

7 飼鶏脳脊髄炎の発生について

○竹内 美穂 綾部 文香 藤森 英雄

要 約

2016年12月末から2017年1月初旬にかけて、採卵鶏と肉用鶏飼養のA農場及び採卵鶏飼養のB農場で、同一種鶏場導入の初生雛が歩様蹣跚を呈し、死亡個体が増加したため病性鑑定を実施した。剖検所見で著変なく、細菌学的検査では有意菌の分離はなかった。病理組織所見では腰髄等神経組織の灰白質背角部に中心性色質(虎班)融解を起こした大型神経細胞を確認し、大脳では囲管性細胞浸潤が散見し、その他臓器ではリンパ球様細胞の軽度集簇がみられた。ウイルス学的検査では鳥インフルエンザは否定、VP2及び5'UTR領域のRT-PCRで全個体から鶏脳脊髄炎ウイルス(AEV)遺伝子を検出した。A及びB農場で検出された両ウイルス遺伝子の塩基配列解析及び系統樹解析より、近縁株と判明した。A農場の抗体検査では、1ヶ月後の血清で全群の抗体が有意に上昇した。B農場の発症群では、導入後2週間目で半数(3/6)が、4ヶ月後では100%(10/10)が抗体を保有するも、発症群以外では抗体の有意な上昇は認められなかった。臨床症状、疫学調査、病性鑑定結果から総合的に判断し、本症例をAEと診断した。

東鶏脳脊髄炎(Avian encephalomyelitis:AE)は鶏脳脊髄炎ウイルス(AEV)を原因とする疾病で、Picornaviridae, Tremovirusに属す。幼雛では元気消失、震え、歩行異常、脚麻痺及び採食・飲水困難による発育不良を引き起こし、場合によっては死亡する。産卵鶏では急激な産卵率の低下を引き起こすが、比較的早く回復する(V字型産卵曲線)。発症鶏の治療法はないが、回復後に再度発症することはない。予防は生ワクチンが市販されている¹⁾。

本病ウイルスの伝播には接触と介卵の2つの様式があり、ウイルスは腸管や生殖器を介して体外に排泄され、経口的な摂取が接触感染の主体をなしている。一方種鶏群が感染した場合には、体内で増殖したウイルスが血流などの経路を介して卵中に移行して胎児を汚染し、孵化した雛がAEの症状を示す²⁾。

2016年12月末から2017年1月初旬にかけて、同一種鶏場から導入した2農場の初生雛で、AEの発生があったのでその概要を報告する。

発生状況

2016年12月下旬、採卵鶏と肉用鶏約8000羽を飼養するA農場から、肉用鶏の初生雛で導入翌日から死亡が続いているとの連絡を受け現地調査を行ったところ、歩様蹣跚を呈する雛や死亡する雛が確認され、導入6日目の育雛の病性鑑定を実施した。その後も死亡が継続したため、導入15日目にも再度立入りと検査を実施した。

また、2017年1月下旬、採卵鶏約2000羽を飼養するB農場から、導入した採卵鶏の初生雛が3日目以降継続して死亡し、7から9日目に一旦治まり、その後再び死亡が増えだしたとの連絡を受けた。現地調査を行ったところ、A農場と同様の症状を示す雛を確認したので病性鑑定を実施した。なお、A、B農場の雛導入元は同一農場であり、AEワクチンを接種していなかった。

材料及び方法

材料：A農場では、2016年12月27日に採材した6日齢肉用鶏雛6羽、2017年1月5日採材した15日齢肉用鶏雛5羽及び2016年12月27日から2017年2月1日に採材した血清を検体とした。B農場では、平成29年1月26日に採材した16日齢採卵鶏雛6羽及び2017年1月17日から2017年5月22日に採材した血清を検体とした。

細菌学的検査：A農場の6日齢の雛について、卵黄嚢、盲腸、糞便について細菌学的検査を実施した。B農場については、疫学情報、剖検所見より細菌性疾患の可能性は低いいため、実施しなかった。

病理学的検査：病性鑑定材料とした雛は、解剖の後、主要臓器、脊髄、脾臓及び腺胃について病理組織学的検査を実施した。

ウイルス学的検査：

1 遺伝子検査：病性鑑定材料とした雛の主要臓器、気管、クロアカ、脊髄、血清、ファブリキウス嚢及び卵黄嚢の10%乳剤について、抽出キット（QIAamp MinElute Virus Spin Kit、(株)キアゲン、東京）よりRNAを抽出し、VP2³⁾及び5' UTR領域を標的としたAEV遺伝子を検出するRT-PCRを実施。得られた増幅産物について塩基配列解析を実施し、ワクチン株及びGenBank登録株を用いて系統樹解析を実施した。

2 AEV抗体検査：AE抗体検査用キット（AEエリザキット、(株)IDEXX、東京）によりプレ血清及びポスト血清を用いた抗体検査を実施した。

3 AEV培養検査：脳及びクロアカの10%乳剤について、7個のSPF卵を用いて発育鶏卵接種試験（卵黄嚢内）を実施、18日齢で開卵し、鶏胚の剖検、病変の観察後、肝臓、心臓、脾臓、脳、卵黄嚢についてAEV遺伝子を検出するRT-PCRを実施した。

結 果

細菌学的検査では有意菌は分離されなかった。

剖検所見では著変はなく、組織所見ではA及びB両農場の雛で、大脳や腰髄等神経組織の灰白質背角部に中心性色質（虎斑）融解を起こした大型神経細胞が認められ、囲管性細胞浸潤が散見された。その他の臓器では、程度の差はあるもののリンパ球様細胞の軽度集簇が認められた（図1, 2, 3, 4）。

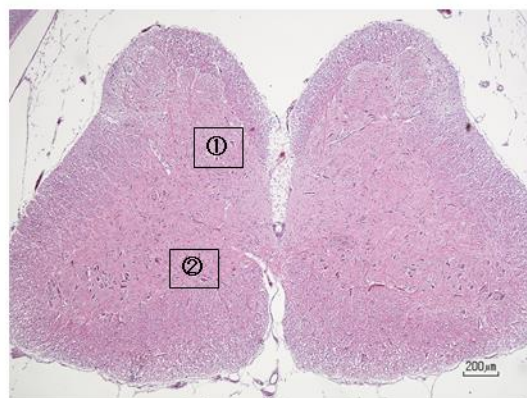


図1 A農場の病理組織学的検査結果 個体No.2腰髄 HE染色

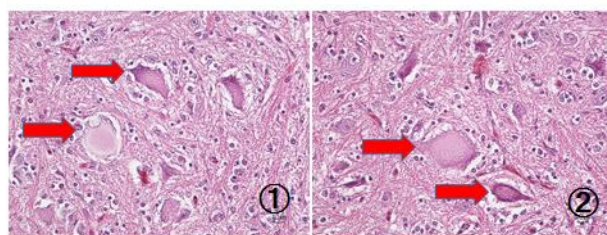
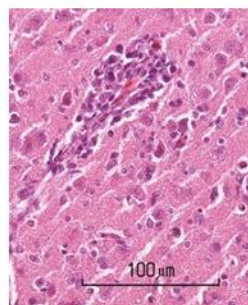


図2 A農場の病理組織学的検査結果 個体No.2 HE染色
大型神経細胞の中心性虎斑（色質）融解
（図1①②の拡大）

No.1 大脳 囲管性細胞浸潤



No.1 脾臓 リンパ球様細胞の集簇

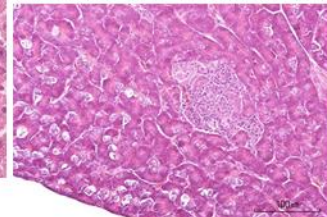
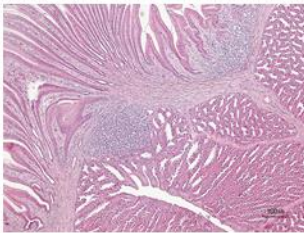


図3 A農場の病理組織学的検査結果 HE染色

No.3 腺胃 リンパ球様細胞の集簇



No.4 心臓 リンパ球様細胞の集簇

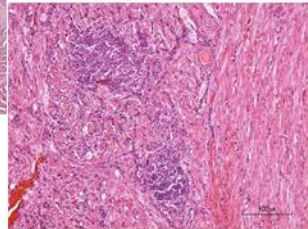


図4 A農場の病理組織学的検査結果 HE染色

ウイルス学的検査では、VP2 及び 5' UTR 領域における RT-PCR において全個体から AEV 遺伝子を検出した (表 1, 2)。塩基配列解析では A 農場及び B 農場で検出された株は、VP2 領域では 100% 塩基配列が一致し、5' UTR 領域では 1 塩基異なっていた。系統樹解析では A 農場の株と B 農場の株は近縁株と判定された (図 5, 6)。

表 1 A農場における AEV 遺伝子検査結果

採材日	個体 No.	検体	AEV RT-PCR	
			VP2 及び 5' UTR	
第 1 回目 12月2日	3	気管・クローアカ (Fのう) プール	+	
	4	気管・クローアカ・卵黄囊 プール	+	
	5	卵黄囊	+	
第 2 回目 1月5日	1	肝・腎・胸・心・肺 プール	+	
		脳・気管・クローアカ・Fのう・胸部脊髄 プール	+	
	2	肝・腎・胸・心・肺 プール	+	
		脳・気管・クローアカ・Fのう・胸部脊髄 プール	+	
	3	肝・腎・心・肺・脳・気管・胸部脊髄 プール	+	
	4	脳・気管 プール	+	
	5	脳	+	

表 2 B農場における AEV 遺伝子検査結果

個体 No.	AEV RT-PCR VP2 及び 5' UTR									
	検体									
	血清	肝臓	腎臓	脾臓	心臓	肺	脳	Fのう	卵黄囊	気管
1	-	+	-	-	+	+	-	+	-	NT
2	+	+	+	+	+	+	+	+	NT	+
3	+	NT	NT	+	NT	NT	+	NT	NT	NT
4	NT	NT	NT	+	NT	NT	+	NT	NT	NT
5	NT	NT	NT	+	NT	NT	+	NT	NT	NT
6	NT	NT	NT	+	NT	NT	+	NT	NT	NT

+ 陽性
- 陰性
NT 未実施

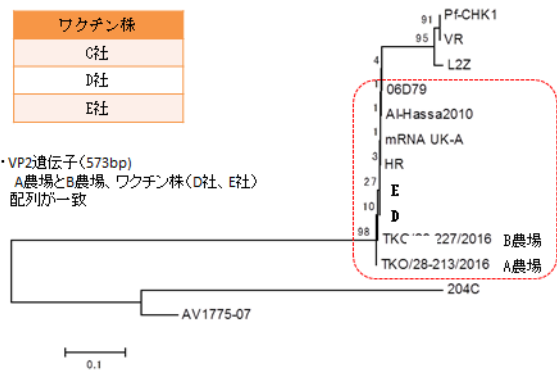


図 5 塩基配列解析及び系統樹解析結果 (VP2)

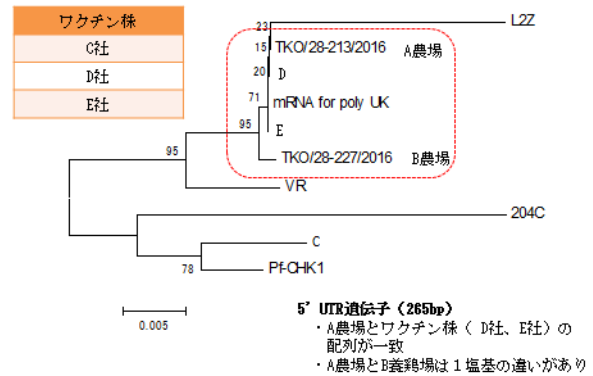


図 6 塩基配列解析及び系統樹解析結果 (5' UTR)

抗体検査では、A 農場の 1 ヶ月後の血清で検査した全群の抗体が有意に上昇した (表 3)。B 農場の発生鶏舎では、導入後 2 週間目の血清で、半数 (3/6) が、3 ヶ月後の血清では 100% (10/10) が抗体を保有していた (表 4)。しかし農道を挟んだ他の鶏舎では有意な抗体の上昇は認められなかった。

発育鶏卵接種試験では、12 日齢に 1 個の胚が死亡し、18 日齢で 6 個を開卵し検査に供した。鶏胚の剖検所見では著変は認められなかったが、組織所見では一部の個体で脳に囲管性細胞浸潤、脊髄に中心性色質 (虎斑) 融解が認められた。また、心臓及び肝臓等神経系以外の臓器でもリンパ球の集簇が認められた。鶏胚の臓器を材料とした RT-PCR では全検体から AEV 遺伝子が検出された。

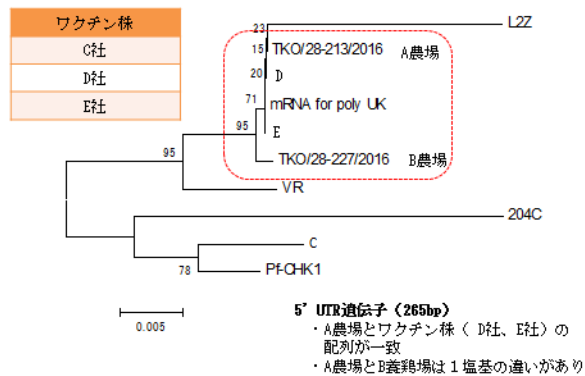


図6 塩基配列解析及び系統樹解析結果 (5' UTR)

表4 AEV抗体検査結果 B農場

2017年1月11日	採卵鶏 (初生雛500羽) 導入	入口
1月17日	鶏病抗体調査およびサルモネラ検査	①
1月28日	病性鑑定実施	②
2月22日	post血清採材	③
		④

病性鑑定

鶏種	導入日	鶏舎	2017. 1. 17		2017. 1. 26		2017. 2. 22		2017. 5. 22		備考
			陽性率	検体数	陽性率	検体数	陽性率	検体数	陽性率	検体数	
採卵鶏	2017. 1. 11	①	NT	50%	6	75%	8	100%	5	AE 感染雛	
採卵鶏	2016. 10. 6	②	0%	5	NT	0%	5	10%	10		
採卵鶏	2016. 4. 6	③	NT	NT	0%	5	0%	5			
採卵鶏	2015. 10	④	NT	NT	0%	5	0%	5			

考 察

今回のA農場及びB農場における導入雛の死亡事例について、臨床症状、疫学調査、病性鑑定結果から総合的に判断し、AEと診断した。

遺伝子検査で、5' UTR領域において、A農場及びB農場の塩基配列で1塩基の変異が認められたが、系統樹解析より近縁株と推察された。両農場で検出された株はワクチン株と近縁であったが、その由来については不明であった。

今回の結果の詳細について導入元の農場に連絡したところ、種鶏に対するAEワクチン接種を開始、その後の発生は確認されていない。

今回の発生事例では、A農場で抗体検査の結果より、感染は農場全体に広がっていた。A農場では、日常の作業が複数人で行われており、感染が広がった一因と思われる。一方、B農場では、発生鶏舎と他の鶏舎の間に農道があり、日常作業も

一人で行われていたことも、両養鶏場における感染の広がりに影響したと思われる。

疾病は、何時、どんな形で侵入するかは予測ができない、改めて、飼養管理衛生の意識の重要性認識された。

引用文献

- 1) 小沼 操ら：鶏脳脊髄炎, pp209. 動物の感染症, 第二版, 近代出版, 東京 (2006)
- 2) 池田澄雄ら：鶏脳脊髄炎, pp79-91. 鶏病診断, 家の光協会, 東京 (1982)
- 3) Xie Z et al. Reverse transcriptase-polymerase chain reaction to detect avian encephalomyelitis virus. Avian Dis. 49 (2). 227-30 (2005)

