

12 管内一肉用鶏農家で発生した雛の緑膿菌感染症

中央家畜保健衛生所

○梅野 杏奴・吉田 輝美・黒田 浩之
平野 晃司・中井 悠華

I はじめに

緑膿菌感染症は *Pseudomonas aeruginosa* を原因とし、鶏に対しては、主に幼雛において敗血症を起こすことが知られている¹⁾。我が国では、2週齢までの発生例が多く、下痢、元気・食欲消失などを呈し、死亡を免れた場合では、しばしば、関節炎、角膜の白濁などが認められる¹⁾。

今回、当所管内の一肉用鶏農家において、雛の緑膿菌感染症が発生したので概要を報告する。

II 発生概要

発生農家は、肉用鶏（チャンキー）約27,000羽を平飼いで飼育している。初生雛で導入し約50日齢で出荷、2か月の空舎期間中に鶏舎内で鶏糞を乾燥させ搬出後、鶏舎の洗浄消毒を行っている。ワクチンプログラムは、ふ化場にてマレック病ワクチン、9日齢でニューカッスル病ワクチン、15日齢で伝染性ファブリキウス嚢病ワクチンを接種している。鶏舎数は6棟（1～4号鶏舎、B、C鶏舎）あり、そのうちB鶏舎とC鶏舎の2棟が2階建て鶏舎となっている。今回発生があったのはC鶏舎であった（図1）。

平成27年8月8日に初生雛約6,400羽がC鶏舎に導入された。同月10日になり、C鶏舎で起立不能、斜頸などの症状を呈し、約100羽が死亡したため、畜主から家保へ通報があり、病性鑑定を10日と12日の2回実施した。

なお、同月7日に同じ導入元からB鶏舎に初生雛約6,400羽が導入されていたが、異常は確認されなかった。

発生からの10日間で死亡・淘汰羽数は約540羽となったがその後、発生鶏舎の通常ロットと同程度まで回復した。しかし、同月24日になり、導入ロットにて片側性の眼瞼腫脹を示す個体が散見されたため、再度、病性鑑定を行った。

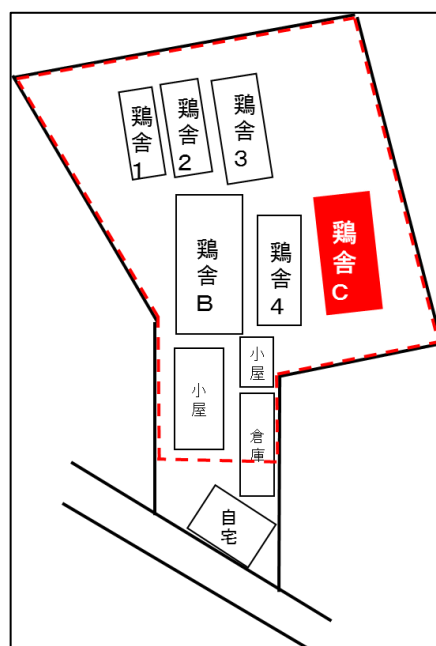


図1 農場見取り図

III 材料及び方法

1 材料

材料は、3日齢の発症鶏4羽 (No. 1～4)、5日齢の発症鶏3羽 (No. 5～7) 及び同ロットにおいて無症状の対照鶏を3羽、17日齢の発症鶏2羽 (No. 8、9) を検査に用いた。

2 方法

剖検し、主要臓器等を採材、10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬後、定法により病理組織学的検査を実施した。特殊染色としては、5日齢の脳についてグラム染色を行った。

血液学的検査については、5日齢の検体において赤血球数 (RBC)、ヘマトクリット値 (Ht)、フィブリノーゲン値 (Fib)、グルコース値 (Glu)、カルシウム値 (Ca)、無機リン値 (iP) を常法により測定し、対照鶏と平均値の比較を行った。

細菌学的検査については、5%羊血液加寒天培地 (37°C、CO₂、48時間培養) 及び DHL 寒天培地 (37°C、好気、24時間培養) を用いて細菌分離を行った。また、分離菌については、Api20E (バイオメリュー社) を用いて菌同定を行い、アンピシリン (ABPC)、セファゾリン (CEZ)、カナマイシン (KM)、ゲンタマイシン (GM)、コリスチン (CL)、ホスホマイシン (FOM)、クロラムフェニコール (CP)、スルファメトキサゾール・トリメトプリムの合剤 (ST 合剤)、タイロシン (TS)、オフロキサシン (OFLX)、エンロフロキサシン (ERFX) の11薬剤について一濃度ディスク法により感受性試験を実施した。

ウイルス学的検査については、発育鶏卵尿膜腔内接種法にてウイルス分離を、RT-PCRにて鶏脳脊髄炎ウイルスの遺伝子検査を行った。

IV 成績

1 血液検査成績

発症鶏は対照鶏と比較してヘマトクリット値、赤血球値が低値をフィブリノーゲン値が高値を示し、貧血と感染症が示唆された (表1)。

表1 血液検査成績 (5日齢)

	発症鶏※	対照鶏※
Ht (%)	18.3±2.1 ↓	22.3±0.6
RBC (万個/mm ³)	172.3±8.5 ↓	210±18.5
Fib (mg/dl)	566.7±57.7 ↑	133.3±57.7
Glu (mg/dl)	343.7±67.3 ↓	419±27.9
Ca (mg/dl)	15.6±1.4	15.6±1.5
iP (mg/dl)	6.4±0.6	6.5±1.1
Ca/iP	2.5±0.4	2.5±0.5

※標準±標準偏差

2 病理学的検査

(1) 剖検所見

3日齢及び5日齢の外貌検査において、全羽が起立不能を呈していた。No. 2、5～7には斜頸も認められた。剖検では、7羽の共通所見として肝臓の黄色化がみられた。また、No. 1、3の浅胸筋に赤色点が多数認められた。

17日齢では、外貌検査にて全羽に共通しての右側の角膜の白濁及び眼瞼の腫脹がみられた。No. 9については右眼球の陥没、腹部膨満、起立不能も認められた。剖検では、No. 8では肝臓の線維素様物付着、腹膜との癒着、辺縁部鈍、心臓の線維素様物付着がみられた。No. 9では胸筋に赤色点の多発がみられた。

(2) 病理組織学的検査

3日齢及び5日齢の全7羽に共通して肝臓に空胞変性がみられ、No. 3、4、6では化膿性被膜炎も認められた。中枢神経系では、大脳及び小脳での化膿性髄膜炎がNo. 1～3、5～7の6羽でみられた(図2)。No. 7、8の大脳及び小脳におけるグラム染色では、グラム陰性桿菌が認められた(図3)。さらに、No. 6の脾臓及びNo. 4、6、7の腎臓に化膿性被膜炎、No. 2、4、6、7に化膿性心外膜炎がみられた(図4)。その他、消化器系ではNo. 1～4のそ嚢、No. 4～6の胃及びNo. 3、6、7の回腸、盲腸、直腸に化膿性漿膜炎も確認された。17日齢では、2羽に共通して化膿性心外膜炎、間質性腎炎及び外貌所見で特徴的であった病変部位での脈絡膜炎が認められた(図5)。No. 8では、化膿性肝炎及び肝被膜炎、胃の化膿性漿膜炎がみられた。

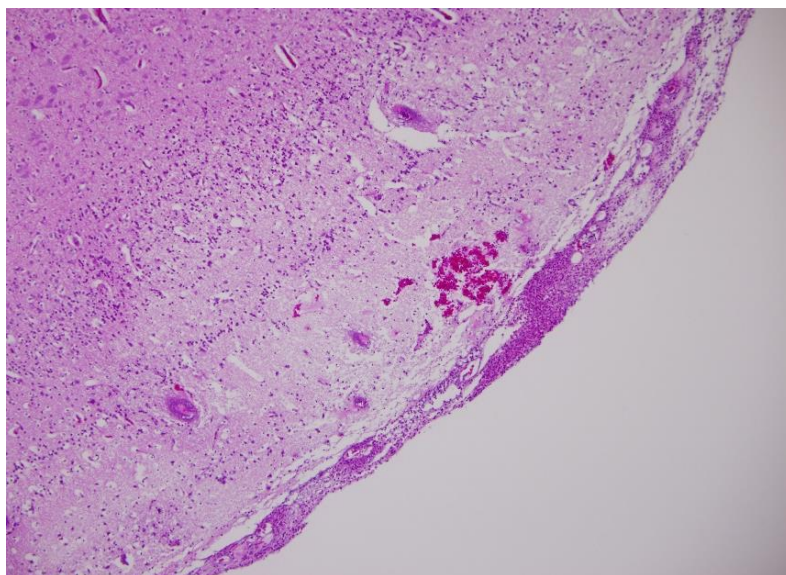


図2 No. 7大脳髄膜炎(低倍率)

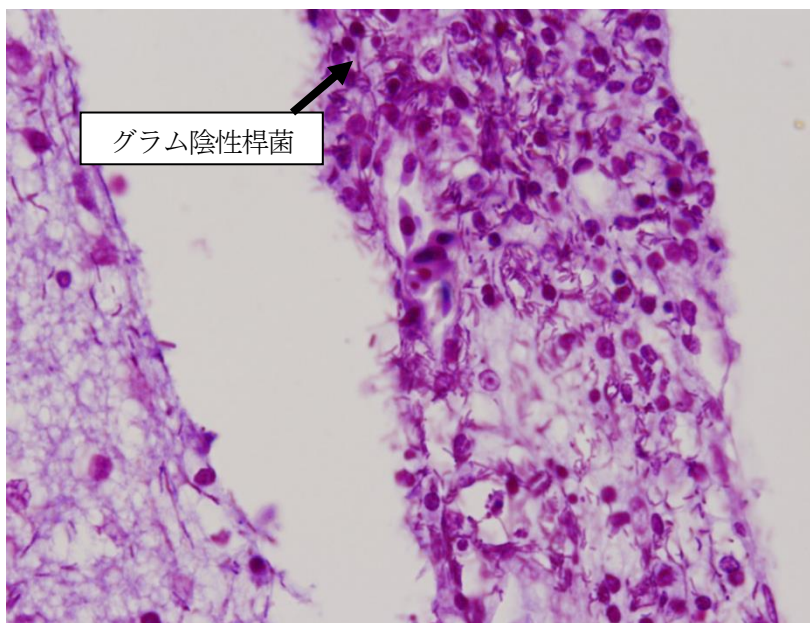


図3 No. 7 大脳髄膜炎 (グラム染色、高倍率)

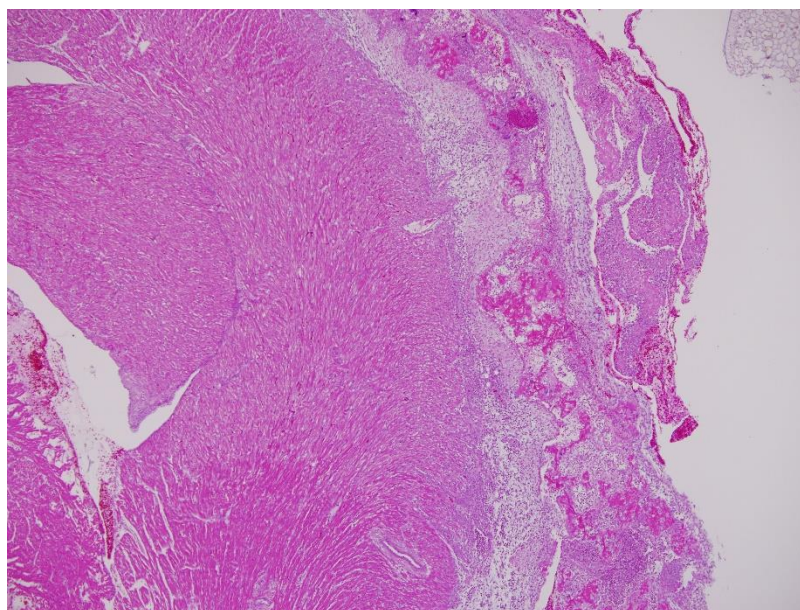


図4 No. 2 化膿性心外膜炎 (低倍率)

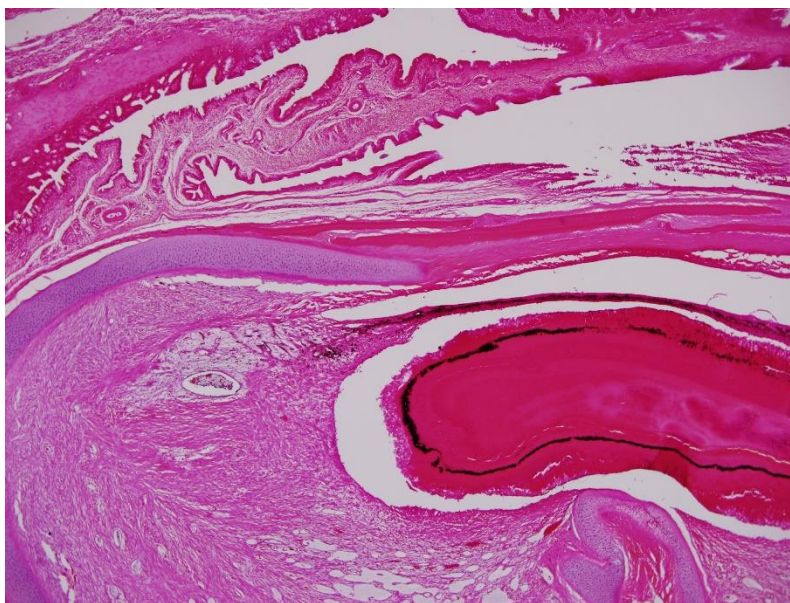


図5 No. 9 化膿性脈絡膜炎(低倍率)

3 細菌学的検査

(1) 細菌分離成績

3日齢では、すべての検体で菌は分離されなかった。

5日齢では、脳(3検体中3検体)及び肝臓(3検体中1検体)から、17日齢では、脳及び肝臓(2検体中1検体)から *P. aeruginosa* が分離された。なお、17日齢の病変側眼窩拭いから菌は分離されなかった。

(2) 薬剤感受性試験成績

GM、CL、OFLX に感受性を示し、FOM と ERFX に中間の感受性を示した。ABPC、CEZ、KM、CP、ST 合剤、TS には耐性を示した。

4 ウイルス学的検査

ウイルス学的検査では、ウイルスは分離されなかった。また、鶏脳脊髄炎ウイルスの遺伝子検査において特異遺伝子は検出されなかった。

V 指導及び対策

上記の検査成績から、本症例を緑膿菌感染症と診断した。

当該農場は、鶏舎ごとの長靴及び踏み込み消毒槽の設置など衛生管理を遵守している農場であったが、他の鶏舎へのまん延防止のため、薬液の交換頻度の再確認や発生鶏舎を最後に管理するよう指導を行った。

また、管理獣医師と連携し、抗生物質の投与を指導した。当初、OFLX の投与を検討したが、必要量の薬剤が早急に確保できなかったため、ERFX を投与した。10日齢で ERFX の投与を開始したと

ころ、死亡羽数は減少し、13日齢目には発生鶏舎の通常の死亡率である0.2%以下にまで改善した(図6)。

さらに、畜主に対し、オールアウト後の鶏舎の洗浄消毒プログラムの見直しを行った。従前の方法では、水洗い及び消毒後の乾燥が不十分であったため、作業スケジュールを変更し、十分な乾燥の期間を確保するよう指導した。

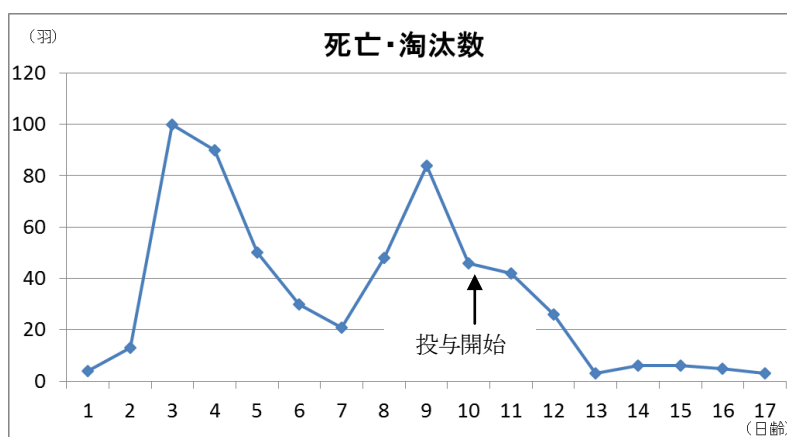


図6 発生鶏舎での死亡羽数・淘汰羽数の推移

VI 鶏舎の拭き取り検査

見直しを行ったオールアウト後の鶏舎洗浄消毒プログラムの効果を確認するため、消毒前後の鶏舎の拭き取り検査を行った。検査対象菌種は本症例の原因菌である緑膿菌、環境菌として大腸菌群、サルモネラを対象とした。

1 材料

滅菌生理食塩水に浸した滅菌綿棒で10×10cmの面積を拭き取り採材を行った。拭き取り場所は各鶏舎対角線上の角の床面2か所、B鶏舎の乾燥不十分な床面1か所、発生鶏舎の給餌器、給水器各2か所とした。2階建て鶏舎は1階、2階それぞれで採材し、合計で21検体/回を材料とした。

2 方法

拭き取った綿棒に2mlの生理食塩水を加え原液とした。緑膿菌及び大腸菌群は原液を段階希釈し、それぞれNAC寒天培地、DHL寒天培地で定量培養を行った。サルモネラについては、緩衝ペプトン水で前培養を行い、ハーナ・テトラチオン酸塩基礎培地で増菌培養後、0.1%ノボビオシン加DHL寒天培地及びESサルモネラⅡ寒天培地で培養を行った。

3 検査成績と指導

緑膿菌は消毒前の検査において、発生鶏舎床面の1検体から分離されたが、消毒後はすべて陰性であった。サルモネラは消毒前後とも、全ての検体で分離されなかった。大腸菌群については、21検体中、消毒前後とも検出限界以下が3検体、消毒後に菌量が減少したのが13検体であった。残

りの4検体は横這い、又は増加した。菌量の減少が見られなかった検体の採材場所は乾燥が不十分であったため、畜主に対し、乾燥の徹底を再度指導した。

VII まとめと考察

本症例では、病理組織学的検査で化膿性髄膜炎、化膿性多発性漿膜炎、化膿性肝炎等がみられ、細菌学的検査では5日齢の脳及び17日齢の肝臓の病変部に一致して *P. aeruginosa* が分離されたことから緑膿菌感染症と診断した。

鶏の緑膿菌感染症は、主に幼雛の敗血症であり、下痢を呈し、元気・食欲を消失するが、その他、角膜炎、関節炎を示すことも知られている¹⁾。脳病変を伴う鶏雛の緑膿菌感染症発生事例については、高瀬ら²⁾によって報告されている。この報告では2日齢をピークとした雛の死亡と7日齢の発症雛での脳病変の形成が認められており、高瀬らは2日齢の死亡のピークは敗血症死であり、脳病変はこれに伴って形成されたと考察している。關らが行った実験³⁾でも同様の報告がされており、本症例でも3日齢の死亡のピークは敗血症によるものであり、それに伴って病変が形成されていったと考えられた。

17日齢で発生した、片側性の眼瞼腫脹については、若齢鶏の緑膿菌感染症の主徴の一つとして複数の報告があるものの^{1) 4) 5)}、本事例では眼窩拭いから *P. aeruginosa* は分離されなかったため、本菌の影響によるものとの確定には至らなかった。

また、3日齢の検体の細菌学的検査において、細菌が分離されなかった原因については、検体が小さく十分な量の採材ができなかったことが影響したと考えられた。

緑膿菌の感染源としては、ふ化場での感染が報告されているが⁶⁾、今回の事例では、他の農場に導入された同ロットで同様の報告がなかったことより、輸送時または到着直後に感染したと考えられる。

今回の症例で行った対策のうち、投薬に関しては当初は薬剤感受性試験の成績に基づき、OFXLの投与を検討したが、必要量の薬剤が早急に確保できなかった。そのため、必要量が確保できるERFXを投与することとなった。ERFXの感受性は中間であったが、投与後、発生鶏群での死亡率は減少し、通常の死亡率にまで低下した。

また、畜主に対しオールアウト後の洗浄消毒プログラムの指導を行った。当農場では、鶏の出荷後鶏舎内で鶏糞の乾燥を行っていたため、その期間を短縮、洗浄消毒後の乾燥期間を確保し、乾燥の徹底を行った。その後行った拭き取り検査では、鶏舎内は細菌数が減少傾向を示し、緑膿菌は分離されなかった。鶏舎消毒プログラムの見直しの効果により、鶏舎内の細菌数が減少傾向を示し、感染リスクは低減した。

平成27年12月、発生鶏舎に新ロットが導入されたが、緑膿菌感染症の発生はなかった。

今回、発生当初から管理獣医師と情報を共有し指導に当たった結果、まん延防止対策及び抗生物質の投与を速やかに行うことができ、日ごろから畜産農家の状況を詳しく把握している管理獣医師との連携の重要性を再確認することができた。

本菌は環境常在菌であり、完全に鶏舎内から排除することは困難であるが、再発防止のため、今後も管理獣医師と協力し、衛生管理の向上と洗浄消毒プログラムの遵守を畜主に指導していく。

VIII 参考文献

- 1) 鳥の病気 第6版;鶏病研究会編,103-104(2006)
- 2) 高瀬公三ら:脳病変をともなう鶏ひなの緑膿菌感染症の発生;日本獣医師会雑誌,36,656-658(1983)
- 3) 關茉莉絵ら:鶏の幼雛における実験的緑膿菌感染症;岩手獣医師会会報,35(3),88-91(2009)
- 4) 萩野博明ら:片側性の眼疾病を主徴とした緑膿菌感染症;鶏病研究会報,24(3),116-123(1988)
- 5) 中口真美子ら:片側性の眼瞼浮腫を呈したヒナの一症例;平成25年度鳥取県畜産技術業績発表会集録,(2013)
- 6) 太田智恵子ら:肉用鶏初生ヒナの緑膿菌感染症;平成17年度全国家畜保健衛生業績抄録,12(2006)