

120 鶏マイコプラズマ病〔届〕

担当	検査チャート							
家畜保健衛生所								
病性鑑定施設								
判定・結果	(+) (−)	(−)	(−)	(+) (−)	(−)	(+) (−)	(−)	(+) (−)
最終判定	<p>疫学調査、臨床検査の結果を基に、細菌培養試験、病理組織検査等の結果により総合的に判断する。また、ワクチン未接種鶏であれば、疫学調査、臨床検査の結果と併せ免疫ブロッティングの結果で本病とする。</p>							
その他	<p>1. 分離マイコプラズマの血清型別が必要な場合は、動物衛生研究所等の専門機関に依頼する。 2. 材料送付方法:分離菌を送付する場合は、以下のいずれかの方法で行う。 ・カラーチェンジした液体培養菌を保冷剤と共に冷凍で送付 ・1.8mlの液体培地に0.2ml接種し、培養しないでそのまま室温で送付 ・寒天培地でコロニーを十分発育させたものを4℃で送付</p>							

→類似疾病検査

- 呼吸器病:① 110 ニューカッスル病 ② 115 伝染性気管支炎 ③ 127 伝染性コリーザ
④ 109 高病原性鳥インフルエンザ・低病原性鳥インフルエンザ・鳥インフルエンザ
関節炎:① 130 鶏ブドウ球菌症 ② 129 鶏大腸菌症 ③ 112 鶏サルモネラ症
④ 123 鶏ウイルス性腱鞘炎／関節炎

○ 病原体: *Mycoplasma gallisepticum*、*M. synoviae* (*M. gallisepticum* の方が病原性が強い。)

(1) 疫学調査

(呼吸器病)

- ① ゴロゴロという異常呼吸音、咳、鼻炎を示す。
- ② 症状はゆっくり進行し長く続く。
- ③ 感染率は高いが症状の程度や持続は様々。呼吸器病ウイルスや大腸菌と混合感染すると重症化する。
- ④ 寒冷により重症化、長期化する。成鶏よりも若齢鶏で重症化する。
- ⑤ 産卵鶏ではかなりの産卵低下を示すこともあるが、他の症状は軽い。
- ⑥ 肉用鶏では発育が阻害される。

(関節炎)

希に伝染性の滑膜炎を起こす。

(2) 臨床検査

(呼吸器病)

鼻汁漏出、流涙、異常呼吸音、湿性の咳。不顕性感染も多い。

(関節炎)

足関節と足底の波動性腫脹と跛行

(3) 剖 検

(呼吸器病)

- ① 鼻腔、眼窩下洞に粘液やチーズ様物。気管に粘液。気囊の混濁肥厚。滲出液、チーズ様物、肺の灰白色肝変化
- ② ときに心膜、肝被膜の混濁肥厚

(関節炎)

関節腔等病変部にクリーム様物、チーズ様物

(4) 抗体検査(平板凝集反応、イムノブロットィング)

市販のマイコプラズマ・ガリセプチカム(MG)あるいはマイコプラズマ・シノビエ(MS)急速診断用菌液を用いて全血あるいは血清平板凝集反応を行う。不顕性感染でも抗体が検出される。

不活化ワクチンや生菌ワクチンを接種した鶏も反応するので注意。感染抗体との識別はできない。

マイコプラズマ以外の不活化ワクチン接種後などにみられる非特異反応(MGの場合は血清の凍結によるものも含む。)は、通常反応系に正常馬血清など異種動物血清を1滴混合すると除去できる。

海外では両者のELISAキットが市販されている。

厳密な抗体検査はイムノブロットィングによる。

(5) 細菌培養試験(分離培養)

細菌学上の診断は原因菌の分離培養、性状分析による。

- ① 採材は抗マイコプラズマ薬を投与していない鶏群から採取する。投薬後は分離が困難
- ② 発症鶏は気管、肺、気囊、関節などの病変部滲出物、不顕性感染鶏は鼻腔、眼窩下洞、気管上部など上部呼吸気道粘膜表面を滅菌綿棒でぬぐって採取する。
- ③ 綿棒をまずFreyの寒天培地に塗抹し、次いで2mlのFreyの液体培地に洗い込んで接種する。
- ④ 寒天培地は高湿度の5~10%炭酸ガスふ卵器で37℃3~7日間培養する。
- ⑤ 液体培地はゴム栓をして通常のみ卵器で、37℃で黄色にカラーチェンジするまで、1~2週間培養する。汚染の著しい材料では液体培地を2~3管10倍階段希釈培養するとよい。培地の色が黄変したらその日のうちに寒天培地

に塗抹し、培養する。残った液体培養菌液は PCR 用材料を採取した後、 -60°C 以下に保存する。数年間安定して保存できる。

- ⑥ マイコプラズマであれば、実体顕微鏡下で寒天培地上に目玉焼き状のコロニーが観察される。

(6) 細菌性状分析

鶏の呼吸器からはこの方法で非病原性のマイコプラズマも分離されるので、同定が必要

(分離菌の性状)

菌種	病原性	グルコース分解性	アルギニン分解性
<i>M. gallisepticum</i>	+	+	-
<i>M. synoviae</i>	+	+	-
<i>M. gallinaceum</i>	-	+	-
<i>M. gallinarum</i>	-	-	+
<i>M. iners</i>	-	-	+
<i>M. iowae</i>	-	+	+
<i>M. pullorum</i>	-	+	-

(7) PCR

MG、MSはPCRで同定が可能^{1),2)}。病変材料ではMG、MSを直接検出できる可能性もあるが、通常はカラーチェンジした液体培養菌液からDNAを精製し、検出あるいは同定に使用する方法が確実である。100 μl の液体培養菌液を15,000rpm5分で遠心し、ペレットからキットを使用してDNAを精製しPCRを行う。

(8) 病理組織検査

(呼吸器病)

- ① 呼吸器粘膜組織へのリンパ球の浸潤と粘液腺の過形成による粘膜の著しい肥厚、粘膜下織にリンパ濾胞の過形成
- ② 肺は肺炎、リンパ濾胞の過形成、肉芽腫
- ③ 気嚢は水腫、毛細管の増加、偽好酸球と壊死細胞の付着。重度化すると単球の浸潤、乾酪壊死(関節炎)

足関節によくみられ偽好酸球とフィブリンの浸潤。滑膜の絨毛形成、滑膜下織へのリンパ球とマクロファージの浸潤

その他:

(分離培地)

① Frey の液体培地

PPLO broth w/o CV	2.1 g
蒸留水	80 ml
1%フェノールレッド	0.2 ml
非働化豚血清	12 ml
グルコース	1 g
25%新鮮イーストエキス(自家製)	5 ml
20万単位/ml ペニシリンG	0.5 ml
10%酢酸タリウム	0.5 ml
1%NAD (1%L-システイン塩酸塩で調製)	1 ml

pHを7.6~7.8に調整後、グラスウール製プレフィルターを併用して0.45 μm のメンブランフィルターでろ過滅菌する。
4 $^{\circ}\text{C}$ で1ヵ月、 -20°C で1~2年保存可能。

② Frey の寒天培地

蒸留水30mlで調製した2倍高濃度の液体培地と、オートクレーブ滅菌した2.0%Agar Noble (Difco) 50mlを50 $^{\circ}\text{C}$ で混合して平板を作製する。
--

(血清型別)

クローニング株であれば、発育阻止試験、代謝阻止試験で同定できる。酵素抗体法によるコロニー染色を用いれば分離培養した寒天培地上の未クローニング株をそのまま同定できる。なお、抗血清は市販されていない。血清学的な同定が必要な場合は動物衛生研究所で対応可能

(参考文献)

・OIE マニュアル:

Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed, Vol.1 and 2. OIE (2012).

・国安主税: 鶏病診断(堀内貞治編). 279-308、家の光協会 (1982).

・Keleven, S.H., et al. In: Diseases of Poultry (Saif, Y.M., et al. eds.), 11th ed. 719-774, Iowa state Press, Iowa (2003).

1) Kiss, I., et al.: Vet. Microbiol. 58, 23-30 (1997).

2) Leuerman, L.H., et al.: Avian Dis. 37, 829-834 (1993).