ターになるものと考えられた。

今回の成績で MG の感染度合いが強いものほど無精率が高まり、受精率が低下すること、および死ごもり卵率が増加し孵化率が低下することは、CRAWLEY ら¹⁾ の報告と一致し、産卵低下後にこれらの現象が目立って現われる傾向は YODER ら⁵⁾ の成績と類似していた。

組み合わせ投与群の1および2区の対入卵孵化率の平均でみると、ほとんど差がなかった。しかし、1および2区の平均と間欠投与群の3区と比較すると5.6%の差となり、MG感染が産卵成績と併せて孵化成績にも大きな影響を与えることが判明し、あらためて種鶏における *Mycoplasma* の清浄化の重要性が示唆された。また、1および2区における産卵率等の生産性や孵化率は、この種鶏 (HN 系統) の標準性能とされているものとはほぼ同等で、この組み合わせ投与法は生体に対する悪影響はなく、きわめて安全性の高い投与法であると判断された。

組み合わせ投与法の使用薬剤濃度は、種鶏の飼育環境 (隔離状況、鶏舎および飼育管理等)、*Mycoplasma* の汚

染状況、ならびに経営上の経費面から考えねばならないが、日本の現状²⁾から判断すれば、OTC 250 ppm 飼料添加連続・DOTC 50 ppm 飲水 5 日間間欠組み合わせ投与法が有利で、清浄化およびその保持が可能であると判断された。

おわりにあたり、今回の成績の取りまとめにご指導、またご校閲をいただいた椿原彦吉博士ならびに日本獣医畜産大学の内田和夫教授に謝意を表します。

文 献

- 1) CRAWLEY, J. F. and FAHEY, J. E.: *Poult. Sci.*, 34, 707~716 (1955).
- 2) 原田良昭, 内田幸治, 平元清和: 日獣会誌, 37, 93~99 (1984).
- 3) 原田良昭, 内田幸治, 古谷徳次郎, ほか: 日獣会誌 38, 663~667 (1985).
- 4) 内田幸治, 古谷徳次郎, 高山公一, ほか: 鶏病研報, 19, 59~64 (1983).
- 5) YODER, H. W. and HOFSTAD, M. S.: *Avian Dis.*, 9, 291~301 (1965).

封入体鼻炎罹患豚からの豚ヘルペスウイルス2

(豚 サイトメガロウイルス) の分離

田口雅持*¹⁾ 松井強三*¹⁾ 藪木泰男*¹⁾ 清原博光*¹⁾ 両坂 隆*²⁾

田辺利信*³⁾ 阿諏訪次郎*⁴⁾ 吉野知男*⁵⁾ 清水実嗣*⁵⁾

(昭和 60 年 7 月 19 日受理)

Isolation of Porcine Cytomegalovirus from Pigs with Inclusion Body Rhinitis
MASAJI TAGUCHI (Abashiri Livestock Hygiene Service Center, Prefecture of Hokkaido,
Kitami, Hokkaido 090) et al.

SUMMARY

An upper respiratory disease characterized by the severe discharge of nasal secretions and sneezing broke out among piglets 6 to 25 days old on a pig farm in Kitami, Hokkaido. A total of 135 piglets of 14 litters were affected with it, and 4 of them died. The nasal cavities of the affected piglets were filled with a large amount of grayish and viscid secretions. Histopathologically, the epithelial cells of the tubuloalveolar glands were enlarged and necrotized. Large basophilic intranuclear inclusion bodies were present in them, suggesting that the disease was inclusion body rhinitis. Porcine cytomegaloviral antigens were demonstrated in the turbinate mucosa and alveolar macrophages of the affected piglets by fluorescent antibody staining. The virus was isolated from those cells by inoculating them into alveolar macrophage cultures obtained from healthy pigs. This is the first report on the isolation of porcine cytomegalovirus from piglets with inclusion body rhinitis in Japan.

*¹⁾ 北海道網走家畜保健衛生所 (北海道北見市新生町 54-2)

*²⁾ 北海道農務部畜産課 (札幌市中央区北 3 条西 6 丁目)

*³⁾ 北海道石狩家畜保健衛生所 (札幌市豊平区羊ヶ丘 3)

*⁴⁾ 北海道北見市農業共済組合 (北海道北見市北光 296-1)

*⁵⁾ 農林水産省家畜衛生試験場北海道支場 (北海道札幌市豊平区羊ヶ丘 4)

要 約

1984年5月, 北海道網走支庁北見市内の一養豚場で6~25日齢の哺乳豚14腹135頭にくしゃみを主徴とする疾病が発生した。

発病豚の鼻腔内には粘稠鼻汁が充満し, 病理組織学的に鼻腔内粘液腺上皮細胞の腫大と核内封入体の形成を認めた。電子顕微鏡観察では病変部にヘルペスウイルス様粒子の存在を認め, 封入体鼻炎と診断された。ウイルス学的検査では, 鼻粘膜および肺胞マクロファージより豚ヘルペスウイルス2 (豚サイトメガロウイルス) が分離された。

本報告はわが国で封入体鼻炎より豚サイトメガロウイルスが分離された最初の事例である。

豚の封入体鼻炎は豚ヘルペスウイルス2 (豚サイトメガロウイルス (porcine cytomegalovirus; PCMV)) の感染に起因する上部気道疾患で, 鼻粘膜粘液腺上皮細胞の腫大と核内封入体の形成を特徴とする¹⁾。本病の発生は1955年に Done²⁾ によっではじめて報告されたが, その後世界各国で発生のあることが明らかにされ, 原因ウイルスが分離されている¹⁾。わが国でも病理学的検査により本病の存在が報告されており^{3,6,7)}, とくに YOSHIKAWA^ら⁷⁾ および野間^ら⁶⁾ は電子顕微鏡観察により病変部組織にヘルペスウイルス様粒子を認めている。しかし, わが国では封入体鼻炎罹患豚からの PCMV の分離はいまだ報告されていない。今回著者らは, 臨床および病理組織学的検査で封入体鼻炎と診断された豚のウイルス学的検索を行い, PCMV を分離したのでその概要を報告する。

1. 材料および方法

1) 材 料

1984年5月14日から23日の期間に発病のみられた20~30日齢の哺乳豚9頭 (生体7頭, 死体2頭) を検査材料とし, このうち3頭についてウイルス学的検査を実施した。

2) 病 理 学 的 検 査

主要臓器および鼻部について剖検を実施した。主要臓器は常法により10%ホルマリン固定後, ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本作製した。鼻部は上顎骨と第1臼歯と犬歯の間で切断し, 蟻酸脱灰法で脱灰し, パラフィン包埋, 薄切, HE染色およびフォイルゲン反応を実施した。

3) ウィルス学的検査

発病豚3頭の鼻粘膜および肺胞マクロファージについて, ウィルス抗原の証明とウィルス分離を試みた。ウィルス抗原の証明は, 塗抹標本を冷アセトンで固定後, 抗 PCMV 蛍光標識抗体で染色して行った。使用した蛍光標識抗体は, 農林水産省家畜衛生試験場の川村 斉先生より分与を受けた。

PCMV の分離は鑑定豚の肺胞マクロファージを直接培養するとともに, 鼻粘膜および肺胞マクロファージ乳剤を健康豚由来培養マクロファージに接種して行った

(分離培養)。肺胞マクロファージの採取と培養は既報⁵⁾ に準じて行った。直接培養, 分離培養とも37℃で6~11日間培養後, 蛍光抗体染色およびHE染色を実施し, 特異蛍光, 核内封入体の有無をウィルス分離の指標とした。

PCMV 以外のウィルス分離は, 鼻粘膜, 肺胞マクロファージ乳剤および主要臓器乳剤を豚腎由来 PK-15 細胞, CPK 細胞に接種して実施した。

4) 血 清 学 的 検 査

発病豚4頭およびそれらの母豚血清について, PCMV とオーエスキー病ウィルスに対する抗体検査を実施した。PCMV に対する抗体の検出は中和試験と感染マクロファージを抗原とした間接蛍光抗体法で, オーエスキー病ウィルス抗体は固相酵素免疫測定法 (ELISA) で行った。

2. 成 績

1) 発 生 状 況

1984年4月23日分娩の1腹13頭の哺乳豚全頭に5月9日から, くしゃみ, 少量の鼻汁が認められ, 抗生剤の投与を行ったが好転せず, しだにくしゃみが頻回となり, 5月11日に1頭, 14日に2頭がへい死した。

2) 病 理 解 剖 所 見

主要病変は鼻部に限られていた。鼻腔内には粘稠な鼻汁が充満し, ほぼ完全に鼻腔を閉塞していた。鼻甲介骨や鼻腔周囲の頭蓋骨などには異常を認めなかった。

3) 病 理 組 織 所 見

(1) 鼻腔の病理組織所見: 鼻腔内は脱落上皮, 細胞崩壊物質, 好中球, 線維素などの滲出物や細菌の集塊で満たされ, 一部有柄性にそれらと粘膜が癒着する部位もあった。

粘膜上皮細胞は線毛を欠き, 変性脱落, 重層扁平化, 立方化あるいは空隙形成が著明であった。その間に好中球の浸潤がみられた。

粘膜固有層は血管新生と水腫を伴う好中球, 組織球, 線維芽細胞を混じえた円形細胞の浸潤が著明であった。

分布する鼻腺は変性・壊死に陥っていたが, 残存する鼻腺上皮は顕著に腫大していた。また, 核, 細胞質とも

A: 鼻腺上皮核内封入体の拡大像: 明瞭なハローを示す (×800)

B: 鼻腺上皮核内封入体の電顕像: 成熟過程の未熟ヘルペスウイルス様粒子を示す (×12,500)

写真1 粘膜における好中球を混えた円形細胞浸潤と鼻腺上皮核内封入体を示す (×400)

5~10 倍に腫大し、核内に種々の形態を示す封入体を認めた。腺腔内には好中球、リンパ球、細胞崩壊物質などが貯留していた (写真1)。

これら封入体は円形、卵円形、紡錘形、不整形を示し、均質または不均質に弱塩基性あるいは強い塩基性を呈した。封入体と核壁との間にハローがみられ、小空胞顆粒状物質のみられる部位もあった (写真1)。このような封入体はフォイルゲン反応陽性であった。この部に一致するパラフィンブロックを脱パラフィン後、電顕的に処理して観察すると、核内封入体は約 120 nm のヘルペス様ウイルス粒子で構成されていた。このウイルス粒子には円形あるいは、勾球状の殻を認めた (写真1)。

鼻甲介骨に著明な変化は認められなかった。

(2) 鼻腔以外の諸臓器の病理組織所見: 肝臓および脾臓ではマクロファージの増数およびリンパ組織の過形成

がみられた。腎臓では間質に軽度のリンパ球、形質細胞の浸潤が認められた。また、一部の症例では腫大した尿細管上皮にも核内封入体が観察された。

4) ウイルス学的検査

PCMV の検査結果を表2に要約した。塗抹標本の蛍光抗体染色では、2頭中2頭の肺胞マクロファージ、1頭の鼻粘膜細胞に特異蛍光が認められた。発病豚の肺胞マクロファージの直接培養では、全例が特異蛍光陽性であった。特異蛍光は核膜周囲に強く認められるほか、核内に顆粒状あるいは瀰漫性に観察される例があった (写真2)。HE染色標本では感染細胞の腫大が認められ、核内には好塩基性の封入体が観察された。病豚の鼻粘膜および肺胞マクロファージ乳剤を健康豚由来培養肺胞マクロファージに接種 (分離培養) すると、全例に特異蛍光

表2 PCMV の分離結果

豚舎	発 生 月 日								計
	5/9	/15	/18	/19	/20	/21	/22	/24	
1号舎	13* (1)	14 (1)	12 (1)	11 (1)			9 (1)	10 (1)	69 (6)
3号舎			11 (1)		6 (1)	11 (1)		38 (5)	66 (8)
計	13 (1)	14 (1)	23 (2)	11 (1)	6 (1)	11 (1)	9 (1)	48 (6)	135 (14)

注) ()内は腹数 * : へい死4頭

豚番号	検 査 材 料	塗抹異 標蛍 本光	直接培養		分離培養	
			特異 蛍光	核内 封入体	特異 蛍光	核内 封入体
6	鼻 粘 膜	•	•	•	•	•
	肺胞マクロファージ	+	+	+	•	•
7	鼻 粘 膜	+	•	•	+	+
	肺胞マクロファージ	+	+	+	+	+
8	鼻 粘 膜	—	•	•	•	•
	肺胞マクロファージ	•	+	+	+	+

注) • : 未検査

A: 核辺縁部の顆粒状蛍光

B: 核辺縁部の環状蛍光と核全域の微細顆粒状蛍光

写真2 肺泡マクロファージ塗抹標本に認められた核内特異蛍光

と核内封入体が認められた。接種後出現する感染細胞数を指標として、分離ウイルスの性状を調べた。その結果、分離ウイルスはクロロホルム処理で不活化され、孔径 200 nm のフィルターで濾過すると感染価が約 1/200 に低下した。

病豚の主要臓器乳剤を PK-15 および CPK 細胞に接種したが、CPE を起こすウイルスは分離されなかった。

5) 血清学的検査

病豚および母豚血清の全例から PCMV 抗体が検出されたが、オーエスキー病ウイルス抗体は陰性であった。

3. 考 察

豚封入体鼻炎の原因である PCMV はヘルペスウイルス科に属するウイルスで、世界的に分布するものと考えられている。イギリスにおける調査では 90% 以上の豚群が汚染されていると報告されている¹⁾。そのほかの欧米諸国にも広範に分布し、封入体鼻炎あるいは全身感染を起こした子豚から PCMV が分離されている¹⁾。わが国の豚の間にも PCMV の広範な感染のあることが血清疫学的に示唆されているが(川村, 私信), 封入体鼻炎の発生は病理学的観察を主とした KONNO ら²⁾, YOSHIKAWA ら³⁾, 野間ら⁴⁾の報告をみるにすぎない。しかも, YOSHIKAWA ら³⁾, 野間ら⁴⁾は電子顕微鏡観察により病変部にヘルペスウイルス様粒子を認めているが, ウイルス分離を実施しておらず, わが国で発生した封入体鼻炎から PCMV が分離された例はない。

今回, 鼻炎を主徴とする子豚の疾病の病性鑑定を実施したところ, 臨床および病理学的に封入体鼻炎と診断され, 鼻粘膜および肺泡マクロファージより, 肺泡マクロファージに核内封入体を形成するウイルスが分離された。分離ウイルスはクロロホルム感受性, 大きさは濾過試験の結果 200 nm 前後と推定され, PCMV 蛍光抗体と反応した。以上の成績から分離ウイルスは PCMV と考えられた。

豚の鼻炎では鼻甲骨骨の変形萎縮を伴う萎縮性鼻炎が知られている。今回の病例では, 細菌検査で萎縮性鼻炎の原因と考えられる *B. bronchiseptica* や *P. multocida* は検出されず, また病理学的に鼻甲骨骨の異常も認められなかった。したがって, 今回発生した鼻炎は PCMV の感染を主因とする封入体鼻炎と診断されよう。

重症の子豚では, 腎臓および心筋に点状出血が認められるとの報告がある¹⁾。今回の例でも一部の豚に腎臓の点状出血が認められ, 組織学的検索で尿管上皮に核内封入体が観察された。また, 血液の生化学的検査では, 血清無機リンおよび BUN の高値を指摘される症例もあり, 本病の重症例では腎障害を伴うことが示唆された。

PCMV の病原性は一般に弱く, 飼養条件や環境条件が悪化した時に若齢豚の全身感染あるいは封入体鼻炎を起こすといわれる¹⁾。しかも, 集団発生よりも散発的に発生することが多い。今回の発生でも, 病性は比較的軽度で死亡した豚は4頭にすぎず, 一時的に体重の低下した豚も認められたが, ほとんどの豚は約2週間の経過で回復した。しかし, 今回の発生で注目されることは, 短期間に14腹135頭の子豚が集団的に発生したことである。本症例の発生誘因は不明であるが, 種々のストレスの増加により今回のように被害の増大することも考えられる。養豚の多頭化が進む中で本病は今後注目すべき豚病のひとつといえよう。

PCMV 蛍光抗体を分与していただいた, 農林水産省家畜衛生試験場研究第2部ウイルス第2研究室の川村 斉博士に深謝致します。

文 献

- 1) EDINGTON, N.: *Porcine Cytomegalovirus Infection*. In *Diseases of Swine*, 5th ed., LEMAN, A. D., et al., eds., 271~277, The Iowa University Press, Ames, Iowa (1981).
- 2) DONE, J. T.: *Vet. Rec.*, 67, 525~527 (1955).
- 3) KONNO, S., FUJIWARA, H. and KOMEDA, T.: *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.)* 12, 89~94 (1972).
- 4) MOHANTY, S. B. and DUTTA, S. K.: *Veterinary Virology*, Lea and Febiger, Philadelphia (1981) [獣医ウイルス学, 小西信一郎監訳, 文永堂, 東京 (1982)].
- 5) NAKAMURA, S., SASAHARA, J., SHIMIZU, M., et al.:

- Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.)* 23, 101~102 (1983).
 6) 野間 進, 柴谷増博, 溝内高充, ほか: 日獣会誌, 37, 165~168 (1984).
 7) YOSHIKAWA, T. and HANADA, T.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 39, 47~58 (1977).

子牛のクリプトスポリジウム感染症

文献展望と日本初発例

板倉智敏^{*1)} 藤原三男^{*2)} 大内紀章^{*2)} 高山介作^{*2)} 小沢清一郎^{*2)}

荒木光治^{*3)} 御領政信^{*1)} 梅村孝司^{*1)}

(昭和 60 年 7 月 19 日受理)

Cryptosporidiosis in Calves—A Literature Review and First Incidence in Japan
 CHITOSHI ITAKURA (Faculty of Agriculture, Tottori University, Koyama, Tottori 680) et al.

SUMMARY

A review of literature revealed that *Cryptosporidium* was one of the causes of calf diarrhes in many countries. This condition occurred in calves on a farm. The animals involved were mostly around 3 weeks of age and showed diarrhea with cryptosporidia, which were demonstrated on the epithelial surface of the mucous membrane of the small intestine.

要 約

子牛のクリプトスポリジウムに関する文献を展望し、本原虫が諸外国において、子牛下痢の一要因として問題視されつつあることを知った。著者らは、一農場の子牛に本原虫感染症を認めたので、その臨床的、疫学的、病理学的、原因学的所見を報告した。感染は3週齢前後に生じ、下痢を主徴とし、虫体は下痢便中と小腸粘膜上皮表面に認められた。

クリプトスポリジウム (CR) は孢子虫綱に属する小型の原虫である。本原虫は哺乳動物では腸粘膜上皮細胞の微絨毛のみに寄生し、ここでコクシジウムに酷似した生活環を営む。本原虫は子牛に感染した時重度な下痢を起こし、多くの国々で問題になっている。わが国における CR 感染は、猫 (1979)¹⁴⁾、鶏 (1984)¹⁵⁾、モルモット (1984)²⁷⁾で認められている。

筆者らは国内の子牛に初めて CR 感染を認めた。そこで、最初に牛の CR 感染について簡単な文献展望を行い、次いで自家検索例の概要を述べ、国内の CR 感染の認識に資したい。

1. 牛の CR に関する文献展望

牛の CR 感染は 1971 年、アメリカで黒色ないし緑色

の水様性下痢を示した8ヵ月齢の牛1頭の腸の組織切片に確認されたのが最初である³²⁾。その後、本原虫感染は表1のように世界各地で認められるようになった。

感染は3~4日齢^{18,34)}から3~4週齢の子牛にみられ、まれな例として100日齢⁹⁾、8ヵ月齢³²⁾がある。罹患牛は臨床的には下痢を示し、それは水様性かつ多量であったり^{31,45)}、黄色クリーム様¹⁸⁾あるいはオレンジ色、または灰白色⁵²⁾であったりする。このような下痢は10日²⁴⁾またはそれ以上⁴⁵⁾にわたって持続し、大部分はゆっくり回復に向かう。糞便中への CR オーシスト排泄期間は3~13日^{1,48)}(平均7~8日)⁴⁸⁾と記録されている。下痢以外の症状としては、食欲減退、元気消失、脱水^{24,47,52)}が伴われる。一子牛群に CR 感染が生じた時、感染率は高いが、CR 単独感染による死亡率は低い。しかし、後述のように、混合感染があればその程度によって死亡率は上昇する。また、CR 罹患子牛は発育期に下痢を示すため、発育遅延が生じ、これによる経済的損耗が問題視されて

*1) 鳥取大学農学部 (鳥取市湖山町南4-101)

*2) 岡山県家畜病性鑑定所 (岡山市西辛川1003)

*3) 岡山県井笠家畜保健衛生所 (岡山県小田郡矢掛町)