

鶏大腸菌症における最近の大腸菌分離株および接種経路の相違による病態の検討

山口遼作・佐々木 淳・倉持 好・川崎武志¹⁾・御領政信[†]

岩手大学農学部獣医病理学研究室, 〒020-8550 盛岡市上田 3-18-8

¹⁾ 人と鳥の健康研究所, 〒099-3119 網走市鱒浦 2-7-1

要 約

ブロイラー鶏における大腸菌症の病態解明を目的として、大腸菌症の野外発症例から分離された最近の大腸菌株を用いて接種実験を行い、病理学的に検索した。7株 (E3810, Y0541, KB4-1, KB12, DA2, 53A, KA3-1) の大腸菌液 (10^8 CFU/0.1ml/羽) を接種材料とした。1日齢 P2 系鶏雛にはそれぞれの菌株を大腿部筋肉内接種し、3週齢 P2 系鶏雛では大腿部筋肉内接種群、頭部および胸部皮下接種群、噴霧接種 A および B 群、経口接種群の 6 群および無処置対照群を区分し、各菌株を接種または投与した。1日齢雛接種群では、KA3-1 株以外の株の接種群で全羽が死亡し、そのほとんどが肉眼病変を伴わない急性敗血症型であった。3週齢雛接種群では、同じ接種経路でも菌株により症状の発生時期、死亡のピーク時、死亡率および病変の程度が異なっていた。死亡鶏の多くは亜急性漿膜炎型の大腸菌症を発症していた。接種経路による死亡率は、すべての株の筋肉内接種群、皮下接種群で高く、これは組織学的な心膜炎、肝被膜炎といった全身性の病変形成率でも同じであった。接種部における蜂窩織炎は弱毒株においても高率に発症しており、野外における蜂窩織炎には多くの種類の菌株が関与していることが示唆された。頭部皮下接種群では、眼瞼周囲の腫脹が多く認められ、頭部腫脹症候群は頭部創傷からの大腸菌感染によって発症することが再確認された。噴霧接種群では、細胞接着性の確認された Da2 株接種群のみで死亡が確認され、1例において気管粘膜上皮層の構築の崩壊と粘膜固有層での細菌増殖が組織学的に観察された。このことから呼吸器感染は容易ではなく、細胞接着性や組織侵入性を持つなどの特定の菌株に限られ、大腸菌症の感染ルートとして一般的に認識されている呼吸器からの感染については再検討すべきではないかと思われた。

キーワード：大腸菌分離株、鶏大腸菌症、接種実験、接種経路、漿膜炎

結 言

鶏の大腸菌症は大腸菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) に起因する疾患で、全身感染症と局所感染症に大別され、病型は多様である。特に問題となる全身感染症は、敗血症 (colisepticemia)、続発症 (colisepticemia sequelae)、肉芽腫症 (coligranuloma) である¹⁾。局所感染症としては蜂窩織炎^{20, 22)}、頭部腫脹症候群³⁾ や大腸菌性膈帯炎、卵管炎などがある。主要病変は、心膜炎、肝被膜炎および気嚢炎で、他に腹膜炎、卵管炎および眼球炎などがある。感染経路は主に呼吸器とされており、大腸菌を含む塵埃を吸入することで全身性の感染を起こすといわれている

る^{1, 6, 12, 14, 19)}。厚生労働省医療食品監視安全課の食鳥処理検査結果によると、2008 年度のプロイラー全部廃棄のうち 46.5% が大腸菌症で、最も多かった¹⁰⁾。また、蜂窩織炎の増加、廃棄鶏の脊椎膿瘍からの大腸菌の分離^{1, 11)} なども注目すべき事項であり、それぞれの病態解明が望まれている。

鶏に病原性を示す大腸菌は、鶏病原性大腸菌 (avian pathogenic *E. coli*) (APEC) と呼ばれ、血清型 O1, O2, O35, O78 が主なものではあるが、それらによる疾患は大腸菌症全体の 15 パーセントほど¹⁾ で、実際にはより多くの血清型の大腸菌の関与が疑われており、その中には血清型が確定出来ないものも多い。また、血清型以外にも組織への接着性をはじめとした種々の病原性因子の関与が疑われている。このような多様な菌株の病原性を比較することは、鶏の大腸菌症を理解する上で重要であ

2011 年 2 月 24 日受付

[†] 連絡責任者：御領政信

鶏病研報 47 巻 3 号, 167~176 (2011)

る^{1,13)}。

そこで今回、ブロイラー鶏に好発する大腸菌症の病鶏から最近分離された大腸菌株を用いて、病変の再現および接種経路の相違による病態を明確にするために接種実験を行い、病理学的に検索した。

材料と方法

1. 供試鶏

岩手大学獣医病理学研究室で維持している specific pathogen-free P2 系由来鶏の有精卵から孵化した 1 日齢および 3 週齢の雛を用いた。いずれも水道水を飲水とし、育雛用市販飼料を給餌した。

2. 接種材料

過去の頭部腫脹症候群由来の株 (E3810)⁹⁾ および最近の鶏大腸菌症の野外発症例より分離された 6 株の計 7 株を用いた。それぞれの菌株の由来、血清型および細胞接着性の有無は表 1 の通りである。細胞接着性に関しては、分離された病変部において、組織検査にて細胞表面への付着が認められたものを有とした。凍結保存菌株を解凍後、乾燥ブイヨン培地 10 ml にて 37°C, 36 時間培

養・増菌させ、10⁸ CFU/0.1 ml/羽に調整して接種菌液とした。

3. 感染実験

実験は岩手大学動物実験委員会の承認を得て実施された。

実験設定は表 2 に示す通りである。実験 1 では、1 日齢雛に 7 株の大腸菌懸濁液 0.1 ml を 1 株につきそれぞれ 6~10 羽の右大腿部に筋肉内接種した。実験 2 では、3 週齢雛を頭部皮下、胸部皮下、大腿部筋肉内、経口、噴霧接種 A・B の異なる 6 経路の接種群に分け (各群 6~10 羽)、それぞれの菌株を接種した。頭部皮下、胸部皮下、大腿部筋肉内接種群には、それぞれ各大腸菌懸濁液を 0.1 ml ずつ接種した。経口接種群では、経口ゾンデを用いて各大腸菌懸濁液 0.1 ml を嗉嚢内に接種した。噴霧接種 A 群では、45 L のダストバックに雛を入れ、各大腸菌懸濁液 20 ml を市販のスプレーで断続的に 5 分かけて噴霧した。噴霧接種 B では、大腸菌を含む塵芥の吸入という野外例を模倣し、より感染が容易になることを目的として鶏用飼料を水に溶かして濾過した飼料懸濁液で菌培養を行い、その飼料・菌混濁液 100 ml を噴霧接種 A 群と同様に噴霧した。無処置対照群 10 羽に

表 1. 菌株の由来および性状

菌名	分離年月日	由来	O 血清型	細胞接着性 ^{a)}
E3810	1995/7	頭部腫脹症候群 (農場)	分類不能	無
Y0451	2006/11	蜂窩織炎 (農場)	O161	無
KB4-1	2010/2	漿膜炎 (食鳥処理場)	分類不能	無
KB12	2010/2	脊椎膿瘍 (食鳥処理場)	分類不能	無
Da2	2008/1	気嚢炎 (農場)	O78	有
53A	2009/10	小腸炎 (農場)	O1	有
KA3-1	2010/2	脊椎膿瘍 (食鳥処理場)	分類不能	無

^{a)} 野外症例の組織標本において、病変部の粘膜への付着が確認されていたものを細胞接着性有と規定した。

表 2. 実験設定

	供試鶏	接種部位および接種法	接種菌量
実験 1	1 日齢雛	右大腿部筋肉内	菌懸濁液 0.1 ml
		右大腿部筋肉内	菌懸濁液 0.1 ml
		頭部皮下	菌懸濁液 0.1 ml
		胸部皮下	菌懸濁液 0.1 ml
		噴霧接種 A	菌懸濁液 20 ml
実験 2	3 週齢雛	噴霧接種 B	菌・飼料懸濁液 100 ml
		経口	菌懸濁液 0.1 ml
		無処置対照	なし

は何も接種しなかった。

観察期間は 1 週間とし、期間中死亡したものは発見時に、生残したものは観察終了時にすべて剖検に供した。剖検時、体重を測定後、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、腸管（経口接種群のみ）、気管（噴霧接種 A・B 群のみ）、胸腺、ファブリキウス嚢、接種部位である右外側大腿部（大腿筋肉内接種群）、胸部皮膚および筋肉（胸部皮下接種群）、頭部皮膚および筋肉（頭部皮下接種群）を採材した。

4. 病理組織学的検索

採材臓器は定法に従い 10% ホルマリン液にて固定後、パラフィン包埋し、マイクロトームにて 4 μ m の切片を作製後、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を、また必要に応じてグラム染色（Brown Hopps 法）を施し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検索した。

成 績

1. 臨床経過

1) 実験 1

実験 1 における死亡羽数の推移は表 3 に示す通りである。KA3-1 株を除く全ての株で、接種した全羽が死亡した。死亡のピークは主に接種後 1 日目であった。死亡難では、臨床的に死亡の約 12 時間前後から沈うつや歩行困難などが認められた。

2) 実験 2

実験 2 における死亡羽数の推移は表 4 に示す通りである。接種後 1 日から 7 日目にわたって死亡例がみられ、死亡のピークに菌株や接種経路による一定の傾向は認められなかった。経口接種群では死亡例は見られず、噴霧接種 A および B 群においては、細胞接着性の確認されていた Da2 株群でのみ死亡例が認められた。KA3-1 株については、いずれの接種経路でも死亡例は認められな

表 3. 実験 1 における死亡羽数の推移

菌株	接種後日数（日）							計
	1	2	3	4	5	6	7	
E3810	10	0	0	0	0	0	0	10/10 ^{a)}
Y0451	10	0	0	0	0	0	0	10/10
KB4-1	3	2	1	0	0	0	0	6/6
KB12	4	2	0	0	0	0	0	6/6
Da2	8	1	0	0	0	0	0	9/9
53A	7	1	0	0	0	1	0	9/9
KA3-1	0	0	0	0	0	0	0	0/6

^{a)} 死亡羽数/接種羽数

かった。死亡率は、大腿部筋肉内接種群で最も高く、次いで頭部と胸部の皮下接種群が高かった。無処置対照群に著変は認められなかった。

2. 肉眼病変

1) 実験 1

実験 1 の死亡鶏では死亡日齢で病変に相違が見られたが、菌株による病変形成に相違は認められなかった。接種後 2 日以内の死亡例では、腹腔内に肉眼病変は観察されなかった（写真 1）。接種後日齢が進んでから死亡した例ほど、心膜炎、肝被膜炎が観察される割合が高くなった。また、死亡が確認されなかった KA3-1 株群では、実験終了後の剖検において 2/6 で線維素化膿性心膜炎および肝被膜炎が確認された。

2) 実験 2

実験 2 の漿膜炎と接種部炎症の発生割合は表 5 に示す通りである。E3810, Y0451, KB4-1 および KB12 株の大腿部筋肉内接種群では全例で漿膜炎を形成していたのに対し、Da2 および 53A 株の大腿部筋肉内接種群では、それぞれ 3/7, 1/7 と低い発症率で、胸部皮下接種群では全く認められなかった。KA3-1 株接種群では漿膜炎は全く観察されなかった。漿膜炎については、初期には軽度心膜炎のみが観察され、経過が進むにつれ心膜炎が重度となり、肝被膜炎も観察されるようになった（写真 2）。接種部では全ての接種群で炎症反応がみられ、皮下接種群では接種部皮下に黄色チーズ様滲出物が観察された。頭部皮下接種群では、黄色チーズ様滲出物が眼球周囲でも観察される例もあった（写真 3）。大腿部筋肉内接種群では筋層が黄色に変色し、筋炎が観察された。その他、肝臓における壊死巣（写真 4）、卵管炎が観察される個体もあった。死亡鶏がみられなかった KA3-1 株の皮下・筋肉内接種群においても、接種部における炎症反応は高率に確認された。

噴霧接種 A および B 群において漿膜炎が観察されたのは、Y0451 株（噴霧接種 B で 2/7）と Da2 株接種群（噴霧接種 A で 3/5、噴霧接種 B で 4/5）のみであった。経口接種群および無処置対照群に著変は認められなかった。

3. 病理組織学的成績

1) 実験 1

実験 1 の接種後 2 日以内の死亡例では、全身諸臓器に大腸菌の細菌塊が認められるものの、炎症反応などはほとんど認められなかった。53A 株接種群の 6 日目死亡例および KA3-1 株接種群の生残鶏の 2/6 で、化膿性肉芽腫性心膜炎・肝被膜炎が観察された。

表 4. 実験 2 における死亡羽数の推移

		接種後日数 (日)							計
		1	2	3	4	5	6	7	
E3810	大腿筋	0	0	0	0	0	2	1	3/7 ^{a)}
	頭部	0	0	0	1	1	0	0	2/7
	胸部	0	0	0	0	0	0	3	3/7
	噴霧接種 A	0	0	0	0	0	0	0	0/7
	噴霧接種 B	0	0	0	0	0	0	0	0/7
	経口	0	0	0	0	0	0	0	0/7
Y0451	大腿筋	0	5	2	0	1	0	0	8/8
	頭部	0	1	2	0	0	0	0	3/7
	胸部	0	0	0	0	2	0	0	2/7
	噴霧接種 A	0	0	0	0	0	0	0	0/8
	噴霧接種 B	0	0	0	0	0	0	0	0/7
	経口	0	0	0	0	0	0	0	0/7
KB4-1	大腿筋	0	0	0	2	3	0	0	5/6
	頭部	1	0	0	0	1	2	0	4/6
	胸部	0	1	1	0	0	0	2	4/7
	噴霧接種 A	0	0	0	0	0	0	0	0/6
	噴霧接種 B	0	0	0	0	0	0	0	0/6
	経口	0	0	0	0	0	0	0	0/6
KB12	大腿筋	0	1	1	1	1	0	0	4/6
	頭部	0	1	1	0	1	0	0	3/7
	胸部	0	1	0	0	0	1	0	2/10
	噴霧接種 A	0	0	0	0	0	0	0	0/10
	噴霧接種 B	0	0	0	0	0	0	0	0/9
	経口	0	0	0	0	0	0	0	0/10
Da2	大腿筋	2	1	0	0	0	0	0	3/7
	頭部	0	1	0	0	0	1	0	2/5
	胸部	0	2	0	0	0	0	0	2/5
	噴霧接種 A	1	0	0	1	0	0	0	2/5
	噴霧接種 B	1	0	0	1	0	0	1	3/5
	経口	0	0	0	0	0	0	0	0/5
53A	大腿筋	2	0	1	0	0	0	0	3/7
	頭部	0	2	1	0	0	0	0	3/7
	胸部	0	0	0	0	0	0	0	0/7
	噴霧接種 A	0	0	0	0	0	0	0	0/7
	噴霧接種 B	0	0	0	0	0	0	0	0/8
	経口	0	0	0	0	0	0	0	0/7
KA3-1	大腿筋	0	0	0	0	0	0	0	0/6
	頭部	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	胸部	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	噴霧接種 A	0	0	0	0	0	0	0	0/4
	噴霧接種 B	0	0	0	0	0	0	0	0/4
	経口	0	0	0	0	0	0	0	0/5
対照群		0	0	0	0	0	0	0	0/10

^{a)} 死亡羽数/接種羽数

表 5. 実験 2 における肉眼病変

菌株	群	漿膜炎	接種部炎症
E3810	大腿部筋	7/7 ^{a)}	7/7
	頭部	2/7	7/7
	胸部	3/7	7/7
	噴霧接種 A	0/7	—
	噴霧接種 B	0/7	—
	経口	0/7	—
Y0451	大腿部筋	8/8	8/8
	頭部	5/7	7/7
	胸部	4/7	7/7
	噴霧接種 A	0/8	—
	噴霧接種 B	2/7	—
	経口	0/7	—
KB4-1	大腿部筋	6/6	6/6
	頭部	3/6	6/6
	胸部	6/7	7/7
	噴霧接種 A	0/6	—
	噴霧接種 B	0/6	—
	経口	0/6	—
KB12	大腿部筋	6/6	5/6
	頭部	3/7	7/7
	胸部	2/10	4/10
	噴霧接種 A	0/10	—
	噴霧接種 B	0/9	—
	経口	0/10	—
Da2	大腿部筋	3/7	6/7
	頭部	3/5	5/5
	胸部	0/5	5/5
	噴霧接種 A	3/5	—
	噴霧接種 B	4/5	—
	経口	0/5	—
53A	大腿部筋	1/7	7/7
	頭部	5/7	7/7
	胸部	0/7	7/7
	噴霧接種 A	0/7	—
	噴霧接種 B	0/8	—
	経口	0/7	—
KA3-1	大腿部筋	0/6	2/6
	頭部	0/5	5/5
	胸部	0/5	5/5
	噴霧接種 A	0/4	—
	噴霧接種 B	0/4	—
	経口	0/5	—

^{a)} 発症羽数/接種羽数

—: 直接の接種・侵入部は不明

2) 実験 2

実験 2 における病理組織学的成績は、表 6 および 7 に示す通りである。

心膜炎、肝被膜炎、脾臓における病変の発生率は、大腿部筋肉内接種群、頭部・胸部皮下接種群、噴霧接種群 B、噴霧接種群 A の順に高かった。菌株による差異も見られ、心膜炎は大腿筋接種群では Y0451, KB4-1, KB12 株ではそれぞれ 8/8, 6/6, 6/6 と高率に発生し、KA3-1 株では 0/6 と全く発生しなかった。経口接種群では、KB4-1 株 (1/6), KB12 株 (4/10) および 53A 株 (2/8) で肺に菌塞栓病変がみられたが、腸管を含むそれ以外の臓器にはいずれの株でも病変は見られなかった。

噴霧接種群では、Y0451 株、Da2 株および、KB4-1 株の 1 例のみで心臓、肝臓、脾臓、肺などの複数の主要臓器における炎症性病変が認められた。また、Da2 株の 1 例において、気管粘膜上皮層の構造が崩壊し、粘膜固有層に細菌増殖が認められた (写真 5)。偽好酸球もしくはリンパ球浸潤などの肺病変は噴霧接種群以外でも同様に認められた。

組織像は接種群間でほぼ共通しており、心臓においては、偽好酸球、マクロファージおよびリンパ球浸潤を特徴とした化膿性心膜炎および、退廃物や細菌塊の周囲に類上皮細胞や多核巨細胞が取り囲む化膿性肉芽腫が観察された (写真 6)。肝被膜においては、偽好酸球、マクロファージおよびリンパ球の浸潤、線維性肥厚を特徴とした化膿性肝被膜炎 (写真 7) が認められた。脾臓では、英動脈周囲のマクロファージ集簇および線維素の析出 (写真 8) が認められた。その他、肝臓における多発性壊死巣、肝臓・腎臓におけるリンパ球集簇などが観察された。無処置対照群にはいずれの臓器にも著変は認められなかった。

考 察

菌株による病原性の相違としては、第一に死亡率が挙げられた。実験 1 における死亡率は、すべての菌株において実験 2 における大腿部筋肉内接種群の死亡率よりも高くなっており、病態もほとんどが敗血症型に一致するものであった。これは、1 日齢雛では免疫状態が不完全⁵⁾で、局所感染を抑えることができず、全身に波及してしまった結果であると考えられた¹³⁾。唯一死亡例が認められなかった KA3-1 株接種群でも、6 例中 2 例で化膿性心膜炎が形成されており、致死性を示さない病原性の弱い株でも全身性の病変を形成する可能性があることが示唆された。実験 2 における大腿部筋肉内接種群の死亡率を菌株により比較すると、ほぼ全羽が死亡する強毒性のも

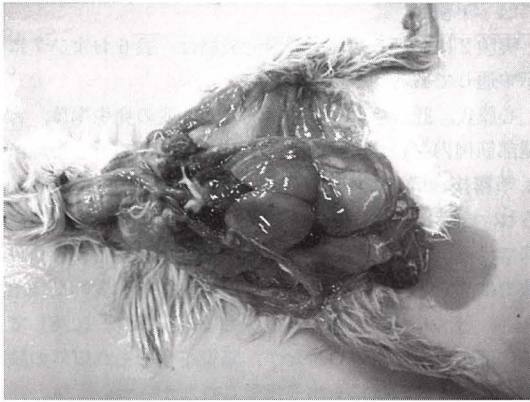


写真 1. 実験 1 の KB12 株接種群, 接種 1 日目死亡雛。肉眼病変は観察されない。

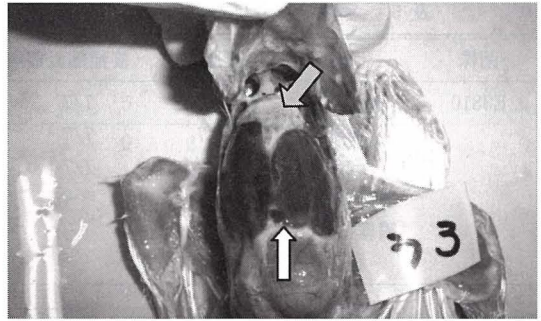


写真 2. 実験 2 の KB4-1 株, 大腿部筋肉内接種群, 接種 5 日目死亡雛。黄色チーズ様滲出物で覆われた心膜炎 (矢印), 肝被膜炎 (矢印) が認められる。

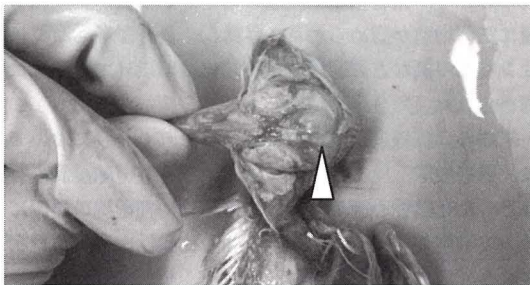


写真 3. 実験 2 の 53A 株, 頭部皮下接種群, 接種 3 日目死亡雛。頭頂部接種部位 (矢頭) から眼球周囲におよぶ黄色チーズ様物が認められる。

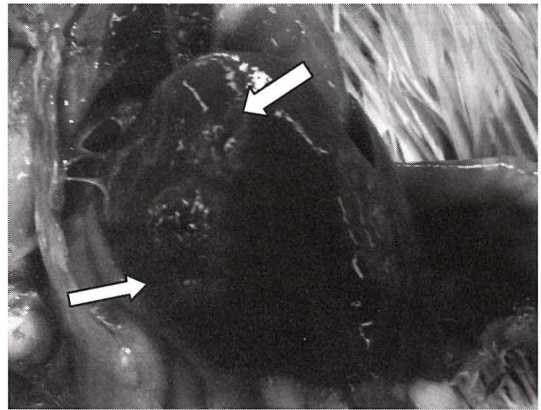


写真 4. 実験 2 の E3810 株, 胸部皮下接種群, 接種 7 日目生残雛。肝臓に散在性の黄白色斑 (矢印) が認められる。

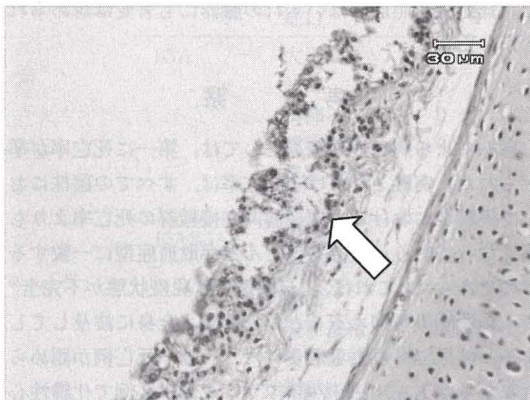


写真 5. 気管, 実験 2 の Da2 株, 噴霧 B 群, 接種 4 日目死亡雛。HE 染色。気管粘膜上皮の構造が乱れ。上皮細胞表面に細菌塊 (矢印) が観察される。

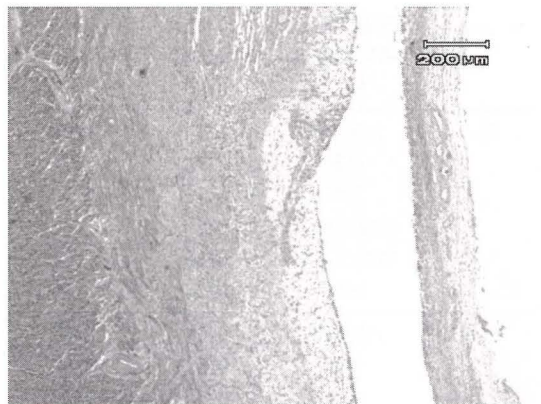


写真 6. 心臓, 実験 2 の Y0451 株, 頭部皮下接種群, 接種 7 日目生残雛。HE 染色。偽好酸球, マクロファージが高度に浸潤し, 心外膜が肥厚している。心嚢にも偽好酸球, マクロファージの顕著な浸潤が認められる。

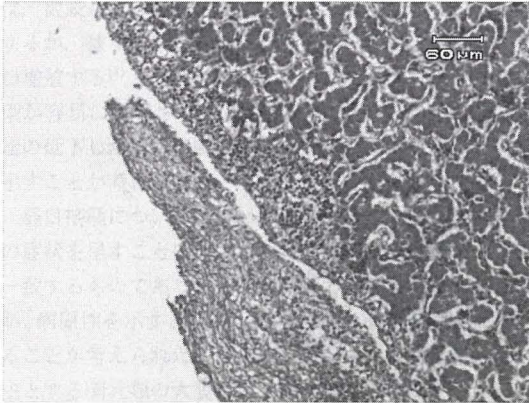


写真 7. 肝臓，実験 2 の KB12 株，胸部皮下接種群，接種 6 日目死亡雛。HE 染色。肝被膜は線維性に肥厚し，被膜下にリンパ球浸潤が認められる。被膜表面には線維素性滲出物がみられる。

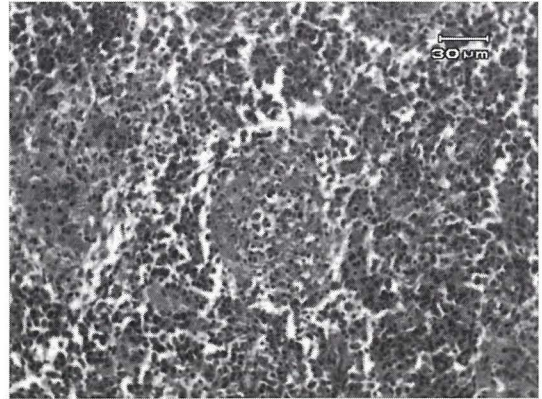


写真 8. 脾臓，実験 2 の KB4-1 株，大腿部筋肉内接種群。接種 5 日目死亡雛。HE 染色。英動脈周囲にはマクロファージの浸潤と線維素析出が認められる。

表 6. 実験 2 における病理組織学的成績 (1)

		心臓	肝臓	脾臓	肺	接種部	
		心膜炎	肝被膜炎			滲出性炎 ^{a)}	肉芽腫
大腿筋	E3810	7/7 ^{b)}	6/7	3/7	2/7	0/7	7/7
	Y0451	8/8	5/8	8/8	1/8	7/8	7/8
	KB4-1	6/6	5/6	6/6	0/6	3/6	6/6
	KB12	6/6	4/6	4/6	2/6	5/6	6/6
	Da2	6/7	1/7	5/7	1/7	3/7	5/7
	53A	4/7	2/7	4/7	2/7	3/7	5/7
	KA3-1	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	6/6
頭部	E3810	4/7	2/7	2/7	1/7	0/7	7/7
	Y0451	6/7	2/6	2/7	0/7	1/7	6/7
	KB4-1	4/6	4/6	5/6	2/6	1/6	6/6
	KB12	5/7	0/7	4/7	2/7	2/7	7/7
	Da2	3/5	1/5	2/5	0/5	0/5	5/5
	53A	7/7	3/7	4/7	2/7	0/7	7/7
	KA3-1	1/5	0/5	0/5	3/5	0/5	5/5
胸部	E3810	4/7	3/7	2/7	2/7	0/7	0/7
	Y0451	5/7	2/7	0/7	2/7	0/7	7/7
	KB4-1	6/7	3/7	5/7	4/7	2/7	7/7
	KB12	3/10	2/10	2/10	2/10	1/10	9/10
	Da2	3/5	0/5	2/5	1/5	2/5	3/5
	53A	3/7	0/7	0/7	1/7	0/7	7/7
	KA3-1	1/5	0/5	0/5	2/5	0/5	5/5

^{a)} 筋肉接種群については筋炎

^{b)} 発症羽数/接種羽数

表 7. 実験 2 における病理組織学的成績 (2)

		心臓	肝臓	脾臓	肺	腸管
		心膜炎	肝被膜炎			
噴霧接種 A	E3810	1/7 ^{a)}	0/7	0/7	4/7	— ^{b)}
	Y0451	2/8	0/8	0/8	4/8	—
	KB4-1	0/6	0/6	0/6	1/6	—
	KB12	0/10	0/10	0/10	6/10	—
	Da2	2/5	2/5	2/5	1/5	—
	53A	0/8	0/8	0/8	5/8	—
	KA3-1	0/4	0/4	0/4	2/4	—
噴霧接種 B	E3810	2/7	0/7	0/7	3/7	—
	Y0451	2/7	3/7	0/7	1/7	—
	KB4-1	1/6	0/6	0/6	2/6	—
	KB12	0/9	0/9	0/9	5/9	—
	Da2	4/5	4/5	2/5	2/5	—
	53A	0/8	0/8	0/8	6/8	—
	KA3-1	0/4	0/4	0/4	4/4	—
経口	E3810	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7
	Y0451	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7
	KB4-1	0/6	0/6	0/6	1/6	0/6
	KB12	0/10	0/10	0/10	4/10	0/10
	Da2	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	53A	0/8	0/8	0/8	2/8	0/8

a) 発症羽数/接種羽数

b) 採材せず

の、1羽も死亡しない弱毒性のもの、その中間の中等毒性があり、菌株により死亡率に相違がみられた。菌の由来が野外の大腸菌症であることを考慮すると、大腸菌症という病態の中でも、単独ではほとんど病変を形成しないような病原性の低い菌株も病変の形成に関与していることが示唆された。しかし、菌株による特定の病型の発現への優位性はなく、菌株による相違は死亡率の相違にとどまった。

菌株による病原性の相違は全身性感染の程度と相関していたが、接種部の蜂窩織炎発生率をみると病原性の弱い株においても高率に発症しており、野外における蜂窩織炎には、敗血症や亜急性漿膜炎型の大腸菌症といった全身性の症状を起こすような特定の菌のみでなく、様々な病原性を持つ菌株が関与していることが示唆された。これにより、蜂窩織炎の予防には皮膚創傷の防御が重要である^{8,22)}ことが再確認された。

接種経路による病原性の相違としては、肉眼所見の漿膜炎および組織所見の心膜炎・肝被膜炎の発生率でみると、おおむね筋肉内接種群が最も高く、次いで皮下接種

群、噴霧接種群の順になる傾向が見られた。これは今回用いた E3810 株に関する報告と同様の結果³⁾を示していた。この傾向は皮下よりも筋肉内の方が毛細血管の分布密度が高いことにより⁷⁾、大量の大腸菌が速やかに血管内に侵入することによるものであると推測された²⁰⁾。

頭部皮下接種群については、眼球周囲まで炎症が広がるものも見られ、頭部創傷からの大腸菌感染による頭部腫脹症候群発症の裏付けとなった^{3,15)}。しかし、頭部皮下接種群における漿膜炎型病変の発生に、胸部皮下接種群と有意な差は認められず、全身性の病型への影響は皮下接種としての影響に留まった^{3,15,18)}。

噴霧接種群については、強毒株および細胞接着性、組織侵入性を持つ Da2 株群が感染し、また心膜炎の発症率は Da2 株が有意に高いことから、病変の形成の有無は菌株の種類に依存するところが大きいと思われた。これは、正常時には呼吸器感染の成立が容易でないことを示すと同時に、特定の株は高率に呼吸器に侵入しやすいことを示している。つまりこれは、病原性因子の大腸菌症発症への影響を裏付けるものである²⁾。ただし成書で

は、健康鶏は呼吸器の上皮細胞の線毛運動で細菌を排除するが、種々の原因で呼吸器上皮が障害されると大腸菌が増殖する¹⁴⁾とされ、呼吸器疾患を持つ鶏では大腸菌感染が容易に誘発されるという報告^{2,16,24)}もあり、免疫機能の低下した鶏では病原性の高くない菌株にも感受性を示すことが考えられた。

経口接種については、いずれの菌株についても全身性の症状を呈すことはなかった。これは過去の報告^{4,9,21)}に一致するものであり、今回の実験では認められなかったが、病原性を示すとしても下痢などの消化管障害に留まることが考えられた。これは、機序として消化管感染を主とする哺乳類の大腸菌症と同じものであると考えられた¹⁷⁾。ただし、消化管における病変形成についても、腸管接着性微絨毛消滅性大腸菌による報告が多いことから^{4,9,21)}、菌株の持つ特性による影響が大きいものと考えられた。また、消化管粘膜が障害されても感染が容易になることから²³⁾、鶏側の要因も大きく関与していると思われる。

今回の実験から、鶏大腸菌症には病原性の低い菌株も関与しており、特に蜂窩織炎ではその傾向が強いといえた。接種経路による病原性の相違としては、頭部皮下接種において頭部腫脹症候群が発症しやすく、噴霧接種については、特定の細菌のみが病変の形成に関与することが推察された。

謝 辞

本研究の一部は、社団法人日本養鶏協会の平成 22 年度の受託研究（肉用鶏慢性疾病対策技術推進事業）として行われた。

文 献

- 1) Barnes, H. J., Vaillancourt, J.P. and Gross, W.B.: Colibacillosis. pp. 631-652. *In*: Diseases of Poultry, 11th ed. (Saif, Y.M. *et al.* eds.) Iowa State Press, Ames, Iowa (2003)
- 2) Brée, A. Dho, M. and Lafont, J.P.: Comparative infectivity for axenic and specific-pathogen-free chickens of O2 *Escherichia coli* strains with or without virulence factors. *Avian Dis.* 33, 134-139 (1989)
- 3) 藤井悦子, 御領政信, 岡田幸助: 頭部腫脹症候群 (SHS) 鶏から分離された大腸菌の接種経路の相違による鶏ひなに対する病原性. *鶏病研報* 35, 81-88 (1999)
- 4) Fukui, H. *et al.*: Natural infection with attaching and effacing *Escherichia coli* (O103:H) in Chicks. *Avian*

- Dis.* 39, 912-918 (1995)
- 5) Gerlach, H.: Chapter 5 Defense mechanisms of the avian host. pp. 110-120. *In*: Avian Medicine, Branson W.R. Wingers Publ. USA (1994)
- 6) 橋本和典: 鶏の大腸菌症. *鶏病研報* 8, 13-20 (1972)
- 7) 唐木英明: 薬理作用. pp. 5-18. *In*: 新獣医薬理学, 第 2 版, 近代出版, 東京 (2006)
- 8) 鶏病研究会: プロイラーの蜂窩織炎. *鶏病研報* 42, 15-24 (2006)
- 9) 小島浩一ら: 愛玩鶏にみられた腸管接着性微絨毛消滅性大腸菌 (AEEC) の自然感染例. *鶏病研報* 44, 118-123 (2008)
- 10) 厚生労働省医薬食品局監視安全課: 平成 20 年度食鳥検査結果. *鶏病研報* 46, 125-126 (2010)
- 11) 松野純子ら: プロイラー淘汰鶏における脊椎椎体膿瘍. *岩獣会報* 34, 133-138 (2008)
- 12) 村瀬敏之: 採卵用成鶏における大腸菌症. *鶏病研報* 45, 147-155 (2009)
- 13) 中村菊保: 鶏の大腸菌症の発病機序. *日獣会誌* 48, 633-639 (1995)
- 14) 中村菊保: 大腸菌症. pp. 70-73. *In*: カラーマニュアル鶏の病気, 第 1 版, 鶏病研究会, 東京 (1995)
- 15) Nakamura, K. *et al.*: Attempts to reproduce swollen head syndrome in specific pathogen-free chickens by inoculating with *Escherichia coli* and/or turkey rhinotracheitis virus. *Avian Pathol.* 27, 21-27 (1998)
- 16) Nakamura, K. *et al.*: Effect of mixed live vaccine (Newcastle disease and infectious bronchitis) and *Mycoplasma gallisepticum* on the chicken respiratory tract and on *Escherichia coli* infection. *J. Comp. Pathol.* 111, 33-42 (1994)
- 17) 中澤宗生: 大腸菌. pp. 3. *In*: 獣医感染症カラーアトラス, 第 2 版, 文永堂, 東京 (2006)
- 18) Peighambari, S.M. *et al.*: Characteristics of *Escherichia coli* isolates from avian cellulitis. *Avian Dis.* 39, 116-124 (1995)
- 19) 関崎 勉: 鶏の大腸菌症. pp. 9. *In*: 獣医感染症カラーアトラス, 第 2 版, 文永堂, 東京 (2006)
- 20) 清水祥子ら: 鶏における蜂窩織炎の実験的作出. *鶏病研報* 47, 20-26 (2011)
- 21) Sueyoshi, M. and Nakazawa, M.: Experimental infection of young chicks with attaching and effacing *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 62, 4066-4071 (1994)
- 22) Vaillancourt, J.P. and Barnes, H.J.: Coliform Cellulitis. pp. 652-656. *In*: Diseases of Poultry, 11th ed. (Saif, Y.M. *et al.* eds.), Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa (2003)
- 23) Wada, Y. *et al.*: Natural infection with attaching and effacing *Escherichia coli* and adenovirus in the intestine of a pigeon with diarrhea. *J. Vet. Med. Sci.* 57, 531-533 (1995)
- 24) Yerushalmi, Z. *et al.*: Adherence pili of avian strains of *Escherichia coli* O78. *Infect. Immun.* 58, 1129-1131 (1990)

Pathological Study of Colibacillosis in Chickens Infected with Recent
E. coli Isolates via Various Infection Routes

Ryosaku Yamaguchi, Jun Sasaki, Konomi Kuramochi,
Takeshi Kawasaki¹⁾ and Masanobu Goryo[†]

Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Iwate University,
Ueda 3-18-8, Morioka-shi, Iwate 020-8550

¹⁾ Laboratory of Health of Human and Bird.
Masu-ura 2-7-1, Abashiri-shi, Hokkaido 099-3119

Summary

To clarify the pathology of colibacillosis in chickens, chicks were experimentally inoculated with recent *Escherichia coli* (*E. coli*) isolates from chickens with colibacillosis via various routes. Bacterial suspension (10^8 CFU/0.1 ml/chick) of seven *E. coli* strains (E3810, Y0451, KB4-1, KB12, Da 2, 53A, and KA3-1) were used as inocula. Seven groups of day-old P2 line chicks were intramuscularly inoculated with each strain. Three-week-old chicks were divided into seven groups per strain based on the inoculation route: intramuscularly at the femoral area (IM group), subcutaneously at the head (head SC group) or breast region (breast SC group), two kinds of aerosol administration (aero A and B group), oral inoculation (PO group), and untreated control. All one-day-old chicks died except the KA31 strain inoculation group, most of which exhibited acute septicemia without macroscopic lesions. In three-week-old chicks, the onset time of clinical signs, peak of death, mortality, and severity of lesions varied depending on the strain. Many of the dead chicks exhibited subacute serositis. When compared based on inoculation route, mortality was higher in the IM and SC groups, and for the frequency of systemic lesions, such as pericarditis or hepatic capsulitis. Cellulitis at the inoculation site developed at a high rate even with the less virulent strain; this result suggested that various strains of virulence might be involved in field cases of cellulitis. In the head SC group, swelling was frequently observed around the eyelid, and it was reconfirmed that the swollen head syndrome might be caused by *E. coli* infection from head injury. In the aero A and B groups, only chicks administered the Da2 strain, which has been found to have a cellular adhesion property, died; disruption of the structure of the bronchial mucosal epithelium and bacterial clumps in the lamina propria were observed histologically in one case. These results suggest that infection with inhaled *E. coli* may not be established easily, and is caused by only specific strains with cellular adhesion or tissue invasion. Reinvestigation of the respiratory system, recognized as a common infection route of colibacillosis in chickens, may be necessary.

(J. Jpn. Soc. Poult. Dis., 47, 167-176, 2011)

Key words : colibacillosis, *E. coli*, experimental infection, inoculation route, serositis