

9 大規模育雛場における伝染性気管支炎の発生事例

県中央家畜保健衛生所

関野惣介、小澤優子、大竹祥紘、戸崎香織、中村真弓

はじめに

伝染性気管支炎(以下 IB)はガンマコロナウイルス属(*Gammacoronavirus*)の伝染性気管支炎ウイルス(以下 IBV)による感染症で、届出伝染病に指定されている。主な症状は、呼吸器症状、腎炎、腸炎、産卵障害などであり、養鶏産業に大きな経済的損失を与えている疾病の1つである^{1,2)}。主な予防法はワクチン接種であるが、IBVは抗原変異しやすく、野外株の抗原性は多様である^{2,3)}。そのため、世界中で多くのワクチンが使用されている³⁾にもかかわらず、現在も全国的に発生が継続している⁴⁾。

今回、大規模育雛場において、幼雛のIB発生事例に遭遇し、病性鑑定を行ったので、その概要を報告する。

農場概要と発生状況

1 農場概要

発生農場は、初生から110日齢まで飼養する採卵鶏育雛場であり、ウインドレス鶏舎のバッテリーケージで、ジュリア及びジュリアライトを計36万羽飼養していた。発生時、鶏舎6棟のうち3号鶏舎と6号鶏舎の2棟が建設中、1号鶏舎が空舎で、2号鶏舎、4号鶏舎、5号鶏舎の3棟で各棟12万羽ずつ飼養していた。発生時、2号鶏舎には105日齢の群、4号鶏舎には69日齢の群、5号鶏舎には23日齢の群が飼養されていた(図1)が、今回の発生は、5号鶏舎での発生であった。なお、当時は、工事関係者などの出入りが多

く、また、デビークやワクチン接種などの専門部署では、洗浄・消毒した器具を社内の他の農場と共有して使用していた。

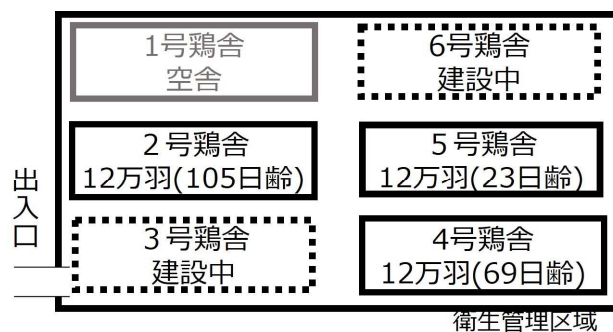


図1 農場概要

2 発生状況

各鶏舎の日齢毎の死亡率を図2に示した。3鶏群はそれぞれ導入日が異なるが、日齢毎の死亡率を比較するために、横軸を日齢にした。

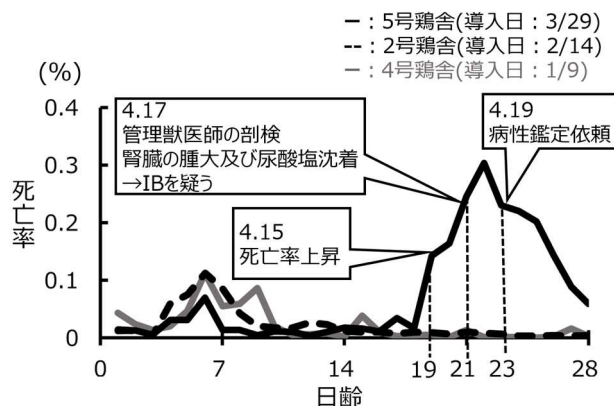


図2 日齢毎の死亡率

2018年4月15日、通常19日齢での死亡率は0.006%程度のところ、5号鶏舎の群で死亡率が0.14%まで上昇した。2日後の4月

17日、死亡率は更に0.24%へ上昇したことから、管理獣医師が剖検し、腎臓の腫大及び尿酸塩沈着を認めたためIBを疑った。更に2日後の4月19日、0.23%と高い死亡率が継続したため、当所に病性鑑定の依頼があった。立入検査をしたところ、発生鶏舎内で死亡鶏の偏りはなく、呼吸器症状も見られなかった。また、日齢の異なる2、4号鶏舎の群に異状は認められなかった。

材料と方法

検査毎の採材状況を表1に示した。

1 病理解剖

死亡鶏5羽、衰弱鶏2羽、計7羽について実施した。

2 ウイルス学的検査

死亡鶏4羽の気管及び腎臓乳剤上清を各々10日齢の発育鶏卵の尿膜腔に接種し、37°C7日間培養を2代継代した。また、発育鶏卵の尿膜腔液を回収し、赤血球凝集(HA)試験及びIBVの特異遺伝子を対象とした逆転写PCR(RT-PCR)を実施した。更に、IBVの特異遺伝子を検出した検体については、PCR産物を用いて制限酵素断片長多型(RLFP)解析を実施するとともに、S1領域(577塩基)について

ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。得られた塩基配列はGenBankから収集した既知のIBV株の塩基配列とともに、MEGA7で整列化し、Neighbor-joining法によって分子系統樹を作成した。なお、遺伝的距離についてはmaximum composite likelihood法により算出し、ブートストラップ解析は1,000回実施した。

3 病理組織学的検査

死亡鶏5羽、衰弱鶏1羽、計6羽から採取した材料について20%中性緩衝ホルマリンで固定後、常法に従いパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。また、全羽の肝臓・心臓について、グラム染色及び過ヨウ素酸・シッフ(PAS)反応を実施した。更に、全羽の腎臓及び気管について、抗IBVモノクローナルマウス血清により免疫染色を実施した。

4 細菌学的検査

衰弱鶏2羽の肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺及び心残血について、常法に従い、5%羊血液加寒天培地を用いて好氣的及び嫌氣的培養、DHL培地、マンニット食塩培地を用いて好氣的培養を実施した。また、No.7の心残血のみ、ハーナーテトラチオン酸塩培地で増菌後、DHL

表1 検査毎の採材状況

検体	病理解剖	ウイルス学的検査	病理学的検査	細菌学的検査	
死亡鶏	No. 1	○	○	○	—
	No. 2	○	○	○	—
	No. 3	○	○	○	—
	No. 4	○	○	○	—
	No. 5	○	—	○	—
衰弱鶏	No. 6	○	—	○	○
	No. 7	○	—	—	○

○：実施

—：実施せず

寒天培地、クロモアガーサルモネラ培地を用いて好氣的培養を実施した。分離菌は簡易同定キットにより同定した。

5 抗体検査(民間検査)

当該農場では、導入 Lot 毎に民間検査機関へ IBV 抗体の ELISA 検査を定期的に依頼しており、0 日齢、30 日齢、60 日齢、100 日齢の計 4 回実施していた。

6 遺伝子解析(S2 領域)

今回、分離された IBV について、S2 領域の遺伝子解析を日生研株式会社に依頼した。

結果

1 病理解剖

死亡鶏全羽において、腎臓の腫大、退色及びモザイク様白斑が認められたが、その他の主要臓器及び消化管に異常は認められなかった。また、鑑定殺を実施した衰弱鶏全羽に著変は認められなかった(図 3、4)。



図 3 死亡鶏の剖検所見
(腎臓の腫大、退色及びモザイク様白斑)



図 4 衰弱鶏の剖検所見
(著変は認められず)

2 ウイルス学的検査

気管及び腎臓乳剤上清を接種した発育鶏卵において、全ての鶏胚で発育不良、カーリングが観察された(図 5)。尿膜腔液の HA 試験は全検体陰性で、RT-PCR 法では全ての検体から IBV の特異遺伝子が検出された。RFLP 解析では、全ての検体で JP-I 型と思われる切断パターンを示した。検出された IBV8 株(気管 4 株、腎臓 4 株)の S1 領域については、全て JP-I 型に分類され、株間の塩基配列は 99% 以上一致し、これらは同一株と考えられた。また、今回の発症鶏に接種されていた JP-I 型のワクチン株 C-78 株との相同性は 88% であった(図 6)。



図 5 鶏胚の発育不良

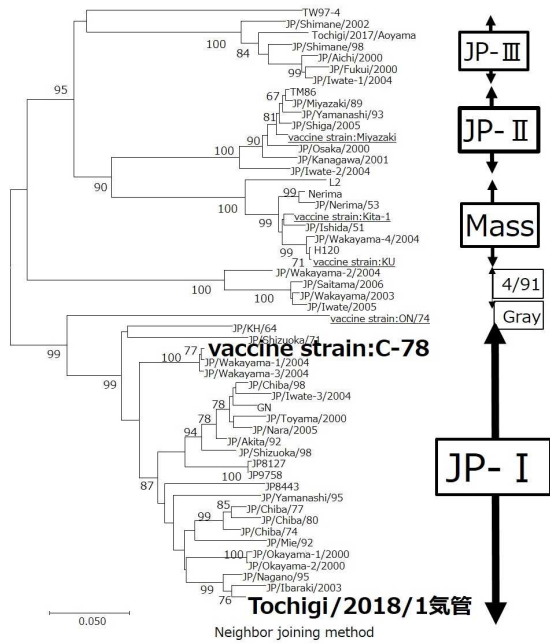


図6 IBVの分子系統樹(S1領域)

※太字で示したのは、今回分離した株

(Tochigi/2018/1気管)及び農場で接種されていたワクチン株(vaccine strain:C-78)

※系統樹の右側に遺伝子型を示す。

※系統樹上の数値はブートストラップ値、スケールバーは塩基置換率を示す。

3 病理組織学的検査

死亡鶏全羽において、腎臓に重度の尿細管間質性腎炎が認められた。尿細管上皮細胞は変性、壊死し、間質には偽好酸球とリンパ球の浸潤、尿細管内には尿酸塩の沈着が認められた(図7、8)。抗IBV血清による免疫染色では、全羽の腎臓で多量の、No. 1、2、5、6の気管でごく少量の陽性抗原が認められた。腎臓の陽性抗原は、変性・壊死した尿細管上皮の細胞質に観察された(図9)。また、No. 7で気管の粘膜固有層に軽度のリンパ球の浸潤が認められた。なお、No. 1、4、5で肝細胞の多発性巣状の肝細胞壊死、No. 6の心臓で限局性に軽度の化膿性心筋炎が観察され、グラム染色及びPAS反応を実施したが、病原体は検出さ

れなかった。

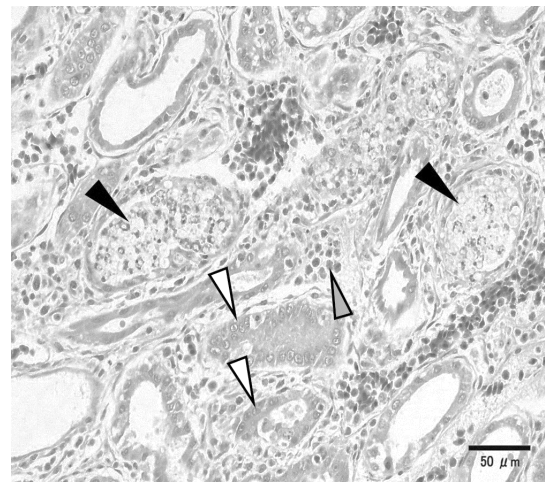


図7 腎臓(HE染色)

- ▷ : 尿細管上皮細胞の変性壊死
- ▷ : 偽好酸球浸潤
- ▷ : 尿酸塩沈着

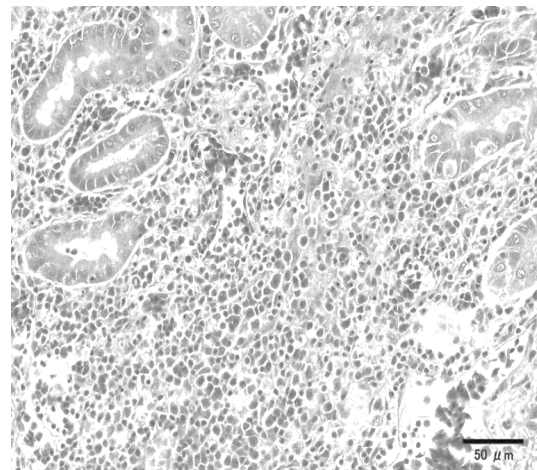


図8 腎臓(HE染色)

リンパ球浸潤

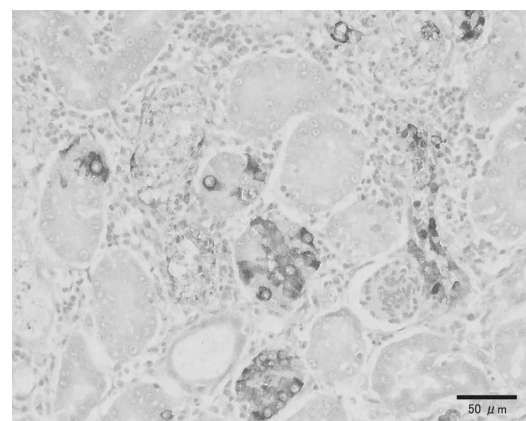


図9 腎臓(免疫染色、抗IBV血清)

4 細菌学的検査

No. 6 の脾臓、腎臓、心臓及び肺から α 溶血性を示すグラム陽性桿菌が分離されたが、同定には至らなかった。No. 7 で、有意な菌は分離されなかった。

5 抗体検査

IB 抗体価の推移及び IB 発生時のワクチネーションプログラムについて、発生鶏舎を図 10、非発生鶏舎を図 11 に示した。3 鶏舎とも導入時期は異なるが、抗体価の推移を比較するため、横軸を日齢にした。

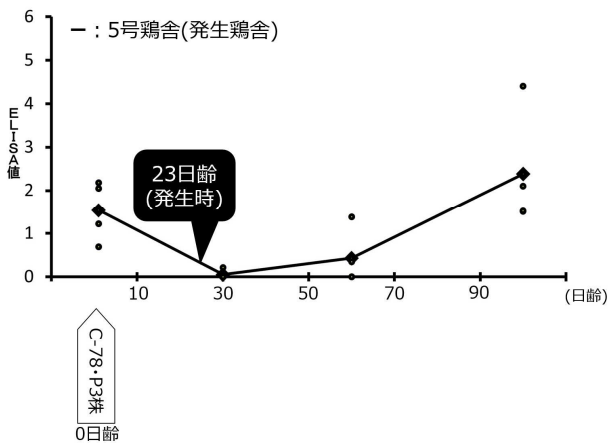


図 10 発生鶏舎の抗体検査結果

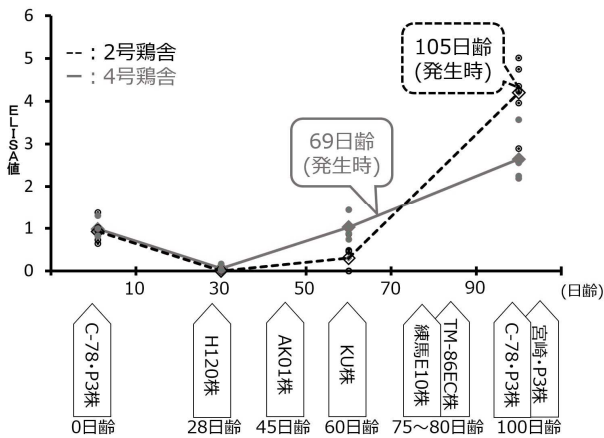


図 11 非発生鶏舎の抗体検査結果

IB 抗体価の動態は 3 鶏舎ともに同様であった。発生鶏舎である 5 号鶏舎は IB 発生時、23 日齢と抗体価が非常に低い時期であり、また、ワクチン接種は初生時の C-78 株の 1 回のみであった。一方、69 日齢であった 4 号鶏舎と 105 日齢であった 2 号鶏舎は、すでに複数回のワクチン接種を実施しており、抗体価の上昇時期にあたっていた。

6 遺伝子解析結果(S2 領域)

今回分離された IBV は、Y4 遺伝子型に分類された。

まとめ及び考察

本症例では、気管及び腎臓乳剤上清を接種した全ての発育鶏卵から IBV の特異遺伝子が検出され、これらは JP-I 型の同一株と考えられた。また、今回の発症鶏に接種されていた JP-I 型のワクチン株 C-78 株との相同性は 88% であったことから、今回検出された株は野外株であると考えられた。更に、全羽の腎臓で尿細管間質性腎炎が認められ、抗 IBV 血清による免疫染色で陽性抗原が認められた。これらのことから、本症例を野外 IBV (JP-I 型) 感染による伝染性気管支炎(腎炎型)と診断した。

今回、野外ウイルスが当該農場に侵入した要因として、IB 発生時、鶏舎建設の工事関係者やデビーク等の作業専門部署の出入りがあり、人や物の動きが多くあったことが考えられた。また、当時は外来者用長靴の準備はされていたものの、専用衣服はなく、車両消毒も十分ではなかった。更に、洗浄・消毒をしているものの、他農場との器具の共有使用もあり、様々な条件が重なって、農場にウイルスが侵入したと考えられた。

また、23日齢の鶏群でのみ発症した要因としては、抗体検査結果から、非発生鶏舎にいた69日齢の群と105日齢の群はワクチン抗体が既に上昇していたのに対し、発生鶏舎にいた23日齢の群は、抗体価が低かったことが考えられた。この理由として、移行抗体は、半減期が3～6日で、孵化後3～4週間までに消失⁵⁾し、発症雛が0日齢で接種されていたワクチンは有効な中和抗体価に達するのに約4週間かかる⁶⁾ため、23日齢の群は、ワクチン抗体が十分上昇する前に移行抗体が消失したことによるものと推測された。

今回の発生後、農場従事者及び工事関係者入場時の車両消毒の徹底(図12)、農場専用衣服だけでなく、鶏舎毎の専用衣服の使用(図13)、その他、人の出入りを必要最低限とする入場制限、農場専用器具の使用などバイオセキュリティの強化を指導した(図14、15)。



図13 バイオセキュリティの強化例②
(鶏舎毎の専用衣服)



図12 バイオセキュリティの強化例①
(車両消毒の徹底)



図14 バイオセキュリティの強化例③
(農場専用衣服の使用)



図15 バイオセキュリティの強化例④
(鶏舎入場時の消毒)

一方、IBV の S2 領域の型別は、S1 領域の型別と同様に血清学的性状の推定に有用とされている^{2,3,8)}。今回分離された IBV は、JP- I 型 (S1 領域)、かつ、Y4 遺伝子型 (S2 領域) であったことから、管理獣医師の指導により、0 日齢での接種ワクチンを JP- I 型で、他のワクチンと比較して Y4 遺伝子型のウイルスに対する効果が高い⁸⁾ S95 株に変更した。更に、S95 株は、C-78 株と比較して有効な中和抗体価に達する期間が早い⁷⁾、抗体価の上昇をより早めるために、0 日齢のみでなく、14 日齢にも接種するようワクチネーションプログラムを変更した (表 2)。

表 2 ワクチネーションプログラムの変更

発生前		発生效后	
日齢	IBワクチン	日齢	IBワクチン
0	C-78.P-3株	0	S95-P7株
28	H120株	14	S95-P7株
45	AK01株	28	H120株
60	KU株	45	AK01株
75-80	練馬E10株 TM-86EC株	60	KU株
100	C-78・P3株 宮崎-P5株	75-80	練馬E10株 TM-86EC株
		100	C-78・P3株 宮崎-P5株

以上の指導を実施したところ、4 月の発生以降、当該農場での IB の発生はない。今後も養鶏農家に対して、バイオセキュリティの強化等を指導し、疾病予防に取り組みたい。

謝辞

稿を終えるにあたり、IBV の系統解析を行うにあたってシーケンサーの使用について御協力いただいた栃木県農業試験場、生物工学研究室の皆様及び分離 IBV の遺伝子解析 (S2 領域) を実施していただいた日生研株式会社に深謝いたします。

参考文献

- 1) 家禽疾病学. 鶏病研究会編. 第一版. 36-37
- 2) 山下秀之, 林志鋒: 日獣会誌, 718-721 (1998)
- 3) 有吉理佳子: MP アグロジャーナル, 12-21 (2010)
- 4) 農林水産省ホームページ「監視伝染病の発生状況」
- 5) 家禽疾病学. 鶏病研究会編. 第一版. 2-4
- 6) 2017 年 4 月改定: 日生研 C-78・IB 生ワクチン, 使用説明書
- 7) 2017 年 1 月改定: ガルエヌテクト S95-IB, 使用説明書
- 8) 林志鋒: 日生研養鶏セミナー2014, 新 IB 生ワクチン ガルエヌテクト S95-IB について