

ニワトリの Leucocytozoon 病の予防に関する研究

(第3報) Diaveridine 投与による感染予防効果

堀 慧, 鳥海 徹, 田辺 昭

Studies on the Prevention of Leucocytozoon Infection of the Chicken

III. The Preventive Effect of Diaveridine.

Satoshi HORI, Toru TORIUMI and Akira TANABE

M. L. Clark has reported that diaveridine is effective in prevention of coccidiosis of the chicken, when it is used in combination with sulfaquinoxaline, and that it is less toxic than pyrimethamine.

In this experiment, the preventive effect of diaveridine on the leucocytozoon infection of the chicken has been tested.

From the two tests carried out in 1963 and 1964, the following results were obtained.

We could not find any preventive effect of diaveridine on the natural infection of the chicken, when they were fed continuously on the diet containing it at the rate of 0.0001% to 0.0025%; but it was proved effective when added at the rate of 0.005% to 0.01%.

Authors have reported in the previous paper that the minimum effective concentration of pyrimethamine for the prevention of leucocytozoon infection of the chicken is 0.00005%.

In spite of the fact that both drugs have about the same effect upon the chicken coccidiosis, it is very interesting that there is a marked difference (1:100) between the minimum effective concentrations of both drugs.

We cannot find any toxic effect of diaveridine on the weight gain of the chicken when it is administered at such concentrations as mentioned above.

緒 言

著者¹⁾²⁾らはニワトリの leucocytozoon 病を予防する実際的な方法を発見する目的で、各種の研究を行ってきたが、特に飼料中に薬剤を添加することにより、本病を予防することが最も確実性のある方法であるとの見地から pyrimethamine, sulfadimethoxine, furazolidone などの投与による本病の感染予防効果につき研究を行なった。本報告ではこれに平行して行なった diaveridine の予防効果について述べる。diaveridine を供試薬として選んだのは次の理由によるものである。

本剤は 2,4-diamino-5-(3,4 dimethoxy benzyl)-pyrimidine であって、2,4-diamino-5-(4 chloro phenyl)-6-ethyl-pyrimidine であるところの pyrimethamine と同様に一連の 2,4-diamino-pyrimidine 化合物の1つであり、葉酸-フォリニ酸の代謝に干渉する作用機序を有し、単味投与または sulfa 剤と混合投与した場合、ニワトリの coccidium 症に対して有効であるといわれている。

M. L. Clark³⁾は 0.001% の diaveridine と 0.008% の sulfaquinoxaline とを混じて飼料中に添加した場合 *Eimeria tenella* および *E. necatrix* の予防に優れた効果を有すると発表し、しかも pyrimethamine に比較して毒性も少ないと述べている。Wellcome 社は上記の合剤を darvisal と命名して開発した。

吉村(未発表)は diaveridine を 0.01% の割合で単味で飼料中に添加した場合、ならびに darvisal として 0.045% の割合に添加した場合、*E. tenella* に対する予防効果は、0.008% 添加した amprolium に比較するとやや劣るとはいえ、ともに優れた効果を示したと述べている。

以上のように本剤は化学構造、薬理作用、抗 *coccidium* 性等の点において pyrimethamine と類似しているため、当然ニワトリの leucoocytozoon 病に対する予防効果が期待され、なかんずく pyrimethamine に比較して毒性が少ないという点で本剤を今回の試験における供試薬として選んだ。

試験方法および試験材料

この試験は1963年夏および1964年夏の2回行なったもので、前者を第1試験、後者を第2試験と呼ぶことにする。

(1) 試験場所：両試験とも岡山大学農学部構内の試験鶏舎において行なった。

(2) 試験方法：本病の人工感染は実際的には不可能な段階にあったため、予め供試薬を各種の濃度に添加した飼料を連続的に給与しながら各區別に飼育した雛を、本病の自然感染に曝し、毎週1回の血液検査により、各個体別の感染状況を検査して、各區別の感染率を無添加区と比較することにより供試薬の有効度を判定した。

血液検査は本病の自然感染が予測される以前から原則として、週1回の割合で行ない正確を期した。血液塗抹標本処理、鏡検の方法などについても前報¹⁾に準じて行なって感染の判定をした。臨床症状の観察も併せて行ったが、これは参考にとどめる程度にして、感染の判定の資料とはしなかった。

血液検査と同時に各個体の体重測定、また産卵を開始したものについては産卵調査、卵重の測定を実施し、各區別の平均体重、平均産卵率、平均卵重などの推移を無添加対照区のそれと比較して供試薬の毒性判定の資料とした。

(3) 供試薬：Wellcome 社製 diaveridine の純品に乳糖を加え100倍散としたものを飼料添加に使用した。以下、基礎飼料の調製、添加方法、ニワトリに対する給与方法、およびその飼育方法は前報¹⁾に準じて行なったので詳細は省略する。

(4) 試験鶏および区の設定：第1試験——diaveridine の本病に対する有効濃度は全く不明であったため、まず pyrimethamine に準じて比較的低濃度の投与試験を行なった。試験鶏は1963年1月26日発生の W. L. 種の雌64羽を実験室で飼育し、約130日令に達したとき体重、産卵率などができるだけ平等になるように16羽ずつの4群にわけた。第1区は無添加対照区、第2区を0.0005%添加区、第3区を0.00025%添加区、第4区を0.0001%添加区として6月10日から薬剤の効果試験に入り8月29日の試験終了までの81日間同一条件で連続的に投与を行なった。

第2試験——前年度の第1試験の結果に鑑み、添加量を約10倍に増加して試験を実施した。すなわち第1区を無添加対照区、第2区ないし第5区までをそれぞれ本剤の0.01%添加区、0.005%添加区、0.0025%添加区、0.001%添加区とした。試験鶏としては1964年4月25日発生の W. L. 種の雌64羽を使用し、初生時より第1区のみは20羽、第2区以下第5区までを16羽ずつに配分して基礎飼料で飼育したのち、6月1日(約35日令)より上記の試験飼料に切りかえ、以後連続的に10月15日まで約130日間投与を行なった。

試験結果

第1試験——1963年5月23日より8月29日までの計15回の血液検査の結果、6月27日までの検査では全例陰性であったが、7月4日より8月8日の検査で各区に高率に本病の gametocyte を血中に保有するものが現れ、8月15日以降の検査では再び全例陰性となった。

各區別、各個体別の gametocyte の出現状況を秋葉ら⁴⁾の分類に従って記載し、各區別の感染率を示すと第1表の通りである。

Table 1. The appearance of gametocytes of *L. caulleryi* in the blood of hens used in Exp. I (1963)

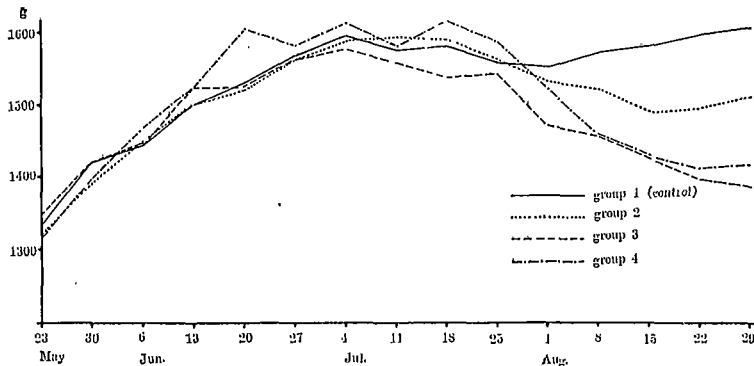
Group 1 Untreated control						Group 2 0.0005%						Group 3 0.00025%						Group 4 0.0001%						
No.	4 Jul.	11 Jul.	18 Jul.	25 Jul.	1 Aug.	No.	4 Jul.	11 Jul.	18 Jul.	25 Jul.	1 Aug.	No.	4 Jul.	11 Jul.	18 Jul.	25 Jul.	1 Aug.	No.	4 Jul.	11 Jul.	18 Jul.	25 Jul.	1 Aug.	
1				II V		17				V		33		II				49		II V				
2					18				V		34					V	50					V	
3			V			19						35				II V		51					II V	
4			V			20						36		II V				52					V	
5					V	21		V				37		V				53					II	
6					II	22			V			38						V	54				V	
7	V					23				V		39			V			55						V
8				V		24						40			II			56					V	
9				V		25					V	41						57			II			
10				V		26						42						58						
11				V		27					II V	43		II V				59					V	
12				V		28				V		44					II V	60		II V				
13				II V		29					V	45				V		61					
14						30		II V				46		II				62		II				
15					II V	31					V	47				V		63		II				
16					V	32					V	48			V			64		V				
14/16 87.5%						12/16 75.0%						14/16 87.5%						14/16 87.5%						

II and V; Stages of gametogony of *L. caulleryi* classified by Akiba et al.
 ; Death caused by any other disease than leucocytozoonosis.

第1区の無添加対照区は18羽中14羽が陽性で感染率は87.5%，第2区の0.0005%添加区は16羽中12羽で75.0%，第3区の0.00025%ならびに第4区の0.0001%区はともに16羽中14羽で87.5%の感染率であった。

次に各区別の平均体重，平均産卵率，平均卵重の推移を図示すると第1図ならびに第2図の通りである。

Fig. 1. Average weight gains of each group of hens used in Exp. I (1963)



第2試験——1964年5月8日より10月15日までの計22回の血液検査の結果，7月16日より10月1日までの検査で陽性鶏が検出された。その結果を第1試験に準じて，各区別，各個体別に gametocyte の出現状況を示すと第2表の通りである。

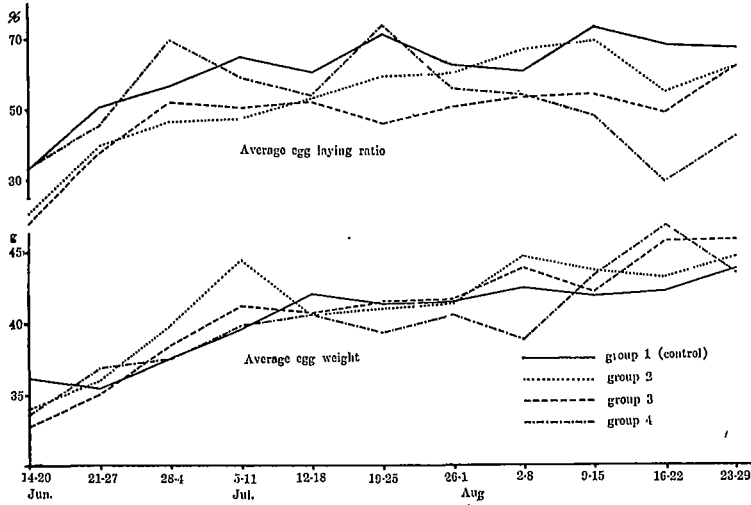


Fig. 2. Average egg laying ratio and egg weight of each group of hens used in Exp. I (1963)

Table 2. The appearance of gametocytes of *L. caulleryi* in the blood of hens used in Exp. II (1964).

Group 1 (untreated control)					Group 2 (0.01%)					Group 3 (0.005%)																			
No.	16 Jul.	23 Aug.	30 Aug.	6 Sept.	13 Sept.	20 Sept.	27 Sept.	3 Oct.	10 Oct.	No.	16 Jul.	23 Aug.	30 Aug.	6 Sept.	13 Sept.	20 Sept.	27 Sept.	3 Oct.	10 Oct.	No.	16 Jul.	23 Aug.	30 Aug.	6 Sept.	13 Sept.	20 Sept.	27 Sept.	3 Oct.	10 Oct.
1										21										37									
2										22										38									
3										23										39									
4						V				24									40										
5										25									41										
6										26									42										
7										27									43										
8										28									44										
9										29									45										
10										30									46										
11										31									47										
12										32									48										
13										33									49										
14										34									50										
15								V		35									51										
16										36									52										
17	V																												
18																													
19							IV																						
20		II																											
7/20					35.0%					0/15					0%					0/15					0%				
Group 4 (0.0025%)					Group 5 (0.001%)																								
No.	16 Jul.	23 Aug.	30 Aug.	6 Sept.	13 Sept.	20 Sept.	27 Sept.	3 Oct.	10 Oct.	No.	16 Jul.	23 Aug.	30 Aug.	6 Sept.	13 Sept.	20 Sept.	27 Sept.	3 Oct.	10 Oct.										
53										69										II V									
54										70										V									
55										71										II									
56										72										V									
57										73																			
58										74																			
59										75										II V									
60										76										V									
61										77										V									
62										78										V									
63										79										V									
64										80										V									
65										81										V									
66										82										V									
67										83										II									
68	V									84										V									
2/16					12.5%					13/16					81.3%														
II, V and...; Same as Table 1.																													

すなわち第1区の無添加対照区は20羽中7羽が陽性で感染率は35.0%、0.01%、0.005%添加の第2ないし、第3区はともに全例陰性、0.0025%添加の第4区は16羽中2羽で12.5%、0.001%添加の第5区は16羽中13羽で18.3%が、それぞれ陽性であった。第2試験の試験鶏の各區別平均体重の推移は第3図に示す通りである。

要約ならびに考察

1. diaveridine を飼料に最高0.01%から最低0.0001%までの各種の濃度になるように添加して、これを連続投与して本病の感染予防試験を行なった。その結果0.01%ならびに0.005%添加区におい

ては感染が認められなかったが0.0025%以下の添加濃度では感染鶏が高率に認められた。従って本剤の最低有効濃度は一応0.005%の附近にあると思われる。しかしながら1964年度は、全国的に本病の予防剤として pyrimethamine が発売されたため、岡山県下でも本病の発生が少なく、岡山大学農学部構内の鶏舎でも本病の感染率が一般に低かった。すなわち第1区の無添加対照区の感染率は35.0%であり、同時に行なった他の試験でも、薬剤無添加区での感染率は20~30%が普通であって、第1試験でみられたような濃厚感染は認められなかった。第2試験の0.001%添加区で81.3%の感染率を示したのはむしろ例外的現象と考えられる。

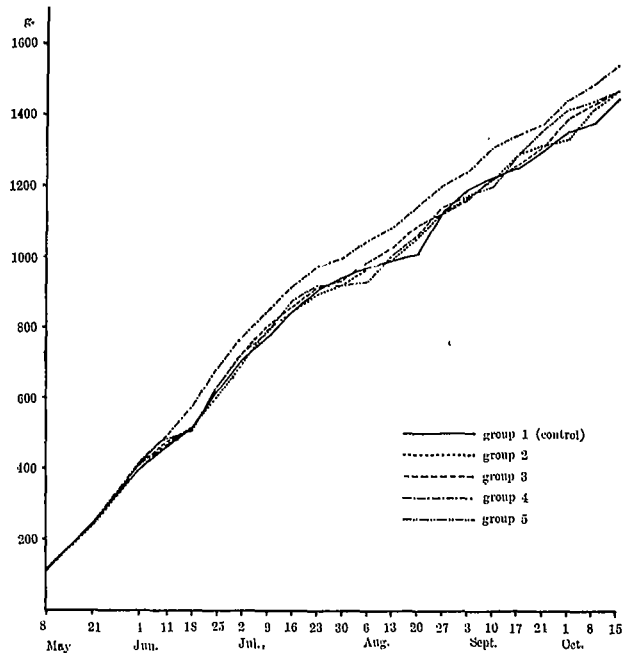
従って第2試験の0.005%添加区がもしさらに濃厚な感染に曝された場合、果して完全に本病の感染を防ぎ得るか否かは疑問であるので、本剤を実地に応用する場合、最低有効濃度は0.005%より上にあると考えた方が安全と思われる。

2. 試験期間中における試験鶏の体重、産卵率、卵重等の推移を各區別の平均値で図示したように、いずれの場合も本剤がニワトリに対して毒性を示しているとは認められなかった。ただし第1図で、8月1日以後第3区および第4区の平均体重曲線が降下しているのは、第3区で2羽第4区で1羽がそれぞれ内臓型淋巴腫症に罹患し、体重が900gないし660gに減少したものが出たためであるが、8月29日現在の体重で、無添加対照区との間でF検定を行なっても5%の水準において有意の差は認められていない。

第2図の平均産卵率の曲線についても、同様な傾向が見られるが、これも前記と同じ理由によるものと考えられ、期間中の総産卵個数について、対照区と各区の間でF検定を行なったが、いずれの場合も有意の差は認められなかった。

3. ニワトリの coccidium 症に対する diaveridine の効果は、前記の通り M. L. Clark³⁾ によれば、sulfa 剤と混じた場合0.001%であるといい、同じく pyrimethamine の効果は、S. B. Kendall & L. P. Joyner⁵⁾ によると、sulfa 剤と混合した場合0.004%が適当と認めている。従

Fig. 3. Average weight gains of each group of hens used in Exp. II (1964).



って、この両者はニワトリの *coccidium* 症に対してはほぼ同等の効力を有しているものと見られるが、ニワトリの *leucocytozoon* 病に対する *pyrimethamine* の最低有効濃度は著者ら²⁾の成績では 0.00005% であるのに反し、*diaveridine* は前記の通り 0.005% であるとする、本病の予防効果では両者の間に 100 倍の開きが認められるわけであって興味深いことである。

4. 以上の試験により本剤単味の場合の最低有効濃度がほぼ 0.005% であると判明したが、この濃度では実際の野外での応用の場合薬価の点で問題を生ずる恐れがある。したがって *sulfa* 剤と混合投与した場合その相乗効果によりさらに投与濃度をさげる研究が行なわれないと本剤単味では応用範囲が限定されると考えられる。

最後に供試薬を提供された Wellcome 社ならびに共立商事 KK に謝意を表すものである。

文 献

1. 堀憲ら (1964): ニワトリの *Leucocytozoon* 病の予防に関する研究, II. *Furazolidone* 投与による本病の感染予防試験. 岡山大学農学部学術報告, 24, 55~61.
2. 堀憲ら (1963): 鶏のロイコチトゾーン病に関する研究 農林漁業試験研究費補助金による報告書, 昭和 38 年.
3. M. L. Clark (1962): A Mixture of *Diaveridine* and *Sulphaquinoxaline* as a *Coccidiostat* for Poultry—1. Preliminary Studies on Efficiency against *Eimeria tenella* and *E. necatrix* Infections, and on Toxicity in Poultry. *Vet. Rec.*, 74, 845~847.
4. AKIBA, K. et al. (1963): Studies on *Leucocytozoon* of Chickens in Japan. I. Natural Infection of *L. Caulleryi*. *Bull. Nat. Inst. Anim. Hlth.*, 34, 163~180.
5. S. B. Kendall and L. P. Joyner (1956): The Potentiation of *Coccidiostatic* Drugs by *Pyrimethamine*. *Vet. Rec.*, 68, 119~121.