

16 マイコプラズマ・シノビエの関与が疑われた卵殻異常に関する一考察

中央家畜保健衛生所

川本 雄太・山脇 義成・森田 光太郎

マイコプラズマ・シノビエ (MS) は、卵殻尖端部の異常に関与することが知られている¹⁾。

今回、管内の一採卵鶏農場において、MS の関与を疑う卵殻異常事例に遭遇し、若干の知見を得たので報告する。

1 発生概要

約 1.2 万羽を飼養する採卵鶏農場の 1 群約 1.2 千羽 (品種：ボリスブラウン) において、平成 28 年 3 月 24 日 (188 日齢) から卵殻異常により商品卵率が約 6 週間にわたって低下した (図-1)。

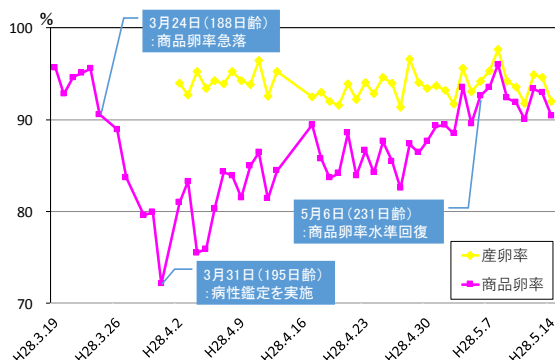


図-1 産卵状況の推移

卵殻異常は、卵殻尖端部のザラツキやスポット、卵殻色の退色であった (写真-1)。

発生鶏群は、同一鶏舎内で他の 2 群とともに飼育されていた。初回の立入り調査 (平成 28 年 3 月 31 日) 時点で、発生鶏群は 195 日齢、他の 2 群は 293 および 314 日齢であった。

発生鶏群は、県外の育雛場において、マイコプラズマ・ガリセプチカム (MG) および MS の生ワクチンを 25 日齢で接種されていた (図-2)。接種方法は、両ワクチンを混和し、点眼器で一方の目に 1 滴 (各 0.5 ドース) を点眼であった。

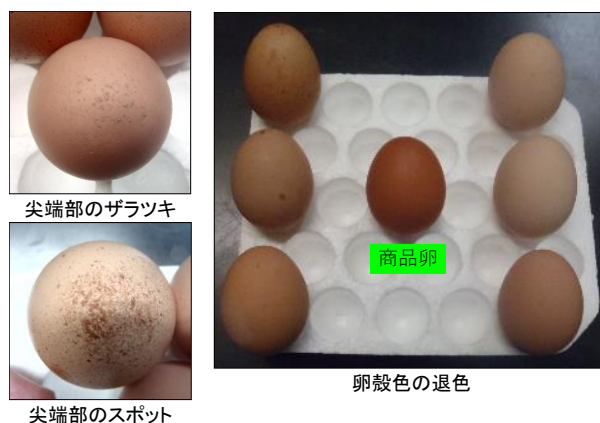


写真-1 卵殻異常内訳

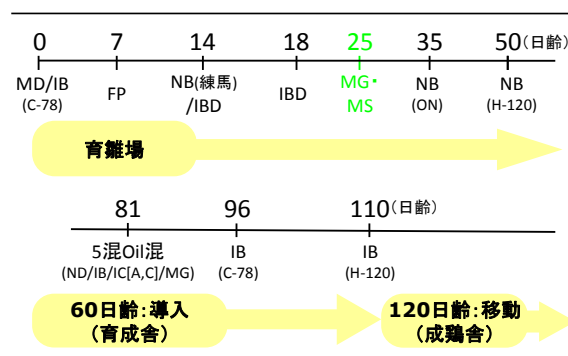


図-2 ワクチネーション

2 材料および方法

(1) 追跡調査

発生鶏群について、初回は平成 28 年 3 月 31 日 (195 日齢)、2 回目は 4 月 13 日 (208 日齢) に実施した。材料は、同一鶏 10 羽から血液および気管スワブを採材した。

血液は、血清を分離し、MG・MS は急速凝集反応、トリメタニューモウイルス (AMPV) は中和試験、産卵低下症候群ウイルス (EDSV) は HI 試験による抗体検査に供した。

気管スワブは、MG・MS・AMPV・伝染性気管支炎ウイルス (IBV) の遺伝子検査と、MG・MS および発育鶏卵尿膜腔内接種によるウイルスの培養検査に供した。

(2) 病理解剖

発生鶏群の異常卵産卵鶏2羽を剖検した。

血液は、追跡調査と同様に MG・MS の抗体検査に供した。

気管は MG・MS・AMPV・IBV の遺伝子検査に、卵管は MG・MS・AMPV・IBV に加え EDSV・鶏脳脊髄炎ウイルス (AEV) の遺伝子検査に供した。また、気管および卵管は、MG・MS および発育鶏卵尿膜腔内接種によるウイルスの培養検査に供した。

さらに、諸器官については、病理組織学的検査を実施した。

(3) MS の識別

追跡調査および病理解剖において分離された MS は、ワクチン株か野外株かを識別するため、vIh 遺伝子部分塩基配列のワクチン株との一致率の比較^{2, 3)}と、obg 遺伝子の 5' 末端から 367 番目および 629 番目の塩基の比較⁴⁾を実施した(表-1)。

表-1 MSワクチン株と野外株の識別方法

分離MSの1代クローニング株3株(追跡鶏2羽2株=株①・②、剖検鶏1羽1株=株③:全て気管由来)を用いて、以下の解析を実施。

- (1) vIh 遺伝子部分塩基配列のワクチン株との一致率を比較
- (2) obg 遺伝子の 5' 末端から 367 番目および 629 番目の塩基をワクチン株と比較

株	367番塩基	629番塩基
ワクチン株	A	C or T
野外株	G	C

(1) Jeffry et al. *Mycrobiol.* 2007
(2) Shahid et al. *PLOS ONE* 2014

(4) ワクチン接種試験

MG・MS ワクチンの抗体陽転時期を確認するため、ワクチン接種試験を実施した。

試験には、当所で種卵から孵化させた採卵鶏(品種:ジュリア)雌9羽を供した。ワクチン接種は、育雛場と同じ日齢・方法(25日齢、各0.5ドース点眼接種)で行った。ワクチン接種後は、1または2週間毎に血液を採材し、血清分離後 MG・MS の急速凝集反応による抗体検査を実施した。

3 結果

(1) 追跡調査

抗体検査の結果(表-2)、MG は初回および2回目ともに全羽陽性、MS は2回目の検査において全羽陽転した。AMPV・EDSV は、初回および2回目ともに全羽陰性であった。

表-2 追跡調査の抗体検査結果

	MG	MS	AMPV・EDSV
初回	10/10	0/10	0/10
2回目	10/10	10/10	0/10

(陽性羽数/検査羽数)

遺伝子検査の結果(表-3)、MS は初回および2回目ともに複数羽が陽性であった。MG・AMPV・IBV は、初回および2回目ともに全羽陰性であった。

表-3 追跡調査の遺伝子検査結果

	気管スワブ		
	MG	MS	AMPV・IBV
初回	0/10	9/10	0/10
2回目	0/10	6/10	0/10

(陽性羽数/検査羽数)

培養検査の結果(表-4)、MS は初回および2回目ともに複数羽が陽性であった。MG およびウイルスは、初回および2回目ともに全羽陰性であった。

表-4 追跡調査の培養検査結果

	気管スワブ		
	MG	MS	ウイルス
初回	0/10	9/10	0/10
2回目	0/10	8/10	0/10

(陽性羽数/検査羽数)

(2) 病理解剖

抗体検査の結果(表-5)、2羽ともにMG・MS陽性であった。

表-5 剖検鶏の抗体検査結果

MG	MS
2/2	2/2

(陽性羽数/検査羽数)

遺伝子検査の結果(表-6)、MSが2羽ともに気管は陽性、卵管は陰性であった。MG・AMPV・IBVは気管・卵管ともに陰性、EDSV・AEVは卵管だけの検査であったが陰性であった。

表-6 剖検鶏の遺伝子検査結果

気管		
MG	MS	AMPV・IBV
0/2	2/2	0/2

卵管		
MG	MS	AMPV・IBV・EDSV・AEV
0/2	0/2	0/2

(陽性羽数/検査羽数)

培養検査の結果(表-7)、MSが2羽ともに気管は陽性、卵管は陰性であった。MGおよびウイルスについては、気管・卵管ともに全て陰性であった。

表-7 剖検鶏の培養検査結果

気管			卵管		
MG	MS	ウイルス	MG	MS	ウイルス
0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	0/2

(陽性羽数/検査羽数)

病理組織学的検査の結果(写真-2)、気管粘膜の軽度非化膿性炎が2羽で、卵管子宮部粘膜の水腫が1羽で認められた。

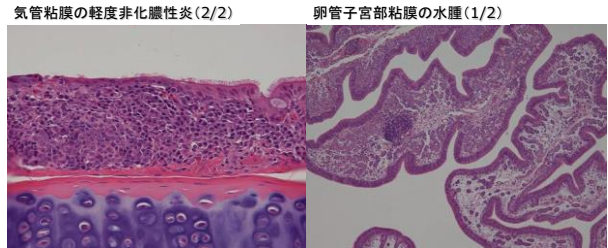


写真-2 剖検鶏の病理組織学的検査結果

(3) MSの識別

追跡調査で分離されたMS2株(株①および株②)と、病理解剖で分離されたMS1株(株③)を用いて遺伝子解析を実施した結果、株①は野外株と判明した(表-8)。

表-8 MSワクチン株と野外株の識別結果

株名	vif遺伝子	obg遺伝子		
	一致率(%)	367番塩基	629番塩基	
株①	87.8	G	C	→ 野外株
株②	100.0	A	T	} ワクチン株
株③	100.0	A	T	

(4) ワクチン試験

ワクチンを接種した鶏9羽全てにおいて、MGは接種3週後、MSは接種8週後にそれぞれ全羽が抗体陽転し、接種35週後まで抗体陽性を維持

表-9 ワクチン試験でのMG・MS抗体陽性率

接種後(週)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
MG(%)	NT	NT	0	100	NT	100	100	100	100
MS(%)			0	0		0	0	0	100

接種後(週)	9	10	11	12	13	14	35
MG(%)	100	100		100	100	100			100
MS(%)	100	100	NT	100	100	100			100

していた（表－9）。

4 考察

今回、MS で特徴的な卵殻尖端異常¹⁾が確認され、また、卵殻色の退色もあり、6週間にわたって商品卵率が低下した。

追跡調査において、MS の抗体陽転が確認された。追跡調査および病理解剖で気管から分離されたMSは、識別の結果、野外株とワクチン株が混在していることが判明した。病理組織学的検査結果では、気管粘膜の軽度非化膿性炎および卵管子宮部粘膜の水腫が認められた。なお、追跡調査・病理解剖ともに、産卵異常で疑われる各種ウイルスの関与は認められなかった。これらを総合して、今回の商品卵率低下の主原因はMSであると考えられたが、卵管からMSが分離されなかったことからMSの関与が疑われるという診断に留めた。

2回目の追跡調査（208日齢）においてMSの抗体陽転が確認されたが、ワクチン試験でMSの抗体陽転がワクチン接種8週後であったことを踏まえると、発生鶏群のMS感染時期は208日齢から8週前、およそ150日齢ごろであると考えられた。当該農場では、150日齢は成鶏舎へ移動後約1か月にあたる。この時期に、同鶏舎内の先住鶏群を感染源として、MSワクチン株と野外株の浸潤を受けたと推察された。さらに、産卵が最も盛んになる時期の感染は大きなストレスとなり、卵殻尖端部異常に加えて卵殻色の退色も伴ったものと考えられた。

発生鶏群には、育雛場においてMS生ワクチンが接種されていた。しかしながら、何らかの理由で抗体産生に至らず、結果的に卵殻異常につながったものと考えられた。

育雛場と同じ日齢・方法でMSワクチンを接種した結果、全羽の抗体陽転が確認された。その結果を踏まえ、ワクチン接種方法の再確認について育雛場の担当者を指導した。その後、発症鶏群の次の入雛群2群について、導入後のワクチン接種8週後にあたる時期に抗体検査を実施した結果、MS抗体は陽性であり、成鶏舎移動後も卵殻異常の発生は認められていない。

MSによる卵殻異常の予防には、ワクチンが応用できると考えられた。ワクチン試験では、0.5ドーズ接種で抗体陽転を確認したが、接種日齢や品種の差、他のワクチンとの干渉等を考えれば、用法・用量を遵守した的確な点眼接種が必要と思われる。また、MSワクチンによる免疫の付与状況の確認は、ワクチン接種8週後の抗体確認が有効である。

5 引用文献

- 1) Catania et al.:Treatment of eggshell abnormalities and reduced egg production caused by Mycoplasma synoviae infection. AVIAN DISEASES 54 : 961-964 (2010)
- 2) Jeffery et al.:Classification of Mycoplasma synoviae strains using single-strand conformation polymorphism and high-resolution melting-curve analysis of the *vlhA* gene single-copy region. Microbiology 153:2679-2688 (2007)
- 3) 荻野祥樹ら:日本で分離された Mycoplasma synoviae 野外株の遺伝学的型別ならびに野外株と Mycoplasma synoviae ワクチンシード株(MS-H 株)との遺伝学的識別.AVIAN DISEASES 55:187-194 (2011)
- 4) Shahid et al.:High-Resolution Melting-Curve Analysis of *obg* Gene to Differentiate the Temperature-Sensitive Mycoplasma synoviae Vaccine Strain MS-H from Non-Temperature-Sensitive Strains. PLoS One. Published: March 18, (2014)