

1. はじめに

令和5年2月22日、肉用鶏を約13,000羽飼養している飼養者から、通常、育すう期間1か月のところ、育すう鶏舎の不具合のため、育すう期間2週間で育すう鶏舎から令和4年11月と12月に育成鶏舎へ移動させた近江しゃもの群で発育不良と下痢が発生していると家畜保健衛生所に通報があった(図1)。病性鑑定を実施したところ、マレック病、鶏伝染性気管支炎、鶏コクシジウム症の併発と診断したので、その概要を報告する。

2. 材料と方法

3羽の近江しゃも(雄、13週齢、鶏①～③)を病性鑑定に用い、1)剖検、2)ウイルス学的検査および3)病理組織学的検査を実施した。

2) ウイルス学的検査:

a) ウイルス特異遺伝子の検出

気管、腺胃、肝臓、腎臓、脾臓、腸管、心臓および心嚢水の各20%臓器乳剤を用いて、マレック病ウイルス(MDV)、鶏伝染性気管支炎ウイルス(IBV)、鶏アデノウイルス(FAdV)、鶏アストロウイルス(CAstV)および鶏パルボウイルス(ChPV)について、適宜、PCR法を実施した。

b) PCR-RFLP解析

PCR法で増幅されたIBVのS1遺伝子について、真瀬らの手法¹⁾を用いて、S1遺伝子の型別診断を実施した。

c) ウイルス分離試験

IBVのS1遺伝子が検出された気管、腺胃、腎層、脾臓および腸管の各20%臓器乳剤を200 μ Lずつ、9～11日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に接種し、7日間培養後、鶏胚の観察と尿膜腔液の回収を実施し、これを3代目まで継代した。

d) 分子系統樹解析

IBV分離株2検体について、S1遺伝子の分子系統樹解析を国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門に依頼した。

3) 病理組織学的検査: 常法に従い実施し、MDVとIBVの免疫組織化学染色を国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門に依頼した。

3. 結果

1) 剖検: 3羽の体重は、それぞれ鶏①: 660g、鶏②: 920g、鶏③: 700gであり、雄の13週齢の正常体重2.5kg前後に満たなかった。また、同じロットにも関わらず体重にばらつきがあった(図2)。解剖所見では翼下神経、坐骨神経に軽度の腫脹、心臓では心肥大に心嚢水の貯留、消化管では粘膜の軽度肥厚や充血、点状出血が認められた(図3)。

2) ウイルス学的検査:

a) ウイルス特異的遺伝子の検出

腺胃、肝臓、腎臓、腸管で MDV の特異遺伝子を検出し、気管、腺胃、腎臓、脾臓、腸管で IBV の特異遺伝子を検出した。一方、FAdV、CAstV および ChPV の特異遺伝子はいずれの検体からも検出されなかった(表 1)。

また、検出された IBV の S1 遺伝子について、検査に用いたすべての腺胃、脾臓、腸管では明瞭な増幅が認められたものの、気管では 3 検体中 2 検体、腎臓では 3 検体中 1 検体が不明瞭な増幅であった(図 4)。

b) PCR-RFLP 解析

S1 遺伝子は、当農場で接種している IBV ワクチンの Mass 型ではなく、JP-I 型の切断パターンを示したため、本症例の IBV は JP-I 型の野生株と判定した(図 5)。

c) ウイルス分離試験

鶏②の腺胃と鶏③の腸管から IBV が分離された(図 6)。

d) 分子系統樹解析

IBV の分離株 2 検体とも JP-I 型に分類され、両者間の S1 遺伝子塩基配列 (616 塩基) の類似性は、99.8% が一致した。また、野外株との比較では 2015 年に北海道で分離された株に最も近縁であり (99.5%、99.3%)、ワクチン株との比較では(一財)日本生物科学研究所の C-78 株に最も近縁であった (99.3%、99.1%) (図 7)。

2) 病理組織学的検査：鶏①では一部の臓器と翼下・坐骨神経に、鶏②では全身性に、鶏③では一部の臓器にリンパ球様細胞の浸潤が認められ(図 8)、さらに、免疫組織化学染色の結果、それらのリンパ球様細胞で MDV の癌蛋白質である Meq 抗原が認められた(図 9)。また、3 羽とも共通して腸管粘膜に多数のコクシジウム原虫の寄生を認め、鶏①と鶏③の気管支には細菌塊を伴う細胞頽廃物があり、細菌による二次感染を疑う所見も認められた(図 10)。そして、IBV の免疫組織化学染色の結果、鶏①と鶏②の腸管で少数、鶏③の腎臓と腸管で多数の IBV 抗原が認められた(図 11)。

4. 対応

育すう鶏舎の 1 鶏舎に不具合が生じていたことで、初生時に接種している MDV ワクチンの効果(抗体価の上昇)が十分に発揮する前に、育すう鶏舎から育成鶏舎に移動させざるを得ない状況が、育成鶏舎での MDV 感染に至ったと考えられたので、早期に不具合があった育すう鶏舎を修繕し、適切な育すう管理を確保するよう指導した。また、当農場での IBV ワクチンプログラムは、Mass 型のボーデット 42 株のみだったので、JP-I 型の C-78 株を追加接種するよう指導した(図 12)。指導後の令和 5 年 6 月 6 日の現地調査では、適切な育すう管理が確保されており、近江しゃもの発育不良と下痢は改善していた。しかし、この時に採材したクロアカスワブから JP-I 型の IBV が分離されたため、C-78 株のワクチンを継続して接種するよう指導した。

5. 考察

本症例の原因は不適切な育すう管理による MD の発症が根幹にあり、そのことが IB と鶏コクシジウム症に罹患しやすい状態を作ったと推察された。

一般的に MD による発育不良や鶏コクシジウム症による下痢等は知られている。今回、IB の併発もあったものの従来の呼吸器型 IB や腎炎型 IB とは違い、PCR 検査における IBV の特異遺伝子の増幅が気管や腎臓より消化器で明瞭であったこと、IBV が腺胃や腸管で分離されたこと、さらに、IBV 抗原を腸管で認めたことから IBV による鶏の消化器への影響や発育不良に関する報告について調べたところ、中国で分離された JP-III 型の QX 株による

腺胃腸炎で発育不良を招いた症例²⁾、アメリカ合衆国で分離された Mass 型の M41 株を 10 日齢の鶏胚に接種すると腺胃や腸管に IBV 抗原を多数認めた³⁾などの胃腸炎型 IB の報告があった。これらの報告や検査結果を踏まえ、本症例も胃腸炎型 IB の可能性が考えられ、同時に、胃腸炎型 IB は S1 遺伝子の型別に関係なく起こり得る可能性があると考えられた。

現在、病性鑑定マニュアル第 4 版における IB 検査は、呼吸器型 IB と腎炎型 IB の記載が主となっており、ウイルス学的検査の材料に用いる材料は気管と腎臓となっている。今後、鶏の発育不良を主徴とする症例の場合、消化器も用いて IB の検査を実施することも重要と考える。

6. 参考文献

- 1)Mase, M. et al., Phylogenetic analysis of avian infectious bronchitis virus strains isolated in Japan. Arch Virol. 2004 Oct
- 2)Wang, Y. et al., Isolation and identification of glandular stomach type IBV (QX IBV) in chickens. Chin. J. Anim. Quar. 1998, 15, 1-3.
- 3)Ahmed S Abdel-Moneim. Et al., Immunohistochemistry for detection of avian infectious bronchitis virus strain M41 in the proventriculus and nervous system of experimentally infected chicken embryos. Virol. J., 6:15, 1-7, 2009.

※個人情報および経営状況保護のため、個人や農場を特定できる写真・地図・位置情報は非公開としています。

図 1. 農場と発生鶏舎の見取り図

(非公開)



図 2. 近江しゃもの外貌

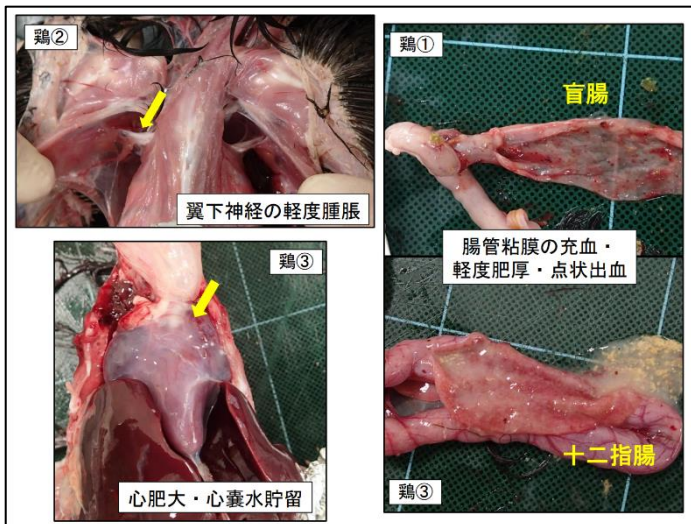


図 3. 解剖所見

表 1. PCR 検査の結果

ウイルス		PCR検査の結果								
		検体								
鶏		気管	腺胃	肝臓	腎臓	脾臓	腸管	心臓	心嚢水	
MDV	①	NT	NT	+	+	NT	+	NT	NT	
	②	NT	+	+	+	NT	+	NT	NT	
	③	NT	+	+	+	NT	+	NT	NT	
IBV	①	+	NT	-	+	+	+	NT	NT	
	②	+	+	-	+	+	+	NT	NT	
	③	+	+	-	+	+	+	NT	NT	
FAdV	①	NT	NT	-	-	-	-	-	NT	
	②	NT	-	-	-	-	-	-	-	
	③	NT	-	-	-	-	-	-	-	
CAstV	①	NT	NT	NT	-	NT	-	NT	NT	
	②	NT	NT	NT	-	NT	-	NT	NT	
	③	NT	NT	NT	-	NT	-	NT	NT	
ChPV	①	NT	NT	-	-	-	-	NT	NT	
	②	NT	NT	-	-	-	-	NT	NT	
	③	NT	NT	-	-	-	-	NT	NT	

+ : PCR陽性 - : PCR陰性 NT : 検査未実施

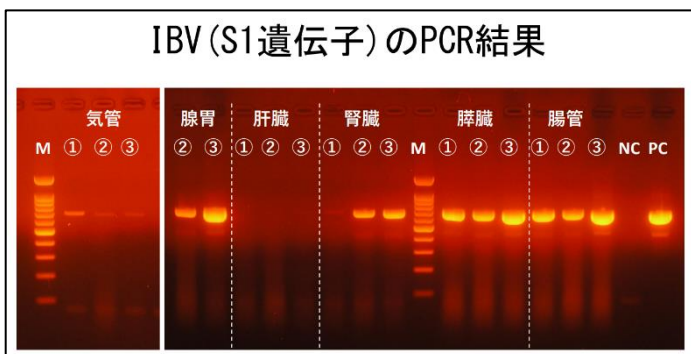


図 4. IBV の S1 遺伝子の PCR 電気泳動像

IBV (S1遺伝子) のPCR-RFLP解析の結果

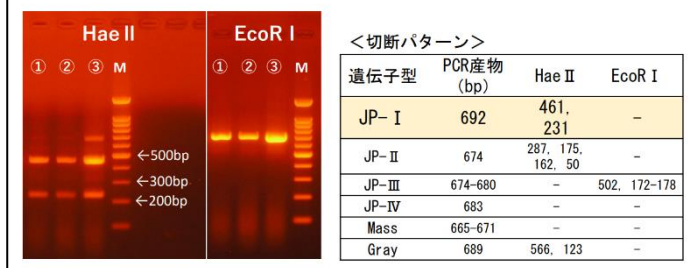


図 5. IBV の S1 遺伝子の PCR-RFLP 解析

ウイルス分離試験の結果



ウイルス	鶏	検体				
		気管	腺胃	腎臓	脾臓	腸管
IBV	①	-	-	-	-	-
	②	-	+	-	-	-
	③	-	-	-	-	+

+ : ウイルス分離陽性
- : ウイルス分離陰性

図 6. IBV のウイルス分離試験

分子系統樹解析の結果

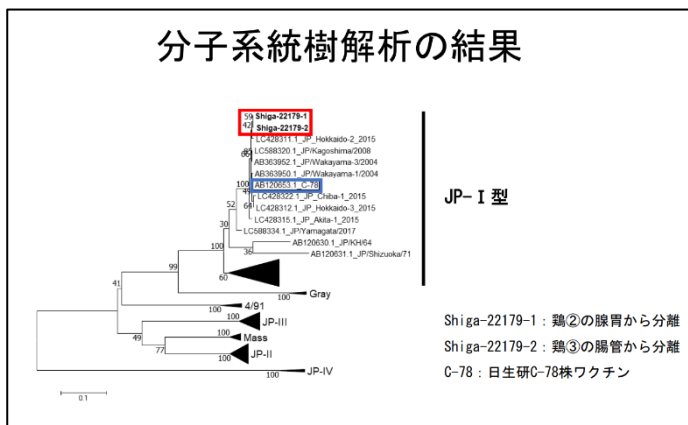


図 7. IBV の S1 遺伝子の分子系統樹解析

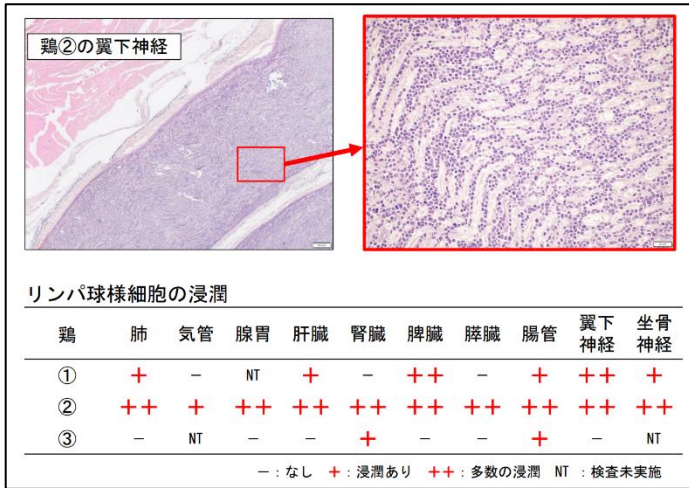


図 8. リンパ球様細胞の浸潤状況

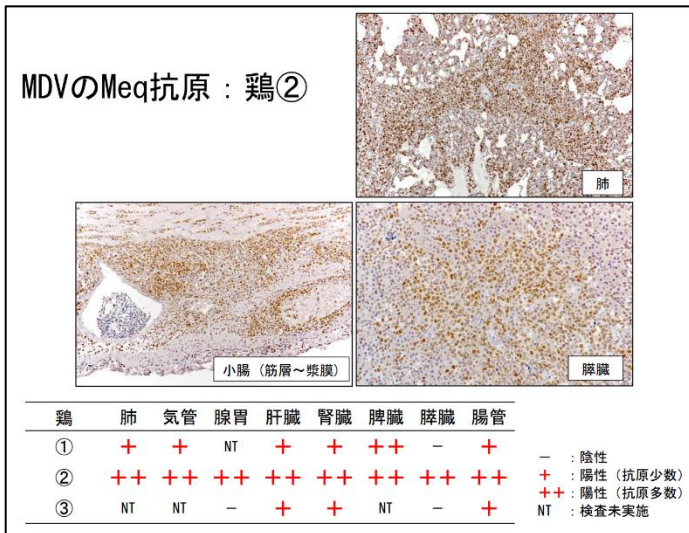


図 9. MDV の Meq 抗原の免疫組織化学染色

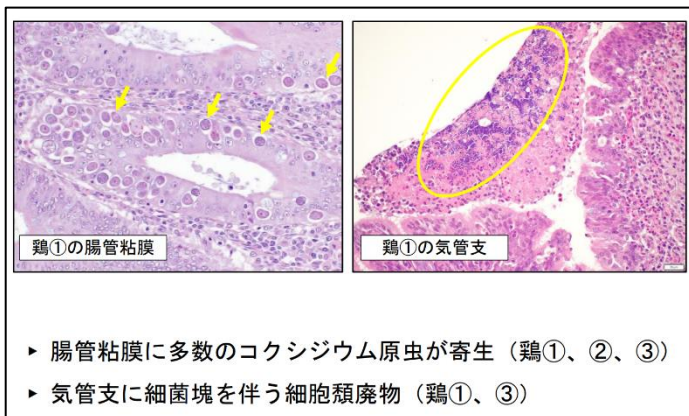


図 10. コクシジウム寄生と気管支の細胞類廃物

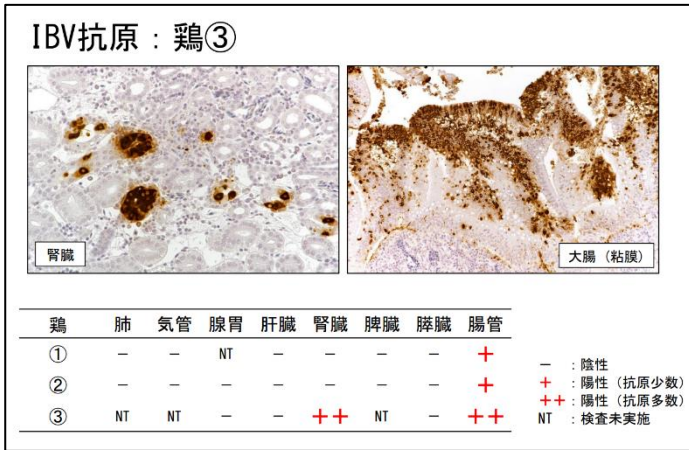


図 11. IBV 抗原の免疫組織化学染色

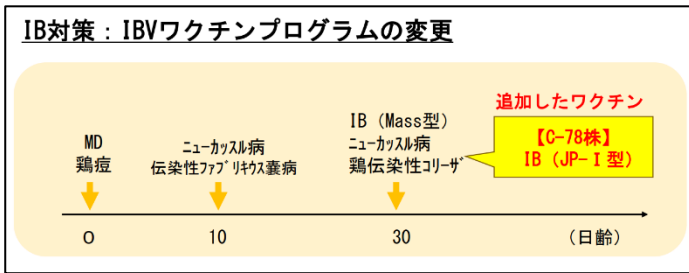


図 12. IBV ワクチンプログラムの変更