

## 12. 若齢ブロイラーで発生した鶏封入体肝炎

大分家畜保健衛生所

○病鑑 坂田 真友子 病鑑 山田 美那子

### 【はじめに】

鶏封入体肝炎（IBH）は鶏アデノウイルス（FAV）によって発症する感染症で、3～7週齢の肉用鶏に多発する。FAVは不顕性感染が多いことが知られており、発病の誘因として伝染性ファブリキウス嚢病や鶏貧血ウイルス（CAV）の関与が報告されている。本病は2009年から2010年にかけて全国的に発生しており、本県においても発生が見られたので、その概要について報告する。

### 【発生農場概要】

農場はブロイラー（チャンキー種）約4万羽を開放鶏舎で平飼いしている（図1）。農場は1号、2号鶏舎から成り、1鶏舎は狭い通路で3つに仕切られ、1区画には6,900羽が飼養されている。入雛日は、1号鶏舎が2010年3月18日、2号鶏舎は3月24日であった。1号鶏舎において、入雛1週間後から約1週間死亡の増加が認められ（図2）、13日齢時に農場から豊後大野家保に連絡があったため、立入及び採材を行った。

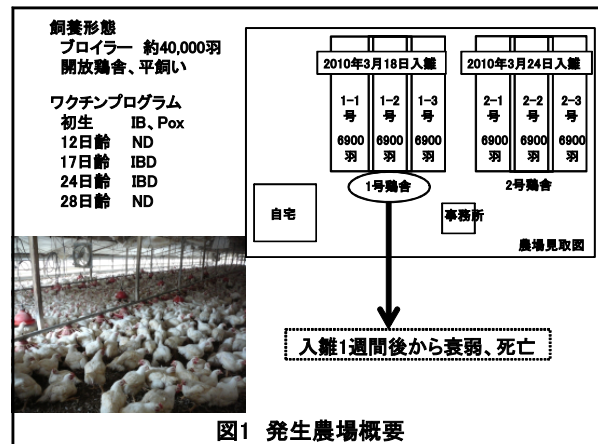


図1 発生農場概要

### 【材料及び方法】

13日齢のひな9羽（No. 1～9）を鑑定殺し、病理解剖後、3羽ずつを病理、細菌、ウイルス検査に供した。ウイルス抗体検査には、発症時の同居鶏4羽（13日齢）、2009年の12月に導入した発症前のロットの20羽（20～40日齢）及び2010年9月に導入した10羽（39日齢）の計34羽の血清を供試した。環境材料として、1号、2号鶏舎の飼料、水、壁面のスワブ及び敷料計8検体を用いた。

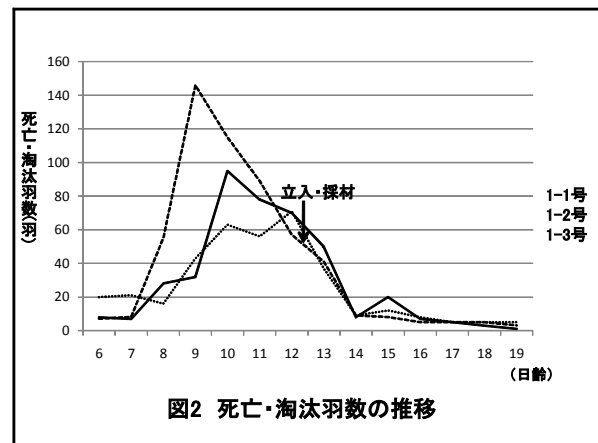


図2 死亡・淘汰羽数の推移

### 1. 病理組織学的検査

No. 1～3の主要臓器、脳、筋胃、F嚢、気管を用いて、定法に従い、10%中性緩衝ホルマ

リンで固定し、パラフィン包埋を行い組織切片を作製した。組織切片はヘマトキシリン・エオジン（HE）染色後、鏡検した。

## 2. 細菌学的検査

No. 4～6の主要臓器5%馬血液寒天培地及びDHL寒天培地を用い、好気、嫌気条件下で分離培養した。分離菌の薬剤感受性試験については、P、AMPC、EM、TC、LCM、ST、SO、EFRX、NFRX、OFLX、NAについて行った。

## 3. ウイルス学的検査

### 1) ウイルス分離

No. 7～9について検査した。

#### ①発育鶏卵接種

気管、肝臓、腎臓の10%乳剤を発育鶏卵漿尿膜腔内に接種し、37℃で培養後、胚を観察し、漿尿膜腔液を用いて赤血球凝集（HA）試験を行った。

#### ②細胞接種

肝臓の10%乳剤を鶏胚肝（CEL）細胞及びMSB1細胞に接種し、それぞれ37℃で4～5日間培養し、細胞変性効果（CPE）を観察した。

### 2) 遺伝子検索

No. 7～9の肝臓及び環境材料からDNAを抽出し、FAVについてPCR法を行った。また肝臓からDNAを抽出しCAVについてPCR法を行った。分離株については、RFLP法を行い、制限酵素*Hae* IIでPCR産物を切断し、型別を試みた。また、PCR産物についてダイレクトシーケンスを行い、遺伝子の分子系統樹解析を行った。

3) 血清型別：FAV血清型1～8型参照株の特異抗血清を用いてウイルス中和試験により判定。

4) 血清学的検査：FAV分離株を用いてウイルス中和試験により抗体価を測定。

## 【検査成績】

剖検では9羽に肝臓の肥大、退色、出血、脆弱化が様々な状態で見られ(図3)、採食していない個体が散見され、9羽中1羽に心外膜炎が観察された。

病理組織学的所見では3羽に共通して肝臓に好塩基性核内封入体を伴う肝細胞の変性壊死がびまん性に広がり（写真1）、No. 1の脾臓には好塩基性核内封入体がわずかに観察された。また、3羽に共通して、脾臓に著しいリンパ球の減少が認められた（写真2、表1）。

・肝臓の肥大、退色、出血、脆弱化  
・採食していない個体が散見  
・心外膜炎(1/9)



図3 剖検所見

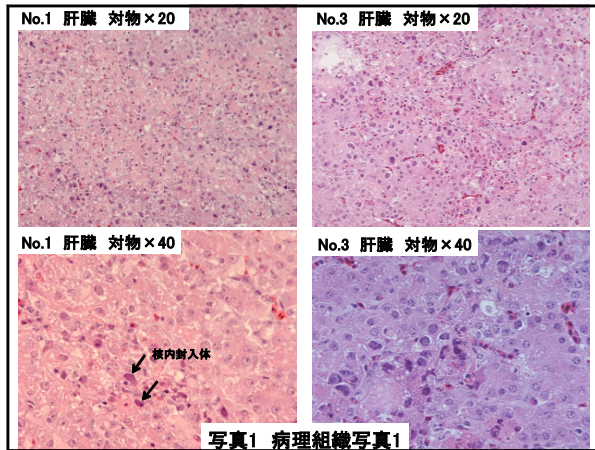


写真1 病理組織写真1

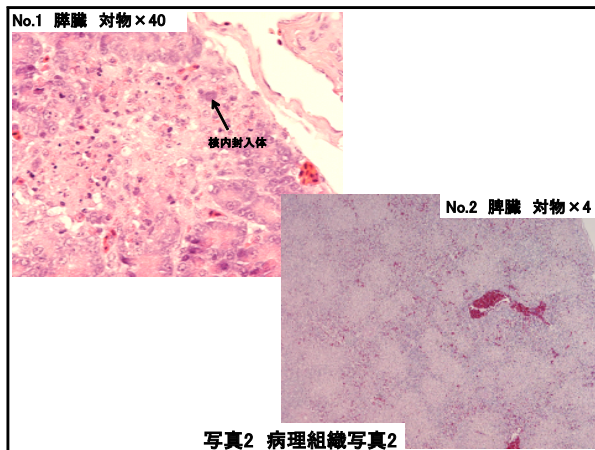


写真2 病理組織写真2

		No.1	No.2	No.3
肝臓:	肝細胞の変性壊死	+++	+++	+++
	好塩基性核内封入体	+++	+	+++
	偽好酸球の集簇	-	-	++
脾臓:	リンパ球の減少	+++	+++	+++
腎臓:	リンパ球の浸潤	-	-	-
	偽好酸球浸潤	-	-	+
心臓:	間質への偽好酸球浸潤	-	-	+++
肺:	偽好酸球浸潤	-	-	++
中枢神経系:	囲管性細胞浸潤	-	-	-
膵臓:	多発巣状壊死	+	+++	-
	偽好酸球浸潤	+	-	-
筋胃:	びらん・潰瘍	-	-	-
十二指腸:	粘膜固有層に偽好酸球浸潤	-	-	-
盲腸:	粘膜固有層に偽好酸球浸潤	++	-	-
F囊:	リンパ球の減少・萎縮	+++	NT	++
気管:	粘膜上皮下にリンパ球浸潤	-	-	NT

NT:実施せず

表1 病理組織学的検査成績

細菌学的検査では、3羽中1羽の心臓と肝臓から大腸菌が分離され、薬剤感受性試験の結果、P、AMPC、EM、LCM、ST、SO、NAが耐性、TC、EFRX、NFRX、OFLXが感受性を示した。

ウイルス学的検査の結果、発育鶏卵接種では鳥インフルエンザウイルス及びニューカッスル病ウイルスは分離陰性であった。発育鶏卵に鶏胚の出血、発育不良等は認められなかった。細胞接種ではCEL細胞1代目でCPEを確認した。

遺伝子検索では、肝臓3検体と2号鶏舎の敷料1検体からFAVに特異的な遺伝子を検出した。CEL細胞で肝臓から分離したウイルスについて、PCR産物からRFLP法を行い、分離株の切断像を参照株と比較したところ、同じものは無く、型別不明となった(図4)。図4泳動図のNo. 11は、当県で2008年に筋胃びらんから分離した血清型1型の株で、参照株No. 1のOte株(血清型1型)と一致しているが、分離株とは一致しなかった。

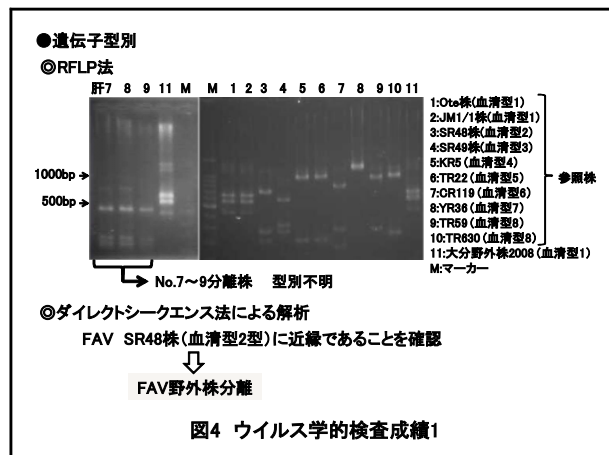


図4 ウイルス学的検査成績1

ダイレクトシーケンスによる解析結果では、分離株はSR48株に近縁であることが確認され、FAVの野外株であることが示された。図5に分子系統樹を示す。大分分離株を含むD県からG県までは全く同じ配列を示し、B県とK県で分離されたウイルスの遺伝子配列とは1塩基異なっていた。

各県の発生状況を比較したところ、すべてが若齢での発生で、血清型2型、同一鶏種での発生であった。死亡率にも大きな違いは見られなかった(図6)。

血清型別においてもSR48と相同性が97.2%と最も高く、血清型2型と判定した(図7)。

次に分離株に対する抗体検査では、発症群とその1つ前のロットの2009年12月導入群ではほとんどが抗体陰性であったが、発生後の検体では1024倍までの高い抗体価を示した。

【まとめ及び考察】

2010年3月下旬にブロイラー農場で、1週齢から約1週間死亡羽数が増加し、病性鑑定の結果、FAVが分離され、肝臓に好塩基性核内封入体を伴う肝細胞の変性壊死が観察されたため、IBHと診断した。また、遺伝子型別及び血清型別により、FAV分離株は血清型2型と判定された。分離株を用いた抗体検査では、発症前は20検体中18検体が2倍未満であったが、発症後は2倍未満から1024倍と抗体の保有が認められた。

当農場では鶏種BからAへの変更後に発症が見られたが、その後は1・2号鶏舎ともに発生は認められていない。

本病は2009-10年に全国で発生しており、本県での発生も他県と類似し、分離株も近似していた。当農場では鶏種BからAに変更した後に本病が発生し、全国的にも鶏種Aのみでの発生となっている。また、経過も1週間程度と短く、その後の発生も見られないことから、移行抗体を持たない鶏種であったため、発症しやすかったのではないかと考えられた。

当該農場では、発生後に導入された鶏群の抗体保有率が増加し、新たな野外株が侵入したと考えられ、症状を示さない鶏群でも、農場からFAV遺伝子が検出されたり、抗体保有が見られることから、不顕性感染が疑われた。

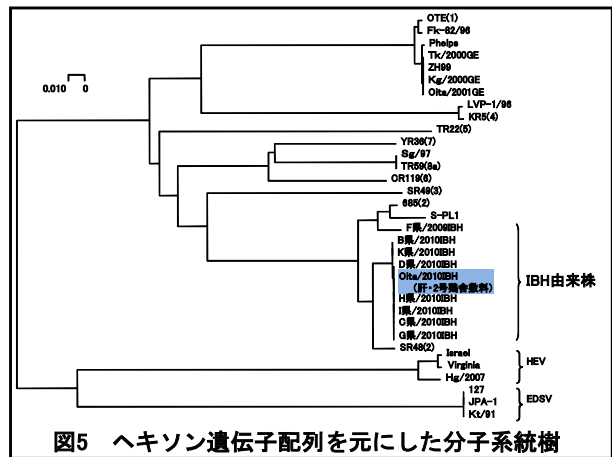


図5 ヘキソン遺伝子配列を元にした分子系統樹

	死亡率(%)	発症日齢	血清型	鶏種
A県	4.6	8-11	2型	A
B県	2.7	12-16	2型	A
C県	7.1	17-20	2型	A
D県	3.4	8-12	2型	A
E県	17.0	9-14	2型	A
F県	2.0	15-	2型	A
G県	5.0	9-13	2型	A
H県	不明	7-13	2型	A
I県	2.2	10-13	2型	A
J県	3.9	8-15	2型	A
K県	2.7	11-	2型	A
L県	3.3	12-	2型	A
J県	7.4	1-16	2型	A
K県	1.2	18-21	2型	A
K県	2.9	19-	2型	A
大分県	5.6	9-15	2型	A
L県	6.2	17-23	2型	A

動物研 中村ら

図6 各県のIBH発生状況(2009-10年)

4) 血清型別

	FAV株							
	OTE 1型	SR48 2型	SR49 3型	KR5 4型	TR22 5型	CR119 6型	YR36 7型	TR59 8a型
相対率 (%)	66.4	97.2	76.1	64.1	67.8	73.4	71.7	72.1

↓  
血清型2型と判定

5) 血清学的検査

FAV抗体価 (倍)	<2	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
2009年											
12月導入群	18	1			1						
2010年											
3月発症	4										
2010年											
9月導入群	2		3		1		1	1	1	1	1

図7 ウイルス学的検査成績2

以上のことから、本症例は、移行抗体を持たないひなが感染し、輸送ストレスや温度変化等の環境要因が重なり発症したものと考えられた。

本病においては、ワクチンが無いため予防は困難であること、また1週間程度で終息することから、免疫低下を防ぎ重篤化を避けることが必要であり、他の病原体のコントロールや衛生管理等を徹底することが重要と考えられた。

#### 【謝辞】

RFLP法、分子系統樹解析及び血清型別にご協力いただいた、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所の真瀬昌司先生、財団法人化学及血清療法研究所の太田秀幸先生に深謝致します。