

1 4. 若齢肉用鶏に発生したアデノウイルス性筋胃びらん

玖珠家畜保健衛生所、大分家畜保健衛生所¹⁾
 ○佐伯美穂 下田洋子 松井英徳 病鑑 人見徹¹⁾

【はじめに】

トリアデノウイルスのうち、鶏アデノウイルス (FAV) はグループ I に属し、鶏に封入体肝炎や心膜水腫症候群、アデノウイルス性筋胃びらん等を引き起こし、12の血清型があることが知られている。今回、管内肉用鶏農場において、FAV感染による若齢鶏の死亡羽数増加事例があり、若干の知見を得たので概要を報告する。

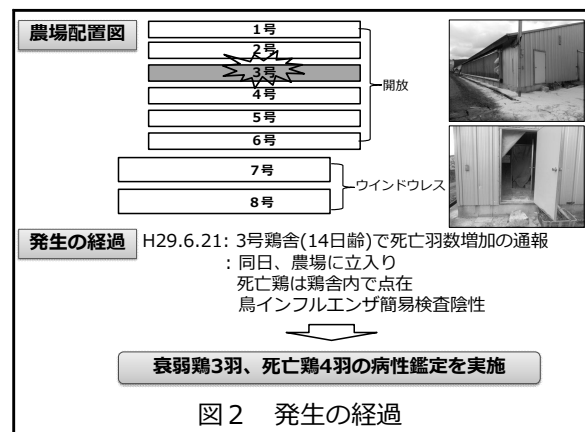
【発生農場概要】

農場はチャンキー（一部コップ）14万羽を、開放6棟ウインドウレス2棟の計8鶏舎で平飼いしており、敷料に発酵鶏糞を使用している（図1）。

平成29年6月21日に、3号鶏舎で14日齢の死亡が増加していると通報があり、立入り及び病性鑑定を行った（図2）。

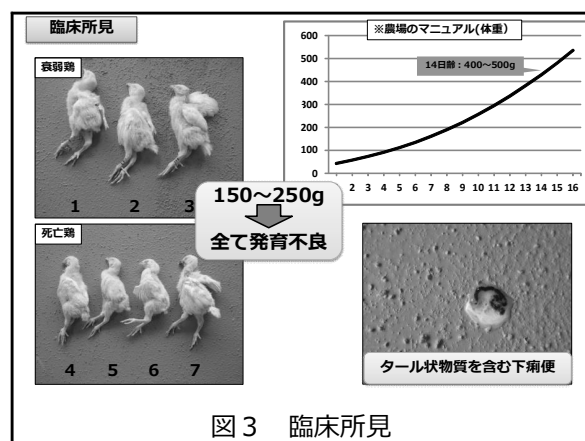
飼養羽数	140千羽
飼養形態	8鶏舎（開放6棟、ウインドウレス2棟） 平飼い
敷料	発酵鶏糞
種鶏	チャンキー（一部コップ）
ワクチン	0日齢：鶏痘、マレック病、 鶏伝染性気管支炎 14日齢：ニューカッスル病、 鶏伝染性ファブリキウス嚢病 24日齢：鶏伝染性ファブリキウス嚢病

図1 農場概要



【臨床所見】

臨床所見では、通常14日齢の体重は400～500g程度あるが、今回持ち帰った死亡鶏3羽、衰弱鶏4羽の7羽ともに150～250gと通常の半分程度しかなく、発育不良だった。また、衰弱鶏はタール状物質を含む下痢便をしていた（図3）。



【材料及び方法】

病性鑑定は、定法に従い実施した(図4)。

【病性鑑定成績】

剖検所見では、7羽に共通して、筋肉と肝臓の退色、筋胃内に黒色水様内容物の貯留、筋胃粘膜の肥厚及びびらんが認められた。

細菌学的検査では、主要臓器及び脳から有意菌分離陰性だった(図5)。

病理学的検査では、衰弱鶏及び死亡鶏ともに、肝臓でリンパ濾胞の形成、筋胃では腺上皮細胞に好塩基性または好酸性核内封入体、コイリン層の剥離、細菌塊、炎症性細胞浸潤が認められた。また、衰弱鶏1羽については、脾臓においても好塩基性または好酸性核内封入体、脾細胞の変性・壊死が認められた(表1、図6)。

ウイルス学的検査では、7羽全ての筋胃から、血清型1のFAV(以下、FAV-1)が分離された(表2)。

細菌学的検査

- ◆材料：①衰弱鶏3羽の主要臓器及び脳 ②衰弱鶏3羽の小腸内容物
- ◆方法：①5%綿羊血液加寒天培地(好気・嫌気)及びDHL寒天培地を用いた細菌分離 ②ハーナー・テトラチオン酸塩基礎培地で増菌後、E5サルモネラ寒天培地に接種

寄生虫検査

- ◆材料：衰弱鶏3羽の小腸内容物及び盲腸内容物
- ◆方法：浮遊検査法による線虫及びコクシジウムの検出

血清学的検査

- ◆材料：衰弱鶏2羽の血清
- ◆方法：マイクロアッセイ(MS)及びマイクロアッセイ(MG)について急速凝集反応

病理学的検査

- ◆材料：衰弱鶏3羽：主要臓器、気管、中枢神経系、末梢神経、腺胃、筋胃、十二指腸、脾臓、空回腸、盲腸及び肝臓
- ◆死亡鶏4羽：肝臓、腺胃及び筋胃
- ◆方法：定法によるHE染色

ウイルス学的検査

- ◆材料：衰弱鶏3羽：気管、肝臓及び筋胃
- ◆死亡鶏4羽：肝臓及び筋胃
- ◆方法：①遺伝子検索…鶏アデノウイルス(FAV)、ニューカッスル病ウイルス(NDV)及び鶏伝染性気管支炎ウイルス(IBV)に特異的なプライマーを使用 ②ウイルス分離…筋胃および肝臓の乳膏を鶏腎臓細胞(CK細胞)に接種

図4 病性鑑定(材料及び方法)

剖検所見

7羽(衰弱鶏、死亡鶏)に共通
筋肉と肝臓の退色、筋胃の黒色内容物、筋胃粘膜の肥厚及びびらん

細菌学的検査

- ①主要臓器及び脳から有意菌分離陰性
- ②衰弱鶏3羽の小腸内容物からサルモネラ属菌分離陰性

寄生虫検査

線虫卵及びコクシジウムオースト検出せず

血清学的検査

MS及びMG陰性

図5 病性鑑定(成績)

表1 病性鑑定(成績)

病理解剖学的検査	組織所見	衰弱鶏			死亡鶏			
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7
肝臓	肝細胞に好塩基性または好酸性核内封入体	-	-	-	-	-	-	-
	肝細胞の変性	-	-	+	-	-	+	+
	リンパ濾胞の形成	+	+	+	+	+	++	++
脾臓	濾胞の壊死	-	-	NT				
胃腸	粘膜にリンパ球の浸潤	-	-	-				
心臓	心臓にリンパ球やマクロファージの浸潤	+	-	-				
肺	化膿性肺炎	-	-	-				
気管	粘膜下組織にリンパ球の増生	-	-	-				
中枢神経系	好酸性脳炎	-	-	-				
末梢神経	好酸球やリンパ球の浸潤	+	-	-				
筋胃	出血	-	-	-				
	腺上皮細胞に好塩基性または好酸性核内封入体	++	++	++	++	++	++	++
	コイリン層の剥離、細菌塊、炎症性細胞浸潤	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
十二指腸	壊死性肺炎	-	-	-				
脾臓	脾細胞に好塩基性または好酸性核内封入体	-	-	+++				
	脾細胞の変性・壊死	-	-	+++				
空回腸	壊死性肺炎	-	-	-				
盲腸	壊死性肺炎	-	-	-				
F表	リンパ球の萎縮	-	-	-				
	粘膜に好酸球の浸潤	++	+	-				

病理学的検査

筋胃(No.4 対物×40)

コイリン層の剥離
粘膜上皮～固有層の壊死
炎症性細胞浸潤

筋胃(No.5 対物×40)

腺上皮細胞にハローを伴う好酸性封入体(実線矢印)、好塩基性のfull核内封入体(破線矢印)を多数認める

脾臓(No.3 対物×20)

脾細胞の変性・壊死、好塩基性核内封入体(実線矢印)

図6 病性鑑定(成績)

表2 病性鑑定(成績)

ウイルス学的検査		PCR		ウイルス分離	
No.	臓器	FAV	IBV	NDV	FAV血清型1 ※
No.1	気管	NT	-	NT	-
	筋胃	+	NT	NT	+
No.2	気管	NT	-	NT	NT
	筋胃	+	NT	NT	+
No.3	気管	NT	-	NT	NT
	筋胃	+	NT	NT	+
No.4	筋胃	+	NT	NT	+
	筋胃	+	NT	NT	+
No.5	筋胃	+	NT	NT	+
	筋胃	+	NT	NT	+
No.6	筋胃	+	NT	NT	+
	筋胃	+	NT	NT	+
No.7	筋胃	+	NT	NT	+
	筋胃	+	NT	NT	+

NT:検査未実施
※シークエンスの結果、国内の筋胃びらん症例から分離されたJM1/1株と99%一致

【病性鑑定のまとめ】

7羽に共通して、腺上皮細胞に好塩基性または好酸性核内封入体を伴う筋胃のびらんや潰瘍が認められ、FAV-1が分離されたことから、『アデノウイルス性筋胃びらん』と診断した。

本農場に対しては、衛生管理区域専用の衣服及び鶏舎毎の専用長靴の着用などの一般衛生管理の徹底の継続、オールアウト後の鶏舎の洗浄・消毒の徹底を指導した。

【敷料調査】

次に、FAV-1による筋胃びらんが発生した3号鶏舎とは別ロットだが同時期に入雛した2号と4号を含めた3鶏舎内の敷料についてFAV遺伝子検査を実施したところ、3鶏舎全てからFAV-1遺伝子が検出された（図7）。

ここで、なぜ3号鶏舎でだけ死亡羽数が増加したのか、筋胃びらんが発生したのは3号鶏舎だけか、という疑問が生じたため、引き続き、病変部と非発生鶏舎敷料から分離されたFAV-1の病原性の差、あるいは感染日齢による病変形成の差について検討するため、病原性の比較と再現試験を実施した。

ウイルス学的検査

材料 3鶏舎(3号鶏舎と同時期に入雛した2~4号鶏舎) 内の敷料

方法 ・敷料を5倍量のMEM培地に溶解し上清からDNAを抽出
・FAVに特異的なプライマーを用いてPCR法による遺伝子を検出
⇒遺伝子断片が検出されたものは 血清型別を実施

成績

鶏舎	入雛日	発生の有無	FAV遺伝子	
			検出(検体)	血清型
2号	6月6日	発生なし	2/12	1
3号	6月7日	14日齢で筋胃びらん	2/12	1
4号	6月9日	発生なし	2/12	1

図7 敷料調査

鶏舎(号)	種鶏週齢	入雛時平均体重(g)	入雛日	備考
1	27	65	6/5	育雛後2日齢で入雛
2	37	40	6/6	
3	27	34	6/7	14日齢で筋胃びらん
4	60	44	6/9	
5	27	34	6/10	
6	52	40	6/13	
7	65	44	6/15	
8	53	45	6/18	一部コップ

調査した3鶏舎のすべてで、敷料からFAV-1遺伝子を検出
…なのに、3号鶏舎だけ死亡羽数が増加したのはなぜ？筋胃びらん発生は3号だけ？

分離されたFAV-1について検討

病原性の比較 病変部と敷料から分離されたFAV-1の病原性に違い？

再現試験 感染日齢が病変形成に関係？

図8 敷料調査

【病原性の比較】

2006年に奥田ら¹⁾が『FAV-1には筋胃びらんを引き起こすウイルス株と引き起こさないウイルス株が存在し、両者はロング・ファイバー（以下、LF）遺伝子のPCR-RFLP解析で区別できる』と報告している。このLF遺伝子は血清型1に特異的なものであり、奥田らは筋胃びらん由来株と筋胃びらんを引き起こさないウイルス株のLF遺伝子についてPCRで増幅後シーケンスし、塩基配列の比較により14塩基の置換が認められ、この違いの一つを認識する制限酵素Hinf IでLF遺伝子のPCR産物を切断したところ、両者を区別できた、としている。

今回、病変部分離株と非発生鶏舎敷料分離株について、LF遺伝子のPCRは同様のパターンを示したが、Hinf Iを用いたPCR-RFLP法では切断パターンが異なり、奥田らの報告と

材料 病変部及び敷料から分離されたFAV-1

方法 ロング・ファイバー遺伝子のPCR産物を制限酵素Hinf Iで切断 (PCR-RFLP法) (2006 奥田ら)

成績

Long fiber

筋胃 No5 2号敷料 4号敷料 PC M

非発生鶏舎

Long fiber (Hinf I)

筋胃 No5 2号敷料 4号敷料 PC M

非発生鶏舎

図9 病原性の比較

一致し、非発生鶏舎敷料分離株は病原性のないウイルス株と推測された（図9）。

【再現試験】

さらに、2日齢と8日齢の雛を用い、発症鶏の10%筋胃乳剤を100μl経口投与し、接種後14日目に解剖する再現試験を実施した。

抗体価は図10のグラフのとおりで、FAV-2とFAV-8で移行抗体が下がっていることに対して、FAV-1のGM値は、2日齢接種の場合はプレ血清が8.4から14日後には320.0に上昇、8日齢接種の場合はプレ血清が6.3から14日後には254.0に上昇し、感染抗体は確認されたものの、筋胃におけるびらん等の病変は確認されなかった。

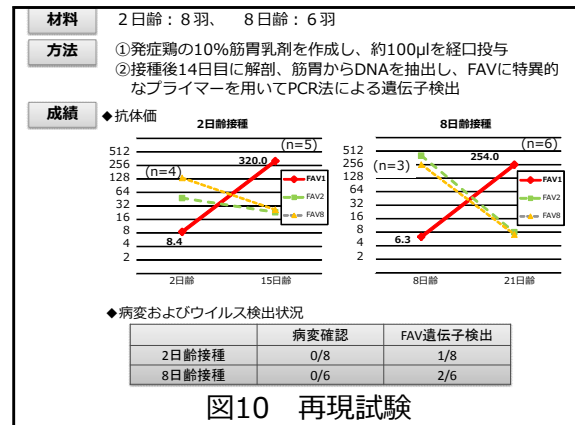


図10 再現試験

【まとめ及び考察】

今回の14日齢での死亡羽数増加事例は、病性鑑定の結果、死亡鶏及び衰弱鶏7羽全てからFAV-1が分離され、『アデノウイルス性筋胃びらん』と診断した。また、筋胃びらん発生鶏舎と非発生鶏舎の敷料調査の結果、調査した3鶏舎全てからFAV-1が分離された。

本農場では、死亡は1週間で終息し、出荷時の生存率及び平均体重は非発生鶏舎が98%前後、3100~3200gであったことに対し、発生鶏舎は94.6%、2700~2800gだった。

本疾病は、飼養衛生管理の徹底により、他の鶏舎へのまん延が防止できたと考えられた。また、オールアウト後の洗浄・消毒の徹底や敷料の十分な発酵により、次のロットの入雛前の敷料調査ではFAV-1遺伝子は検出されず、筋胃びらんの発生も確認されなかった。

さらに、分離されたFAV-1の病原性の比較では、奥田らの報告と同様に切断が2パターンに分けられ、病変部から分離されたFAV-1は病原性のあるウイルス株、非発生鶏舎敷料から分離されたFAV-1は非病原性のウイルス株であることが推察された（図11）。

再現試験では、感染抗体の上昇とFAV-1遺伝子検出は認められたものの、病変は再現できなかった。そのため、感染日齢による病変形成の差については考察できなかった。

以上のことから、同じ農場内から分離されたFAV-1であっても筋胃びらんを引き起こす株と引き起こさない株が混在していることが示唆され、筋胃びらんを形成するには病原

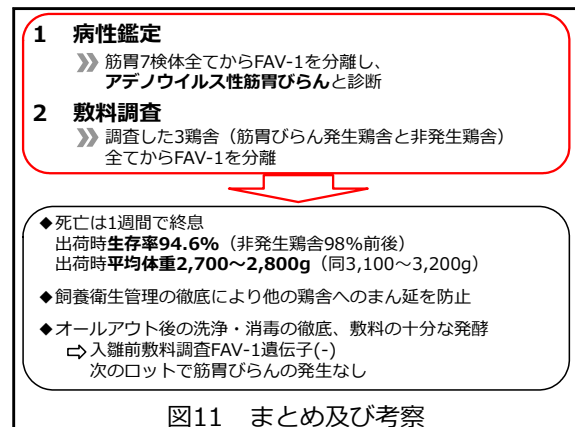


図11 まとめ及び考察

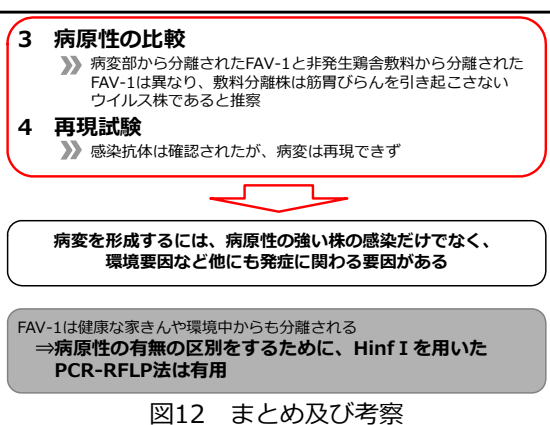


図12 まとめ及び考察

性のある株の感染以外にも、環境要因など他にも要因があると考えられた。

一般的に、FAVは病原性が低く不顕性感染が多いとも言われており、健康な家きんや環境中からも分離されることがある。FAV-1の病原性についてはHinf I を用いたPCR-RFLP法が有用であることが示唆されたので、今後の病性鑑定に活用していきたい（図12）。

【参考文献】

1) Yo Okuda, Masaaki Ono, Isao Shibata, Shizuo Sato, Hiroomi Akashi: Comparison of polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism pattern of the fiber gene and pathogenicity of serotype-1 fowl adenovirus isolates from gizzard erosions and from feces of clinically healthy chickens in Japan. J Vet Diagn Invest 18:162-167 (2006)