

12. 管内肉用鶏農場における鶏伝染性気管支炎ウイルスの浸潤、病態及び動態調査

豊後大野家畜保健衛生所 1) 大分家畜保健衛生所
 ○ (病鑑) 河上友・汐月貴紀・(病鑑) 滝澤亮・(病鑑) 河野泰三
 病鑑 大木万由子¹⁾・病鑑 梅田麻美¹⁾・病鑑 壁村光恵¹⁾

【はじめに】

鶏伝染性気管支炎 (IB) は IB ウイルス (IBV) の感染で、鶏に呼吸器症状、腎炎、産卵率低下や細菌等の二次感染による死亡率の上昇を引き起こす慢性疾病である。

2021 年、管内肉用鶏 3 戸 4 農場 (A-1、A-2、B 及び C) で IB が発生した。いずれの事例も IB ワクチンは初生 1 回接種もしくは IB ワクチン未接種等、鶏病研究会が推奨する肉用鶏における IB のワクチンプログラム¹⁾とは異なる接種実態であったことから、管内肉用鶏農場における IB ワクチンの接種状況を点検。加えて農場における IB の浸潤状況を検査し、さらに IBV 分離農場ではその病態及び動態を調査したので、概要を報告する。

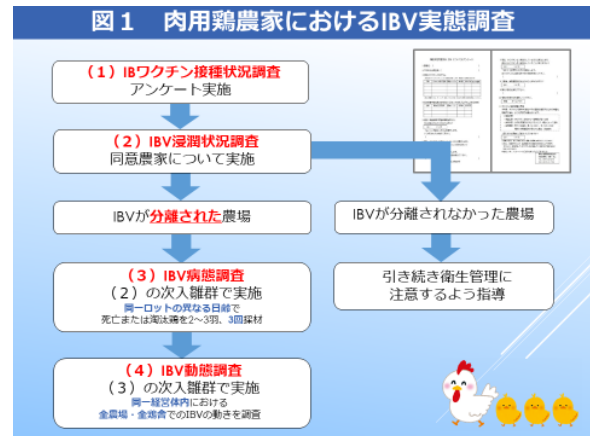
【IBV 実態調査：方法と成績】 (図 1)

(1) ワクチン接種状況調査 (図 2)

ワクチン接種状況等をアンケート調査し、管内肉用鶏農場 32 農場中 27 農場 (84%) から回答を得た。そのうち IB のワクチン接種回数が 2 回以上の農場は 0 農場 (0%)、1 回は 20 農場 (74%)、IB ワクチンを接種していない農場が 7 農場 (26%) であった。また、過去 5 年間に 27 農場中 5 農場で IB と診断されていた (19%)。

(2) IBV 浸潤状況調査 (図 2, 3)

2022 年 4 ~ 6 月の間に、調査の同意を得た 15 農場 (A-1,2、B、C、D、E、F-1,2,3、G、H-1,2、I、J 及び K) について、24 ~ 35 日齢 (一部 90 日齢) の鶏群で IBV 浸潤状況を調査した。1 鶏舎 10 羽分の気管及びクロアカスワブをプールしてウイルス分離を行ったところ、4 農場 (A-1、B、E 及び H-2) で IBV が分離された。分離検体については、PCR 産物を用いて制限酵素断片長多型 (RLFP) 法による遺伝子型別を実施し、A-1 及び E 農場は 4/91 型、B 農場は Mass 型、H-2 農場は JP- I 型に型別された。



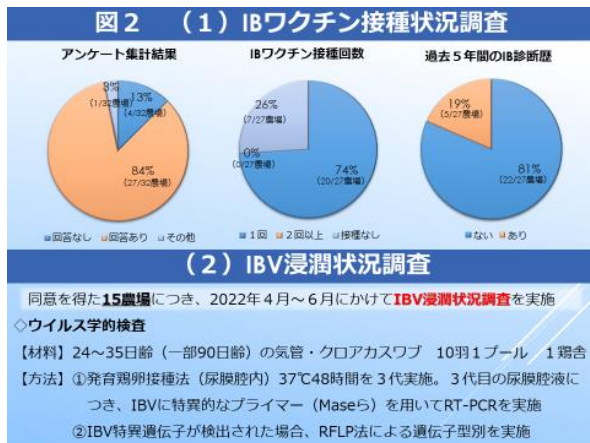


図3 (2) IBV浸潤状況調査

うち同意を得た15農場について、2022年4月～6月にかけてIBV浸潤状況調査を実施。

No	農場	市	飼養羽数	日齢	IBワクチン歴	鶏糞
1	A-1	佐伯市	22,500	35	初生：JP-II	AO (All Out)
2	IBV分離：遺伝子型別4/91					
3	B	竹田市	20,000	24	初生：Mass,4/91	AO
4	C	竹田市	33,000	35	初生：JP-I	堆積
5	D	豊後大野市	1,400	90	-	AO
6	E	豊後大野市	84,000	32	初生：JP-I	堆積orAO
7	IBV分離：遺伝子型別4/91					
8	F-2	佐伯市	12,500	33	-	AO
9	F-3	佐伯市	23,500	30	-	AO
10	G	佐伯市	17,500	33	-	AO
11	H-1	竹田市	22,000	27	初生：Mass	AO
12	H-2	竹田市	23,000	24	初生：Mass	AO
13	IBV分離：遺伝子型別JP-I					

ワクチン株と異なる遺伝子型のIBVが分離された3農場について追跡検査

(3) IBV病態調査 (図4)

IBVが分離された4農場のうち、使用ワクチン株と異なるIBV遺伝子型が分離された3農場（A-1、E、H-2）について、IBVの病態を調査した。病態調査はIBV浸潤状況調査を実施した鶏舎と同一の鶏舎において、死亡または淘汰鶏を2～3羽、3ステージで採材し、細菌、ウイルス及び病理組織学的検査を実施した。ウイルス分離された場合、RFLP法による遺伝子型別を実施した。

図4 (3) IBV病態調査

ワクチン株と異なるIBV遺伝子型が分離された3農場で実施。

各農場について同一ロットの異なる日齢で死亡または淘汰鶏を2～3羽、3回採材し、腎臓、肺及び気管を中心に病理、ウイルス及び細菌学的検査を実施

◇病理組織学的検査

【材料】腎臓、肺、気管及び必要に応じてその他臓器

【方法】①定法に基づきHE染色

②マウス抗IBVモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的染色（IHC）

◇ウイルス学的検査

【材料】腎臓、肺及び気管 プール検体

【方法】①発育鶏卵接種法（尿管腔内）37℃48時間を3代実施。3代目の尿管腔液について、IBVに特異的なプライマー（Mase-R）を用いてRT-PCRを実施

②IBV特異遺伝子が検出された場合、RFLP法による遺伝子型別を実施

◇細菌学的検査

【材料】主要臓器及び脳

【方法】5%羊血液加寒天培地（CO₂、嫌気）、DHL寒天培地及びFESサルモネラⅡ寒天培地で37℃24時間培養

【結果】

① A-1農場（採材日齢：15、29、42日齢）（図5、6）

前鶏群は初生で遺伝子型JP-II型のIBワクチンを接種していたが、当該鶏群にはIBワクチンは未接種であった。

ウイルス学的検査で29日齢の鶏1羽からIBVが分離され、遺伝子型はJP-II型と推察された。当該鶏では病理組織学的検査で気管の粘膜固有層に軽度～中等度のリンパ球浸潤や粘膜上皮細胞の増殖が認められ、免疫組織学的検査（IHC）で病変部にわずかに陽性抗原が確認された。また、細菌学的検査で肝臓及び肺から大腸菌が分離された。

図5 結果 A-1農場（佐伯市）

採材	日齢	剖検	病理	ウイルス	細菌
1回目 (2022/7/5)	15	著変なし	腎臓尿管に軽度石灰様沈着物 (1/3)	分離陰性	分離陰性
2回目 (2022/7/19)	29	肝包膜炎、心外膜炎、肺及び腎臓の浸潤 (1/3)	気管粘膜固有層に軽度～中等度のリンパ球浸潤や粘膜上皮細胞の増殖 (1/3) IHCでIBV抗原陽性 (1/3)	JP-II型 (1/3) 分離	大腸菌 (2/3) ブドウ球菌 (1/3)
3回目 (2022/8/1)	42	肺及び腎臓の浸潤、肝包膜炎及び心外膜炎	気管粘膜固有層にごく軽度～中等度のリンパ球浸潤 (3/3) 気管粘膜上皮細胞の線毛消失 (1/3)	分離陰性	大腸菌 (3/3)

29日齢 (No.2) 気管 IBV IHC わずかに抗原陽性

図6 結果 A-1農場（佐伯市）

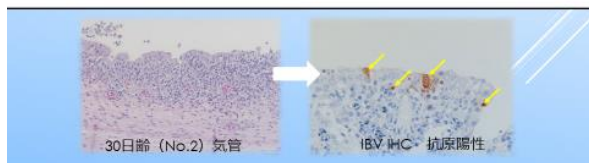
採材	日齢	剖検	病理	ウイルス	細菌
1回目 (2022/7/5)	15	著変なし	腎臓尿管に軽度石灰様沈着物 (1/3)	分離陰性	分離陰性
2回目 (2022/7/19)	29	ワクチン未接種にも関わらずワクチン株と同じ遺伝子型		JP-II型 (1/3) 分離	大腸菌 (2/3) ブドウ球菌 (1/3)
3回目 (2022/8/1)	42	肺及び腎臓の浸潤、肝包膜炎及び心外膜炎	気管粘膜固有層にごく軽度～中等度のリンパ球浸潤 (3/3) 気管粘膜上皮細胞の線毛消失 (1/3)	分離陰性	大腸菌 (3/3)

29日齢 (No.2) 気管 IBV IHC わずかに抗原陽性

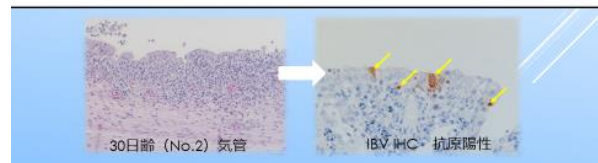
② E農場（採材日齢：17、30、41日齢）（図7、8）

農場では常に初生で遺伝子型 JP- I 型の IB ワクチンを接種していた。
ウイルス学的検査で 30 日齢の 2 羽から IBV が分離され、うち 1 羽の遺伝子型は JP- I 型、もう 1 羽の遺伝子型 4/91 型と JP- I 型の 2 種類と推察された。当該鶏では病理組織学的検査で気管の粘膜固有層に中等度～重度のリンパ球浸潤や粘膜上皮細胞の線毛消失が認められ、IHC で病変部に陽性抗原が確認された。また、細菌学的検査でそれぞれ肺から大腸菌、気管からブドウ球菌が分離された。

採材	日齢	剖検	病理	ウイルス	細菌
1回目 (2022/6/7)	17	著変なし	著変なし	分離陰性	分離陰性
2回目 (2022/6/20)	30	著変なし	気管粘膜固有層に 中等度～重度のリンパ球浸潤 や粘膜上皮細胞の線毛消失 (2/2) IHCでIBV抗原陽性 (2/2)	4/91型 (2/2) JP- I 型 (1/2)	大腸菌 (1/2) ブドウ球菌 (1/2)
3回目 (2022/7/1)	41	著変なし	気管粘膜固有層に 軽度～中等度のリンパ球浸潤 (3/3)	分離陰性	大腸菌 (1/3) ブドウ球菌 (1/3)



採材	日齢	剖検	病理	ウイルス	細菌
1回目 (2022/6/7)	17			接種したワクチン株と 異なる遺伝子型	分離陰性
2回目 (2022/6/20)	30			接種したワクチン株と 同じ遺伝子型	4/91型 (2/2) JP- I 型 (1/2)
3回目 (2022/7/1)	41	著変なし	気管粘膜固有層に 軽度～中等度のリンパ球浸潤 (3/3)	分離陰性	大腸菌 (1/3) ブドウ球菌 (1/3)



③ H-2農場（採材日齢：16、30、39日齢）

農場では常に初生で遺伝子型 Mass 型の IB ワクチンを接種していた。
ウイルス学的検査ですべての検体から IBV は分離されず、病理組織学的検査でも IBV の関与を疑う病変は認められなかった。なお、細菌学的検査で 30 日齢の 2 羽からサルモネラ属菌が分離された。

(4) IBV 動態調査（図9、10）

農場や鶏舎間での往来に伴う IBV 拡散の可能性を動態調査として実施した。(2) 及び (3) の調査を実施した農家が所有する各農場の全鶏舎につき、IBV 病態調査で IBV の感染が認められた 30 日齢前後 (26 ~ 34 日齢) で 1 鶏舎あたり 10 羽分の気管及びクロアスワブをプールしてウイルス分離を行った。分離検体については、RFLP 法による遺伝子型別を実施した。

[結果]

A-1 農場及び所有者を同一とする A-2 農場では IBV は分離されなかった。

E 農場では浸潤状況及び病態調査で IBV が分離された鶏舎で IBV は分離されず、異なる鶏舎で IBV が分離され、分離ウイルスの遺伝子型はワクチン株と同じ JP- I 型及び型別不明であった。

H-2 農場では浸潤状況調査で IBV が分離された鶏舎及び隣接する鶏舎から IBV が分離され、遺伝子型は JP- I 型であり、ワクチン株とは異なっていた。なお、所有者を同一とする H-1 農場からも IBV が分離され、遺伝子型は Mass 型であり、ワクチン株と同じ遺伝子型であった。

図9 (4) IBV動態調査

同一経営体内における全農場・全鶏舎でのIBVの動きについて実施
 これまでの調査でウイルスの動きがみられた30日齢前後（26～34日齢）で
 ウイルス学的検査を実施

◇ウイルス分離
 【材料】気管スワブ、クローカスワブ 10羽1プール 全鶏舎
 【方法】①発育鶏卵接種法（尿膜腔内）37℃3～4日間を3代実施
 3代目の尿膜腔液について、IBVに特異的なプライマー
 （Maseら、2004）を用いてRT-PCRを実施
 ②IBV特異遺伝子が検出された場合、RFLP法による遺伝子型別を実施

図10 IBV動態調査 結果

農場	IBワクチン	鶏舎番号	IBV分離状況（標記は遺伝子型）		動態調査
			浸潤状況調査	病態調査	
A-1農場	JP-II	—	4/91	JP-II	分離陰性
A-2農場	JP-II	—	分離陰性	—	分離陰性
E農場	JP-I	0号	—	—	分離陰性
		1号	4/91	4/91, JP-I	分離陰性
		2号	—	—	分離陰性
		3号	—	—	分離陰性
		4号	—	—	分離陰性
		5号	—	—	分離陰性
		6号	—	—	型別不明
		7号	—	—	型別不明
		8号	—	—	JP-I
H-1農場	Mass	1号	—	—	分離陰性
H-1農場	Mass	2号	分離陰性	—	Mass
		3号	—	—	分離陰性
		4号	—	—	分離陰性
		1号	—	—	JP-I
H-2農場	Mass	2号	JP-I	分離陰性	JP-I
		3号	—	—	検査中

(5) 遺伝子解析

浸潤状況調査、病態調査、動態調査で分離された 10 株のうち 9 株について（H-2 動態については実施中）、S1 領域(538塩基)を対象とし遺伝子解析を実施した。

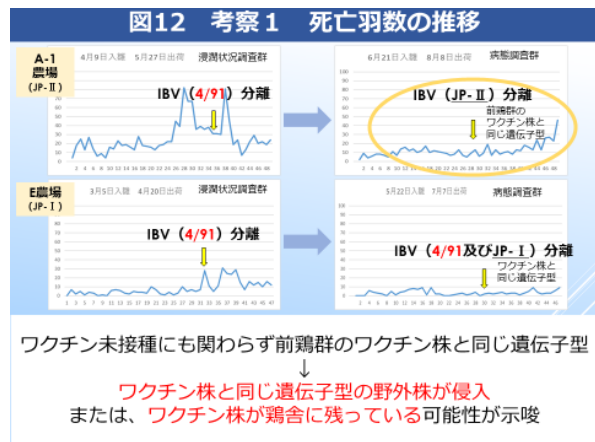
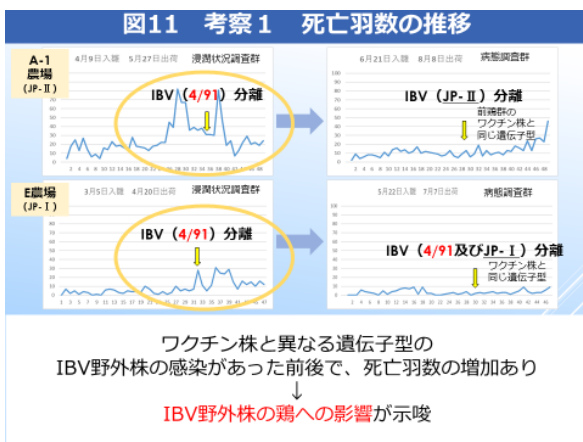
RFLP 型別で4/91型に分類された 3 株は4/91 ワクチン株との相同性が99.4～99.6%（A-1 浸潤、E 浸潤、E 病態）、JP- I 型 4 株は C-78 ワクチン株との相同性が99.2～99.4%（H-2 浸潤、E 病態、E の別鶏舎動態 2 株）、JP- II 型 1 株は TM86 ワクチン株との相同性が 100%（A-1 病態）、Mass 型 1 株は H120 ワクチン株、Ma5 ワクチン株との相同性が 96.4%、JP/Nerima/53 ワクチン株との相同性が99.0%（H-2 関連農場）であった。
 また、E農場で分離された4/91型 2 株（E 浸潤、E 病態）の相同性は、99.6%であった。

【考察】

①死亡羽数とIBVとの関連性

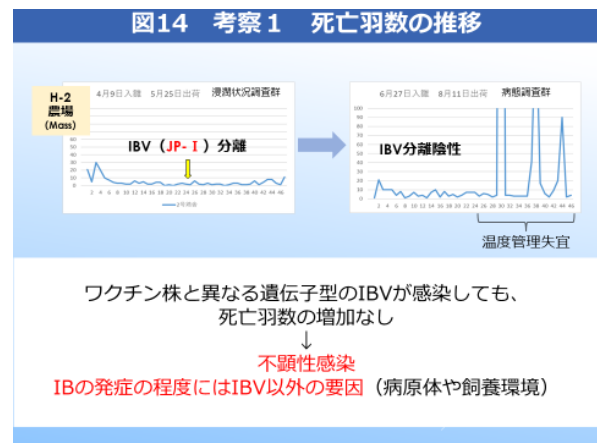
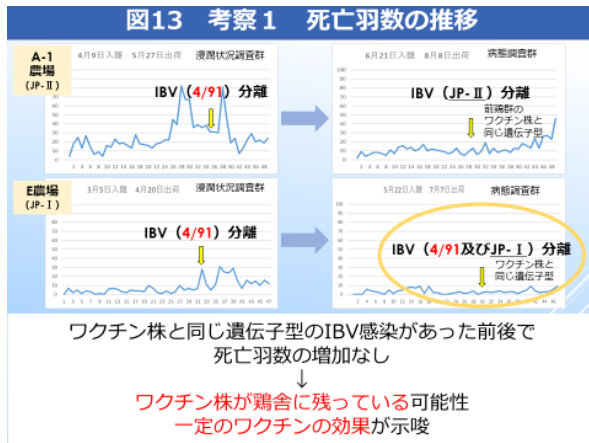
各農場のIBV浸潤状況調査群及び病態調査群について、死亡羽数の推移とIBV分離状況の関連性を以下のとおり考察した。

A-1 農場及びE農場では、野外株と推察されるIBV（遺伝子型4/91型）の感染が認められた前後で死亡羽数の増加がみられ、鶏の死亡への影響が示唆された（図11）。A-1 農場ではワクチン未接種鶏群において、使用ワクチン株と推察されるIBVが分離され、使用ワクチン株が鶏舎に残存している可能性が示唆された（図12）。



E農場では使用ワクチン株と推察されるIBV（遺伝子型JP- I 型）の感染が確認された前後で、野外株と推察されるIBV（遺伝子型4/91型）の感染が認められたにも関わらず、

死亡羽数の増加はみられなかった。このことから、鶏舎内に使用ワクチン株が残存している可能性とともに、使用ワクチンによる一定の効果が示唆された（図 13）。



H-2農場では、使用ワクチン株と異なる遺伝子型のIBVが感染しても死亡羽数の増加はみられなかった。このため、鶏群ではIBVの不顕性感染で保持したこと、IBの発症程度には①などのIBV以外の要因（他の病原体や飼養環境）が影響していることが示唆された（図 14）。

② IBVの伝播経路

動態調査の結果から、農場間や鶏舎間をIBVが伝播し残存している可能性が推察され、農場間及び鶏舎間での人の往来、鶏糞処理、消毒方法、空舎期間等について下記のとおり比較考察した。

A-1農場とA-2農場については鶏糞をオールアウトしているものの、農場間の人の往来があり、また、給水器や給餌器を外さず水洗のみで、空舎期間12日ほどと短いことから、農場や鶏舎にウイルスが残る可能性が考えられた。

E農場については鶏舎が10棟と比較的多く、鶏糞は堆積、給水器や給餌器も外さず消毒するため、消毒が不十分なことから、鶏舎にウイルスが残る可能性が考えられた。

H-1農場とH-2農場については空舎期間が30日と長く、給水器や給餌器は外して水洗・乾燥。また、鶏糞はオールアウトを行っていた。しかしながら、農場間や鶏舎間で人の往来があることから、人の移動を介しウイルスが伝播する可能性が考えられた。

【まとめ】

今回の調査により、管内の複数の肉用鶏農場でIBVの感染を確認した。また、鶏病研究会が推奨するワクチンプログラムと異なるワクチン接種の実態が判明し、これが疾病発生の一要因と推察した。

浸潤状況調査によって、3農場で使用ワクチン株と異なる遺伝子型のIBVを分離し、遺伝子解析の結果から野外株と推察した。また、病態調査によって30日齢前後でのウイルスの動きを確認した。分離ウイルスはワクチン株と推察されるもの（A-1及びE）及び野外株と推察されるもの（E）であると判明した。

今回の調査では、2つの農場（A-1及びE）で遺伝子型4/91型のIBVが分離され、いずれも死亡羽数の増加を伴った。両農場は（4）の調査の次入雛群でもIBVの関与とみられる死

亡羽数の増加が確認されており、A-1農場については遺伝子型4/91型のIBVを分離、E農場については病理組織学的検査のIHCで病変部に陽性抗原を確認し、ウイルス分離を継続中である。

農場間や鶏舎間でIBVの伝播や残存が起こる原因として、飼養管理状況や育成率等を精査した結果、農場及び鶏舎間における人の往来、鶏糞処理、消毒方法、空舎期間等が影響している可能性が示唆された。

一連の調査結果は成書通りのものとなったが、実際にウイルスを分離してその病態や動態を農家が自身の目で確認することで、ワクチンプログラムの変更等に農家の理解が深まったと考える。中でもA-1農場については、次回入雛群について初生で遺伝子型4/91型、農場で遺伝子型JP-II型のIBワクチンを接種に変更されている。なお、現在、今回の調査結果を元に農場の水洗・消毒を含めた衛生指導を実施中であり、A-1及びA-2農場とH-1農場については水洗・消毒後の環境調査でもIBVは分離されておらず、水洗・消毒の効果が確認されている。

最後に、ウイルスの遺伝子解析を実施していただいた、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 動物感染症研究領域 井関博先生に深謝いたします。

【参考文献】

- 1) 鶏病研究会：総合ワクチネーションプログラム2017，鶏病研究会報53巻2号，82-95（2017）
- 2) Mase, M., Tsukamoto, K., Imai, K. and Yamaguchi, S. 2004. Phylogenetic analysis of avian infectious bronchitis virus strains isolated in Japan. Arch. Virol. 149: 2069-2078.