての子豚に抗体の産生が認められ、平均抗体価は17.3となった。即ち、抗体陰性豚では、ワクチン接種により100%の豚が抗体を獲得し、ワクチンは有効であった。

ワクチン接種前に抗体陽性の63頭では、接種前に2～8倍の抗体価を保有する豚39頭中37頭、94.8%に抗体価の上昇及び持続が認められた。抗体価32-512の場合は、抗体価は下降した。即ち、169頭中143頭、84.6%の豚に抗体産生が認められワクチンは有効であった。

メキシコでの日本製GPワクチンの安全性と有効性は、実験室内及び野外試験で証明された。本試験はメキシコ側から高い評価がなされた。

2-2-3 メキシコ製豚コレラワクチンの安全試験

メキシコで製造され、販売されている豚コレラワクチンについて、民間メーカー4社の5種のワクチンを使用して、日本の国家検定基準に準じて安全試験を行った。5種のワクチンの商品名は、Soovac, Porcivac, Certigen, Certivong, Vac.C.P.であった。

これら5種のワクチンについて、無菌、真空度及びウイルス含有量試験を行った。無菌及び真空度試験は、すべて合格であった。ウイルス含有量試験は蛍光抗体法で行ったが、Soovac, Porcivac, Certigenは、それぞれ3.8、4.3、3.0 log TCID₅₀/doseのウイルス量で、日本の国家検定基準に合格であった。しかし、Vac.C.P.は1.3 log TCID₅₀/doseと低く不合格であった。Certivongは家兎化ウイルスで、ウイルス量の測定は行わなかった。

安全試験は、各ワクチン100ドーズを体重約30kgで抗体陰性の子豚2頭に接種した。また、100ドーズ接種群に1頭を同居させて同居感染試験も行った。ワクチン接種後14日間、発熱、白血球減少症、ウイルス血症、その他臨床症状を調べた。発熱はPorcivac, Certigen, Certivong接種群の各1頭に認められた。白血球減少症はCertivong接種群に認められた。ウイルス血症はSoovac及びCertivong接種群に検出された。しかし、100ドーズのワクチン接種で死亡する豚はいなかった(表21)。

ワクチン接種後14日目に、接種群及び同居豚に、豚コレラウイルス強毒株のALD株ウイルス $10^{6.0}$ TCID₅₀で攻撃した。発熱はSoovac及びCertivong接種群の各1頭とVac.C.P.接種群に認められた。白血球減少症はSoovac接種群の1頭とVac.C.P.接種群に認められた。ウイルス血症は、Porcivac接種群の1頭では検出されなかったが、他はすべて検出された。Soovac接種群の1頭とVac.C.P.接種群は攻撃で耐過せず発症死亡した。同居感染試験では、Certigen及びCertivong接種群との同居豚は、攻撃に耐過生存し同居感染が成立した。Soovac, Porcivac, 及びVac.C.P.接種群との同居豚には、同居感染は認められなかった。対照群(2頭)は、攻撃ですべて発症死亡した(表21)。

安全試験で、最も安全性を示したのが、Vac.C.P.ワクチンであったが、通常の100倍

表 2 1 メキシコ製豚コレラワクチンの安全試験

ワクチン (株名)	検 定 項 目		ワクチン接種後14日間				ALD株ウイルス攻撃後14日間			同居 感染	発症 死亡
	無 菌	真空度	ウイルス 含有量*1	発 熱	白血球 減少症	ウイルス 血症	発 熱	白血球 減少症	ウイルス 血症		
Soovac (不明)	合格	合格	3.8	-*1	-	+*2	+*3 (1/2)	+ (1/2)	+	-	+*4 (1/2)
Porcivac (PAV-1)	合格	合格	4.3	+ (1/2)	-	-	-	-	+ (1/2)	-	-
Certigen (PSA-57)	合格	合格	3.0	+ (1/2)	-	-	-	-	+	+	-
Certivong (China)	合格	合格	不明	+ (1/2)	+	+	+ (1/2)	-	+	+	-
Vac. C. P. (Minnesota)	合格	合格	1.3	-	-	-	+	+	+	-	+

備考：ワクチン；100ドーズ接種

攻撃ウイルス株と攻撃ウイルス量；ALD株、 $10^{6.0}$ TCID₅₀

*1：陰 性

*2：陽 性

*3：陽性例数 / 検査例数

*4：死亡 (死亡例数 / 検査例数)

のワクチンを接種したにもかかわらず効力はまったくなく、免疫率は0%であった。Soovac ワクチンは50%の免疫率であった。Porcivac、Certigen及びCertivongのワクチンは、発熱、白血球減少症、ウイルス血症を示す例も認められ、子豚に対して安全性は十分でなかった。

2-3 ウィルス病診断

家畜のウィルス性疾病の診断技術は、すでに先陣の専門家の技術移転で、主要な豚、牛、鶏のウィルス性疾病については、ほぼ確立された技術として定着していた。これらの技術は、牛のウィルス病は、牛伝染性鼻気管炎、パラインフルエルザ、牛アデノウイルス7型感染症、牛ロタウイルス感染症、牛ウィルス性下痢・粘膜病、ブルータンク及び白血病、豚のウィルス病では、豚コレラ、豚伝染性胃腸炎、オーエスキー病、豚ロタウイルス感染症及び豚バルボウイルス感染症、鶏病では、ニュカッスル病、鶏伝染性気管炎、ガンボロ病、産卵低下症候群 (EDS-76)、伝染性喉頭気管炎及び伝染性コリザであった。

組織培養技術では、豚腎、豚精巢、牛腎、牛精巢、モルモット腎、鶏胎児などの初代細胞培養及びHmlu-1、Vero、MDBK、SKL、PK-15、CPK、BHK細胞などの株化継代細

胞培養技術も確立されていた。ほぼ、ウィルス検査を行える体制となっていた。

そのような基盤の上に、新しい技術の移転を心がけて来た。現在、ウィルス株については、豚、牛、馬、鶏などの約22種のウィルスを持している。標準免疫血清は、これまで野外感染血清を代用として使用していたが、順次、小動物(ウサギ、モルモット)で作成し、交換している。

症性鑑定業務の主体は、狂犬病及び豚コレラ(FAによる抗原証明)、ニューカッスル病(ウィルス分離)以外の疾病では、抗体検査で、これまで移転された技術で、中和試験、赤血球凝集抑制試験、ゲル内沈降反応、補体結合反応で、通常の業務となっている。

診断分野の技術移転は、総合的な技術移転を行う必要があると考える。第3年次は、これらのことを配慮して、主に各種ウィルスの抗体調査を実施した。

2-3-1 ウィルス部における病性鑑定成績

{ 1983年2月~1984年5月 }

家畜衛生センターでは、ウィルス性疾病の病性鑑定(病鑑)は、主にウィルス部(旧悪性伝染病部)で実施している。

1983年2月~1984年5月の1年4か月間の病鑑成績では、依頼件数は約6千件であった。狂犬病の病鑑が最も多く、2,134件で、陽性率は32.1%(835/2,134)であった。動物種で、犬、猫、牛、野生動物の順であった(表2.2)。

狂犬病以外の疾病で、豚疾病では豚コレラで968件、陽性率は13.5%(526/3,886)であった。牛疾病では牛伝染性鼻気管炎で577件、陽性率は42.4%(1,505/3,552)であった。馬疾病ではベエネゼエラ馬脳炎で307件、陽性率は8.7%(83/954)であった。鶏疾病では、1983年6月~1984年5月の1年間の病鑑成績であったが、ニユ

表2.2 狂犬病の病性鑑定成績(1983.2.1~1984.5.31)

動物	依頼件数	検査数	陽性数	陽性率(%)
犬	1,546	1,546	687	44.6
猫	300	300	31	10.3
牛	132	132	89	67.4
豚	12	12	7	58.3
馬	8	8	4	50.0
緬山羊	22	22	11	50.0
野生動物 ^{*1}	113	113	5	4.4
人	1	1	1	100

*1: 齧歯類、猿、キツネ、ウサギ、あらいぐま、コウモリ

ーカッスル病がもっとも多く166件で、陽性率は47.4% (589/1,242)であった (表23、24)。

現在、家畜衛生センターのウィルス部で、病性鑑定として実施されている疾病名、診断法の概要である (表25、26)。

表23 病性鑑定成績 (1983.2.1~1984.5.31)

動物	病名	依頼件数	検査数	陽性数	陽性率 (%)
豚	豚コレラ	968	3,886	526	13.5
	アフリカ豚コレラ	842	2,168	0	0
	豚伝染性胃腸炎	53	304	28	9.2
	オーエスキー病	46	623	15	2.4
	豚ロタウイルス感染症	55	242	8	3.3
牛	牛伝染性鼻気管炎	577	3,552	1,505	42.4
	牛ウイルス性下痢・粘膜病	19	294	82	27.9
	パラインフルエンザ3型ウイルス感染症	16	287	91	31.7
	牛白血病	2	5	0	0
馬	ベエネゼエラ馬脳炎	307	954	83	8.7
	馬インフルエンザ	82	226	41	18.1
	馬伝染性貧血	138	710	21	3.0
	馬バベシア病	122	981	20	2.0
	トリパノゾーマ病	42	146	0	0
	鼻疽	50	192	0	0
綿羊	羊痘	6	8	0	0
犬	犬バルボウイルス感染症	3	3	0	0

表 2 4 鶏の病性鑑定成績 (1983. 6. 1 ~ 1984. 5. 31)

病 名	依頼件数	検査数	陽性数	陽性率 (%)
ニューカッスル病	166	1,242	589	47.4
鶏伝染性気管支炎	18	135	0	0
ガンボロ病	40	451	266	59.0
鶏伝染性喉頭気管炎	8	53	0	0
産卵低下症候群 (EDS-76)	3	11	0	0
鶏インフルエンザ	11	104	0	0
伝染性コリーザ	7	41	15	36.6

2-3-2 抗体調査

各種動物について、疾病の抗体調査を行った。その目的は、今まで移転された技術の評価のため、また、GPワクチン製造及び検定の過程で突出した問題解決のためであった。すでに、個々の疾病に対する血清学的診断技術は移転されており、これらの技術のアフターケアということであった。

牛アデノ7型 (Ad-7) 及び牛ウイルス性下痢・粘膜炎 (BVD・MD) ウイルスの抗体調査を行った。メキシコの4州で採取した牛血清について、これらのウイルスの抗体の検出を行った。Yucatan 及び Tamulipas 州の肉用牛では、Ad-7の赤血球凝集抑制 (HI) 抗体は、Yucatan で60% (12/20)、Tamulipas 州で76% (38/50) の陽性率であった。Hidalgo 及び Morelos 州の乳用牛について、BVD・MD ウイルスの中和 (NT) 抗体の検出は、Hidalgo 州で73.4% (80/109)、Morelos 州で56.6% (13/23) の陽性率であった。メキシコの牛の間に Ad-7 及び BVD・MD ウイルスの高度の侵潤が明らかとなった (表 2 7)。

各種動物が、ベネゼエラ馬脳炎 (VE)、HVJ、トキソプラズマ (TP) の抗体調査を行った。これらの動物の年齢は、馬4-10才、牛3-8才、豚1-6才、山羊2-3才、緬羊1-3才であった。VEVに対する抗体は、馬のみに検出され、陽性率は30% (6/20) で、HI抗体価は20-40であった。馬では生ワクチンが応用されており、HI価も低いことからワクチンによる抗体と推定された。HVJでは、牛のみに検出され、35% (7/20) の高い陽性率を示した。TPでは、豚5% (1/20)、牛5% (1/20)、山羊15% (3/20)、

表 25 ウィルス部での診断法

1. 血清学的検査

動物種	疾 病 名	試 験
豚	豚コレラ	中和試験
	豚伝染性胃腸炎	中和試験
	オーエスキー病	中和試験
	豚ロタウイルス感染症	中和試験、赤血球凝集、抑制反応
	豚バルボウイルス感染症	赤血球凝集抑制反応
牛	牛伝染性鼻気管炎	中和試験
	牛白血病	ゲル内沈降反応
	パラインフルエンザ (PI-3)	赤血球凝集抑制反応
	牛アデノウイルス7型感染症	赤血球凝集抑制反応
	牛ウイルス性下痢・粘膜病	中和試験
	牛ロタウイルス感染症	赤血球凝集抑制反応
	ブルータンク	ゲル内沈降反応
馬	馬伝染性貧血	ゲル内沈降反応
	ペエネゼエラ馬脳炎	赤血球凝集抑制反応
	馬インフルエンザ	赤血球凝集抑制反応
	馬バベシア病	補体結合反応
	トリパノゾーマ病	補体結合反応
	鼻 疽	補体結合反応
	鶏	ニューカッスル病
鶏伝染性気管支炎		中和試験
鶏伝染性喉頭気管炎		中和試験
ガンボロ病		ゲル内沈降反応
産卵低下症候群 (EDS-76)		赤血球凝集抑制反応
鶏インフルエンザ		赤血球凝集抑制反応
伝染性コリーザ		赤血球凝集抑制反応

表 26 ウィルス部での診断法

2. ウィルス学的検査(ウィルス分離)

動物種	疾 病 名	診 断 材 料	試 験
豚	豚コレラ	扁桃腺, 脾臓, リンパ 線	蛍光抗体法*1
	豚伝染性胃膜炎	腸 管	蛍光抗体法
	アフリカ豚コレラ	扁桃腺, 脾臓, リンパ 線	蛍光抗体法 赤血球吸着反応
	オーエスキー病	脳	ウサギ接種, 蛍光抗体法
牛	牛伝染性鼻気管炎	気 管	蛍光抗体法
	ブルータンダ	血 液	発育鶏卵接種
馬	ペエネズエラ馬脳炎	脳	マウス脳内接種
鶏	ニューカッスル病	気管, 実質臓器	発育鶏卵接種
	ガンボロ病	フマブリキウスのう	発育鶏卵接種
	鶏伝染性気管支炎	気管, 肺	発育鶏卵接種
	鶏伝染性喉頭気管炎	気 管	発育鶏卵接種
各種動物	狂 犬 病	脳	蛍光抗体法

*1: 抗原証明、同定

綿羊 20% (2/10) の陽性率で、馬には検出されなかった(表 28)。

メキシコの4つの州から病性鑑定として送付された鶏血清(1~2カ月齢)105例で、ニューカッスル病(ND)、産卵低下症候群(EDS-76)、ガンボロ病、伝染性コリーザの抗体調査を行った。NDはほとんどワクチン接種をしており、抗体陽性率は91.4(96/105)であった。ガンボロ病では37.1%(40/105)、伝染性コリーザは1.9%(2/105)であった。EDS-76の抗体は検出されなかった(表 29)。

山羊血清は、GPワクチンの製造及び検定にかなり大量使用している。豚コレラ及び水胞性口炎(VS)に対する抗体陰性の血清を使用するために、確保する必要があった。そこで、これらのウィルスに対する抗体調査を行った。豚コレラの抗体は、Teotihuacanで76.0%(19/25)、Tecamacで50%(4/8)の陽性で、メキシコではかなりの高率で抗体を保

表 2 7 牛アデノ 7 型及び牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルスの抗体調査

ウイルス	地域(州)	種類	試験	検査数	陽性数	陽性率(%)
Ad-7 ^{*1}	Yucatan	肉用牛	HI ^{*2}	20	12	60
	Tamulipas	肉用牛	HI	50	38	76
BVD・MD ^{*3}	Hidalgo	乳用牛	NT ^{*4}	109	80	73.4
	Morelos	乳用牛	NT	23	13	56.6

* 1 : 牛アデノウイルス 7 型

* 2 : 赤血球凝集抑制試験、陽性 \geq 1:20

* 3 : 牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルス

* 4 : 中和試験、陽性 \geq 1:5

表 2 8 各種動物でのベエネゼエラ馬脳炎、HVJ 及びトキソプラズマの抗体調査

動物	種類 ^{*1}	試験 ^{*2}	検査数	陽性数	陽性率(%)
馬	VEV	HI	20	6	30.0
	HVJ	HI	20	0	0
	TP	LA	20	0	0
牛	VEV	HI	20	0	0
	HVJ	HI	20	7	35.0
	TP	LA	20	1	5.0
豚	VEV	HI	20	0	0
	HVJ	HI	20	0	0
	TP	LA	20	1	5.0
山羊	VEV	HI	20	0	0
	HVJ	HI	20	0	0
	TP	LA	20	3	15.0
綿羊	VEV	HI	10	0	0
	HVJ	HI	10	0	0
	TP	LA	10	2	20.0

* 1 : VEV ベエネゼエラ馬脳炎ウイルス

HVJ 日本赤血球凝集性ウイルス

TP トキソプラズマ

* 2 : HI 赤血球凝集抑制試験

LA ラテックス凝集反応

表 29 鶏での各種疾病の抗体調査

疾 病	試 験	検 査 数	陽 性 数	陽 性 率 (%)
ニューカッスル病	HI ^{*1}	105	96	91.4
産卵低下症候群 (EDS-76)	HI	105	0	0
ガンボロ病	GPT ^{*2}	105	40	37.1
伝染性コリザ	HI	105	2	1.9

備考：鶏月齢；1～2カ月 98羽
7～10カ月 7羽

*1：赤血球凝集抑制試験

*2：ゲル内沈降反応

表 30 山羊での豚コレラウイルス中和抗体調査

飼 養 場 所	検 査 数	陽 性 数 ^{*1}	陽 性 率 (%)
Teotihuacan	25	19	76.0
家畜衛生センター (Tecamac)	8	4	50.0

*1：陽性；中和指数 ≥ 0.5

表 31 山羊での水胞性口炎ウイルス中和抗体調査

飼 養 場 所	検 査 数	陽 性 数 ^{*1}	陽 性 率 (%)
Teotihuacan	13	0	0
Tecamac	7	0	0
Cuernavaca	7	0	0

*1：陽性 $\geq 1:2$

有していることが明らかになった。豚コレラウイルスとBVD・MDウイルスでは共通抗原があることから、豚コレラウイルスに対する抗体というよりも、BVD・MDウイルスに対する抗体と推定された。VSVに対する抗体は、3カ所の山羊27例で、すべて抗体は陰性であった(表30)。

1983年3月～1984年2月に、GPワクチンの製造用として飼育しているモルモット及びすでに使用したモルモットの血清について、HVJ及びモルモットヘルペスウイルス(83-11株)の抗体調査を行った。HVTに対する抗体は、147例すべて陰性であった。83-11株ウイルスの抗体検出では、14.1(12/85)の陽性率であった。日本産モルモットには抗体は検出されず、メキシコ産モルモットに16.7%(12/68)の陽性率で検出された。そこで、GPワクチン製造の技術指導(モルモット腎細胞培養技術訓練)に使用したモルモット腎細胞からウイルス分離を行った。7回の小量培養(5～10匹)で2回の培養細胞からモルモットヘルペスウイルスが分離された。メキシコ産モルモットにかなり高率にヘルペスウイルスの浸潤が、血清学的、ウイルス学的に明らかになった(表32、33)

表32 モルモットでのHVJ及びモルモットヘルペスウイルスの抗体調査

生産場所	採血年月日	検査数	HVJ		モルモットヘルペス	
			陽性数	陽性率(%)	陽性数	陽性率(%)
Pronabive*3	1983. 3. 30	5	0	0	0	0
Tecamac*4	3. 30	5	0	0	0	0
Tecamac	4. 4	3	0	0	0	0
D.A.C.Y.A.*5	4. 22	10	0	0	2	20.0
	4. 22	5	0	0	—*6	—
Guadalajara*5	5. 12	15	0	0	1	6.7
	5. 12	14	0	0	—	—
日本(静岡)	6. 15	17	0	0	0	0
Te camac	6. 28	30*7	0	0	9	30.0
日本(静岡)	7. 6	9	0	0	—	—
Guadalajara	1984. 1.	23	0	0	—	—
Pronabive	2.	11	0	0	—	—

*1: 赤血球凝集抑制反応

*2: 中和試験

*3: 国立動生剤製造所

*4: 家畜衛生センター

*5: 実験動物会社

*6: 検査せず

*7: 繁殖用モルモット

表33 モルモット腎細胞での迷入ウイルスの分離(1983.10~1983.12)

検査回数	モルモット生産地	使用モルモット数	ウイルス分離 ^{*1}	同定 ^{*2}
1	Guadalajara ^{*3}	5	- ^{*4}	-
2	"	5	-	-
3	"	5	-	-
4	"	10	+ ^{*5}	モルモット ペルベス
5	"	5	-	-
6	"	6	+	モルモット ペルベス
7	PRONABIVE ^{*6}	7	-	-

*1: 4代盲継代

*4: 陰性

*2: モルモットヘルペスウイルス83-11
の免疫血清での中和試験

*5: ウイルス分離

*3: 実験動物生産業者

*6: 国立動生剤製造所

2-3-3 各種抗原及び免疫血清の作成

2-3-3-1 抗原の作成

実験小動物での、モルモットヘルペスウイルスの検査は、現在までは中和試験のみ確立され、ある程度整備された実験室でないと実施できない。そこで、簡便なゲル内沈降反応が応用できるかどうかについて検討した。GPK細胞での感染培養液を超遠心して抗原を調製し検討したが、ウサギで作成した免疫血清(中和価、1:128)には明瞭な沈降線が認められるが、モルモットで作成した免疫血清(中和価、1:32)に反応しなかった。特異性又は感度に問題があるかどうか検討している。また、エーテル処理で抗原価の低下は認められず、不活化抗原として有望である。

HVJウイルスの赤血球凝集(HA)抗原の作成を行った。ESK細胞での感染培養液をエーテルで不活化して調整した。HA価は32-128で、エーテル処理でHA価の低下は認められず、感染価は不活化し、不活化抗原として十分使用できる。

ベエネゼエラ馬脳炎(VE)ウイルスのHA抗原の作成を行った。ESK細胞での感染培養液を抗原とした。HA反応の至適pHは6.0~6.2で、HA価は32~128で、赤血球凝集抑制(HI)試験に使用できる。

2-3-3-2 免疫血清の作成

モルモットヘルペスウイルス(83-11株)の免疫血清を、ウサギ及びモルモットで作成した。中和抗体価は32~128であった。

豚コレラの高度免疫血清を、豚3頭及び山羊2頭を用いて作成している。豚で作成した免疫血清は、それぞれ中和抗体価2,048、8,192、32,768であった。個々約1ℓで、3頭分を混合して高度免疫血清（中和抗体価16,384）とした。しかし、山羊では2頭とも中和抗体価512、1,024と低く、再度追加免疫を行った。

抗ウサギグロブリン山羊血清を作成し、蛍光色素を標識し、この標識抗体を用いて、間接法で各種疾病の診断法を検討している。

3. 施設整備について

プロジェクトの円滑な推進のために、日本側専門家、メキシコ側首脳及びカウンターパートと共に、種々の困難な状況を切り開いて環境整備を実施してきた。メキシコ側も日本側専門家の情熱を理解し、最大限の努力を惜まなかった。主な事項は下記のとおりであった。

3-1 純水装置の設置及び維持管理

家畜衛生センターの地下水は、硬水で純水を大量に確保することは不可能であった。同センターの純水採取装置は小型で能力が低いため、大量の純水が確保出来ず、従って実験ガラス器具等の洗浄などに使用量が制限され、清浄なガラス器材を多数使用することが出来なかった。また、ワクチン製造には、大量の純水を使用するため供給量が不足していた。

1982年に日本の供与機材として純水装置が供与され、同年12月にメキシコ西海岸のマンサニョ港に到着した。1983年3月22日及び4月11日に家畜衛生センターに引取った。4月6日に、木村政夫、中島辰郎、岸成好専門家が着任し、約1カ月をかけて、据付配管工事は、3専門家の指導で完了した。

5月11日に在墨日本大使館の杉山公使、前田二等書記官、上原JICA事務所長の出席のもとで目録の贈呈式が行われた。

この装置は超純水の製造装置で、超純水の水質の維持に、高度の技術が要求されるため、メキシコ側技術者を日本で2カ月間研修を行った。次いで、1984年4月6日～4月19日の2週間の任期で岸成好専門家が着任して、装置の点検及び生剤棟への配管工事を指導した。

現在、純水装置設置以来、メキシコ側技術者4名（維持管理3名、水質管理1名）で維持し、純水の供給は順調に行われている（写真15）。

3-2 生物学試験研究棟（生剤棟）の建設

生剤棟の建設は、当初の計画より約2年遅れて、1983年の特別予算として家畜衛生総局で獲得した。当初の計画では、1983年5月着工、9月完成の予定であったが、5月31日に総局長より7月着工で5カ月間で完成予定、また特別予算額は、生剤棟の建設費7,220万ペソ、プロジェクト運営費1,425万ペソの合計8,645万ペソであるとの説明があった。

生剤棟の着工にあたり、8月15日に公開入札が行われ、建設業者Fimex社に落札した。1983年9月12日に、生剤棟の建設工事が開始された。9月20日に、関係者で定礎式が行われ、チームリーダーがくわ入れを行った（写真16）。1984年1月31日で建物はほぼ完成し、3月31日で建物内部の整備もほぼ完了し、造作関係の供与機材の引取り次第稼働出来る体制となった（写真17）。

3-3 検定検査部棟（検定棟）の建設

1984年4月30日より検定棟の建設工事が開始された。当初の建設計画の4割減に縮小し、工事は急ピッチで進行しており、1985年3月頃には完成するものと推定される（写真18）。

3-4 電子顕微鏡の設置と稼動状況

メキシコ側の強い要請で、1982年の供与機材として電子顕微鏡（電顕）一式が供与された。1983年12月に家畜衛生センターに引取った。1984年1月より電顕室の整備、電顕の設置を開始し、3月下旬に完成した。

吉野専門家の指導で、電顕操作、電顕材料（ウイルス、細菌）の作成、超薄切片の作成技術などの技術移転がなされた。超薄切片作成室の温度調整が不良で早急に改善する必要がある。

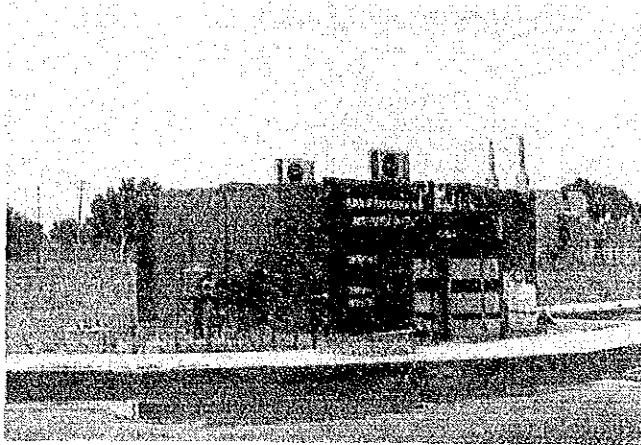


写真 1 5. 超純水作成装置

写真 1 6. 生剤棟の定礎式

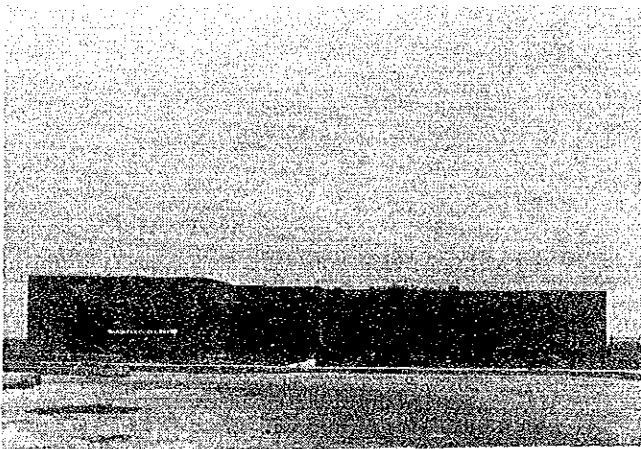
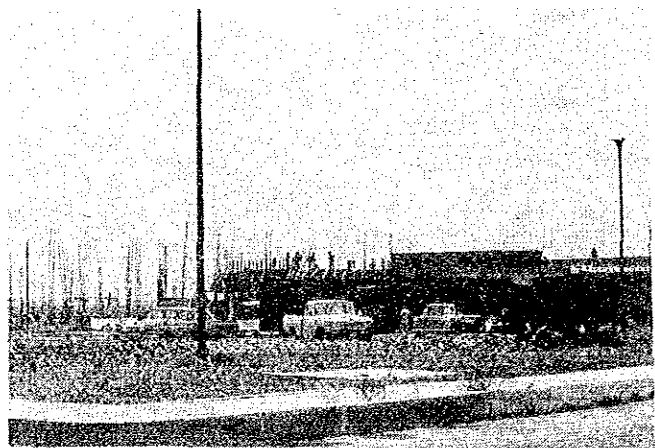


写真 1 7. 生剤棟

写真 1 8. 検定棟の建設



4. プロジェクトの運営について

4-1 首脳会議

1983年5月31日に、家畜衛生総局長の要請で、日本側とメキシコ側の首脳でプロジェクトの問題点について討議した。議題は主に、ワクチン製造、技術移転、生剤棟の建設、ローカルコスト、供与機材の引取及び管理、研修生の選考、日本製GPワクチンの野外試験及び実験室内試験などであった。

日本側とメキシコ側の首脳会議は、プロジェクト推進上重要かつ有意義であるので、2カ月に1回開催したいとの強い要請が、総局長より提案され同意した。

「首脳会議はプロジェクトを円滑かつ有益に推進する目的で定期的で開催する。」

「首脳会議の構成メンバーは、日本側はチーム・リーダー及び業務調整員とし、メキシコ側は、家畜衛生総局長及び次長、家畜衛生センター所長及び担当部長、国立動生剤製造所長及び次長とする。」

「本会議は、プロジェクトサイトで解決困難な諸問題について、プロジェクトの推進を目的として協議する」という主旨であった。

1983年5月31日を第1回とし、7月27日、1984年2月6日、4月27日、7月23日に開催された。1983年7月～1984年2月の間は、中間エバリュエーションとの合同委員会が開催されたために、開催されなかった。

首脳会議が開催されるようになり、日本側とメキシコ側との理解が深まり、かなりの意志の疎通がなされ、プロジェクトの推進に非常に有意義であった。

4-2 メキシコ北西部の豚コレラの撲滅会議

1984年3月7日～3月9日に、Sonora州のObregon市で、メキシコ北西部4州(Baja California Sur, Baja California Norte, Sonora, Sinaloa)での豚コレラ撲滅会議(日米墨)が開催された。

出席者は、米国農務省(USDA)、メキシコ家畜衛生総局(DGSA)、ソノーラ・シナロア州養豚獣医協会(AVEC・SONSIN)、メキシコ国立自治大学(UNAM)、全国獣医養豚協会(ANVEC)、国立牧畜研究所(INIP)、家畜衛生センター(DR)、日本側専門家(三浦、島袋、浜田、橋本)、その他関係機関及び養豚家の約230名であった。

下記の演題で講演があった。

- 1) 米国における豚コレラ撲滅計画とその体験(米国)
- 2) GPワクチンの性状について(日本)
- 3) 日本におけるGPワクチンの評価について(日本)
- 4) PAV-250ワクチンの性状について(メキシコ)

5) メキシコ製豚コレラワクチンの再評価の結果について (メキシコ)

会議の主な討議事項は、北西部4州における養豚事情 (豚コレラの発生状況、ワクチンの利用状況)、近年の豚コレラの発生とその問題点、豚コレラの防圧及び撲滅計画 (5カ年計画) などであった。メキシコ側としては、この4州でGPワクチンを使用したいとの意向が見られた。

4-3 普及活動

メキシコの獣医界に、本プロジェクト及び豚コレラGPワクチンを理解させることを目的とし、学会、会合、地方の診断所、野外試験地域で、プロジェクトの概要とGPワクチンの紹介を積極的に実施して来た。また、関係機関及び関係者にプロジェクトの要覧を配布した。現在GPワクチンの解説書 (獣医師向)、GPワクチンの紹介パンフレット (一般養豚家向) を作成している。

これまで、GPワクチンの総説及びプロジェクトの成果を学会で発表した。

1983年11月30日～12月2日に開催された。

" Reunion de Investigacion Pecuaria en Mexico, 1983 " の学会で下記の演題で発表した。

- (1) Aisolamiento de virus de campo de gastroenteritis en cultivo rotatorio en presencia de tripsina .

F. Molina A., F. Fukusho ., Y. Shimizu y C. Gonzalez S.

- (2) Evaluacion en vivo de la vacuna GPE contra el colera porcino producida en Japon .

F. Molina A., J. Sanchez Z., R. Guerrero M., J. Arias I.,

N. Yabe y Y. Miura .

本学会でのGPワクチンに関する発表は、大変好評であった。

1984年7月11日～7月14日に、Sinaloa州のマサトラン市で開催されたメキシコ豚学会の衛生分科会で下記の演題で発表した。

- (1) Presentacion de la vacuna GP Japonesa contra colera porcino .

K. Hashimoto., N. Yabe., T. Shimabukuro., H. Hamada., J. Arias I.,

V. Campos G. y Y. Miura .

- (2) Pruebas de campo con la vacuna GP contra el colera porcino realizadas en Japon y Mexico .

Pruebas de seguridad y eficacia

V. Campos G., J. Sanchez Z., J. Arias I., T. Ogawa., H. Hamada.,

K. Hashimoto y Y. Miura .

4-4 その他

4-4-1 派遣専門家

中間報告された業務に関与する専門家の氏名及び期間は下記のとおりであった。

長期専門家

(氏名)	(専門分野)	(期間)
三浦康男	チームリーダー (診断)	1983. 2. 2 - 1984. 8. 1
屋部憲清	検定	1982. 9. 8 - 1984. 9. 7
福所秋男	製造	1982. 7. 19 - 1983. 7. 18
浜田洋	製造	1982. 6. 1 - 1984. 8. 1
小沼操	診断	1982. 4. 8 - 1983. 4. 7
島袋哲	診断	1983. 6. 13 - 1985. 6. 12
橋本敬治	業務調整 (実験動物)	1981. 7. 15 - 1985. 7. 14

短期専門家

(氏名)	(専門分野)	(期間)
鈴木祥子	検定	1983. 1. 19 - 1983. 7. 18
井上亘	検定	1983. 11. 21 - 1984. 2. 20
小河孝	疫学	1983. 9. 19 - 1983. 12. 18
吉野和男	電子顕微鏡	1984. 1. 18 - 1984. 4. 17
後藤信男	実験動物	1984. 1. 18 - 1984. 4. 17
木村政夫	純水	1983. 4. 6 - 1983. 5. 3
中島辰郎	純水	1983. 4. 6 - 1983. 5. 3
岸成好	純水	1983. 4. 6 - 1983. 5. 10 1984. 4. 6 - 1984. 4. 19

4-4-2 農業水資源省牧畜副省の機構改革

1984年に牧畜副省の機構改革が実施され、1984年2月13日付で、牧畜副省の各総局長が発令され、Dr. Benjamin Jara Guillenが家畜衛生総局の総局長に再任された。次いで、5月17日付で、家畜衛生センター、SURESA (Subdirección de Referencia en Salud Animal) は、国立家畜寄生虫研究所、CNPA (Centro Nacional de Parasitología Animal) を吸収して、Dirección de Referencia, DR に昇格し、1所長、3次長及び10部となった。Dr. Jesus Arias Ibarrodo が所長に昇格した。

Direccion de Referencia

所 長	次 長 (寄 生 虫)	— 3 部
	次 長 (検 定)	— 3 部
	次 長 (微 生 物 及 び 病 理)	— 4 部

4-4-3 カウンターパートの動き

1983年7月～1984年4月に、4名のカウンターパート(C.P.)が民間メーカーに移した。

1983年	7月	Victor Suzan M.	(診 断)
	12月	Jaime Arias I.	(製 造)
1984年	2月	Francisco Molima A.	(検 定)
	4月	Reynald Guerrero. M	(診 断)

4名中3名は、日本で研修を受けたC.P.であった。C.P.として2年以上の経験者を失ったことは、プロジェクト推進上大きな痛手であった。C.P.に対して、ほぼ1人前の技術者に養成するには最低1年はかかり、プロジェクトにとっては大変マイナスである。このような経過から、首脳会議を開催して対策を討議した。その結果、今後日本で研修するC.P.には、帰国後プロジェクト期間中は退職しないという誓約書を入選後決定条件として取り付けることに合意した。

4-4-4 GPワクチンの製造許可承認

メキシコで、日本より分与されたGPE株ウィルスでGPワクチン製造用の原種ウィルスの製造検定を行った。原種ウィルスで検定用ワクチンを製造し、日本とメキシコの国家検定基準に準じて検定を行った。その結果、両国の検定基準に合格であった。

1984年5月18日付で、家畜衛生総局からPRONABIVEに仮製造許可承認がなされた。製造許可登録番号は下記であった。

Numero de Registro de Producto.

B-0653-043

この製造許可承認で、豚コレラGPワクチンはメキシコで認知された。

現在PRONABIVEで300万ドーズ(3ロット)の製品化が進められている。PRONABIVEでは、1985年度500万ドーズのGPワクチンの製造が計画されている。

4-4-5 GPワクチンに関する報告書

1983年～1984年の成果として、GPワクチンに関する報告書(西文)を作成して、メキシコ側に提出した。

- (1) Identificación y propiedades de un virus aislado de cultivos celulares de riñon de cobayo.

- (モルモット腎細胞より分離されたウィルスの性状と同定)
- (2) Pruebas de campo en Mexico, con la vacuna "GP" contra el colera el colera porcino, producida en Japon.
(日本製GPワクチンの野外試験)
 - (3) Seguridad y eficiencia de la vacuna GP producida en Japon.
(日本製GPワクチンの安全性と有効性)
 - (4) Evaluacion sobre la seguridad de la vacunas para el colera porcino en Mexico.
(メキシコ製豚コレラワクチンの安全性)
 - (5) Produccion del virus de la semilla madre de la vacuna GP contra el colera porcino y su constatacion en Mexico.
(豚コレラGPワクチン原種ウィルスの製造及び検定)
 - (6) Produccion de la vacuna GP y su constatacion.
(検定用ワクチンの製造及び検定)
 - (7) Produccion experimental de la vacuna GP y su constatacion en Mexico.
(試作ワクチンの製造及び検定)
 - (8) Elaboracion del fluido original de virus semilla para la produccion de 3 millones de dosis de la vacuna GP contra colera p orcino y su constatacion.
(GPワクチン300万ドーズの原液の製造及び検定)

5. 今後の問題点

プロジェクト推進上の問題点は、特に近年のメキシコ合衆国の経済危機により多種多様であり、家畜衛生センターの運営も大変困難な状況下にある。直接プロジェクトに係る諸問題については、日本側とメキシコ側で首脳会議を定期的に（時に要請して）開催して、慎重に協議して解決してきた。「問題点」とは、個人（専門家）の受けとめ方の問題である。双方で協議して、相手側より「善処」という解答しか得られない場合もあり、また人種間の思考の異なりに起因することもある。

重要と判断される問題点について上げることとする。

1) ローカルコストの確保について

1981年度のプロジェクトの開始時とは、状況は一変し、年度を追うごとにメキシコ側の予算処置も厳しくなってきた。ペソ(\$)の切り下げで、物価はうなぎ昇りで年度で100%以上のインフレである。本プロジェクトに支出されたローカルコストは下記のとおりであった。

1981年	2,557,314.96 \$
1982年	4,311,802.67 \$
1983年	2,053,917.83 \$ (家畜衛生総局)
	1,000,000.00 \$ (PRONABIVE)
	<hr/>
	3,053,917.83 \$

特別予算(1983)

生剤棟建設費	7,200,000.00 \$
プロジェクト運営費	1,425,000.00 \$
	<hr/>
	8,625,000.00 \$

プロジェクトの運営費が全額支出したかどうかについては不明であった。現実には、動物、飼料、消耗品、薬品等に一部現地業務費で対応してきた。今後ますます厳しい状況下に置かれると思われ、何らかの対策が緊要と思われる。

2) 大型供与機材の維持管理費について

純水装置(1983年)、電子顕微鏡(1984年)、凍結乾燥機(1984年)などの大型機器が設置され、これらの維持管理のための経費をメキシコ側が対応出来るかどうかである。

例えば、純水装置の例では、維持管理費をメキシコ側に対応させるのに約1年かかった。

今後、これらの大型機器を稼働させるための維持管理費の対応がプロジェクトにとっても大きな課題である。

3) 供与機材の引取りについて

昭和57年度供与機材は、1985年5月18日にメキシコの港に到着したが、家畜衛生センターに引取ったのは約6カ月後であった。また、専門家の携行機材の引取りは、個々の場合で異

なり、当日引取れる場合、2週後ぐらいで引取れる場合、約3カ月かかる場合もあった。

供与機材の引取りは、プロジェクトの進展にかかわり、早期引取り（別途供与機材は3カ月以内、携行機材は当日）のための、ルールを確立すべきである。

6. お わ り に

1981年6月1日から5カ年計画で開始されたメキシコ家畜衛生センタープロジェクトは、豚コレラGPワクチン製造とウィルス病診断の二本立である。1983年2月～1984年7月のプロジェクトの3年次を受持った。R/D締結署名前の個別派遣専門家及びプロジェクト発足後の専門家の情熱と努力で、プロジェクトの基盤整備がなされていた。メキシコの経済状況の悪化に伴って、当初の家畜衛生センターの拡充の方針は大幅に遅延していた。GPワクチンの試作製造及び検定に関する業務もまた、年次実行計画案より約1年の遅延であった。ウィルス病診断の分野は、過去数年の実績もあり、ほぼ順調に進展していた。これらのことを配慮し、GPワクチン製造及び検定技術の確立に向けて重点的に対応して来た。その成果として、ほぼ年次実行計画案どおりに進展してきた。

主な成果は下記のとおりであった。

- (1) モルモット腎細胞に迷入したウィルスの同定
- (2) GPワクチンの原種ウィルスの作成と検定
- (3) 検定用ワクチンの製造及び検定
- (4) 試作GPワクチンの製造及び検定
- (5) GPワクチンの量産(3ロット、300万ドーズ)
- (6) 日本製GPワクチンの実験室内及び野外試験
- (7) メキシコ製豚コレラワクチンの安全試験(現行ワクチンの比較)
- (8) 診断技術の評価(各種疾病の抗体調査)
- (9) 各種抗原及び免疫血清の作成
- (10) 電子顕微鏡技術の移転

これらの主要成果に伴う、各種の技術の移転もなされた。このような総合的成果から、GPワクチンの仮製造許可承認がPRONABIVEになされ、現在300万ドーズのGPワクチンの製品化を実施中である。PRONABIVEでは1985年度に500万ドーズの製造計画を作成している。

また、家畜衛生センターの環境整備では、純水装置及び電子顕微鏡の設置、生剤棟及び検定棟の建設などで、日本側及びメキシコ側とも本プロジェクトの進展のために、最大限の配慮がなされた。

今後も、現況の経済状況下では、プロジェクト終了時まで多くの困難が待ち受けているものと思われる。

特にGPワクチンに関しては、本4年次が、総仕上げの時期と思われ、製造及び検定技術をアフタケアする必要がある。

謝 辞

最後に、在任中終始御支援御援助をいただいた関係機関並びに本プロジェクトに係った皆様に深謝します。

参 考

1. プロジェクトの概要

(プロジェクト名) メキシコ家畜衛生センター
(The Animal Health Center Project)

1. R/D等署名日 : 56. 4. 14
2. 協力期間 : (R/D) 56. 6. 1 ~ 61. 5. 31
3. 所在地 : メキシコ州 テカマック町 (距離: メキシコ市より40 km)
4. 先方関係機関 : 農業水資源省 (Ministry of Agriculture and Hydraulic Resources)
5. 我が方協力機関 : 農林水産省
6. 要請の背景 : 畜産業の発展がウイルス性疾病等各種伝染病の発生により阻害されていること、及び近隣諸国へのアフリカ豚コレラの侵入等から、緊急に防疫システムを確立する必要があり、ワクチンの試作等を目的とする本件センターへの協力が要請された。
7. 目的・内容 : メキシコ合衆国における家畜衛生の改善を図り、もって畜産の振興に貢献する目的で、次の事業を行う。
 - 1) 豚コレラワクチンの試作製造技術の確立
 - 2) ワクチン検定技術の確立
 - 3) 豚コレラ、アフリカ豚コレラの診断技術を中心として、重要ウイルスの診断技術の確立と助言・指導の実施
8. 現状・目標達成 : ウイルス診断の分野では動物試験及び発育卵でのウイルス検出及び分離の技術が確立されている。豚コレラGPワクチンの試作に成功し、300万ドーズのワクチンを製造した。また、野外試験を行っており、成果が上がっている。なお、超純水製造装置及び電子顕微鏡が我が国から供与され、本件協力に対する成果が期待されている。
9. 問題点 :
 - 1) プロジェクト運営費の確保、供与機材の早期引き取りがなされていない
 - 2) カウンターパートの定着
10. 対処方針 :
 - 1) 調査チームによる勧告
 - 2) 合同委員会等による改善方要請

11. 専門家派遣

研修員

機材供与

ローカル・

コスト負担

(L・C)

年度	～55	56	57	58	合計	59
長期		4	4	6	14	9
短期		3	2	4	9	5
研修員		2	2	4	8	4
機材		44	120	61	225	90
L・C			2	7	2	6

注) 専門家・研修員は延人員、機材は金額で単位百万円
 専門家欄の()内は現在派遣中の人数、ただし短期は3ヵ月以上の者。

12. 他の経済協力との関係(無償・有償・個別専門家派遣・その他)

: 51年からプロジェクト発足まで個別専門家派遣延3名

13. 評価 : 先方予算の不足等の阻害要因はあるが、協力は順調に推移している。

14. 調査団 :
- 1) 事前調査 55年 7月
 - 2) 実施協議 56年 3月
 - 3) 計画打合 56年11月
 - 4) 巡回指導 58年 1月、58年11月、59年11月
 - 5) エヴァリュエーション 60年

2. 報告書作成者の略歴

専門家氏名：三浦康男

指導科目：チームリーダー（ウイルス病診断）

派遣期間：1983年2月2日～1984年8月1日

専門分野：家畜ウイルス学

所属先：農林水産省家畜衛生試験場・主任研究官

専門家氏名：屋部憲清

指導科目：ワクチン検定

派遣期間：1982年9月8日～1984年9月7日

専門分野：家畜ウイルス学

所属先：JICA、特別嘱託

専門家氏名：浜田洋

指導科目：ワクチン製造

派遣期間：1983年6月～1984年8月1日

専門分野：家畜ウイルス学

所属先：共立商事株式会社中央研究所・製剤部課長

3. 西 文 要 約

1981年6月1日に開始された家畜衛生プロジェクトは、すでに3年を経過した。

当初は、実験室整備、大量の純水の確保、生物学試験研究棟及び検査部棟の建設遅延、GPワクチン製造用モルモットのヘルペスウィルスの汚染、供与機材の引取り遅延などがかさなり、メキシコ側、日本側とも悪戦苦闘であった。しかし、両側の最大限の配慮と対処で順次解決された。純水装置は日本からの供与で大量の純水が確保できるようになった。製造施設も国立動製剤製造所 (Productora Nacional De Biologicos Veterinarios, PRONABIVE) の施設を借用して製造を開始した。製造用モルモットも日本より準SPFモルモットを導入し、PRONABIVE及び家畜衛生センター (Direccion De Referencia) で生産されるようになった。これらのことよりGPワクチンの試作製造及び検定は急速に進展した。

GPワクチンの試作製造に関しては、GPワクチン製造用の原種ウィルスが製造検定され、この原種ウィルスがメキシコで使用可能であることが明らかとなった。現在、原種ウィルスは約16ℓ保有し、厳重な管理下にある。原種ウィルスそのもので検定用ワクチン(85,000ドーズ)を製造検定した。メキシコ産GPワクチンの第1号であった。次いで試作GPワクチンの製造が完了した。原種ウィルス、検定用ワクチン及び試作GPワクチンは、日本国の国家検定基準に準じて厳重な検定がなされ、これらの安全性と有効性が証明された。検定用ワクチンについて、メキシコ合衆国の国家検定が、家畜衛生センターの検定部で実施され、国家検定基準に合致し合格であった。その国家検定結果に基づいて、1984年5月にPRONABIVEに仮製造許可承認 (Numero de Registro de Producto, B-0653-043) がなされた。これを受けて、R/Dにのっとり本格的にGPワクチンの大量生産(3ロット、300万ドーズ)が開始された。

また、日本製GPワクチンの安全性と有効性について、実験室内試験と野外試験が実施され、メキシコでGPワクチンの安全性と有効性が証明された。

GPワクチンの製造の進展に伴って、PRONABIVEと家畜衛生センターに、自家検定及び国家検定に係る技術移転がなされた。また、メキシコで現在使用されている豚コレラワクチンについて実験室内試験での評価を実施した。

ウィルス病診断の技術移転も、主要なウィルス病の診断法に関してはほぼ確立された。各種抗原及び免疫血清の作成も順次進められている。現在は、診断技術の質的向上を重要課題として取り組んでいる。

プロジェクトの3年次が終了し、プロジェクトの進展は、順調にR/Dの年次実行計画案にそって進行している。

3. Resumen del texto español

Han pasado tres años después de que el Proyecto de la Dirección de Referencia en Salud Animal se inició en el primero de junio de 1981.

Al principio, para hacer progresar el proyecto, los ambos lados mexicano y japonés se encontraron con muchas dificultades, tales como arreglo del laboratorio, aseguramiento de gran cantidad del agua pura, demora de construcción de lo laboratorio Experimental de Biologicos y del Laboratorio de Constatacion, contaminación del virus herpes de cobayos para la fabricación de vacuna GP, dilación de vacuna GP, dilación de recepción de las maquinarias donadas. Sin embargo, estas dificultades pudieron superarse una tras otra, gracias a las consideraciones y medidas tomadas por los dos lados. El equipo del agua pura donado por el Japón llegó a asegurar gran cantidad del agua pura. La fabricación de vacuna se inició tomando prestadas las instalaciones de la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios. Además, se introdujeron cobayos de semi SPF desde el Japón a la PRONABIVE y la Dirección de Referencia. Todo esto hizo que se progresaran rápidamente la fabricación tentativa y el examen de vacuna GP.

En lo que se refiere a la fabricación tentativa de vacuna GP, se fabricó y examinó el virus de semilla maestra para la fabricación de vacuna GP, y se aclaró que este virus de semilla maestra podría utilizarse en México. Actualmente, está bajo un control estricto una cantidad de unos 16 litros.

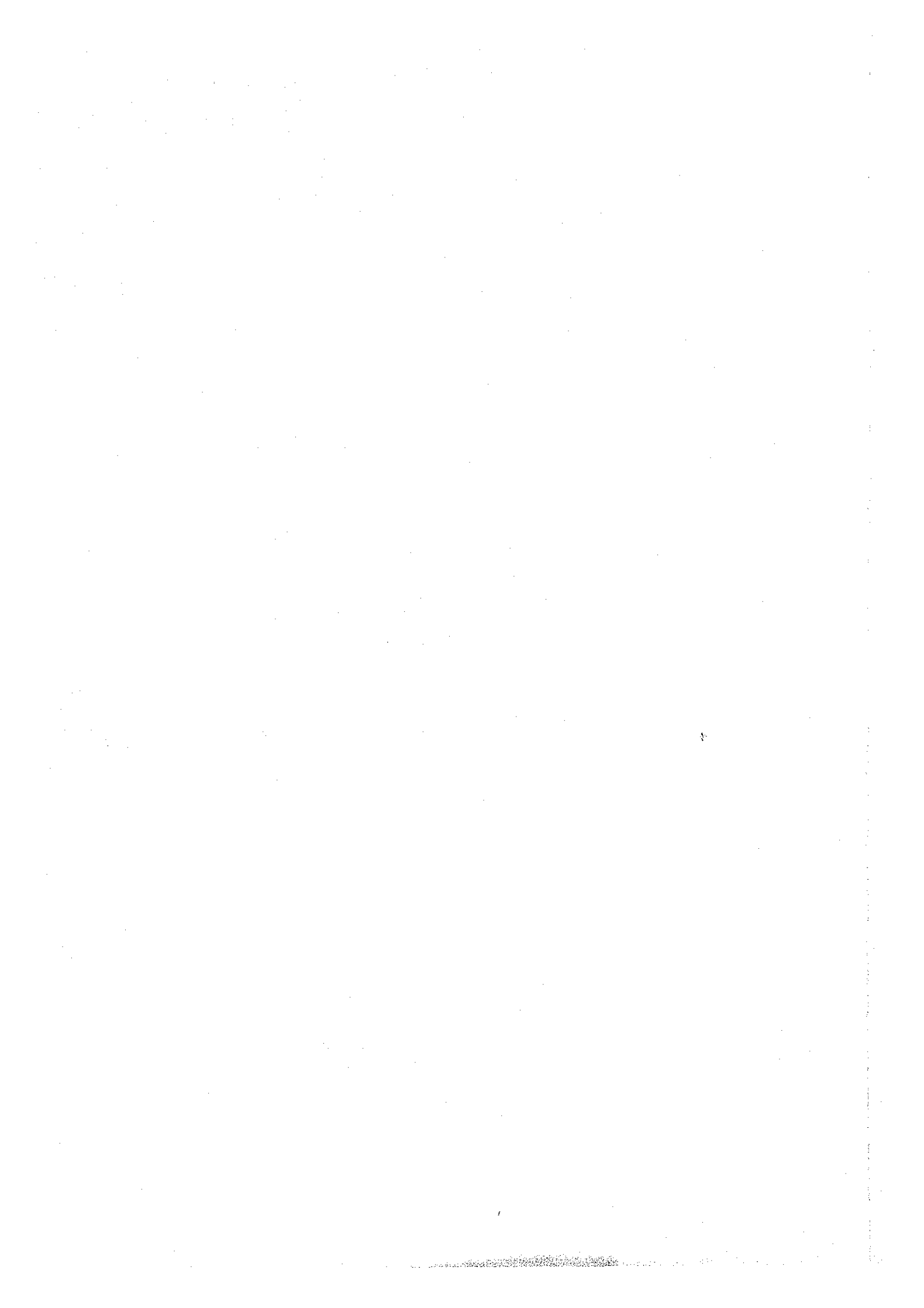
Con el virus de semilla maestra, se fabricó y examinó vacuna para examen (85.000 dosis), que fue la primera vacuna GP fabricada en México. Luego, se perfeccionó la fabricación de vacuna GP tentativa. Para el virus de semilla maestra, vacuna para examen y vacuna GP tentativa, se realizaron exámenes severos según las normas de examen estatal del Japón, demostrándose su seguridad y eficacia. Para el virus para examen, se realizó examen estatal de los Estados Unidos Mexicanos en el departamento de examen de la Dirección de Referencia, y el virus coincidió con las normas de examen estatal, siendo aprobado. Basándose sobre los resultados de este examen estatal, a la PRONABIVE se le dió en mayo de 1984 el Número de Registro de Producto, B-0653-043. Con esto, se inició en plena escala la producción en masa de vacuna GP (tres lotes, tres millones de dosis) de acuerdo con R/D.

Sobre la seguridad y eficacia de vacuna GP fabricado en el Japón, se realizaron pruebas en el interior y fuera del laboratorio, y se comprobaron aquéllas en México también.

Con el progreso de fabricación de vacuna GP, en la PRONABIVE y la Dirección de Referencia se transfirió la técnica del examen interior y el estatal. Además, sobre la vacuna contra el Colera Porcino que se usa actualmente en México, se realizó la valuación por prueba en el interior de laboratorio.

En cuanto a la transferencia de la técnica de diagnóstico de enfermedades de virus, se ha establecido el método de diagnóstico de enfermedades de virus principales. Además, la fabricación de varios antígenos y suero de inmunidad está acelerándose. Actualmente, el tema más importante es el mejoramiento cualitativo de la técnica de diagnóstico.

Con la terminación del tercer año del proyecto, éste está avanzándose sin dificultad de acuerdo con el plan ejecutivo anual de R/D.



JICA

