

ニューカッスル病汚染養鶏場の種卵（発育中止卵）および ニホンドブネズミ（*Rattus norvegicus* Caraco)からのニューカッスル病ウィルスの分離について

誌名	鶏病研究会報
ISSN	0285709X
著者名	横山,勇 久保,治雄
発行元	
巻/号	6巻2号
掲載ページ	p. 70-73
発行年月	1970年7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



2. ニューカッスル病汚染養鶏場の種卵（発育中止卵） およびニホンドブネズミ（*Rattus norvegicus* Caraco）からのニューカッスル病ウィルス分離に ついて

横山 勇・久保治雄
(三重県中勢家畜保健衛生所)

ニューカッスル病（ND）の病原および病理学に関する研究報告は多いが、疫学的知見は必ずしも豊富でなく不明な点が多い。このことは直接野外で本病の防疫に従事している我々の常に直面するところである。

特に昭和40年以降、42年上半期の全国的なNDの急速な広がりを見ると、初発原因がNDV汚染地からのひなの導入¹⁾によるものが大半をしめ、この発生を中心に漸次、その地域にまん延しているのが実情である。

今回、われわれは野外NDVに汚染されている種鶏群の卵をふ化しているふ化場の発育中止卵からNDVが分離されるが、ふ化したひなは何んら異常を認めなかったことから、所謂介卵伝達に疑問をもち、健康種卵にNDV佐藤株を接種しふ化試験を行なった。その成績と、NDV汚染養鶏場のニホンドブネズミからのNDVの分離成績を報告する。

材料および方法

(1)ふ化場の発育中止卵からのNDVの分離：昭和42年7月、9月、11月にND(B₁)ワクチンを投与し、12月1日頃に胃腸炎型NDVに汚染され、約10%の死亡、とうた鶏を出した約200日令、3,000羽の白色系卵用種群から採取した卵をふ化しているMふ化場のふ卵9日目検卵時の発育中止卵の漿尿液を用いてHAおよび既知血清によるHI反応によりNDVの有無を調べた。

(2)実験的に接種した発育鶏卵中のウィルス消長試験

接種ウィルス：NDV 佐藤株（鶏卵培養）10⁸

EID₅₀ (0.1 ml) を尿腔内に接種した。

NDV接種、分離に用いた卵：三重県畜産試験場で十分な健康管理の下に飼育され、定期的にNDV不活化ワクチンの接種を受けている種鶏の卵を使用した。10日令発育鶏卵に可検材料を接種し、死亡したものおよび3日後に殺したものの漿尿液のHAの有無および既知血清によるHI反応によりウィルスの有無を判定した。

卵黄のHI反応：卵黄を生理的食塩液、クロロホルム処理し抗体抽出を行ない、NDV石井株のエーテル処理抗原を用い、家畜伝染病診断学の方法に準じて行なった。

(3)ニホンドブネズミからのNDV分離と血清検査：昭和42年8月、9月にNDV不活化ワクチン、B₁ワクチンを一応接種してあったが、12月下旬に胃腸炎型NDVに汚染され、飼育羽数10,000羽中、4,000羽の死亡、とうた鶏を出した養鶏場のドブネズミで、昭和43年4月、9月、昭和44年1月の3回捕獲し、気管と肺、直腸内容乳剤を10日令発育鶏卵に接種し分離を試みた。

血清は10%鶏血球液で吸収した後、常法に従ってHIを行なった。中和試験(NT)は石井株を用いCK細胞で行なった。(ドブネズミを採取した養鶏場は42年12月下旬にNDの発生は終そくし、43年4月に最初の入雛以後毎月入雛、43年12月には約10,000羽に増羽された。)

(4)ニホンドブネズミのNDV感染試験：NDV汚染のない住居地域のものにNDV佐藤株5×10⁷ EID₅₀ (0.5 ml) を皮下接種し、前血清および20日後血清についてHI価と中和価を測定した。

成績

1. 汚染種鶏からの卵，ひなの汚染状況

NDV 汚染種鶏場の卵をふ化しているふ化場の発育中止卵を汚染後 2 カ月後から 3 カ月後の間に 3 回それぞれ 400 個 (2 月 9 日のもの)，125 個 (2 月 23 日のもの)，167 個 (3 月 1 日のもの) について NDV の検出を試みたところ，それぞれ 1 個 (0.25%)，6 個 (4.8%)，6 個 (3.59%) に NDV が検出された。

発育中止卵，無精卵の出現率をさかのぼって調査するに NDV 侵入前は 18% 前後であったものが，侵入後は次第に増加し，1.5 カ月後が 40% とピークで漸次減少し 3 カ月後で平常の 18% にもどった。入卵 2 月 9 日のもの ♀ 1,500 羽，2 月 23 日のもの 2,350 羽，3 月 1 日のもの 2,300 羽のふ化ひなの出荷先を調査したが ND の発生はなかった。

このようなことから NDV の介卵伝達を検討することを目的に次の 2 回の試験を試みた。

2. 発育鶏卵中のウイルスの消長

1) 第一次試験

健康種卵の卵黄内，卵白内に各 50 個あて，NDV

佐藤株を接種し，37°C ふ卵器に入れ，6 日目，9 日目，11 日目，15 日目，18 日目の 5 回観察し，胎児の死亡しているものについて卵黄内 HI 抗体とウイルスの回収を試みた。成績は表 1 にみられる如く，6 日目の発育中止卵では卵黄内，卵白内両接種群とも，HI 価 1:20 以下のものからは回収されたが，HI 価 1:40 以上のものからは回収されなかった。9 日目のものにあつては HI 価 1:40 以下のものから回収された。11 日目以後のものからは，いずれもウイルスは回収されなかった。ふ化した雛 (卵黄内接種のもの 33 羽，卵白内のもの 14 羽) を 1 カ月飼育したが，臨床的，血清学的になんら異常を認めなかった。

2) 第 2 次試験

第 1 次試験と同様の試験を各 100 個あて卵を使用して試みたが，6 日目，9 日目の HI 価 1:20 以下のものから，ウイルスが回収されたのみでそれ以後のものからは回収されなかった。

卵黄内に接種し，生存中のもの，24 個，卵白内に接種し，生存中のもの 32 個の 20 日令胎児頭頸

表 1 NDV 接種卵の卵黄抗体とウイルス検出成績

接 種	卵黄 HI	卵 黄 内							卵 白 内								
		5	10	20	40	80	160	320	計	5	10	20	40	80	160	320	計
第一 次 試 験	接種後日数																
	6	1/1	1/1	0/2	0/1			0/1	2/6	1/1	1/2	2/9	0/5	0/1	0/1	0/1	4/20
	9	2/2		2/2	0/2				4/6		1/1	1/4					2/5
	11											0/1		0/2	0/1	0/4	
	15			0/2					0/2		0/1	0/1					0/2
	18																
50個 使用	21	ふ化雛 33 羽 1 カ月飼育したが異常認めず 1 個不破卵殻 (NDV-) 無精卵 2 個							ふ化雛 14 羽 1 カ月飼育したが異常認めず 2 個不破卵殻 (NDV-) 無精卵 3 個								
第二 次 試 験	6	1/1	1/4	4/9	0/5	0/2			6/21	1/1	4/13	0/4	0/3				5/21
	9		1/2	1/3	0/1	0/1			2/7	2/3	3/6						5/9
	11			0/2		0/5	0/1		0/8		0/2	0/1	0/2				0/5
	15					0/3	0/2		0/5		0/1	0/1					0/2
	18		0/1	0/2	0/1	0/1	0/2	0/1	0/8		0/1	0/2	0/1	0/2			0/6
	100個 使用	20	24 個の胎児 (頭頸) の乳剤を 10 日令発育 鶏卵に接種 (NDV-) 無精卵 25 個							32 個の胎児 (頭頸) の乳剤を 10 日令発育 鶏卵に接種 (NDV-) 無精卵 27 個							

備考 分母は発育中止卵数，分子は NDV の回収された数
HI は卵黄よりクロロホルム処理による抗体抽出
接種ウイルスは佐藤株 10⁸ EID₅₀ (0.1 ml)

表2 ニホンドブネズミからの NDV の分離成績

No.	ND 発生後4カ月のもの				9カ月のもの				13カ月のもの			
	気管肺	直腸	HI 価	中和価	気管肺	直腸	HI 価	中昭価	気管肺	直腸	HI 価	中和価
1	10 ⁶	10 ⁶	20	2>	10 ⁶	—	5	2>	—	—	40	2>
2	10 ⁴	—	20	4>	—	—	20	2>	—	—	40	2>
3	—	—	40	2>	—	—	20	2>	—	—	40	2>
4	—	—	80	2>	—	—	20	2>	—	—	40	2>
5	—	—	80	2>	—	—	20	2>	—	—	40	2>
6	—	—	80	4>	—	—	20	4>	—	—	40	2>
7	—	—	80	4>	—	—	40	2>	—	—	40	2>
8	—	—	80	4>	—	—	40	2>	—	—	80	2>
9	—	—	80	4>	—	—	40	2>	—	—	80	2>
10	—	—	160	8	—	—	40	4>	—	—	80	2>
11					—	—	80	2>				
12					—	—	80	4>				
13					—	—	80	4>				

備考 ウィルス量は EID₅₀/0.1ml

部を乳剤にして10日令発育鶏卵に接種し、ウィルスの回収を試みたがウィルスは回収されなかった(表1)。

3. ニホンドブネズミから NDV の分離と血清の検討

NDV 汚染養鶏場のニホンドブネズミを汚染後、4カ月のもの10匹、9カ月のもの13匹、13カ月のもの10匹を捕獲し、検査したところ、4カ月のものでは HI 価は1:20~160で、そのうち HI 価1:20以下の1例から、気管と肺および直腸から 10⁶ EID₅₀/0.1 ml, また別の1例からは気管と肺の混合乳剤から 10⁴ EID₅₀/0.1 ml の NDV が分離された。NT は HI 価1:160のものが8倍であった。9カ月のものでは HI 価は1:5>~80であり、そのうち HI 価1:5>の1例の気管と肺から、10⁶ EID₅₀/0.1 ml 分離された。NT は陰性であった。13カ月のものからは NDV は分離されず、HI 価は1:40~80で NT は陰性であった(表2)。

4. ニホンドブネズミ由来 NDV の病原性について: 分離した3株のウィルスの10日令発育鶏胎児死亡時間を12時間おきに観察して測定したところ、33~38時間であった。また1カ月令の ND 抗体フリーの雛に5×10⁷ EID₅₀(0.5 ml)接種し観察したところ4日目に ND 胃腸炎型で死亡した(表3)。

表3 ニホンドブネズミ由来 NDV の病原性

ウィルス株 No.	鶏胎児(10日令卵) 死亡時間	1カ月令雛に接種
1	38時間	胃腸炎型で死亡(接種4日目)
2	33 "	"
3	33 "	"

5. ニホンドブネズミの NDV 感染試験: 3匹のニホンドブネズミに NDV 佐藤株5×10⁷ EID₅₀ あて皮下接種し、接種前ならびに20日後の血清について比較したところ、HI 価はいずれも上昇し、NT は1例を除き上昇がみられた。臨床的にはなんら異常を示さなかった(表4)。

表4 ニホンドブネズミの NDV 接種試験

ネズミ No.	前血清		後血清(接種2週間後)	
	HI 価	中和価	HI 価	中和価
1	5	2≥	20	1≥
2	10	2≥	40	4
3	5	1≥	160	16

備考 NDV 佐藤株 5×10⁷ EID₅₀ 接種

考 察

初生ひなによる NDV の伝播については、NDV 汚染鶏の卵から NDV が分離されることから、介卵伝達を示唆する報告はあるが、NDV の鶏胎児

に対する病原性、卵内の移行抗体等を考え合せると、NDVを保持した雛のふ化すること、即ち卵を介して次の世代にNDVが移行する可能性は非常に少なく、ふ化場に於ける發育中止卵の不完全な処理により、二次的に初生ひなの体、輸送箱、輸送用具等が發育中止の原因となったNDVに汚染され、それが抗体の低い雛に感染しウイルスが増ふくされ、發生原因となっているのではないかと推測する。

次に哺乳動物のNDVのキャリアーとしての役割は機械的なものが重視されている。ラットについては、WALKER²⁾、ZUIJDAM³⁾等の報告があるが、今回のようにニホンズブネズミからND発生4カ月後、9カ月後に強毒ウイルスが分離されたことは哺乳動物が長期の保毒源となりうることを示したもので、NDの防疫にあたっては、鶏舎内外およびその地域の動物についても十分な考慮を払う必要があろう。

総括

1. NDV汚染後2月から3カ月経過した種鶏群の發育中止卵から1/400, 6/125, 6/167のNDVが分離された。

2. 免疫母鶏由来の健康卵にNDV佐藤株(10^{8.0} EID₅₀)を卵黄内、あるいは卵白内に接種し、ふ卵器に入れ、経時的に観察し、發育中止卵のHI価と接種NDVの回収を試みたところ、卵黄内、卵

白内接種ともに、6日目のものではHI価1:20以下のものから、9日目のものはHI価1:40のものからNDVが回収され、HI価が1:80のもの、11日目以上たってから死亡したものおよび20日今の生存鶏胎児からはNDVは回収されなかった。またふ化した雛を1カ月間飼育したが異常はなかった。

3. NDV汚染養鶏場で汚染後4カ月、9カ月たってから捕獲したニホンズブネズミの気管と肺、直腸から10⁴⁻⁶ EID₅₀/0.1 mlの強毒NDVが分離され、13カ月後のものからは分離されなかった。実験的接種例ではHI価、NT価の明らかな上昇がみられた。

稿を終るにあたりニホンズブネズミ血清の中和検査に協力を戴いた農林省家畜衛生試験場、清水文康技官に謝意を表します。

本論文の要旨は第68回日本獣医学会において報告した。

文 献

- 1) 農林省: 家畜衛生週報, 930, 944, 945, 948, 949, 950, 951, 952, 954, 956 (1967).
- 2) WALKER, R. V. L., MCKERCHER, P. D. and BANISTER, G. L., Canad. J. Comp. Med. 18, 244 (1954).
- 3) ZUIJDAM, D. M.: Tijdschr. Diergeneesk. 76, 237 (1951).
(BIESTER and SCHWARTE 著 Diseases of Poultry. 5版 674 p. 1965 より引用)

3. フラミンゴのニューカッスル病発生例について

森 泰 良・工 藤 正 勝・首 藤 長 夫

(大分県大分家畜保健衛生所)

管内のA, B2ヶ所の動物園において、飼育中の輸入先を異にするフラミンゴ(以下鳥)が、A動物園において多数のへい死を見たため同園の依頼により、病性鑑定を行なった。昭和42年11月に、アルゼンチンより450羽の鳥が輸入され昭和43年10月までに150羽が、へい死した。解剖学的所見は、鶏のNDに一致し、NDのHI価は

1:80から1:640までの数値を示した。HI価については、対照にB動物園の鳥を検査したところ、全部1:10以下であった。

そこで、生残っている鳥にNDの予防注射を行ないHI価の動きと症状の変化について検査した。昭和43年8月29日20羽を選び出し(うち10羽対照)HI価を測定後ND予防注射し2週間