千葉県で初めて診断されたあひる のアナチペスチファー感染症

中央家畜保健衛生所 〇島田 果歩 綿村 崇宏 橘 美奈子

要 約

あひるを約 1,500 羽飼養する農場において、30 日齢のあひるの死亡羽数が限局的に増加した。食欲不振、元気消失、一部の個体では緑白色の下痢を呈し 3 羽の病性鑑定を実施した。剖検では肝臓及び心臓表面に線維素析出を認め、肺胸膜と癒着していた。病理組織学的検査では肝臓被膜及び心外膜は水腫と線維素析出を伴う偽好酸球及びマクロファージの浸潤により肥厚していた。小脳及び視葉ではクモ膜下腔に水腫を認めリンパ球及びマクロファージが浸潤していた。細菌学的検査では、好気培養下では有意菌は分離されず、5%CO2下培養でグラム陰性小桿菌が分離された。16S rRNA遺伝子のシークエンス解析の結果、肝臓及び大脳由来株は Riemerella anatipestifer と同定された。解剖学的及び組織学的所見は鑑別疾病に挙げられる鶏大腸菌症と病変が類似していた。しかし、細菌学的検査において好気培養下では有意菌は未分離であり、アナチペスチファー感染症の診断には微好気培養の実施が必要である。全国的に本疾病の報告は少数例あるが、千葉県内では初めて診断された例である。

はじめに

アナチペスチファー感染症は Riemerella anatipestifer 感染により引き起こされ、元気消失、流涙、鼻汁、咳、くしゃみ、緑色下痢、頭頚部の振戦、昏睡といった症状が認められ、あひる、がちょう、七面鳥、野鳥などに感染する 1 。 1 2 8 週齢の若齢あひるは感受性が高いとされており、臨床症状が現れてから 1 2 日以内に死亡する 1 3

R. anatipestifer はグラム陰性小桿菌であり、気道、皮膚の創傷(特に脚の創傷)を介して感染し、潜伏期間は通常 $2\sim5$ 日とされる $^{1)}$ 。飼養環境などの影響を受け、死亡率は $5\sim75\%$ と大きく異なるとの報告がある $^{1)}$ 。

本疾病に感染すると、解剖学的に線維素析出が漿膜や被膜、特に心膜、気嚢に認められ、病理組織学的には心膜炎、肝被膜炎、線維素性髄膜炎、気嚢及び肺の線維素性炎が認められる ¹⁾。類症鑑別が必要な細菌として、*Escherichia coli、Coenonia anatina、Enterococcus faecium、Salmonella* spp. が挙げられる ¹⁾。

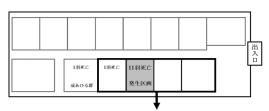
本感染症は、世界各国で発生しており、過去に日本では大阪府、埼玉県、三重県の報告がある 2),3),4),5)。しかし、千葉県では過去に報告はない。

発生概要

当該農場は、平飼い、1,500 羽規模のあひる農場である。令和4年1月14日に自家産である30日齢のあひるが3羽死亡し、翌日に同区画内で11羽が死亡した。その周囲の2区画の死亡は1羽ずつであり、死亡羽数の増加は1区画内に限局的に

認められた(図1)。病性鑑定立ち入り時には、食欲不振、起立不能、呼吸速迫、頭部下垂、一部個体では緑白色の水様性下痢が認められた。通常、死亡羽数は家きん舎内で1日計3羽程度であった。

発生区画を含む 4 区画は 30 日齢、自家産、同 じロットであり 130 羽ずつ飼養されていた。ワク チンは未接種であった。



自家産、同ロット、1区画内に130羽ずつ飼養

図1 農場概要

材料及び方法

1 材料

あひる、チェリバレー種、30 日齢、生体 1 例 (No.1) 、死体 2 例 (No.2~3) 。

2 病理学的検査

割検後、10%中性緩衝ホルマリンで固定、常法に従いパラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、グラム染色、PAS 反応、グロコット染色を実施し、光学顕微鏡下で観察した。

3 細菌学的検査

主要臓器を 5%馬血液加トリプトソイ寒天培地及び DHL 寒天培地に直接塗抹し、37℃一晩又は 48 時間好気及び 5%CO₂下で培養した。5%CO₂下培養分離菌については、生化学的性状検査を実施し、肝臓、大脳由来株については 16S rRNA 遺伝子のシークエンス解析を動衛研に依頼した。分離された大腸菌について病原関連遺伝子 PCR 検査を実施した。

4 ウイルス学的検査

鳥インフルエンザ簡易検査を実施した。

成 績

1 病理学的検査

(1) 病理解剖検査

No.1~No.3 に類似した剖検所見が認められた。 肝臓及び心臓表面に線維素析出が認められ、加えて No.3 はチーズ様物の付着が認められた(写真1)。肝臓、心臓は肺胸膜と癒着しており、心嚢水、腹水の増加が認められた。



写真 1 No.3 の肝臓、心臓。肝臓、心臓周囲に線維素析出、チーズ様物の付着が認められる。

(2) 病理組織学的検査

No.1~No.3 の肝臓、心臓、肺、脳に類似した組織所見が認められた。肝臓被膜、心外膜、肺胸膜は水腫、線維素析出を伴う偽好酸球、マクロファージの浸潤により肥厚していた(写真 2)。心外膜の病変は No.1~No.3 ともに肝臓被膜、肺胸膜と比較して広範囲かつ高度に認められた。その他に、

肝臓における肝細胞のび漫性空胞変性、グリソン 鞘の血管周囲にリンパ球、マクロファージの浸潤 が認められた。

脳では、No.2 は大脳、小脳、視葉に高度の水腫を伴う軽度から中等度の偽好酸球、リンパ球、マクロファージの浸潤、線維素析出が認められた(写真3)。No.1 及び No.3 では小脳、視葉のクモ膜下腔に水腫、リンパ球、マクロファージの浸潤が軽度に認められる程度であった。

HE 染色では明瞭な細菌塊は確認できなかったが、グラム染色で、 $No.1 \sim No.3$ の肝臓、心臓、No.2 の脳の病変部に微小なグラム陰性桿菌が少数認められた(写真 4)。

No.1~No.3 の肺では、リンパ球の浸潤を伴う小葉性壊死が広範囲に認められた(写真 5)。PAS 反応、グロコット染色において No.1~No.3 の肺に真菌の菌糸は認められなかった。脾臓ではリンパ球の減数が認められた。

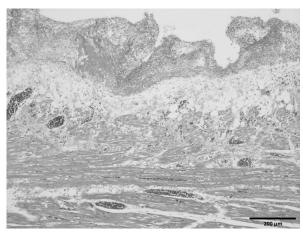


写真 2 No.3 の心臓。線維素析出を伴う心外膜炎が認められる。HE 染色

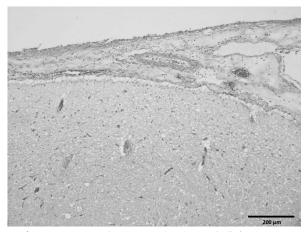


写真 3 No.2 の大脳。水腫を伴う髄膜炎が認められる。 HE 染色

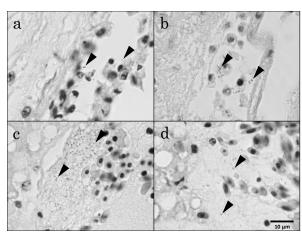


写真 4 No.3 の肝臓。微小なグラム陰性桿菌(矢 頭) が認められる。グラム染色(a,b:被膜病変 部、c,d:血管内)

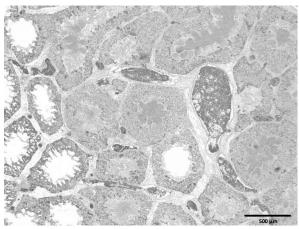


写真5 No.3の肺。小葉単位の壊死が認められる。 HE 染色

2 細菌学的検査

5%CO2下培養では 3 症例のほとんどの主要臓 器からグラム陰性桿菌が分離された(表1)。生化 学的性状検査ではカタラーゼ陽性、オキシダーゼ 陽性であった。No.1、2の大脳、肝臓、No.3の肝 臓から分離された菌株について、16S rRNA遺伝 子シークエンス解析の結果、R. anatipestifer (相 同性 99.93%) と同定された。

表 1 R. anatipestifer 分離成績

	No.1 生体	No.2 生体	No.3 死体
肝臓	+++*1	+	+++
脾臓	+++	+	++
心臟	++	+++	NI^{*2}
肺	+++	++	NI
大脳	+	+++	NI

 $^{^{*1}}$ コロニー数/培地:+:10~50、++:50~100、+++:100< *2 NI: not isolated 遊走菌発育により分離困難

好気培養下では3症例の一部臓器から大腸菌が 分離されたが、コロニー数は少なく、3 羽から共 通した病原関連遺伝子は検出されなかった。

3 ウイルス学的検査

鳥インフルエンザ簡易検査は陰性であった。

本症例はアナチペスチファー感染症と診断され た。No.1~No.3の主病変は剖検時に認められた多 発性漿膜炎であり、一般的に遭遇する鳥の病気で ある大腸菌症と類似していた。病理組織学的には 剖検所見と関連した肝被膜炎、心外膜炎、肺胸膜 炎に加えて、髄膜炎が認められた。大腸菌症では 髄膜炎は稀とされる 6。また、菌体の大きさはそ れぞれ大腸菌は短径 $0.6~\mu m$ 、長径 $2\sim3~\mu m$ 、R. anatipestifer は短径 0.2~0.4 μm、長径 1~5 μm である 1)。菌体の大きさの違いは病理組織切片で もある程度判別することができる。これらの違い から病理組織学的に大腸菌症と鑑別できると考え る。

また、細菌学的検査において大腸菌は好気培養 で発育する一方、R. anatipestifer は好気培養下 では発育せず 5%CO2下の培養を必要とする。本 症例において、R. anatipestifer は HE 染色では 確認が困難であり、グラム染色の結果においても 病変部に認められた菌体は少数であった。このた め、5%CO2下の培養の実施が本疾病の診断に重要 になると考えられる。

本農場においてアナチペスチファー感染症が発 生した原因について考察した。まず、国外におけ る R. anatipestifer のサーベイランスの結果、渡 り鳥から分離された報告があり 7、本症例は冬季 に発生したことも合わせて、渡り鳥が媒介し農場 に初めて侵入し発症した可能性がある。また、健 康な若齢あひるの喉頭粘膜から本菌が分離される

という報告 8から、農場内ですでに保菌していた個体がおり、日和見感染を引き起こした可能性も考えられる。しかし、ある一時点のみを検索対象とする通常の病性鑑定では発生原因の究明は困難であった。

国内既報と本症例を比較した(表 2)。国内既報 では本疾病の発生時期は秋から冬、発症は2~4週 齢、若齢のあひるは急性経過で死亡することが多 い 2), 3), 4), 5)。症状については表 2 にまとめた通り である^{2),3),4),5)}。病理組織学的に認められる髄膜 炎とともに神経症状が報告されている^{2),3),4),5)}。 日齢が進むと、回復例や発育不良が認められるこ とがある 2),4)。本症例は国内既報と発生時期、発 症日齢が一致していた。症状については表現方法 に多少の差はあるものの、既報で認められた症状 に該当していた^{2), 3), 4), 5)}。以上のことに加え、本 疾病に特徴的な病理学的所見が認められたことか ら、本症例は典型例であったと考えられる。稟告 では本症例 No.1~No.3 はいずれも神経症状は報 告されなかったが、髄膜炎が高度に認められた No.2 は生前に神経症状を呈していた可能性があ る。

あひるの病性鑑定は少なく、千葉県では初めてアナチペスチファー感染症と診断された症例であった。本疾病はあまり広く知られていない感染症であるが、病理学的、細菌学的検査における特徴を理解していれば、早い段階から感染を疑い、診断できるのではないかと考える。

表 2 国内既報との比較

年齢		症状	
本症例	30日齢	食欲不振、元気消失、起立不能、 一部で緑白色下痢	
三重県 5)	20日齢	元気消失、運動失調、神経症状	
大阪府4)	3~7週齢	沈鬱、流涙、頭頚部の捻転、脚弱、 起立不能、下痢、発育不良	
埼玉県3)	30日齢	元気消失、沈鬱、流涙、鼻汁、 下痢、跛行、 斜頚等	
大阪府2農場2)	15日齢≦ 20日~30日齢 (疾病最盛期)	沈鬱、食欲不振、流涙、鼻汁流出、 緑色下痢、 脚麻痺	
	40日齢≦	回復例、 首ひねり、 てんかん様発作	
	60日齢≦	発育不良	

謝辞

検査にご協力いただいた農研機構 動物衛生 研究部門 動物感染症研究領域 細菌グループの 星野尾歌織先生に深謝いたします。

参考文献

- Ruiz, J. A. and Sandhu, T. S.: Riemerella anatipestifer infections, Diseases of Poultry, 14th Edition, 846-853, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken (2019)
- 2) 小田切美晴ら:大阪府下の2養鶩場に発生したアヒルの Pasteurella anatipestifer 感染症, 鶏病研究会報, 25, 15-20 (1989)
- 3) 桜井健一ら:アヒルに発生した Pasteurella anatipestifer 感染症,日本獣医師会雑誌,40,446-449 (1987)
- 4) 田中 眞岐子ら: 肉用アヒルに発生した Moraxella (Pasteurella) anatipestifer 感染 症, 鶏病研究会報, 24, 133-137 (1988)
- 5) Chikuba T., et al.: Riemerella anatipestifer infection in domestic ducks in Japan, 2014, J Vet Med Sci., 78(10), 1635-1638 (2016)
- 6) Nolan, L. K., et al.: Colibacillosis, Diseases of Poultry, 14th Edition, 770-808, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken (2019)
- 7) Cha, S. Y., et al.: Surveillance and characterization of *Riemerella anatipestifer* from wild birds in South Korea, J Wildl Dis., 51(2), 341-347 (2015)
- 8) Ryll, M., et al.: Studies on the prevalence of Riemerella anatipestifer in the upper respiratory tract of clinically healthy ducklings and characterization of untypable strains, J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health., 48(7), 537-46 (2001)