

平成30年度 九州地区鶏病技術研修会次第

1 開会	10:00～
2 挨拶	10:00～10:20
3 審査委員紹介・座長紹介並びに運営上の注意	10:20～10:25
4 九州各県話題提供並びに討議	
演題番号1～4	10:30～12:00
昼食休憩	12:00～13:15
演題番号5～8	13:15～14:35
休憩	14:35～14:45
5 特別講演	14:45～16:20
6 審査講評	16:20～16:35
7 閉会	16:35

【審査委員】(順不同)

鶏病研究会 担当理事	内田 幸治 先生
株式会社 微生物化学研究所 生産管理室室長	國米 則秀 先生
日生研株式会社 製造部部长	林 志鋒 先生
KM バイオロジクス株式会社 開発課課長	山崎 憲一 先生

【特別講演】

演題「鳥の摂食と生体リズムの機構について」

講師 宮崎大学農学部獣医学科獣医生理学講座 特別教授 村上 昇 先生

【座長】

演題番号1～3	南薩家保	防疫課長	柴田 昭一
演題番号4～6	曾於家保	防疫課長	池田 省吾
演題番号7～8及び特別講演	鹿児島中央家保	防疫課長	大藪 浩之

○運営上の注意点

- 1 発表時間は12分以内とします。10分を経過するとベルが1回鳴り、12分を経過(発表時間終了)でベルが2回鳴ります。
- 2 次演者は、次演者席で準備をお願いします。
- 3 質疑、討論時間は5分程度とし、進行は座長に一任させていただきます。座長の指示に従い、所属・氏名を述べてから発言をお願いします。
- 4 館内での食事はご遠慮ください。携帯電話はマナーモードをお願いします。

平成30年度 九州地区鶏病技術研修会

【話題提供】

- 1 ブロイラー農場における生産性向上を目指した飼養衛生プログラム作成
沖縄県北部家畜保健衛生所 泉 里奈・・・3
- 2 県内のA処理場におけるブロイラーの大腸菌症、マレック病及び変性による全部廃棄の過去10年間の変遷について
(公財)佐賀県食鳥肉衛生協会 下平 秀丸・・・4
- 3 肉用鶏農場で発生した *Aspergillus fumigatus* による鶏アスペルギルス症
福岡県筑後家畜保健衛生所 佐伯 厚記・・・6
- 4 汚染度の低減した採卵鶏農場におけるサルモネラ分離検査
大分県大分家畜保健衛生所 吉田 史子・・・7
- 5 鶏病原性大腸菌の薬剤耐性及び遺伝子学的特徴
鹿児島県志布志食肉衛生検査所 神田 卓弥・・・8
- 6 鶏大腸菌症誘発因子としての鶏伝染性気管支炎ウイルスの関与調査
長崎県中央家畜保健衛生所 井上 大輔・・・10
- 7 野外ブロイラーからの抗原変異型を疑う伝染性ファブリキウス囊病ウイルスの分離
KM バイオロジクス株式会社 柴田 裕子・・・12
- 8 H5N6 亜型高病原性鳥インフルエンザの病理学的検索及び過去県内発生例との比較
宮崎県宮崎家畜保健衛生所 重永 あゆみ・・・14

【特別講演】

演題 「鳥の摂食と生体リズムの機構について」

講師 宮崎大学農学部獣医学科 特別教授 村上 昇 先生・・・15

1 ブロイラー農場における生産性向上を目指した飼養衛生プログラム作成

○泉里奈¹⁾ 仲村真理²⁾ 奥村尚子²⁾

¹⁾沖縄県北部家畜保健衛生所, ²⁾沖縄県家衛試

【はじめに】平成 26 年 10 月から新施設でのブロイラー生産を開始した農場で、平成 27 年 5 月下旬から事故率が増加。家保は病性鑑定を重ねるとともに、飼養管理改善を指導し、飼養衛生プログラムを検討した。

当該農場の病性鑑定状況は、平成 27 年は 5 件で、主にブドウ球菌や大腸菌を含む環境菌による損耗の増加。平成 28 年は 3 件で、2 週齢前後の若齢での低血糖症や出荷前の大腸菌症。平成 29 年は 1 件で、夏場の暑熱が事故率増加の要因となっていた。飼養管理方法の改善等で生産性の向上がみられたため、約 3 年間の取り組みについて概要を報告する。

【取り組み内容】

(1) 初回の病性鑑定時には、剖検したヒナからカビや様々な環境菌などが分離されたため、飼養管理方法を確認した。導入ヒナに問題はなかったため、施設または敷料に問題がないかを検査した。鶏舎内・倉庫内・導入元それぞれのオガ粉を検査材料とし、敷料中の細菌数を調べた。さらに、敷料の消毒方法の違いによる効果を比較検討した。

(2) その後の病性鑑定で、出荷前の大腸菌症や若齢ヒナの低血糖症の発生がみられたため、時期に応じた適切な飼養密度に変更し、給餌給水器の高さ調整とヒナのえさ寄せ回数を増やすよう指導。

(3) 沖縄県特有の夏場の猛暑対策にも取り組んでいる。対策としては、屋根への散水の実施や暑熱ストレス軽減のため、ビタミン等を追加給与するよう指導。

【結果】(1) の結果、敷料中の細菌数が多いことが原因と判明。鶏舎内 $7.0 \times 10^6 \sim 1.8 \times 10^8$ (cfu/g)、倉庫内の消毒済み敷料 3.0×10^6 (cfu/g)、さらに、導入元敷料の内、朽ち木は 1.3×10^6 (cfu/g) であった。敷料の消毒方法を検討した結果、倉庫内で消毒を実施した場合に比べ、入雛前に鶏舎内で敷料を広げた状態で燻蒸消毒を実施した場合の方が消毒効果が高いことがわかった。(2) の結果、夏期以外 (10 月～4 月入雛) の坪羽数は 69 から 63、夏期 (5 月～9 月入雛) の坪羽数は 70 から 53 へ変更、さらに、餌付け管理の改善により、生産指数 (PS) は高くなった。(3) の結果、屋根への散水で鶏舎内温度は 1°C 低下し、ビタミン等給与により暑熱ストレスが軽減され、平成 29 年の育成率が 88.9% (6 月入雛) から 92.5% (8 月入雛) になった。

【考察】当該農場では平成 27 年から生産性向上を目指して飼養環境改善に取り組んできた。これまでの対策から、飼養衛生プログラムの基礎が構築され、基本的な問題が解決されたことで生産指数 (PS) は年々上がっており、病性鑑定件数も減少している。今後の課題は、依然として残る若齢での低血糖症を改善するため、光線管理とより良い餌付け方法、効果的で効率的な暑熱対策を検討していく必要がある。

2 県内のA処理場におけるブロイラーの大腸菌症，マレック病

及び変性による全部廃棄の過去10年間の変遷について

○下平秀丸，吉永直哉

(公財)佐賀県食鳥肉衛生協会

【はじめに】大腸菌症，マレック病，腹水症はブロイラーの三大疾病といわれているが，近年，食鳥肉の衛生検査において浅胸筋変性症を含めた「変性」が多発している。そこで，A処理場における平成20年度から30年度(4月～7月)まで年度毎に大腸菌症，マレック病及び変性による全部廃棄数の変遷について調査したので概要を報告する。

【A処理場の検査概要】本処理場は現在33農場から年間約700万羽のUS及びUKチャンキー種，50日齢前後のブロイラーが出荷され，1日当たり約2.5万～2.9万羽が生体検査，脱羽後検査及び内臓摘出後検査を受けている。なお，全農場とも一箇所の種鶏場から初生雛が供給されている。

【調査成績】年間検査羽数は，平成20年度603万羽から年々漸増し，27年度752万羽をピークに29年度は691万羽に若干減少気味に推移していた。大腸菌症による全部廃棄数は，平成23年度39,327羽をピークに26年度から1万羽前後で推移している。マレック病は，平成20年度2,901羽，21年度1,854羽と比較的多発していたが，22～27年度まで毎年100羽前後に推移し，29年度1,950羽，30年度4月～7月現在3,517羽と激増している。又，県内B地域やE地域の2～3農場に多発する傾向にあった。変性は，平成20～28年度まで1,804羽～3,476羽で推移していたが29年度12,643羽と激増し，30年度4月～7月現在8,698羽と更に増加する傾向にある。

【大腸菌症，マレック病及び変性の肉眼的所見】大腸菌症については，平成20年度は肺胸膜炎，心外膜炎，肝包膜炎等の漿膜炎が主体を占めていたが，21年度から皮下織炎あるいは蜂窩織炎タイプが出現しはじめ22年度以降激増し，26年度以降から現在まで全農場で内臓漿膜炎，蜂窩織炎又はその混合したものが1万羽前後で継続発生している。マレック病については，脱羽後の肉眼所見で皮膚型が大部分を占め内臓型はやや少ない傾向にあった。変性については，平成20～28年度までは体表筋肉が全身的に暗赤色化したものが大部分を占め浅胸筋変性症は希であったが，29年度から胸部皮下の膠様浸潤を伴いムネ肉が著しく発達し硬化，退色，扁平化した浅胸筋変性症が激増している。

【浅胸筋変性症の病理組織所見】筋線維の大小不同化，筋線維の硝子様壊死・崩壊・融解が多発性に見られ，マクロファージの浸潤貪食等清掃反応が顕著に見られた。間質は水腫性に疎開し，線維芽細胞の増生，筋繊維の再生像も認められた。又，間質の静脈性血管壁や周囲に円形細胞の浸潤集族巣が多発的に観察された。

【考察】大腸菌症は，生産者の日々の飼養管理・衛生対策の徹底により平成26年度以降減少しているものと思われた。マレック病の多発要因として，出荷後の鶏舎内の

清掃消毒が徹底されず，野外ウイルスが活発に動いているものと推察された。浅胸筋変性症の皮下膠様浸潤は，筋肉層間質の水腫が皮下織に広範にわたり浸潤しているものと推察された。なお，体表筋肉が全身的に暗赤色化した変性は心臓機能が衰弱した個体が放血殺にも拘わらず筋肉内ミオグロビンが残存しているものと推察された。

3 肉用鶏農場で発生した *Aspergillus fumigatus* による鶏アスペルギルス症

○佐伯厚記

福岡県筑後家畜保健衛生所

【はじめに】鶏アスペルギルス症は *Aspergillus* 属真菌によって起こる疾病で、雛の輸送トラック、飼料及び敷料の汚染、換気不全による孢子の大量吸入、並びに免疫や栄養状態の低下等が要因となる。1 週齢未満の幼雛に集団発生する例が多く、死亡率が 50% に達することがある。今回、肉用鶏農場において *Aspergillus fumigatus* (以下 *A. fumigatus*) による鶏アスペルギルス症が発生したので、その概要を報告する。

【発生状況】開放平飼い鶏舎 9 棟で約 44,000 羽を飼養する肉用鶏農場において、平成 29 年 8 月 9 日に入雛した 2 鶏舎 (同一ロット、各 6,800 羽) のうち、1 鶏舎に局限して、うずくまり、元気消失、努力性開口呼吸を呈し、通常 1 日 5 羽程度である死亡羽数が 1 日齢 45 羽 (0.7%)、2 日齢 67 羽 (1.0%)、3 日齢 120 羽 (1.8%) に増加したため、病性鑑定を実施した。

【材料及び方法】死亡及び発症鶏 (4 日齢、各 5 羽) の剖検を実施した。各種臓器を用いウイルス学的検査 (鳥インフルエンザ、ニューカッスル病及び伝染性気管支炎ウイルス分離)、細菌学的検査 (一般細菌検査、ポテトデキストロース寒天培地による分離培養、真菌コロニーの形態観察及びラクトフェノールコットンブルー染色)、分離真菌について分子生物学的解析による種同定及び病理組織学的検査 (HE, PAS, 及びグロコット染色) を実施した。

【検査成績】剖検所見では、肺における粟粒大白色結節の多発 (6/10)、ウイルス学的検査では、各ウイルス分離陰性、細菌学的検査では肺から真菌を分離し (6/10)、コロニーは中心が暗緑色粉状であった。分離真菌は、*Aspergillus* 属特有のフラスコ形の頂囊、その上半分に並ぶ一層のフィアライドと連鎖した分生子の形成を認め、分子生物学的解析の結果、*A. fumigatus* と同定された。病理組織学的検査では、肺に *Aspergillus* 属特有の Y 字に分岐し、隔壁を有する菌糸を中心とした肉芽腫を認めた (10/10)。

【まとめ及び考察】以上の結果より、本症例は *A. fumigatus* による鶏アスペルギルス症と診断した。

発生鶏舎は山の斜面に接するため、外側通路の水捌けが常に悪く、また、カーテンが劣化し、雨水の流入により敷料が湿潤し易い状態であった。発生当時の敷料も、他鶏舎に比べ水分を多く含み、衛生状態が悪かったことから、敷料が発生要因と推察された。

そこで、立入時に敷料の早急な交換と鶏舎消毒の徹底を指導した結果、敷料交換後 2 日で死亡羽数は減少し、症状は鎮静化した。

当農場においては、カーテンの更新や排水環境の整備、敷料のモニタリング強化等、飼養環境の改善を重点的に指導したところ、その後本症の発生は認められていない。

本件は立入時、直ちに要因を推察し、早急な対策を講じた結果、早期に終息した事例であり、畜舎構造と立地条件を考慮した対策の重要性を強く認識した事例であった。

4 汚染度の低減した採卵鶏農場におけるサルモネラ分離検査

○吉田 史子, 丸山 信明
大分県大分家畜保健衛生所

[はじめに]管内 A 採卵鶏農場では、平成 25 年に当所が実施した衛生検査で *Salmonella* Braenderup (以下 SB) が分離された。SB は近年のサルモネラ食中毒原因血清型の上位となっていることから、その清浄化対策を講じることが求められる。今回、農場でサルモネラ対策を進めていく中で、ルーチンとして実施しているサルモネラ検査法について、サルモネラ二次遅延増菌培養 (以下 DSE) を活用し有用性を中心に検討したので、農場で実施したサルモネラ対策と併せて概要を報告する。

[農場概要] 当該農場は、ウインドウレス鶏舎で 1 棟を半分に区切り、4 棟 8 鶏舎で約 20 万羽を飼養している。ひなは県外から導入後系列の育雛センターにて 120 日齢まで飼養し、当該農場に大雛導入している。育雛センターにおいてサルモネラワクチンを接種している。

[農場でのサルモネラ対策] 農場では、アウト後の鶏舎消毒方法の変更、農場に出入りする車両の消毒の実施、サルモネラ陰性証明書つきの雛及び飼料の導入、鶏舎専用長靴の設置、強制換羽の中止等を実施している。

[材料及び方法] 平成 29 年 7 月から平成 30 年 6 月までに計 5 回消毒後の鶏舎の環境材料、集卵場の環境材料等を中心に採取した 307 検体を材料とし、鶏卵のサルモネラ総合対策指針に基づきサルモネラの分離培養を実施した。一次培養で陰性となった検体に関して DSE を実施した。サルモネラが分離された場合、常法に基づき血清型別を実施した。

[検査成績] 一次培養では 307 検体中 16 検体でサルモネラが分離された。DSE では 290 検体中 17 検体でサルモネラが分離された。一次培養で分離されたサルモネラの血清型は *S. Braenderup*、*S. Chailey* 及び *S. Corvallis*、*S. Mbandaka*、型別不能であった。DSE で分離されたサルモネラの血清型は *S. Braenderup*、*S. Chailey* 及び *S. Corvallis*、*S. Singapore*、*S. Othmarschen*、型別不能であった。

[まとめ及び考察] サルモネラの分離検査において、一次培養のみでは全体で 5.2% の分離率であったが、DSE を実施することで 11% の分離率となった。全体で 5 回実施した検査のうち 2 回の検査では DSE のみでしかサルモネラが分離されなかった。また、DSE を行うことで一次培養では認められなかった血清型も分離された。

今回の結果から、DSE の重要性が再認識された。鶏卵のサルモネラ総合対策指針によると、汚染度が低いことが想定される検体に関して DSE を実施することとなっているが、今回農場でサルモネラ対策を推進し、汚染度が低減されてきた場合、DSE を行うことでさらに精度の高いサルモネラ対策につながっていくことが確認された。

5 鶏病原性大腸菌の薬剤耐性及び遺伝子学的特徴

○神田卓弥¹⁾ 牧田万悠子¹⁾ 砂川達見²⁾ 田中輝美¹⁾ 窪菌薫¹⁾ 松野下満仁¹⁾
藤元英樹³⁾ 吉満文隆⁴⁾ 福里吉文¹⁾

¹⁾志布志食肉衛生検査所, ²⁾加世田保健所, ³⁾始良保健所, ⁴⁾末吉食肉衛生検査所

【緒論】鶏大腸菌症は鶏病原性大腸菌 (*Avian Pathogenic Escherichia coli*; APEC) による感染症であり, 我が国を含め世界で, 経済的損失の大きい疾病である。発症要因として, 混合感染, 宿主要因, 環境要因が報告されており, 多くの要因が関与しているとされているが, 生体に対する APEC の病原性は明らかになっていない。そこで, 以下の 2 つの実験を行った。

実験 1

【目的】APEC の薬剤耐性及び病原性関連遺伝子を農場でのへい死率, 大腸菌症による廃棄率との相関関係を調べ, 鶏大腸菌症に関与する因子を調査した。

【材料および方法】2017 年 5 月～6 月において無作為に抽出した 14 農場における処理場の廃棄鶏 76 羽の肝臓を採材し, DHL 培地にて分離培養を行った。1 検体につき最大 3 コロニーを釣菌し, EMB 培地を用いて金属光沢のあるものを, *Escherichia coli* と同定した。分離株は, 薬剤感受性試験として, ディスク法 (K-B 法) によりアンピシリン (ABPC), セファゾリン (CEZ), コリスチン (CL) に対する薬剤感受性試験を実施した。さらに ABPC, CEZ のいずれかに対して薬剤耐性を示した株において, *bla*_{TEM}, CL に対して薬剤耐性を示した株で *mcr-1*, *mcr-2* の保有を調査した。病原性関連遺伝子 (VAGs) として *papC*, *tsh* (接着), *astA*, *vat* (毒素), *irp2*, *iuc* (鉄キレート), *iss* (血清抵抗性), *cvaA/B* (コリスチン V プラスミド) の 8 遺伝子を対象とした PCR を実施した。統計解析には R3.5.1 を用い, 一般線形化モデル (GLM) により, へい死, 廃棄に関わる因子の特定を行った。

【結果および考察】70 羽から 186 株の APEC が分離された。薬剤耐性は, ABPC53 株 (28.5%), CEZ43 株 (23.1%), CL2 株 (1.1%) であった。ABPC, CEZ は農場毎に 0-87% と耐性に差を認めたが, へい死率, 廃棄率との関連性は認められなかった。ABPC, CEZ いずれかで薬剤耐性を示した 54 株のうち 35 株 (64.8%) で, *bla*_{TEM} の保有を認めた。これまでに, これらに対する薬剤使用はなく, 遺伝子の保有, 薬剤耐性の原因は不明であった。すべての農場で CL を飼料添加していたが, CL に対する耐性獲得率は国内での報告と同様程度であった。また, CL 耐性株のうち 1 株で *mcr-1* の保有を認め, *mcr-2* は検出されなかった。

各 VAG の保有率と, へい死率, 廃棄率に関連性は認められなかった ($p>0.1$)。そこで, 接着因子 (*papC*, *tsh*), 毒素因子 (*astA*, *vat*) の保有とへい死率, 廃棄率を比較したが, 関連性は認められなかった ($p>0.1$)。しかしながら, これらの因子の保有率が低い農場

でへい死率が低い結果であった。さらに、遺伝子の保有型 (MP) を鶏レベルで比較したが、鶏大腸菌症発生に関与する MP の特定には至らなかった。

実験 2

【目的】実験 1 においてへい死率、廃棄率に関与する因子を特定できなかったため、へい死鶏と廃棄鶏、廃棄率の高い群と低い群において APEC の VAGs を比較し、因子を調査した。

【材料および方法】過去 1 年間の食鳥検査結果を基に廃棄率の高い (HC) 群, 低い (LC) 群に分類し, HC から 2 農場, LC から 3 農場を対象とした。2017 年 11 月~翌年 5 月の期間で, 5 農場において複数回の採材を行い, 大腸菌症を呈していたへい死鶏 47 羽, 大腸菌症により全部廃棄された廃棄鶏 43 羽の肝臓を採材した。APEC の分離は実験 1 と同一の方法により行ったが, 釣菌数は最大 6 とした。分離株の VAGs の保有確認には, 実験 1 と同一の手法を用いた。統計解析には R3.5.1 を用い, フィッシャーの正確検定を用い鶏大腸菌症の因子の特定を行った。

【結果および考察】へい死鶏 43 羽から 231 株, 廃棄鶏 26 羽から 128 株の APEC が分離された。へい死と廃棄鶏において, VAGs の保有を比較したところ, *astA* の保有が廃棄鶏由来 11 株 (9%) に対して, へい死鶏由来株 87 株 (38%) と有意に多い結果となった ($p<0.01$)。HC 群と LC 群において, HC 群で *astA*, *cvaA/B* はわずかに高値であった ($p>0.1$)。これまでに腸管外病原性大腸菌における病原性因子として *astA* が関与している報告もあり, 鶏大腸菌症の病態に関与する因子として *astA* の関与が示唆された。

【総括】薬剤に対する耐性は農場毎で様々であった。薬剤耐性と大腸菌症の発生との関連は明らかにできなかったが, これらの遺伝子はプラスミド上にコードされており, 大腸菌のみならず他の腸内細菌科への伝播も危惧されており, 鶏の治療, 公衆衛生上も重要であるため, 経時的な調査が必要であると思われた。鶏大腸菌症の発生率に影響を及ぼす因子の特定はできなかったが, *astA* はへい死鶏で高率に保有を認めており, 死亡率増加に寄与する因子であると思われた。今後も継続した調査を行い, 鶏大腸菌症の基礎的情報の構築を行い, 農場への情報提供につなげていきたい。

6 鶏大腸菌症誘発因子としての鶏伝染性気管支炎ウイルスの関与調査

○井上大輔 鈴木史子 早島彬美
長崎県中央家畜保健衛生所

【緒論】鶏大腸菌症は大腸菌の感染に起因する疾患で、国内の養鶏場でもっとも多発する疾病であり、とりわけブロイラー産業において甚大な被害を及ぼしている。全身感染症と局所感染症に大別され、多様な病型を示すが、敗血症型の被害が大きく、食鳥検査では全部廃棄の対象となる。感染経路は主に呼吸器で、大腸菌を含む粉塵を吸入することで全身感染を起こす。通常、健康鶏は呼吸器の線毛運動で細菌を排除するため発病することは少ないが、種々の原因で呼吸器上皮が障害されると大腸菌が増殖し、菌血症を起こす。そこに、病原体やストレスによる免疫抑制が加わることで重度の敗血症病変が形成される。本病を誘発する呼吸器障害は、種々の病原体やワクチン、環境要因等によって起こりうるが、国内の養鶏場における各要因の関与の程度について調べた報告は少ない。そこで、本調査は国内の鶏大腸菌症例で比較的多く混合感染が報告されている伝染性気管支炎ウイルス（IBV）に着目し、その関与の程度を明らかとすることを目的として行なった。

【材料および方法】2014年6月～2018年6月に長崎県内のブロイラー農場10戸で発生した18例の鶏大腸菌症例において、計81羽から採取された生臓器（気管、肺および腎臓）ならびにホルマリン固定臓器と、2018年6～8月に食鳥検査で全部廃棄となった県内のブロイラー農場8戸の出荷鶏計85羽から採取された生臓器（気管もしくは肺）を材料として、ウイルス学および病理組織学的検査を行なった。ウイルス学的検査では、各臓器乳剤について、IBVのS1遺伝子を検出するRT-PCRを実施するとともに、ウイルス分離検査として発育鶏卵尿膜腔内接種後、2代目まで継代を行ない、IBVのS1遺伝子を検出するRT-PCRを実施した。検出されたIBVのS1遺伝子については、PCR-RFLPによる簡易遺伝子型別、あるいはダイレクトシーケンス後、BLAST解析および系統樹解析を実施した。病理組織学的検査では、定法に基づきHE染色後、鏡検を行なうとともに、抗IBVマウスモノクローナル抗体（Hy Test）を用いた免疫組織化学的検査（IHC）を実施した。

【結果】農場発生例は、3～6週齢のものが89%（16/18例）であった。農場発生例の検査において、RT-PCR、ウイルス分離検査およびIHCのいずれかの方法でIBV抗原が検出されたのは61%（11/18例）であり、出荷鶏の検査では38%（3/8戸）であった。これらの症例で分離されたIBV12株の遺伝子型は、JP-I型が7株、JP-II型が1株、JP-III型が3株、Mas型が2株、型別不能が2株であった。また、これらのIBV分離株と各農場で接種されたワクチン株の遺伝子型は、89%（10/12例）で一致していなかった。さらに、同じ農場で複数回発生した症例における各分離株は、異なる遺伝子型であることが多かった。農場発生例の病理組織学的検査では、67%（12/18例）でリンパ球性気

管炎が認められた。また、リンパ球性気管炎の認められた症例では 67% (8/12 例) で IBV が検出され、認められなかった症例でも 50% (3/6 例) で IBV が検出された。

【考察】IBV は、近年長崎県で発生する多くの鶏大腸菌症例において誘発因子となっていることが考えられた。このことは、IBV を防御することで鶏大腸菌症の発生を大幅に減少させうることを示唆している。また、繰り返し鶏大腸菌症の発生がみられる農場においては、発生ごとに異なる IBV 株の感染が認められたことから、IBV は農場外から侵入している可能性が高いと考えられた。さらに、現在、IBV に対するワクチンを使用している農場は多いものの、感染株との抗原性の相異から十分な防御効果が得られていない可能性が考えられた。今回の調査では、野外における鶏大腸菌症の発生は 3 週齢頃から増える傾向が認められたが、その頃までに外部から侵入する多様な抗原性の IBV 株を防御できる対策が必要であり、ブロイラーにおける新たなワクチンプログラムの構築が望まれる。

7 野外ブロイラーからの抗原変異型を疑う

伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスの分離

○柴田 裕子、末永 清剛、山崎 憲一

KM バイオロジクス株式会社

1. はじめに

伝染性ファブリキウス嚢病 (IBD) は、ファブリキウス (F) 嚢を中心としたリンパ組織の壊死性病変を主徴とする急性ウイルス性疾患である。本病は主として 3~5 週齢の雛に免疫抑制を惹起し、他病誘発やワクチン不応答の原因となることから、経済的被害が非常に大きい疾病の一つである。

今回、九州地方で発生した鶏大腸菌症例において、国内分離報告の無い抗原変異型 IBDV (vIBDV) の感染が疑われたため、その分離を試み、性状を確認した。

2. 材料および方法

発生農場を管轄する家畜保健衛生所にて病性鑑定を実施後、複数農場由来の死亡鶏 F 嚢から作製した 10%乳剤の分与を受け、これを分離材料として SPF 発育鶏卵および SPF 鶏に投与し、ウイルス分離を試みた。分離されたウイルスについて、RT-PCR により増幅した IBDV VP2 遺伝子の塩基配列解析を実施し、既知 IBDV との配列比較を行った。

3. 結果

発育鶏卵を用いたウイルス分離：分離材料を SPF 発育鶏卵に投与したところ、鶏胚に肝臓の緑色化や変性壊死などの IBDV 感染と思われる所見が観察された。

SPF 鶏投与における所見：分離材料を 4 週齢 SPF 鶏に投与したところ、次に示す IBDV 感染と思われる所見が観察された。投与後 4 日目にやや軟便の症状が見られたが、他は臨床症状等に異常は見られなかった。剖検所見では、投与後 4 日目の F 嚢において、軽度から中等度の萎縮と膠様化が確認された。2 継代目は 1 継代目に比べ、F 嚢の萎縮がやや強く認められた。投与後 14 日目では、F 嚢について中等度~重度の萎縮が認められた。病理組織学的所見では、1、2 継代いずれも投与後 4 日目の F 嚢において、濾胞の萎縮及びリンパ球の減少が顕著に認められたが、炎症性細胞の浸潤は強くは見られなかった。投与後 14 日目では、リンパ球が増数し、濾胞の回復像が見られたが、一部に濾胞の回復が見られない個体も確認された。

遺伝子学的検索：分離材料投与後の鶏胚および F 嚢乳剤より IBDV VP2 遺伝子が検出され、抗原性に関与するアミノ酸については vIBDV の DeIE 株と相同性が高かった。

4. 考察およびまとめ

今回分離された IBDV は、SPF 鶏に対する病原性、病理組織学的検索および遺伝子解析の結果より、これまでに国内で分離例がなかった vIBDV である可能性が示唆された。SPF 鶏投与における病理組織学的所見からは、重度の免疫抑制を引き起こすこと

も懸念される。今後は、この分離株について従来型 IBDV との交差性や市販ワクチンの効果などを検討すると共に、vIBDV の国内における浸潤状況についても調査したいと考えている。

8 H5N6 亜型高病原性鳥インフルエンザの病理学的検索

及び過去県内発生例との比較

しげなが おにつかやすはる まつもとはる な
○重永あゆみ、鬼塚康晴、松本春菜¹⁾

宮崎県宮崎家畜保健衛生所，¹⁾宮崎県宮崎家畜保健衛生所日南駐在

【はじめに】2016年12月から2017年1月にかけて、宮崎県内2戸の肉用鶏飼養農場において高病原性鳥インフルエンザ（以下 HPAI）が発生し、いずれも H5N6 亜型と判定された。この2例について、病性鑑定を実施し、結果について過去県内発生例と比較を行ったので報告する。

【材料および方法】1例目は48日齢、2例目は35日齢のどちらも肉用鶏で、それぞれ死亡鶏5羽、衰弱生鶏2羽を病性鑑定に供した。

ウイルス学的検査は、A型インフルエンザウイルス簡易検査、コンベンショナルPCR、リアルタイムPCR、ウイルス分離を実施、生鶏については抗体検査(ELISA)を実施した。病理組織学的検査は、脳、主要臓器、肉冠、肉垂、皮膚、骨格筋、鼻腔、喉頭、気管について、常法に従いHE標本作製した。また、免疫組織化学的検査はA型インフルエンザウイルスマウス抗体を用い、ポリマー法で実施した。得られた結果については、過去県内肉用鶏農場で発生したH5N1及びH5N8亜型症例と比較検討した。

【成績】2例とも、A型インフルエンザウイルス簡易検査が全羽（死亡鶏5羽及び生鶏2羽）で陽性、ウイルスはH5N6亜型と判定され、全羽からA型インフルエンザウイルスが分離された。剖検では、2例いずれにおいても複数羽で喉頭、気管粘膜や肺が暗赤色を呈し、脾臓の腫大が認められた。病理組織学的検査では、脳実質では巣状壊死が散見され、気管、喉頭及び気管支粘膜上皮の変性、粘膜下の肥厚及び炎症性細胞浸潤、肉冠と肉垂の真皮においては壊死巣の形成、充うっ血、炎症性細胞浸潤、脾臓の巣状壊死等が高頻度に認められた。免疫組織化学的検査では、諸臓器の病変部及びその周辺に浸潤した炎症性細胞、鼻腔、喉頭、気管、肺の病変形成部位周囲の炎症性細胞及び血管内皮細胞などに陽性反応が観察された。今回の事例における諸臓器の壊死や血管病変の程度は、過去発生事例と比較すると軽度であったが、特にH5N1で特徴的であった肉冠病変については、肉眼的にはほぼ認められなかった。しかし、顕微鏡下では程度の差はあるものの同様な部位に壊死病変が存在し、ウイルス抗原の分布も同様であった。

【まとめ】病理組織学的検査では、2例とも脳及び呼吸器や肉冠、肉垂の真皮を中心とした全身諸臓器に壊死病変を認めた。免疫組織化学的検査では、病変部と周囲の炎症性細胞や血管内皮細胞等にウイルス抗原が観察され、それらは、過去の発生事例と比較すると病変、抗原分布を含め軽度であったが、組織感受性に差異は無いものと考えられた。今後もHPAI野外事例を十分に精査するとともに過去の発生事例と比較検討し、知見を蓄積していくことが重要と思われた。

【特別講演】

鳥の摂食と生体リズムの機構について

講師

宮崎大学農学部獣医学科獣医生理学講座
特別教授 村上 昇 (むらかみ のぼる) 先生

略歴

氏名： 村上 昇

現住所：宮崎県宮崎市学園木花台南 3 丁目 16 番地 17

生年月日：1952 年 4 月 13 日

学歴・職歴

1975 年 宮崎大学農学部獣医学科卒業

1977 年 東京大学大学院農学系研究科修士課程獣医学専攻修了

1980 年 東京大学大学院農学系研究科博士課程獣医学専攻修了(学位 農博)

1981 年 東京都神経科学総合研究所主事

1983 年 宮崎大学農学部助手

1993 年 宮崎大学農学部助教授

2004 年 宮崎大学農学部教授

2011 年 宮崎大学農学部長・農学研究科長

2015 年 宮崎大学学長特別補佐

2018 年～現在 宮崎大学特別教授／宮崎大学学長特別補佐
／九州保健福祉大学非常勤講師

主な受賞

1993 年 日本家畜繁殖学会賞(現 日本繁殖生物学会)

2001 年 日本獣医学会賞

2012 年 日本農学賞／読売農学賞

2015 年 紫綬褒章

鳥の摂食と生体リズムの機構について

宮崎大学農学部獣医学科獣医生理学講座 村上 昇

鶏は長い間、改良（選抜）を続けられてきた産業動物の一種である。早く成長させる、あるいは多く産卵させることが選抜の大きな目的になっていた。これらの目的を達成するために、鶏の摂食機構、あるいは生体時計機構に人為的操作や選抜を加えることで、過食化や周年繁殖化に成功したと思われる。本日は、それらの観点に沿った内容になるように話題を構成した。

食中植物などに見られるように摂食は一種の反射機構によるものであるが、高等な動物は摂食を制御する神経機構や内分泌機構を発達させた。特に、空腹感や満腹感を感じさせる末梢あるいは中枢ホルモンを生み出し、摂食の開始や中止を制御している。哺乳動物では空腹時に胃から分泌されるグレリンなどの摂食促進系ホルモンと小腸から分泌されるコレシストキニンなどの抑制系のホルモンが多数存在するが、鳥類では抑制系ホルモンが主で、促進系はほとんど無い。しかし興味深い事に、これらの抑制系ホルモンは鶏ではほとんど作用せず、鶏の視床下部弓状核の摂食調節機能はほとんど喪失していると推測される。そのために鶏では弓状核での抑制系があまり作用できず、過食が起りやすいと推測される。

摂食は動物にとって一種の本能であるが、実はこの摂食を制御するもう一つの本能が存在することが判明した。それは走行（運動）欲であり、鳥では飛行（運動）欲に相当すると推測される。また、動物の走行運動と摂食行動は密接に関係し、お互いに相反的制御を行っている。例えば、高カロリー食を摂取すると（あるいは過食になると）走行運動は抑制され、低カロリー食の摂取（あるいは少食）は走行運動を促進する。逆に走行運動の亢進は摂食を抑制し、走行運動の減少は摂食を促進することが判明した。恐らく改良され続けられた鶏は飛べなくなり、それは逆に摂食を亢進させる結果に繋がったと考えられる。1950年代の鶏はまだ多少なりとも飛ぶことが可能であったが、現代の鶏は飛ぶことはほとんどできなく、その代わりに摂食量は飛躍的に伸び、体重は約4倍に増加した。

鶏の体内時計の周期はおよそ23.7時間前後であるが、毎日約24時間の日周（昼と夜）リズムに同調しており、日の出の数時間前からコケッコーと鳴き出す。また鳴く順番は社会的順位で決められている。一般に、動物の繁殖（交配、出産、あるいは排卵・産卵）は季節繁殖が基本である、例えばウズラでは、秋の日照時間が短くなると雄ウズラの精巣は小さくなり、雌の産卵は減少する。春の日照時間が長くなると精巣は大きくなり、産卵も盛んに起こる。鶏は改良によって周年繁殖動物になったが、それでも季節繁殖のなごりは存在する。春は活発で、秋は定期換羽がおこり休産する傾向は残っている。日の長さが短くなって行くことが産卵活動を低下させるので、照明を朝夕点灯して、雌鶏に秋の訪れを感じさせないようにしている。鳥類の体内時計は鳥の種類によって事なり、視床下部、松果体、眼のいずれか、あるいは複合で存在する。一般に松果体は鳥にとっては非常に重要で、夜間に分泌される松果体ホルモンのメラトニンは鳥の体温を低下させ、行動を抑制するため、鳥は夜間には動き難くなることや、一方で夜行性のフクロウなどは、この松果体が退化してメラトニンが分泌されていないことを明らかにした。

本講演では主に以上の様な観点からのお話を提供し、皆様の参考になればと思っている。