

# 採卵鶏で発生した鶏ロイコチトゾーン症～遺伝子解析が必要な発生事例～

北部家畜保健衛生所 ○松井 奎吾、小川 大輔、堀 瑛  
中央家畜保健衛生所 因泥 優樹、甲斐田 美菜

鶏の住血性原虫症には、*L. caulleryi* を病原体とする鶏ロイコチトゾーン症、*Plasmodium juxtanucleare* を病原体とする鶏マラリア、*Haemoproteus* 属原虫を病原体とするヘモプロテウス感染症等がある。これらは、いずれも鶏に貧血を引き起こし、鶏冠退色や元気消失、産卵率の低下、緑色下痢便の排泄など似た症状がみられる。鶏の貧血事例における病性鑑定は以下の検査フローに従い実施するが、上記疾病とワクモの寄生あるいは鶏貧血ウイルス症など鶏に貧血を引き起こす疾病との鑑別が必要になる(図1)。Ht値が20%未満で、かつ赤血球中に原虫が認められた場合、住血性原虫症(特に鶏ロイコチトゾーン症)を疑い、農家にはベクターとなるヌカカ対策を実施するよう指導する。しかし今回、住血性原虫症を疑う採卵鶏において、病理組織学検査およびNested PCRを行い上記疾病の鑑別を試みたため、その概要を報告する。

## 1 農場概要及び発生概要

管内採卵鶏農家1戸(飼養規模680羽、平飼い開放鶏舎2棟)において、2023年7月25日にA鶏舎(246日齢、350羽飼養)で食欲および産卵率低下を認め、28日から1~3羽/日が死亡していた。8月1日にB鶏舎(330日齢、330羽飼養)で3羽死亡したため、畜主から当所に連絡があり、同日立入検査を実施した。立入時、A鶏舎から隔離飼育されていた衰弱鶏10羽の内4羽が鶏冠の退色等の症状を呈していた(図2)。A鶏舎のワクモ発生は少なく、発症鶏以外の鶏に異常はみられなかった。群の活力低下も認められなかった。また当該農場は、鶏舎横に細い用水路があり、農場周囲は田園地帯であったため、ヌカカ等の吸血昆虫が発生しやすい環境にあった。

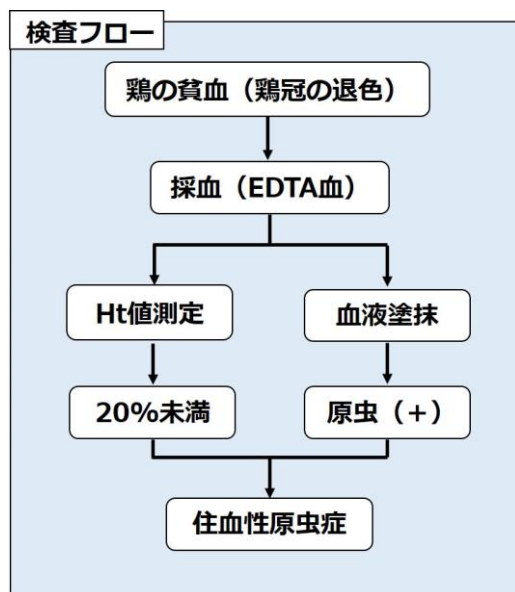


図1 検査フロー



図2 鶏冠の退色

## 2 材料および方法

衰弱鶏 10 羽を採血、Ht 値測定および血液塗抹で原虫の有無を確認した。また死鶏 4 羽について病理解剖を実施、細菌学的検査は主要臓器について定法に従い実施、病理組織学的検査は主要臓器について HE 染色、肝および脾についてギムザ染色を実施した。遺伝子学的検査は、衰弱鶏の末梢血 10 検体と死鶏の脾および肺 4 検体を材料とし、*Leucocytozoon spp.* (以下、*L. spp.*) および *Plasmodium spp./Haemoproteus spp.* (以下、*P/H spp.*) のミトコンドリア DNA cytochrome b 遺伝子を標的とした nested PCR を実施した。

## 3 成績

(1) 血液検査：衰弱鶏はいずれも貧血傾向を示し、10 羽中 4 羽は Ht 値 20% 未満の重度の貧血状態にあった (図 3)。また血液塗抹では、衰弱鶏 10 羽中 2 羽の赤血球に虫体 (メロゾイト) の寄生を確認した (図 4)。

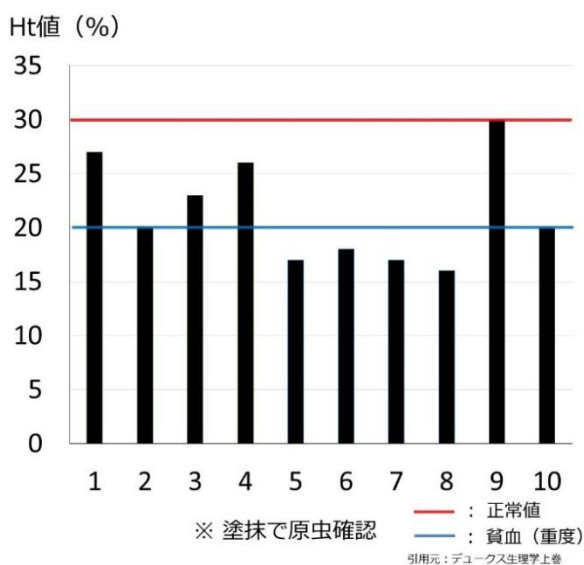


図 3 Ht 値

(2) 剖検所見：死鶏 4 羽の剖検所見は表 1 のとおりで、4 羽中 2 羽に肝臓の軽度腫大や褪色、全羽に脾臓の軽～中等度の腫大や脆弱化、4 羽中 2 羽に腎臓の軽度腫大等がみられた。

(3) 細菌学的検査：全検体有意菌分離陰性。

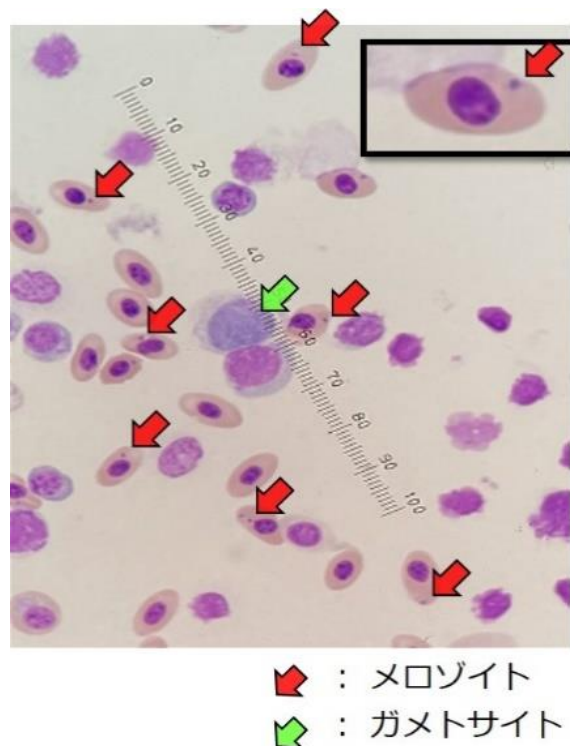


図 4 血液塗抹像

表 1 剖検所見

		No.1	No.2	No.3	No.4
肝	腫大		+	+	
	褪色		+	+	
脾	腫大	+	++	±	±
	脆弱化	+	+	+	
腎	腫大			+	+

(4) 病理組織学的検査：肺では、全検体からロイコチトゾーン第2代シゾン寄生の所見が認められ、ロイコチトゾーン第2代シゾン寄生に伴う肉芽腫性炎がみられた（図5）。また腎臓も4検体中1検体で、肺と同様、ロイコチトゾーン寄生の所見がみられた。肝臓、脾臓には、HE染色およびギムザ染色でマクロファージ内に顆粒状虫体様物が認められた（図6、7）。



図5 病理組織像（肺 HEx200）

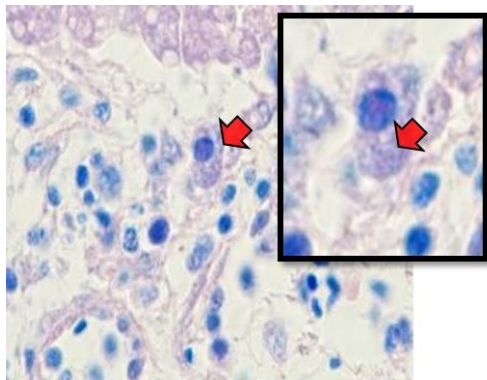


図6 病理組織像（肝 ギムザ染色 x200）

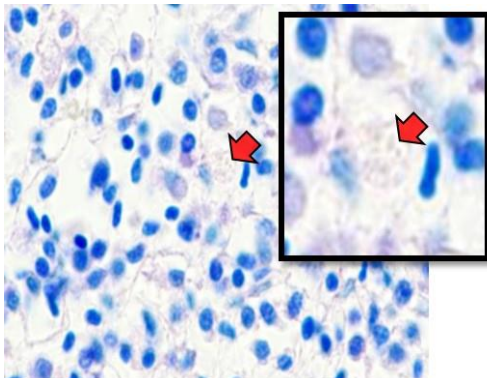


図7 病理組織像（脾 ギムザ染色 x200）

(5) 遺伝子学的検査：衰弱鶏の末梢血 10 検体中 9 検体、死鶏の脾および肺全検体において *P/H spp.* 遺伝子が陽性、*L. spp.* 遺伝子は全て陰性であった（図8-10）。図8の *L. spp.* 遺伝子は、First 産物。

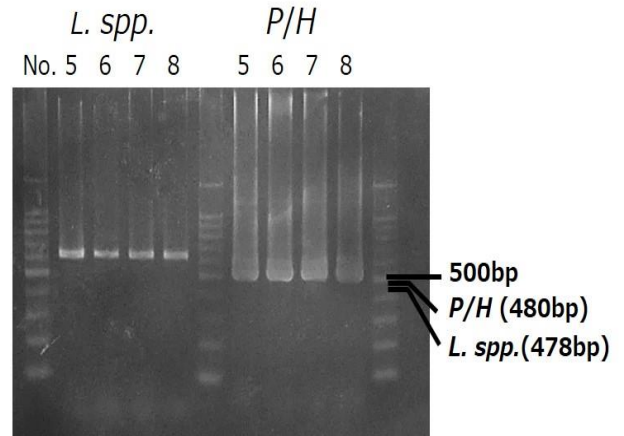


図8 Nested PCR 結果（血液）

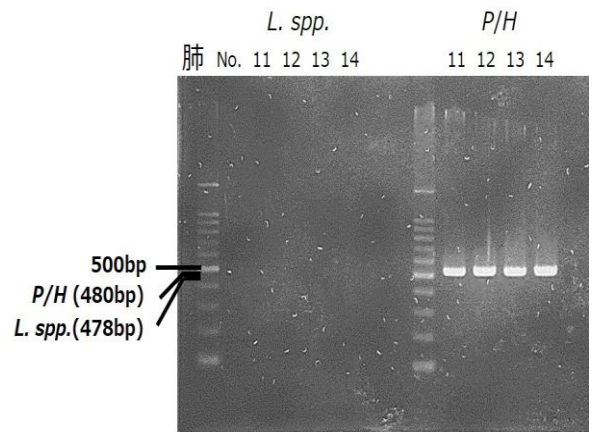


図9 Nested PCR 結果（肺）

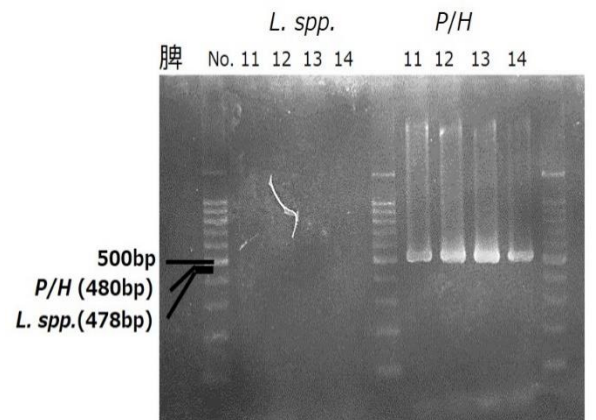


図10 Nested PCR 結果（脾臓）

#### 4 まとめ

本症例は貧血症状を主徴とし、病理組織ではロイコトゾーン原虫を肺および腎臓に認め、Nested PCR では末梢血、脾臓、肺から *P/H spp.* 遺伝子を検出した。このため、当初は鶏ロイコトゾーン症と鶏マラリア又はヘモプロテウス感染症の混合感染と診断した。鶏マラリアとヘモプロテウス感染症を鑑別するため、DNA シークエンス解析を日本大学に依頼し、遺伝子鑑別を実施した。日本大学における Nested PCR では、当所で行った結果と同様、すべて *L. spp.* 遺伝子陰性で、血液 1 検体を除くすべての検体が *P/H spp.* 遺伝子陽性を示したが、DNA シークエンス解析にて、Nested PCR で *P/H spp.* 遺伝子として検出されたものは、全て *L. caulleryi* であったことが明らかになった。

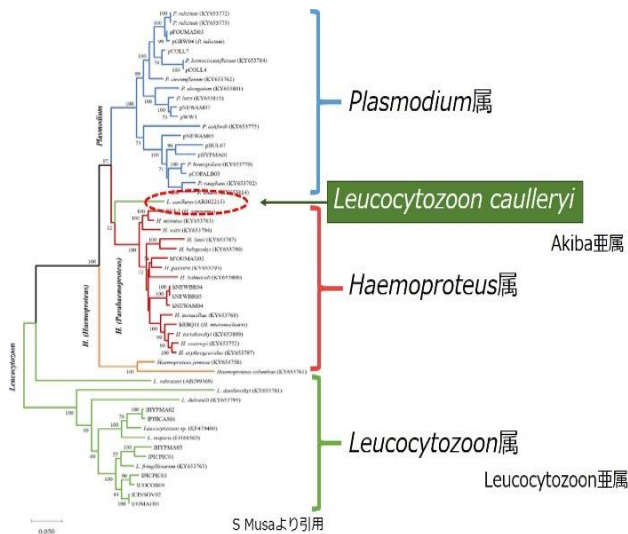


図 11 住血性原虫におけるミトコンドリ DNA cytochrom b を標的とした系統樹

表 2 対策後の効果判定結果

	N0.1	N0.2	N0.3	N0.4
Ht値 (%)	30	33	32	32
血液塗抹での原虫	—	—	—	—
Nested PCR ( <i>L. spp.</i> , <i>P/H spp.</i> )	—	—	—	—

Nested PCR の結果は、DNA シークエンス解析の結果と異なるものであったが、これは *L. caulleryi* が *P/H spp.* に遺伝的に近縁な Akiba 亜属に属しているためと考えられた (図 11) [1]。

今回は死鶏が認められたため、病理組織学的検査を実施することが出来たが、今後、死鶏を認めず採血のみで本症を診断する場合、詳細な遺伝子検査まで行い、鑑別する必要がある。

また、当該農家に対してヌカカ等の吸血昆虫対策と病鶏の隔離飼育徹底等を指導し、1 か月後に実施した効果判定ではすべて Ht 値 30% 以上、血液塗抹および Nested PCR はいずれも陰性であった (表 2)。

#### 引用文献

[1] Mitochondrial genome amplification of avian haemosporidian parasites from single-infected wildlife samples using a novel nested PCR approach. S Musa Parasitology Research, 2023・Springer