

## 実験的鶏大腸菌症の慢性化病変

黒田雄介・佐々木 淳・倉持 好・川崎武志<sup>1)</sup>・御領政信<sup>†</sup>

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

<sup>1)</sup>人と鳥の健康研究所, 〒099-3119 北海道網走市鱒浦 2-7-1

### 要 約

ブロイラーに好発する鶏大腸菌症の慢性化病変についての理解を深めるために、実験的に鶏大腸菌症を作出し、これら病変の経時的変化について病理学的に検索した。供試鶏にはLine-M系白色レグホン種、供試細菌として鶏大腸菌症の野外症例由来の大腸菌株(Y0451株, KB4-1株, Da2株)を使用した。実験1では28日齢および35日齢雛にY0451株を臀部皮膚に搔傷感染させ、実験2ではKB4-1株、実験3ではDa2株をそれぞれ28日齢雛の大腿部に筋肉内接種した。死亡鶏は随時、生残鶏は接種5週後まで1週毎に一定羽数ずつ剖検、諸臓器の病理組織学的検索を行った。また、生残鶏では剖検時に心臓および接種部位からの大腸菌の再分離も試みた。

漿膜炎について、死亡鶏では全ての実験群で主に重度の線維素化膿性ないし化膿性肉芽腫性心膜炎が認められ、肝被膜炎、気嚢炎、腹膜炎などを伴うものが多かった。生残鶏では、接種後1週で心膜炎の発生が認められ、その多くは中等度の線維素化膿性心膜炎を示していた。接種後2週では線維素や壊死組織の肉芽腫による吸収を示す中程度の炎症反応がみられ、病変は慢性化していた。接種後3週から4週では病変は消退し、軽度の心膜炎が多くなり、接種後5週では漿膜炎は認められなかった。接種部位の蜂窩織炎は死亡鶏および生残鶏のほとんどで認められ、接種後3週ないし4週以降では、肉眼的および病理組織学的にも壊死組織は縮小し、軽度の病変を示すものが多くなった。

キーワード：ブロイラー、蜂窩織炎、慢性化病変、鶏大腸菌症、接種実験

### 緒 言

鶏大腸菌症は鶏病原性大腸菌 (*avian pathogenic Escherichia coli*) によって引き起こされる。本症は出荷直前の6週齢以降のブロイラーに好発し<sup>7,8)</sup>、経済的損失が重大な問題となっている。

鶏大腸菌症の病型は、主として全身感染症と局所感染症に分けられる<sup>1)</sup>。全身感染症は急性敗血症型、亜急性漿膜炎型および慢性肉芽腫症型に大別できる。敗血症に陥ると高い死亡率を示し、経済的損失も大きい。局所感染症には、蜂窩織炎<sup>5)</sup>や頭部腫脹症候群などが含まれる。食鳥処理検査の際に発見される病型としては、亜急性漿膜炎や蜂窩織炎が多く、全部廃棄の原因として扱われている<sup>6)</sup>。

鶏大腸菌症に関与する大腸菌株の病原性は多様であり、接種経路や接種日齢などによっても発生する病型に

相違が認められることが多い<sup>3,4,11,14)</sup>。鶏病原性大腸菌の実験的感染により漿膜炎や蜂窩織炎などの鶏大腸菌症を作出し、その病変を検索した報告は、今までいくつかなされているが<sup>2,9,12,15)</sup>、これらの病変を発現から長期間経時的に観察した報告は少なく<sup>11)</sup>、病変が慢性化し、やがて消退してゆく状態はあまり知られていない。そこで今回、鶏大腸菌症の慢性化病変の理解を深めるため、病原性の異なる3つの大腸菌株を用いて鶏大腸菌症を実験的に作出し、発現した肉眼的、病理組織学的病変の経時的検索を行った。また、接種部位や心臓などの病変から鶏大腸菌の分離をおこなった。

### 材 料 と 方 法

#### 1. 供試動物

岩手大学農学部獣医病理学研究室で維持しているLine-M系白色レグホン種由来の有精卵を孵化し、飼育・育成した雛を用いた。

#### 2. 供試細菌

鶏大腸菌症野外症例より分離されたY0451株<sup>13)</sup>(蜂

2012年5月18日受付

<sup>†</sup>連絡責任者：御領政信

鶏病研報 49巻1号, 40~49 (2013)

表 1. 実験設定

	供試鶏	接種方法	菌株	接種菌量
実験 1	28 日齢 (52 羽)	右側臀部	Y0451 株	菌懸濁液 0.1ml
	35 日齢 (43 羽)	皮膚搔傷部接種		
実験 2	28 日齢 (37 羽)	両側大腿部	KB4-1 株	菌懸濁液 0.2ml (右 0.1ml, 左 0.1ml)
		筋肉内接種		
実験 3	28 日齢 (32 羽)	右側大腿部	Da2 株	菌懸濁液 0.1ml
		筋肉内接種		
対照	63 日齢 (5 羽)	無処置		

窩織炎由来, 血清型 O161), KB4-1 株<sup>14)</sup>(漿膜炎由来, 血清型分類不能) および Da2 株<sup>14)</sup>(気嚢炎由来, 血清型 O78) の 3 株 (人と鳥の健康研究所, 川崎武志氏より分与) を用いた。

凍結保存された菌株を解凍後, 乾燥ブイヨン培地にて 37°C, 36 時間培養し, およそ  $10^8$  CFU/0.1 ml の大腸菌懸濁液を接種菌液として使用した。

### 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 1 に示す通りである。実験 1 では, 接種直前に 28 日齢および 35 日齢雛の右側臀部周囲皮膚の羽を抜き, 18 ゲージの注射針で 3 cm 程度の 3 本の直線状搔傷を人工的に作出し, そこに Y0451 株の菌懸濁液を 0.1 ml 塗布した。実験 2 では, 28 日齢雛の両側大腿部筋肉内に KB4-1 株の菌懸濁液を左右それぞれ 0.1 ml ずつ, 合計 0.2 ml 接種した。実験 3 では, 28 日齢雛の右側大腿部に Da2 株の菌懸濁液を 0.1 ml 筋肉内接種した。全ての実験において観察期間は 5 週間とし, その間に死亡したものについては随時, 生残鶏は接種後 1 週, 2 週, 3 週, 4 週および 5 週に各接種群から一定羽数を無作為に選出し, 検査に供した。剖検時, 肉眼病変の観察とともに心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 心臓, 肺, 胸腺, ファブリキウス囊および接種部位である右側臀部あるいは大腿部の皮膚・筋肉を採材した。また, 対照として無処置の 63 日齢の鶏を剖検し, 上記の組織あるいは臓器を採材した。

### 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, 薄切標本作製, ハマトキシリン・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。

### 5. 細菌学的検索

実験 1, 2 および 3 の生残鶏の剖検時 (実験 1 は一部

の鶏) に, 心臓および接種部位の皮下組織 (搔傷部接種鶏) もしくは筋肉 (筋肉内接種鶏) から雑菌の混入を配慮しながら接種菌を分離した。心臓では心外膜面を, 接種部位はミクロトームブレードで無菌的に切断した断面を, それぞれ DHL 寒天培地上に直接スタンプし, 37°C, 24 時間好気培養した。培養後形成されたコロニーの数を心臓および接種部位についてそれぞれ 4 段階 (-, 0-5 個; +, 5-30 個; ++, 30-100 個; +++, 100 個以上) で評価した (写真 1)。また, 同様の分離操作を対照鶏の剖検時にも心臓および右側臀部皮膚および大腿部皮下組織について行った。

## 成 績

### 1. 肉眼病変

#### 1) 漿膜炎

実験 1, 2 および 3 の剖検時に認められた死亡鶏および生残鶏における心膜炎の発現を表 2 に示している。実験 1 では接種後 1 週以内に 17/95 羽, 接種後 10 日目に 1/95 羽が死亡した。死亡鶏では心膜炎の発生が高率に認められ, その多くで心膜全体が黄白色滲出物によって肥厚していた (写真 2)。生残鶏の一部には接種後 4 週目まで心膜炎がみられた。接種後 1 および 2 週の生残鶏に認められた心膜炎は, 心膜における黄白色滲出物が著明であった。接種後 3 および 4 週では, 軽度の心膜炎の肥厚および白濁が認められた。また, 死亡鶏および接種後 1 週および 2 週の生残鶏で心膜炎が認められた鶏では, 肝被膜炎, 気嚢炎および腹膜炎なども併発していた。

実験 2 および 3 でも接種 1 週以内に死亡鶏が認められた (実験 2: 6/37 羽, 実験 3: 1/32 羽)。実験 2 の死亡鶏で認められた心膜炎はほとんどが, 心膜の黄白色滲出物, 白濁, 肥厚, 病変範囲の程度が重度, 実験 3 では中程度であった。これらの群では生残鶏においても心膜炎が死亡鶏と比較して低頻度に認められたが, 両群とも死

表 2. 実験 1, 2 および 3 における剖検時の心膜炎の発生状況

	接種時日齢	死亡鶏	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週
実験 1	28 日齢 (52 羽)	12/13 <sup>a)</sup>	1/8	1/8	0/8	1/8	0/7
	35 日齢 (43 羽)	5/5	0/8	0/8	1/8	1/7	0/7
	計 (95 羽)	17/18	1/16	1/16	1/16	2/15	0/14
実験 2	28 日齢 (37 羽)	4/6	1/6	3/6	4/6	1/6	0/7
実験 3	28 日齢 (32 羽)	1/1	3/6	0/6	0/6	0/6	0/7

<sup>a)</sup> 病変陽性羽数 / 総検査羽数

表 3. 実験 1, 2 および 3 における剖検時の蜂窩織炎および筋炎の発生状況

	接種時日齢	死亡鶏	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週
実験 1	28 日齢 (52 羽)	13/13 <sup>a)</sup>	7/8	8/8	7/8	8/8	5/7
	35 日齢 (43 羽)	5/5	8/8	7/8	7/8	6/7	4/7
	計 (95 羽)	18/18	15/16	15/16	14/16	14/15	9/14
実験 2	28 日齢 (37 羽)	6/6	6/6	6/6	6/6	5/6	7/7
実験 3	28 日齢 (32 羽)	1/1	6/6	5/6	5/6	2/6	4/7

<sup>a)</sup> 病変陽性羽数 / 総検査羽数

亡鶏のものと比較して軽度であり、心膜は部分的に黄色滲出物がみられ軽度に肥厚、白濁していた。対照群には漿膜炎は認められなかった。

## 2) 蜂窩織炎

実験 1, 2, および 3 の死亡鶏および生残鶏において、剖検時に認められた蜂窩織炎の発現について表 3 に示している。また、生残鶏の接種部位における蜂窩織炎の肉眼病変を病変の範囲と浸潤程度により 4 段階(病変なし: -, 軽度 [直径 1cm 未満]: +, 中等度 [直径 1cm 以上から直径約 3cm 未満]: ++, 重度 [直径約 3cm 以上]: +++) で評価し、図 1, 2 および 3 に示した (図 1~3)。対照群では全羽で著変は認められなかった。

蜂窩織炎は死亡鶏の全羽で認められ、ほとんどが重度であり、接種部位を超えた広範な領域に黄色チーズ様凝固物が認められるものもあった。生残鶏では、いずれの実験群でも接種後 1 週ないし 2 週にかけての病変は中等度のもが多く、それ以降では病変は軽度となり、肉眼的に著変の認められない個体も増える傾向にあった。

主に接種後 1 週に認められた蜂窩織炎では、搔傷部の皮下組織に不整形な黄色チーズ様凝固物が認められた (写真 3a)。この凝固物は接種後 2 週以降では周囲を被包化され、形状は丸みを持っていた (写真 3b)。軽度の

蜂窩織炎では、少量の黄色チーズ様凝固物が認められるだけであった (写真 3c)。

## 2. 病理組織学的検索

### 1) 漿膜炎

実験 1, 2, および 3 の生残鶏および死亡鶏の病理組織学的検索により、漿膜炎が認められた個体について、心膜炎の組織学的所見 (線維素の析出および肉芽腫の形成) および肝被膜炎の発現について表 4 に示している。

死亡鶏で高率に認められた重度の心膜炎では、細菌塊、偽好酸球、マクロファージおよびリンパ球の浸潤や炎症性水腫が心膜と心外膜全体に広がり、線維素の析出と好酸性退廃物の集積が炎症領域で広範に認められ (写真 4)、心膜と心外膜の癒着も生じていた。好酸性退廃物の周囲には類上皮細胞や多核巨細胞が浸潤し、肉芽腫を形成する像が多くの個体で認められた。

接種後 1 週では、病理組織学的に中等度の心膜炎が認められるものが多かった。この心膜炎は線維素化膿性炎の像を示し、線維素の析出が心膜および心外膜の中皮細胞下の結合組織内や心膜腔内に認められ、主に偽好酸球、マクロファージおよびリンパ球が浸潤していた。これら心膜炎では、析出した線維素の量は死亡鶏の心膜炎に比べ少なく、好酸性退廃物の集積や肉芽腫の形成は認めら

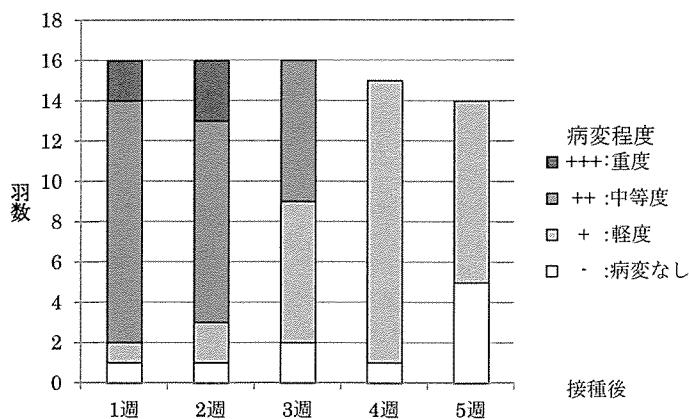


図 1. 実験 1 における生残鶏の蜂窩織炎の病変程度

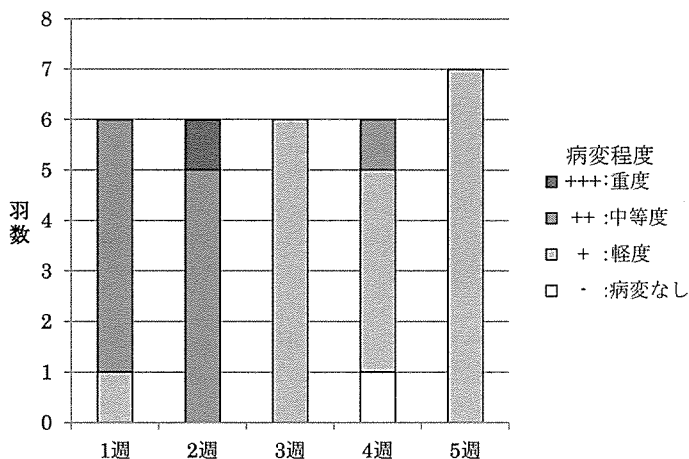


図 2. 実験 2 における生残鶏の蜂窩織炎の病変程度

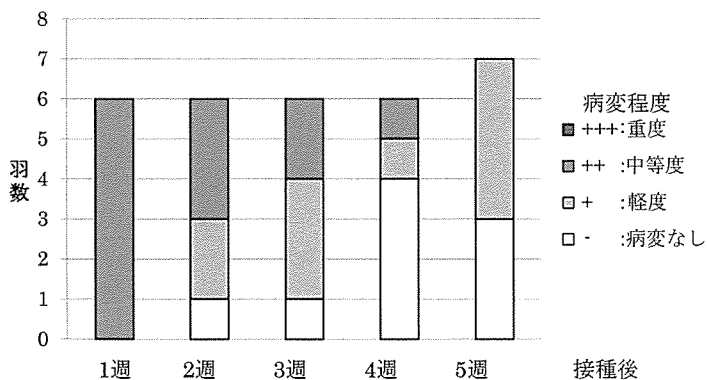


図 3. 実験 3 における生残鶏の蜂窩織炎の病変程度

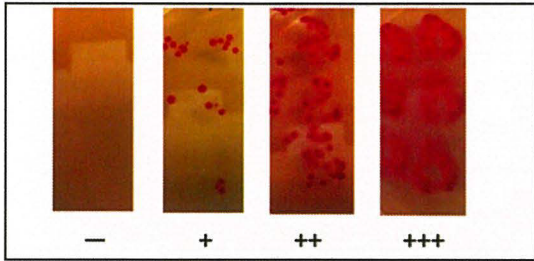


写真 1. 大腸菌再分離結果におけるコロニー数の評価基準。—, 0~5個; +, 5~30個; ++, 30~100個; +++, 100個以上

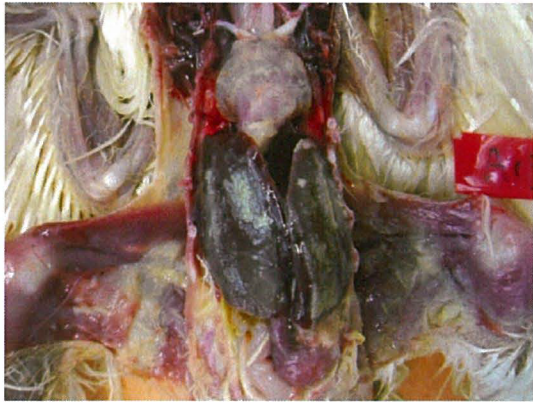


写真 2. 実験1の死亡鶏, 接種後6日目に死亡。心膜炎, 肝被膜炎および大腿部の蜂窩織炎が認められる。各部の漿膜は黄白色滲出物によって肥厚している。

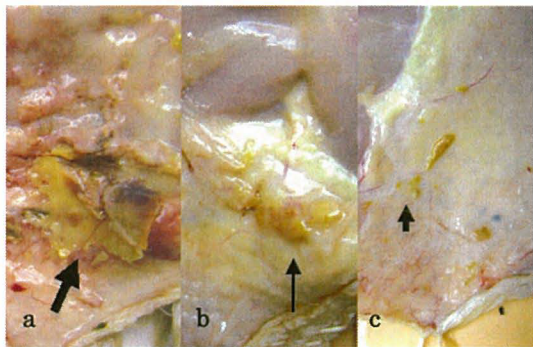


写真 3. 実験1の生残鶏 (35日齢時接種鶏) の接種部位における蜂窩織炎の肉眼所見。a: 接種後1週, 中等度の蜂窩織炎, 不整形の黄色チーズ様凝固物 (太矢印) が皮下組織にみられる。b: 接種後2週, 中等度の蜂窩織炎, 黄色チーズ様凝固物は被包化され (細矢印), 形状も丸みを帯びている。c: 接種後3週, 軽度の蜂窩織炎, 少量の黄色チーズ様凝固物 (小矢印) が認められる。

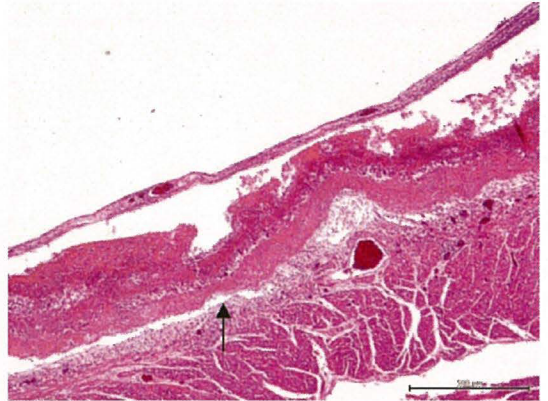


写真 4. 実験1における死亡鶏 (接種後3日に死亡, 28日齢時接種鶏) の心臓 (バー 500  $\mu$ m)。好酸性退廃物 (矢印) の心膜腔内への集積を伴った重度の炎症反応が認められる。



写真 5. 実験2の接種後2週の生残鶏の心膜 (バー 200  $\mu$ m)。心膜内における肉芽腫の形成。壊死組織 (矢印) の周囲を類上皮細胞や多核巨細胞が覆っている。

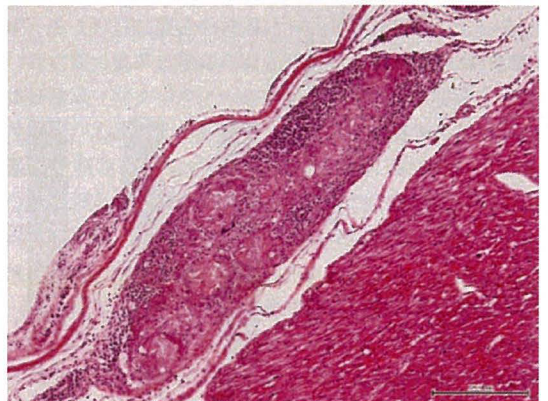


写真 6. 実験2の接種3週後の生残鶏の心臓 (バー 200  $\mu$ m)。肉芽腫の形成が認められる。肉芽腫の中心部では多核巨細胞の集簇が認められ, その周囲ではリンパ球の浸潤が著明である。

表 4. 実験 1, 2 および 3 の漿膜炎が認められた個体における心膜炎の病理組織学的成績  
(線維素の析出および肉芽腫の形成) および肝被膜炎の発現羽数

		病変	死亡鶏	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週
実験 1	程度 <sup>a)</sup>	+	1/17 <sup>b)</sup>	1/3	0/1	1/1	2/2	— <sup>c)</sup>
		++	2/17	1/3	1/1	0/1	0/2	—
		+++	14/17	1/3	0/1	0/1	0/2	—
	線維素の析出		17/17	2/3	0/1	0/1	0/2	—
	肉芽腫の形成		12/17	1/3	1/1	0/1	0/2	—
	肝被膜炎		13/17	2/3	1/1	0/1	0/2	—
実験 2	程度	+	1/4	0/2	0/3	2/3	1/1	—
		++	0/4	1/2	3/3	2/3	0/1	—
		+++	3/4	1/2	0/3	0/3	0/1	—
	線維素の析出		4/4	1/2	1/3	0/4	0/1	—
	肉芽腫の形成		1/4	0/2	3/3	2/4	0/1	—
	肝被膜炎		3/4	0/2	0/3	0/4	0/1	—
実験 3	程度	+	0/1	0/3	—	—	—	—
		++	1/1	3/3	—	—	—	—
		+++	0/1	0/3	—	—	—	—
	線維素の析出		1/1	3/3	—	—	—	—
	肉芽腫の形成		0/1	0/3	—	—	—	—
	肝被膜炎		0/1	0/3	—	—	—	—

<sup>a)</sup> 偽好酸球, マクロファージ, リンパ球, 形質細胞の浸潤状況により判定

<sup>b)</sup> 病変陽性羽数 / 漿膜炎が認められた個体数

<sup>c)</sup> 漿膜炎の発現が認められず

れなかった。また、心膜における偽好酸球の浸潤を主体とし、線維素の析出を伴わない軽度の心膜炎が認められる個体も実験 1 では 1 羽に認められた。

接種後 2 週以降の生残鶏では実験 1 および 2 において心膜炎が認められた。接種後 2 週では、心膜や心外膜に肉芽腫の形成を伴った中等度の炎症反応が認められた。これらは死亡鶏に認められた肉芽腫性病変よりも小さく、類上皮細胞や多核巨細胞による中心部の壊死組織の吸収が進んでいた (写真 5)。

接種後 3 週の子残鶏では、軽度もしくは中等度の心膜炎が認められた。炎症反応はリンパ濾胞形成を伴ったリンパ球および形質細胞浸潤が主体であり、中等度の炎症反応を伴ったものでは心膜や心外膜に肉芽腫の形成も認められた (写真 6)。接種後 3 週では線維素の析出はいずれの心膜炎にも認められなかった。接種後 4 週では心

膜や心外膜においてリンパ球および形質細胞を主体とした軽度の炎症細胞浸潤が認められ、炎症部位では局所的に心膜と心外膜が癒着している部分もあった。接種後 5 週では心膜炎の発生はどの実験群でも認められなかった。

心膜炎が認められた個体では、特に死亡鶏で高率に肝被膜炎が併発していた。病理組織学的には心膜炎と同様に線維素化膿性炎の像を示し、好酸性退廃物の集積や肉芽腫の形成が認められるものも多かった。

## 2) 蜂窩織炎および筋炎

死亡鶏における接種部位の蜂窩織炎は、実験 1 では皮下組織に、筋炎は実験 2 および 3 では筋肉内に偽好酸球およびマクロファージを主体とした炎症細胞の浸潤としてみられ、細菌塊を伴った好酸性壊死組織も広範に認められた。肉芽腫は接種後 2 日以内に死亡した鶏では認め

表 5. 接種部位および心臓における大腸菌の再分離成績

部位	実験 No.	コロニー量 <sup>a)</sup>	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週
接種部位	実験 1	—	1/10 <sup>b)</sup>	4/10	4/10	7/10	6/10
		+	2/10	2/10	1/10	1/10	0/10
		++	3/10	3/10	1/10	1/10	4/10
		+++	4/10	1/10	4/10	1/10	0/10
	実験 2	—	4/6	3/6	5/6	5/6	6/7
		+	2/6	2/6	0/6	1/6	1/7
		++	0/6	1/6	1/6	0/6	0/7
		+++	0/6	0/6	0/6	0/6	0/7
	実験 3	—	4/6	3/6	3/6	5/6	4/7
		+	1/6	3/6	3/6	1/6	3/7
		++	1/6	0/6	0/6	0/6	0/7
		+++	0/6	0/6	0/6	0/6	0/7
心臓	実験 1	—	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
		+	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	実験 2	—	6/6	6/6	6/6	6/6	7/7
		+	0/6	0/6	0/6	0/6	0/7
	実験 3	—	5/6	6/6	6/6	6/6	7/7
		+	1/6	0/6	0/6	0/6	0/7

<sup>a)</sup> 再分離されたコロニー量：—, 0~5 個；+, 5~30 個；++, 30~100 個；+++, 100 個以上

<sup>b)</sup> 各評価の該当羽数 / 総検査羽数

られず、それ以降に死亡した鶏の蜂窩織炎で、壊死組織周囲に類上皮細胞や多核巨細胞の浸潤がみられた。また、炎症部付近の筋組織における筋線維の変性・壊死や実験 1 の搔傷部皮膚における痂皮の形成も認められた。

接種後 1 週では各実験を通して、肉眼的に中等度の蜂窩織炎が主に多かったが、これらの病変は病理組織学的に化膿性肉芽腫性炎であり、好酸性壊死組織周囲に類上皮細胞および多核巨細胞の浸潤が認められ、さらにその周囲には線維芽細胞の増生や偽好酸球およびリンパ球の浸潤が認められた。また、壊死組織内には細菌塊が存在していた。

接種後 2 週以降では、接種後 1 週と比較して肉芽腫による壊死組織の吸収が進み、線維組織による被包化やリンパ濾胞形成を伴ったリンパ球の浸潤が著明となり、経過が長くなるほど病変は縮小する傾向にあった。肉眼的に軽度な蜂窩織炎では、比較的小型で、著明な壊死組織の吸収像を示す、慢性化した肉芽腫病変が認められた。

壊死組織中の細菌塊は、実験 2 および 3 では接種後 2 週まで、実験 1 では接種後 3 週まで散見され、特に肉眼的に中等度の蜂窩織炎が認められた個体において多かった。

### 3. 細菌学的検索

接種部位および心臓からの大腸菌の再分離成績を表 5 に示している。接種部位からの菌分離が+以上のものは、実験 1 の接種後 1 週では 9/10 羽、接種後 2 週および 3 週では 6/10 羽であったが、接種後 4 週では 3/10 羽、接種後 5 週では 4/10 羽であった。実験 2 および実験 3 では、接種後 1 週に菌分離+または++がそれぞれ 2/6 羽に認められ、全体を通して分離 ++ および +++ はほとんど認められなかった。

心臓からの再分離成績は、実験 3 の接種後 1 週の生残鶏 1 羽の心膜炎から菌分離+が認められたのみで、それ以外では全て—であった。対照鶏群では心臓および皮下組織のいずれからも菌分離は認められなかった。

## 考 察

今回我々は、実験的な鶏大腸菌症の慢性化病変の作出と検索を目的として病原性の異なる3つの大腸菌分離株を用いて感染実験を行った。Y0451 株菌液を皮膚搔傷部に塗布接種した実験1では、接種日齢に関わらず接種後早期に死亡する鶏が多く、死亡鶏のいずれにおいても線維素の析出、肉芽腫の形成を伴う重度の線維素化膿性心膜炎を発症しており、肝被膜炎の併発も高率に認められた。Y0451 株は山口の実験<sup>4)</sup>でも使用されており、高い病原性を持つことが示唆されている。病原性の高い大腸菌株を塗布接種された場合、感受性のある個体では早期に亜急性漿膜炎を発現し、それが重症化し死亡することが予測される。生残鶏での心膜炎の発現率が低かったのはこのためであると思われる。一方、KB4-1 株を両側の大腿部筋肉内に接種した実験2では、生残鶏において接種後4週まで心膜炎が見られた。また、Da2 株を同筋肉内に接種した実験3では、生残鶏に肉眼的に心膜炎が見られたのは接種後1週までであった。低率な心膜炎の発現率は接種菌株の病原性や接種菌量、接種された個体の抵抗性などに起因すると思われる。今回の実験条件の範囲では、漿膜炎の慢性化病変を観察するためには、KB4-1 株の両側大腿筋肉内接種が最も適切であることが示唆された。しかし、接種部位の蜂窩織炎は各実験群で5週後まで病変が認められていることから、蜂窩織炎の慢性化病変の作出に関しては当てはまらないと思われる。

今回の3つの実験の死亡鶏で認められた心膜炎は、肉眼的には黄白色滲出物による心膜の著明な肥厚であり、病理組織学的には、線維素の析出を伴った病変は22/22羽(100%)で、好酸性退廃物を囲む肉芽腫が形成された病変は13/22羽(約59%)で、肝被膜炎の併発は16/22羽(約73%)で認められ、従来報告されている亜急性漿膜炎型<sup>7)</sup>における発現とほぼ一致するものであった。接種後早期に死亡した鶏には心膜炎が認められず、大腸菌の全身感染による急性敗血症が死因であると考えられ、心膜炎は全身感染を耐過し、それに続いて発生した亜急性漿膜炎であると考えられる<sup>8-10)</sup>。

接種後1週を生残鶏では、心膜炎は死亡鶏におけるものと比較して肉眼的に黄白色滲出物が少なく、心膜の軽度肥厚が認められた。病理組織学的には、線維素の析出を伴った病変は5/7羽(71%)に認められ、肉芽腫の形成および肝被膜炎の発現はそれぞれ1/7羽(14%)であった。これらのことから、接種後1週を生残鶏の心膜炎は、病変の程度は軽度から重度のものまで幅はあったが、中

程度の線維素化膿性炎を示すものが多く、死亡鶏に比べ軽度で、炎症細胞浸潤や線維素の析出があっても壊死退廃物の集積は少なく、肉芽腫の形成は目立たないことが特徴であると考えられる。このため、これらの個体は心膜炎が発生しても死に至らなかったと推察され、その後病変は慢性化し消退してゆくことが示唆された。実験2の心膜炎は組織所見から、接種後2週以降では慢性化した肉芽腫病変が主体となっており、その多くは接種後1週以降に形成されたものと思われる。接種後3週もしくは4週での心膜炎は軽度の慢性炎症反応がほとんどであり、接種後5週までには心膜炎は完全に消退したものと思われる。これらの生残鶏における心膜炎の残存期間は、発現した病変の程度によって異なるものと考えられた。

中村の実験<sup>5)</sup>の大腸菌接種鶏における漿膜炎の検索では、初期には線維素の滲出を伴った偽好酸球の浸潤がみられ、その後は肉芽腫性病巣が時として観察されている。これは接種後5日以内で認められた変化であり、今回の実験の死亡鶏に認められた漿膜炎の病態に近いと考えられる。

蜂窩織炎の肉眼的検索では、接種後1週のほとんどの生残鶏において皮下組織もしくは筋肉内にチーズ様凝固物が認められ、病理組織学的には壊死組織を囲む肉芽腫の形成を伴う化膿性皮下織炎もしくは筋炎を示していた。接種後2週にはチーズ様凝固物はその周囲を結合組織によって被包化され、実験2および3の接種後3週、実験1では接種後4週には病変は軽度となることが多く、少量のチーズ様凝固物が認められるのみとなった。病理組織学的には、これら軽度の蜂窩織炎では壊死組織の吸収が進んだ慢性期の肉芽腫性病変が認められ、病変は消退に向かっていることがうかがえた。今回の実験では、壊死組織の程度にもよるが、発生した蜂窩織炎の多くが接種後3週もしくは4週には消退に向かったと考えられる。

心臓からの大腸菌再分離は、1羽を除きすべて陰性であった。肉眼的に正常な心臓もしくは生残鶏に認められたような軽度から中等度の心膜炎を示す心臓の心外膜面には大腸菌はほとんど存在しないことが示唆された。しかし、病変内部に大腸菌が存在する可能性は十分にあると考えられる。

接種部位からの大腸菌の再分離について、実験1の搔傷感染により作出された皮下組織病変からの菌分離では、接種後1週では9/10羽で大腸菌コロニーの形成が認められた。大腸菌が再分離されなかった個体では、接種部位の蜂窩織炎の発症が認められなかった。皮膚における搔傷が浅く、塗布した大腸菌の感染が成立しなかつ



たことが考えられる。接種後2週から3週では中等度から軽度の病変が大半を占め、菌分離陰性はどちらの週も4/10羽であった。病変が軽度か認められない個体のみであった4週以降では菌分離陰性がさらに増加した。組織学的にも実験1では接種後3週までは病変部に細菌塊が認められたが、接種後4週以降ではみられなくなった。これらのことから病変の重症度と病変部からの大腸菌の再分離率は相関しており、病変の消退とともに接種部位における大腸菌数も減少していると考えられる。しかし、接種後5週でも4/10の鶏では大腸菌が再分離されたことから、大腸菌は接種部位では長期間残存する場合もあることが示唆された。筋肉内接種を行った実験2および3では、実験1と比べ病変程度が軽度で、全体的に大腸菌の再分離陽性羽数は少なかったが、接種後5週まで少数ながら分離陽性が認められた。病変部における大腸菌の残存は、食鳥処理場における蜂窩織炎が認められた鶏の部分廃棄ないし全廃棄の判断に大変重要な意義を持つと考えられる。

今回の実験では、採卵鶏において鶏大腸菌症を作出することに成功し、発生した心膜炎および蜂窩織炎の慢性化病変と、その病変の経時的変化について検索できた。今回の実験は白色レグホン種を使用した。大腸菌症が問題となっているブロイラーにおける病変の経過についても今後検討する必要があると思われる。しかし、このような経時的観察を行った研究は今までほとんど報告がないことから、鶏大腸菌症の病態解明に役立つと考えられる。

## 謝 辞

本研究の一部は、社団法人日本養鶏協会の平成23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, 11<sup>th</sup> ed. (Saif Y.M. et al. eds.) Iowa State Press, Ames, Iowa (2003)
- 2) Gomis, S. M. et al. : Experimental reproduction of *Escherichia coli* cellulitis and septicemia in broiler chickens. *Avian Dis.* 41, 234-240 (1997)
- 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) Johnson, L. C. et al. : The influence of *Escherichia coli* strains from different sources and the age of broiler chickens on the development of cellulitis. *Avian Pathol.* 30, 475-478 (2001)
- 5) 鶏病研究 : ブロイラーの蜂窩織炎. 鶏病研報 42, 15-24 (2006)
- 6) 厚生労働省医薬食品局監視安全課 : 平成17年度 食鳥検査結果. 鶏病研報 43, 36-37 (2007)
- 7) 村瀬敏之 : 最近の大腸菌症. 鶏病研報 46 (増刊号), 1-4 (2010)
- 8) Nakamura, K. et al. : Pathology of spontaneous colibacillosis in a broiler flock. *Vet. Pathol.* 22, 592-597 (1985)
- 9) 中村菊保 : 鶏の大腸菌症野外例及び実験例の病理学的変化について. 鶏病研報 24 (増刊号), 37-48 (1988)
- 10) 中村菊保 : 鶏の大腸菌症の発病機序. 日獣会誌 48, 633-639 (1995)
- 11) Norton, R. A., Macklin, K. S. and McMurtrey, B. L. : The association of various isolates of *Escherichia coli* from the United States with induced cellulitis and colibacillosis in young broiler chickens. *Avian Pathol.* 29, 571-574 (2000)
- 12) Peighambari, S. M. et al. : *Escherichia coli* cellulitis: experimental infections in broiler chickens. *Avian Dis.* 39, 125-134 (1995)
- 13) 清水祥子ら : 鶏における大腸菌性蜂窩織炎の実験的作出. 鶏病研報 47, 20-27 (2010)
- 14) 山口遼作ら : 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. 鶏病研報 47, 167-176 (2011)
- 15) Zanella, A. et al. : Severe *Escherichia coli* O111 septicemia and polyserositis in hens at the start of lay. *Avian Pathol.* 29, 311-317 (2000)

Chronic Lesions of Colibacillosis in Chickens Experimentally Infected  
with *Escherichia coli*

Yusuke Kuroda, Jun Sasaki, Konomi Kuramochi, Takeshi Kawasaki<sup>1)</sup>  
and Masanobu Goryo

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

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

Summary

To obtain a better understanding of the chronic lesions of chicken colibacillosis which commonly occur in broiler chickens, we reproduced colibacillosis experimentally, and investigated the chronological change of lesions pathologically.

White leghorn line-M chickens and *E. coli* strains (Y0451, KB4-1, Da2) isolated from field cases were used for experiments 1 to 3.

In experiment 1, 28- and 35-day-old chicks were inoculated with Y0451 strains through an artificial scratch made at gluteal skin region, and in experiment 2 and 3, 28-day-old chicks were inoculated in femoral area intramuscularly with KB-1 strain and Da2 strain, respectively. If the chickens died during experimental period, they were necropsied immediately. Certain number of survived chickens were euthanized and necropsied every week by 5 weeks postinoculation (p.i.). The specimens from main organs were investigated histopathologically. In addition, re-isolation of *E. coli* from surface of heart and inoculation sites was attempted at necropsy of the survived chickens.

In regard to serositis, dead chickens of all groups had predominantly severe fibrinopurulent or suppurative granulomatous pericarditis, and many of them had concurrent perihepatitis, airsacculitis and peritonitis. At 1 week p.i., some survived chickens developed various degrees of pericarditis from mild to severe, many of which showed moderate fibrinopurulent pericarditis. At 2 weeks p.i., the pericarditis showed moderate inflammation reaction with absorption of fibrin and necrotic debris by granulomatous tissue and became chronic. From 3 to 4 weeks p.i., the lesions regressed, and mild pericarditis were often seen. At 5 weeks p.i., no serositis was seen.

Most of dead and survived chickens developed cellulitis at inoculation site, and at 3 or 4 weeks p.i., many necrotic tissue decreased in size grossly and showed mild lesions histopathologically.

(J. Jpn. Soc. Poult. Dis., 49, 40-49, 2013)

**Key words** : broiler chicken, cellulitis, chronic lesion, colibacillosis, experimental inoculation