

## 第 2 部

## 2ヶ月齢でヨーネ病の病理学的病変を認めたジャージー種子牛の一例

東部家畜保健衛生所 ○石原希朋・牛山市忠 他

### 【はじめに】

牛のヨーネ病は家畜伝染病予防法の法定伝染病に指定され、*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*（以下、ヨーネ菌）を原因とする疾病である。主に哺乳子牛が経口感染した後に、長い潜伏期間を経て、腸管の病巣で増殖したヨーネ菌が糞便中に排菌し、その後、分娩等のストレスをきっかけに慢性下痢等を発症する。これまで国内では8ヶ月齢での事例報告<sup>1)</sup>があるが、子牛の事例報告はほとんどない。今回、2ヶ月齢の子牛でヨーネ菌が分離され、病理学的所見が得られたので、その概要を報告する。

### 【発生状況】

#### 〈農場〉

乳用牛約70頭を飼養するヨーネ病が継続的に発生している酪農場

#### 〈症例〉

ジャージー種、2ヶ月齢（令和5年8月23日生）、雌、自家産

#### 〈経緯〉

令和5年11月に実施したヨーネ病防疫対策要領<sup>2)</sup>に基づく同居牛検査のヨーニン反応で陽性（腫脹差8mm）（図1）を示し、リアルタイムPCR検査（ヨーネ・ジーンKS、共立製薬）により患畜（遺伝子量：0.020pg/2.5μl）と診断された。家畜伝染病予防法に基づき殺処分し、病性鑑定に供した。なお、下痢等の臨床症状は認められなかった。



図1



図2

### 【材料・方法】

#### 〈材料〉

ヨーネ病検査マニュアル<sup>3)</sup>を基に腸管（十二指腸、空腸、回腸：回盲部から1m上・50cm上・30cm上・10cm上、盲腸、結腸、直腸）及びその内容物、腸間膜リンパ節（空腸部、回腸部、回盲部）を採材した。

### 〈分離培養検査〉

採材した腸管内容物及び腸間膜リンパ節について、ヨーネ病検査マニュアルに基づき処理し、マイコバクチン加ハロルド培地によりヨーネ菌を分離した。

十二	空	回	盲	結	直	空腸 Ly	回腸 Ly	回盲 Ly
-	-	+	+	+	-	-	-	-

※ヨーネ菌分離：+

図 3

### 〈病理学的検査〉

採材した腸管及び腸間膜リンパ節を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定し、常法によりパラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン（以下、HE）染色及びチール・ネルゼン（以下、ZN）染色を実施した。

### 【結果・成績】

#### 〈剖検所見〉

外貌に著変は認められず、腸管についてもヨーネ病に特徴的な腸粘膜の肥厚は観察されなかった（図 2）。

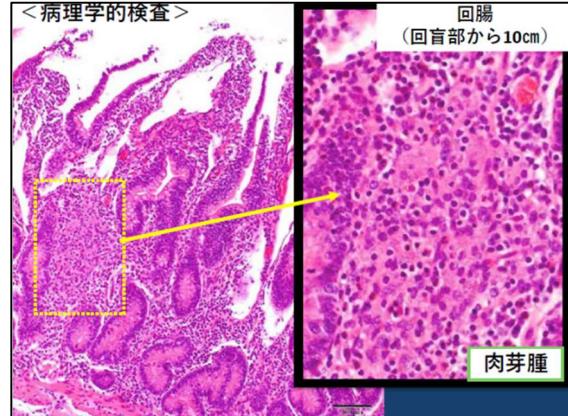


図 4

### 〈分離培養検査〉

回腸、盲腸及び結腸の内容物からヨーネ菌が分離された（図 3）。

### 〈病理学的検査〉

回盲部から 10 cm 上の回腸末端部に限局して病変が観察され、その他の検査した組織では病変は観察されなかった。回盲部から 10 cm 上の回腸では、粘膜固有層において類上皮細胞及び多核巨細胞が限局性に浸潤して

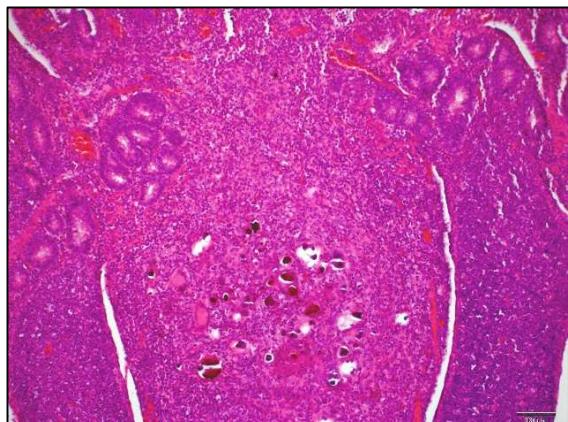


図 5

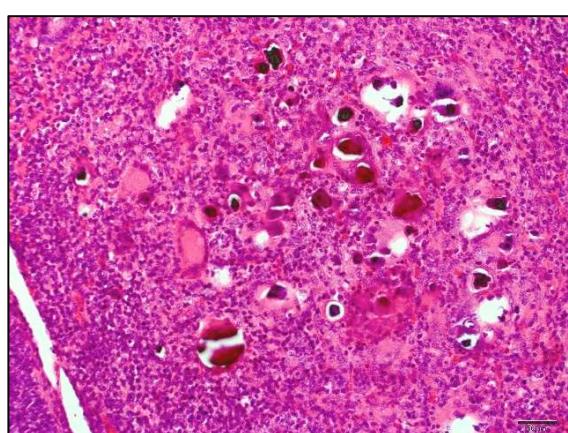


図 6

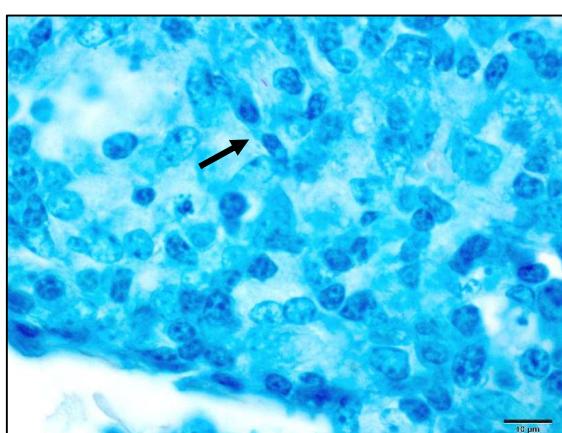


図 7

いた（図4）。パイエル板に多核巨細胞が浸潤し、その細胞質内に石灰沈着がみられた（図5、6）。ZN染色ではパイエル板の多核巨細胞の細胞質内に少数の抗酸菌が認められた（図7）。

#### 〈検査結果まとめ〉

ヨーニン反応で陽性となり、細胞性免疫の惹起が確認された。分離培養検査でヨーネ菌が分離され、排菌が認められた。また、病理学的検査では回腸末端部に菌体を伴う肉芽腫が観察された。以上のことから、本症例はいわゆる通過菌の摘発事例ではなく、感染が成立し、ヨーネ菌による病変が観察された事例と考えられた。

#### 【考察】

##### 〈病理所見について〉

Taniguchiら<sup>4)</sup>はヨーネ病の病変は進行順に病変が認められない「無病変型」、多核巨細胞主体の「類結核型」、加えて類上皮細胞の集簇を伴う「混合型」、多核巨細胞がみられず、類上皮細胞浸潤主体の「らい腫型」の病型に区分され、それらの病型は排菌量との相関することを報告している。類結核型では、抵抗型病変であり、ZN染色で病変部に菌体は認められないか少数とされ、対照的にらい腫型では感受性型病変で大量の菌体が認められる。本症例では炎症細胞は多核巨細胞が主体で、ZN染色で認められた菌体はごく少数であった。また、類結核型病変は抵抗性型病変を示し、抵抗性型病変では石灰沈着がしばしば観察される。このことから、本症例の病変は少数菌型である類結核型病変であると考えられた。

##### 〈感染経路について〉

ヨーネ病の感染経路は、乳汁感染や胎盤感染などの垂直感染と汚染された餌、水、牧草等から同居牛への経口感染といった水平感染があるとされている<sup>5)</sup>。本農場では母子は出生直後に分離飼育し、母牛からの感染を防ぐ取り組みを行っている。また、本症例の母牛は本症例摘発以降も含め、複数回の同居牛検査を実施しているが、ELISA値は陰性（図8）を示していること、同一母牛から生まれた産子に患畜はないことから、母牛からの垂直感染の可能性は低いと推察された。一方、水平感染対策として、本農場では感受性が高いとされる子牛と成牛は牛舎を分けて飼育している。しかしながら、患畜は継続的に摘発（図9）されていることから本症例の感染経路は環境中からの水平感染の可能性が高いと考えられた。本症例摘発以降に実施した環境検査では子牛舎の広い範囲でヨーネ病遺伝子が検出され、消毒不足等による環境の汚染が示唆された。

(母牛) H28.9.30生 (本症例摘発時: 7歳)							
(母牛ELISA検査結果)							
年月	R4.10	R5.3	R5.7	R5.11	R6.4	R6.8	R6.12
ELISA値	-0.018	-0.001	-0.020	-0.062	-0.035	-0.011	0.004
※ELISA値: 0.3以上を陽性、0.3未満を陰性							

図8

### 〈病態について〉

ヨーネ病は一般的に哺乳子牛が経口感染し、感染後数ヶ月で腸管及び付属リンパ節において局所的な肉芽腫が形成される。感染が成立し、局所でヨーネ菌が増殖しているこの時期に一過性の排菌を認めることがあり<sup>6)</sup>、それに反応して、細胞性免疫応答が現れる。大部分の感染牛は、感染後約半年で潜伏期に入ると考えられ<sup>7)</sup>、潜伏期間の通常2~5年と言われているが、なかには潜伏期間を経ずに感染後1年以内で発症する個体もいる<sup>6, 8)</sup>。Yamamotoら<sup>9)</sup>の疫学解析では感染牛の55%が感染初期に一過性に排菌し、感染後12ヶ月から排菌が始まり、4ヶ月間続くと推定されている。一方で、Mortierら<sup>6)</sup>は、2週齢または3ヶ月齢で高用量のヨーネ菌を接種した子牛では、接種から1~2ヶ月程で排菌し始め、その後、潜伏期間を経ずに持続排菌が認められたと報告している。本症例は2ヶ月齢と幼齢であったことから、感染初期の一過性排菌時の摘発と考えられたが、分離培養検査で複数個所から分離されるなど、排菌量が多く、潜伏期間を経ずに排菌した個体の可能性が高いと考えられた。

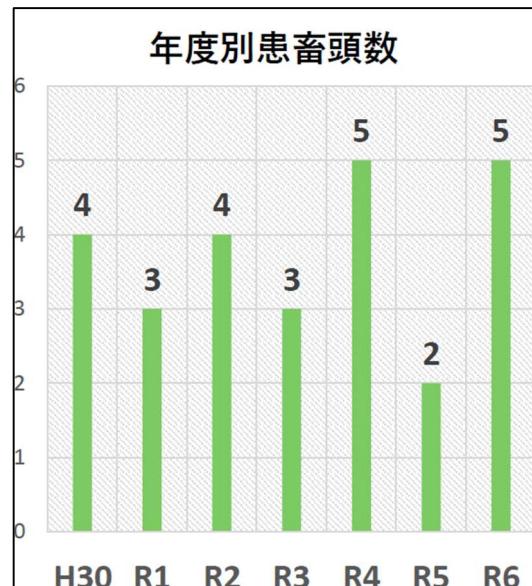


図9

### 〈まとめ〉

本症例はこれまで国内で報告されているヨーネ病患畜の症例よりも幼齢での発生であった。2ヶ月齢であったが、持続排菌をしている個体と考えられ、他の子牛への感染源となりうる可能性が示唆された。今後、より一層の衛生対策を実施し、清浄化を目指していく必要がある。

- 1) 橋本ら：平成19年度全国家畜保健衛生業績抄録、14（2008）
- 2) 農林水産省消費・安全局長通知：牛のヨーネ病防疫対策要領（平成25年4月1日24消安第5999号）
- 3) 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門：ヨーネ病検査マニュアル（2018.2.1版）
- 4) Yukiko Taniguchi et al. : The association between detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* DNA in feces and histopathological classification, J.Vet.Med.Sci. 82(5) , 541-545 (2020)
- 5) 森康之：ヨーネ病の現況と診断・対策、家畜診療、58巻3号、139-145 (2011)
- 6) Rienske AR Mortier et al. : Shedding patterns of dairy calves experimentally infected with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, Vet Res, 45, 71 (2014)
- 7) 田中省吾ら：ヨーネ菌実験感染牛の感染早期における菌増殖および病変部好

発部位の解析、鹿児島県獣医師会会報、9-12 (2016)

- 8) 川治聰子：牛ヨーネ病の検査と防疫、家畜診療、66巻10号、599-604 (2019)
- 9) Takehisa Yamamoto et al.: Evaluation of fecal shedding and antibody response in dairy cattle infected with paratuberculosis using national surveillance data in Japan , Preventive Veterinary Medicine 149, 38-46 (2018)

## 県内病性鑑定豚から分離された *Streptococcus suis* の解析

東部家畜保健衛生所 ○井出智菜・牛山市忠

### 【はじめに】

*Streptococcus suis* (以下、*S. suis*) は豚に髄膜炎や敗血症などを引き起こし、養豚産業に多くの経済的損失を与える豚レンサ球菌症の主な原因菌である。また、人獣共通感染症の重要な原因菌の一つとされ、ヒトに感染した場合に敗血症などを引き起こして死亡することもある。*S. suis* は、莢膜血清型が 30 以上に分類され、病豚では莢膜血清型 2 型による発生が最も多いことから、国内では 2 型株のみ不活化ワクチンが市販されている。しかし、2 型株のワクチンでは他の血清型に効果がないとされており、血清型の型別は農場での衛生対策にとって重要である。血清型別には抗血清が用いられるが、非特異反応や抗血清が高価であるなどの理由から、現場では PCR 法による血清型推定が有用とされている。2020 年にはこれまで識別できなかった 2 型、1/2 型等の PCR プライマーが開発され<sup>[1]</sup>、血清型推定の精度が向上した。そこで、本県における *S. suis* の感染動向を調べるため、過去の分離菌株を用いて血清型推定を実施した。また、疾病リスク推定や薬剤感受性試験もあわせて実施したので、その概要を報告する。

### 【材料】

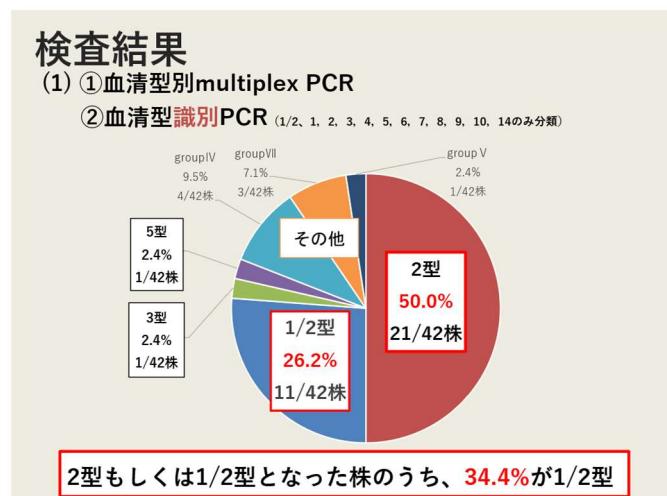
2006 年から 2024 年までに分離された県内病性鑑定豚由来 *S. suis* 15 事例 4 農場 42 株で、PCR 法により *S. suis* の特異的な配列である *recN* 遺伝子<sup>[2]</sup> 陽性を確認した株。

### 【方法】

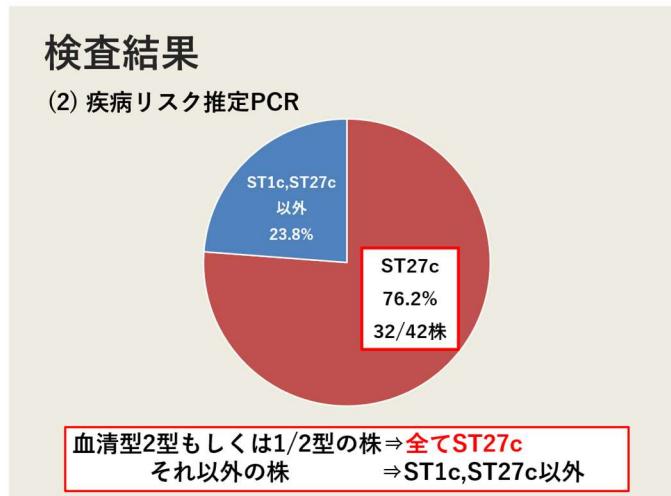
- (1) 血清型推定：莢膜合成 *cps* 遺伝子を標的とした血清型別 multiplex PCR<sup>[3]</sup> (1/2、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、14 型) を実施した。この方法で識別できない血清型(1/2 型及び 2 型)に型別された株は、Sonia ら<sup>[1]</sup> の PCR 法により血清型を識別した。
- (2) 疾病リスク推定：3 種の線毛関連遺伝子 (*sbp2*, *sep1*, *sgp1*) の有無を PCR で確認する線毛関連遺伝子プロファイリング法<sup>[4]</sup>を実施した。疾病リスクの高い集団である ST1 complex(以下 ST1) や ST27 complex(以下 ST27)、またはそれ以外の ST を推定した。
- (3) 薬剤感受性試験：1 事例ごとに主要な 1 株を選び、血清型が異なる 1 事例について 2 株用いた(15 事例 16 株)。PC、ABPC、CEZ、TS、KM、EM、TC、ERFX の 8 薬剤において一濃度ディスク法により実施した。

## 【結果】

(1) 血清型推定：供試菌株 42 株のうち、血清型 2 型が 21 株 (50.0%)、1/2 型が 11 株 (26.2%) と推定され、3 型が 1 株、5 型が 1 株、その他が 8 株だった。また、3 型と 5 型は同じ事例の株だった。そして、血清型別 multiplex PCR では識別できない 2 型もしくは 1/2 型株のうち、11/32 株 (34.4%) が 1/2 型だった。



(2) 疾病リスク推定：血清型 2 型もしくは 1/2 型と推定された 32 株 (76.2%) 全てが ST27 だった。残りの 10 株 (23.8%) はそれ以外の ST と推定され、ST1 となる株はなかった。



(3) 薬剤感受性試験：全ての株で PC、ABPC、CEZ が感受性、TS と TC に耐性があり、ERFX が中間だった。また、KM と EM については株ごとに耐性にはばらつきがあることが分かった。

## 検査結果

### (3) 薬剤感受性試験

薬剤名	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
ペニシリン	PC	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
アンビシリ ン	ABPC	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
セファゾリ ン	CEZ	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
タイロシシン	TS	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
カナマイシ ン	KM	I	I	I	R	I	I	R	R	I	R	I	I	I	I	I
エリスロマ イシン	EM	I	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S
テトラサイ クリン	TC	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
エンロフロ キサン	ERFX	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I

## 検査結果

### (3) 薬剤感受性試験



全ての株で TS と TC に耐性、ERFX が中間  
KM、EM は株ごとに耐性にはばらつきあり

## 【まとめ・考察】

莢膜血清型について、これまで識別できなかった株の 34.4% が 1/2 型と推定されたことから、2 型株のワクチン以外に衛生対策もあわせて実施する必要があると考えられた。また、疾病リスク推定では、2 型と 1/2 型の株は全て ST27 に推定され、髄膜炎や敗血症がみられた症例からの分離が多かった。一方で、ST1 と ST27 に属さない 10 株は 2 型と 1/2 型以外の血清型であり、肺炎や混合感染由来株が多かった。ST27 に属する株は病豚由来株に加え、北米やタイのヒト由来株の多くが含まれているため、経済的被害のみならず人獣共通感染症としてもリスクが高く、注意が必要である。また、薬剤感受性については、既報<sup>[5]</sup>と同様に、今回の株でも PC、ABPC、CEZ が感受性、KM、EM、TC は耐性傾向となった。今後も、県内の菌株解析を実施し、動向把握に努めていく。

## 結果まとめ

No.	農場	血清型	疾病リスク	耐性薬剤パターン	症状
1	A	1/2型	ST27c	TS TC	敗血症
2	B	2型	ST27c	TS EM TC	髄膜炎、敗血症
3	A	1/2型	ST27c	TS EM TC	髄膜炎、敗血症
4	A	groupVII	ST1c,ST27c以外	TS KM TC	膿瘍
5	B	2型	ST27c	TS TC	髄膜炎
6	B	3型	ST1c,ST27c以外	TS EM TC	膿瘍
7	B	5型	ST1c,ST27c以外	TS KM TC	膿瘍
8	A	groupV	ST1c,ST27c以外	TS KM TC	脳出血
9	C	groupVII	ST1c,ST27c以外	TS TC	敗血症
10	A	1/2型	ST27c	TS KM TC	髄膜炎
11	D	groupIV	ST1c,ST27c以外	TS EM TC	髄膜炎、敗血症
12	D	2型	ST27c	TS EM TC	髄膜炎、敗血症
13	D	2型	ST27c	TS EM TC	肺炎、敗血症
14	D	2型	ST27c	TS EM TC	全身臓器出血、敗血症
15	D	2型	ST27c	TS EM TC	肺炎、髄膜炎、敗血症
16	A	2型	ST27c	TS TC	髄膜炎、敗血症

## 〈参考文献〉

- [1] Sonia Lacouture et al. Development of a mismatch amplification mutation assay to correctly serotype isolates of *Streptococcus suis* serotype 1, 2, 1/2, and 14, J vet Dagn Invest, 32(3), 490–494 (2020)
- [2] Ishida et al. Development of an appropriate PCR system for the

- reclassification of *Streptococcus suis*, J Microbiol Methods, 107, 66–70 (2014)
- [3] Masatoshi Okura et al. Development of a Two-Step Multiplex PCR Assay for Typing of Capsular Polysaccharide Synthesis Gene Clusters of *Streptococcus suis*, J Clin Microbiol, 52(5), 1714–1719 (2014)
- [4] 高松大輔. 線毛関連遺伝子のプロファイリングによる疾病リスクの高い *Streptococcus suis* 株の識別, 日獣会誌, 64, 600–603 (2011)
- [5] 島田秀明. 豚レンサ球菌の家畜衛生・公衆衛生事情, Swine Disease Information, 42 (2011)

# 県内採卵鶏農場で分離された鶏伝染性気管支炎ウイルスの遺伝学的解析

東部家畜保健衛生所 ○坂本安由美 牛山市忠

## 【経緯】

鶏伝染性気管支炎（以下、IB）は、呼吸器症状や産卵率の低下、腎炎、下痢など多彩な症状示すことが知られており、家畜伝染病予防法の届出伝染病に指定されている。日齢、品種、季節等に関係なく発生し、一般的に致死率は低いが、細菌等の二次感染や腎炎を伴う場合、幼雛での発生の場合は、致死率が増加する傾向にある。予防にはワクチンが用いられるが、IBV は抗原変異を起こしやすく抗原型が多数存在することから、ワクチン株と野外株との抗原性が異なる場合には、十分な予防効果は期待できない。そのため、各メーカーから販売されている多種多様な IB ワクチンの中から適切なものを選択することが重要となる。

IB の原因となる鶏伝染性気管支炎ウイルス（以下、IBV）は、コロナウイルス科 ガンマコロナウイルス属の一本鎖 RNA ウィルスである。遺伝子型別には、抗原性に関与するスパイクタンパクの S1 領域や S2 領域の配列解析が用いられ、主に図 1 に示すような遺伝子型に分類される。これらの遺伝子型は血清型とも一定の関連性を示すことから、農場で使用するワクチンを選択する際にも有用である。

今回、複数種類の IB ワクチンを接種していた採卵鶏農場において、県内で 14 年ぶりに IB が発生し、分離された IBV（以下、分離 IBV）について遺伝学的解析を実施したところ、JP-I 型 S95 ワクチン株と遺伝的に近縁な野外株が検出されたため、その概要について報告する。

## 【発生概要】

令和 5 年 12 月、ウインドウレス鶏舎 6 棟、飼養羽数約 18 万羽の採卵鶏農場の 1 鶏舎において、160 日齢のジュリアライトの死亡羽数が増加した旨、通報があった（図 2）。通報当日の死亡率が過去 21 日間の平均死亡率の 2 倍を超えたため家畜保健衛生所が立ち入り検査を実施し、簡易検査で鳥インフルエンザ陰性を確認。当該農場では、数日前にも別の鶏舎において *Clostridium perfringens* 感染症の関与が疑われる死亡羽数の増加が認めら



図 1 IBV の遺伝子型



図 2 発生概要

れていたため、精密検査による死亡原因究明を目的に病性鑑定を実施した。

当該鶏舎の死亡羽数、産卵率は図3に示すとおりである。死亡羽数(■)は、通報10日前から増加し始め、過去21日間の平均が3.38羽のところ、通報当日は24羽の死亡だった。また、通報直後は死亡羽数が多い日も散見されたものの、通報1週間後以降は徐々に減少していった。産卵率(■)については低下は認められず、メーカーが公開しているジュリアライトの飼養管理ガイドに記載されている産卵率(◆)と比較しても大きな乖離は認められなかった。

また、農場のワクチンプログラムは図4に示すとおりであり、7種類のIBワクチンを含む複数疾患に対するワクチンが投与されていた。また、使用されていたIBワクチンには5種類のS1遺伝子型に分類される6種類のウイルス株が含まれていたことから、幅広い抗原性による交差防御を考慮したワクチンプログラムが構築されていることが確認できた。

## 【材料と方法】

死亡鶏6羽(No.1~6)について剖検を実施し、主要臓器、気管スワブ及びクロアカスワブを採材した。寄生虫学的検査、細菌学的検査及び病理組織学的検査については定法のとおり実施。ウイルス学的検査の方法については、以下に示すとおりである。

### (1) 遺伝子検査

主要臓器の10%乳剤並びに気管スワブ及びクロアカスワブを用いて、IBV、マレック病ウイルス(MDV)、ニューカッスル病ウイルス(NDV)、鶏伝染性喉頭気管炎ウイルス(ILTV)及び鶏アデノウイルス(AAV)のRT-PCRまたはPCRを実施した。

### (2) ウィルス分離

主要臓器の10%乳剤並びに気管スワブ及びクロアカスワブを用いて、発育鶏卵尿膜腔内接種法によるウィルス分離を実施した。

### (3) IBVの遺伝学的解析

分離IBVについて、S1領域を標的としたRFLP型別<sup>[1]</sup>及び型別RT-PCR<sup>[2]</sup>を実施し、ダイレクトシーケンス法による分子系統樹解析及びアミノ酸配列解析を行った。また、S2領域についてもRT-PCR<sup>[3]</sup>による遺伝子增幅後、ダイレクトシーケンス法による分子系統樹解析を実施した。

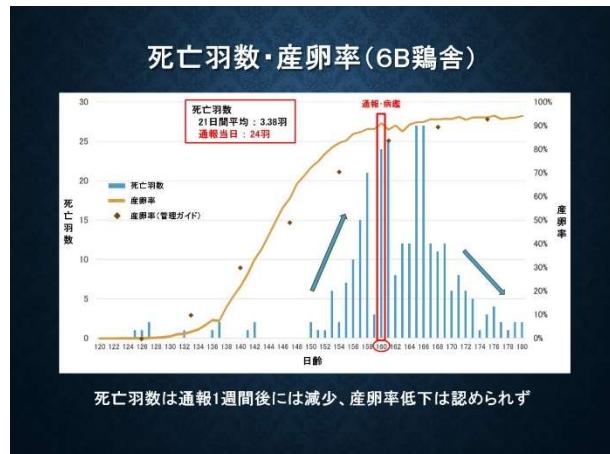


図3 死亡羽数・産卵率の推移

農場ワクチンプログラム			
日齢	対象疾患	IBワクチン詳細	
		株名	S1遺伝子型
0	POX、MD、IB	H120	Mass
10	ND、IB	ON	Gray
20	IBD		
27	IBD		
32	ND、IB	H120	Mass
45	IB	C-78	JP-I
55	POX、ILT、Mg		
65	ND、IB	TM86	JP-II
70	AE		
80	ND、IB、EDS、IC、Mg、 サルモネラ症、大腸菌症	練馬、TM86	Mass、JP-II
105	IB	AK01	JP-III

複数種類のIBワクチンを接種

図4 ワクチンプログラム

## 【結果】

剖検所見は図5に示すとおり、全羽に共通して認められたのは盲腸がやや黒変していたことのみであった。他に、No.4及びNo.6で皮下膿瘍、No.5で腸間膜の黒色化、No.6で腎臓の軽度な腫大が認められたが、IBを疑う明確な所見は確認できなかった。また、寄生虫学的検査では、No.2及びNo.3の盲腸内容物から微量のコクシジウムのオーシストが検出され、細菌学的検査では、全羽の十二指腸内容物から*C. perfringens*が分離されたが、 $1.0 \times 10^6 \text{CFU/g}$ 以上であったのは3羽のみだった。

病理組織学的検査では、全羽の腎臓において皮質間質へのリンパ球の浸潤並びに尿細管上皮の変性及び壊死、尿細管腔の尿酸塩結晶及び痛風結節が多数認められ、尿細管間質性腎炎が確認された（図6）。また、農研機構 動物衛生研究部門（以下、動衛研）で実施していただいた免疫組織化学染色において、全羽の腎臓で尿細管上皮に一致して茶褐色に染まるIBVの抗原が検出された（図7）。

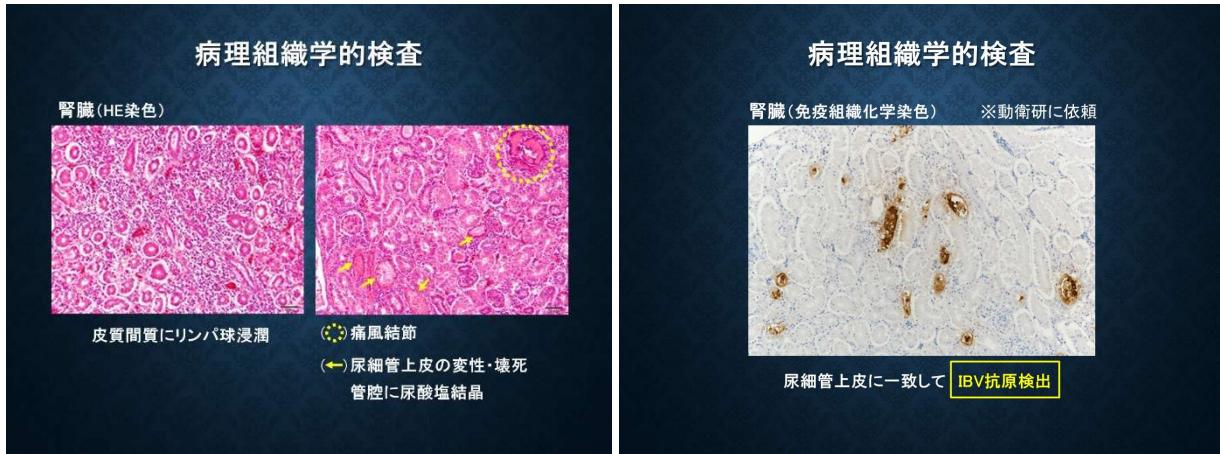


図5 剖検所見、寄生虫・細菌学的検査

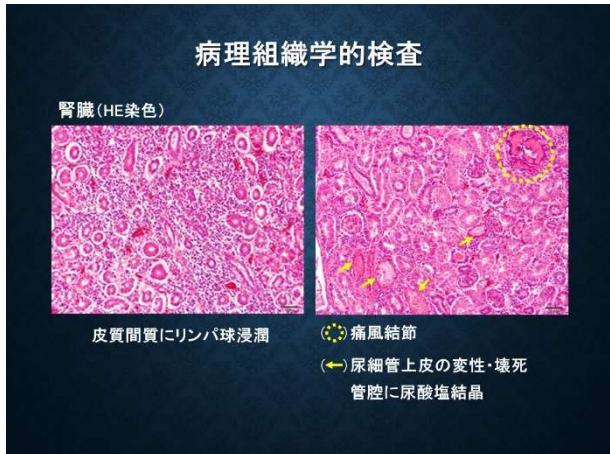


図6 腎臓 HE 染色

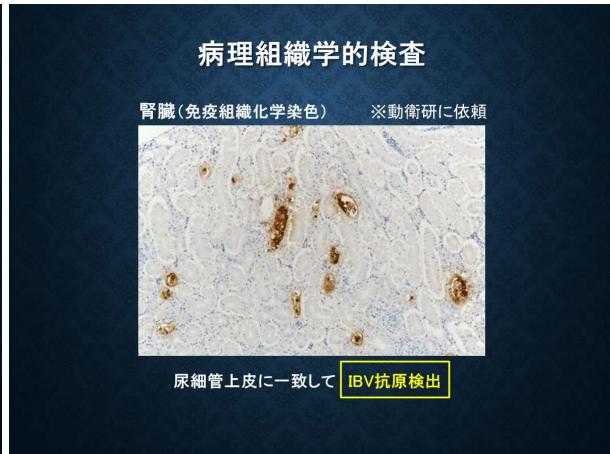


図7 腎臓 免疫組織化学染色

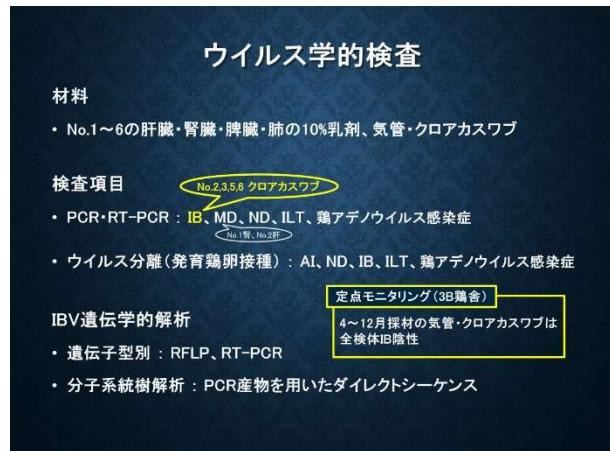


図8 ウイルス学的検査

びクロアカスワブについても検査を実施し、IBV 陰性であることを確認した。

## (2) ウイルス分離

全羽の腎臓並びに No. 2 及び No. 5 のクロアカスワブにおいて、IBV に特徴的なカーリングや鶏胚の矮小化が認められ（図 9）、鶏胚の腎臓において褪色及び軽度の腫大が確認された（図 10）。これらの所見が認められた鶏卵について、回収した尿膜腔液を用いた RT-PCR を実施し特異遺伝子が検出されたことから、IBV の分離が確認された。



図 9 カーリング・鶏胚の矮小化

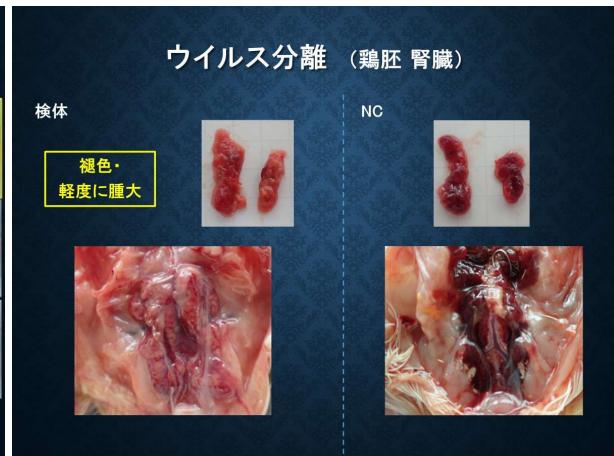


図 10 褪色・腫大

## (3) IBV の遺伝学的解析

分離 IBV は、型別 RFLP（図 11）及び型別 RT-PCR（図 12）のいずれにおいても、全検体 JP-I 型であることが確認された。

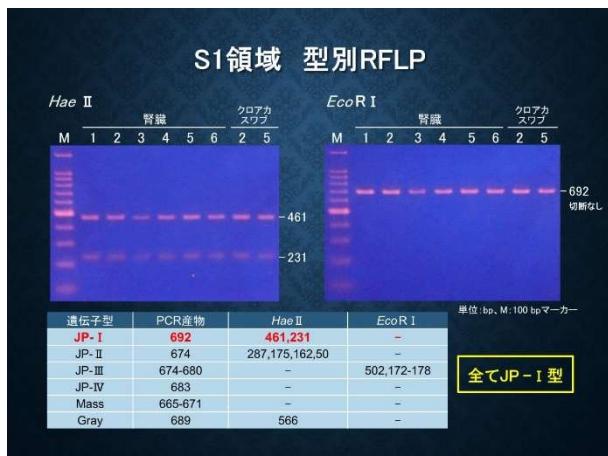


図 11 S1 領域 型別 RFLP

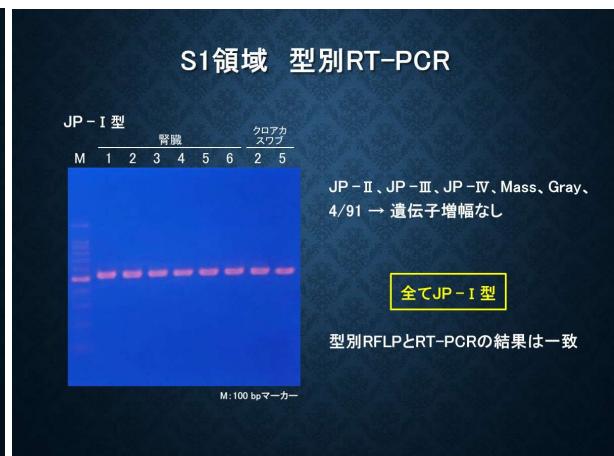


図 12 S1 領域 型別 RT-PCR

S1 領域における分子系統樹解析により、分離 IBV とワクチン株を比較したところ、分離 IBV は JP-I 型 S95 株との相同意が 99.53~99.85% であり、遺伝学的に近縁であることが確認された（図 13）。なお S95 ワクチンについては、農場のワクチンプログラムには含まれていなかった。また、同領域についてアミノ酸配列解析を実施したところ、123 番目のアミノ酸について、ワクチン株がロイシンであることに対し、分離 IBV はすべてプロリンであった（図 14）。



図 13 S1 領域 ワクチン株との比較

次に、S2 領域についても同様に分子系統樹解析を実施したところ、グループ 6b に分類されることが確認された（図 15）。ただし、S1 領域で高い相同意性を示した S95 株については配列情報が非公開であり、相同意性の確認が行えなかったことから、他の都道府県における分離株との比較も含め、S1 領域及び S2 領域について、動衛研に詳細な解析を依頼した。

S1 領域の解析の結果、分離 IBV は S95 ワクチン株だけでなく、JP\_Ibaraki-1\_2015 とも遺伝学的に近縁であることがわかった。また、同じ JP-I 型には過去の本県分離株も含まれていたが、遺伝学的には近縁ではないことが確認された。

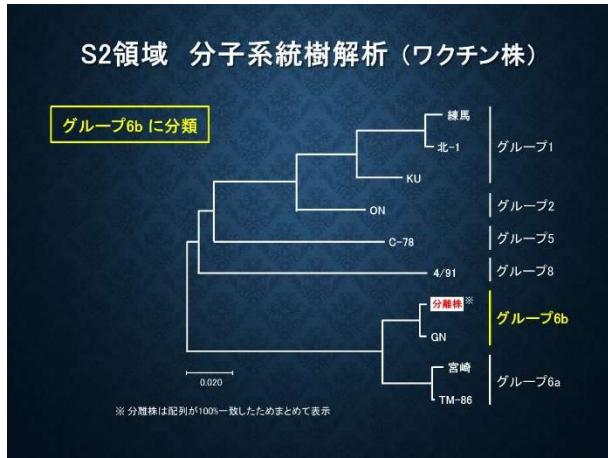


図 15 S2 領域 ワクチン株との比較

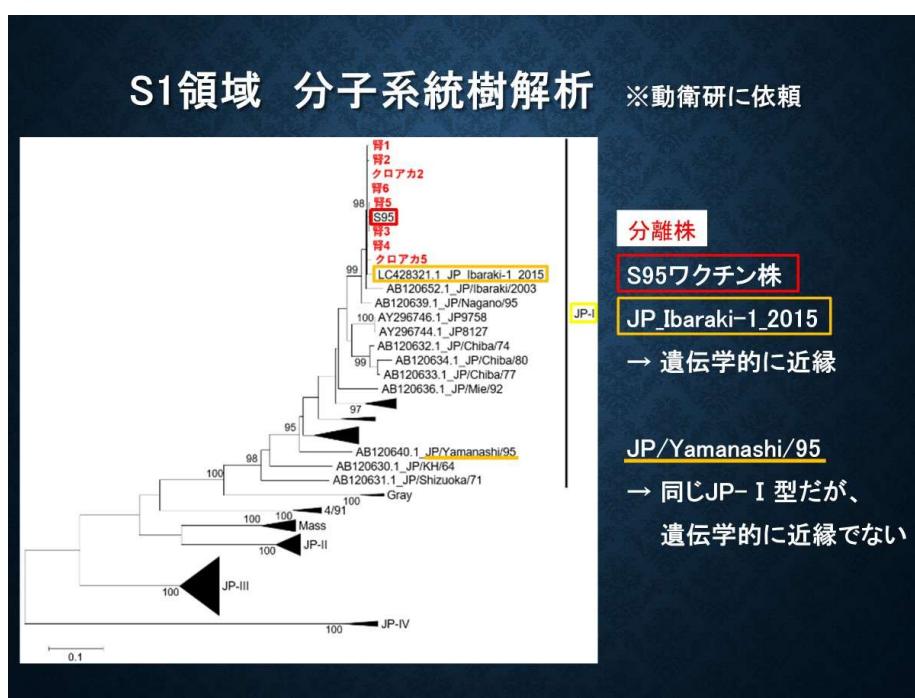


図 16 S1 領域 分子系統樹解析結果

S2 領域の解析の結果、分離 IBV は S95 株と同一の配列であることが確認され、JP/Nagano/95 の配列とも同一であることがわかった。また、過去の本県分離株とは異なるグループに分類されることも確認された。

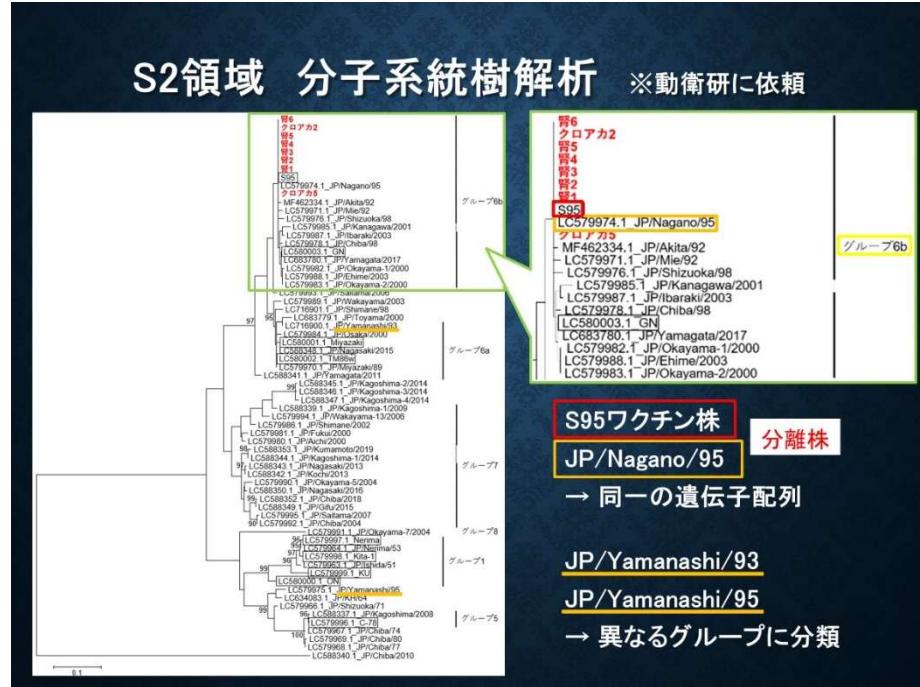


図 17 S2 領域 分子系統樹解析結果

### 【まとめと考察】

令和 5 年 12 月、死亡羽数増加の通報を受けて病性鑑定を実施。ウイルス学的検査の結果に加え、病理組織学的検査においても尿細管間質性腎炎及び尿細管上皮に IBV 抗原が確認されたことから、本症例を腎炎型 IB と診断し、本県においては 14 年ぶりの IB 発生となった。

遺伝子型別により、分離 IBV は S95 ワクチン株に近縁であることが確認された。当該農場では複数種類の IB ワクチンを投与していたものの、S95 ワクチンは未使用であったこと、S1 領域アミノ酸配列解析により 123 番目のアミノ酸に変異が確認されたことから、分離 IBV は野外株である可能性が示唆された。

また、S1 領域及び S2 領域について分子系統樹解析を実施した結果、分離 IBV は JP-I 型・グループ 6b に分類された。JP-I 型・グループ 6b は図 18 に示すとおり、近年全国的に腎炎型 IB 事例からの分離が複数報告されている。また、分離 IBV は過去の本県における分離株とは遺伝学的に異なり、近年の国内における分離株に近縁であったことから、過去の県内分離株の再発ではなく、新たに野外流行株が侵入した可能性が示唆された。

JP-I 型・グループ 6b 分離事例				
都道府県	採材年	鶏種	病型	備考
徳島県	2018	採卵鶏(育雛)	腎炎型	
愛媛県	2020	採卵鶏(育雛)	腎炎型	
新潟県	2019～2021	採卵鶏	腎炎型	
北海道	2021	採卵鶏	腎炎型	栃木県報告
兵庫県	2021	肉用鶏	腎炎型	
栃木県	2018、2022	採卵鶏(育雛)	腎炎型	
三重県	2022	採卵鶏(育雛)	腎炎型	
徳島県	2022	採卵鶏	腎炎型	
愛知県	2023	採卵鶏	腎炎型	
愛媛県	2023	採卵鶏(育雛)	腎炎型	
<b>山梨県</b>	<b>2023</b>	<b>採卵鶏</b>	<b>腎炎型</b>	

※ 業績発表会or部門別研修会で報告済みの事例

図 18 JP-I 型・グループ 6b 分離事例

## 【謝辞】

本症例の調査にあたり、免疫組織化学染色を実施していただいた動衛研衛生管理研究領域病理・生産病グループ 山本佑先生及び分子系統樹解析を実施していただいた動衛研動物感染症研究領域ウイルスグループ 谷川太一朗先生に深謝する。

## (参考文献)

- [1] M. Mase et al.: Phylogenetic analysis of avian infectious bronchitis virus strains isolated in Japan, Arch Virol, 149: 2069–2078 (2004)
- [2] 真瀬ら: 鶏伝染性気管支炎ウイルスの遺伝子型特異的 PCR プライマーを用いた型別, 鶏病研究会報, 57巻1号: 17-21 (2021)
- [3] M. Mase et al.: Genetic Diversity of Avian Infectious Bronchitis Viruses in Japan Based on Analysis of S2 Glycoprotein Gene, J. Vet. Med. Sci, 71(3): 287-291 (2009)