

## IB の簡易診断技術についての文献的考察

誌名	鶏病研究会報
ISSN	0285709X
著者	工藤, 雄一
巻/号	22巻3号
掲載ページ	p. 102-111
発行年月	1986年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## IB の簡易診断技術についての文献的考察

Diagnosis of Infectious Bronchitis in Chickens;  
a Review of the Literature

工 藤 雄 一

日本生物科学研究所 〒198 東京都青梅市新町 2221-1

Yuhichi KUDO

Nippon Institute for Biological Science 2221-1,  
Shinmachi, Ohme, Tokyo 198, Japan

ニワトリの伝染性気管支炎 (IB) は、コロナウイルス属の IB ウイルスの感染により、呼吸器障害や生殖器障害、あるいは腎臓障害などを起こし、伝播力が強いことから、時には甚大な経済的損害をもたらすことがあり、養鶏産業にとって重要な疾病の一つとなっている。

IB の症状は、感染ウイルスの病原性や、ニワトリの日齢、あるいは環境要因などによって異なり、いわゆる不顕性感染の非常に多いことも本病の特徴の一つとなっている。

また、IB ウイルスには、数多くの血清型の存在することが知られている。野外鶏のほとんどは、その一生の内に必ず IB ウイルスに感染し、加齢に伴って、多種類の血清型に対する中和抗体を保有するようになる。

一方、IB の予防には、生ワクチンと不活化ワクチンとが広く普及しているが、そのワクチン製造用株は、各製造所ごとに異なり、現在 8 種類の株が使用されている。

このように、IB では多種類の血清型のウイルスが広く蔓延し、また、ワクチンにはさまざまな株が使われていることから、野外鶏における IB の自然感染の有無を判断するには、不顕性感染やワクチン接種歴などを十分に把握した上で、ウイルス分離や中和試験などの検査手技にたよらなければならない。しかし、ウイルス分離や、中和試験による抗体測定といった基本的技術による診断には、培養細胞や鶏胚を使用しなければならず、また、多数の血清型のウイルスが存在することもあって、その作業は大変に煩雑なものとなっており、診断法としての

簡易性や迅速性に欠けていることが指摘されている。

近年、IB の簡易診断法として、寒天ゲル内沈降反応 (AGP 反応)、蛍光抗体法 (FA 法)、赤血球凝集抑制反応 (HI 反応) などが開発されているが、実際には血清型の存在が隘路となり、自然感染例への応用はほとんどされていない。そこで AGP 反応、FA 法、HI 反応の IB の簡易診断技術への応用の可能性について、文献的な検討を行った。

なお、最近研究が進められている。免疫酵素抗体法 (ELISA 法) については、今回の検討事項から除外した。

### 1. 寒天ゲル内沈降反応 (AGP 反応)

#### (1) AGP 抗原の作製法

AGP 抗原の作製法は各報告者によって若干異なるが、ほとんどの場合、IB ウイルス感染鶏胚の漿尿膜、あるいは尿膜腔液を原材料に使用している。

感染漿尿膜を材料とする場合には、膜を乳剤とし、直接抗原として使用する<sup>9,14,15,39,40,44,46</sup>か、乳剤濾液を凍結乾燥し、抗原の保存性と特異性を高めている<sup>21,42</sup>。

感染鶏胚の尿膜腔液を材料とする場合には、尿膜腔液を直接抗原とした報告<sup>28</sup>もあるが、ほとんどの場合、吸着法<sup>9,40</sup>、透析法<sup>9,15,28,42</sup>、沈澱法<sup>4,13,28,40</sup>、あるいは凍結乾燥法<sup>21,28</sup>などにより濃縮し、抗原としている。

また、IB ウイルスに感染したニワトリの気管滲出物を抗原とし、既存の IB ウイルス株に対する抗血清との間で AGP 反応を実施し、滲出物中に含まれるウイルス抗原を検出する方法も報告されている<sup>28</sup>。

#### (2) IB ウイルス株間の共通抗原性

一般に幾つかの血清型のあるウイルスに対し、AGP 反応を応用する場合、各ウイルス株間の共通抗原性の保

この解説は鶏病研究会専門委員会で検討されたものである。

1986年4月30日受付

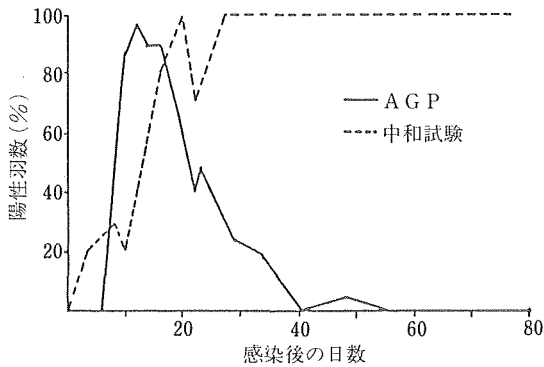
鶏病研報, 22巻3号, 102~111頁 (1986)

表 1. Be-41 株接種例および野外例および野外例血清に対する各タイプ (株) の反応

血清反応	ウ イ ル ス								
	Be-42	A 5968	L <sub>2</sub>	アイオア 609	アイオア 97	グレイ	ホルテ	KH	0535
Be-41	AGP	+	+	+	+	+	+	+	+
	NT	40*	5	40	5	20	20	10	5>
野外例	AGP	+	+	+	+	+	+	+	+
	NT	14240	640	14240	320	640	7120	14240	7120

Be-41: ボーデット 41 株 AGP: 寒天ゲル内沈降反応 NT: 中和試験 \*: 血清希釈倍数 (加藤, 鶏病研報, 1970)

図 1. 実験感染例における AGP および中和試験の関係 (R.L. WITTER, *Aviam Dis.*, 1962)



有の有無が問題となる。

IB ウイルスの場合には、既存の血清型の異なるウイルス株間<sup>21,29,44</sup>、あるいは既存の株と野外株との間<sup>4,13,15,21</sup>に共通した抗原性の存在が認められている (表 1)。

したがって、IB ウイルスの AGP 反応では、ワクチンによる抗体と野外ウイルスによる抗体との区別をつけることは難しく、実際に臨床診断法として用いる場合には、ワクチンによる AGP 抗体の存在が、自然感染を判定する上で障害となることが指摘されている<sup>14,15,17,21,33,44</sup>。

(3) AGP 抗体の消長

IB ウイルス感染による AGP 抗体の陽転時期とその持続は、ウイルスの病原性や、ニワトリの日齢などによって影響されるが、一般的にはウイルス感染後 7~14 日<sup>9,14,21,33,42,44</sup>で陽転し、10~21 日までに極期に達している。抗体はその後漸次減退するが、その持続期間は 21~42<sup>14,39,42,44</sup>と比較的短期間とする報告が多い (図 1)。しかし、感染したウイルスなどの条件によっては、98 日以上<sup>9,17,44</sup>と長期間持続した例も報告されている。

(4) AGP 抗体の陽性率

IB ウイルス感染鶏群での AGP 抗体の陽性率は、感染ウイルスの病原性やウイルス量、あるいはニワトリの日齢や感染時の抗体保有状態などによって影響を受ける。

感染鶏群における AGP 抗体の陽性率について、WITTER<sup>44</sup>は自然感染鶏群で 97.9%、ワクチン株接種鶏群で 70%であったと報告し、PARISIS<sup>39</sup>は 3 株の IB ウイルスを別々に感染させた鶏群で、37.5%、75%、56.25%であったとし、GOUGH<sup>17</sup>は、4 つの市販ワクチンを接種した鶏群で、83%、25%、36%、82%であったと報告している (表 2)。同様の報告は MACDONALD<sup>34,35</sup>、GAZDZINSKI<sup>14</sup>、CHUBB<sup>9</sup>によってもなされている。これらの報告に見られる抗体陽性率のばらつきは、前述した要因のほか、IB ウイルスの感染があったにもかかわらず、AGP 抗体の検出ができなかった個体や、たとえ抗体は陽転しても、一過性に経過してしまう個体が存在するためである<sup>17,44</sup> (表 2)。

(5) 診断への応用

AGP 反応を IB の簡易診断法として用いるには、自然感染後の 2 時点の血清について、AGP 抗体の陽性率を比較検討するなど、注意深く使用することにより、臨床への応用の可能性を示唆する報告がある<sup>9,14,16,34,44</sup>。しかし、実際には自然感染後の 2 時点での陽性率の比較は難しく<sup>34</sup>、また、ウイルス株間の共通抗原性のために、自然感染抗体とワクチン抗体の区別が困難であるばかりか、AGP 抗体の陽性率やその持続性にも大きな相違のあることが認められている。したがって、AGP 反応の臨床への応用範囲について、WITTER<sup>44</sup>や加藤<sup>21</sup>は、抗原の特異性を十分に吟味した上で、IB ウイルス感染後、ウイルス分離が低率化し、かつ、中和抗体が一様に陽転していない時期、即ち、感染後概ね 3 週までの補助的抗体検査法として用いることが適当であると述べている。

表 2. IBV ワクチン株噴霧接種後の AGP 抗体の推移

ワクチン 郡	ニワトリ No.	A G P 抗 体						
		感染後の週数 0	1 週間	2 週間	3 週間	6 週間	14 週間	
A	23	-	+	+	-	+	-	
	24	-	+	-	-	-	-	
	25	-	+	+	-	-	-	
	26	-	+	+	-	-	-	
	27	-	+	+	-	+	-	
	28	-	+	+	-	-	+	
	29	-	-	-	-	-	-	
	30	-	-	+	-	-	-	
	31	-	+	+	-	-	-	
	32	-	-	+	-	•	-	
	33	-	-	+	-	+	-	
	34	-	-	+	-	-	-	
	B	61	-	+	+	-	-	-
		62	-	+	+	+	+	+
63		-	+	+	-	-	-	
64		-	+	-	-	-	-	
65		-	-	-	-	-	+	
66		-	+	-	-	-	+	
67		-	+	-	-	-	+	
68		-	+	-	-	-	+	
69		-	+	-	-	-	•	
70		-	+	-	-	-	+	
71	-	+	-	-	-	+		
72	-	+	-	-	-	+		

AGP 抗体 - : 陰性 + : 陽性 (R. E. GOUGH, *Vet. Microbiol.* 1978 より抜粋)

2. 蛍光抗体法 (FA 法)

(2) IB ウイルス株間の交差性

IB ウイルスをはじめとした、ニワトリのウイルス病の FA 法の基礎的条件は、1965 年 BRAUNE ら<sup>7)</sup> によって検討されたが、FA 法を IB の簡易診断法として用いるには、IB ウイルスの各株間における交差性が問題となる。

LUKERT<sup>31)</sup> は、鶏胚腎培養細胞 (CEK 細胞) に、血清型の異なる 4 株の IB ウイルスを感染させ、その培養材料を標本とし、それぞれのウイルス株に対する標識抗体との間で交差性を試験し、交差性の認められた株と、認められない株のあることを報告している (表 3)。一方、Lucio<sup>30)</sup> は、鶏胚に 10 株の IB ウイルスを感染させ、その感染漿尿膜を標本とし、前者と同様に交差性を試験した結果、それぞれのウイルス株間に、比較的広い

交差性のあることを認めた。しかし、抗原と標識抗体とがホモの関係にある場合には、ヘテロの関係よりも強く反応し、また、ヘテロの関係では、FA 染色後の洗浄時間の延長により、交差性の減弱することを報告している (表 4,5)。

このように、FA 法での IB ウイルス株間の交差性には、部分的な株特異性が認められるため、その交差性の増強を目的として、血清型の異なる、複数のウイルスに対する抗血清によって作製した多価標識抗体の使用が試みられた<sup>31)</sup>。その結果、多価標識抗体では、単価の標識抗体に比べ、交差性が大幅に増強することが認められ (表 3)、臨床への応用の可能性が示唆された<sup>10,20,31)</sup>。

(2) 培養細胞及び器官培養を使用しての FA 抗原の検出

MOHANTY ら<sup>37)</sup> は、正常 CEK 細胞 IB ウイルスの継代株を感染させ、その培養材料を標本として、FA 抗

表 3. FA 法での IBV 株間の交差性

標識抗体	ウ イ ル ス			
	IBV-41	IBV-46	IOWA-97	RPL
IBV-41	卅	卅	+	+
IBV-46	—	卅	—	—
IOWA-97	—	+	卅	卅
RPL	—	+	+	卅
IBV-41/97*	卅	卅	卅	卅

—～卅：蛍光の程度を示す

\* : IBV-41 と IOWA-97 の多価標識抗体  
(P. D. LUKERT, *Avian Dis.*, 1969)

原の検出を試み、ウイルス感染 7 時間目より細胞の核内に、続いて細胞質内にも蛍光を認めたと報告したが、LUCKERT<sup>31)</sup> や尾藤ら<sup>6)</sup> は、前者と同様に、IB ウイルスを感染させた CEK 細胞において、感染 3～4 時間目から細胞質内のみで蛍光を認め、MOHANTY らの成績と違った結果を報告している。しかし、他の研究者のいずれの報告<sup>10,11,20,30)</sup> においても、細胞質内のみで蛍光が認められており、後者の知見が一般的と思われる。

一方、正常鶏の気管や輸卵管の器官培養に IB ウイルスを感染させ、その培養材料を標本とし、FA 抗原を検出する方法が試みられている<sup>11,40)</sup>。IB ウイルスを感染させた器官培養での細胞変性は、感染ウイルス株によって出現時期が異なり一定しないが、特異蛍光は、細胞変性の出現した器官培養の粘膜塗抹標本内に認められている。

また、器官培養法では、FA 抗原の検出と同時に、自然感染鶏からの IB ウイルス分離を併行して行えること

が示唆されている<sup>11)</sup>。

(3) IB ウイルス感染鶏からの FA 抗原の検出

IB ウイルス感染によるニワトリでの主要病変は、呼吸器や腎臓などを中心に認められるため、IB ウイルス感染鶏からの FA 抗原の検出には、主にそれらの臓器や組織の凍結薄切標本、あるいは簡易な方法として、気管粘膜の押捺や塗抹標本が使用されている<sup>6,7,8,12,20,30,45)</sup>。

呼吸器の標本における FA 抗原は、ウイルス感染後 1 日目から検出が可能となり、その後 8 日目まで検出できることが認められている。しかし、気管粘膜の押捺や塗抹標本では、標本中の夾雑物や動物の個体差によって、検出状況に差の生じる場合のあることが報告されている (表 6)<sup>6,20,30)</sup>。

一方、自然感染鶏からの FA 抗原の検出率を向上させるため、CLARK ら<sup>10)</sup> は、被検材料を鶏胚に接種し、48 時間間隔で継代を行い、その尿膜腔液中の浮游細胞を集めて塗抹標本とし、FA 抗原の検出を行うとともに、鶏胚病変の観察を行った。また、WIZINGMAN ら<sup>45)</sup> は、病鶏の気管上皮細胞から直接抗原を検出するとともに、被検材料を鶏胚に接種し、その漿尿膜を標本とし、FA 抗原の検出を行った。これら 2 者の報告は、ともに従来の鶏胚病変のみを指標とした方法に比べ、診断法としての迅速性や確実性に優れ、臨床への応用に適した方法であることが示唆されている。

(4) 診断への応用

FA 法を IB の簡易診断法として用いるには、IB ウイルス感染鶏での FA 抗原の検出可能な期間や、IB ウイルスの各株間に認められている部分交差性の存在が問題となるが、多価標識抗体の使用によって、各株間の交

表 4. FA 法での IBV 株間の交差：10 分間洗浄

ウイルス	標 識 抗 体						
	Mass.	Holte	Conn.	Gray	609	97	対 照
Mass.	卅	—	—	卅	+	卅	—
Holte	卅	卅	卅	卅	+	+	—
Conn.	卅	卅	卅	+	+	+	—
Gray	卅	+	+	卅	卅	卅	—
609	卅	+	—	+	卅	卅	—
97	卅	卅	卅	卅	+	卅	—
BEL	卅	+	—	—	卅	+	—
Delaware 2868	卅	—	—	+	—	+	—
JMK	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—
Clark 333	—	—	—	—	—	—	—
対照 CAM	—	—	—	—	—	—	—

—～卅：蛍光の程度を示す

(B. LUCIO, and S. H. HITCHNER, *Avian Dis.*, 1970)

表 5. FA 法での IBV 株間の交差：2 時間洗浄

ウイルス	標 識 抗 体						
	Mass.	Holte	Conn.	Gray	609	97	対 照
Mass.	卅	—	—	—	—	—	—
Holte	—	卅	—	+	+	+	—
Conn.	+	—	卅	+	+	+	—
Gray	—	+	+	卅	卅	卅	—
609	—	±	—	—	卅	+	—
97	±	卅	+	+	+	卅	—
BEL	卅	+	—	—	+	+	—
Delaware 2868	卅	—	—	+	—	—	—
JMK	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—
Clark 333	—	—	—	—	—	—	—
対照 CAM	—	—	—	—	—	—	—

—～卅：蛍光の程度を示す (B. LUCIO, and S.H. HITCHNER, *Avian Dis.*, 1970)

表 6. 抗 IBV 蛍光抗体による IBV 接種鶏気管 粘膜材料中の IBV 抗原の検出成績

接 種 ウイルス	蛍光抗体	接 種 後 日 数						
		1	2	3	4	5	6	7
IBV <sup>1)</sup>	抗 IBV	卅 <sup>3)</sup> 卅 卅 卅 卅 卅 卅						
		卅 卅 卅 卅 卅 卅 卅						
		卅 卅 卅 卅 + + 卅						
		+ 卅 卅 卅 - - +						
対	抗 IBV	- + + - - + -						
		- - - - - + -						
		- - - - - .						
		- - - - - .						
照	抗 NDV <sup>2)</sup>	卅 卅 卅 卅 卅 卅 卅						
		卅 卅 + 卅 卅 卅 卅						
		+ 卅 + 卅 卅 卅 .						
		+ 卅 + 卅 + + .						

- 1) IBV Massachusetts 株感染尿腔液、原液 0.5ml/羽、気管内接種。
  - 2) NDV 宮寺株感染尿腔液、10<sup>-2</sup> 0.1ml/羽、気管内接種。
  - 3) 細胞の示す蛍光の強さ；—…特異蛍光なし、+～卅…弱い～極めて強い蛍光、. …検査せず。
- 註) 正常尿腔液接種鶏対照では特異蛍光を示す細胞が検出されなかったため表より省いた。  
(広直ら、鶏病研報、1970)

差性の欠如部分が補填され、交差性が大幅に増強されることが認められており、臨床への応用の可能性が示唆されている<sup>10,20,31)</sup>。

また、自然感染鶏からの FA 抗原の検出を、病鶏の

臓器や組織から直接行くとともに、被検材料を鶏胚に接種し、その尿膜腔液中の細胞<sup>10)</sup>や漿尿膜標本<sup>45)</sup>から FA 抗原の検出を行う方法は、従来の鶏胚病変の観察のみによる診断法に比べ、迅速性や抗原検出率に優り、臨床診断法として適した方法であることが示唆されている。

### 3. 赤血球凝集抑制反応 (HI 反応)

#### (1) IB ウイルスの赤血球凝集性

1975 年、BINGHAM ら<sup>5)</sup>は、IB ウイルスのマサチューセッツ、コネチカット、ボーデットの 3 株をフォスフォリパーゼ C、タイプ 1 (PLC) 処理し、前 2 株にニワトリ赤血球凝集性の存在を認めるとともに、HI 反応において特異性を示すことを認めた。しかし、ボーデット株では、赤血球凝集性の存在が認められなかったことから、IB ウイルスには、PLC 処理によって、赤血球凝集性を示す株と示さない株とが存在し、また、その凝集価は、株によって異なることを認めている。

その後、既存の他の IB ウイルス株や野外分離株の赤血球凝集性の有無とその凝集価について試験が行われ、前述の成績と同様に、株による違いが認められている<sup>1,22,23,25,38,47)</sup>。しかし、既存のマサチューセッツ株とコネチカット株は、いずれの試験においても比較的高い凝集価を示すことが報告されている。

一方、赤血球凝集抗原は、BINGHAM ら<sup>5)</sup>によって開発された後、更にその作製条件について検討が加えられた結果、鶏胚で増殖させた IB ウイルスを超遠心法により濃縮し、PLC を 1～3 単位/ml の割合に加え、37°C で 2 時間感作し、抗原としている<sup>2,3,23,24,25)</sup>。また、その保存は 4°C、あるいは保存性を高めるため凍結乾燥が行

われている<sup>2,24,25,43)</sup>。

(2) HI 反応における IB ウイルス株間の交差性

HI 反応におけるウイルス株間の交差性は、単一抗原を使用するニューカッスル病の HI 反応に見られるように、共通していることが望ましい。しかし、IB ではウイルス株によって、その抗原性に相違のあることが認められているため、HI 反応を実施する場合、ウイルス株間の交差性の有無が問題となる。

LASHGARI ら<sup>26)</sup> は、血清型の異なる 7 株の IB ウイルスの抗原的な関係を交差 HI 反応により試験し、ホモの関係では高い HI 価を認めたが、ヘテロの関係では、いずれも低い値しか認めることができず、各株間における関係率は、ホモの 100% に対し、ヘテロでは 5~1% にすぎなかったことを報告している (表 7,8)。LASHGARI らの認めた IB ウイルス株間における部分交差性の存在は、他の報告においても同様に認められており、ニューカッスル病ウイルスでの HI 反応のような株間の共通性には欠けていることが明かにされている<sup>1,22,23,27,47)</sup>。逆に IB ウイルス株間の HI 反応における交差性の違いから、野外分離ウイルスの血清型の分類への応用の可能性を示唆する報告もある<sup>24)</sup>。

(3) HI 反応における非特異抑制因子と陽性限界

IB の HI 反応における非特異抑制因子の存在は、BINGHAM ら<sup>5)</sup> が本法を初めて報告した時、その正常対照血清中に認めて以来、HI 反応実施上の問題点となっている。

ALEXANDER ら<sup>1,2)</sup> は、正常血清中の非特異抑制因子について、ニューカッスル病ウイルスの HI 反応と IB ウイルスによる HI 反応とを比較し、IB の HI 反応では、ニューカッスル病の HI 反応よりも再現性がいくぶん劣り、HI 価も高く、非特異性の反応の強いことを認めている。また、反応後の end point が明瞭でなく、

表 7. IBV の HA 能

継代歴	感染尿腔液の濃縮	HA 価	
野外分離株			
北-1/徳島	E <sub>10</sub>	1 : 50	512
	E <sub>200</sub>	1 : 100	<2
80/鹿児島	E <sub>11</sub>	1 : 50	2
77/高知	E <sub>7</sub>	1 : 50	2
35 T/淡路島	E <sub>16</sub>	1 : 50	2
北-2/福山	E <sub>5</sub>	1 : 50	16
GN-2	E <sub>3</sub> T <sub>25</sub> E <sub>1</sub>	1 : 100	<2
81/水口	E <sub>4</sub> T <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	1 : 100	<2
0/1/鳥取	E <sub>4</sub> T <sub>7</sub> E <sub>3</sub>	1 : 100	<2
実験室継代株			
M <sub>41</sub>	F <sub>404</sub> E <sub>4</sub>	1 : 50	128
A 5968	E <sub>2</sub>	1 : 50	1024
ワクチン株			
H-120	不明	1 : 100	2
L2	不明	1 : 100	2

(谷池田ら, 鶏病研報, 1983)

表 8 IBV 株間の交差 HI 反応

抗 原	抗 血 清						
	Iowa 97	Iowa 609	SE-17	Connecticut 46	Arkansas 99	JMK	M <sub>41</sub>
Iowa 97	215.0 <sup>A</sup> (128-<512) <sup>B</sup>	5.7 (4.8)	5.7 (4-8)	5.3 (4-8)	7.0 (4-16)	6.5 (4-8)	10.6 (4-16)
Iowa 609	14.9 (8-32)	294.1 (64->512)	16.0 (4-32)	6.1 (4-8)	17.1 (8-64)	5.7 (4-16)	24.3 (16-128)
SE-17	29.9 (16-128)	9.2 (4-32)	315.2 (32->512)	7.0 (4-32)	17.1 (8-32)	4.3 (4-8)	16.0 (4-32)
Connecticut 46	9.2 (4-16)	5.3 (4-32)	9.2 (4-32)	352.0 (128->512)	13.0 (4-32)	5.7 (4-16)	17.1 (8-32)
Arkansas 99	13.0 (4-32)	6.5 (4-64)	9.8 (4-32)	4.9 (4-8)	512.0 (>512)	4.3 (4-8)	9.8 (4-32)
JMK	42.2 (16-256)	7.0 (4-128)	13.9 (4-32)	6.5 (4-16)	12.1 (4-32)	445.7 (64->512)	17.1 (8-64)
M <sub>41</sub>	21.1 (4-128)	7.0 (4-32)	24.3 (8-64)	10.6 (4-32)	7.0 (16-32)	5.3 (4-8)	445.7 (32->512)

A : 幾何平均値 B : 10~20 血清サンプルの HI 価の範囲 (M.S. LASHGRI, and A. NEWAN, *Avian Dis.*, 1984)

表9 IBV 株間の関係率

抗原	抗 血 清						
	Iowa 97	Iowa 609	SE-17	Connecticut 46	Arkansas 99	JMK	M <sub>41</sub>
Iowa 97	100	4.0	5.0	2.0	2.0	4.0	4.0
Iowa 609		100	4.0	2.0	3.0	1.0	3.0
SE-17			100	2.0	3.0	2.0	5.0
Connecticut 46				100	1.0	1.0	3.0
Arkansas					100	1.0	1.0
JMK						100	2.0
M <sub>41</sub>							100

(M.S. LASHGARI, and A. NEWMAN, *Avian Dis.* 1984)

鶏伝染気管支炎ウイルス M<sub>41</sub> 株感染前血清および後血清の各種処理法における赤血球凝集抑制 (HI) 価

血清処理	前血清	後血清
56°C, 30分	16~64	64~256
RDE 2容	<8	64~256
KIO <sub>4</sub>	128	256~1024
0.8%トリプシン	<8	<8~64
カエリン	<8~64	128~512
アセトン	128~256	256~1024

抗原: M<sub>41</sub>, 4単位

前血清: 7例

後血清: M<sub>41</sub> 株感染3週後の6例

(太田ら, 家畜衛試研究報告)

陽性限界を32倍としている。陽性限界については、64倍以上とする報告もある<sup>26)</sup>。

このように非特異抑制因子は、IBのHI反応を実施する上で、大きな障害となるため、その除去がいろいろと試みられている。当初は被検血清の非働化処理<sup>2,5)</sup>や、新鮮血球浮游液<sup>1,3)</sup>の使用によって改良を図ったが、完全に除外することはできなかった。そこで、血清のカオリン処理<sup>19,22,38,48)</sup>や、RDE処理<sup>38)</sup>が試みられた結果、カオリン処理よりもRDE処理の方が適していることが明かにされ、陽性限界も、中和試験成績との比較から、HI価16倍以上を陽性とすることが提言された<sup>38)</sup>。

#### (4) 診断への応用

HI反応は一般に、簡易性や迅速性に優れ、簡易診断法に適した手技であるとされている。

IBのHI反応は、中和試験の値と比較的良く平行し<sup>2,16,17,19,24)</sup>、ワクチン効果の判定にも応用され<sup>16,17,18,22,36,47)</sup>、臨床診断の一助となりうる可能性のあることを示唆する報告もある<sup>26,36)</sup>。

しかし、IBウイルスの場合には、ウイルス株により、赤血球凝集性の有無に違いがあり、HI反応においても、ウイルス株間の交差性にさまざまな程度の部分交差性の存在が認められている。一方、血清中には、非特異抑制因子の存在が認められ、それによる非特異反応の発現や陽性限界の設定、あるいは血清処理などの問題を抱えており、ニューカッスル病ウイルスによるHI反応のような簡易診断法としての確立をみていない。したがって、臨床への応用は、限局した範囲での補助的診断法として止めておくことが妥当と思われる。

#### ま と め

IBウイルスには、数多くの血清型が存在するとともに、不顕性感染が多く、ワクチンも多種類のものが使用されており、IBの自然感染鶏の診断にあたっては、検出したウイルス(抗原)あるいは抗体の定義づけを行うことの必要性から、その判定にはウイルス分離や中和試験などの手技が用いられている。これらの手技には、細



胞培養や鶏胚を使用しなければならず、診断法としての簡易性や迅速性に欠けている。

そこで、IB のより簡易な診断法として、AGP 反応、FA 法、HI 反応の応用の可能性について、文献的な検討を試みた。

その結果、AGP 反応では、各 IB ウイルス株間に共通抗原性の存在が認められ、自然感染鶏での診断法として、有用とする報告もある。しかし、逆に自然感染による抗体と、ワクチンによる抗体との区別をつけることが難しく、また、IB ウイルス感染鶏における抗体陽性率としてその持続性に、ウイルスや鶏の個体によって相違の認められることから、AGP 反応の簡易診断法への応用範囲は、抗原の特異性を確認した上で、IB ウイルス感染後 1~3 週までの補助的診断法として用いることが適当と思われる。

また、HI 反応では、赤血球凝集抗原を作製する IB ウイルスに、PLC 処理によって抗原性を示す株と示さない株とがあり、その凝集価にも株による相違が認められ、ニューカッスル病ウイルスの赤血球凝集抗原のような単一抗原でないことが明かにされている。また、IB ウイルス株間には、交差 HI 反応で、さまざまな程度の部分交差の存在が認められている。更に、ニワトリの血清中には、非特異抑制因子の存在が認められ、これによる非特異反応の出現や、血清処理、あるいは陽性限界の設定など、HI 反応を実施する上で解決しなければならない諸問題を抱えており、簡易診断法としての術式が確立していない。したがって、臨床への応用には、まだ検討の余地の残った方法であると思われる。

FA 法では、IB ウイルス株間に部分交差性の存在が認められており、FA 法を簡易診断法に応用する場合の問題点となっていたが、多価標識抗体の使用によって、ウイルス株間の交差性が大幅に増強されることが認められ、臨床診断への応用の可能性が示唆されている。また、FA 法を臨床診断へ応用する場合、その応用可能な期間に制約はあるものの、病鶏からの直接的な抗原検出と、鶏胚利用による抗原検出法を併用することにより、抗原検出率の向上を図ることができ、従来の鶏胚病変を指標とした方法に比べ、迅速性や確実性に優れていることが明かにされている。多価標識抗体の供給体制が確立されるならば、一層実用性のある方法となり、臨床応用が可能となると思われる。

## 謝 辞

本稿のご校閲を賜った農林水産省家畜衛生試験場鶏病支場、前田 稔室長、及び財団法人 日本生物科学研究

所 野村吉利常務理事に深謝致します。

## 引用文献

- 1) ALEXANDER, D.J., *et al.*: Preliminary evaluation of the haemagglutination and haemagglutination inhibition test for avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathol.*, 5, 125-134 (1976)
- 2) ALEXANDER, D.J. & N.J. CHETTLER: Procedures for the haemagglutination and the haemagglutination inhibition test for avian infectious bronchitis. *Avian Pathol.*, 6, 9-17 (1977)
- 3) ALEXANDER, D.J., *et al.*: A standard technique for haemagglutination inhibition test for antibodies to avian infectious bronchitis virus. *Vet. Rec.*, 113, 64 (1983)
- 4) BERRY, D.M. & K.T. STOCKES: Antigenic variation in isolates of infectious bronchitis virus. *Vet. Rec.*, 10, 157-160 (1968)
- 5) BINGHAM, R.W., *et al.*: Haemagglutination by avian infectious bronchitis virus—a Coronavirus. *J. Gen. Virol.*, 28, 381-390 (1975)
- 6) 尾藤行雄, 広直武司, 増井武次: 蛍光抗体法による鶏伝染性気管支炎診断の予備試験について. *日獣誌*, 33, 61-67 (1971)
- 7) BRAUNE, M.O. & R.F. GENTRY: Standardization of the fluorescent antibody technique for the detection of avian respiratory viruses. *Avian Dis.*, 9, 535-545 (1965)
- 8) CHONG, K.T. & K. APOSTOLOV: The pathogenesis of nephritis in chickens induced by infectious bronchitis virus. *J. Comp. Pathol.*, 92, 199-211 (1982)
- 9) CHUBB, R.C. & R.B. CUMMING: The use of gel diffusion precipitin technique with avian infectious bronchitis nephritis virus. *Aust. Vet. J.*, 47, 496-499 (1971)
- 10) CLARKE, J.K., *et al.*: Use of allantoic cells for detection of avian infectious bronchitis virus. *Arch. Gesamit. Virusforsch.*, 36, 62-70 (1972)
- 11) COLWELL, W.M. & P.D. LUKERT: Effects of avian infectious bronchitis virus of tracheal organ cultures. *Avian Dis.*, 13, 888-894 (1969)
- 12) CORSTYET, R.E. & W.W. SÄDLER: The diagnosis of certain avian disease with fluorescent antibody technique. *Poult. Sci.*, 43, 1280-1288 (1964)
- 13) DOI, M.T., *et al.*: Serotypes of avian infectious bronchitis virus isolation from field cases in Japan. *Avian Dis.*, 26, 946-956 (1982)
- 14) GAZDZINSKI, P., *et al.*: The agar-gel precipitin response to the H120 and H52 vaccines of infectious bronchitis virus. *Avian Pathol.*, 6, 143-148 (1977)
- 15) GELB, J., *et al.*: Serologic and cross-protection studies with several infectious bronchitis virus isolates from Delmava-Reared broiler chickens. *Avian Dis.*, 25, 655-666 (1981)
- 16) GOUGH, R.E., *et al.*: Immune response to monovalent and bivalent Newcastle disease and infectious bronchitis virus. *Avian Pathol.*, 6, 131-142 (1977)

- 17) GOUGH, R.E. & D.J. ALEXANDER: Comparison of serological tests for the measurement of the primary immune response to avian infectious bronchitis virus vaccines. *Vet. Microbiol.*, **2**, 289-301 (1978)
- 18) GOUGH, R.E. & D.J. ALEXANDER: Comparison of duration of duration of immunity in chickens infected with a live infectious bronchitis vaccine by three different routes. *Res. Vet. Sci.*, **26**, 329-332 (1980)
- 19) HATCHER, J. A., *et al.*: Comparison of the hemagglutination-inhibition test with the constant-virus diluting-serum microneutralization test for detection antibody to avian infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, **27**, 1157-1161 (1983)
- 20) 広直武司, 増井武次, 尾藤行雄: C. 鶏伝染性気管支炎の蛍光抗体による診断について. 鶏病研報, **6**, 168-174 (1970)
- 21) 加藤和好: B. 寒天ゲル内沈降反応による診断について. 鶏病研報, **6**, 163-168 (1970)
- 22) KING, D.J. & S.R. HOPKINS: Evaluation of the hemagglutination inhibition test for measuring the response of chickens to avian infectious bronchitis virus vaccination. *Avian Dis.*, **27**, 100-112 (1983)
- 23) KING, D.J.: Observation on the preparation and stability of infectious bronchitis virus hemagglutination antigen from propagated in chicken embryos and chicken kidney cell cultures. *Avian Dis.*, **28**, 504-513 (1984)
- 24) KING, D.J. & S.R. HOPKINS: Rapid serotyping of infectious bronchitis virus isolates with the hemagglutination-inhibition test. *Avian Dis.*, **28**, 727-733 (1984)
- 25) LASHGARI, M. S. & J. A. NEWMAN: Preparing hemagglutinating antigen from isolates of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, **26**, 508-519 (1982)
- 26) LASHGARI, M. S. & A. NEWMAN: Serological comparison and antigenic relationships of seven serotypes of infectious bronchitis virus using the hemagglutination-inhibition test. *Avian Dis.*, **28**, 435-445 (1984)
- 27) LASHGARI, M.S. & A. NEWMAN: Determination of antigenic relationships within the Massachusetts (41) type of infectious bronchitis virus using the hemagglutination-inhibition test. *Avian Dis.*, **28**, 444-452 (1984)
- 28) LOHR, J.E.: Infectious bronchitis agar-gel precipitin test-Use of infected allantoic fluid as antigen. *Avian Dis.*, **24**, 463-467 (1980)
- 29) LOHR, J.E.: Diagnosis of infectious bronchitis by examination of tracheal mucus for IB-precipitating antigens. *Avian Dis.*, **25**, 1053-1081 (1981)
- 30) LUCIO, B. & S.B. HITCHNER: Differentiation and detection of infectious bronchitis virus subtypes by immunofluorescence. *Avian Dis.*, **14**, 9-24 (1970)
- 31) LUKERT, P.D.: Immunofluorescence of avian infectious bronchitis virus in primary chicken embryo kidney, liver, lung, and fibroblast cell cultures. *Arch. Gesamte. Virusforsch.*, **19**, 265-272 (1966)
- 32) LUKERT, P.D.: Differentiation of avian infectious bronchitis virus serotypes by immunofluorescence. *Avian Dis.*, **13**, 847-852 (1969)
- 33) MACDONALD, J.W., *et al.*: Immunity following vaccination with the H120 strain of infectious bronchitis virus via the drinking water. *Avian Pathol.*, **10**, 295-301 (1981)
- 34) MACDONALD, J.W., *et al.*: Field observation on serological response to vaccine strains of infectious bronchitis virus administered by coarse spray and via the drinking water. *Avian Pathol.*, **11**, 537-546 (1982)
- 35) MACDONALD, J.W.: Immunity following inoculation of the H129 and H52 vaccine strains of infectious bronchitis virus into the crop of the crop of the domestic fowl. *Avian Pathol.*, **12**, 379-388 (1983)
- 36) MACPHERSON, I. & A. FEEST: Some observations of the value of the infectious bronchitis hemagglutination inhibition test in the field. *Avian Pathol.*, **7**, 337-347 (1978)
- 37) MOHANTY, S.B.: A fluorescent antibody study of infectious bronchitis virus. *Poult. Sci.*, **43**, 179-182 (1964)
- 38) 太田修一, 加藤和好: 鶏伝染性気管支炎における赤血球凝集反応および赤血球凝集抑制反応. 家畜衛試研究報告, **85**, 9-14 (1983)
- 39) PARISIS, B.E.: The diagnosis of infectious bronchitis in fowls. I. Studies on the production of antiserum for the gel precipitin test. *Br. Vet. J.*, **121**, 159-163 (1965)
- 40) PARISIS, B.E.: The diagnosis of infectious bronchitis in fowls. II. Studies on the production of antigen for the gel precipitin test. *Br. Vet. J.*, **121**, 234-239 (1965)
- 41) PRADHAN, H.K., *et al.*: Comparative sensitivities of oviduct and tracheal organ cultures and chicken embryo kidney cell cultures to infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, **27**, 594-601 (1983)
- 42) TEVENTHIA, S.S. & C.H. CUNINGHAM: Antigenic characterization of infectious bronchitis virus. *Immunology*, **100**, 793-798 (1968)
- 43) WATT, R.G. & I. MACPHERSON: Freeze-dries infectious bronchitis haemagglutinating antigen. *Vet. Rec.*, **106**, 467 (1980)
- 44) WITTER, R.L.: The diagnosis of infectious bronchitis of chickens by the agar gel precipitin test. *Avian Dis.*, **6**, 478-492 (1962)
- 45) WIZINGMANN, V.G., *et al.*: Zur Diagnose der infektiösen Bronchitis des Huhnes mit Hilfe der Immunofluoreszenz. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, **88**, 514-516 (1981)
- 46) WOERNLE, H.: Diagnose der infektiösen Bronchitis der Hühner mit Hilfe der Präzipitationsreaktion im festen Agarmedium. *Mh. Tierheilk.*, **11**, 154-167 (1959)
- 47) 谷地田俊介, 沢口和成, 青山茂美, 高橋直治, 入谷好一, 林 幸之: 伝染性気管支炎の赤血球凝集抑制テスト. 鶏

病研報, 19, 185-192 (1983)  
48) 谷地田俊介, 沢口和成, 青山茂美, 桑原恵美子, 堀田成  
美, 入谷好一, 林 幸之: 伝染性気管支炎 H1 テストに

おける非牛異インヒター除去について, 鶏病研報, 20,  
186-192 (1984)

---