

9 肉用鶏で発生した鶏アスペルギルス症における病理学的考察

仙台家畜保健衛生所

岸田竜馬、山梨祐未

1 はじめに

鶏アスペルギルス症は、*Aspergillus*属真菌の感染によって起こる真菌症で、主な病原体は *Aspergillus fumigatus* であり、*A.flavus* などの分離率は低いといわれている¹⁾。一般的な肉眼病変として、肺に灰白色の小結節あるいはび慢性の乾酪性病変を示し、気嚢が肥厚し、結節を形成するとされ、呼吸器病変が進行すると肺内や、体腔表面で分生子を形成することがあり、孵化後1~2日齢の初生ひなでも、結節性病変を示すことがあるといわれている²⁾。

今回、肉用鶏農場で発生した鶏アスペルギルス症では、典型的な肉眼病変が認められなかったことから、病理組織学的に詳細な検索を実施したので、その概要を報告する。

2 発生農場概要

本症例は、肉用鶏、品種はレッドブロ、5日齢、開放鶏舎平飼い(3鶏舎)で3万羽を飼養する農場での発生であった。鶏舎内敷料は、もみがらを使用していた。令和5年2月15日に3号鶏舎に9,200羽の初生ひなを導入後、18日に農場から家保に死亡羽数増加の通報があった。現場家保が農場に立入し、簡易検査により鳥インフルエンザを否定した。その後、20日に一般病性鑑定を実施した。導入日から10日間の累計死亡羽数は411羽であった。

3 病性鑑定概要

(1) 材料

病理学的検査では、7羽(生存鶏5羽:No.1~No.5、死亡鶏2羽:No.6、7)を剖検に供した。

細菌学的検査では、生存鶏5羽の臓器(肝臓、腎臓、心臓、肺)および小腸内容物を用いた。

ウイルス学的検査では、剖検に供した鶏の臓器(肝臓、腎臓、肺、気管、ファブリキウス嚢(F嚢))および気管並びにクロアカのスワブを用いた。

(2) 方法

病理学的検査では、臨床症状、外貌の観察および体重測定を行った後、剖検を実施した。剖検により全身の諸器官および諸組織から得た検査材料を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した後、定法に従いパラフィン包埋、薄切を行い、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、特殊染色(PAS染色、グロコット染色)、家兎抗*Aspergillus*ポリクローナル抗体を用いた免疫組織化学染色(No.3のみ)を実施し、組織学的に検索した。

細菌学的検査では、一般細菌検査として好気培養(5%羊血液寒天培地、DHL寒天培地、37°C、24~48時間)、嫌気培養(5%卵黄加寒天培地、37°C、24~48時間)、CO₂培養(5%羊血液寒天培地、37°C、24~48時間)を実施した。真菌検査では、肺を材料にクロラムフェニコール添加ポテデキストロース寒天培地で37°C、7日間培養後、ラクトフェノール標本の観察を行った。遺伝子学的検査として、鶏病原性大腸菌(APEC)関連マルチプレックスPCR、O-genotypingPCRを実施した。

ウイルス学的検査では、遺伝子検査としてコンベンショナルPCR(鶏伝染性気管支炎ウイルス、鶏アデノウイルス、鶏貧血ウイルス、伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス、伝染性喉頭気管炎ウイルス)、ウイルス分離として発育鶏卵接種およびHA試験(鳥インフルエンザウイルス、ニューカッスル病ウイルス)を実施した。

(3)結果

臨床症状は、沈うつ(所見が認められた羽数/剖検羽数、以下同;2/5羽)、開口呼吸(2/5羽)が認められた。体重は 44.3±18.4g(平均±標準偏差)であり、全検体が低体重であった。

剖検所見では、主に胸腺の萎縮(5/7羽)およびF囊の萎縮(3/7羽)が認められた。臨床症状として、開口呼吸を示す個体もみられたが、全検体で肺や気囊において小結節や乾酪性病変などの肉眼病変は認められなかった。

組織所見としては、肺では、上皮細胞の変性(1/7羽)、出血(6/7羽)、充・うっ血(7/7羽)、偽好酸球の浸潤(3/7羽)、壊死(2/7羽)および真菌構造(1/7羽)が認められた。鼻腔では、上皮細胞の変性(7/7羽)、出血(1/7羽)、偽好酸球の浸潤(2/7羽)、壊死(1/7羽)および真菌構造(1/7羽)が認められた。気管では、上皮細胞の変性(7/7羽)、出血(5/7羽)、偽好酸球の浸潤(4/7羽)および真菌構造(3/7羽)が認められた。

特殊染色において、PAS染色では、肺で3/7羽、鼻腔で1/7羽、気管で2/7羽でPAS陽性像が確認された。また、グロコット染色でもPAS染色陽性検体に一致して、肺で3/7羽、鼻腔で1/7羽、気管で2/7羽で黒色に染色された真菌像が確認された。

病理組織でみられたグロコット染色陽性像では、Y字状の分枝および隔壁が認められた。これらの形態的特徴は、*Aspergillus* 属菌の形態的特徴と一致するものであった。

免疫染色では、*Aspergillus* 属真菌抗原陽性が確認された(図1)。

細菌学的検査では、一般細菌検査で1/5羽(No.2)の肺と腎臓から大腸菌(*E.coli* Og83)が分離された。真菌検査では、4/5羽の肺から真菌が分離された。分離された真菌は、中心が青みがかった緑色を示すコロニーが観察され、ラクトフェノ

ール標本では、頂囊の上半分に1層に並んだフイアライドとそこから分生子の形成が確認された。これらの特徴から分離された真菌を *Aspergillus fumigatus* と同定した。

ウイルス学的検査は、全検体で陰性であった。

(4)診断

病理組織学的検査および細菌学的検査の結果より、本症例を鶏アスペルギルス症と診断した。

全検体で肺、気囊を含めた呼吸器に典型的な肉眼病変を認めず、組織学的に真菌構造を認められた検体であっても、炎症細胞が偽好酸球を中心とした病像であったことから、感染初期の急性症例であったことが示唆された。

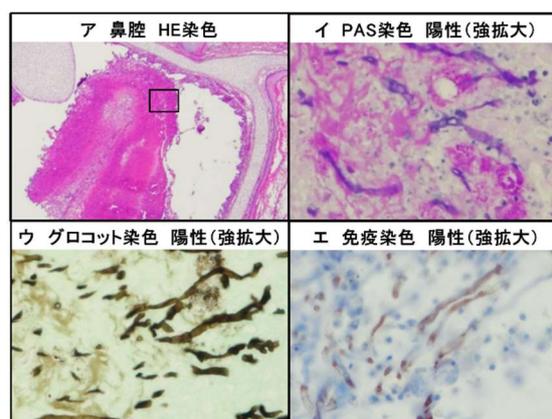


図1 鼻腔(No.3)の各種染色像

表1 真菌分離、組織病変および特殊染色結果

生/死の別		生存鶏					死亡鶏	
		No.	1	2	3	4	5	6
肺	真菌分離陽性		●	●	●	●	NT	NT
	偽好酸球浸潤				●	●		●
	壊死					●		●
	真菌構造			●	●			●
	特殊染色陽性			●	●	●		●
鼻腔	偽好酸球浸潤	●		●				
	真菌構造			●				
	特殊染色陽性			●				
気管	偽好酸球浸潤	●			●	●		●
	真菌構造	●			●			●
	特殊染色陽性	●						●

(●: 所見が認められた個体)

4 追加検索

(1) 方法

本症例において、全検体で肺および気嚢に結節や乾酪性病変などの典型的な特徴病変が認められなかったこと、No.1～4 において、病原検索による真菌分離結果と病理組織学的検査での特殊染色結果が異なったこと、No.1、3 および 7 で鼻腔や気管といった肺以外の器官で特殊染色陽性像が確認されたこと(表 1)から、より詳細な病理組織検索を行うことを目的として、真菌の侵入経路に沿うように、新たに組織を切り出し、標本を作製し観察した。

病性鑑定で観察した部位を、主に中鼻甲介とその周囲の鼻腔および眼窩下洞が観察される④鼻腔(中部)(図 2-イ)とすると、その吻側となる⑥鼻腔(鼻孔周辺)(主に前鼻甲介とその周囲の鼻腔が観察される)(図 2-ウ)および尾側となる③鼓室周辺(主に眼窩下洞、食道および気管が観察される)(図 2-エ)を追加で切り出した。

(2) 結果及び考察

⑥では、偽好酸球の浸潤(4/7 羽)、真菌構造(1/7 羽)が認められ、③では、偽好酸球の浸潤(2/7 羽)が認められた。⑥の部位に病変が認められた No.3 では、鼻腔内に粘液と細胞退廃物が混じる凝塊がみられ、その一部には複数の真菌様構造物が観察された(図 3-イ)。また、線毛上皮細胞の中等度肥厚と剥離、偽好酸球の浸潤が認められた(図 3-ウ)。グロコット染色では、HE 染色での凝塊と炎症部位に一致して、黒色に染色された真菌陽性像が確認できた(図 3-エ、オ、カ)。

No.3 は、④でも真菌構造および特殊染色陽性像が認められたことから、真菌の胞子が鼻孔から侵入し、鼻腔(中部)を通過し、気嚢、肺へと至る過程で、一部胞子が鼻腔内の線毛上皮に捕捉され、定着し、各部位の粘膜内を中心に菌糸を形成したと考えられた。

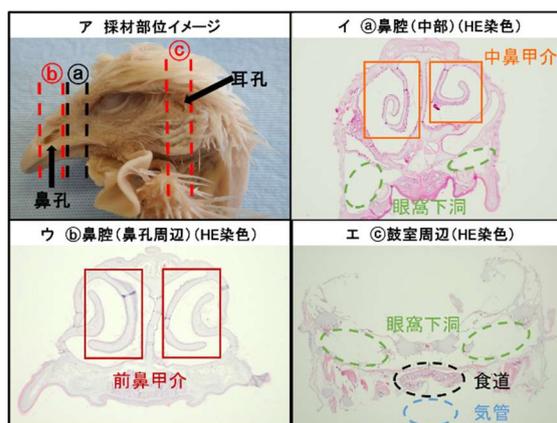


図 2 採材部位および各部位ルーペ拡大像

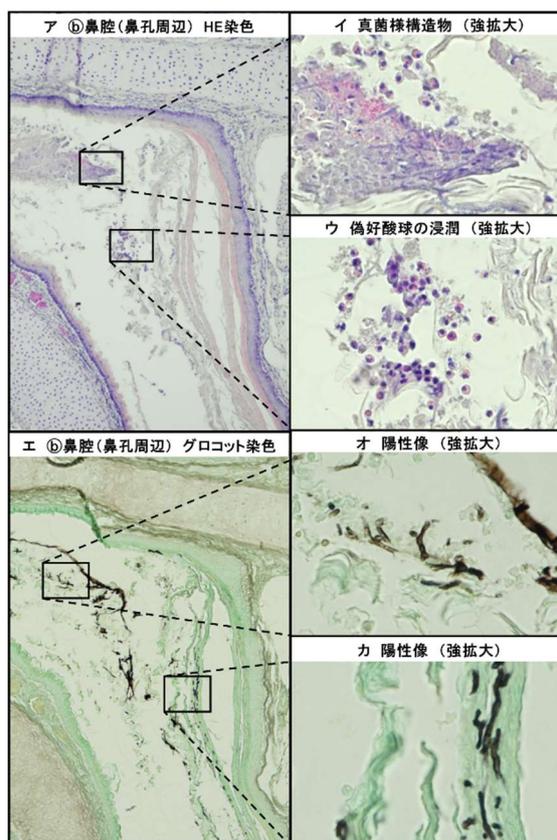


図 3 ⑥鼻腔(鼻孔周辺)(No.3)の病変

本症例は、病性鑑定マニュアルに記載されているような肺に灰白色の小結節あるいはび慢性の乾酪性病変、気嚢の肥厚および結節形成などの典型的な肉眼病変を示さなかった。また、No.3のように真菌分離陰性であっても、特殊染色陽性を示す個体がみられるなど、真菌の分離状況と病変が必ずしも一致しない検体が確認された(表 2)。さらに、鼻腔や気管など、肺以外の呼吸器においても真菌陽性像を確認できる個体がみられた(表 2)。これらのことから、鶏アスペルギルス症を疑う症例において、一般的な肉眼的特徴病変が認められないような場合、診断の精度を高めるためには、鼻腔をはじめ上部気道を含めた広い範囲の病理組織検索が重要であると考えられる。

5 引用文献

- 1) 谷村信彦:①真菌症.家禽疾病学(鶏病研究会編).第二版.134-137、鶏病研究会、つくば(2022).
- 2) 農林水産省消費・安全局監修:病性鑑定マニュアル.第4版.全国家畜衛生職員会.東京(2016).

表 2 真菌分離、組織病変および特殊染色結果

生/死の別		生存鶏					死亡鶏	
No.		1	2	3	4	5	6	7
肺	真菌分離陽性	●	●		●	●	NT	NT
	偽好酸球浸潤or壊死				●	●		●
	真菌構造/特染陽性			-/●		-/●		●/●
① 鼻孔	偽好酸球浸潤	●		●	●			●
	真菌構造/特染陽性			●/●				
② 鼻腔	偽好酸球浸潤	●		●				
	真菌構造/特染陽性			●/●				
③ 周篩室	偽好酸球浸潤	●					●	
	真菌構造/特染陽性							
気管	偽好酸球浸潤	●			●	●		●
	真菌構造/特染陽性	●/●			●/-			●/●

(●: 所見が認められた個体、-or空欄: 所見が認められない個体)