輸入牛に集団発生した牛伝染性鼻腔気管炎 (IBR) の 臨床症状ならびにウイルスの分離・同定について

西間庭正士* 藤井 博* 岡本哲男* 海老洋一* 三毛敏夫*

稲葉右二** 田中義夫**

(昭和 46 年 12 月 11 日受付)

A Collective Outbreak of Infections Bovine Rhinotracheitis in Imported Cattle

M. NISHIMADO, H. FUJII, T. OKAMOTO, Y. EBI, T. MIKE, Y. INABA* and Y. TANAKA*

(Animal Quarantine Station, Yokohama, and National Institute of Animal Health, Kodaira, Tokyo)

SUMMARY

In October, 1970, 130 cattle of the Aberdeen Angus and Hereford breeds were imported from the United States and held under quarantine in Yokohama. Twelve of them manifested fever, nasal discharge, lacrimation, corneconjunctivitis, foamy salivation, coughing, pustulation, erosion, and ulceration of the nasal mucosa, and anorexia.

Samples were collected from nasal and ocular discharge and blood of these cattle and inoculated into bovine kidney and testis cell cultures.

Ten and nine strains of virus showing the same cyto-

pathogenic effect were isolated from the kidney and testis cultures, respectively. Of them, six representative strains were identical serologically. Healthy cattle inoculated with the isolated virus exhibited the same symptoms as the spontaneously infected ones. Virus was recovered from their nasal and ocular discharge for 3 days.

The cross neutralization test between the isolated virus and the Los Angeles strain of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus gave such results that it was possible to identify the former as IBR virus.

1950 年 MILLER⁶⁾ によって米国ではじめて本病が発見されて以来、世界各国で本病の発生が報告されている。いっぽうわが国における本病の発生例はすでに山田ら¹⁰⁾が 1968 年島原地区において下痢を主徴とした犢牛に本病が発生したことを報告している。しかし、この報告では疫学のおよび血清学的な検討が不十分であった。ところが、本病の明らかな発生が輸入牛の一群にみられた。

すなわち、1970 年 10 月 8 日米国から輸入されたカナダ産アバディーン・アンガス 65 頭ヘレフォード 65 頭、計 130 頭の雌牛を横浜動物検疫所で検疫中、これらに牛伝染性鼻腔気管炎 (IBR) の集団発生があった。

ここでは、主として発生状況と臨床症状ならびにウイルス分離などについて報告する。

I. 発生状況と臨床症状

発生状況

航海中：付添人からの臨床観察報告によると出航後間もなく寒気にみまわれ、アバディーン・アンガス 4 頭、ヘレフォード 10 頭に水様または膿様の鼻漏を認め、そのうち 1 頭のアバディーン・アンガスは 4 日間の食欲不

振と軽度の発熱を示した。しかし、抗生物質の注射により回復した。その後は発熱、鼻漏などの症状を示したものはなかった。

臨船検査：船上における検査では付添人から報告のあった牛以外のアバディーン・アンガス 10 頭、ヘレフォード 4 頭に水様または膿様の鼻漏を認めた。そのうちの 1 頭に軟便のものがいた。しかし、熱発したものはなく元気、食欲はあり、病牛と思われるものはなかった。

ついで動物検疫所では航海中および臨船検査の時、鼻漏、軟便などを示した牛を収容したコンテナ 7 個分、44 頭を A 畜舎に収容し、他は B、C の畜舎に分割収容した。検疫開始後、12 日間ほとくに異常は認められなかった。ところが 13 日目から過去に異常を認めた A 畜舎の 12 頭に 39~40.7℃ の発熱、流涙、食欲不振、角膜結膜炎、泡沫性または露滴状流涎、呼吸困難を伴った喘鳴音、咳、鼻腔粘膜の充血と針頭大から粟粒大の白色または乳白色の膿胞形成など、急性呼吸器症状が認められた。しかし B、C の畜舎については臨床的に異常は認められなかった。

臨床症状

自然感染牛の臨床症状は一樣ではないが上記の諸症状を呈した。そこで、病牛の個々についてその症状を述べると次のとおりである。

* 農林省動物検疫所 (横浜市磯子区原町 11-1) ** 農林省家畜衛生試験場 (東京都小平市上水本町 1500)

症例 1 (No. 733) : 突然熱発 (39℃) し、その熱型は 2 峯性を示した。同時に右眼角膜結膜炎、膿様眼漏が認められた。左眼はおよそ 1 日遅れて結膜炎および流涙が認められた。診断的にペニシリン 600 万単位を注射したところ、効果があったかのごとく思われたが両鼻腔粘膜に針頭大から粟粒大の膿胞多発、膿様眼漏も認められた。このような症状は 12 日間で回復した。

症例 2 (No. 734) : 発熱 (39~40℃) が 5 日間けい留した後、左眼に軽度の角膜結膜炎、流涙ならびに両鼻腔粘膜は充血して水様鼻漏が認められた。同時に鼻腔粘膜に針頭大から粟粒大の膿胞が多発した。症状は 9 日間持続した。

症例 3 (No. 737) : 発熱 (39~40.1℃) が 9 日間けい留した。同時に両眼結膜炎、水様から膿様鼻漏、流涙、腔流涎および鼻腔粘膜の充血が認められた。ひきつづき鼻粘膜に針頭大から粟粒大の膿胞が多発し、さらに軽度の糜爛形成がみられた。しかし、これらすべての症状は発病後 14 日間で回復した。

症例 4 (No. 718) : 本例も軽度の発熱 (39~39.6℃) が 5 日間けい留し、発熱第 3 日目より喘鳴音とまれに咳が認められた。6 日目の下熱時より流涙、両眼軽度の結膜炎、泡沫性および露滴状流涎、鼻腔粘膜の充血にひきつづき針頭大から粟粒大の膿胞形成が認められた。そしてこのような症状は 9 日間で回復した。

症例 5 (No. 758) : 軽度の発熱が 7 日間認められ、その後かなり強い喘鳴音と咳が認められた。さらに流涙、眼漏および膿様鼻漏なども認められた。鼻腔粘膜は左側のみ充血がみられたが膿胞の形成は認められなかった。しかし呼吸困難がひどく呼気の際、悪臭が感じられた。

症例 6 (No. 747) : 本症例は図 1 に示したように発熱が 16 日間けい留し、熱発期間はもっとも長いものであった。発熱の第 2 日目から流涙、眼漏および角膜結膜炎が

認められた。また第 4 日目から水様鼻漏、第 6 日目から膿様鼻漏が認められた。いっぽう、鼻腔粘膜は発熱第 5 日目から左側鼻腔、第 7 日目から右側鼻腔に充血がみられた。なお鼻腔粘膜の背面を除く部分に針頭大と粟粒大の膿胞数コが形成され、その程度も左側鼻腔粘膜の方が重症であった。同時に泡沫性流涎も 2 日間認められた。このような粟粒大の膿胞はその後糜爛、潰瘍となり瘢痕を形成した。

つぎに自然感染牛の 12 頭について各症状別の発生頭数をまとめると表 1 のとおりである。

おもな症状は発熱、流涙、角膜結膜炎、鼻漏、泡沫性および露滴状流涎、鼻腔粘膜に針頭大から粟粒大の膿胞形成、さらに膿胞の糜爛、潰瘍がみられたことである。

表 1 自然感染牛の症状

症 状	陽性頭数/病牛頭数
発 熱	9/12
流 涙	7/12
眼 漏	5/12
角膜結膜炎	10/12
鼻 漏	9/12
食 欲 不 振	3/12
泡沫性流涎	6/12
露滴状流涎	3/12
喘 鳴 音	2/12
鼻粘膜針頭大膿胞形成	9/12
膿胞の糜爛潰瘍	1/12

小 括

1970 年 10 月米国より輸入されたカナダ産、アバディーン・アングス 65 頭、ヘレフォード 65 頭、計 130 頭は横浜動物検疫所における検疫期間中、その一部に発熱、食欲不振、角膜結膜炎、流涙、鼻腔粘膜の充血と膿胞

図 1 臨 床 症 状 (No. 747)

形成、呼吸困難、喘鳴音、咳などの急性呼吸器症状が認められた。これらの症状は IBR のそれにもっともよく似ていることから本病は IBR ではないかと強く疑われた。なお IBR ウイルスは脳炎²⁾、伝染性膿毒性陰門腺炎^{3,5)} および流産^{1,7,8)} なども惹起すると報告されているが今回の発生ではこのような所見は全くみられなかった。しかし、検疫終了後北海道の某牧場に導入されたこの群に流産の発生が多数みられている⁹⁾。

II. ウイルス分離と同定

材料および方法

ウイルス分離材料：自然感染牛の鼻腔粘膜、眼結膜のぬぐい液および発熱時の血液をウイルス分離材料とした。これらぬぐい液は直ちにペニシリン 1,000 u/ml, ストマイ 10 mg/ml, ファンギゾン 50 μ g/ml を添加された Earle 氏液で約 10 倍乳剤とし、4℃ に 1 時間感作後、冷却遠心器で 7,000 $\times$ g, 30 分遠心沈殿し、その上清を、また脱線血は凍結融解後培養細胞にそれぞれ接種した。

接種試験牛：ホルスタイン 2 才去勢牛で結核病、ブルセラ病、ヨーネ病、住血原虫病のいずれも陰性、しかも IBR 中和抗体価 2 倍以下の健康牛である。

細胞培養法：と場より分与された子牛腎 (BK) および牛辜丸 (BT) の初代培養細胞を用いた。なお、細胞培養方法は YOUNGNER¹¹⁾ の方法で実施した。

免疫血清：IBR ウイルスの免疫には Dr. D. G. Mc-KERCHER から分与された Los Angeles 株の感染 BK 細胞培養液をモルモットの脳内に 0.1 ml 接種し、ついで 1 週間間隔で 1 回 5 ml 宛、4 回腹腔内に接種した。最後接種から 10 日目に採血してその血清を -20℃ に保存した。

分離ウイルスの免疫血清はウイルスが分離された輸入牛 No. 747 の入検時と回復期のそれぞれの血清を用いた。

中和試験：感染 BK 細胞培養液を 3,000 rpm 20 分間遠心沈殿し、その上清の感染価を予め測定した。それにはウイルス培養液を Earle 氏液で 10 倍階段希釈し、各希釈毎に 4 本ずつの BK 細胞培養試験管に 0.1 ml 宛接種した。37℃ で 1 時間ウイルスを吸着させ、さらに Earle 氏維持液 (血清無添加) を 0.9 ml 宛加え 37℃ で 1 週間回転培養した。感染価 (TCID₅₀) は KÄRDER⁴⁾ の方法で計算した。中和試験は可検血清 (56℃ 30 分間加熱) を Earle 氏液で 2 倍階段希釈し、これに 200 TCID₅₀/0.1 ml のウイルス液を等量加えたのち、37℃ で 1 時間感作した。ついでこのウイルス液と血清混合物を各希釈 2 本ずつ 0.1 ml 宛細胞培養試験管に接種し、37℃ で、1 週間回転培養した。培養試験管 2 本のうち少なくとも 1 本に細胞変性効果 (CPE) がみられなかった血清の最高

希釈倍数を抗体価とした。

実験成績

ウイルス分離

各ウイルス分離材料を 4 本ずつの BK および BT 細胞培養試験管にそれぞれ 0.1 ml 宛接種した。37℃ で 1 時間感作吸着を行ない、維持液 0.9 ml 宛を加えて 37℃ で回転培養した。その結果、眼漏および鼻漏の 19 例の材料から BK 細胞で 10 株、BT 細胞で 9 株の CPE を示すウイルスが分離された。これらの各ウイルスによる CPE はいずれも同様に材料接種後、24~48 時間で細胞は円形化し、その後試験管壁から脱落した。

ついでこれら分離ウイルスのうち代表株の 6 株について輸入牛 No. 747 の入検時血清および回復期血清について中和反応を行なった。その結果、入検時血清では中和抗体はすべての株に対して陰性であったが、その回復期血清ではいずれの場合も中和抗体価は 16 倍で抗体陽性であった。

いっぽう、血液からのウイルス分離は BK, BT いずれの細胞でも陰性であった。

分離ウイルスと病牛との血清学的関係

A 畜舎の自然感染牛の血清について分離ウイルスの代表株である No. 747 株に対する中和抗体価を調べた。

その結果は表 2 に示したように入検時ほとんどの牛は中和抗体陰性であった。しかし、検疫 23 日後では抗体陰性から陽転したもの 14 例中 6 例 (42.8%)、また入検時抗体陽性のもので抗体価の有意の上昇がみられたもの 9 例中 7 例 (77.7%) であった。さらに検疫 47 日後では全例 (42 例) 抗体陽性となり、いずれも抗体価の有意の上昇がみられた。

分離ウイルスの牛接種試験

分離ウイルスの代表株 No. 747 株について牛接種試験を実施した。すなわち、分離ウイルス (TCID₅₀ 10^{7.5}/ml) 4.0 ml を頸側皮下に接種した。接種後 9 日目から 39.5℃ の発熱がみられ、左眼に流涙を左側鼻腔に水様鼻漏および流涎などが認められた。接種後 10 日目には両眼の角膜結膜炎と膿様鼻漏が認められた。11 日目は左側鼻腔粘膜が充血し、粟粒大の膿胞を形成した。12 日目膿胞は糜爛から潰瘍を形成した。右側鼻腔粘膜の異常は左側より遅れてみられ、接種後 12 日目から充血し、14 日目に粟粒大の膿胞を数コ形成した。これも 15~16 日目に糜爛から潰瘍を形成して癒着化した。

また、白血球数の減少も発熱と相前後して認められた。そのほか、食欲不振が接種後 13 日目から 5 日間続いた。しかし、呼吸困難や陰茎炎および包皮の炎症などの症状は全く認められなかった。なおウイルスは接種後 9 日目から 3 日間にわたり眼漏、鼻漏から回収された。この試験牛の分離ウイルスに対する中和抗体は接種前陰性であったが接種後 24 日目には 4 倍、30 日目には 8 倍

表2 自然感染牛血清の分離ウイルスに対する中和抗体

牛 番 号	中 和 抗 体 価		
	採 血 月 日		
	45年10月12日 検査開始時	45年11月4日	45年12月2日
No. 716	<2	<2	8
// 717	<2	2	16
// 718	<2	<2	2
// 719	<2	<2	32
// 720	<2	<2	16
// 721	<2	8	>128
// 722	<2	8	>128
// 723	<2	—	4
// 724	8	32	32
// 726	<2	8	8
// 727	<2	<2	8
// 728	<2	—	4
// 729	2	8	32
// 730	4	—	64
// 731	<2	—	>128
// 732	8	—	>128
// 733	<2	2	16
// 734	<2	<2	8
// 735	8	32	64
// 736	128	128	128
// 737	<2	8	8
// 738	<2	—	16
// 740	<2	—	32
// 741	4	—	32
// 742	<2	—	4
// 743	4	—	32
// 744	<2	—	8
// 745	<2	—	2
// 746	<2	—	4
// 747	<2	<2	16
// 748	<2	<2	16
// 749	<2	—	>128
// 750	8	—	16
// 751	<2	—	>128
// 752	<2	—	8
// 753	<2	—	32
// 754	<2	—	16
// 755	<2	—	4
// 756	<2	—	8
// 757	<2	—	128
// 758	<2	—	8
// 759	<2	—	64

と上昇した。

分離ウイルスと IBR ウイルスとの関係

本病は臨床症状から IBR が強く疑われたため分離ウイルスと IBR ウイルス Los Angeles 株との交差中和反応を試みた。その結果、表3に示したとおり分離ウイルス

表3 分離ウイルスと IBR ウイルスの交差中和反応

ウイルス	中 和 抗 体 価					
	IBR ウイルス免疫血清 牛(No.10)		モルモット		分離ウイルス免疫血清 牛(No. 747)	
	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST
IBR						
(LOS ANGELES)	<2	32	<2	32	<2	16
分離ウイルス (No. 747)	<2	32	<2	32	<2	16

スは IBR ウイルスと血清学的に同一であることが明らかになった。

小 括

A畜舎で症状の認められた 12 頭のウイルス分離材料から BK および BT 細胞で同じような CPE を示す19株のウイルスが分離された。しかし、血液からのウイルス分離は陰性であった。これはおそらく血液中のウイルス濃度が低かったものと考えられる。なおこれら分離ウイルスの代表株6株は血清学的に同一であることが明らかにされた。

また、分離ウイルスと病牛との血清学的な関係を調べたところ、A畜舎の自然感染牛全例(42例)は分離ウイルスに対する中和抗体価の有意な上昇がみられた。これはA畜舎のすべての牛がごく最近分離ウイルスに感染したことを裏付けるものである。さらに分離ウイルス No. 747 株の牛接種試験でも自然感染牛とおおむね同様な症状がみられたこと、接種後9日目から3日間にわたりウイルスが回収されたこと、また分離ウイルスに対する中和抗体が陽転したことなどから分離ウイルスは本病の原因ウイルスと考えられる。また、分離ウイルスと IBR ウイルスとの交差中和反応の結果、分離ウイルスは IBR ウイルスと同定された。以上のことから今回の病気は IBR ウイルスに起因するものと考えられる。疫学的には当時国内で IBR の発生はなく、また、検査期間中も専従付添人によりこれら輸入牛を管理していることなどから、今回の IBR は米国出航前または船上でウイルス感染があり、船輸送による疲労と環境の変化で発病したものと考えられる。

結 論

1970年10月、米国より輸入されたカナダ産アバディーン・アンガス65頭、ヘレフォード65頭、計130頭の雌牛のうち輸送中および臨船検査の際、鼻漏、軟便などを示したコンテナの牛を同一畜舎に収容し検査を開始した。ところが検査第13日目からこの畜舎の12頭に急性呼吸器症状が認められた。そこでこれら病牛の臨床検査と病原検索を行なった結果、つぎのような成績を得た。

1) 本病の主な症状は発熱，流涙，角膜結膜炎，喘鳴音とまれに咳，泡沫性または露滴状流涎，食欲不振，白血球減少，鼻腔粘膜に針頭大から粟粒大の膿胞形成などであった。これらの症状は 10 日後で回復した。

2) 12頭の自然感染牛の眼漏，鼻漏の 19 例を BK, BT 培養細胞に接種したところ同じような CPE を示すウイルスが BK 細胞で 10 株，BT 細胞で 9 株分離された。これら分離ウイルスのうち代表株 6 株は血清学的に同一ウイルスであることも明らかにされた。

3) 同一畜舎にけい留された 42 頭の検疫牛はすべて中和抗体の有意の上昇を示した。

4) 分離ウイルスを健康牛の頸側皮下に接種したところ，自然感染牛とほぼ同様の症状を示し，また，ウイルスも 3 日間にわたり眼漏，鼻漏の材料から回収された。また，分離ウイルスに対する中和抗体も陽性となった。

5) 分離ウイルスと IBR ウイルスの交差中和反応の結果，分離ウイルスは IBR ウイルスと同定された。

以上の成績から本病は IBR ウイルスに起因する疾病

であることが明らかにされた。

文 献

- 1) CHOW, T. L., MOLELLO, J. A. & OWEN, N. J.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 44, 1005~1007 (1964).
- 2) FRENCH, E. L.: *Austral. Vet. J.*, 38, 555~456 (1962).
- 3) GILLESPIE, J. H., KENDRICK, J. W. & WAGNER, W. C.: *Cornell Vet.*, 49, 228~297 (1959).
- 4) KÄRBER, G.: *Arch. Exp. Pathol. Pharm.*, 162, 480~483 (1913).
- 5) KENDRICK, J. W., GILLESPIE, J. H. & McENTEE, K.: *Cornell Vet.*, 48, 458~493 (1958).
- 6) MILLER, N. J.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 126 463~467 (1955).
- 7) OWEN, N. V., CHOW, T. L. & MOLELLO, J. A.: *Am. J. Vet. Res.*, 29 1959~1964 (1968).
- 8) OWEN, N. V., CHOW, T. L. & MOLELLO, J. A.: *Am. J. Vet. Res.*, 29, 1967~1970 (1968).
- 9) 清水悠紀臣：私信。
- 10) 山田進二，内布洋一，道 貞夫，岡山政護，幸田祐一，藤川英雄，市原強：日獣学誌，31巻（学会号）164 (1969).
- 11) YOUNGNER, J. S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 85, 202 (1945).

豚コレラ生ウイルスワクチンの野外実地応用時における抗体調査

清水敬一* 花本保博** 坂野康雄* 菅原 幸** 田所章臣** 藤村円二*

小山田洋志** 水島 範*** 田中 亮**** 相川国蔵***

(昭和 46 年 11 月 22 日受付)

An Antibody Survey for Field Application of Hog Cholera Live Vaccine

K. SHIMIZU, Y. HANAMOTO*, Y. SAKANO, K. SUGAWARA*, A. TADOKORO*, E. FUJIMURA,

H. OYAMADA*, H. MIZUSHIMA**, R. TANAKA*** and K. AIKAWA**

(Livestock Hygiene Service Centers, Prefecture of Kanagawa, Ken-o, *Shonan, **Naka, and ***Yokohama)

SUMMARY

An antibody survey was conducted on three groups of swine inoculated with one and two doses of hog cholera live vaccine and with inactivated and live vaccine, simultaneously, respectively. It revealed that the neutralizing antibody (NA) production after inoculation was affected considerably by the maternal antibody (MA) titer determined at the time of inoculation.

In the one-dose inoculation group, NA was produced to the utmost to persist when MA titer was lower than 1:4 at the time of inoculation, but did not increase in titer when MA titer was higher than 1:64.

In the two-dose inoculation group, NA titer increased to persist after inoculation with the second dose even when MA titer was 1:64 or higher. In the sim-

ultaneous inoculation group, composed of adult sows on breeding, the decrease in NA titer was very slow, remaining in the order of 1 to 3 tubes even 18 months after inoculation.

In piglets, MA titer was reduced to half in 8 to 11 days. It was presumed that the difference in MA titer among the piglets of the same litter might be in the order of 2 or 3 tubes.

These results indicate that it is desirable to perform the initial inoculation of live vaccine at the age of 60 to 65 days. It is necessary to carry out booster inoculation in piglets which are assumed to have a high MA titer.

* 神奈川県中央家畜保健衛生所（神奈川県厚木市旭町 4-3-1） ** 神奈川県湘南家畜保健衛生所（藤沢市鶴沼 砥上 2121-15） *** 神奈川県中央家畜保健衛生所（平塚市上吉沢 220） **** 神奈川県横浜家畜保健衛生所（横浜市港北区三保町）

豚コレラ生ウイルスワクチンが実用化されて，豚コレラの発生は全国的に激減した。このワクチンの野外応用試験については，すでに笹原ら^{1,2)}の報告があるが，われわれは市販のワクチンの野外実用例について一連の抗