

おとり鶏を用いた鶏のファブリキウス嚢萎縮要因の検索

永徳里歌子¹⁾・平良和代²⁾・山崎憲一³⁾・高瀬公三^{1)†}

(¹⁾病態・予防獣医学講座微生物学分野, (²⁾(株)ジャパンファーム,
(³⁾(財)化学及血清療法研究所)

平成20年8月11日 受理

要 約

ブロイラー農場から分離された伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス (IBDV) のTY2株を抗原に免疫おとり鶏 (TY2.Vac.群) を作出し, 市販IBDVワクチン免疫おとり鶏 (N.Vac.群) および無処置SPFおとり鶏 (SPF群) と共に農場に導入, ブロイラー雛 (Broiler群) と5週間同居させることで, F嚢萎縮要因の検索を行った。毎週各群から抽出された6羽について, 採血, 剖検, 組織病変観察, 抗原検索および抗体検査を実施した。TY2.Vac群ではF嚢の萎縮および組織病変は最も軽度で, また間接蛍光抗体法でもIBDVの抗原を確認できなかった。しかしながら, 導入4週間後において, F嚢体重比の若干の減少およびIBDV中和抗体価の上昇がわずかながら認められた。N.Vac群にはより強いF嚢萎縮と組織病変が見られ, またIBDV抗原も確認されたことから, 市販のワクチンでは防御しきれないIBDVの感染がF嚢萎縮に関与している可能性が示唆された。

キーワード: おとり鶏, ブロイラー, ファブリキウス嚢, 萎縮

緒 言

鶏の体液性免疫を担うファブリキウス嚢 (F嚢) は, 疾病防御に重要な役割を果たしている器官で, その機能について注目されている[1]。F嚢は孵化後徐々に大きくなり, 約70日齢で最大 (5~6 g程度) となり, その後は生理的に急速に萎縮する[2, 5]。しかし, 現在のブロイラー農場で飼育されているほとんどの雛のF嚢は, 1ヶ月齢を過ぎると既に萎縮しているのが実態である[2]。早期にF嚢が萎縮したブロイラー雛では免疫機能が低下し, 疾病に罹りやすくなっている可能性が危惧される。

このF嚢萎縮の原因は主として伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス (IBDV) 感染と考えられ[3, 4], IBDV感染予防のための種々のワクチンが使用されている。にもかかわらず, F嚢の早期萎縮は依然認められており, F嚢萎縮の原因究明は重要である。

先に筆者らは, ブロイラーでのF嚢の早期萎縮の実態を調査し, IBDVの関与について検討した[2]。さらに, 市販のIBDV不活化ワクチンで免疫したSPF鶏を“おとり”としてブロイラー農場に導入し, F嚢萎縮要因の検索を行ったところ, これまでの従来型IBDVとは抗原性のやや異なるIBDV-TY2株を分離した[6]。そこで, 本研究では農場から分離されたIBDV-TY2株を不活化抗原として, 再び“免疫おとり鶏”を作出し当該農場のブロイラーと同居させることで, F嚢萎縮要因の更なる検索を行った。

材料および方法

1. 供試農場

先の試験[6]でIBDV-TY2株が分離された, 鹿児島県内のある大型ブロイラー農場の1鶏舎を使用した。この鶏舎は縦90m, 横90mで, 中央が金網フェ

† : 連絡責任者: 高瀬公三 (獣医学科獣医微生物学研究室)

Tel 099-285-8724, E-mail: ktakase@agri.kagoshima-u.ac.jp

²⁾ 〒899-8313 曾於郡大崎町野方3887

³⁾ 〒860-8568 熊本市大窪一丁目6-1

ンスで仕切られている。入り口側に雌雛1万羽が、奥側に雄雛1万羽がそれぞれ同時に入雛され飼育されている。雌雛は42日齢で出荷され、その後鶏舎の中央のフェンスは取り除かれ、雄雛の飼育面積が2倍となる構造となっている。

鶏舎内は天井から電球が2列にぶら下げられており、およそ20ルクスの明るさが確保されるようになっている。給餌は毎日2回、2列の自動給餌ラインで、また飲水は同様に2列のニップル式給水装置で行われている。管理者は毎日1回鶏舎内に入り、鶏群の状態を観察しながら、事故死などによる死亡鶏を処分している。

当該農場ブロイラー鶏のワクチンは、孵化後に伝染性気管支炎 (IB) およびニューカッスル病 (ND) 生ワクチンをスプレー、ならびにマレック病および鶏痘の生ワクチンを皮下注射により投与し、14および21日齢には伝染性ファブリキウス嚢病 (IBD) 生ワクチンを、さらに21日齢にND生ワクチンを飲水により投与している。

2. 免疫おとり鶏の作出

免疫原として、市販のIBD不活化ワクチン (日生研; 以下、市販ワクチン)、およびIBDV-TY2株[6]の感染F嚢乳剤の上清を0.2%ホルマリンで不活化した後、水酸化アルミニウムアゲルジュバントを加えて作製した試作TY2ワクチンをそれぞれ用いた。

(財)化学及血清療法研究所 (化血研) 由来の1週齢SPF鶏36羽に市販ワクチンあるいは試作TY2ワクチンの0.25mlを頸部皮下に注射した。さらに補強免疫として、3週齢時に市販ワクチンあるいは試作TY2ワクチンの0.25mlを頸部皮下に注射した。同日齢無処置SPF鶏54羽を準備し、農場飼育用および実験室内飼育用に分けた。それぞれ市販ワクチン免疫 (N.Vac) 群、試作TY2ワクチン免疫 (TY2.Vac) 群、無処置SPF (SPF) 群、実験室内飼育の対照SPF (SPF/C) 群、および農場飼育ブロイラー (Broiler) 群とした。

3. 試験設定

作出した免疫おとり鶏およびSPF鶏が4週齢のとき供試農場 (2週齢ブロイラー雛を飼育中) に36羽ずつ搬入し、鶏舎内のほぼ中央に設置されたケージ内で、ブロイラー鶏と共に5週間同居させた (Photo 1)。飼育管理はブロイラー鶏と同様に行われた。別途同日齢の無処置SPF鶏18羽は実験室内で

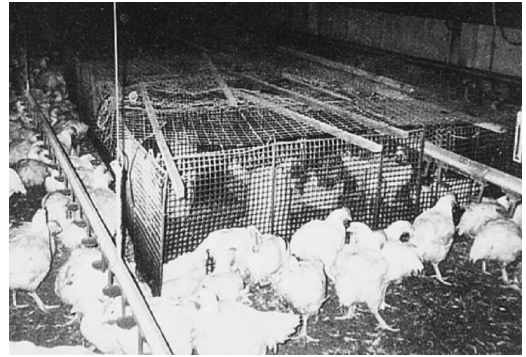


Photo 1. Sentinel birds in a cage.

隔離したまま飼育し、未処置SPFおとり鶏 (SPF/C) 群とした。

農場導入後0, 1, 2, 3, 4および5週目に各鶏群から6羽ずつ抜き取り、鹿児島大学の研究室に搬入した。体重測定後に採血しクロロホルムによる安楽殺を行った。次に剖検によりF嚢を肉眼的に観察し、F嚢重量を測定すると共に、一部を10%ホルマリン固定材料として採材した。実験室内飼育SPF/C群は3羽ずつ同様の処置を行った。

4. F嚢の重量測定および病理組織学的観察

F嚢の萎縮度はF嚢重量の体重比 (F嚢重量/体重 $\times 100$) で求めた。有意差検定はStudent's *t* 検定で行なった。ホルマリン固定のF嚢を常法に従って包埋、薄切、固定およびヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を行い、顕微鏡で観察した。それぞれF嚢の変性・壊死および結合織の増生の程度を観察し、病変のみられないもの (-)、軽度に病変のみられるもの (+)、中程度~重度に病変のみられるもの (++) の3段階で評価した。

5. F嚢の間接蛍光抗体法による病原体検索

採材したF嚢 (約10mm \times 5mmに調整) を短冊濾紙に張り付け、そのまま-80℃に冷却したヘキサン (ナカライテクス) に浸し急速凍結を行った。凍結したF嚢は切片作製時まで密封し-80℃で保存した。凍結切片はクリオスタット (ブライト) にて作製し、アセトン (室温) 10分の処理にて固定、使用時まで-20℃で保存した。間接蛍光抗体法は以下のように実施した。抗IBDVウサギ血清 ($\times 1,000$) を一次血清として凍結切片上に一滴落とし、37℃に設定したインキュベーター内で45分間反応させた。反応後、

リン酸緩衝食塩液 (PBS) で洗浄し、二次血清には市販の fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識抗ウサギIgG やギ血清 (コスモ・バイオ) を使用し、一次血清と同様に反応および洗浄を行った。反応後の切片は Gel/Mount (コスモ・バイオ) を用いて封入し、落射式蛍光顕微鏡 (Nikon) にて観察し、特異蛍光が認められないもの (-), わずかに認められるもの (±), 濾胞全体の50%未満に認められるもの (+), および濾胞の50%以上に認められるもの (++) の4段階で評価した。

6. 抗体検査

検査血清は使用前に56℃, 30分による非働化を行い、各抗体検査に供試した。

1) IBDV: 鶏胚線維芽細胞順化IBDV-K株 (財: 化学及血清療法研究所) を用い、CPEを指標とした血清希釈法による中和試験で抗体価を測定した。血清は2倍からPBSを用いて2倍階段希釈をした後、階段希釈された血清100 μlに200TCID₅₀/100 μlの濃度に調節したウイルス液を等量加えよく混和した後、37℃で1時間中和させた。中和後、48穴マイクロプレートに作製した鶏胚線維芽細胞に、ウイルス・血清混合液100 μl/穴を接種し37℃, 5日間培養後にCPEを観察し、中和抗体価を算出した。

2) 伝染性気管支炎ウイルス (IBV): 市販のELISAキット (IDEXX) を用い、キット付属の使用法に準拠して検査を行い、s/p比の測定を行った。

3) NDV: 血清希釈法を用いて赤血球凝集抑制 (HI) 抗体価の測定を行った。血清をPBSにて2倍から2倍階段希釈し、血清25 μlと4Uに調整したNDV-B1株25 μlを混和した後室温で1時間反応させた。反応1時間後、HIの認められた最高希釈倍率をその検体のHI価とし、各鶏群とも幾何平均HI価を算出した。

結 果

1. F嚢の経時的変化

1) F嚢体重比の推移: F嚢体重比の推移をFig. 1に示した。導入時、SPF群、TY2.Vac群およびN.Vac群のF嚢体重比は0.5~0.6であったが、SPF群で3週後にF嚢比が0.13まで大きく減少し、このときSPF群はTY2.Vac群およびN.Vac群に比べて有意に (P ≤ 0.01) 低い値となり、その後もTY2.Vac群より有意に (P ≤ 0.01) 低い値を推移した。SPF群と同様

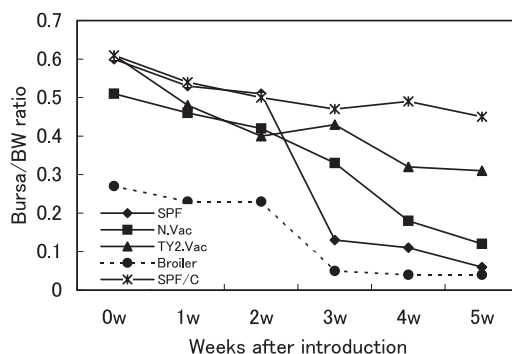


Figure 1. Bursal/body weight ratio after introduction of sentinel chickens. (SPF: Non-treated SPF birds, N.Vac.: Immunized SPF birds with killed commercial vaccine, TY2.Vac.: Immunized SPF birds with experimentally killed vaccine, Broiler: Commercial birds, SPF/C: Isolated and non-treated SPF birds)

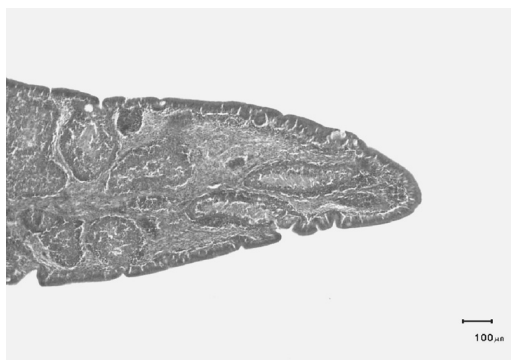


Photo 2. Histopathological changes of bursa of Fabricius: SPF bird, 5 weeks after introduction. (H-E stain)

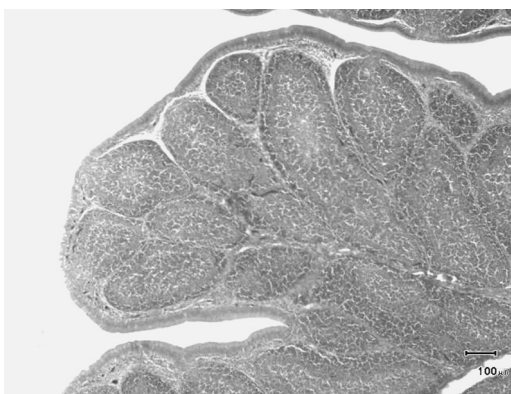


Photo 3. Histopathological changes of bursa of Fabricius: TY2.Vac bird, 5 weeks after introduction. (H-E stain)

Table 1. Histopathological findings of bursa of Fabricius

Group	Bird No.	0w	1w	2w	3w	4w	5w
SPF	1	-/-*	+/-	+/-	+/-	+/++	+/++
	2	-/-	-/-	+/-	+/+	+/++	+/+
	3	-/-	-/-	-/-	+/+	+/++	+/++
	4	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	+/++
	5	-/-	-/-	+/-	-/-	-/++	+/++
	6	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/++
N.Vac	1	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/++
	2	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	+/+
	3	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	4	-/-	-/-	-/-	-/+	+/-	+/-
	5	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-
	6	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
TY2.Vac	1	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	2	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	3	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	4	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-
	5	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-
	6	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-
Broiler	1	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/+
	2	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	-/+
	3	-/-	-/-	+/-	-/+	+/+	+/+
	4	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	+/-
	5	-/-	-/-	-/-	-/+	-/+	+/+
	6	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	+/-

※Degeneration・necrosis / proliferation of connective tissues
 (-; No lesions +; Slight lesions ++; Moderate or severe lesions)

にBroiler群も導入後3週後にF嚢体重比の減少がみられ、F嚢体重比は低い値を推移した。また、N.Vac群においては導入2週目まではTY2.Vac群と同程度であったが、3週目からF嚢体重比の減少がやや認められ、4週後ではTY2.Vac群に比べ有意に ($P \leq 0.05$) 低い値となり5週後はさらに低い値を示した。TY2.Vac群は試験期間を通し、F嚢体重比はあまり変化がなかったが、導入4週後にやや低下がみられた。

2) F嚢の病理組織学検査：F嚢の病理組織学検査の結果はTable 1に示すように、導入時には全群組織病変は認められなかった。SPF群において導入1週後から濾胞の壊死が軽度で認められるものもわずかながら認められ、3週以降にはほとんどに中程度～重度の変性・壊死がみとめられ、さらに4週以降には結合織の増生が強く認められるようになった (Photo 2)。N.Vac群では2週後から濾胞の壊死が軽度で認められるものが存在したが、SPF群に比べ

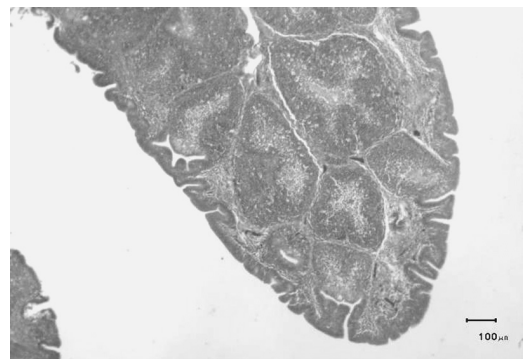


Photo 4. Histopathological changes of bursa of Fabricius: Broiler bird of 7-week-old. (H-E stain)

ると病変の程度は軽度であった。TY2.Vac群は試験期間中、病変はほとんど認められなかった (Photo 3)。Broiler群の病変はSPF群に比べると弱いものの、3週以降に重度の個体も認められた (Photo 4)。

3) F嚢の蛍光抗体法による病原体検索：F嚢の凍結切片を用いた間接蛍光抗体法による抗原検索の結果はTable 2に示した。SPF群において導入2週後から全例に特異蛍光が濾胞の50%以上に認められた(Photo 5)。その後も特異蛍光は持続して認められ

たが、5週後では弱陽性あるいは陰性となった。N.Vac群は3週後に弱陽性個体が出現し始め、4週後に全例に特異蛍光が認められたが、SPF群よりは弱い反応であった。TY2.Vac群では試験期間中には特異蛍光は認められなかった。Broiler群においては、SPF群より1週遅れて導入3週後に特異蛍光が認められ、5週後には弱陽性になった。

Table 2. Detection of IBD virus antigen by immunofluorescence antibody technique.

Weeks PI	Bird No.	Groups			
		SPF	N.Vac	TY2.Vac	Broiler
0w	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
	5	-	-	-	-
	6	-	-	-	-
1w	11	-	-	-	-
	12	-	-	-	-
	13	-	-	-	-
	14	-	-	-	-
	15	-	-	-	-
	16	-	-	-	-
2w	21	++	-	-	NT
	22	++	-	-	-
	23	++	-	-	-
	24	++	-	-	-
	25	++	-	-	-
	26	++	-	-	-
3w	31	++	-	-	++
	32	+	-	-	±
	33	++	±	-	++
	34	++	±	-	++
	35	+	-	-	+
	36	+	-	-	++
4w	41	±	++	-	+
	42	±	+	-	+
	43	+	+	-	±
	44	±	+	-	+
	45	±	+	-	±
	46	+	±	-	±
5w	51	±	+	-	±
	52	±	+	-	±
	53	-	-	-	±
	54	±	-	-	-
	55	±	+	-	±
	56	±	±	-	-

- : Negative, ± : Positive (weak), + : Positive (clear), ++ : Positive (severe)

2. 抗体検査成績

1) IBDV：IBDV中和抗体価の推移をFig. 2に示した。農場導入時のN.Vac群の平均中和抗体価は1,176倍、TY2群は2,195倍であった。SPF群およびBroiler群において導入3週後に抗体価の急激な上昇が認められ、その後は高い値を推移した。N.Vac群については、導入4週後から抗体価のゆるやかな上昇がみられた。TY2.Vac群は一週後にやや低下し、そのまま維持していたが、導入4週後にわずかに上昇した。

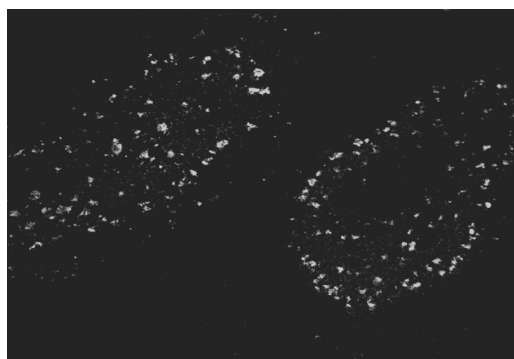


Photo 5. Specific phosphors observed in the atrophied bursa of Fabricius by immunofluorescence: SPF bird, 2 weeks after introduction

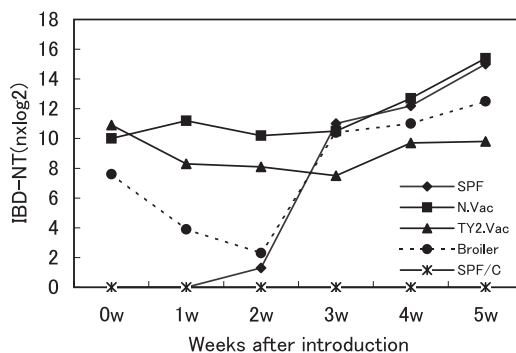


Figure 2. Neutralizing antibody titer to IBD virus after introduction of sentinel chickens. (SPF, N.Vac., TY2.Vac., Broiler, and SPF/C: See Figure 1.)

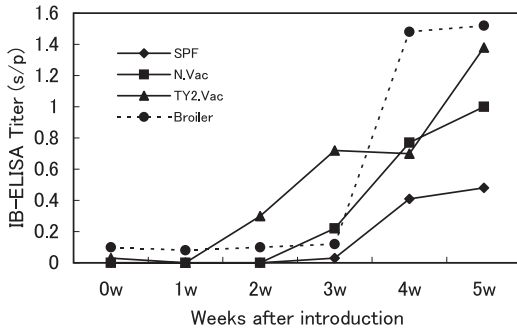


Figure 3. Neutralizing antibody titer to IBV after introduction of sentinel chickens. (SPF, N.Vac., TY2.Vac., Broiler, and SPF/C: See Figure 1.)

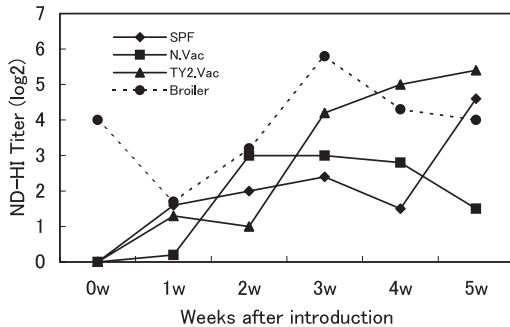


Figure 4. Haemagglutination inhibition antibody titer to NDV of sentinel chickens. (SPF, N.Vac., TY2.Vac., Broiler, and SPF/C: See Figure 1.)

2) IBV: IB-ELISAのs/p比の推移をFig. 3に示した。s/p比は0.2以上が陽性とされる。s/p比は導入2～4週後に上昇を認めたが、中でもTY2.Vac群で早かった。SPF群は他の群に比べて遅く、また低い値で推移した。

3) NDV: ND-HI値の推移をFig. 4に示した。導入1～2週後に各鶏群でHI抗体の上昇が認められるようになった。SPF群およびN.Vac群のND-HI値は4週後までほぼ同じ水準で推移したが、5週後にSPF群で急激に上昇した。TY2.Vac群においては導入3週後に急に上昇し、その後も高い値を維持し続けた。Broiler群は導入時から移行抗体が残っており、一旦抗体価は減少したが2週後には上昇に転じた。

考 察

導入時でのBroiler群のF嚢体重比はおとり鶏の各

群に比べると低値であるが、これはおとり鶏がレイヤー種であることからの差と考えられ、導入時の値は正常範囲と考えられる。

おとりとしてブロイラー農場に導入したSPF群において、導入2週後にF嚢の濾胞の変性・壊死は約半数の個体に出現し、その後病変の程度が大きくなり、結合織の増生もみられるようになった。導入3週後にはF嚢体重比の大きな減少が認められ、また、IBDV中和抗体価の急激な上昇も同時期に認められたことから、導入後2～3週には既にIBDVに感染したことが示唆された。またSPF群は、抗IBDVウサギ血清を用いた間接蛍光抗体法による抗原検索において、導入2週後に全例に特異蛍光が認められ、3週後までは強陽性反応を示し、その後は弱陽性反応となったことから、IBDV感染は農場導入1～2週後の時期に始まり、2～3週後にピークを迎え、その後感染が終息に向かったと考えられた。

SPF群と同様に、Broiler群もF嚢体重比が導入3週後に減少した。F嚢の組織病変も導入3週後にみられたが、SPF群と比べると病変の程度はやや軽度となっている。これは、農場のBroiler群は移行抗体を保有していたことに起因すると考えられる。抗原検索においては、導入3週後にほとんどの個体に強陽性反応が現れ、その後弱陽性となり、導入2～3週後の間にIBDVの感染を受け、F嚢萎縮が起こったと予想された。

N.Vac群は、SPF群と比べるとF嚢体重比の減少は緩やかで、導入3週後では有意にF嚢体重比が大きかったが、SPF/C群およびTY2.Vac群と比べると低い値となり、導入4週後では有意に低い値を示した。しかし、SPF群よりはF嚢体重比は高い値を維持した。IBDV中和抗体価は導入4週後の上昇が認められ、また抗原検索においては、導入3週後に弱陽性を示す個体が出現し、4週後にIBDV感染のピークを迎えたことが示唆された。このことから、本農場においては、市販のワクチンでは防御しきれない、IBDV感染のあったことが示唆された。

一方、農場から分離されたIBDV-TY2株[6]を不活化抗原として免疫したTY2.Vac群では間接蛍光抗体法による抗原検索でIBDVの存在を確認することが出来なかった。また、HE染色でのF嚢の組織病変は試験期間中ほとんど認められず、導入4、5週後に病変のみられた個体も軽度に病変が認められるのみであった。F嚢体重比の推移も、他の群と比べて高い値を維持することができ、この農場内で分離

されたIBDV-TY2株は当該農場のIBDV感染およびF嚢萎縮を効果的に防御できた。

IBおよびNDに対する抗体の推移をみると、SPF群のIB-ELISAのs/p比はTY2.Vac群より低値を示した。ND-HI価についてもSPF群では導入3週後からTY2.Vac群よりも低い値となった。このことは、SPF群はIBDV感染によるF嚢Bリンパ球の崩壊・減数に伴う抗体産生能の低下が起こったことによるかもしれない。また、N.Vac群についてはF嚢の萎縮は認められたものの、ワクチン投与による効果が少なからず働いたと考えられる。Broiler群においては、IBDV抗原がF嚢内に確認され、F嚢萎縮、組織病変も認められたにもかかわらず抗体産生能はおとり鶏より高かった。この理由については、鶏種の差によるものか、不明である。

一方、TY2.Vac群はF嚢の組織病変もほとんどみられず、間接蛍光抗体法によってIBDVは検出されなかった。しかしながら、農場導入4週後において、F嚢体重比の若干の減少が認められ、F嚢萎縮にはIBDV以外の感染性の因子、あるいは非感染性の因子が関わっている可能性を考慮する必要があるかもしれない。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、HE染色切片作製にご協力いただいた本学獣医学科病態・予防獣医学講座病理学分野（安田宣紘教授および三好宣彰准教授）に深謝します。

引用文献

- [1] Glick, B.: The bursa of Fabricius: the evolution of a discovery. *Poult. Sci.*, 73 (7), 979-983 (1994)
- [2] 小西豊, 高瀬公三, 山崎憲一, 平良和代, 高江行一: ブロイラーのファブリキウス嚢萎縮の実態ならびに萎縮要因の検索. 鹿大農学術報告, 54, 9-14 (2004)
- [3] Lukert, P.D. and Saif, Y.M.: Infectious bursal disease. in Saif, Y. M., Barnes, H. JH., Glisson, J. R., Fadly, A. M., McDougald, L. R. and Swayne, D. E. (eds), *Diseases of Poultry*. 11th ed. pp.161-180, Iowa State Press, Ames (2003)
- [4] Muller, H., Islam, M.R. and Raue, R. : Research on infectious bursal disease--the past, the present and the future. *Vet. Microbiol.*, 2, 97(1-2), 153-165 (2003)
- [5] 中村菊保: ファブリキウス嚢. pp13-14, 養鶏衛生ハンドブック, (社) 全国家畜畜産物衛生指導協会編, (社) 全国家畜畜産物衛生指導協会, 東京 (1996)
- [6] 山崎憲一: 免疫おとり鶏を用いた新しいタイプの伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスTY2株の分離, 化血研所報黎明, 15, 54~59 (2006)

Studies on Causal Agents for Bursal Atrophy of Broiler Chickens Using Sentinel Chickens Immunized to Infectious Bursal Disease

Rikako EITOKU, Kazuyo TAIRA¹⁾, Ken-ichi YAMAZAKI²⁾ and Kozo TAKASE[†]

(*Laboratory of Veterinary Microbiology*, ¹⁾*Department of Veterinary Medicine*,

²⁾*Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Japan Farm Co. Ltd., The Chemo-Therapeutic Research Institute*)

Summary

Atrophy of bursa of Fabricius of broiler chickens at early age has been observed in many broiler flocks, although live vaccines have been employed against infectious bursal disease (IBD) which has been considered to be the cause of bursal atrophy. We tried to investigate the current situation of bursal atrophy of broiler chicks and its causal agents, using specific pathogen free (SPF) chickens immunized to IBD, as sentinel birds. Two groups of SPF chickens were immunized using commercial inactivated IBDV vaccine (group N.Vac) or inactivated TY2 vaccine (strain TY2 was isolated previously from the broiler farm where the present studies were done; group TY2.Vac), at one and 3 weeks of age. Four-week-old vaccinated groups (N.Vac and TY2.Vac) and non-vaccinated SPF chickens (group SPF) were housed together with 2-week-old commercial broiler chicks (group Broiler) in the farm for 5 weeks.

As a result, it was confirmed that atrophy of BF in groups SPF and Broiler began 3 weeks after introduction of sentinel bird. Group N.Vac showed atrophy of BF, but it was more gradual than group SPF. Atrophy of BF of group TY2.Vac was not seen. We confirmed IBDV infection in groups SPF, broiler, and N.Vac when atrophy began, using indirect immunofluorescent antibody technique. Group TY2.Vac was protected from BF atrophy better than any other groups.

[†]: Correspondence to : Kozo TAKASE (Laboratory of Veterinary Microbiology)

Tel 099-285-8724, E-mail: ktakase@agri.kagoshima-u.ac.jp