Rhizopus chinensis が分離されたブロイラーの肺 Phycomycosis

戒能 豪* 森川政道* 渡部孝義* 加藤二郎*

(昭和 57 年 3 月 12 日受理)

Isolation of *Rhizopus chinensis* from Broilers with Pulmonary Phycomycosis
TAKESHI KAINO et al. (Central Livestock Hygiene Service Center, Prefecture of Ehime, Matsumae, Ehime 791-31)

SUMMARY

A disease of high fatality had been prevalent among chicks on one broiler farm since the time of introduction into the farm. A flock of 11,000 chicks was reduced to about 69% before it was shipped to the market. Dead birds presented edematous changes and scattered yellowish white nodules of pinhead size in the lung. A number of organisms of *Rhizopus chinensis* Saito were isolated from the lung in all the birds examined. Hyphae presumed to be those of this species were also observed histopathologically in the lung. A diagnosis of pulmonary phycomycosis was made in these birds.

要 約

愛媛県下のAブロイラー養鶏場において、入雛直後から雛の大量死を伴う疾病が発生し、原因を究明した。

1) 1980年9・10月に発生した本症は、入雛11,000羽中、出荷時までに3,400羽(約31%)が死亡した。

2) 異常雛15羽の共通所見は、肺の水腫性変化と、針頭大・黄白色結節の散在であった。

3) これら全例の肺から、*Rhizopus chinensis* Saitoが多量に分離された。

4) 病理組織学的所見から、肺に本菌と思われる無隔菌糸が観察された。

以上の結果から、本症を肺 phycomycosis と診断した。

鶏の *Aspergillus* によるカビ性肺炎の報告例は数多くみられる。しかし、*Rhizopus* に起因するカビ性肺炎の、本邦における報告は見当たらない。

今回、筆者らはブロイラー初生雛の大量死を伴ったカビ性肺炎に遭遇し、原因究明した結果、*Rhizopus chinensis* Saito を分離同定したので以下に報告する。

1. 材 料 お よ び 方 法

元気消失し、うずくまった雛15羽を病理解剖に供し、主要臓器を細菌、ウイルスおよび病理組織学的検査の材料として用いた。

1) 細菌検査

肝、腎、脾、肺、心および脳について、新鮮剖面をハサミで細切し、5% ヒツジ血液寒天培地、普通寒天培地およびサブロー寒天培地にスタンプ培養し、37℃、48時

間培養を試みた。分離菌の同定は文献^{1,4,6,10,12)}に準じて、PDA寒天培地およびサブロー寒天培地を用いて行い、形態学的特徴は、スライド培養法および走査電子顕微鏡により観察した。走査電子顕微鏡による観察は、オスミウム酸で1昼夜固定後、O'Donnellの方法⁸⁾に準じ、処理して行った。

2) ウイルス検査

肝、腎、脾の混合材料、気管と肺の混合材料および脳について、1日齢鶏腎細胞(以下CK細胞)に接種し、5日間隔で3代継代観察した。また同一材料を、10日齢発育鶏卵に接種継代し、さらに各代の尿腔液をCK細胞に接種して観察した。

3) 病理組織学的検査

肝、腎、脾、肺、心および脳について、10%ホルマリン液で固定後、常法により切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色(HE染色)およびグリドリー染色を行い鏡検した。

* 愛媛県中央家畜保健衛生所(愛媛県伊予郡松前町昌農内641)

2. 成 績

1) 発生状況および症状

愛媛県下のAブロイラー養鶏場において、1980年9月から10月にかけて、入雛後3日目(生後4日齢)から、雛の大量死を伴った疾病が発生した。本症により、入雛後18日までに約20%の雛が斃死し、出荷時の死亡率は30.9%であった。過去、A養鶏場においては、同年6月に導入した1群に、臨床症状のよく似た例がみられているが、原因究明はなされていない。建物の構造は、ウインドレス鶏舎で、3棟が並列しており、発生は今回入雛した1棟のみにみられた。

異常鶏の臨床症状は、元気食欲の消失、水様性下痢、大きさの不揃いなどで、異常鶏は茫然佇立し、逐には死に至るが目立った呼吸器症状は観察されなかった。

2) 剖検所見

異常鶏の共通所見は、肺の水腫性変化と、針頭大・黄白色結節の散在であった。その他に腹水の多量貯留、胸腔および腹腔内におけるチーズ様物の付着、腎の腫大、脆弱化などを認めるものがあつた。

3) 細菌検査成績

15検体全例の肺から、血液寒天培地において溶血性を示す白色の真菌様コロニーが分離され(写真1)、そのう

写真1 溶血性を示す *Rhizopus* の集落
(37℃, 20時間 血液寒天)

写真2 成熟した孢子囊 (スライド培養,
コットンブルー染色 ×100)

ちの3例に溶血能のない緑色の真菌様コロニーが混在した。

分離した白色真菌は、サブロー寒天培地上において、37℃, 48時間培養で、直径85mmシャーレ全面に広がるほど生育速度が速く、その白色菌叢は次第にネズミ色に変化し、裏面は帯黄白色で粉末状を呈した。さらに、スライド培養法および走査電子顕微鏡により形態学的特徴を観察すると、菌糸には隔壁がなく、仮根がみられ、仮根の付着部からは孢子囊柄が1~数本出ており、その

写真3 孢子囊の走査電顕像

写真4 柱軸の形態 (スライド培養, コットン
ブルー染色 ×100)

写真5 柱軸の走査電顕像

柄は分岐することなく先端に球形～亜球形の、初め無色で成熟すると黒褐色となる胞子嚢が着生した(写真2・3). 柱軸は亜球形～楕円形を呈し(写真4・5), 胞子は球形～亜球形(径 3.0~6.0 μ m)であり, 接合胞子は認められなかった(写真6・7). また, 仮根と仮根および胞子嚢柄は, 匍匐菌糸で連絡されていた(写真8). なお, PDA 寒天培地を用いた生育温度試験では, 栄養成長を行う温度域は 18~52℃ で, 子実体の形成は約 20~48℃ において観察された.

以上の諸性状から, 本菌を *Rhizopus chinensis* Saito と同定した.

写真6 胞子の形態(直接鏡検 ×400)

写真7 胞子の走査電顕像

写真8 胞子嚢柄を連結している匍匐菌糸(スライド培養, コットンブルー染色 ×100)

また, 混在した緑色の真菌は, スライド培養による形態学的特徴とコロニーの色変化により, *Aspergillus fumigatus* と同定した.

4) ウイルス検査成績

CK 細胞ならびに発育鶏卵の継代観察により, 特異な所見は認められなかった.

5) 病理組織学的所見

15 検体全例の肺において, 強度のうっ血, あるいは気管支内への出血を認め, とくに二次気管支では, 細胞崩

写真9 二次気管支内にみられた隔壁をもたない菌糸(グリドリー染色 ×200)

写真10 二次気管支周囲における肉芽組織の増殖(HE 染色 ×100)

写真11 三次気管支における肉芽組織の増殖(HE 染色 ×100)

壊物ならびに好酸性滲出物を多量に含むものがみられ、その中に隔壁をもたない菌糸を多数認めた(写真9)。また、それら気管支の粘膜上皮は壊死に陥り、原形をほとんどとどめず、その周囲には、類上皮細胞、リンパ球主体の小円形細胞、ならびに多核巨細胞などにより構成される肉芽組織の著明な増殖を認めた(写真10)。さらに三次気管支では多核巨細胞を多数含む肉芽組織の形成が著明で、内部には遊離あるいは、巨細胞に貪食された状態で菌糸を認めた(写真11)。また部位によっては、間質や気管支粘膜固有層の水腫性変化、あるいは偽好酸球の浸潤などもみられた。

3. 考 察

鶏のカビ性肺炎は、*Aspergillus* 属に起因したものが良く知られており、わが国における報告は、本症によるものがほとんどである。しかし、Phycomycosis (*Mucormycosis*) と呼ばれる、ケカビ目、ケカビ科に属する *Rhizopus*, *Absidia* および *Mucor* に起因した鶏の疾病の報告は、わが国においては見当たらず、諸外国においても報告^{2,9,11)}が少なく、肺 Phycomycosis については、MIGAKI らの報告⁷⁾(1969)を見るにすぎない。しかも、この報告では、病理組織学的所見が中心であり、菌種の同定はなされていない。

今回、筆者らが、鶏から分離した *Rhizopus chinensis* は、1904年に斎藤賢道により、台湾白麴から分離・命名^{3,6)}されたカビである。本菌種による鳥類の感染報告は見当たらないが、本菌の生育温度が20~45℃であることと、発育速度が迅速なことから、鶏の肺においても、急速に増殖したものと推察される。今回、15例全例の病理組織学的検査から *Rhizopus* のものと思われる無隔菌糸の発育が観察されたが、*Rhizopus* と混在する *Aspergillus* は、細菌検査により3例に検出されたが、病理組織学的観察からは、分岐した有隔菌糸の寄生発育形態は確認できなかった。このことは、過去の報告等^{5,7)}に記載されている内容と一致した。また、臨床症状についても、*Aspergillus* 症では、開口呼吸、喘鳴などの呼吸器症状が観察されるが、今回の著者らの観察では、そうした呼吸器症状は認

められなかった。このことは、一見健康と思われる鶏において、肺 Phycomycosis が観察されたという報告⁷⁾にみられるように、鶏においては、本症に罹患しても特異な呼吸器症状を発現し難いものと思われる。

以上の所見から、本症を *Rhizopus chinensis* による、肺 Phycomycosis と診断した。

なお、感染経路をはじめ、発症機構については、本菌の自然界における分布も不明確であり、各種ストレスをはじめ、温度、湿度その他の飼養環境が誘因となることも想像される。今後、本菌の血液寒天培地における溶血能が、生体に及ぼす影響など、生体への毒性等についても解明するために、再現試験を実施することが必要と思われる。

終わりにあたり、*Rhizopus* の菌種の同定において終始ご助言をいただいた、三共醸酵研究所の古谷航平博士に深謝いたします。

文 献

- 1) 東 量三：鶏病研究会報，5，167~174 (1969)。
- 2) CHUTE, H. L. and D. C. O'MEARA.: *Avian Dis.*, 2, 154~166 (1958)。
- 3) 斎藤賢道：日本及び近隣地域の醸酵微生物目録，94，大阪醸造学会 (1961)。
- 4) 長谷川篤彦：日獣会誌，31，699~707 (1978)。
- 5) 樋口謙太郎，占部治邦：真菌病学，第1版，221~225 (1964)。
- 6) INUI, T., TAKADA and H. IIZUKA: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 11, 1~108 (1965)。
- 7) MIGAKI, G., K. A. LANGHEINRICH and F. M. GARNER.: *Avian Dis.*, 14, 179~183 (1970)。
- 8) O'DONNELL, K. L.: *Univ. of Georgia, Georgia*, 257 (1979)。
- 9) RIDDELL, C. and R. TOPP: *Avian Dis.*, 16, 118~1122 (1972)。
- 10) 佐々木西二：獣医微生物学 (平戸勝七編)，第3版，838~859 (1968)。
- 11) WEST, J. L.: *Avian Dis.*, 18, 251~254 (1974)。
- 12) ZYCHA, H. and R. SIEPMANN: *J. Cramer, Lehre.*, 355 (1969)。