

14 平飼い肉用鶏農場における呼吸器疾患による死亡羽数増加事例

熊谷家畜保健衛生所

○平田 文吾・御村 宗人・田口 清明

中央家畜保健衛生所

平野 晃司・中井 悠華・石原 径佳

I はじめに

鶏の呼吸器疾患は、鶏伝染性気管支炎(I B)や鶏伝染性喉頭気管炎(I L T)、マイコプラズマ症、大腸菌症など、多くの原因が考えられる¹⁾。採卵鶏養鶏場では、これらの疾病はほとんどワクチンプログラムが確立しているが、肉用鶏では肥育期間も短く、すべての疾病に対応するのは難しい。また、昨今は自然志向等により地面での平飼いや薬剤を使用しない飼育方法を実践する農場などもあり、慢性呼吸器疾病対策を困難な状況にしている場合もある。今回、管内の平飼い肉用鶏農場で複数の病原体が関与した呼吸器疾患について病性鑑定を実施したので概要を報告する。

II 発生概要

1 農場の概要

当該農場は総合的に農業を行う法人組織で、その養鶏部門は、平飼いの開放鶏舎が 7 棟あり、概ね 4～5 棟で鶏が飼育され、残りでオールアウト後の敷料の乾燥に使用されている。各鶏舎内は 2 区画に仕切られており、1 区画が 1 ロットとして利用され、通常 1 ロット当たり 2,000~2,400 羽で、合計約 18,000 羽を飼養している。

品種は肉用鶏のレッドブローで、導入は県外のふ化場から初生導入、飼料は自家産の自家配合飼料で出荷日齢は約 90 日、ワクチンは初生でマレック、鶏痘、I B 生ワクチンをふ化場において実施後、3 日齢でコクシジウム弱毒生ワクチン、30 日齢でニューカッスルと I B の混合生ワクチンを実施していた。

2 発生経過

発症群は平成 27 年 7 月 11 日に導入した 2,600 羽の群で、畜主から病性鑑定依頼のあった平成 27 年 10 月 13 日時点で 92 日齢(13 週齢)であり、育成段階から発育不良を呈していたため出荷がやや遅延していた。臨床所見では元気消失、肉冠の退色化が確認された。9 週齢以降から死亡羽数が増加し始め、9 月中旬以降 10 月上旬の 11 週齢から 13 週齢までの 3 週間で 160 羽の死亡が確認された。この間は図 2 発生経過のとおり。なお、病性鑑定時、



念のため鶏インフルエンザの簡易検査を発症鶏3羽、死亡鶏3羽の合計6羽の気管スワブとクロアカスワブについて実施し、全検体の陰性を確認した。

図2 発生経過

発症群の羽数	2600羽
日齢	約90日齢
導入	7月上旬(初生)
初発	9月下旬
臨床所見	発育不良、元気消失、肉冠の退色化
死亡羽数	9週齢 25羽(9/7~9/13)
(7日間合計)	10週齢 18羽(9/14~9/20)
	11週齢 36羽(9/21~9/27)
	12週齢 47羽(9/28~10/4)
	13週齢 77羽(10/5~10/11)



III 材料及び方法

病性鑑定の材料は、発症鶏1羽、死亡鶏5羽(2羽は輸送中に死亡)の合計6羽である。

1 病理学的検査

剖検後、主要臓器と脳、消化管、気管等を10%緩衝ホルマリン液で固定後、常法により薄切切片を作製してHE染色を行い、病理組織学的検査に供した。また、必要に応じてPAS反応、グロコット染色、グラム染色、抗IBVマウスモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検査を実施した。

2 細菌学的検査

主要臓器と脳、腹水、胸腔拭い、気嚢ぬぐい、心嚢水について、5%羊血液加寒天培地(CO₂条件下、48時間)およびDHL寒天培地(好気条件下、24時間)にて分離培養後、分離菌の性状確認、薬剤感受性試験を実施した。

肺、気嚢ぬぐい、胸腔ぬぐいについてマイコプラズマPCR検査を実施した。

3 ウイルス学的検査

気管、肺、肝臓、脾臓、腎臓、クロアカスワブについて、発育鶏卵尿膜腔内接種法および発育鶏卵漿尿膜上接種法にてウイルス分離を実施。

肺、肝臓、ファブリキウス嚢について、IBV、鶏アデノウイルス(FAV)、鶏貧血ウイルス(CAV)、伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス(IBDV)のウイルスPCR検査を実施した。

血清および肺、肝臓、脾臓、腎臓の乳剤上清について、IBDV抗体検査(ELISA法)を実施した。

IV 検査成績

1 病理学的検査成績

(1) 剖検所見

剖検において、No. 1, 2, 5の肝臓、No. 6の脾臓、No. 2, 5の肺、No. 1の腸管漿膜及びNo. 2, 5の腸間膜に粟粒大から大豆大の白色

図3 剖検所見

部位	所見	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
肝臓	白色点散在(粟粒大~大豆大)	+	++	-	-	++	-
	被膜に線維素様物附着	-	++	-	-	+	++
脾臓	腫脹、小豆大白色点1カ所	-	-	-	-	-	+
腎臓	暗赤色	-	+	+	+	+	+
心臓	心外膜: 線維素様物附着	-	+	+	-	+	+
肺	白色点散在(粟粒大)	-	+	-	-	+	-
消化器系	腸管漿膜: 白色点散在(粟粒大~小豆大)	++	-	-	-	-	-
	腸間膜: 白色点散在(粟粒大~米粒大)	-	+	-	-	+	-
気管	暗赤色	-	-	-	-	-	++

の点ないし結節が確認され、また、No. 2, 5, 6の肝臓、No. 2, 3, 5, 6の心臓には線維素様物の付着など炎症性変化が確認された。

図4 肺 剖検所見

肺ではNo. 2で白色の点が多数確認された。No. 1では剖検上著変は認められなかったが、後述の組織所見では菌糸を伴う肉芽腫が確認された。(図4)

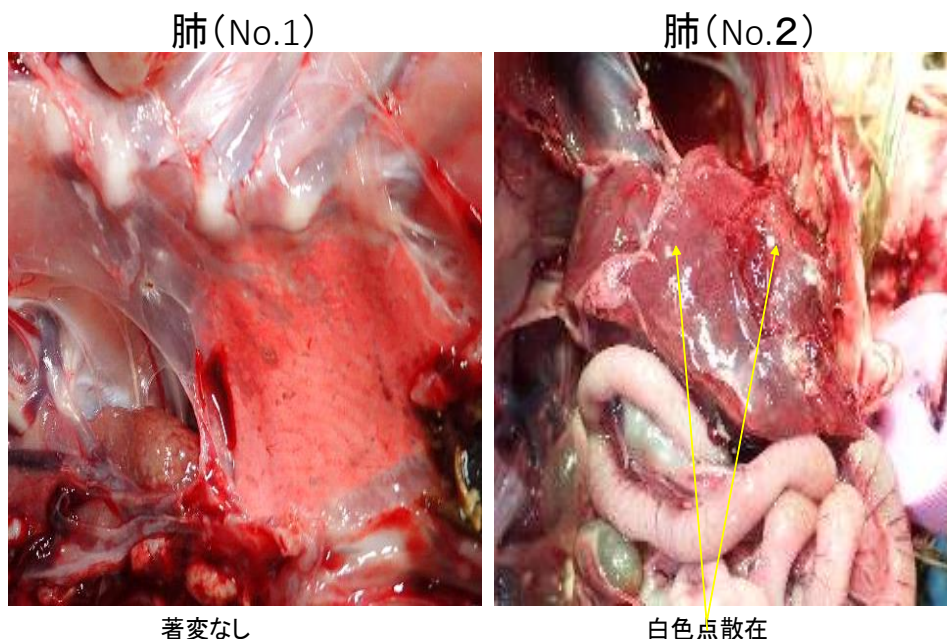
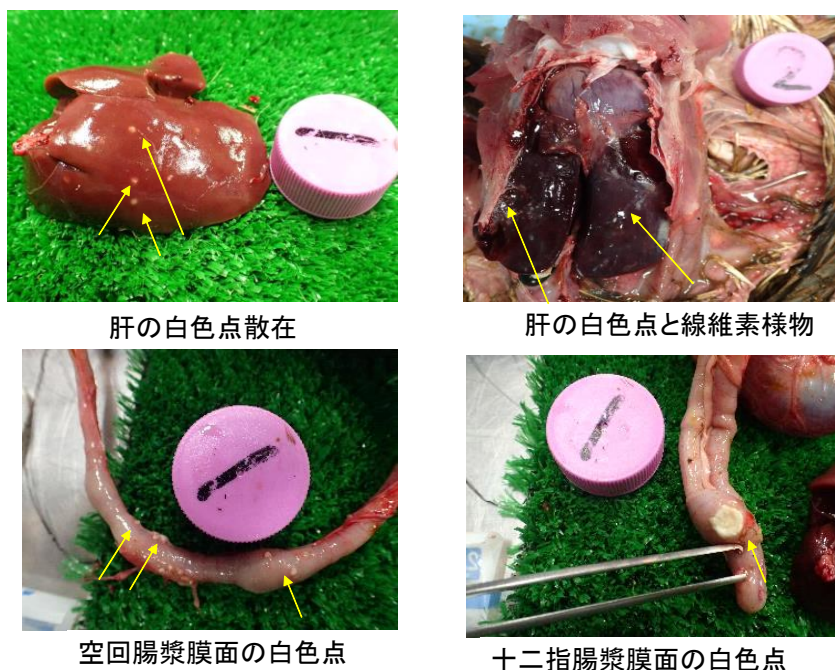


図5 肝臓・消化管

肝臓、消化管では、No.1の肝臓と空回腸漿膜面、十二指腸漿膜面に白色点ないし結節の散在が確認され、No.2の肝臓では白色点と線維索性様物の付着等の炎症性変化が多数認められた。(図5)



(2) 組織所見

(図6)

組織学的に主な所見は肺と気管に認められた。

No. 1の肺ではアスペルギルスの菌糸を伴う肉芽腫が形成されていた。

化膿性肺炎が検査を実施した全ての検体で確認された。

気管ではNo. 1, 2, 3の粘膜上皮細胞に重層化とクリプトスポリジウム

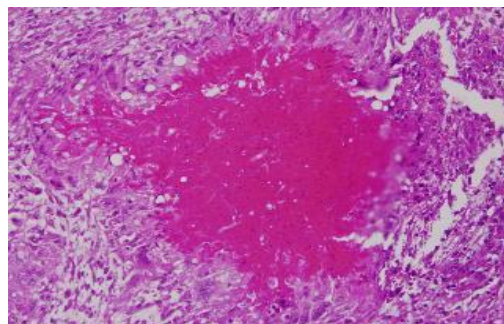
の付着、線毛の消失が確認された。なお、No. 4~6は死後変化が強く粘膜上皮細胞が脱落し重層化等の状態の確認はできなかった。

その他、肝臓ではNo. 1, 2, 3に肉芽腫と巣状壊死が確認され、他の主要臓器でも化膿性の組織変化が確認された。(図6)

図6 組織所見

部位	組織変化	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
肝臓	肉芽腫、巣状壊死	+	+	+	-	-	-
	化膿性被膜炎	-	++	-	-	-	-
脾臓	化膿性被膜炎	++	-	-	-	-	-
腎臓	化膿性被膜炎	-	-	++	-	-	-
心臓	化膿性心外膜炎	-	++	-	-	-	-
肺	肉芽腫(アスペルギルスの菌糸を伴う)	+++	NT	-	-	-	-
	化膿性肺炎	++	NT	+++	++	+++	+++
気管	粘膜上皮：重層化、クリプトスポリジウムの付着、線毛の消失	+++	+++	+++	-	-	-
	粘膜固有層：肥厚、リンパ球、マクロファージ浸潤	+	+	++	-	-	++
十二指腸	化膿性漿膜炎	++	-	-	-	-	-

図7 肺 組織所見
肺(No. 1)

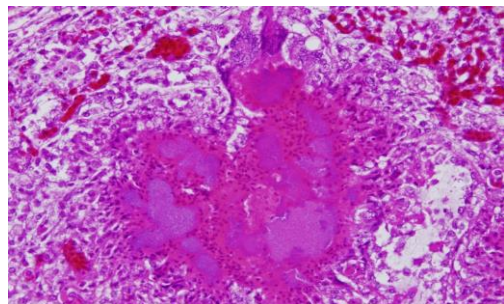


HE染色 強拡大

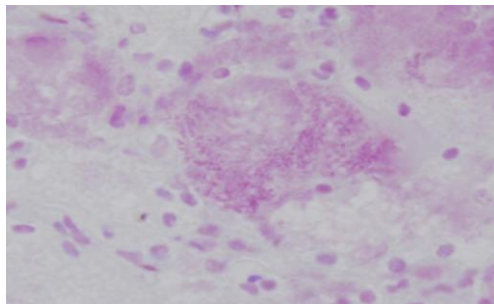


グロコット染色 強拡大

肺(No. 3)



HE染色 強拡大



グラム染色 強拡大

No. 1の肺は、剖検では目立った所見は認められなかったが、HE染色では肉芽腫の形成および多核巨細胞などの浸潤が確認され、同部位のグロコット染色では、その形状からアスペルギ

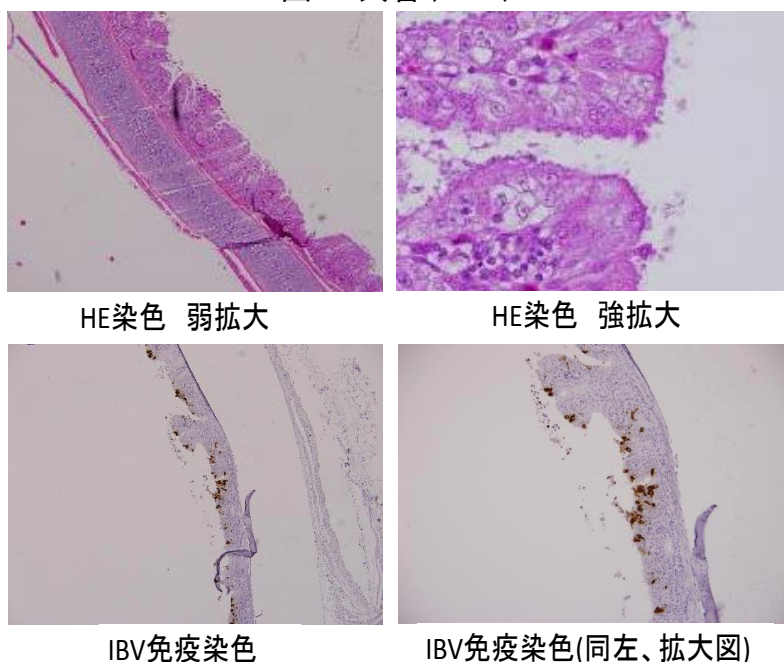
ルスと判断される菌糸が確認された。また、No. 3の肺でも、多核巨細胞の浸潤を伴う肉芽腫の形成が確認され、同部位グラム染色像では中心にグラム陰性桿菌の菌塊が認められた。(図7)

HE染色強拡大像で線毛消失、顆粒状の構造物の付着が確認され、PAS陽性に染まるクリプトスポリジウムであることがNo. 2～3全ての気管で確認された。(図8上)

また、抗鶏伝染性気管支炎ウイルスマウスモノクローナル抗体免疫染色により粘膜上皮細胞に陽性抗原が確認された。(図8下)

その他、肝臓の肉芽腫、巣状壊死の部位には、肺で確認されたグラム陰性桿菌とは異なるグラム陽性桿菌が確認された。

図8 気管(No.2)



2 細菌学的検査成績

図9 細菌学的検査成績

No.	培地	肝	脾	腎	心	肺	脳	気嚢拭い
1	BA	-	-	-	-	++ ^① 、+ ^④	-	NT
	DHL	-	-	-	-	-	-	NT
2	BA	-	-	+ ^①	-	+++ ^{①②}	-	NT
	DHL	-	-	-	-	+++ ^② 、+ ^④	-	NT
3	BA	-	-	+ ^③	-	+++ ^{①②③}	-	+++ ^{①②③}
	DHL	-	-	-	-	++ ^②	-	++ ^②

No.	培地	肺
4	BA	-
	DHL	-
5	BA	++ ^{⑤⑥}
	DHL	-
6	BA	+++ ^{⑤⑥⑦}
	DHL	++ ^⑤

- ① *Avibacterium gallinarum*
- ② *E. coli*
- ③ パスツレラ類縁菌
- ④ 真菌
- ⑤ *E. coli*様菌
- ⑥ *Staphylococcus*属様菌
- ⑦ *Streptococcus*属様菌

細菌学的にはNo. 1, 2, 3の肺、No. 2の腎臓、No. 3の気嚢拭いから *Avibacterium gallinarum* が分離された。その他、*E. Coli*、パスツレラ類縁菌、真菌が分離された。No. 4, 5, 6は状態が悪かったため肺のみ細菌分離を試みたところ、*E. Coli*様菌、*Staphylococcus*属様菌

菌、*Streptococcus* 属様菌が分離された。(図9)

また、マイコプラズマのPCR検査では、No. 1, 2, 3の肺で *M.synoviae* の陽性が確認された。

3 ウイルス学的検査成績(図10)

図10 ウイルス学的検査成績

ウイルス分離成績(発育鶏卵尿膜腔内接種法)

No.	接種材料	鶏胚所見	尿膜腔液RT-PCR (IBウイルス)
1~6 プール	気管	生存・異常なし	+
	肺	生存・異常なし	+
	腎臓	軽度の矮小化	+
	クロアカ	生存・異常なし	+

ウイルスPCR検査成績

No.	材料	IBV	No.	材料	FAV	CAV
1	肺	—	1	肝臓	—	—
2		+	2		—	—
3		+	3		—	—
4		+	4		—	—
5		—	5		—	—
6		+	6		—	—

No.	材料	IBDV
1~6 プール	ファブリキウス嚢	—

ウイルス学的には、気管、肺、クロアカスワブのプール検体から発育鶏卵尿膜腔内接種法によりウイルスを分離し、尿膜腔液RT-PCRによりIBV特異遺伝子を検出した。

なお、分離ウイルスについてRFLP法を実施したところ、制限酵素切断パターンはマサチューセッツ型に分類され、農場で使用されているワクチン株と同じグループであると判断された。

ウイルスPCR検査成績は、No. 2, 3, 4, 6の肺でIBの陽性が確認された。その他、FAV, CAV, IBDVはすべて陰性だった。また、IBDVのELISA法抗体検査についても陰性だった。

V まとめと考察

今回の症例では、気管、回腸粘膜、ファブリキウス嚢の上皮細胞にPAS反応陽性に染まる顆粒が確認され、クリプトスポリジウムの虫体と診断された。特に気管では6例中3例で確認され、他の3例も死後変化が強かったため確認不能で、おそらく6例全てに虫体の寄生はあった可能性は高いと考えられた。クリプトスポリジウムによる症状は未症状で経過することも多いが上部気道に寄生した場合呼吸器症状を呈することが知られている^{1,3)}。

また、1羽の肺に多発性の肉芽腫とその中心部に菌糸が確認された。菌糸はPAS反応およびグロコット染色で陽性を示し、その形状は、鋭角でY字型の分岐を持ち、隔壁は多く、幅は一定で分岐部にくびれはなく、卵円形の酵母状細胞は見られないといった特徴を有しており、アスペルギルスと診断した^{1,2)}。

更に、肺の所見では6検体中5検体で一次気管支から終末細気管支腔内に偽好酸球主体の細胞浸潤が認められ、化膿性肺炎と診断した。また、1検体の肺では多発性の肉芽腫が認められ、中

心部にはグラム陰性桿菌の菌塊が認められた。細菌学的検査でNo. 1, 2, 3の肺、No. 2の腎臓、No. 3の気嚢拭いから *A.gallinarum* が分離されていることからこの菌塊は同菌であると診断した。*A.gallinarum* は、上部気道の常在菌で病原性は低いとされているが、ストレス等の要因により顔面主張や深部気道への感染により呼吸器障害を引き起こす事例が報告されている⁴⁾。

また、気管の粘膜上皮細胞にIBVマウスモノクローナル抗体免疫染色で陽性抗原が病変部に確認されており、ウイルス学的検査でも気管、肺、クロアカのプール検体からIBV特異遺伝子を検出していることからIBVによる呼吸器疾患への関与があった可能性は否定できない。ただし、分離ウイルスの制限酵素切断パターンはマサチューセッツ型に分類され、農場で使用されているワクチン株と同じグループであると判断されている。

マイコプラズマのPCR検査では、No. 1, 2, 3の肺で *M.synoviae* の陽性が確認された。単独感染では病原性が弱いとされる *M.synoviae* も、今回の症例では呼吸器疾患に関与していた可能性は強く疑われる⁵⁾。

畜主の稟告によると、当該群は導入後1~2週間から発育不良の個体が散見されたとのことである。当該群の出荷後、他の群に同様の異常は認められなかったことから、本症例は日和見菌による弱群の障害と考えられた。

これらのことから、本症例の発生機序は、導入群に早い段階でクリプトスポリジウムが上部気道に寄生して上皮細胞の線毛が失われたために、感染防御機能が低下し、アスペルギルスや *A.gallinarum* が深部気道まで侵入、増殖し、更に常在する *M.synoviae* 等も関与し、呼吸器疾患を引き起こしたものと考察した。IBVについても、分離株はワクチン株と同じグループであることが確認されたが、病変部である気管に一致して抗原が確認されたことから、ワクチン株と同じグループの野外株に感染したためワクチンにより病原性は殆ど抑えられていたものの混合感染により基礎疾患の一つとして病原性を示した可能性も否定はできないと思われた。

VI 参考文献

- 1) 鶏病研究会：カラーマニュアル鳥の病気(第6版)
- 2) 横山浩一・秋元穰・依田真理：ブロイラー農場で発生した鶏アスペルギルス症 鶏病研究会報51, 227-230 (2015)
- 3) 全国家畜畜産物衛生指導協会：養鶏衛生ハンドブック 第6章 疾病とその診断、予防、治療 その他の原虫病(211)
- 4) 伊藤晴朗・植松和史：採卵鶏に発生した *Pasteurella gallinarum* 及び伝染性喉頭気管炎ウイルスの混合感染事例 広島県獣医師会雑誌No. 30 (2015)