

《資 料》

2020 年度秋季全国鶏病技術研修会（誌面開催）、質疑応答

2020 Autumn National Poultry Diseases Technical Workshop (Appeared in Journal),
Questions and Answers

参加者、会員 各位

2020 年度秋季全国鶏病技術研修会への参加、誠にありがとうございました。今年度は研修会を開催した11月以降、世界的な発生と合わせて、わが国でも H5N8 亜型の高病原性鳥インフルエンザの発生が非常に多くみられております。特に西日本に多くみられております。鶏病研究会としても、高病原性鳥インフルエンザに係る情報、技術などの提供、共有・普及を通して協力ができれば考えております。まだ発生の危険性がありますので、引き続きよろしくお願いたします。

さて、今年度の秋季全国鶏病技術研修会は新型コロナウイルス感染症の流行により誌面開催となりました。直接話を聴けない、質問しても少し時間的な遅れが生じる、研修会、懇親会で交流を深めたり、新しい関係を築くことが難しいなどデメリットはありますが、反面、時間に関係なくじっくり考えることができるなどメリットもあると思います。ここに、参加者の皆様からいただいたご質問に対して、講演者の先生方から回答をいただきました。皆様の今後の業務に参考になれば幸いです。

1. 高病原性鳥インフルエンザの発生状況 山口剛士（鳥取大学）

	質問	回答
1-1	本年11月以降、香川県など西日本で H5N8 亜型の高病原性鳥インフルエンザが続けて発生しています。これまでのわが国での発生例と比べて、発生時期が早く、発生数が急増で、近隣養鶏場での続発が多いと感じます。今回の多発の原因としてどのような事が考えられるでしょうか。	現時点では野鳥糞便や環境水から検出されたウイルス、家禽から検出されたウイルス、家禽での各発生事例ごとのウイルスなど、これらの関係が亜型だけで遺伝子レベルでの情報がないため相互の正確な系統関係が不明です。あくまでも国内で分離されているウイルスがすべて同じ系統と仮定すると、10月末に北海道で野鳥の糞便からウイルスが検出された時点で日本国内どこでも発生しう状況と認識する必要があります。2010年のシーズンも10月に北海道で野鳥糞便から検出され、その後11月下旬に鳥根県の養鶏場で発生しました。 確かに過去の発生状況と比べると早い印象はありますが、単純に渡りの早い時期にウイルスが国内に入ったためだろうと思います。カモ類は北海道からだけでなく、朝鮮半島から九州にも渡りますし、日本海を一気に越えて渡っても来ます。したがって、北海道でも九州でもどこか1カ所で発見されれば、日本中どこで発生してもおかしくない状況と考えておいた方が良くと思っています。香川における近隣養鶏場での続発理由については私にも分かりません。ウイルスを持った野鳥の集団が群れとして侵入し局所的にリスクが高まっていたのかもしれないし、可能性としてはその他さまざまな理由が考えられるかもしれません。ただ、この辺は今後の疫学調査報告を待たなければ何とも分かりません。
1-2	今後の発生防止における重要な予防策は？	今後の発生防止については飼養衛生管理基準の遵守、これにつきます。きわめて地味ですが、これを日常的に地道に履行する以外に方法は無いと考えます。野鳥がこのウイルスを持っていることを前提に考え、いかに家禽舎内にこれを入れないかがポイントになるので、特に重要なのは衛生管理区域内での衣服や靴、手袋などの交換、手指消毒、踏み込み消毒槽など消毒液の交換や適切な濃度調製、野生動物の侵入を防止するための防鳥ネットの確認、壁の穴や隙間の修繕、できれば集卵用パーコンベア出入口の夜間の閉鎖、除糞ベルトを介した家禽舎内への侵入防止対策、死鳥や廃棄卵の適切な管理あたりでしょうか。

2. 養鶏場における消毒資材の選択と利用のポイント 竹原一明（東京農工大学）

	質問	回答
2-1	消毒資材の評価法について、1次スクリーニングの液相混和試験と2次スクリーニングのキャリア試験があり、キャリア試験はより現場に即した試験法であることを知りました。科学的な評価は、消毒薬を的確に用いる上で重要だと理解しました。 キャリアとして、5cm×5cmのプラスチック板、スチール板、ゴム板などが挙げられています。鶏舎内ではそれらの資材だけでなく、木材も使われており、特に壁面の桟木などは汚染が残り易い傾向があります。そこで、木の角材あるいは板をキャリアとした消毒資材の試験については如何なものでしょうか？	木材など表面に細かい穴の開いたキャリアでは、添加病原体の回収が難しく、評価ができません。水で回収しても非常に低い値となり、消毒資材が効いたのか判断が難しいです。当研究室ではコンクリート板を用いて行いましたが、やはり吸い込まれてしまい、回収は困難でした。ちなみに、プラスチックやスチール板では、水で行った場合10～30%の回収率で、消毒資材では1,000分の1以下にまで減少したことが評価できました。木材の場合、有機物なので、消毒資材の効果は本当に効果があるのかわかりません。鶏の皮を用いた試験では、皮に塗布したサルモネラや大腸菌は不活化は不可能でした（1,000分の1以下にはなりませんでした）。

	質問	回答
2-2	<p>キャリアに張付いた病原体を消毒液に浸したガーゼで拭き取ると、ガーゼ中に移行した病原体は比較的短時間で不活化すること、チラー水から鶏と体を引き上げ、そのままスワブで拭き取った場合、と体上では不活化されずに生存していた細菌がスワブ中の消毒液によって不活化されることを知りました。消毒資材の評価の際に重要なことは、消毒資材の病原体不活化効果を停止（中和）させてから病原体を回収して力価を測定することだと理解しました。それでは、そうした中和作用にはどのようなものがあり、養鶏場の消毒現場でも何か注意すべき事項がありますでしょうか？</p>	<p>反応停止液としては、次亜塩素酸ナトリウムや逆性石けんなどに対しては、有機物の添加です（30%牛胎児血清:FBSなど）。アルカリ資材に対しては、pHを下げる緩衝液です（1M Tris-HClや1M HEPES）。逆に言うと、畜産現場で有機物が多量に存在している、酸化剤などでpHが下がる状況（酸性消毒資材との混合）では、せっかくの効果が中和されてしまいます。洗浄をきちんと行い、乾燥させたのちに消毒する必要があります。また、複数の消毒資材を用いる場合には、水洗した後に異なる消毒資材での消毒となります。ホルマリン燻蒸の際も、逆性石けんが洗い流されていないとホルマリンの効果が減弱します。</p>
2-3	<p>逆性石けんに水酸化カルシウムを飽和になるように0.17%加えることで、低温下や有機物の混入状況下でも効果を維持・増強でき、その液体はエンベロップのないウイルスに対しても不活化効果を示すことを知りました。これは養鶏場で幅広く使える方法で、重要な知見だと思います。</p> <p>この方法は、逆性石けんに消石灰を加えることで行うことができるものと理解して良いのでしょうか？</p> <p>消石灰は生石灰に加水して消化、熟成させた物で、次の式で示されるように、水酸化カルシウムです。$CaO(酸化カルシウム)+H_2O(水)\rightarrow Ca(OH)_2(水酸化カルシウム)$</p> <p>消石灰の形状は白色の微粉体で、粒径は150μm以下（JIS特号では28#全通/100#粉末度残分5.0%未満と規定）が主体です。</p> <p>消石灰の微粉体は難溶解性ですが、これは加水し練ってスラリーにして、逆性石けんに加えるという方法で良いのでしょうか？</p>	<p>消石灰は、水酸化カルシウムの濃度が60~70%で、残りは不純物です。消石灰粉が肌に付いたあとに汗をかくと赤くなります。当研究室で取り扱った食品添加物規格水酸化カルシウム（平均粒子径10μm:1kgで500円程度）0.2%液は、ウサギの皮膚刺激試験で、「無刺激の範疇」に入るとの結果が得られています。過去にホタテ貝殻由来の焼成カルシウム（水酸化カルシウム80%以上、平均粒子径20μm）で実験したところ、鳥インフルエンザウイルス（AIV）は粉と混ぜることで不活化できましたが、水に溶かした遠心上清（飽和液:0.17%）では、24時間後でもAIVの力価は10分の1程度にしか下がりませんでした。その後、平均粒子径500nmのホタテ貝殻由来焼成カルシウムを用いたところ、2%液（過飽和液:pH13.1）では5秒後に検出限界未満にまでAIVを消毒資材に5%FBS添加しても15秒以内に不活化できました。ガチョウバルボウイルス（GPV）は不活化に1分間かかりました。粒子径は、水酸化カルシウムそのものの病原体の不活化効果に影響すると考えられます。</p> <p>消石灰は、逆性石けんと混合する際に、濃度を高くして（10%乳剤など）用いれば、踏み込み消毒槽や車両消毒槽などでは有効と思いますが、実際に試験はしておりません。消石灰（水酸化カルシウム純度70%）を用いて、0.24%液（水酸化カルシウム換算で0.17%：飽和水溶液）に逆性石けんを添加してAIVおよびニューカッスル病ウイルス（NDV）に対する不活化効果を調べました。4℃条件下では、AIVに対しては10分後、NDVに対しては3分後でも不活化効果が認められず、また消石灰0.24%液単独では1時間、あるいは30分後でも不活化効果は認められませんでした。なお、食品添加物規格水酸化カルシウムでは、逆性石けんとの混合で、AIVに対して3分間で、NDVに対して5秒間で、不活化効果が認められています。</p>
2-4	<p>養鶏場では逆性石けんを水で希釈した消毒液を、衛生管理区域の入口に置いたタンクに入れて車両消毒に用いることがふつうに行われています。薬注器（定量希釈装置）から逆性石けんを添加する場合がありますが、一度作成した希釈液を複数日にわたって使う場合もあります。さて、逆性石けんに水酸化カルシウムを飽和になるように加えたとき、使用期間はどの位に限定されますか？</p>	<p>当研究室で、逆性石けんと食品添加物水酸化カルシウムの混合液を作製し、室温（25℃）で1か月以上置きましたが、殺菌・殺ウイルス効果は維持されていました。作り置きは可能です。</p> <p>野外で踏み込み消毒槽に作り置きし、実際に本学の農場入口と搾乳牛舎入口で使ってもらい、使用後の踏み込み消毒槽から液体を毎日採取して効果を実験室内で調べました。サルモネラや大腸菌に対しては1週間使用した後の踏み込み消毒槽の液体でも不活化効果はありました。ただ、AIVやニューカッスル病ウイルスに対しては2日間で効果は無くなりました。ただし、これは4名の技能職員が働いていた際の話です。実習で学生40人が使った後は、その日のうちに効果は無くなりました。汚れる状況に応じて、効果は減弱します。</p>
2-5	<p>アルカリ化するために、水酸化カルシウム以外に利用できるものはございますか。例えば、水酸化ナトリウム水溶液をうまく活用する方法はございますか。</p>	<p>水酸化ナトリウムを使うことも可能とは思いますが。希釈した逆性石けんに水酸化ナトリウムあるいは水酸化カリウムを0.05~0.1%添加するという製品説明書もあります。ただし、水酸化ナトリウムは、劇薬に指定されており、保管や取り扱いに注意が必要です。</p>

3. 鶏アデノウイルス感染症の現状と課題—分離事例の検討と型別分類上の問題点から— 鈴木 尋 (ワクチノーバ(株))

	質問	回答
3-1	血清学的型別が非常に難しく、学術的にもまだ混乱がみられており、専門家による世界的に統一した型別が必要とのことでありますが、養鶏現場で抗体保有状況を把握するのに必要な中和試験に替わる、あるいは相同する血清学的ないし遺伝子学的型別試験の開発・確立研究の進行状況はいかがでしょう？	近年の文献ではこうした背景を受け、血清型による数字の表記をしていないものも認められています（発表内「文献」#11 など）。学術的には、このように血清型によらない Species による A～E の 5 種の大きな分類の選択肢も存在します。疾病のコントロールを第 1 に考えた場合、現行では中和試験による解析が最適と考えておりますが、これに代わる ELISA などの開発はハードルが高く、世界的にみても開発されていないのが現状です。
3-2	日本では血清型の 1, 2 および 7 (8b) 型のウイルスが多く分離されており、海外で 4 型および 8b 型のワクチンがあるとのことですが、わが国で種鶏の対策に必要な 1 および 2 型のワクチンの開発・実用化の可能性はどうか？	社内での研究・開発に関係することについてはお答えすることができませんが、同じグループである Vaxxinova GmbH (ドイツ) では自家ワクチンによる鶏アデノウイルスの制御に対応しています（弊社サイト参照）。自家ワクチンは分離した材料を抗原として用いますので、養鶏場に浸潤している血清型が異なることから混合する抗原タイプには多様性があります。国内で製品として、必要となるすべての血清型を網羅するワクチンを開発することがベストですが、開発・製造上および販売面で難しい点が多々あると思います。

4. 大腸菌症の現状と対策 永野哲司 (日生研(株))

	質問	回答
4-1	ここ数年、本県では野外の養鶏場における鶏大腸菌症が頻発しています。発生状況は症例によって異なりますが、多いのが 30 日齢～出荷前に発生し、胸腺の萎縮を伴う症例です。こういった症例の多くで、胸腺から鶏貧血ウイルス (CAV) の遺伝子が検出されることから、CAV による胸腺障害が鶏大腸菌症の誘発因子となっていることを疑っています。他の県でも同様の症例がみられているという話は聞くのですが、こういった症例が全国的にどれくらい出ているのか、ご存知でしたら教えてください。また、30 日齢を過ぎて CAV が鶏に障害を起こすのか不明で、不顕性感染を検出しているだけの可能性も考えていますが、免疫染色を実施する体制がないため、CAV の影響について評価しかねています。これについて、御社でも何か調べられていたら、差支えない範囲で教えていただけますか。また、CAV が原因であれば、対策をどのように行うのがよいか、ご指導いただけると有難いです。	CAV 感染が大腸菌症の引き金になることは知られていますが、現状のわが国の大腸菌症事例で実際にどの程度関与しているかまでは把握できていません。また、弊社の病性鑑定で疑いをもつ事例はありますが、そこまで検査していないので確定までには至っていません。ただし、わが国を汚染している CAV は、幼雛期以外にそれ単独で顕在化したり影響を発することは無いと思います。 胸腺からの CAV 遺伝子の検出は偶発的なものと判断する方が無難かもしれませんが、CAV の顕在化が伝染性ファブリキウス嚢病 (IBD) 感染に続発する事が知られているように、お示しの事例で胸腺萎縮に CAV が関与している場合は、その前に何らかの要因で免疫低下があったと推察します。それらが複合的に関与したとして最終的に大腸菌症も強く表れたと判断することが妥当です。 この事例で CAV の関与を疑うのであれば CAV 対策よりも、CAV を誘引した事象への対応策が必須だと思います。それによって、結果的に大腸菌症の発生も抑えられてくると考えます。ただ、低レベルでの CAV の持続的な感染が増悪因子となっている点は否めないもので、鶏舎内や環境の清浄化は必須です。
4-2	近年わが国でも採卵養鶏場において大腸菌症の発生が報告されております。諸外国と異なりわが国の鶏卵消費は生食が一般的であります。鶏肉については加熱処理が一般的であり食中毒の危険性は少ないと感じております。大腸菌症発生養鶏場での鶏卵への大腸菌汚染について知見がありましたらお教えください。	鶏卵を介して、鶏に常在する大腸菌がヒトの食中毒の原因となった事例はみあたりませんし、関連性を証明する報告も皆無なので生食に関する危険性はきわめて低いものと考えられます。大腸菌の卵殻を介した介卵感染については、食卵ではなく種卵として問題となっている点についてはいくつも報告があります。
4-3	採卵鶏における育雛、育成、成鶏期をとおして推奨される大腸菌症のワクチネーションプログラムをお教えてください。特に他のワクチン（鶏伝染性気管支炎、鳥マイコプラズマ症）などの併用、あるいは接種間隔など注意点がありましたらお教えください。	初回免疫は孵化場での噴霧投与とし、その 3～4 週後に育成農場において噴霧・散霧投与する方法を推奨しています。追加免疫の時期については、他のワクチネーションプログラムを考慮して組み入れていただいておりますが、4 週を超えて組まれている養鶏場もあるようです。また、他のウイルスワクチンとの干渉は無いので、それらとの接種間隔を気にする必要はありません。それに関連して、2 回目投与では作業性が優先されて多くの養鶏場で鶏伝染性気管支炎 (IB) ワクチンなどと混合して投与されているようです。

5. 採卵鶏に多い腸の炎症性疾患 川原史也（木鶏にわとり診療舎）

	質問	回答
5-1	<p>コクシジウム症について、中・大雛期を含め、普段の検査体制で重要なこと、また発症時の病性鑑定（稟告を含め）でのコツなどがあればお教えてください。</p>	<p>糞便 1g 中のオーシスト数 (OPG) 検査をする上では、コクシジウム種の鑑別を念頭におき、簡易的にでもオーシストを大・中・小のカテゴリーに分けて評価したほうが良い。このため、接眼レンズにセットするマイクロメーターを常備しておく必要がある。筆者は、オーシストの長径を基に、大は 24 μm 以上、中は 19 μm 以上 24 μm 未満、小は 19 μm 未満という判定基準をよく利用する。この基準では、大は <i>Eimeria brunetti</i> と <i>E. maxima</i>、中は <i>E. necatrix</i>、<i>E. praecox</i> と <i>E. tenella</i>、小は <i>E. acervulina</i> と <i>E. mitis</i> とみなす。オーシストの観察時には、あまり神経質に小数点以下まで正確に計測しようとしなくても構わない。それよりも、なるべく短時間で多数のオーシストの大・中・小を判定できるように習熟したほうが良い。定量的な OPG 検査だけでなく、大きさ別の評価を加えることで、コクシジウム種の動きがより正確に評価できるようになる。</p> <p>ただ、より正確な検査や病性鑑定を行いたい時には、現在では PCR 法を活用したコクシジウム種の鑑別が必須であり、実際に各地の家畜保健衛生所でも PCR 法を活用する取り組みが増えている。最新の事例では、鳩谷らによる研究報告を参考にされたい（鶏病研報 56 巻 3 号, 104-111, 2020）。</p>
5-2	<p>コクシジウム対策あるいは混合感染でうまくいった例があれば、お願いします。</p>	<p>本稿にも記載したが、コクシジウムオーシストの成熟化が進行する前に、除糞すると対策に効果的と感じている。発生リスクが高まっている時期には、除糞の間隔を 1 日おきに短縮する。作業的に可能であれば、毎日除糞できると良い。ただ、除糞作業の頻度が高まると、塵埃の飛散も増えるので、換気も十分に行う必要がある。</p>
5-3	<p>産卵鶏では対策が限られているとのことですが、壊死性腸炎対策でうまくいった例があればお教えてください。</p>	<p>産卵鶏での壊死性腸炎の発生時に有機酸産生菌をベースにした生菌剤を投与して、斃死が減少した野外事例をいくつか経験している。ただ、本稿でも触れたように、投与対照群のある実験系ではないため生菌剤が効果を発揮したのか、それとも自然と収束するタイミングだったのか、正しい評価をすることは難しい。今後も評価の取り組みを継続していきたい。</p> <p>また、成鶏舎への移動前の大雛期にサルファ剤などでコクシジウムの感染をしっかりと抑制できていると、成鶏舎移動後に壊死性腸炎が発生する頻度が減っているように感じている。今後より詳細に効果を評価していきたい。</p>
5-4	<p>壊死性腸炎あるいは混合感染についての診断のコツなど、お聞かせください。</p>	<p>現時点では、壊死性腸炎の診断においては、農林水産省の病性鑑定指針に準じて取り組まれることをお勧めする。剖検や病理組織検査の所見が記載と一致すれば、おおむね壊死性腸炎と診断できると考えられる。特に、壊死性腸炎単独およびコクシジウム症との混合感染において、腸内容物中の菌数は大きな指標になる。指針に示されているとおり、10⁶/g 以上となった場合、その事例の発症要因は概ね <i>Clostridium perfringens</i> が主であると考えてよい。</p>