# ―日本で使用されている動物用診断薬 (XM)― 鶏 感 染 症 と そ の 診 断 薬 の 概 説

# 3 家 き ん サ ル モ ネ ラ 感 染 症

#### 平野文哉 (農林水産省動物医薬品検査所)

#### 1 家きんサルモネラ感染症の概要

サルモネラは通性嫌気性グラム陰性桿菌である. 動物 から分離されるサルモネラのほとんどは、Salmonella enterica subsp. enterica に属し、菌体表層を構成する菌体抗原 (O 抗原) 及び鞭毛抗原 (H 抗原) の組み合わせによって、現在までに 2,500 以上の血清型に細分類されている. このうち、鶏に対する病原性を有することが知られている血清型としては、S. Gallinarum、S. Enteritidis、S. Typhimurium 及び S. Agona 等がある [1].

家きんのサルモネラ感染症のうち、家畜伝染病予防法により、S. enterica serovar Gallinarum biovar Pullorum (生物型がプローラム)及びS. enterica serovar Gallinarum biovar Gallinarum (生物型がガリナルム)によるものが家畜伝染病に指定されている。本稿では、S. enterica serovar Gallinarum biovar Pullorum によるサルモネラ感染症(以下、「ひな白痢」という)及びS. enterica serovar Gallinarum biovar Gallinarum によるサルモネラ感染症(以下、家きんチフスという)について概要を説明し、実際に、ひな白痢の病性鑑定に使用される体外診断薬について解説する。

ひな白痢は、ひなでは敗血症を典型的な徴候とし、元気・食欲の消失、嗜眠及び下痢(総排泄口の汚れ)などを呈する。中雛以降の鶏ではほとんど症状が見られず、不顕性に経過する。一方、家きんチフスは、ひな白痢と同様の症状を示すが、中雛や成鶏でも発症する[2].

わが国におけるひな白痢の発生については、昭和32年が最も多く、その後発生件数は急激に減少し、平成22年7月に京都府の養鶏場で発生した事例が最後となっている。一方、家きんチフスの国内での発生はこれまでに認められていない[3].

体外診断薬としては、「ひな白痢急速診断用菌液」が 昭和43年5月23日に承認され(表)、45年以上も経っ た現在もなお使用されている歴史ある製剤である。

## 2 診 断 方 法

疫学調査及び臨床検査の後に、血清学的検査を行う.この際に、ひな白痢急速診断用菌液を使用する。陽性の鶏については、剖検及び細菌検査を行う、細菌検査で陽性だった場合、病性鑑定施設において、病理組織学的検査及び血清型別を行う。S. Pullorum 及び S. Gallinarum は、細菌学的検査において運動性やインドール産生能等その他の性状もほぼ同様であるが、ズルシトールの発酵能は S. Pullorum では陰性、S. Gallinarum では陽性であるので、これにより鑑別する [2]. なお、これらの血清型は同一である [4].

#### 3 診断薬の概要

# (1) 診断薬の原理

血液を用いた平板法による急速凝集反応.

### (2) 診断薬の製法

ひな白痢菌を加熱殺菌したのち, 0.5w/v%フェノール加生理食塩液に浮遊させた濃厚死菌液をマラカイトグリーンで染色する.

#### (3) 診断薬の使用法

菌液を反応用ガラス板の1区画内に1滴(おおよそ0.03ml)おき、注射器で翼下静脈から採血した血液1滴を菌液そばに滴下する。両者を攪拌棒でよく混ぜ、さらにガラス板を前後左右に傾けながら、反応が現れるのを観察する。

#### (4) 診断薬の判定方法

菌液と血液を混ぜてから1分以内に緑色の顆粒ができたものを凝集反応陽性とし、1分を経過しても緑色の顆粒が認められないものを陰性とする.

#### 4 使用上の注意

(1) 検査は、常時 20~25℃で行われるよう留意し、所外では直射日光及び塵埃のひどい場所はさけること.

† 連絡責任者:平野文哉 (農林水産省動物医薬品検査所検査第一部)

〒 185-8511 国分寺市戸倉 1-15-1

☎ 042-321-1841 FAX 042-321-1769

 $E\text{-}mail: humiya\_hirano@nval.maff.go.jp$ 

商品名	主 成 分	使用目的	製造販売業者名	承認年月日
ひな白痢急速凝	ひな白痢菌 9-25 株の	ひな白痢菌に対する急速平	独農業・食品産業	昭和 43 年
集診断用菌液	加熱死菌液	板法による凝集抗体の検出	技術総合研究機構	5 月 23 日

- (2) 血液は凝固すると検査できないので、採血後手早く 菌液と混ぜること、凝固してしまった場合は、新たに 採血すること.
- (3) 菌液は、使用前及び使用中、時々よく振って均一に すること.

#### 5 そ の 他

ひな白痢の急速凝集反応は、実績もあり有用な検査方法である。しかしながら、当該検査の特徴として、3~4週齢以下のひなでは感染しても抗体陰性であることが多いことや、サルモネラ・エンテリティディス不活化ワクチン接種鶏群で、偽陽性を呈するということが知られている[2]. また、OIEのマニュアルによると、血清学的診断において、S. Enteritidis や S. Typhimuriumの感染による偽陽性反応が起こる可能性についても示唆

されている [4]. 診断に際しては、上記のような特徴や 可能性があることをよく理解した上で、慎重に行っても らいたい。

#### 参考文献

- [1] 品川邦汎, 関崎 勉:サルモネラ属, 獣医微生物学, 第 2版, 見上 彪編, 60, 文永堂出版, 東京 (2003)
- [2] 農林水産省消費・安全局: 病性鑑定指針(平成10年10月22日付け10畜A第1937号農林水産省畜産局長通知), 316-322(2010)
- [3] 農林水産省:家畜伝染病発生累年比較 (1934~2013) (農 林水産省 HP: http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/ kansi\_densen/pdf/katikudensenbyou.pdf)
- [4] OIE: Chapter 2.3.11. -Fowl typhoid and Pullorum disease, Terrestrial Manual, 1-14 (2012)

# 4 伝染性気管支炎

# 小林千鶴<sup>†</sup>(農林水産省動物医薬品検査所)

### 1 伝染性気管支炎の概要

伝染性気管支炎は、コロナウイルス科、ガンマコロナウイルス属の伝染性気管支炎ウイルス感染による鶏の呼吸器性、生殖器性及び泌尿器性疾患である。ウイルスは抗原変異が激しく、抗原性は多様で明確な血清型はいまだ提唱されていない [1,3]. ウイルスは伝播力が非常に強いが致死率は低く、潜伏期が1~3日間と短いことが特徴である、臓器親和性は多様であり、腎炎の発症あるいは幼雛に感染した場合の死亡率は高い. 世界中の養鶏界では本病予防のために生及び不活化ワクチンが広く使用されているが、ワクチン株と野外流行株との抗原性状が異なる場合には、十分な予防効果が期待できないことがある [1,2].

本病は鶏の品種,性,日齢に関係なく発生し,呼吸器症状を主徴とするが,腎炎,産卵率の急激な低下,下痢及び奇形卵の産出等多彩な症状を示す。また細菌の二次感染による合併症により死亡率が高まる。罹患鶏は持続感染におちいることが多くウイルスキャリアーとなり感

染源となる恐れがあるため、直ちに殺処分することが望ましい[1].

家畜伝染病予防法では、本病を届出伝染病に指定している.

# 2 診 断 方 法

本病の診断は、疫学調査、臨床症状及び肉眼的所見、病理組織学的検査に加え、ウイルス学的検査としてウイルス分離及び血清学的検査としてペア血清について中和試験またはELISA 法等による抗体検出を行う。また、必要に応じて分離ウイルスについて、PCR 検査を実施する [1-3].

日本では、動物用体外診断用医薬品として抗体測定用のELISAキットの製造販売が承認されている(表参照).

#### 3 診断薬の概要

# (1) 診断薬の原理

間接 ELISA 法を測定原理とし、伝染性気管支炎ウイ

† 連絡責任者:小林千鶴 (農林水産省動物医薬品検査所検査第一部)

〒 185-8511 国分寺市戸倉 1-15-1 ☎ 042-321-1841 FAX 042-321-1769

E-mail: tizuru\_kobayashi@nval.maff.go.jp

表 日本で承認されている伝染性気管支炎診断薬の概要

商品名	製造販売業者	使用目的	検出対象	主 成 分	承認年月日
IB エリーザキット	アイデックス ラボラトリーズ(株)	鶏の伝染性気管支炎(IB) ウイルスに対する抗体の検出	抗 体	不活化・精製伝染性気 管支炎ウイルス M41 株	平成 2 年 8 月 14 日

注:承認されている伝染性気管支炎診断薬のうち、過去5年間に販売実績のないものは除外した

ルスに対する抗体を検出する.

## (2) 製 法

伝染性気管支炎ウイルス M41 株を SPF 発育鶏卵で増殖させ、不活化・精製したものを固相化した 96 ウェル 平底マイクロプレートを主剤とし、ホースラディッシュペルオキシダーゼ吸着抗鶏 IgG ヤギ血清等を組み合わせたものである.

# (3) 使用方法

添付の使用説明書に従い、鶏の被検血清、指示陽性血清及び指示陰性血清についてそれぞれの OD 値を測定

し、S/P比を算出し判定する. なお、被検血清の非働化は行わないこと.

## 参考文献

- [1] 真瀬昌司: 5. 伝染性気管支炎, 動物の感染症, 明石 博臣他編, 第3版, 206-207, 近代出版, 東京 (2011)
- [2] 大槻公一: 3. 伝染性気管支炎, 鳥の病気 第8版, 鶏 病研究会編, 36-38, 鶏病研究会, 茨城 (2014)
- [3] 農林水産省消費·安全局:病性鑑定指針(平成20年6月2日付20消安第880号農林水産省消費·安全局長通知),328-329(2008)