

13 鶏大腸菌症誘発因子としての伝染性気管支炎ウイルスの関与調査

中央家畜保健衛生所

鈴木 史子・早島 彬美・井上 大輔

鶏大腸菌症は、3～4週齢の鶏に多発し、現在、国内のブロイラー産業にもっとも大きな被害を及ぼす伝染性疾病となっている。

食鳥検査においてとさつ禁止または全部廃棄となった原因のうち、上位5要因について平成27年度の全国と平成28年度の長崎県の状況を表-1に示した。全国、本県ともに最も多いのが大腸菌症であり、全体の約2～3割を占めている。

表-1 食鳥検査におけるとさつ禁止・全部廃棄羽数

	H27年度全国		H28年度長崎	
大腸菌症	2,484,291	27.6%	47,996	35.3%
削瘦・発育不良	1,796,945	19.9%	11,904	8.8%
腹水症	1,582,668	17.6%	22,496	16.5%
変性	893,870	9.9%	30,183	22.2%
炎症	814,387	9.0%	16,040	11.8%
総数	9,011,128		136,026	

鶏病研究会報第53巻第1号、長崎県食鳥肉衛生協会H28年度事業報告より

大腸菌は鶏飼養環境中の常在菌であるが、呼吸器病ウイルス等による気管の粘膜上皮細胞が傷害されることにより、本病が誘発されることが知られている。近年、本県では鶏大腸菌症と診断された症例で、伝染性気管支炎ウイルス（IBV）の重感染がしばしば確認されている（表-2）。県内の過去4年間で鶏大腸菌症と診断されたのは、1例を除きすべて肉用鶏での発生で、農家A、B、Cでは複数回の発生がみられた。ウイルス検査では、9例でIBVが検出されている。呼吸器の病理組織学的所見では、IBVの検出の有無に関わらずリンパ球性気管炎が認められ、HE標本のみで呼吸器病変へのIBVの関与を判断

するのは困難であった。このことから、鶏大腸菌症の誘発因子として、どの程度IBVが関与しているかを病理組織学的に調べるため、IBVの免疫組織化学的染色（免疫染色）の検査系を検討し、過去の鶏大腸菌症例について遡り調査を行った。

表-2 県内の発生状況

症例	発成年月	家保・農家	日齢	IBV検出	呼吸器の組織所見
1	H26.6月	中央・A	13日		肺炎、漿膜炎
2	H26.9月	中央・A	27日		リンパ球性気管炎
3	H27.1月	県南・B	43日		リンパ球性気管炎
4	H27.3月	中央・A	43日	○	リンパ球性気管炎
5	H28.1月	県南・C	42日	○	肺炎
6	H28.2月	県南・D	41日	○	肺炎
7	H28.8月	県南・B	34日		リンパ球性気管炎
8	H28.11月	中央・A	34日		気管粘膜線毛消失、重層化、リンパ球性気管炎
9	H28.12月	中央・A	49日	○	リンパ球性気管炎
10	H29.3月	中央・E	32日		気管粘膜の線毛消失
11	H29.9月	県南・B	10～17日	○	リンパ球性気管炎
12	H29.10月	県南・F	34日	○	リンパ球性気管炎
13	H29.10月	県南・B	22～30日	○	リンパ球性気管炎、化膿性肺炎
14	H29.10月	県南・G	208～211日		リンパ球性気管炎
15	H29.12月	県南・H	47日		壊死性肺炎
16	H30.1月	県南・I	34日	○	リンパ球性気管炎、気管支炎、化膿性気管支炎
17	H30.1月	県南・C	38日	○	化膿性肺炎

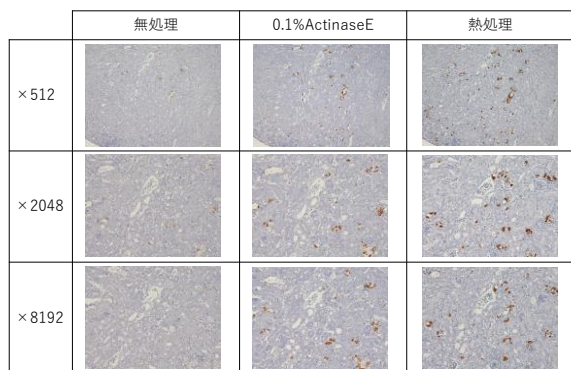
1 免疫染色の条件検討

(1) 材料と方法

陽性コントロールとして腎炎型のIBの腎臓、一次抗体として市販の抗IBVマウスモノクローナル抗体（HyTest）を用い、賦活化処理（無処理、0.1%Actinase E、熱処理）、抗体希釈濃度（512～16,384倍）、反応時間（室温30分/60分、4℃一晚）の検討を行った。免疫染色はポリマー法で実施した。

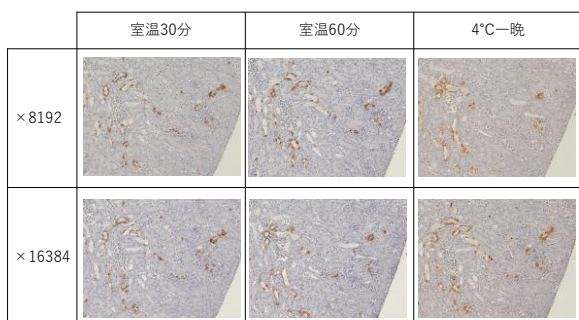
(2) 結果

賦活化処理は熱処理が最適であった（図-1）。希釈濃度および反応時間に差が認められなかったことから、条件を「0.01Mクエン酸緩衝液（pH6.0）を用いたマイクロウェーブによる熱処理、16,384倍希釈、室温30分または4℃一晚反応」とした（図-2）。



→ 熱処理 (0.01Mクエン酸緩衝液pH6を用いたマイクロウェーブ法) を採用

図-1 賦活化処理、抗体希釈濃度の検討



→ 抗体希釈濃度 16,384倍
反応時間 室温30分または4°C一晩 を採用

図-2 抗体希釈濃度、反応時間の検討

2 IBV の遡り調査

(1) 材料と方法

平成 26 年 6 月～平成 30 年 1 月に県内で発生した鶏大腸菌症 17 例 83 羽の呼吸器 (気管 70 検体、肺 56 検体) について調査を行った。病理組織学的検査は定法に従い、HE 染色および先の条件検討に基づき免疫染色を実施した。また、発生時に実施されたウイルス検査成績との比較を行った。

(2) 結果

写真-1 に正常な鶏の気管を示した。粘膜上皮細胞は一層で、表面に線毛が生えており、粘膜固有層に細胞浸潤はみられない。

症例 8 の気管では、炎症性細胞の浸潤は少ないが、粘膜上皮細胞が腫大、増生、重層化し、表面の線毛が消失していた (写真-2)。

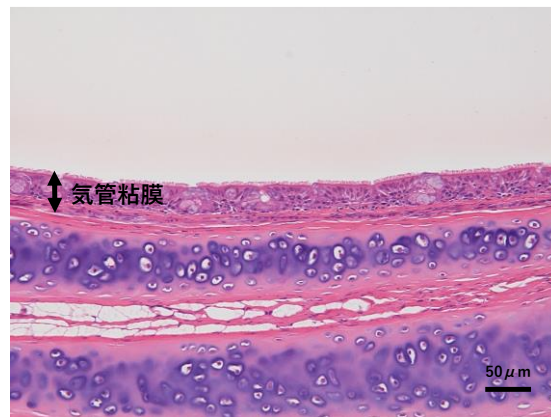


写真-1 正常な鶏の気管

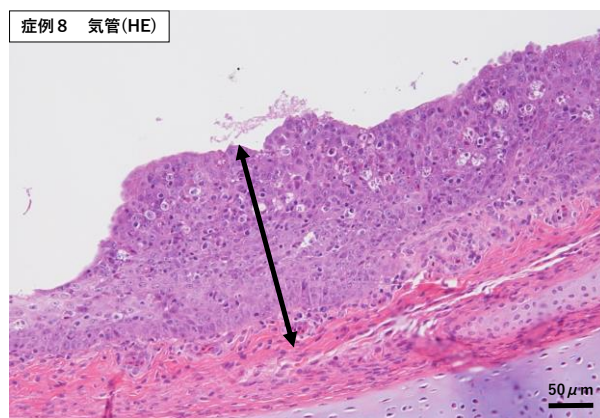


写真-2 粘膜上皮細胞の腫大・増生・重層化

症例 2 の気管では、上皮細胞は変性、脱落し、粘膜固有層にリンパ球などの炎症性細胞が浸潤し、粘膜が肥厚していた (写真-3)。症例 2 の免疫染色では、粘膜上皮細胞の一部に IBV の抗原が認められた (写真-4)。

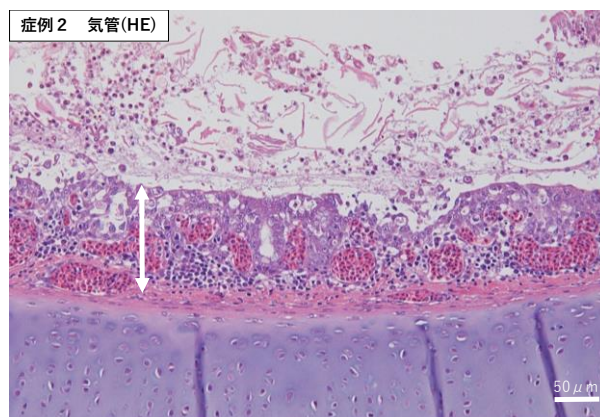


写真-3 粘膜上皮細胞の変性・脱落、リンパ球浸潤

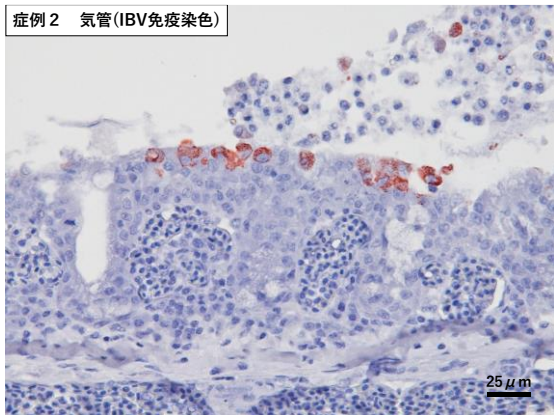


写真-4 粘膜上皮細胞の一部にIBV抗原

症例8の肺では、二次気管支の壊死、細胞退廃物の貯留など大腸菌症に特徴的な所見が認められた。気管支内腔にも多数の細胞退廃物が認められた(写真-5)。免疫染色では、肺の気管支の上皮細胞に一致して IBV 抗原が認められた(写真-6)。

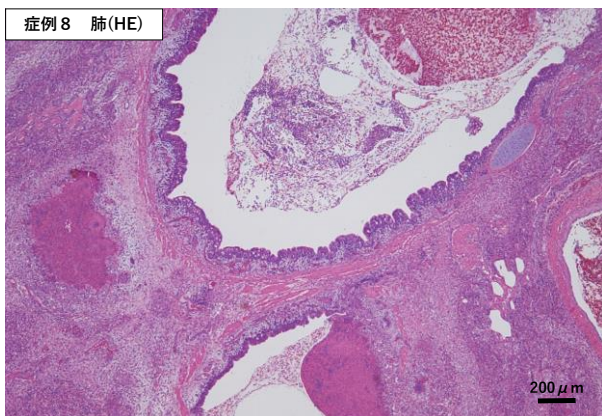


写真-5 二次気管支の壊死、細胞退廃物の貯留

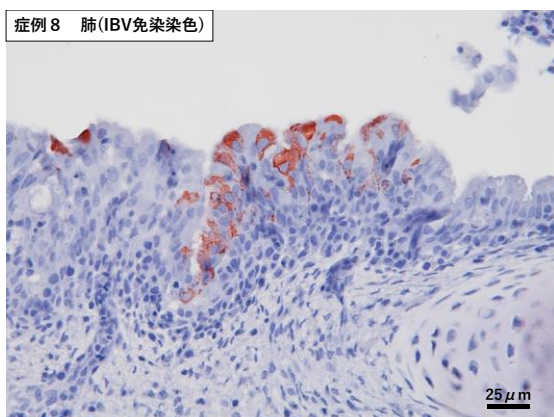


写真-6 肺の気管支上皮細胞にIBV抗原

病理学的検査では、11/17 齢に気管粘膜上皮の変性を伴ったリンパ球性気管炎が認められ

(表-2)、免疫染色では、6例(気管7検体、肺5検体)でIBVの抗原が認められた(表-3)。6例のIBV検出率は、気管35%、肺20.8%であった。

表-3 免疫染色の検査成績

症例	発生年月	家保・農家	検査羽数	気管	肺
1	H26.6月	中央・A	5	- (0/2)	- (0/3)
2	H26.9月	中央・A	5	+ (1/3)	- (0/3)
3	H27.1月	県南・B	5	- (0/5)	NT
4	H27.3月	中央・A	5	- (0/5)	NT
5	H28.1月	県南・C	4	- (0/1)	- (0/3)
6	H28.2月	県南・D	5	NT	+ (2/5)
7	H28.8月	県南・B	3	- (0/3)	NT
8	H28.11月	中央・A	3	+ (3/3)	+ (1/3)
9	H28.12月	中央・A	3	- (0/3)	NT
10	H29.3月	中央・E	5	- (0/5)	NT
11	H29.9月	県南・B	9	+ (1/9)	- (0/9)
12	H29.10月	県南・F	2	+ (1/2)	- (0/1)
13	H29.10月	県南・B	9	- (0/9)	- (0/9)
14	H29.10月	県南・G	9	- (0/9)	- (0/9)
15	H29.12月	県南・H	4	- (0/4)	- (0/4)
16	H30.1月	県南・I	3	+ (1/3)	+ (2/3)
17	H30.1月	県南・C	4	- (0/4)	- (0/4)

ウイルス学的検査と免疫染色の成績を併せると、IBVが検出されたのは11例あり、特に発生を繰り返す農家Aでは5例中4例、農家Bは4例中2例、農家Cは2例とも陽性であった。なお、検出された遺伝子型は、多くがワクチン株と異なっていた(表-4)。

IBV 遺伝子検出または分離陽性となった症例は9/15例あり、免疫染色の成績とウイルス学的検査成績を比較したところ、免疫染色陽性かつウイルス検査陰性は2例、免疫染色陰性かつウイルス検査陽性は5例、免疫染色とウイルス検査陽性は4例だった(表-4)。

表-4 ウイルス学的検査成績との比較

症例	発生年月	家保・農家	免疫	PCR	分離	遺伝子型	IBVワクチン歴
1	H26.6月	中央・A	-	NT	NT		なし
2	H26.9月	中央・A	+	-	NT		なし
3	H27.1月	県南・B	-	-	-		なし
4	H27.3月	中央・A	-	-	+	JP-I・II	なし
5	H28.1月	県南・C	-	+	+	JP-III	なし
6	H28.2月	県南・D	+	+	+	JP-III	0日: Ma5
7	H28.8月	県南・B	-	-	-		0日: 練馬
8	H28.11月	中央・A	+	-	-		0日: 練馬、12日: H120
9	H28.12月	中央・A	-	+	+	JP-I	0日: 練馬、12日: H120
10	H29.3月	中央・E	-	NT	NT		0日: 練馬
11	H29.9月	県南・B	+	+	+	MAS (-致率96.7%)	0日: 練馬
12	H29.10月	県南・F	+	+	+	MAS、JP-I	0日: C78
13	H29.10月	県南・B	-	+	+	MAS	0日: 練馬
14	H29.10月	県南・G	-	-	-		0日: H120、22日: GN、28日: KU、50日:
15	H29.12月	県南・H	-	-	-		0日: AK01
16	H30.1月	県南・I	+	+	+	JP-III	0日: 練馬
17	H30.1月	県南・C	-	+	+	JP-I	0日: C78

また、IB 以外に伝染性ファブリキウス嚢病2例(症例6、16)、鶏封入体肝炎1例(症例12)との混合感染があった。

3 まとめと考察

今回、IBV の免疫染色の検査系を検討し、過去の大腸菌症例について調査を行った結果、11/17 例 (64.7%) で IBV の関与が示唆された。特に、発生を繰り返す農家では、高率に IBV が検出される傾向にあり、鶏大腸菌症の重要な誘発因子になっている可能性が考えられた。このことから、IBV の対策が鶏大腸菌症の発生予防に重要と考えられた。

免疫染色とウイルス検査成績を比較すると、両方の成績が一致しない場合が 7 例あり、そのうち 2 例は免疫染色陽性でウイルス検査陰性であった。このことから、IBV の検索にはウイルス、病理両方の検査が必要と考えられた。

免疫染色では、IBV の検出率は肺より気管がやや高い傾向にあった。これは、IBV が上部呼吸器粘膜を障害するウイルスであるため、病理検査には気管がより適していると考えられた。

今回、検出された IBV の遺伝子型は、その多くが農場使用ワクチンと異なったほか、同一農場でも異なる遺伝子型が検出されるケースがあり、IBV 対策として効果的なワクチン接種プログラムが今後の課題と考えられる。

また、本調査において、IBV 以外のウイルス感染症例も確認された。鶏大腸菌症が疑われる症例では、細菌検査だけではなく病理およびウイルス検査も積極的に実施し、大腸菌症の発生低減に寄与できるよう、今後は IBV 以外の誘発因子についても明らかにしていきたい。