### 原 著

## 採卵鶏における伝染性喉頭気管炎ウイルスと Pasteurella multocida 感染による顔面腫脹

飯田直樹3) 久保正法2)

1) 千葉県中央家畜保健衛生所 (〒285-0072 佐倉市岩富町497)

- 2) 独農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 (〒305-0856 つくば市観音台 3-1-5)
- 3) 千葉県東部家畜保健衛生所 (〒283-0064 東金市川場1105-3)

(2010年9月24日受付·2010年11月18日受理)

### 要約

千葉県の採卵鶏農場の一鶏舎において、伝染性喉頭気管炎(ILT)の弱毒生ワクチンを接種した群と未接種群が背中合わせのケージで飼養されていた。2009年1月、未接種群のみが流涙、顔面腫脹、産卵低下等を示し、6羽が病性鑑定に供された。剖検では、眼窩下洞や鼻腔にチーズ様物の貯留と鼻粘膜の肥厚がみられた。病理組織学的に、眼窩下洞や鼻腔にグラム陰性小桿菌を含む線維素性化膿性滲出物の貯留と核内封入体と合胞体形成が認められた。病原検索では眼窩スワブから Pasteurella multocida(P. multocida)莢膜抗原 A型と ILT ウイルスが分離された。この ILT ウイルス株は発育鶏卵の漿尿膜に境界不明瞭な小型のポックを形成し、RFLPパターンおよび ICP4 領域の塩基配列が接種群のワクチン株と一致していた。なお、当該農場では過去30年間に ILT の発生がなく、接種群は産卵ピークの状態であった。以上のことから、接種群が産卵ストレスにより排泄した ILT ワクチン株が、未接種群に水平伝播し、さらに P. multocida の混合感染により症状が顕在化したと考えられた。

――キーワード:顔面腫脹、伝染性喉頭気管炎ウイルス、Pasteurella multocida、水平伝播、ワクチン、

伝染性喉頭気管炎 (ILT) は、ヘルペスウイルス科 ILT ウイルスの感染による鶏の急性呼吸器感染症である [1]. ILT は1970年代に全国的に発生し、大きな被害をもたらした。しかし、1981年に、より安全性の高いILT 弱毒生ワクチンが実用化され、ILT ワクチンと衛生管理を中心にした防疫対策で、発生件数が急速に減少した。近年、発生件数は少ない状態で推移しているものの、九州ではやや増加傾向にあり、その原因にはワクチン接種率の低下が指摘されている [2].

ILT ワクチンは生ワクチンのため、ワクチンウイルスが潜伏感染し、ストレス等でウイルスを排泄することがある[3].米国では、ワクチンウイルスによる発病や同居感染が報告されている[4,5].日本での発症および感染事例報告は見あたらないが、弱毒生ワクチンが使用されていることから、同様の事例が起こる可能性が指摘さ

れていた [2].

今回、千葉県内の採卵鶏農場で、顔面腫脹と産卵低下を呈した事例が発生し、弱毒のILTウイルスと*P. multocida* が分離された。発生概要と、分離されたILTウイルスの性状について報告する。

### 材料および方法

発生農場の概要:農場は6鶏舎で構成され、複数の育雛場から大雛導入(120日齢)された、合計28,000羽がケージ飼育されていた。飲用水は全鶏舎同一の井戸水で、水受け桶が付いたニップル式給水器を使用し、水は鶏舎奥から出入口に向かって流れていた。

発生は1鶏舎のみにみられ、その鶏舎では導入元が異なる4群が飼養されていた(図1、表1). そのうち発症したのは、育雛場でILTワクチン未接種の2群(鶏群1、

<sup>†</sup> 連絡責任者:関口真樹(千葉県中央家畜保健衛生所)



図1 鶏群配置図.鶏群1と鶏群2が発症

表1 病性鑑定時における鶏群の詳細

鶏群	日齢	品 種	羽数	ILTワクチン (接種日齢)
1	174	ボリスブラウン	1,200	未接種
2	194	ボリスブラウン	1,000	未接種
3	219	ジュリア	2,200	a 株(60日齢)
4	583	マリア	2,000	b 株(60日齢)

鶏群2)で、出入口に近いケージ列で飼養されていた.この鶏群の背中合わせのケージ列には、育雛場でILTワクチンa株を60日齢で点眼接種された鶏群3が飼育されており、当時産卵ピークを迎えていた.一番奥のケージ列では、育雛場でILTワクチンb株を60日齢で点眼接種された鶏群4が飼養されていた.発生鶏舎だけは給水器が旧式で、水が滴下しやすく、鶏はニップルよりも水受け桶に溜まった水を飲む傾向があった.

材料:鶏群2の194日齢のボリスブラウン種,重症例 4羽 (No.  $1 \sim 4$ ),軽症例2羽 (No. 5, 6)を鑑定殺し,検査に用いた.

病理学的検査: 頭部は5%蟻酸加5%ホルマリンで固定し、その他の組織は20%中性緩衝ホルマリンで固定した. 常法に従いパラフィン包埋切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を行った. また頭部組織ではグラム染色を行った. また、頭部組織では一次抗体に抗ILTウイルス家兎血清(宮崎家畜保健衛生所)および抗 P. multocida 莢膜抗原 A型(203株)と D型(205株)家兎血清(独動物衛生研究所)を用い、ヒストファイン SAB-PO キット(ニチレイ㈱、東京)で免疫組織化学的染色を行った.

ウイルス学的検査:ILT ウイルス検査として、眼窩スワブを発育鶏卵の尿膜腔内および漿尿膜上に接種し、漿尿膜のポック形成の有無を確認した。さらに尿膜腔液お



図2 顔面の肉眼像、眼窩が著しく腫脹し、眼瞼が閉鎖している、肉垂が腫脹している(No.2).

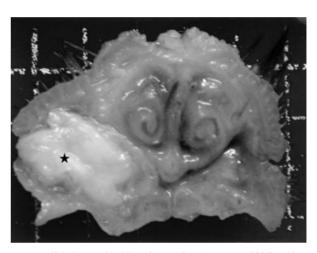


図3 前額部での割面像. 左側眼窩下洞にチーズ様物が貯留している(星印). 鼻粘膜の肥厚がみられる(No.2).

よび眼窩スワブから QuickGene SP kit DNA tissue (富士フイルム㈱, 東京) でDNAを抽出後、PCR法によりILTウイルス遺伝子の検出を行った [6]. ウイルスの由来を分析する目的で、分離株および市販の生ワクチン株 (a 株,b 株,c 株)を用いて、PCR-RFLP法とシークエンスを行った。上記と同様にDNAを抽出し、gC、gX、TK、TK II、ICP4の各領域をPCR法で増幅し、それぞれMsp I、Hae II、Hha I の制限酵素で37  $\mathbb C$  60 分間消化後、電気泳動し、切断断片のサイズをワクチン株と比較した [7]. 塩基配列の解析は、ICP4領域(181~869 塩基、3804~4440 塩基)で行った[8].

インフルエンザウイルスは,発育鶏卵を用いた気管スワブからのウイルス分離検査と寒天ゲル内沈降反応による血清抗体の有無を検査した.

細菌学的検査:一般細菌検査として,眼窩下洞スワブ, 気管スワブ,肺,肝臓,脾臓,腎臓,心臓および脳を 5%馬血液加トリプトソイ寒天培地,5%馬血液加チョ

コレート寒天培地 (馬脱線血、㈱日本生物材料センタ ー, 東京. トリプトソイ, 栄研化学(株), 栃木) および DHL 寒天培地 (栄研化学㈱, 栃木) に直接塗沫し、 37 ℃で約10 時間培養した. 分離菌はID テスト・HN-ラピッド(日水製薬(株)、東京)で同定した。分離された P. multocida の莢膜抗原型別はヒアルロニダーゼ試験,

表2 供試鶏の臨床および解剖所見

個体番号		重症	軽症例			
四件田力	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
体重(kg)	1.6	1.6	1.7	1.1	1.3	1.9
臨床所見						
頬部腫脹	+++	+++	+++	++	+	+
眼瞼閉鎖	+++	+++	+++	+++	+	-
眼窩腫脹	+++	+++	++	_	_	_
流 涙	+++	+++	++	_	_	+
肉垂腫脹	+++	+++	_	_	_	_
解剖所見						
鼻粘膜肥厚	+	++	+++	+	+++	++
鼻腔貯留物	++	_	_	+++	_	_
眼窩下洞貯留物	+++	+++	+++	+	_	_

+++: 重度, ++: 中等度, +: 軽度, -: 病変なし

アクリフラビン試験およびPCR法「9」で決定した. マイコプラズマは、常法に従い培養し、PCR法で特 異遺伝子の検出を行った「10.11].

発生の概要: 2009年1月10日, 表1に示した日齢時 に鶏群1と鶏群2の境界付近の鶏が元気消失、くしゃみ、 流涙, 顔面腫脹を呈した. その後, 周囲の鶏に拡大する とともに、症状の重篤化、産卵率の低下(約90%から 約70%に低下),死亡率の増加(5日間で約50羽)がみ られた. 1月14日、鶏群1と鶏群2の発症率は約30% で、給水器下流にあたる鶏群2の症状が重篤だったた め,鶏群2の6羽(重症例4羽,軽症例2羽)を病性鑑 定に供した. 鶏群3と鶏群4に異常はみられなかった.

なお, 病性鑑定時, 飲用水による感染拡大が疑われた ため、水受け桶を掃除したところ、発症率は激減した.

臨床および解剖所見:外貌(図2)では頬部腫脹(重 症例4羽/4羽,軽症例2羽/2羽,以下同じ),眼瞼閉鎖 (4/4, 1/2), 眼窩腫脹 (3/4, 0/2), 流淚 (3/4, 1/2) および肉垂腫脹 (2/4, 0/2) がみられた.

前額部横断面(図3)では、鼻粘膜が肥厚し(4/4,

気管支

気 管 眼窩 鼻甲介 吸頭 結膜

			和厌	界中介	下洞	吹頭	上部	下部	一次	二次
		非化膿性炎 <sup>a)</sup>	+++	++	++	+++	++	_	_	_
	N. 1	封入体形成	_	+	_	+	_	_	_	_
	No. 1	化 膿 性 炎	_	+++	+++	++	_	_	_	_
_		肉 芽 腫 <sup>b)</sup>	+++	_	_	-	_	_	_	_
		非化膿性炎 <sup>a)</sup>	+++	+++	+++	+++	++	+	+	_
	No. 2	封入体形成	+	+++	+	+++	++	_	_	_
重	NO. Z	化 膿 性 炎	_	+	+++	++	+	_	_	_
- 症 -		肉 芽 腫 <sup>b)</sup>	+++	_	_	-	_	_	_	_
		非化膿性炎 <sup>a)</sup>	+++		+++	+++	++	+	_	_
例	No. 3	封入体形成	+++	+++	+	++	+	_	_	_
	NO. 5	化 膿 性 炎	_	++	+++	_	_	_	_	_
		肉 芽 腫	++	-	_	-	_	_	=	_
		非化膿性炎 <sup>a)</sup>	++	+++	++	+	+	++	++	+
	No. 4	封入体形成	_	+	+	_	_	_	_	_
	10. 4	化 膿 性 炎	-	+++	_	+++	++	+	++	_
		肉 芽 腫	++	_	_	_	_	_	_	_
		非化膿性炎 <sup>a)</sup>	+++	+++	+++	+++	NT	_	_	_
	No E	封入体形成	+	++	+	_	NT	_	_	_
軽	No. 5	化 膿 性 炎	_	++	++	++	NT	_	_	_
		肉 芽 腫	-	-	_	-	NT	_	_	_
		非化膿性炎 <sup>a)</sup>	+++	++	+++	+	+++	_	+	+
例	No. 6	封入体形成	_	_	_	_	_	_	_	_
	No. 6	化膿性炎	_	_	_	_	_	_	_	_
		肉 荘 牐	++	_	_	_	_	_	_	_

表 3 供試鶏の病理組織学的変化

+++: 重度、++: 中等度、+: 軽度、-: 病変なし、NT: 未実施

a) 粘膜固有層の単核細胞浸潤と上皮細胞の増生 b) 肉垂にも肉芽腫 ++

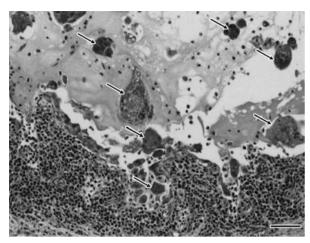


図4 鼻粘膜の病理組織像. 粘膜固有層に高度の単核細胞 浸潤がみられる. 鼻腔にはカタル性滲出物が貯留し, 合胞体 (矢印) が脱落している (No. 2. HE 染色 Bar = 50μm).

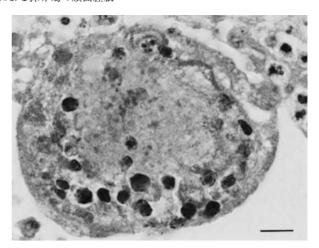


図6 鼻粘膜の免疫組織化学染色像. 合胞体の細胞質は抗 ILTウイルス家兎血清に陽性反応を示している. (No. 2. 免疫組織化学 Bar = 10 μm)

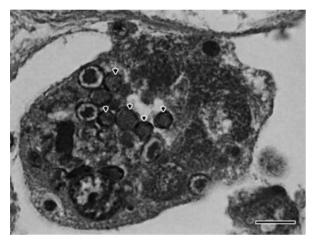


図5 鼻粘膜の病理組織像. 合胞体の核内にはハローの明瞭な好酸性封入体や, 両染性封入体 (矢頭) がみられる. (No. 2. HE 染色  $Bar=10\,\mu m$ )

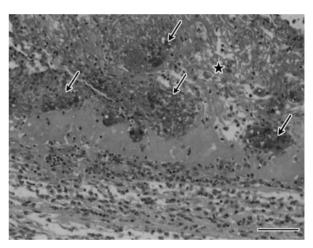


図7 左側眼窩下洞の病理組織像. 眼窩下洞(星印)には、 化膿性線維素性滲出物が貯留している. 上皮細胞は合 胞体(矢印)を形成して脱落している. 頭部皮下組織 では、高度の水腫とマクロファージ浸潤がみられる. (No. 2. HE 染色 Bar = 50 μm)

2/2),滲出物が貯留していた.鼻腔と眼窩下洞にはチーズ様物が貯留していた(4/4, 0/2)(表 2).その他の臓器に著変はみられなかった.

病理組織学的所見:おもな病変は上部気道における ILT病変と化膿性病変であった(表3).

ILT病変は、おもに鼻甲介から気管上部にかけて認められ、粘膜固有層の単核細胞浸潤(4/4、2/2)や粘膜上皮の増生(4/4、2/2)がみられた.化膿性炎がみられる部位では、ILTに特徴的な合胞体の形成(4/4、0/2)も認めた(図4).合胞体や増生した上皮細胞の核内には両染性封入体やハローの明瞭なCowdry A型の好酸性封入体が認められた(図5).これらの細胞の細胞質は抗ILTウイルスに対して陽性反応がみられた(図6).

また,鼻甲介から喉頭にかけて線維素性化膿性炎 (4/4, 1/2) がみられた. 眼窩下洞や鼻腔には炎症産物 の貯留 (4/4, 0/2) がみられた (図7). 頬部および眼瞼部皮下組織 (4/4, 1/2) と肉垂 (2/4, 0/2) では炎症性水腫と肉芽腫がみられた. これらの病変部にはグラム陰性小桿菌が多数認められ,抗 P. multocida 莢膜抗原 A型にのみ陽性反応を示した (図8).

ウイルス学的検査: ILT ウイルスは分離 (4/4, 0/2) および特異遺伝子 (3/4, 0/2) の検出で確認された (表4). 分離された ILT ウイルスは発育鶏卵の漿尿膜に 直径 $1\sim2$ mm の境界不明瞭で小型のポックを形成した. PCR-RFLP 法では、今回検索したすべての領域の RFLP パターンがワクチンa 株と一致し、ワクチンb 株

材料	病原体	方法 -		重症例					軽症例	
			No. 1	No. 2	No. 3	No. 4		No. 5	No. 6	
	P. multocida	分 離	+++	+++	+++	+++		_	_	
眼窩スワブ	ILTウイルス	分 離	+	+	+	+		_	_	
		PCR	+	+	+	_		_	_	
気管スワブ	P. multocida	分 離	-	-	++	+++		_	-	

+++:多量, ++: 中等量, +: 少量 (ウイルスの場合は陽性), -: 陰性

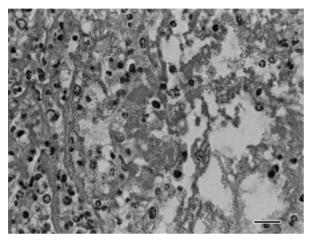


図8 左側眼窩下洞の免疫組織化学染色像. 細菌は抗*P. multocida* 莢膜抗原A型家兎血清に陽性反応を示している. (No. 2. 免疫組織化学 Bar = 10 μm)

およびワクチン c 株とは一致しなかった (表5). また、分離株のICP4 領域はワクチン a 株と 100 %、ワクチン b 株と 99.4 %、ワクチン c 株と 99.2 %の塩基相同性を示した

鳥インフルエンザウイルスは分離されず、抗体も陰性であった (表4).

細菌学的検査: P. multocida が眼窩スワブ (4/4, 0/2) から多量に、気管スワブ (2/4, 0/2) から中等量あるいは多量に分離され、No.4 の肺からも少量が分離された. P. multocida の莢膜抗原はA型であった。その他に有意な細菌とマイコプラズマは分離されなかった(表4).

### 老 察

本事例は、ILTワクチン未接種群の上部気道にILTウイルスと P. multocida の混合感染が起こり、顔面腫脹と産卵低下が誘発された症例と考えられた。分離されたILTウイルスは、発育鶏卵の漿尿膜上に小型で境界不明瞭なポックを形成する弱毒株で、そのRFLPパターンと塩基配列は、隣接するケージで飼育されていた鶏群3に接種されたワクチンa株のものと一致した。ワクチンa株が接種された鶏群3と、発症鶏群の鶏群2はともに産卵ピークにあり、抵抗力が低下した状態だったと推察さ

表5 分離株とワクチン株のILTウイルスのRFLPパターン

	遺伝子の増幅部位とその消化に用いた制限酵素								
ウイルス	gX	TK		TI	ΚII	ICP4			
	$\overline{\textit{Hae} \mathbb{II}}$	Msp I	Hae II	Msp I	Hae III	Hae III	Hha I		
分離 株	A	A	A	A	A	A	A		
ワクチンa株	A	A	A	A	A	A	A		
ワクチンb株	В	В	В	В	В	В	В		
ワクチンc株	В	В	В	В	В	A	A		

※A, Bはそれぞれ異なるRFLPパターンを示す

れた.また、発症鶏群が鶏群3と背中合わせのケージで飼育されていたことがILTウイルスの水平伝播を容易にしたと考えられた.この農場およびその周辺では、過去30年間にILTの発生はなく、育雛場での発生報告もない.以上のことから、弱毒の野外ウイルスによる発生の可能性を否定できないものの、鶏群3に接種されたILTワクチンa株が産卵ストレスによって排泄され、隣接するケージで飼育されていたワクチン未接種鶏に伝播し、発症したと考えられた.

ILT の対策は、衛生管理の徹底によるウイルスの侵入 防止と, ワクチンによる発症防止の併用が基本となって いる. ILT ワクチンには、鶏胚馴化ワクチンと細胞馴化 ワクチンがある. 鶏胚馴化ワクチンは防御効果が高い が,毒性を有し,軽度の起病性を有している.いっぽ う,細胞馴化ワクチンは,効果はやや低いが,弱毒化が 進んだ安全なワクチンであり、現在国内での市販品はす べてこのワクチンである.しかし、細胞馴化ワクチン接 種鶏群において、時にウイルスの再排泄と水平感染が起 こることが知られている [2, 12]. 欧米では, 野外発生 例から細胞馴化ワクチンが分離される例が近年多く報告 されており[13]、細胞馴化ワクチンでも、ワクチン歴 を把握した鶏群の管理が求められる [12]. 複数の育雛 場から大雛を導入する場合, ワクチン接種群と未接種群 を同一鶏舎で飼育しない、またはすべてワクチン接種群 とするなどの対策が求められる.

ILT ワクチン株や弱毒株に感染した鶏の症状は軽度の 気管炎と結膜炎である [5,14]. また,組織学的病変は 結膜と気管に認められ,軽度の非化膿性炎を形成する が,ILT に特徴的な合胞体と封入体形成は多くないと報 告されている [4, 5, 14, 15]. しかし,本事例では,化 膿性病変が形成されていた部位に,合胞体と封入体形成が認められた.さらに,化膿性病変が強いほど,封入体形成が多く見られる傾向があった.これらのことから,ILTウイルス感染後に P. multocida が感染したと推測され,ILT 弱毒株の単独感染による発症事例に比べて症状および病変が重篤化したと考えられた.

P. multocida は水を介して、咽頭、口腔粘膜、上部気道から感染する場合が多い [16-18]. 本事例の化膿性病変は鼻腔や眼窩下洞が最も強かったこと、発症鶏群は2群とも同じ飲用水を給与されていたこと、飲用水下流の鶏の症状が重篤だったことから飲用水を介してP. multocida の感染が拡大したと考えられた. 鶏のP. multocida 感染症の中には、急性敗血症と高死亡率を特徴とする家禽コレラがあり、莢膜抗原はA型の場合が多い [19]. いっぽう、インドで行われた家禽の莢膜抗原調査では、A型は86%を占め、最も多く分離されている [20]. 本事例の莢膜抗原はA型だったが、全身臓器に敗血症を疑う病変は認められず、病原性の弱いP. multocida による局所増殖と考えられた.

本事例は、ワクチン株由来のILTウイルスと*P. multocida* の混合感染により、著しい顔面腫脹を示した事例であった。ILTワクチンの特徴を理解し、接種鶏の取り扱いに注意を払うことが肝要である。

稿を終えるにあたり、全般にわたりご指導をいただいた)動物衛生研究所塚本健司上席研究員、ILT ウイルス抗血清を分与いただいた宮崎家畜保健衛生所の齊藤幸恵技師、堀内早苗技師、片山貴志技師、ご助言を下さったザンピア大学の KABALI Emmanuel 先生、明治大学の佐々木羊介先生、山形県中央家畜保健衛生所の高野儀之技師に深謝する.

### 引 用 文 献

- [1] Guy JS, Garcia M: Laryngotracheitis, Disease of Poultry, Salf YM, 12th ed, 137–152, Blackwell Publ, USA (2008)
- [2] 井土俊郎: 伝染性喉頭気管炎とその予防対策における問題点, 鶏病研報, 45, 65-72 (2009)
- [3] Hughes CS, Gaskell RM, Jones RC, Bradbury JM, Jordan FT: Effects of certain stress factors on the reexcretion of infectious laryngotracheitis virus from latently infected carrier birds, Res Vet Sci, 46, 274–276 (1989)
- [4] Sellers HS, García M, Glisson JR, Brown TP, Sander JS, Guy JS: Mild infectious laryngotracheitis in broilers in the southeast, Avian Dis, 48, 430–436 (2004)
- [5] Rodríguez-Avila A, Oldoni I, Riblet SM, Garcia M: Replication and transmission of live attenuated infectious laryngotracheitis virus (ILTV) vaccines, Avian Dis, 51, 905-911 (2007)
- [6] Alexander HS, Nagy E: Polymerase chain reaction to detect infectious laryngotracheitis virus in conjunctival swabs from experimentally infected chickens,

- Avian Dis, 41, 646-653 (1997)
- [7] Chang PC, Lee YL, Shien JH, Shieh HK: Rapid differentiation of vaccine strains and field isolates of ingectious laryngotracheitis virus by restriction fragment length polymorphism of PCR prodacts, J Virol Methods, 66, 179-186 (1997)
- [8] Chacón JL, Ferreira AJ: Differentiation of field isolates and vaccine strains of infectious laryngotracheitis virus by DNA sequencing, Vaccine, 27, 6731-6738 (2009)
- [9] Townsend KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B: Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system, J Clin Microbiol, 39, 924–929 (2001)
- [10] Kiss I, Matiz K, Kaszanyitzky E, Chávez Y, Johansson KE: Detection and identification of avian mycoplasmas by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism assay, Vet Microbiol, 58, 23–30 (1997)
- [11] Lauerman LH, Hoerr FJ, Sharpton AR, Shah SM, Santen VL: Development and application of a polymerase chain reaction assay for *Mycoplasma synoviae*, Avian Dis, 37, 829-834 (1993)
- [12] Rodríguez-Avila A, Oldoni I, Riblet S, Garcia M: Evaluation of the protection elicited by direct and indirect exposure to live attenuated infectious laryngotracheitis virus vaccines against a recent challenge strain from the United States, Avian Pathol, 37, 287–292 (2008)
- [13] Naff C, Sudler C, Hoop RK: Characterization of Western European field isolates and vaccine strains of avian infectious laryngotracheitis virus by restriction fragment length polymorphism and sequence analysis, Avian Dis, 52, 278–283 (2008)
- [14] Linares JA, Bickford AA, Cooper GL, Charlton BR, Woolcock PR: An outbreak of infectious laryngotracheitis in California broilers, Avian Dis, 38, 188-192 (1994)
- [15] Oldoni I, Rodríguez-Avila A, Riblet SM, Zavala G, Garcia M: Pathogenicity and growth characteristics of selected infectious laryngotracheitis virus strains from the United States, Avian Pathol, 38, 47–53 (2009)
- [16] Arsov R: The portal of infection in fowl cholera, Nauchni Tr Vissh Vet Med Inst, 14, 13-17 (1965)
- [17] Backstrand JM, Botzler RG: Survival of *Pasteurella multocida* in soil and water in an area where avian cholera is enzootic, J Wildl Dis, 22, 257–259 (1986)
- [18] Bredy JP, Botzler RG: The effects of six environmental variables on *Pasteurella multocida* populations in water, J Wildl Dis, 25, 232-239 (1989)
- [19] Glisson JR, Hofacre CL, Christensen JP: Fowl Cholera, Disease of Poultry, Salf YM, 12th ed, 739-758, Blackwell Publ, USA (2008)
- [20] Shivachandra SB, Kumar AA, Gautam R, Singh VP, Saxena MK, Srivastava SK: Identification of avian strains of *Pasteurella multocida* in India by conventional and PCR assays, Vet J, 172, 561–564 (2005)

\_\_\_\_\_\_

# Facial Swelling Associated with Laryngotracheitis Virus and *Pasteurella multocida* in Layer Hens

Maki SEKIGUCHI $^{*\dagger}$ , Tomoyuki SHIBAHARA, Takehiko OTSUBO, Atsuko MATSUMOTO, Naoki IIDA and Masanori KUBO

\* Chuo Animal Health and Hygiene Service Center of Chiba Prefecture, 497 Iwatomi-cho, Sakura, 285-0072, Japan

### **SUMMARY**

Non-vaccinated flocks and vaccinated flocks against infectious laryngotracheitis (ILT) virus were adjacently raised in the same pen at a layer chicken farm in Chiba Prefecture, Japan. In January 2009, non-vaccinated flocks showed watery eyes, swelling of the infraorbital sinuses, and serious conjunctivitis. Six chickens were examined. Similar pathological and microbiological findings were obtained from the chickens. Necropsy revealed yellowish caseous exudate in the infraorbital sinuses and nasal cavities, and hypertrophy of the nasal mucosa. Histopathologically, many intranuclear inclusion bodies in the epithelial cells and fibrinopurulent exudates with gram-negative bacilli were detected in the infraorbital sinuses and nasal cavities. On microbiological examination, ILT virus and *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) capsular type A were isolated from swabs of the infraorbital sinus. The virus showed small unclear border plaques on the chorioallantoic membrane, and consistent RFLP patterns and ICP4 gene sequences with the vaccine strains of vaccinated flocks. This farm had not had an occurrence of ILT for a long time, and vaccinated flocks were in peak laying season. These results indicated that the isolated virus was an ILT vaccine strain of vaccinated chickens, and it was transmitted to the non-vaccinated chickens. The ILT virus and *P. multocida* infection would have induced the facial swelling.

— Key words: facial swelling, infectious laryngotracheitis virus, Pasteurella multocida, transmit, vaccine.

 $\dagger \ \ \textit{Correspondence to} : \textit{Maki SEKIGUCHI (Chuo Livestock Hygiene Service Center, Chiba Prefecture)}$ 

497 Iwatomi-cho, Sakura, 285-0072, Japan

-J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 64, 287  $\sim$  293 (2011)