

第 2 部

牛ウイルス性下痢粘膜病対策の検討

西部家畜保健衛生所

二宮 歌子 丸山 稔

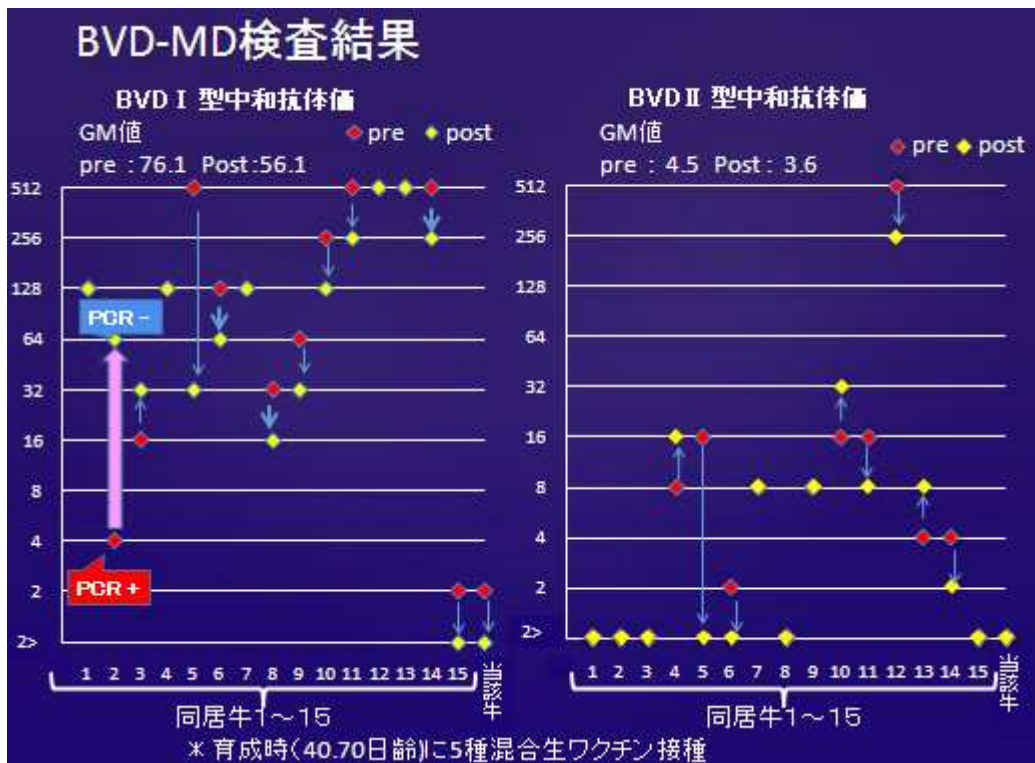
【はじめに】

牛ウイルス性下痢粘膜病（以下 BVD-MD）は、BVD ウイルス 型・ 型の感染が原因で牛に発熱、下痢、呼吸器症状、粘膜病、早期胚死滅、流産を起こす感染症である。妊娠初期～中期感染により、胎子が持続感染牛（以下 PI 牛）となり、生涯農場内で感染源となることが問題となっている。管内肉用牛牧場（以下 A 牧場）で、BVD-MD 対策について検討したので報告する。

【経緯】

平成 23 年 8 月、A 牧場において、BVD-MD を疑う事例が発生した。A 牧場は飼養頭数約 360 頭、黒毛和種繁殖牛を飼養し、生産子牛の育成及び売却行っており、外部導入はない。BVD-MD ワクチンとしては BVD 型を含む 5 種混合生ワクチン (IBR, BVD, RS, PI3, AD) を 40、70 日齢で 2 回接種して以降追加接種していなかった。

当該畜は繁殖牛 1 頭（黒毛和種 19 か月齢）、流涎、口腔粘膜の潰瘍、食欲低下を示し 1 週間前より加療、同居牛は臨床症状を示さなかった。当該牛及び同居牛 15 頭の BVD-MD 検査を実施したところグラフ 1 のとおりと



グラフ 1

なった。PCR 検査では同居牛 2 番 1 頭のみが pre 時陽性だったが、post 時には陰転したため持続感染は否定され、BVD 型の一過性感染が示唆された。当該牛については BVD-MD 以外の疾患も検査したが原因不明であり、その後回復した。抗体検査では pre/post 2 管差以上の上昇で、感染ありと診断するが、同居牛 2 番の牛で 型抗体価の上昇が見られるほか、そのような上昇はみられなかった。BVD 型 GM 値は、pre76.1、post56.1 を示し、高い抗体価の個体が多数存在したが、十分な抗体価を保有しない個体も散見された。BVD 型 GM 値は pre4.5、post3.6 と低く、抗体を保有しない個体が半数以上いたが、高い抗体価の個体も散見された。同居牛及び、当該牛は、BVD 型ワクチンを育成時に接種されて から長期間経過し BVD 1 型ワクチン抗体は消失している可能性が高く、 型についてはワクチン接種していないことから、高い抗体価の個体は野外感染によるものと示唆された。これらの結果より、BVD 型 型の流行が農場で流行しているにもかかわらず、十分な抗体価を保有していない個体が存在し、妊娠時に有効抗体価を保てない可能性があることから、家保がワクチンプログラムの見直しを指導した。これに対し、平成 24 年度、A 農場は、BVD 型を含む 5 種混合不活化ワクチンへ切り替え、繁殖牛へのワクチン接種を開始することにし、ワクチンプログラムについて家保に相談した。平成 24 年 5 月、BVD 型 型両方を含む 5 種混合不活化ワクチン接種することとなり、抗体保有状況調査、PI 牛摘発のための PCR 検査、ワクチン接種試験を実施した。

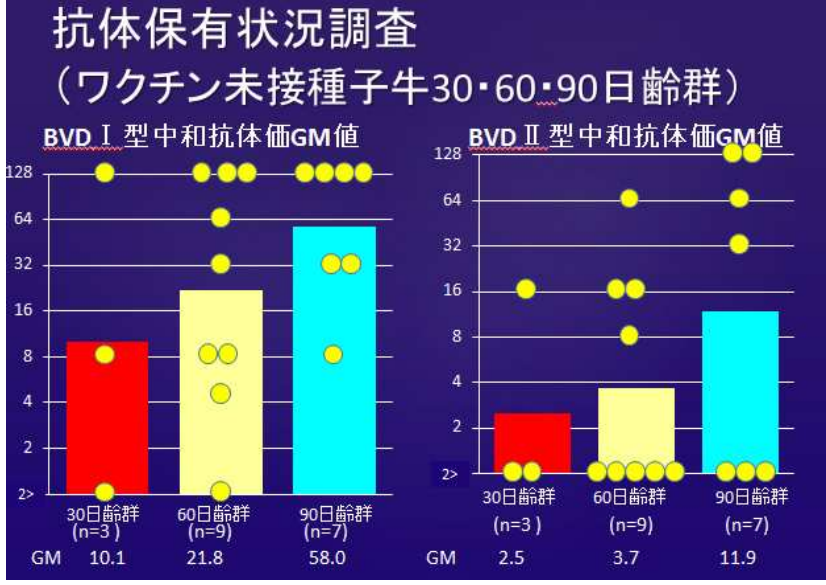
ワクチン	含有株	長所	短所
5種混生	BVD I, IBR, RS, PI3, Ad	細胞性免疫誘導 (子宮内感染に対し効果)	BVD II 型含まれない ワクチンブレイク 胎子感染
5種混不活化	BVD I, BVD II, IBR, RS, PI3	安全性高い 妊娠牛接種可 移行抗体の影響小	細胞性免疫誘導なし

十分な抗体価を保有していない個体が存在し、妊娠時に有効抗体価を保てない可能性があることから、家保がワクチンプログラムの見直しを指導した。これに対し、平成 24 年度、A 農場は、BVD 型を含む 5 種混合不活化ワクチンへ切り替え、繁殖牛へのワクチン接種を開始することにし、ワクチンプログラムについて家保に相談した。平成 24 年 5 月、BVD 型 型両方を含む 5 種混合不活化ワクチン接種することとなり、抗体保有状況調査、PI 牛摘発のための PCR 検査、ワクチン接種試験を実施した。

【取り組み内容】

- 1 現状把握 (抗体保有状況調査、PCR 検査 (PI 牛摘発))

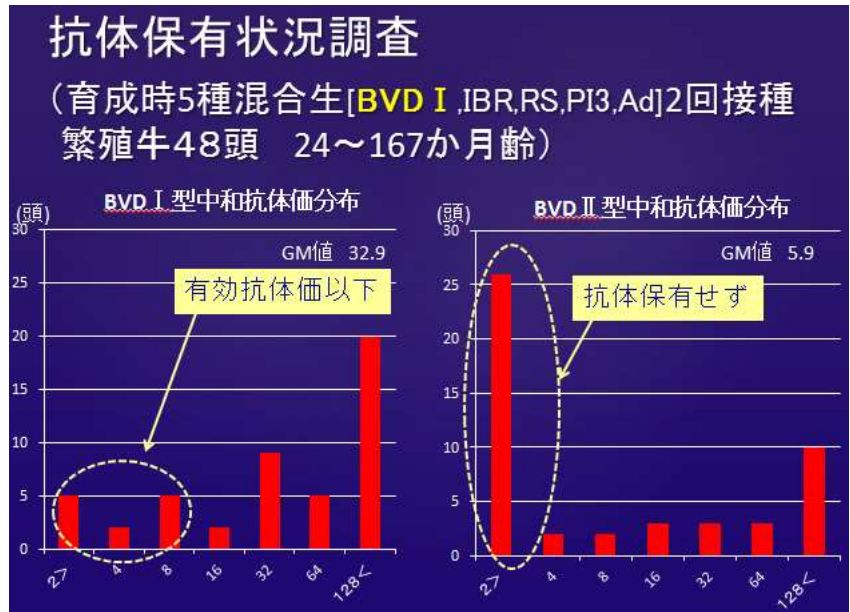
抗体保有状況調査
子牛 19 頭 (30、60、90 日齢群)、繁殖牛 48 頭 (24 ~ 167 か月齢) の BVD 型中和抗体検査を実施した。BVD 型 GM 値は、30 日齢群 10.0 (2> ~ 128<)、60 日齢群 21.8 (2> ~ 128<)、90 日齢群 58.0 (8 ~ 128<)、繁殖牛 32.9 (2> ~ 128<) であった。BVD 型 GM 値は、30 日齢群 2.5 (2> ~ 16)、60 日齢群 3.7 (2> ~ 64)、90 日齢群 11.9 (2> ~ 128<)、繁殖牛群 5.9 (2> ~ 128<) であった (グラフ 2, 3)。子牛抗体価



グラフ 2

は母牛抗体価と相関する傾向が見られたが、母牛よりも高い抗体価を保有する子牛も見られた。

PCR 検査 (PI 牛摘発) 繁殖牛全 204 頭、育成牛 38 頭、子牛 19 頭について PCR 検査を実施したところ全頭陰性であった。



グラフ 3

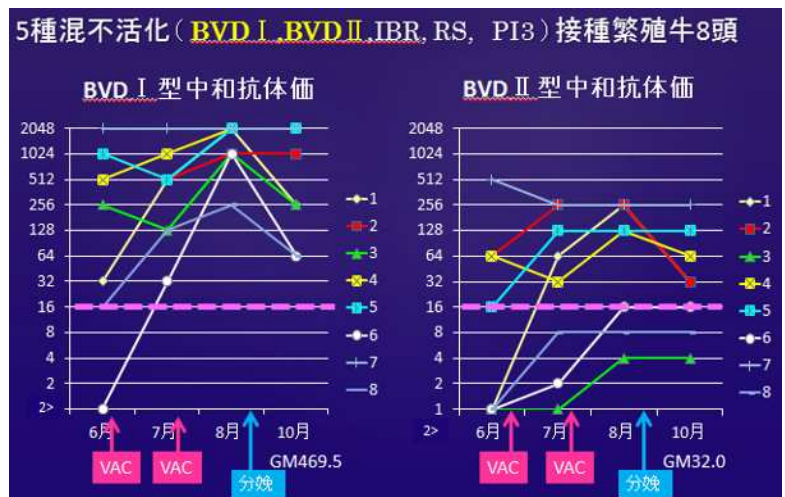
2 5種混合不活化ワクチン接種試験

分娩 2、1ヶ月前にワクチン接種した繁殖牛 8 頭及びこれから生まれた子牛 8 頭について定期的に抗体検査を実施した。

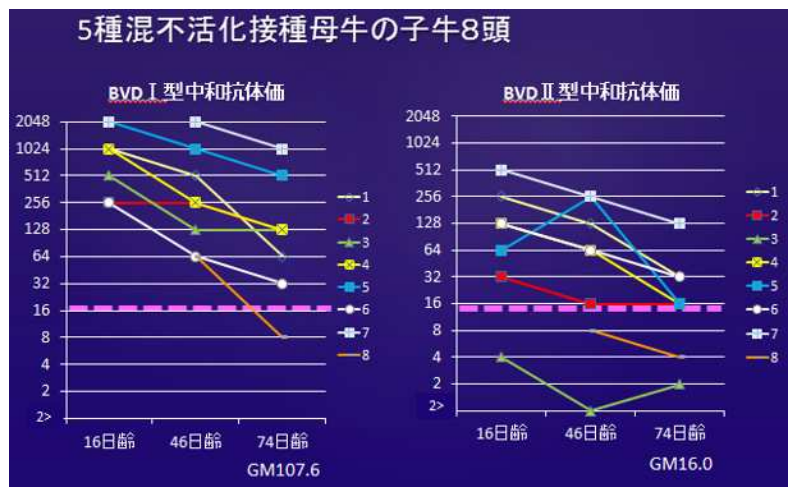
グラフ 4 は繁殖牛の中和抗体価の推移を示したものである。ほとんどの個体が初回接種 2ヶ月後でピークを迎え、その後横ばいもしくは下降する傾向を見せた。BVD 型については初回接種後 4ヶ月で、全頭が有効抗体価を保有し、GM 値は 469.5 であった。BVD 型については初回接種後 4ヶ月で、8頭中 2頭が有効抗体価を保有しておらず、型にくらべワクチンテイクが悪く GM 値は 32.0 であった。

グラフ 5 は子牛の中和抗体価の推移を示したものである。

型 型ともに、移行抗体価は母牛の抗体価に比例する傾向があり、日齢をへるにつれて抗体価が低下している。移行抗体価 16 倍以上でワクチンテイクに



グラフ 4



グラフ 5

影響すると言われているが平均日齢 74 日齢時、BVD 型 GM 値は 107.6 (8 頭中 1 頭が 16

倍以下)、BVD 型 GM 値 16.0 (8 頭中 5 頭が 16 倍以下)であった。

【考察】

抗体保有状況調査より農場内で BVD 型・ 型の流行があり 型 型を含む 5 種混合不活化ワクチン接種の必要性が明らかになった。

PCR 検査 (PI 牛摘発) では、現状での PI 牛の存在は否定されたが、ワクチンで PI 牛産生は阻止できなかった事例報告もあるので、今後も繁殖候補牛について検査を実施し、PI 牛を早期摘発淘汰していく必要がある。

5 種混合不活化ワクチン接種試験については、BVD 型のワクチンテイクが悪く、次回接種まで有効抗体価を保てない可能性が示唆され、今年度接種群については接種間隔の短縮、今後の試験結果によって、種付け前接種への接種時期変更、不活化ワクチンと生ワクチンの併用等検討していく必要がある。

また生まれた子牛の移行抗体価は、 型・ 型で差があるため、 型接種適期にワクチン接種すると 型でワクチンブレイクがおこる可能性がある。今後の試験結果によって、ワクチン接種時期を検討する必要がある。

豚サルモネラ症（敗血症型）の発生事例

東部家畜保健衛生所
秋山倫子 細田紀子ほか

はじめに

当所管内で豚サルモネラ症（敗血症型）と診断した症例が発生したので、その概要を報告する。

発生状況

平成 24 年 3 月 5 日、「2 月上旬から耳などが赤くなり死亡する豚が散見されている」と家畜保健衛生所に連絡があり、同日に死亡した 90 日齢の LWD 雌 1 頭（同年 2 月 17 日導入）について病性鑑定を実施した。この時点ですでに 7～8 頭が死亡していた。

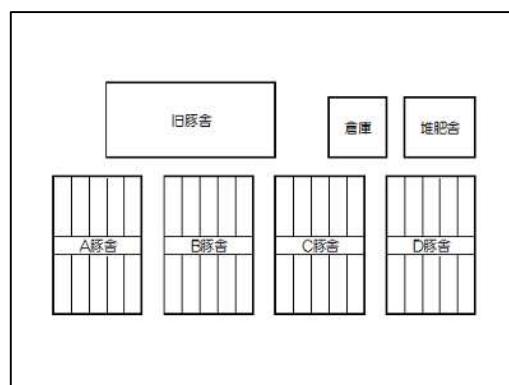
農場概要

県外の 2 農場から生後約 60 日齢で導入し肥育・出荷する約 1,300 頭規模の肥育専門農場。簡単な農場の見取り図は【図 1】のとおり。A～D 豚舎と旧豚舎からなり、A～D 豚舎は敷料を 1m 程度の厚さに敷き詰めた発酵床式豚舎で、通路をはさんで両側に【写真 1】のような豚房がそれぞれ 5 つずつ、合計 10 豚房からなっている。旧豚舎は A～D 豚舎とは畜舎構造が異なるスノコ豚舎で、老朽化が激しく取り壊し予定の状態でありながら、そのまま何年も使用し続け、ファンも回らないような環境が非常に悪い状態であった。

飼料は食品残さなどを利用した液状飼料（リキッドフィーディング）を使用し、飼料添加剤としてタイロシン、ST 合剤などを用いていた。

ワクチンは豚サーコウイルス 2 型（PCV2）、豚胸膜肺炎（App）、豚マイコプラズマ肺炎を接種していた。

なお、死亡豚は発酵床式豚舎と旧豚舎の両方でみられていたが、当該死亡豚は発酵床式豚舎で飼養されていた。また、本農場では平成 18～20 年に豚サルモネラ症の発生歴あり。



【図 1】



【写真 1】

剖検所見

耳や四肢、腹部など全身皮膚にチアノーゼがみられ、腹水、胸水、心嚢水貯留していた。また、肝臓と腎臓は脆弱で白斑が認められ、肺は水腫様を呈していた。【写真2】



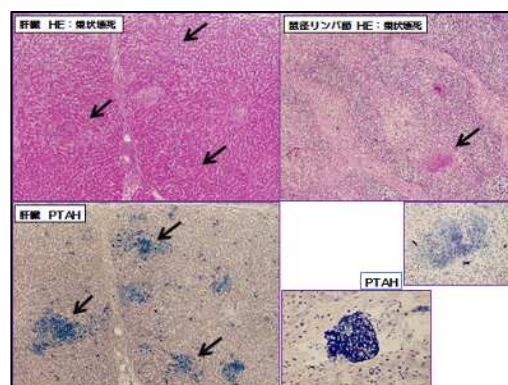
【写真2】

病原検索

細菌学的検査で、肝臓・脾臓・腎臓・心臓・肺(主要5臓器)、脳、腸間膜リンパ節、胆汁、腸内容物から *Salmonella Choleraesuis* (*S. Choleraesuis*) が分離された。また、ウイルス学的検査では、主要5臓器、脳、リンパ節、扁桃の10%乳剤を用いて豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) と PCV2 の PCR 検査を実施したところ、PRRS は検索した全てで陽性、PCV2 は全て陰性であった。その他、豚コレラの FA 陰性。

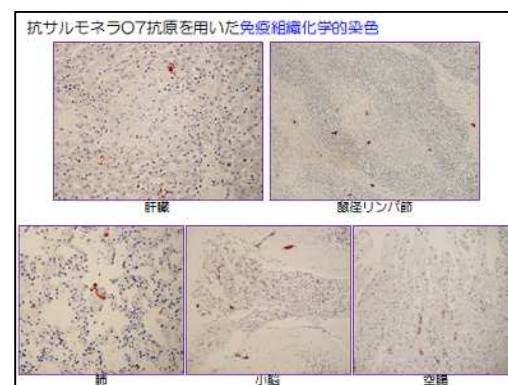
病理組織所見

肝臓では、小葉構造に無関係な PTAH 染色で濃紫色に染まる巣状壊死が認められた。また、鼠径リンパ節においても、肝臓と同様の線維素析出が重度な壊死巣が散見された。その他、線維素血栓も認められた【写真3】。他の臓器では、肺で線維素血栓が認められ、小脳ではリンパ球を中心とした髄膜炎がみられた。



【写真3】

肺、肝臓、リンパ節、消化管、脳、皮膚について、抗サルモネラ 07 抗原を用いた免疫組織化学的染色を実施したところ、検索した全てで陽性反応がみられた。肝臓やリンパ節では壊死巣の周囲の菌体に一致して陽性反応が認められた。その他、血管内にも多く陽性反応が認められ、菌血栓の形成が確認された。【写真4】



【写真4】

農場内サルモネラ調査

S. Choleraesuis は環境中や豚の鼻腔スワブからは分離されにくいと言われているが確認のため、農場内サルモネラ検査を実施した。

保菌状況調査として、両方の豚舎の様々な日齢(導入後数日、導入1か月後、2か月後、3か月後)の豚について分離を試みたが、分離されなかった。

併せて環境調査として、敷料、飼槽、水飲み、おが粉などについても検査を実施し

たが、いずれからも分離されなかった。

更に、市販 ELISA キットを用いてサルモネラの抗体検査を実施したところ、13 頭中 3 頭で陽性を示した。

本農場では平成 18～20 年に豚サルモネラ症が発生しており、平成 18 年の発生時に金高らが同様の調査を実施していたが、その調査においてもサルモネラは分離されていない。抗体検査についても実施しており、当時は導入時全てサルモネラ抗体陰性だったものが導入 3 か月後には陽転していた。

過去の症例との比較

本農場で平成 18～20 年に発生した豚サルモネラ症例と本症例について、薬剤感受性やウイルス感染の有無などについて比較した【表 1】。

薬剤感受性試験は一濃度ディスク法で、ABPC・AMPC・ST・NA・OTC・FRM・KM・FOM・ERFX・TS・SPM・CTF・CEZ の 13 薬剤について実施したところ、本症例では過去の症例に比べ、耐性を示す薬剤が 3 薬剤増えていた。

また、ウイルス感染の有無については、検査未実施であった平成 18 年 10 月の症例を除いた全ての症例で、PRRS や PCV2 の特異遺伝子が検出されている。

更に、肝臓の組織病変についても比較した【写真 6】。

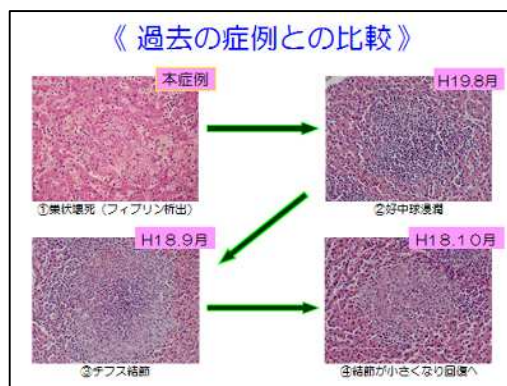
豚サルモネラ症の病変形成は一般に、巣状壊死（フィブリン析出） 好中球の浸潤 マクロファージが取り囲むチフス結節 結節は徐々に小さくなり回復へ向かうというように推移していくが、本症例は好中球が浸潤する前の早い段階の病変であった。

《過去の症例との比較》

症例	項目	細菌学的検査			ウイルス学的検査	
		血清型	硫化水素産生	薬剤耐性パターン（※）	PRRS-PCR	PCV2-PCR
H18 9月	O7:H+	—	—	OTC, TS, SPM	—	+
H18 10月	O7:c1.5	—	—	OTC, TS, SPM	NT	NT
H19 8月	O7:c1.5	—	—	OTC, TS, SPM	+	+
H20 10月	O7:c1.5	—	—	OTC, TS, SPM	—	+
H24 2月	O7:c1.5	—	—	ABPC, AMPC, ST, OTC, TS, SPM	+	—

※一濃度ディスク法13薬剤
ABPC・AMPC・ST・NA・OTC・FRM・KM・FOM・ERFX・TS・SPM・CTF・CEZ

【表 1】



【写真 6】

まとめ

以上のことから、本症例を豚サルモネラ症（敗血症型）と診断した。本農場ではサルモネラが常在化しており、ストレスや感染症などの増悪因子によって菌量が増加し保菌豚が発病、汚染源になっているものと考えられた。本来であれば、オールインオールアウトをおこない、消毒を徹底することが望ましいが、畜舎構造上難しく、清浄化は非常に厳しいという現状では、ストレスや感染症等の増悪因子の排除などにより、うまくコントロールしていくしかないと考えられる。今回、多剤耐性傾向が認められたことから、抗生剤の適正投与や、飼養衛生管理の見直しを指導したところ、継続発生はなく終息した。

Avibacterium gallinarum が分離された採卵鶏の一例

山梨県東部家畜保健衛生所 牛山市忠・細田紀子
秋山倫子・小林洋平

1 概要

平成24年11月、約8,000羽飼育の採卵鶏農場において産卵後期の個体（約464日齢、成ジュリア）がいる鶏舎で、特徴的な臨床所見は認められないものの死亡羽数が増加しているとの報告があり、当所にて病性鑑定を実施。検査の結果、県内で初めて *Avibacterium gallinarum*（以下Ag）が分離され、病理学的検査などとあわせて1羽でAg単独による敗血症と診断した。また、病原性確認のための接種試験も実施したのでその概要を報告する。

2 病性鑑定

平成24年11月、成ジュリアのいる鶏舎（約2,600羽）で臨床症状がなく突然死亡した鶏が4羽（No.1,2,3,4）確認されたとの連絡あり、当所にて病性鑑定を実施。ウイルス学的検査では鳥インフルエンザ、伝染性気管支炎ウイルス（IB）、伝染性喉頭気管炎（ILT）を否定。細菌学的検査で、5%羊血液加寒天培地、馬チョコレート寒天培地、DHL寒天培地を用いて5%CO₂で24時間培養を実施したところ、馬チョコレート寒天培地においてNo.1,2,4の検体においてグラム陰性小桿菌、V因子要求性が高い、カタラーゼ陽性・オキシダーゼ陽性の菌を検出。HNラビット-20では、コード7057512 Ag、コード7057710 *Bibersteinia trehalosi*と判定。さらに、16SリボゾームDNA解析を実施したところ、どちらも同一の *Avibacterium* 属菌であることが判明した。マンニトールやONPG、グリセロールなどの生化学性状の比較¹⁾によりAgと同定。また、一濃度ディスク法にて薬剤感受性試験を実施したところ、OTCに耐性が認められたが他は感受性であった。

細菌学的検査分離

- ・グラム陰性小桿菌
- ・V因子要求性高い(チョコレート寒天で発育良好)
- ・カタラーゼ・オキシダーゼ陽性
- ・HNラビット-20

コード 7057512 **A.g**
7057710 *Bibersteinia trehalosi*



細菌検査 : 16sリボゾーム解析

サンプル1,3→IDテスト *B.trehalosi*
サンプル2→IDテスト *A.gallinarum* 16srRNAによる基準株との比較

サンプル	決定した塩基数	菌種1	相同性	菌種2	相同性	菌種3	相同性	その他
1	1394bp	A.g	99.711% (4/1384)	<i>A. volantium</i>	99.711% (4/1382)	<i>A. avium</i>	98.706% (18/1391)	他の <i>Avibacterium</i> 属菌との9%以上の相同性
2	1397bp	A.g	99.784% (3/1387)	<i>A. volantium</i>	99.782% (3/1375)	<i>A. avium</i>	98.780% (17/1394)	他の <i>Avibacterium</i> 属菌との9%以上の相同性
3	1218bp	A.g	100.000% (0/1209)	<i>A. volantium</i>	99.751% (3/1206)	<i>A. avium</i>	98.930% (13/1215)	他の <i>Avibacterium</i> 属菌との9%以上の相同性

解析は、(株)動物衛生研究所で実施

結果: すべて同一の、*Avibacterium*属菌である可能性が高い

細菌検査		生化学性状比較						
生化学性状	検体	A.g	<i>A. paragallinarum</i>	<i>A. volucrem</i>	<i>A. avium</i>	<i>Avibacterium</i> sp.A	<i>Ganatis biovar anatis</i>	<i>Ganatis biovar haemolytica</i>
カタラーゼ	+	+	+	+	+	+	+	+
溶血性	-	-	-	-	-	-	-	+
MacConky	-	-	-	-	-	-	d	d
グリセロール	+	+	-	-	-	-	+	+
L-Arabinose	-	-	-	-	-	+	-	-
D-Xylose	d	d	-	d	d	d	+	d
Inositol	-	d	-	-	-	-	d	d
D-Mannitol	-	-	+	+	-	+	+	+
D-Sorbitol	-	-	+	d	-	-	d	d
Lactose	-	d	-	-	-	-	d	d
ONPG	d	d	+	-	-	-	+	+
Maltose	+	+	+	+	-	-	-	d
Trehalose	+	+	-	+	+	+	+	+
Glucosidase	+	+	-	+	+	+	+	+

d: +もしくは- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology(2005),55,353-362

検査成績 薬剤感受性

薬剤名	No.1 A.g	No.4 A.g	
		感受性	感受性
アンピシリン ABPC	S	S	S
セフトリオキシム CEZ	S	S	S
カナマイシン KM	S	S	S
イリスロマイシン EM	I	I	I
オキシテトラサイクリン OTC	R	R	R
オフロキサシン OFLX	S	S	S
トリメトプリム TMP	S	S	S
フルボキサシン NFLX	S	S	S
エノフロキサシン ERFX	S	S	S
ST合剤 ST	S	S	S

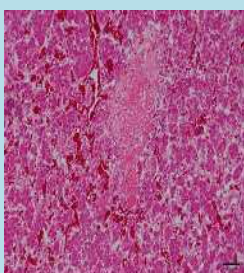
R:耐性 I:中間 S:感性

病理学的検査所見は以下のような結果であった。[No.1] 肝臓：リンパ球を中心とした中程度の囲管性細胞浸潤が認められた。また、類洞内に血栓の形成がみられ、稀に肝細胞の壊死が認められた。脾臓：中程度の壊死が認められた。心臓：心外膜および心筋間に、ごく軽度のリンパ球を中心とした細胞浸潤が認められた。腎臓：間質にリンパ球を中心とした細胞浸潤が認められた。また、軽度の尿細管上皮の変性や壊死がみられた。[No.2] 肝臓：リンパ球を中心とした軽度の囲管性細胞浸潤が認められた。脾臓：ごく稀に壊死巣が認められた。No.3、4 では特徴所見は認められなかった。

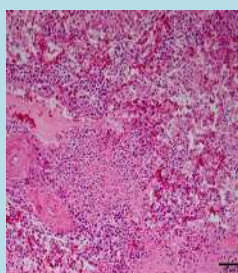
No.1,2 では全身の臓器より A.g が分離され、前述のとおり病理所見で No.1 は敗血症の所見が認められた。また、No.4 についても脳、肺より A.g が分離された。

検査成績 病理学的検査

No.1,2で主要臓器で細胞浸潤など、細菌感染を示す像 (No.1では敗血症像)



No.1:肝臓



No.1:脾臓

検査成績まとめ

個体	脳	心臓	肺	肝臓	腎臓	脾臓	分離菌	病理
No.1	++	++	++	++	++	++	A.g	敗血症
No.2	++	++	++	++	-	+	A.g	炎症像
No.3	-	-	-	-	-	-		
No.4	+	-	+	-	-	-	A.g	

- - ++ : 菌量を示す。

<環境検査>

A.g 菌分離なし

<ウイルス検査>

鳥インフルエンザ、IB、ILT、APV検査 陰性

死亡原因: A.g が関与している可能性が高い

3 環境調査

鶏舎の給餌器、給水器について、NAD 添加 5%羊血液加寒天培地を用いて 5%CO₂ で 24h 培養し、Ag の有無について検査を実施したが、Ag は検出されなかった。

4 接種試験

Ag については、健康鶏でも上部気管に存在しており、病原性については心膜炎、気嚢炎、肝胞膜炎などの報告²⁾はあるものの病原性について不確かな面がある。そのため、No.1 の検体より分離した Ag を用いて病原性確認のための接種試験を実施することとした。

方法：3 日齢あずさ（小松種鶏）9 羽、570 日齢ポリスブラウン 9 羽を材料とし分離された Ag を用いて実施。

A 群（各 3 羽）には生菌 10⁹CFU/ml

B 群（各 3 羽）には生菌 10⁴CFU/ml

C 群（各 3 羽）には生理食塩水

を 1 日目と 3 日目に 0.1ml ずつ、くちばしの基部の粘膜下識へ接種、1 週間後に剖検を実施。

結果：3 日齢あずさ A 群で 1 羽死亡 B,C 群生存

570 日齢ポリスブラウン A,B,C 群生存

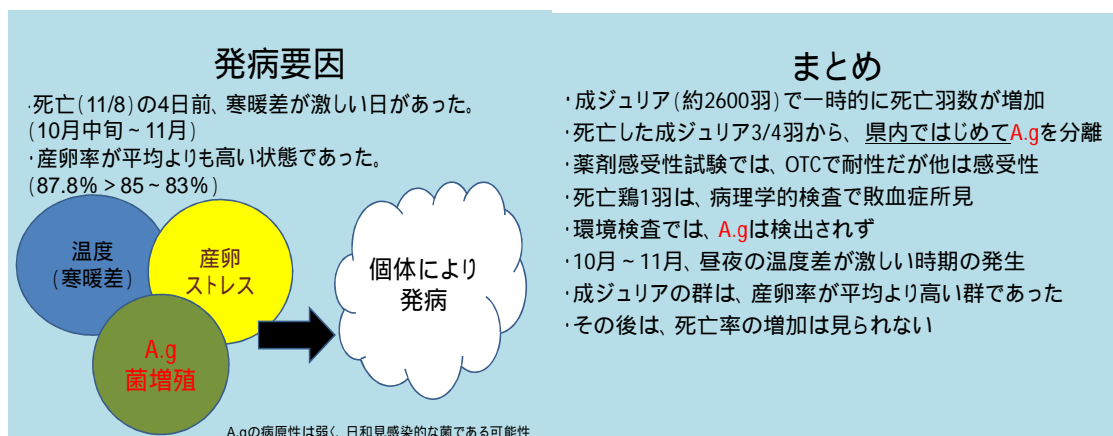
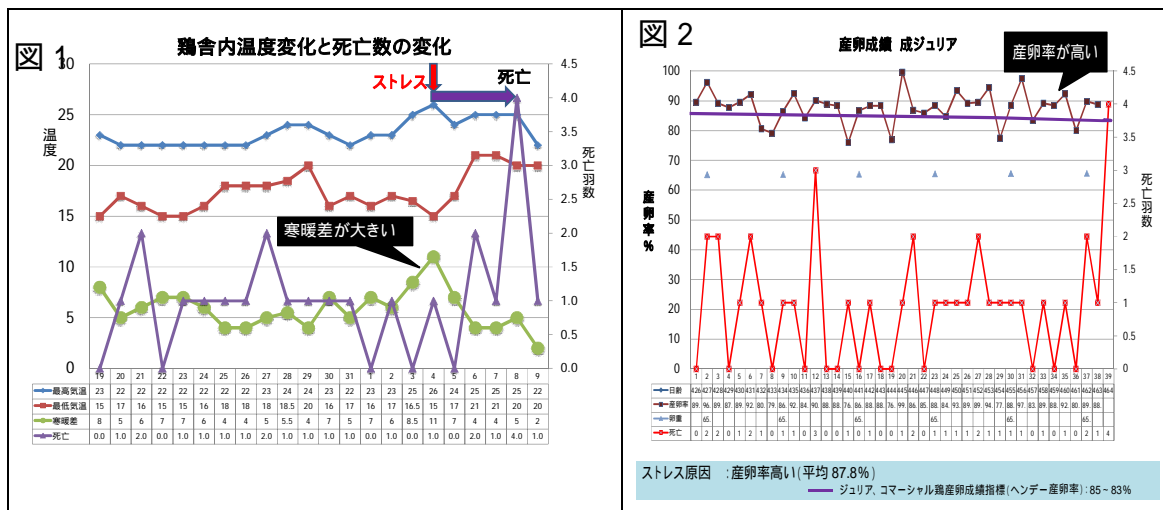
3 日齢あずさ A 群 1 羽の死亡個体の肺、心臓、肝臓より Ag 分離、また、左頬部分漿液貯留。

接種試験結果

	3日齢あずさ		570日齢 ポリス	
	死亡羽数	症状など	死亡羽数	症状など
A群	1	肺、心臓、肝臓よりAg分離 左頬：漿液貯留	0	顔面腫脹(2~3日) その後腫れはひく
B群	0	なし	0	顔面腫脹(2~3日) その後腫れはひく
C群	0	なし	0	顔面腫脹(2~3日) その後腫れはひく

5 ストレス要因の検索

Ag については、日和見感染的な要因の大きい菌であることより、ストレス要因の検索も実施した。死亡日の4日前に、寒暖差の大きい日があったこと(図1)、産卵率が平均(85%前後)よりも高い状態であったこと(図2)よりストレス要因になっていたのではと推測。



考察および対策

Ag については、他の菌との混合感染で症状が悪化する³⁾との報告がありますが、今回県内で Ag 単独感染による死亡と思われる症例に遭遇しました。病原性の確認のため接種試験を実施しましたが、幼弱の個体1羽で死亡が確認されたのみであり、環境からも A.g が分離されませんでした。これらのことより、今回の症例に関しては一部の免疫等の弱った個体で、寒暖差や産卵のストレスなどが加わったことにより気管等に常在している A.g が増殖し、発病したものであると推測しました(日和見感染要素が高い)。

また、A.g の病原性については不確かな面があるため、品種、日齢や投与量を変更するなどして接種試験を実施するなど、さらなる検討が必要と考えます。

Ag 対策としてはストレスの軽減(温度管理、産卵率などの徹底)や県内の浸潤状況を調査することが必要であり、季節の変わり目など温度差の激しい時期などは本菌

(A.g) が増殖する可能性があると考えます。

今回の発表をまとめるにあたり、

山梨県 畜産試験場には、病原性発現性試験用の鶏を提供して頂きました。

(独)動物衛生研究所 上野 勇一先生、宮崎県宮崎家畜保健衛生所 松川 浩子様には
生化学性状やシーケンス等についてアドバイスを頂きました、ここに感謝申し上げます。

参考文献

- 1) International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology
(2005), 55, 353-362
- 2) Bock et al 1977; Droual et al 1992; Mohan et al 2000; Mushin et al 1977;
Terzolo et al 1980; Yadav et al 1977
- 3) *Pasteurella gallinarum* と *Pasteurella multocida* が分離された採卵鶏の
顔面腫脹の一例 松川浩子 宮崎県宮崎家畜保健衛生所：平成 24 年度 九
州地区 鶏病技術研修会

肉用鶏農場に発生した頭部腫脹症候群

東部家畜保健衛生所 小林洋平・細田紀子他

はじめに

頭部腫脹症候群 (SHS, swollen Head Syndrome) は、トリニューモウイルス (APV) や *Escherichia coli* (*E. coli*) 等の複数の病原体が関与し顔面腫脹を引き起こす疾病で、国内においては 1989 年頃から兵庫県や山口県において発生した報告がある。

平成 24 年 8 月、40,000 羽飼養の肉用鶏農場 (図 1: 10,000 羽/棟×4 鶏舎、ウインドレス鶏舎)において 35 日齢の鶏が顔腫れ症状を呈し病性鑑定を実施したところ、APV と *E. coli* が関与した SHS と診断した。

当該農場では数年前より顔腫れ症状と呈する鶏が散見、対策として APV 生ワクチンを接種していたが、調査時に行った聞き取りによると APV 生ワクチン及びニューカッスル病 (ND) 生ワクチン投与量が 0.5 ドース/羽であることが判明 (図 2: ワクチンプログラム)、また、病性鑑定結果から今回の症例においても APV の関与が認められたため、追加調査として次回導入の鶏を用いワクチン接種前後の APV 抗体価の推移を調査したので併せて報告する。



材料と方法

1. 病性鑑定(図 3): 病性鑑定には顔面腫脹症状を呈した肉用鶏 (UK チャンキー 35 日齢) 生体 2 羽 (1、 2)、死体 (淘汰) 1 羽 (3) を用いた。細菌学的検査は心臓・肺・肝臓・腎臓・脾臓、上脛上部皮下の膿瘍スワブ (No.2-3) を用い羊血液加コロンビア寒天培地・DHL 寒天培地・卵黄加マンニット寒天培地にて培養検査を実施、また伝染性コリーザ及びマイコプラズマ・ガリセプチカムについて遺伝子検査を実施した。病理学的検査は 10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、定法に従い HE 染色し鏡検した。ウイルス学的検査は上脛上部皮下の膿瘍スワブ及び 1~ 3 の脳、肺の 10%乳剤を用いて 9 日齢発育鶏卵の尿膜腔内に接種、7 日間培養 3 回継代を実施しウイルス分離を試みた。また、APV、ND、伝染性喉頭気管炎 (ILT)、伝染性気管支炎 (IB) について遺伝子検査を実施した。なお、今回病性鑑定に供した鶏群は 3 日齢時に大腸菌症を発症し病性鑑定を実施していた。

2. 追加調査 (図 4): 病性鑑定後に導入したロット (平成 24 年 10 月導入) について、2 日齢、14 日齢、21 日齢、30 日齢の各日齢で 10 羽無作為抽出、APV 及び ND に対する抗体検査を実施した。APV 抗体検査は vero 細胞及び TRT-MM 株を用いた中和抗体法、ND 抗体検査はニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原に対する HI 試験にて実施した。また、併せて気管スワブを採材し PCR 法による APV 特異遺伝子の検出を試みた。

図3 病性鑑定材料と検査方法

- 材料: 肉用鶏 (UKチャンキー) 35日齢 3羽
-生体2羽、死体 (淘汰) 1羽

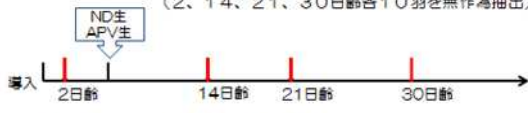


- 方法: 病理学的検査: 病理解剖及び病理組織学的検索
 細菌学的検査: 主要臓器を材料に定法により実施
 ウイルス学的検査: 遺伝子検査及び分離検査

図4 追加調査-材料と方法-

目的: ①APV・NDワクチン投与後の抗体価の推移を調査
 ②APV野外ウイルスの動態調査

- 材料: 血清及び気管スワブ
(2、14、21、30日齢各10羽を無作為抽出)



- 方法: ①APV・ND抗体価の測定
vero細胞及びTRT-MM株を用いた中和抗体法
 ニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原に対するHI試験
 ②APV遺伝子の検出
気管スワブ5羽分をプールしNested-PCR法にて実施

※採材時に臨床症状の確認

結果

1. 病性鑑定 (図 5、6)

(1) 細菌検査: No.1 の脳より *E. coli* 分離、No.2,3 の顔面スワブより *E. coli* 及びブドウ球菌 (*Staphylococcus. spp*) が分離された。

(2) 病理検査: 3 の鼻腔、眼窩下洞において偽好酸球の重度浸潤や壊死塊、菌塊を確認、1 及び 2 には著変は認められなかった。

(3) ウイルス検査: 肺 3 羽プール 10%乳剤より APV 特異遺伝子を検出した。その他の遺伝子検査及びウイルス分離検査は陰性であった。

図5 鑑定結果-1-

<細菌検査結果>

検体No	分離培養				PCR検査	
	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus</i> 属	<i>Enterococcus faecium</i>	その他	伝染性コリネバ	マイコプラズマ/カビ/酵母
No 1	脳	-	-	-	-	-
No 2	顔面スワブ	顔面スワブ	-	-	-	-
No 3	顔面スワブ	顔面スワブ	顔面スワブ	-	-	-

<病理検査結果>

検体	病理所見
No1	著変なし
No2	著変なし
No3	<ul style="list-style-type: none"> ・鼻腔、眼窩下洞に偽好酸球の重度浸潤や壊死塊、菌塊を確認。 ・含気毛細血管壁にリンパ球やマクロファージの浸潤 ・微小壊死巣が散見

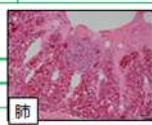


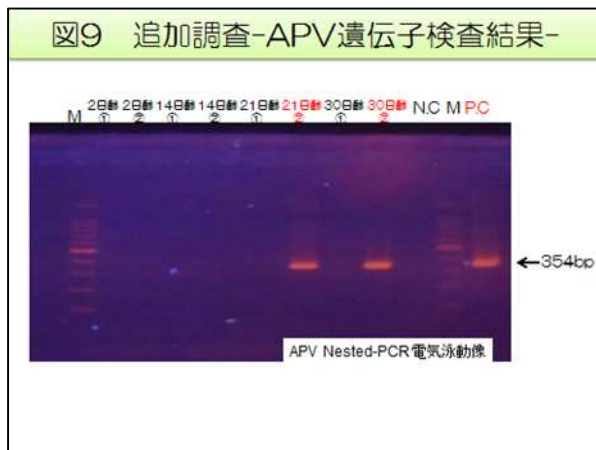
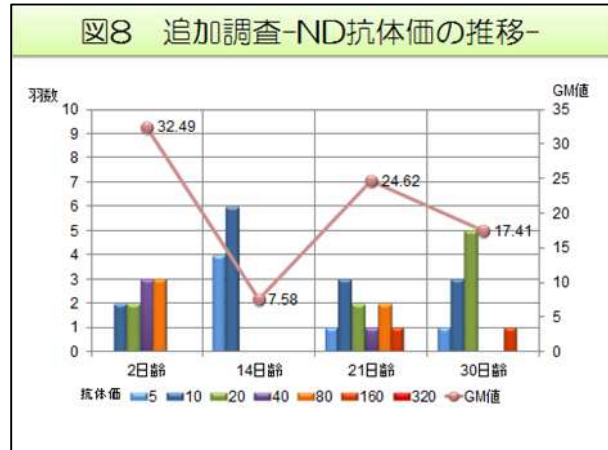
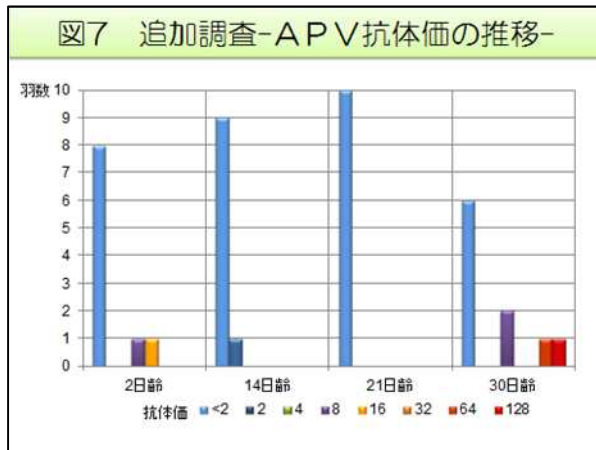
図6 鑑定結果-2-

<ウイルス検査結果>

検体No	臓器	PCR検査				ウイルス分離
		ILT	IB	ND	APV	発育熟卵接種 (3代継代)
No 1	顔面スワブ	-	-	-	-	-
No 2	顔面スワブ	-	-	-	-	-
No 3	顔面スワブ	-	-	-	-	-
No1~3 プール	肺	-	-	-	+	-
	肝臓	NT	NT	-	NT	NT
	腎臓	NT	-	NT	NT	NT

2. 追加調査

APV 抗体検査結果（図 7）では 2 日齢時に抗体を有している個体が 2 羽確認されたが移行抗体と推察。その後、21 日齢時には全羽 2 倍未満となり、30 日齢時でも 2 倍未満が 6 羽、8 倍 2 羽、64 倍 1 羽、128 倍 1 羽となり半数以上が十分な抗体を獲得していなかった。また ND 抗体検査結果についても 2 日齢 GM 値 32.49、14 日齢 7.58、21 日齢 24.62、30 日齢 17.41 となっておりワクチンによる十分な抗体上昇は認められなかった。また、気管スワブを用いた遺伝子検査において 21 日齢及び 30 日齢の検体より APV 特異遺伝子を検出した。採材した全ての日齢において顔面腫脹等の臨床症状は確認されなかった。



考察

病性鑑定結果から、顔面腫脹の原因として APV 及び *E. coli* の関与した SHS と診断した。SHS 発症の要因として APV ワクチンは接種していたが十分な抗体が付与されていなかったこと、また 3 日齢時に大腸菌症を発症していた鶏群であったこと等が考えられた。ワクチンによる APV 抗体価の有意な上昇が確認されなかった要因として一般的に生ワクチンの同時接種による干渉が考えられるが、当農場で使用している生ワクチンについては製造メーカーによると同時投与を行っても干渉を受けないとされており、ワクチン投与量が 0.5 ドース/羽であったことから投与量や投与方法に問題があると推察した。

今回の顔面腫脹による淘汰鶏の損失額とワクチン（1 ドース/羽）にかかる費用について費用対効果を算出した（図 10）。高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜防疫指針内の家禽評価額の算出方法を参考に、顔面腫脹による淘汰羽

数から損失額を算出したところ損失額は 42,120 円となった。投与を適正量(1 ドース/羽)に増加した場合のワクチンにかかる費用は APV,ND 合わせても 23,600 円であり十分な経済効果が期待できることから、ワクチンの適正量接種を指導。また、SHS 発症予防には大腸菌症等の二次感染防止対策も重要であり、飼養衛生管理の改善指導を行うとともに適切なワクチン投与法の確認とその後の抗体価の確実な上昇を継続して検査していく。

図10 損失額とワクチン(1ドース/羽)にかかる費用

- ・ 顔面腫脹による淘汰羽数から算出する損失額

- 今回のケース 35日齢で108羽淘汰/鶏舎(10,000羽飼養中)

※参考:HPAI及びLPAIに関する特定家禽伝染病防疫指針内の家禽人評価額の算出方法

(75円(肉用鶏初生ひな平均購入価格)+9円×35日)×108羽

=42,120円

- ・ ワクチン投与量1ドース/羽にかかる費用

ノビリスAPV生ワクチン1419株 1,400円/1,000ドース
 10,000羽分 1,400円×10本=14,000円
 ノビリスND生ワクチンC30株 1,400円/2,500ドース
 10,000羽分 1,400円×4本=9,600円

APV+ND=23,600円

ワクチン投与量を1ドース/羽に増加しても、
 十分な費用対効果が期待できる