

原 著

鶏の幼雛における実験的緑膿菌感染症

關茉莉絵 御領政信 佐々木 淳 岡田幸助

要 約

野外採卵鶏の眼窩下洞が腫脹し、化膿性肉芽腫が認められた成鶏より緑膿菌が分離され、幼雛に対する病原性を病理学的に検索した。10⁹接種群では接種日齢にかかわらず接種後3日以内にはほぼ全例が死亡したが、10⁸接種群では接種日齢が高いほど死亡数が減少した。10⁹接種群では接種12時間後で沈うつ、頭部下垂を示し、接種4日後の一部のひなでは遊泳運動、ふらつきなどの神経症状、片側眼瞼の閉鎖が認められた。肉眼的に死亡例では接種部位を中心とする胸腹部、大腿部などにおける重度の皮下水腫、組織学的にはほぼすべての死亡例で化膿性筋炎、細菌塊を伴う血管周囲炎がみられたが、生残例では病変がほとんど認められなかった。

キーワード：鶏，ひな，緑膿菌感染症，敗血症，脳病変

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) は、土壌、水中など自然環境中に広く存在するグラム陰性偏性好気性桿菌で、易感染性宿主に病原性を発現する日和見感染症の原因菌のひとつである。鶏の緑膿菌感染症は、主に幼雛における敗血症が知られており、発病雛は下痢を呈し、元気・食欲の消失がみられる [1, 2]。わが国では関節炎、角膜炎、脳病変を伴う緑膿菌感染症が報告されている [3-7]。

今回、野外採卵鶏で眼窩下洞が腫脹し化膿性肉芽腫が認められた成鶏より緑膿菌が分離され、幼雛に対する病原性を病理学的に検索したので報告する。

材料および方法

接種菌株：ある農場の採卵鶏の成鶏群で、眼窩下洞が高度に腫脹し、化膿性肉芽腫を示す疾病が発生した。発病鶏16症例の病巣部から、セトリミド寒天培地（ニッスイ）およびApi20E テスト（bioMerieux）により緑膿菌2株（A株、B株）が分離・同定された。

実験1（分離緑膿菌株の病原性の検討）：P2系白色レグホン種1日齢ひなを用いた。緑膿菌2株（A株、B株）をそれぞれ10⁹/0.1mlに調整し、各6羽の右側大腿部にそれぞれ筋肉内接種した。死亡例は随時、生残したものは7日後に剖検、主要臓器ならびに病変部を採材し、病理組織学的に検索した。

実験2（日齢別ひな感受性の検討）：市販系由来ひなを用いた。A株、B株をそれぞれ10⁸、

10⁹/0.1mlに調整し，1，7，14，および21日齢ひなの右側大腿部に筋肉内接種した．死亡例は随時，生残したものは接種7日後に剖検，主要臓器ならびに病変部を採材し，病理組織学的に検索した．

病理組織学的検査：接種部位と五大臓器などを採材した後，10%ホルマリン液にて固定し，常法に従いパラフィン包埋ブロックを作製した．これを4 μmに薄切した後，ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施し，光学顕微鏡にて病理組織学的に検索した．

成 績

実験1（分離緑膿菌株の病原性の検討）：

臨床症状：臨床症状および死亡数は表1に示す通りである．A株接種群では，接種3日後を中心に，B株接種群では接種5日後を中心に死亡例が認められた．観察期間中，一部のひなにふらつき，遊泳運動などの神経症状が認められた．
肉眼所見：死亡例では，右側大腿部を中心とする皮下と筋肉の水腫性変化が共通してみられ，高度なものでは両側体幹にわたって広範に認められた（図1）．接種7日後に剖検したひなでは，接種部位に限局的な黄色退廃物を伴った壊死が認められた．その他の臓器では著変は認められなかった．

組織学的所見：死亡例では，真皮領域から半腱・半膜様筋，大腿四頭筋などの筋組織に多数の偽好酸球を中心とした炎症性細胞浸潤と水腫が認められ，筋線維は広範に萎縮および消失していた．筋束間の血管では，細菌塊が取り囲む特徴的な炎症像が多数で認められた．この特徴的な血管周囲炎はまれに心筋筋束間，肺動脈にも認められた．剖検例では，筋間の肉芽腫形成が認められたものの，水腫や血管周囲炎はみられなかった．神経症状を示したひなでは，大脳に多発性の膿瘍が形成されていた（図2）．

表1 1日齢P2系ヒナに対する緑膿菌株の病原性（実験1）

	接種羽数	死亡数	神経症状
A株	6	5	1
B株	6	3	3



図1 実験1，1日齢ひな．接種後24時間以内の死亡例．重度の皮下水腫が広範に認められる．

実験2（日齢別ひな感受性の検討）：

臨床症状：死亡率は表2に示す通りである．10⁹接種群では，接種12時間後で沈うつ，頭部下垂の症状を示した．死亡例は接種24時間後をピークにしてみられ，3日以内にほとんど全て死亡した．10⁸接種群において，接種2日後頃から沈うつ症状を示したひなでは，接種4～5日後に回復した．10⁸接種群の死亡羽数はA株およびB株合わせて1日齢接種群で13/20羽（65%），7日齢接種群で4/18羽（22%），14日齢接種群で2/12羽（16%），21日齢接種群では0/18羽であった．実験2では接種5日後頃より，B株の14日齢10⁹接種群ひなとB株の21日齢10⁸接種群ひなの2羽で片側眼瞼を閉鎖したままの個体が認められた．

肉眼所見：死亡例で皮下と筋肉の広範な水腫性変化が認められた．10⁸接種群死亡例では水腫が接種部周囲に留まった比較軽度な個体も存

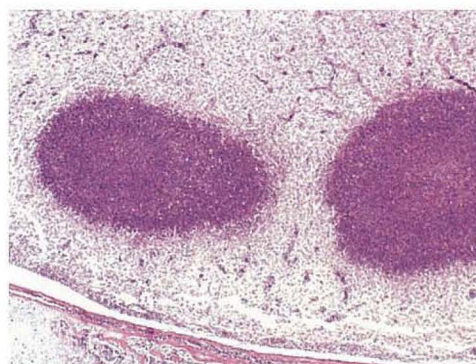


図2 実験1，1日齢ひな，HE染色．大脳の低倍像で，多発性の膿瘍形成が認められる．

表2 市販鶏由来ヒナに対する緑膿菌株の病原性 (実験2)

菌株	菌量	接種羽数	接種日齢	接種後日数							死亡数	死亡率 (%)
				1	2	3	4	5	6	7		
A株	10 ⁹	11	1日齢	11	—	—	—	—	—	—	11	100
		10	7日齢	8	1	—	—	—	—	—	9	90
		10	14日齢	3	6	—	—	—	—	—	9	91
	10 ⁸	10	1日齢	7	1	1	—	—	—	—	9	90
		9	7日齢	4	—	—	—	—	—	—	4	44
		6	14日齢	—	1	—	—	—	—	—	1	17
	9	21日齢	—	—	—	—	—	—	—	0	0	
B株	10 ⁹	11	1日齢	11	—	—	—	—	—	—	11	100
		11	7日齢	8	1	2	—	—	—	—	11	100
		11	14日齢	7	3	—	—	—	1 ^{a)}	—	11	100
	10 ⁸	10	1日齢	1	2	—	1	—	—	—	4	40
		9	7日齢	—	—	—	—	—	—	—	0	0
		6	14日齢	—	—	—	—	1	—	—	1	17
	9	21日齢	—	—	—	—	— ^{a)}	—	—	0	0	

^{a)}片側眼瞼閉鎖

在した。接種7日後に剖検したひなでは、接種部位に限局的な黄色退廃物を伴った壊死が認められた以外は、著変は認められなかった。
組織学的所見：ほぼ全ての死亡例で筋炎、菌塊

を含む血管周囲炎が認められた (図3, 4)。菌塊を含む血管周囲炎は、肺や心臓の静脈にも存在した。片側眼瞼を閉鎖した個体では眼球結膜、角膜、前眼房、毛様体、脈絡膜にかけて偽好酸球を中心とした炎症細胞浸潤と水腫がみられ、眼内炎を呈していた (図5)。

考 察

分離された緑膿菌株は今回の実験で、幼雛において致死的な病原性があることが示された。特に初生ひなで感受性が高く、10⁹接種ではA、B両株でほぼ全例が死亡した。死亡例のほとんどは接種24時間以内に死亡しており、これら死亡例はおそらく敗血症性ショックに陥ったものと考えられた。日本における鶏ひなの緑膿菌感

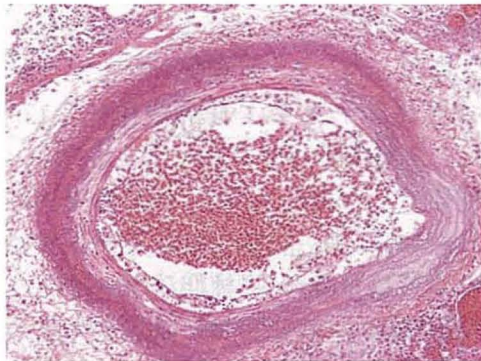


図3 実験2, A株, 7日齢10⁹接種群ひな, HE染色。右側大腿部の中拡大像, 坐骨動脈の血管周囲炎。

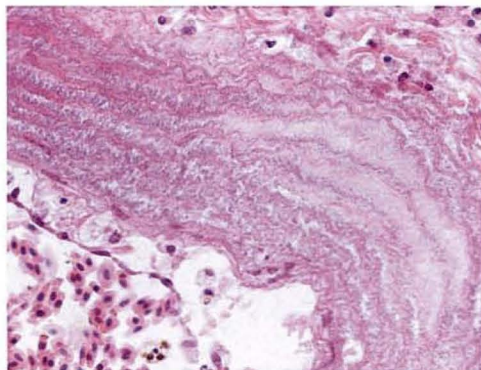


図4 実験2, A株, 7日齢10⁹接種群ひな, HE染色。図3の組織写真の高倍像。血管壁を取り巻くように細菌塊が認められる。

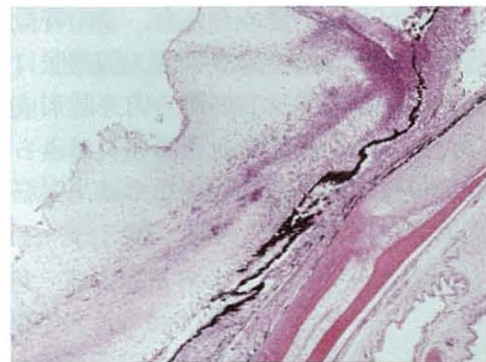


図5 実験2, B株, 14日齢10⁹接種群ひな, HE染色。眼球炎と診断した症例。毛様体付近の中拡大像。眼球内外における広範な偽好酸球浸潤と線維素の析出が認められる。

染症は報告数が少ないものの死亡・淘汰率は高く [1,2], 初生ひなの感染が多いことも今回の実験結果と類似していた。

日齢別ひなの感受性の検討では, 10^8 接種群において, 日齢の進行に従い死亡数の減少および症状の短期化がみられ, 鶏ひなの緑膿菌に対する感受性は日齢によって差があることが明らかとなった。家禽の緑膿菌に対する日齢抵抗性は従来報告にも示されている [1,4]。これら報告例や今回の実験から, 鶏の緑膿菌感染症の自然発生は宿主側の要因が強であろうことが示唆された。また, 今回は筋肉注射により明確な病変作出を試みたが, 10^8 接種群でさえも死亡率に大きなばらつきがみられ, 緑膿菌感染において菌数も重要な要因であることが推察された。

ひなの死亡例は, 肉眼的には接種部位を中心とする皮下に広範な水腫が, 組織学的には偽好酸球を中心とする炎症細胞浸潤と血管を取り囲むような菌塊が特徴的であった。*Pseudomonas* 感染において血管を取り巻く菌塊は多くの組織で見られる典型像であるとされ [1], 従来報告と一致していた。

実験1では大脳に膿瘍形成, 実験2では片側に眼球炎が散発的に認められた。鶏ひなで眼球炎や関節炎を伴った報告はいくつかあり, 多くが5~9日齢頃から眼球白濁, 脚弱といった症状を示している [6-8]。脳病変を伴った鶏ひなの緑膿菌感染症は高瀬ら [4,5] によってはじめて報告され, 病変は2日齢をピークとした死亡野外鶏群 (死亡率14.8%) と, 発症ひな7日齢剖検時 (4/7羽) に認められていた。高瀬らは2日齢をピークとした死亡の直接原因は敗血症死であり, 脳病変はこれにともなって形成されてきたものと考察している。今回の実験でもひなの死亡は接種1~3日後がピークであったのに対し, 脳炎, 眼球炎はどちらも接種4~6日後にかけて発生しており, これらの考えを

裏付ける結果となった。今回の実験では, 同じ菌株で実験ごとに眼球と脳という異なった部位で病変形成がみられた。眼球と脳から同一緑膿菌が分離された文献は多かったが, 眼球炎と脳病変が同時に存在する報告はほとんどなされていない [6]。今回は由来の異なるヒナを用いて実験しており, 今後さらに鶏種による感受性の差を検討する必要があるのではないかと考えられた。

引用文献

- [1] Barnes HJ: Miscellaneous and Sporadic Bacterial Infections, Diseases of Poultry, American Association of Avian Pathologists, 11th ed, 852-854, Blackwell Publishing, Iowa (2003)
- [2] 清水 健: 家畜・家禽の緑膿菌感染症とその対策, 畜産の研究, 28, 1045-1052 (1973)
- [3] 吉田真一他: 緑膿菌および関連するグラム陰性桿菌, 戸田新細菌学, 改訂32版, 500-503, 南山堂, 東京 (2003)
- [4] 高瀬公三, 丸山智之, 西川比呂志: 脳病変をともなう鶏ひなの緑膿菌感染症の発生, 日獣会誌, 36, 656-658 (1983)
- [5] 高瀬公三, 西川比呂志, 山田信二: 鶏ひなの脳病巣から分離した緑膿菌に対するひなの感受性, 日獣会誌, 36, 717-720 (1983)
- [6] 萩野博明, 中林 大, 清野哲三: 片側性の眼疾病を主徴としたヒナの緑膿菌感染症, 鶏病研報, 24, 116-123 (1988)
- [7] 遠藤恭介, 尾田 進, 本間穂積: 緑膿菌によるプロイラーの関節炎, 鶏病研報, 14, 135-141 (1978)
- [8] 白川ひとみ, 長野正弘, 羽田長生: ヒナに発生した眼球炎を主徴とする緑膿菌感染症, 鶏病研報, 26, 31-36 (1990)