

鶏伝染性気管支炎ウイルスの組織培養および弱毒化I

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者名	山田,進二 落合,美和子 藤川,英雄 内布,洋一 幸田,祐一
発行元	日本獣医師会
巻/号	24巻3号
掲載ページ	p. 121-125
発行年月	1971年3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



がてん絡没入しているのを発見した(図1,2,3のごとし)。
 筋底および内側蹄の部には何等異常を認めなかった。

そこでてん絡しているゴム輪を切除し、壊死組織の除去、排膿、消毒を行ない、出血多いので止血包帯を施し、木タール綿をもって化膿部を包み蹄包帯を施し、牛床を清潔にし治療を繰返し実施した。全身療法としてマイシンリン 10 ml の筋注と止血薬 DDD の筋注を併せ実施した。約 10 日後局所症状好転し跛行も漸次軽減してきて、初診時の血液検査において L.46%, N.42%, Mo.6%, Eo.5%, B.1%であった。

考 察

牛の蹄病は踏創、挫趾、趾間腐爛の発生が多い。今回遭遇したオートバイのチェーンを輪切りにしたゴム輪がてん絡したことにより蹄冠部、蹄球、蹄腫にわたる壊死、フングモナーネを併発した症例は稀有なる症例であろう。そこでこのゴム輪がいかなる機会と経過によって蹄にてん絡したかについては不詳の点もある。しかしなが

ら時あたかも梅雨期であり、パッドク内に散乱していたので、たまたまパッドク内に散乱していた1片のゴム輪が放牧していた患牛の右後蹄に踏まれ、偶然にも深くかかてん絡する結果となったことと推察した。よく犬猫のクリニックで跛端や頸部に子供がいたずらしてゴム輪をてん絡し、その末端が壊死することが報告される。また門倉牧場主門倉信三氏の言によると、某牧場の種雄牛が精液採取不能となり廃用剖検したところ陰莖の根部に人工塵のゴムの1部が挿入していた症例があるとのこと偶然の機会に全く予期せざる事態が生ずることを知らされた。臨床観察は稟告の聴取、現症の蒐集が特に細密でなければならぬことについては臨床家の熟知するところである。今回の症例も挙肢して蹄を詳細観察することによりゴム輪の存在を認めたものであり、蹄病を軽視してその診察を監視したならばゴム輪の発見ができなかったと思われる。蹄病の重要性を深く認識するとともに、診断の慎重性について反省する一症例と思われる。

家畜衛生

鶏伝染性気管支炎ウイルスの組織培養および弱毒化

I. ウイルスの組織培養および継代

山田進二* 落合美和子* 藤川英雄* 内布洋一* 幸田祐一*

(昭和 45 年 4 月 24 日受付)

Tissue Culture and Attenuation of Avian Infectious Bronchitis Virus

I. Tissue Culture and Passage of Virus

S. YAMADA, M. OCHIAI, H. FUJIKAWA, Y. UCHIFU and Y. KODA
 (Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, Inc., Kumamoto)

SUMMARY

Infectious bronchitis virus was propagated in chicken kidney cell culture, showing cytopathogenic effect (CPE). It also multiplied in chick-embryo cell culture, but failed to exhibit CPE. Neither virus propagation nor CPE was observed in cell cultures of first generation from the kidney of cattle, swine, goat, dog, rabbit, guinea pig, or hamster, or from the mouse embryo, or in passage cells of BHK-21 (hamster kidney origin), PK-15 or PS (swine kidney origin), or Vero (green-monkey kidney origin).

There were no differences in the appearance of CPE on culture cells, resistance to heating at 37 or 56°C, or antigenicity after virus inactivation between a strain obtained from passage in chicken kidney cells and the initial strain. The former was distinguished from the latter, since it was well propagated in chicken kidney cells, delayed in multiplying in embryonated hen's eggs, and weakly pathogenic for chickens and chick embryos.

わが国における鶏伝染性気管支炎 (IB) は 1951 年関東地方で流行した本病を川島ら¹⁾が報告し、中村ら²⁾によりウイルスが分離同定されて以来、その存在が明らか

となった。その後 2、3 本症の発生例は報告されているが、飼養形態が小羽数飼育の時代にあつたためそれほど問題視されなかつた。しかし最近のごとく飼養規模が大規模化するにしがたが、本症の被害が大きくなり注目され

* 化学及血清療法研究所

はじめた。ことに 1966~1968 年のニューカッスル病大発生以来鶏病に対する認識が深まり、かつニューカッスル病の防圧に成功し、その発生が少なくなってきたことから、IB に対する関心があります。研究は欧米においてはかなり進んでおり、生および不活化ワクチンが実用化されている段階にある。しかしわが国においては IB ワクチンの研究開発が遅れ、いまだ不活化ワクチンのみの実用化されているにすぎない。

著者らは IB 生ウイルスワクチンの開発を目的として IB ウイルスの増殖する細胞系の検討ならびに培養細胞で継代を重ねウイルスの弱毒化を試みたので報告する。

実験材料および方法

使用細胞および培養方法：細胞は、牛、豚、山羊、犬、兎、モルモット、ハムスターおよび鶏腎、マウスおよび鶏胎児の初代培養したもの、継代細胞として BHK-21 (ハムスター腎由来)、PK-15 および PS (豚腎由来) ならびに Vero (ミドリ猴腎由来) である。初代細胞の培養は YOUNGNER の方法²⁾ に準じて行なった。増殖培地 (GM) としては 0.5% ラクトアルブミン水解物加 Hanks (La-Hanks) 液に 10% の牛血清を加えたもの、また維持培地 (MM) としては La-Hanks 液に 2~5% の牛血清を加えたものを用いた。BHK-21 細胞の培養は La-Hanks 液および Eagle 液を等量に混合し、これに 10% の牛血清を加えたものを GM とし、La-Hanks 液を MM とした。PK-15 および PS 細胞の GM には 10% 牛血清加 La-Hanks 液、MM には GM より牛血清を除いたものを用いた。Vero 細胞の培養液は 10% イーストエキストラクトおよび 0.5% に La を含む Earle 液に 5% ポリビニールピロリドン³⁾ を 2% の割合に加えたもので、GM では牛血清を 2% の割合に加え、MM では牛血清を除いた。

使用ウイルス株：発育鶏卵に 10~40 代継代された IB ウイルス吹上、KH、中島、練馬および谷山株を用いた。ひな：3~200 日齢の白色レグホン種あるいはその交配系のひなを使用した。

中和試験：術式はウイルス希釈法、細胞は鶏腎 (CK) 細胞を、ウイルス株は練馬株を用いた。ウイルスは 10 倍階段希釈液とし、これに 5 倍に希釈した非動物血清を等量に加え、4℃ 18 時間感作させた。その後この混合液を CK 細胞培養試験管 4 本に 0.1 ml 宛接種し室温で 1 時間ウイルスを吸着させた後、0.9 ml の MM を加え、37℃ で回転培養、4~5 日目に細胞の変化を観察した。感染価をベールレンス・ケルバーの方法により算出し、中和価を求めた。

ウイルスの増殖：CK 細胞における増殖性—CK 細胞培養試験管に 0.1 ml (100 TCID₅₀) のウイルスを接種

し、1 時間室温に静置し、ウイルスを吸着させた後 0.9 ml の MM を加え、37℃ で回転培養を行なった。ウイルス接種後 2、4、6、8、12、18、24、36、48、60 および 72 時間目に材料を採取し、このとき CPE も観察した。発育鶏卵における増殖性—10 日齢鶏卵の尿腔内に 0.1 ml (100 TCID₅₀) のウイルスを接種し、24、48、72 および 96 時間培養後尿液中のウイルス量の測定を行なった。

不活化抗原の作成法：CK 細胞で増殖させたウイルス液に 0.02% の割合にホルマリンを加え、4℃ に 3 日間放置した。その後 1.5% になるように加里明ばんを添加し、4℃ に 1 夜静置したのち、10% 苛性加里で PH を 7.0~7.2 に修正した。CK 細胞継代株および CK 細胞継代の出発時の卵継代 (出養株) の発育鶏卵を材料とする抗原は 10 日齢発育鶏卵に 48 時間ウイルスを培養後採取した尿液およびこれに感染胎児乳剤を 10% の割合に加えたものを材料とし、上記の方法により処置したものである。

実験成績

1. 培養細胞におけるウイルスの増殖

IB ウイルスの増殖する細胞系を検討するため初代培養細胞 10 種および継代培養細胞 4 種を用いた。各種培養細胞の単層シートに IB ウイルス KH、練馬および谷山株を接種し CPE の出現を観察した。培養は 37℃ で行なった。また継代時の材料についてはウイルスの感染価を測定し、増殖の有無を検討した。その成績は表 1 に

表 1 IB ウイルスの培養細胞における CPE 出現およびウイルスの増殖

細胞の種類	継代日数	株 名			ウイルスの増殖 ^{D)}
		KH	練馬	谷山	
牛	腎 8~9	-2 ²⁾	-3	-2	-
豚	腎 5~6	-4	-4	-4	-
山羊	腎 2~9	-4	-2	-3	-
犬	腎 4~7	-2	-1	-2	-
兎	腎 7~9	-6	-6	-6	-
モルモット	腎 4~5	-4	-4	-4	-
ハムスター	腎 7	-1	-1	-1	-
マウス	胎児 7	-2	-1	-1	-
鶏	胎児 4~5	-3	-3	-3	+
鶏	腎 2~7	+	+	+	+
継代細胞	BHK-21	3~5	-4	-4	-
培養細胞	PK-15	6~8	-4	-4	-
細胞	PS	5~9	-5	-3	-
	Vero	4	-1	-1	-

1) KH、練馬および谷山株ともに同一成績を示した。
2) -₂ : CPE 出現陰性、数字は継代数

示す通りである。

IB ウイルス3株ともにCK細胞を除いて培養2~9日間にCPEを示したものはなく、またCKおよび鶏胎児細胞を除き培養日数および継代の進むにしたがってウイルス感染価は次第に低下し、増殖する傾向を認めなかった。CK細胞においては練馬株は初代からCPEを現わしたが、吹上、中島、KHおよび谷山株では初代は陰性で(表2参照)4日目毎の盲継代2~5代でCPEが出現した。

2. CK細胞継代株の性状

供試細胞中、IBウイルスの増殖する細胞はCKおよび鶏胎児細胞の2種類であったが、CK細胞ではCPEが観察された。このことからウイルスの継代用細胞としてCK細胞を選び継代を進めた。継代の進行とともに2, 3の性状を検討した。

i) 感染価の変動

CK細胞で継代を進めるにしたがい、5株ともにCK細胞に対するCPEの出現は早くなり、CPE出現を認めてから3~5代後にはウイルス液を無希釈で接種すると接種24時間目に全細胞を破壊するようになった。ウイルスの感染価は表2に示すごとくCK細胞を用いて測定した場合1~2代では0~10^{5.5}TCID₅₀/mlを示したが、継代の進むにしたがい上昇し、30~85代では10^{6.5}~10^{8.5}TCID₅₀/mlとなった。また10日齢発育鶏卵により感染価を測定した場合、継代1~2代では10^{3.7}~10^{8.2}EID₅₀/mlを示したものが30~85代では10^{1.7}~10^{4.5}EID₅₀/mlと下降してきた。

表2 IBウイルスのCK細胞継代による感染価の変動

株名	CK細胞での継代数	感染価 ¹⁾	
		CK細胞	発育鶏卵
吹上	2	0	3.7
	15	5.5	NT ²⁾
	30	6.5	3.5
K H	2	0	NT
	50	7.5	5.7
	85	8.5	2.7
中島	1	0	8.0
	15	6.7	8.2
	30	6.7	8.5
練馬	2	5.2	8.2
	15	5.4	7.5
	30	7.2	7.2
谷山	50	7.5	5.2
	65	8.5	1.7
	1	0	8.2
山	15	6.7	8.2
	30	6.7	8.5
	50	8.0	4.5

1) CK細胞はlog TCID₅₀/ml, 発育鶏卵はlog EID₅₀/ml. 2) 測定せず。

ii) 培養細胞に対するCPEの有無

CK細胞継代50~85代目のKH, 練馬および谷山株を牛、豚および犬腎ならびにマウス胎児初代培養細胞、BHK-21, PK-15およびPS細胞に対し2~9日間隔で1~5代継代した。いずれの細胞に対しても3株ともにCPEの発現およびウイルスの増殖は認められなかった。鶏胎児細胞では4日間隔で2代継代したところCPEは観察されなかったが、ウイルスは増殖していた。

iii) 耐熱性

CK細胞継代30~80代株の56℃に対する耐熱性を検討したところ、中島および練馬株では5分間以内に10^{5.5}~10^{7.5}TCID₅₀/mlのものが完全に不活化された。KH株では同温度処理において10^{6.5}TCID₅₀/mlのものが、10分間以内に感染価の消失をみた。37℃の感作では、KHおよび練馬株では10^{5.0}~10^{7.5}TCID₅₀/mlの感染価を示したものが、いずれも3日以内に不活化された。これら56および57℃におけるCK細胞継代株の不活化速度は継代初期(2~5代)のものに比較し差を認めなかった。

iv) ウイルスの増殖性

初代からCK細胞にCPEの認められた練馬株を用いウイルスの増殖速度を検討した。CK細胞におけるCK細胞継代株(65代)の増殖は接種後8時間目から始まり、24時間目に最高感染価に達した。CPEは接種後18時間目に認められ、48時間目には大部分の細胞が管壁から脱落した。出発株ではCK細胞継代株と同様に接種後8時間目から増殖をはじめ、24時間目に感染価は最高となった。しかしその感染価はCK細胞継代株よりも低く、また出発株のCPEはCK細胞継代株より遅れた。

10日齢発育鶏卵内での増殖はCK細胞継代株では接種後48時間目に最高感染価に達したが、出発株では24時間目に最高値を示した。

v) 病原性および抗原性

(1) ウイルスの病原性および抗原性を検討し表3および4のごとき成績を得た。
出発株およびCK細胞継代初期のものでは点鼻および気管内接種で、一部に発病するひなが認められた。しかし30代以降のものでは発病するものはなかった。中和抗体の産生性は継代の進むにしたがい低下する傾向を認めた。

初生ひな(4~7日齢)に対する病原性は表4に示す通り、移行抗体のないひなでは出発株で100%発症したが、CK細胞継代株(65代)では発症するものを認めなかった。また、移行抗体保有ひな(中和価3.3~4.2, 平均3.5)では出発株は点鼻投与で35%および気管内投与で30%の発症率を示したが、CK細胞継代株接種

鶏伝染性気管支炎ウイルスの組織培養および抗原性
の変化(練馬株)

図1 不活化ウイルスの抗原性(練馬株)

継代数	接種		鶏接種試験 ³⁾		平均中和価 ⁴⁾	
	量 ¹⁾	部位 ²⁾	供試数	反応数	前	後
2	4.2	it	3	1 ⁵⁾	1.0	4.5
30	6.2	it	3	0	1.0	3.0
	3.8	in	3	0	0.5	3.2
50	3.8	im	3	0	0.5	3.5
	3.5	io	3	0	0.5	2.2
	3.5	po	3	0	1.5	2.5
65	2.3	in	3	0	0.7	0.7
	2.3	po	23	0	0.7	1.1
	4.3	po	3	0	1.2	1.6

1) log TCID₅₀/羽. 2) it: 気管内, in: 点鼻, im: 筋肉内, po: 飲水. 3) 供試ひな日齢: 30日. 4) log TCID₅₀の差. 5) 4~5日目に症状出現.

表4 初生ひなに対する病原性(練馬株)

移行抗体量 ¹⁾	ウイルス	接種部位 ²⁾	供試数	発症数 ³⁾ (%)
0.6 (0.5~0.7)	出 発 株	in	7	7 (100)
	CK細胞継代株	in	10	0 (0)
	出 発 株	in	20	7 (35)
3.5 (3.3~4.2)	CK細胞継代株	it	20	6 (30)
	CK細胞継代株	in	20	0 (0)

1) log TCID₅₀の差. 2) 表3参照.

3) 症状は呼吸器症状および下痢を認む.

投与ウイルス量 出発株 10%⁵⁾VEID₅₀/羽.
CK細胞継代株 10%⁵⁾TCID₅₀/羽.

ひなは全例発症しなかった.

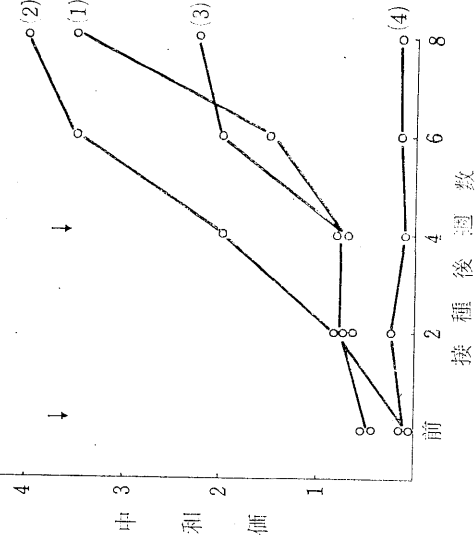
(2) 不活化ウイルスの抗原性

不活化ウイルスの抗原を(1)出発材料を発育鶏卵で培養したもの, (2)CK細胞継代株(50代)を発育鶏卵で培養したもの, および(3)CK細胞継代株(50代)をCK細胞で培養したものでそれぞれ作成し, 鶏に接種してその抗原性を検討した. その成績は図1に示す通りである.

不活化ウイルス接種鶏はいずれも接種後4週目まで(2)を除いてほとんど抗体の変動を認めなかった. 4週目に第2回目の抗原を接種すると, その2~4週目には中和対数で1.5~4.0と中和抗体が上昇した.(3)に比較し(1)および(2)では抗体価の上昇がよかった.

考 察

IBウイルスの培養細胞におけるCPE発現およびウイルス増殖に関する研究は多数報告されている^{1,7,9,13,16,17,19,21)}. IBウイルスは鶏胎児腎およびCK細胞にCPEを発現し, ウイルスの増殖することが認められている. その他鶏胎児の気管, 肺⁹⁾, 漿尿膜²⁰⁾および胎児



(1) 出発株

(2) CK細胞継代株(卵材料)

(3) CK細胞継代株(組織培養材料)

(4) 不接種対照

供試ひな: 30日齢 1群3羽

中和価: log TCID₅₀の差, 平均値

接種量: 1回 0.5 ml, 筋肉内

細胞^{4,16,17,19)}などが検討されている. 気管および肺細胞ではウイルスの増殖はなく, 漿尿膜細胞ではウイルスの増殖はあるが, CPEの発現は認められていない. マサチューセッツ41株は鶏胎児細胞で増殖しCPEを現わすと報告された¹⁷⁾. 鶏由来細胞以外のものについてCPEの有無を検討している報告は少ない. 継代濾腎細胞ではウイルスの増殖はあるがCPEは陰性⁹⁾, またマウス肝⁹⁾およびHela細胞⁷⁾ではウイルスの増殖ならびにCPEが認められないと報告された. 培養細胞に対するCPEの出現はIBウイルスの株によって差のあることも認められている^{4,16,19)}.

今回著者らは初代培養細胞10種類および継代培養細胞4種類におけるIBウイルスKH, 練馬および谷山の各出発株の増殖性を検討したところ, CPEが出現しウイルスの増殖の認められた細胞はCK細胞のみであった. 鶏胎児細胞ではCPEは出現しないが, ウイルスの増殖は認められた. これら培養細胞に対する態度は3株とも同じであった. またCK細胞において50~85代継代を進めた株においても出発株とかわらなかつた.

IBの生ウイルスワクチン株は自然界の弱毒株あるいは発育鶏卵継代により弱毒化されたものが用いられている^{10-12,19)}. その他七面鳥の卵⁹⁾あるいは哺乳マウス脳²⁰⁾継代による弱毒化が試みられているが, よい成績は得られていない. 培養細胞もウイルスの弱毒化に用いられ,

CK 細胞でよい成績が得られている²⁾。

著者らは 14 種類の培養細胞を検討し、CPE が出現しかつウイルスの増殖する細胞として CK 細胞をえらびウイルス継代用細胞とした。わが国で分離された IB ウイルス 3 株を用い、50~85 代継代した。CK 細胞継代株および出発株の性質を検討したところ次の点で差が認められた。すなわち、CK 細胞継代株は CK 細胞における増殖性がよく、鶏胎児に対する病原性が弱く、発育鶏卵内でのウイルスの増殖速度が出発株に比較し遅れ、鶏に対する病原性が低下した点である。CK 細胞継代により鶏胎児に病原性の低下する点はずでに報告されているが³⁾、継代が進むほど著明となった。また 37 および 56°C 耐熱性、ウイルス不活化材料の抗原性は両者に差を認めなかった。

この CK 細胞継代株は生ウイルスワクチン用株として利用されるためには鶏に対する安全性と免疫原性について詳細に検討されるべきである。

結 論

IB ウイルスの培養細胞に対する CPE の出現ならびに鶏腎培養細胞に継代を進めた株の性状を検討し次のごとき成績が得られた。

1) IB ウイルスは鶏腎培養細胞において増殖し CPE を現わした。鶏胎児細胞においてウイルスは増殖するが、CPE は出現しなかった。その他牛、豚、山羊、犬、兎、モルモットおよびハムスター腎、マウス胎児の初代培養細胞、BHK-21、PK-15、PS および Vero の継代細胞ではウイルスの増殖および CPE の発現は認められなかった。

2) 鶏腎細胞継代株は出発株に比較し、培養細胞に対する CPE の出現、37 および 56°C 耐熱性ならびにウイルス不活化後の抗原性に差を認めなかった。しかし鶏腎細胞継代株は鶏腎培養細胞でよく増殖すること、発育鶏

卵内で増殖が遅れること、鶏胎児に対する病原性が弱いことおよび鶏に対する病原性が失われたこと、出発株とは異なった。

指導および校閲をいただいた化学及血清療法研究所市原鶴雄部長および市原強次長に感謝します。

文 献

- 1) AKER, T.G. and C.H. CUNNINGHAM: *Arch. f. gesamt Virusforsch.*, 25, 30 (1968).
- 2) VON BÜLOW, V.: *Zbl. Vet. Med.*, 13.B. 345 および 671 (1966).
- 3) BUTHALA, D.A.: *Ph. D. Thesis, Iowa State University*, Ames (1956) *Cumingham* (6) 参照.
- 4) CHOMIAC, T.W., R.E. LUGINBUHL and E.L. JUNGHER: *Avian Dis.*, 2, 456 (1958).
- 5) CHURCHILL, A.E.: *Res. Vet. Sci.*, 6, 162 (1965).
- 6) CUNNINGHAM, C.H. and M.P. SPRING: *Avian Dis.*, 9, 182 (1965).
- 7) DAVIS, R.N.: *M.S. Thesis, A and M University of Texas, College station* (1956).
- 8) CUNNINGHAM (6) 参照.
- 9) DUBOSE, R.T.: *Avian Dis.*, 11, 28 (1967).
- 10) FAHEY, J.E. and J.F. CRAWLEY: *Can. J. Microbiol.*, 2, 503 (1956).
- 11) HOEKSTRA, J.: *Tijdsch. Diergeneesk.*, 85, 279 (1960).
- 12) HOEKSTRA, J.: *Brit. Vet. J.*, 117, 289 (1961).
- 13) HOFSTADT, M.S.: *Avian Dis.*, 11, 452 (1967).
- 14) KAWAMURA, H., S. ISOGAI and H. TSUBAHARA: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 1, 190 (1961).
- 15) 川 島, 佐藤, 花木, 吉田, 原田: 日獣学誌, 13 (学会号) 321 (1951).
- 16) LUGINBUHL, R.E. and E.L. JUNGHER: *Poultry Sci.*, 31, 924 (1952).
- 17) MOHANTY, S.B. and S.C. CHANG: *Amer. J. Vet. Res.*, 24, 822 (1963).
- 18) MALLMANN, V.H. and C.H. CUNNINGHAM: *Amer. J. Vet. Res.*, 24, 359 (1963).
- 19) 中村, 久葉, 川藤: 日獣学誌, 15 (学会号), 80 (1954).
- 20) PETTE, J.: *Zbl. Vet. Med.*, 7, 483 (1960).
- 21) SIMPSON, R.W. and V. GROUPE: *Virology*, 8, 456 (1959).
- 22) WRIGHT, B.S. and B.P. SAGHK: *Virology*, 5, 573 (1958).
- 23) YOUNGNER, J.S.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* (N.Y.), 85, 202 (1954).

刊 行 速 報

家畜衛生指導事業研修用テキスト(日本獣医師会編)

III-6-1

鶏 病 便 覧 46年2月刊

農林省家畜衛生試験場 農学博士 椿原彦吉 著
A 5 判・約80頁 定価 250 円 送料 55 円 (20部以上一括は送料本会負担)

鶏病知識と対策を簡便に網羅した現地ですぐ専門家も、また畜産家にも役立ち、現地指導の好適な実用参考手引き書

- I. 体のなりたち 1. 主要臓器の位置と名称 2. 主要臓器の性質役割 3. 解剖の進め方 4. 診断の手引き 5. 流行状況から要される病気の推定 6. 臨床症状から要される病気の推定 7. 病変から要される病気の推定 8. 特殊検査法 9. 病性鑑定依頼要領
- II. 個々の病気の特徴・対策 1. ウイルスによる病気 2. 細菌・カビによる病気 3. 原虫による病気 4. 内部寄生虫 5. 外部寄生虫 6. ビタミン・ミネラル不足 7. 中毒 8. 毒物索引
- III. 家畜衛生指導事業研修用テキストは一般衛生管理、牛、豚、鶏各編 56 種類が発刊されており、

発行 社団法人 日本獣医師会