

SPF鶏とIBDV感染鶏の気道内に投与されたCryptosporidium sp.の呼吸器に対する病原性

誌名	動物の原虫病
ISSN	09157506
著者名	西尾,正敏 松井,利博 東原,稔 須永,藤子 並河,和彦 鈴木,嘉彦 本庄,利男 菅野,康則
発行元	動物の原虫病研究会
巻/号	14号
掲載ページ	p. 7-15
発行年月	1999年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



SPF 鶏と IBDV 感染鶏の気道内に投与された *Cryptosporidium* sp. の呼吸器に対する病原性

西尾正敏¹⁾・松井利博²⁾・東原 稔³⁾
須永藤子¹⁾・並河和彦¹⁾・鈴木嘉彦¹⁾
本庄利男¹⁾・菅野康則¹⁾

¹⁾ 麻布大学獣医学部

²⁾ 杏林大学医学部

³⁾ 北里研究所家畜衛生研究所

(1998. 11. 26 受付)

要 約 *Cryptosporidium* (Cr) は鶏の呼吸器や消化器、ファブリキウス嚢に感染し、野外感染例では呼吸器や消化器に病変が認められている。しかしこれら感染鶏は伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス (IBDV) や大腸菌などと混合感染しており、Cr 感染鶏の病変が Cr の病原性のみによるものかは明かではない。また Cr オーストの経鼻投与実験では病原性が認められていない。そこで今回 Cr の呼吸器に対する病原性を明らかにする目的で、SPF 鶏と、IBDV を感染させた SPF 鶏に Cr オーストを経気道投与する実験を行った。その結果、SPF 鶏では 10^4 個以上、IBDV 感染鶏では 10^2 個以上のオーストを経気道投与することにより呼吸器症状や肺炎病巣を示す鶏が認められ、Cr が呼吸器に病原性を持つことが判明した。また、これらの病巣からは *Klebsiella pneumoniae* と *Aerococcus viridans* の 2 菌株が分離されたことから、Cr 感染鶏で認められた肺炎は Cr と菌の共同作用によるものと思われた。

動物の原虫病 No. 14 : 7-15, 1999

緒 論

鶏の *Cryptosporidium* (Cr) の感染部位は、呼吸器⁹⁾ や腸管、ファブリキウス嚢 (F 嚢)⁶⁾ である。野外調査結果から Cr 感染鶏には呼吸器症状や肺炎、気嚢炎が認められている^{7,8)}。しかしこれらの報告では伝染性ファブリキウス嚢病や大腸菌などの混合感染を疑う病変が認められる。一方、実験的な病原性に関する報告は^{2,10)} 少なく、オーストの経鼻感染実験例において、Cr は気管に感染するが、臨床症状や病巣の形成はないと報告されており、現在、呼吸器における Cr の病原性は不明である。

そこで今回、著者らは Cr の呼吸器における病原性を明らかにする目的で、SPF 鶏と伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス (IBDV) 感染鶏にオーストを経気道投与

し、Cr の呼吸器における病原性を確認した。

材料及び方法

供試鶏：

SPF の初生雛 (商品名：ライン-S) を 54 羽用いた。

IBDV 株：

北里研究所で継代維持されている高度病原性 IBDV 株である佐賀 1/91 株を用いた。なお IBDV 感染の確認は F 嚢の解剖所見と病理検索による。

IBDV の感染量：

接種直前に、 -80°C で保存されているウイルス乳剤を力価が $100 \text{ EID}_{50}/\text{ml}$ になるように滅菌 PBS で希釈した。

Cr 株：

ITAKURA *et al.*⁵⁾ が鶏より採取し、当研究室において継代維持している株を用いた。

Cr オーストの調整：

オーストは蔗糖浮遊法により分離し、分離したオーストは滅菌生理食塩水 0.1 ml 中に 10^2 個、 10^3 個、 10^4 個、 10^6 個含まれるように調整した。

¹⁾ 〒229-8501 神奈川県相模原市淵野辺 1-17-71
Tel : 042-754-7111

²⁾ 〒181-0004 東京都三鷹市新川 6-20-2
Tel : 0422-47-5511

³⁾ 〒364-0026 埼玉県北本市荒井 6-111
Tel : 048-593-3939

Table 1. Time for inoculation of IBDV (infections bursal disease virus) and *Cryptosporidium* oocysts, observation of clinical signs and autopsy of chickens

Experimental groups	Experimental days							
	0	...	7	8~27	28			
	No. of chickens	IBDV-inoculation	Oocysts inoculation (dose)					
Cr 10 ⁶	18	6	—	+	(10 ⁶)			
Cr 10 ⁴		6	—	+	(10 ⁴)			
Cr 10 ³		6	—	+	(10 ³)			
IBDV + Cr 10 ⁶	24	6	+	...	+	(10 ⁶)	Observation	Autopsy
IBDV + Cr 10 ⁴		6	+	+	(10 ⁴)			
IBDV + Cr 10 ³		6	+	+	(10 ³)			
IBDV + Cr 10 ²		6	+	+	(10 ²)			
Non-treated control	6	—	—	—	—	—	—	
			...			Observation	Autopsy	
IBDV-infected control	6	+	—	—	—	—	—	

IBDV とオーシストの投与方法 (Table 1) :

初生雛 54 羽を大きく 4 群に分けた。その内訳は、Cr のみを投与する 18 羽、IBDV と Cr を投与する 24 羽、無処置対照と IBDV 感染対照のそれぞれ 6 羽とした。

IBDV と Cr オーシストを投与する 24 羽には、まず滅菌 PBS で希釈した IBDV 乳剤の 1 ml を経口投与し (実験 0 日目として)、さらに、実験開始後 7 日目に 6 羽ずつのそれぞれの群に 10² 個、10³ 個、10⁴ 個、10⁶ 個の Cr オーシストを経口投与針を用いて気道内に投与した。

Cr オーシストのみを投与する 18 羽には実験開始日の 0 日に滅菌 PBS を 1 ml 経口投与し、さらに実験開始後 7 日目に 6 羽ずつのそれぞれの群に 10³ 個、10⁴ 個、10⁶ 個の Cr オーシストを経口投与針を用いて気道内に投与した。

無処置対照群には実験開始日の 0 日にウイルス希釈に用いた希釈液を 1 ml 経口投与した後、実験開始後 7 日目にオーシスト希釈液を 0.1 ml 気道内に投与した。

IBDV 感染対照群には実験開始日の 0 日に希釈 IBDV 液を 1 ml 経口投与した後、実験開始後 7 日目にオーシスト希釈液を 0.1 ml 気道内に投与した。

Cr 感染鶏の観察 :

実験開始後 8 日目より 27 日目までの 20 日間に各鶏群の臨床症状の観察と OPG の測定を行なった。実験終了後、実験に使用した鶏は全て剖検し、気管や肺は 10% ホルマリンで固定後、常法に従って組織標本を作製し観察を行なった。さらに、臨床症状を示した Cr 10⁶ 個投与群の鶏と、無処置対照群の鶏は気管と肺の病巣から菌の分離を試みた。

結 果

臨床症状 :

オーシストを投与した翌日から 20 日間、各鶏群の臨床症状を観察した結果を Table 2 と Table 3 に示した。Cr オーシストのみを投与した群では、10⁶ 個投与群 (Cr 10⁶ 群) と 10⁴ 個投与群 (Cr 10⁴ 群) に症状が観察された。症状の初発日は Cr 10⁶ 群では 15 日目、Cr 10⁴ 群では 16 日目であった。各群における症状の発生率は Cr 10⁶ 群で 50%、Cr 10⁴ 群で 33% であった。

一方、IBDV と Cr 投与した群においては Cr オーシスト 10⁶ 個~10² 個を投与した全ての群で症状が観察された。症状の初発日は IBDV + Cr 10⁶ 群では 15 日目、IBDV + Cr 10⁴ 群では 16 日目、IBDV + Cr 10³ 群では 18 日目、IBDV + Cr 10² 群では 17 日目であった。各群における症状の発生率はそれぞれ 50%、50%、33%、33% であった。このことから、Cr オーシストのみ投与する場合は、オーシストを 10⁴ 個以上投与しなければ症状が発現しなかったのに対し、IBDV と共に Cr オーシストを投与した場合はオーシストを 10² 個以上投与すれば症状が発現した。

発症鶏に認められた症状 (Table 3) はくしゃみ、呼吸異常音、元気消失、羽毛逆立、うずくまりなどであったが、死亡鶏は認められなかった。なお、Cr 10³ 群、無処置対照群、IBDV 感染対照群の各鶏に臨床症状は認められなかった。

オーシスト排泄数 :

糞便中に排泄された各鶏群のオーシスト排泄状況を

Table 2. Incidence and number of clinical chickens

Experimental groups	No. of chickens	Experimental days									
		8	...	14	15	16	17	18	19	20	21
Cr10 ⁶	6	—	—	(4)*	(4, 5)	(4, 5)	(4, 5)	(2, 4, 5)	(4, 5)	(2, 4, 5)	
Cr10 ⁴	6	—	...	—	—	(2, 6)	(2, 6)	(2)	(2)	(2)	(2, 6)
Cr10 ³	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
IBDV+Cr10 ⁶	6	—	—	(1)	(1, 5)	(1, 2, 5)	(1, 2, 5)	(1, 2, 5)	(1, 2, 5)	(1, 2, 5)	
IBDV+Cr10 ⁴	6	—	—	—	(6)	(6)	(6)	(4, 6)	(4, 6)	(4, 6)	
IBDV+Cr10 ³	6	—	...	—	—	—	(1)	(1)	(1)	(1)	
IBDV+Cr10 ²	6	—	—	—	—	(3, 4)	(4)	(3, 4)	(3, 4)	(3, 4)	
Non-treated control	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
IBDV-infected control	6	—	...	—	—	—	—	—	—	—	

Table 2. (continue)

Experimental groups	No. of chickens	Experimental days						Total number of chickens	Morbidity (%)
		22	23	24	25	26	27		
Cr10 ⁶	6	(4, 5)	(2, 4, 5)	(2, 4, 5)	(4, 5)	(4, 5)	(4, 5)	3	50
Cr10 ⁴	6	(2, 6)	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)	2	33
Cr10 ³	6	—	—	—	—	—	—	0	0
IBDV+Cr10 ⁶	6	(1, 2, 5)	(1, 2, 5)	(1, 2, 5)	(1, 2, 5)	(1, 2, 5)	(1, 2, 5)	3	50
IBDV+Cr10 ⁴	6	(4, 6)	(6)	(4, 6)	(2, 4, 6)	(2, 4, 6)	(2, 4, 6)	3	50
IBDV+Cr10 ³	6	(1)	(1, 3)	(1, 3)	(1, 3)	(1, 3)	(1, 3)	2	33
IBDV+Cr10 ²	6	(3, 4)	(3, 4)	(3, 4)	(3, 4)	(3, 4)	(3, 4)	2	33
Non-treated control	6	—	—	—	—	—	—	0	0
IBDV-infected control	6	—	—	—	—	—	—	0	0

* Chicken No. is shown in parenthesis.

Table 3. Number of clinical chickens in experimental groups of 6 birds each and their clinical signs

Clinical signs	Experimental groups								
	Cr10 ⁶	Cr10 ⁴	Cr10 ³	IBDV+Cr10 ⁶	IBDV+Cr10 ⁴	IBDV+Cr10 ³	IBDV+Cr10 ²	Non-treated control	IBDV-infected control
Sneezing	3*	2	0	3	2	2	2	0	0
Abnormal respiratory sound	1	1	0	1	1	1	0	0	0
Depression	2	2	0	2	1	1	0	0	0
Ruffed feather	1	0	0	1	1	0	0	0	0
Squatting	1	0	0	1	1	0	0	0	0

* Number of clinical Chickens

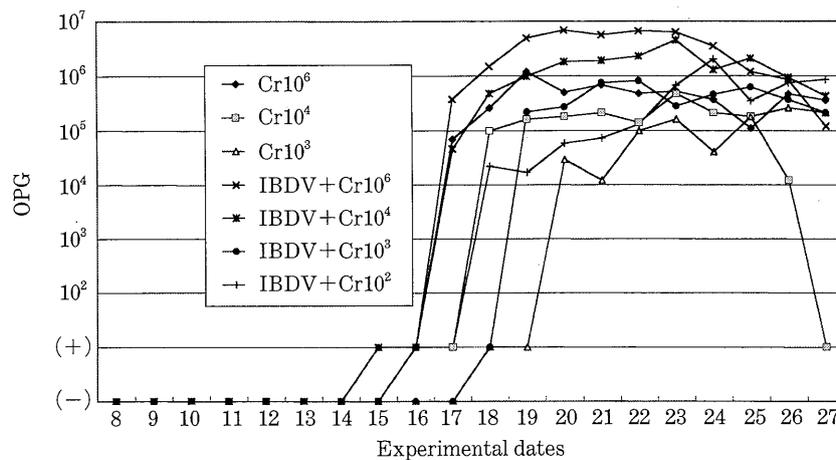


Fig. 1. Fluctuation of OPG (oocysts per gram of feces) in experimental chickens

Fig. 1 に示した, Cr10⁶群と IBDV+Cr10⁶群は実験開始後 15 日目, Cr10⁴群と IBDV+Cr10⁴群・IBDV+Cr10²群は 16 日目, Cr10³群と IBDV+Cr10³群は 18 日目に初めて糞便中からオーシストが検出された. その後, 各鶏群の最大オーシスト排泄数 (OPG) は Cr10⁶群が実験開始後 19 日目に 1.2×10^6 , Cr10⁴群が 23 日目に 4.8×10^5 , Cr10³群が 26 日目に 2.6×10^5 , IBDV+Cr10⁶群が 20 日目に 6.8×10^5 , IBDV+Cr10⁴群が 23 日目に 4.5×10^5 , IBDV+Cr10³群が 22 日目に 8.1×10^5 , IBDV+Cr10²群が 27 日目に 8.5×10^5 であった. なお, 無処置対照群, IBDV 感染対照群の糞便からオーシストの排泄は観察されなかった.

解剖所見:

各鶏群は実験が終了した翌日 (28 日目) に剖検し, その結果を Table 4 に示した. Cr オーシストのみを投与した鶏群のうち Cr10⁶投与群には気管内粘液の増量 (2 羽), 気管内の泡沫貯留 (1 羽), 肺炎 (3 羽), 気嚢炎 (4 羽) が観察された. さらに F 嚢肥大 (4 羽) が観察され

た. Cr10⁴投与群において気管内の泡沫貯留は認められず, 気管内の粘液増量, 肺炎, 気嚢炎, F 嚢の肥大等の病変は認められたが, その羽数は減少していた. Cr10³群では呼吸器の病変は観察されず, F 嚢の肥大が 2 羽に認められた. IBDV と Cr を投与した群のうち IBDV+Cr10⁶群には気管内の粘液増量 (2 羽), 気管内の泡沫貯留 (2 羽), 肺炎 (3 羽), 気嚢炎 (3 羽) が観察された. さらに胸腺の萎縮 (4 羽), F 嚢の萎縮 (5 羽), F 嚢のヒダの肥大 (1 羽) が観察された. IBDV+Cr10⁴群の鶏に気管内の泡沫貯留は認められなかった. 胸腺や F 嚢の萎縮は認められたが, その羽数は減少していた. IBDV+Cr10³群では気管内の泡沫貯留が 1 羽に観察された. 気管内の粘液増量, 肺炎, 気嚢炎は認められたが, その羽数は減少した. IBDV+Cr10²群では気管内の泡沫貯留は認められなかったが, 肺炎と気嚢炎は認められた. 胸腺や F 嚢の萎縮は全鶏で観察された. IBDV 感染対照群では胸腺や F 嚢の萎縮のみが全鶏で観察された. 無処置対照群に病変は認められなかった.

Table 4. Autopsy findings in experimental groups

Findings	Experimental groups								
	Cr10 ⁶	Cr10 ⁴	Cr10 ³	IBDV+ Cr10 ⁶	IBDV+ Cr10 ⁴	IBDV+ Cr10 ³	IBDV+ Cr10 ²	Non-treated control	IBDV-infected control
Increased mucus in trachea	2*	1	0	2	2	1	1	0	0
Foamy accumula- tion in trachea	1	0	0	2	0	1	0	0	0
Pneumonia	3	2	0	3	3	2	3	0	0
Airsaculitis	4	1	0	3	3	1	2	0	0
Atrophy of thymus	0	0	0	4	3	3	4	0	6
Atrophy of bursa of Fabricius	0	0	0	5	4	4	6	0	6
Atrophy of inner folds of fabricius	0	0	0	5	4	4	6	0	6
Hypertrophy of fabricius	4	2	2	0	0	1	0	0	0
Hypertrophy of bursal inner folds	4	2	2	1	2	2	0	0	0

* Number of clinical Chickens

組織所見:

Cr オーストを投与し、呼吸器症状を示した鶏の気管の粘膜上皮 (Fig. 2) には多数の Cr 虫体が観察され、粘膜下には偽好酸球やリンパ球などの浸潤も見られた。上皮細胞の線毛は減少し、加えて上皮細胞の腫大・増生による上皮の重層化が認められた。気管支 (Fig. 3) の粘膜下には強い細胞浸潤が認められ、気管支壁の肥厚が見られた。気管支や旁気管支腔はオーストやリンパ系細胞などが充満し (Fig. 5)、肺炎病巣を形成 (Fig. 6) している像も認められた。

Cr オーストを投与し、呼吸器症状を示さなかった鶏の気管や気管支腔内にオーストやリンパ系細胞が見られた。気管や気管支の上皮細胞 (Fig. 7, 8) は腫大・増生し、線毛の減少が認められ、粘膜下に偽好酸球やリンパ球などの浸潤が認められた。無処置対照群ならびに IBDV 投与群の鶏の気管や肺 (Fig. 9~11) に著変は認められなかった。

IBDV を投与した全ての鶏で F 囊内のリンパ球は消失し粘膜ヒダが菲薄化していた。この事から全鶏に IBDV の感染が成立したと判断された。

気管及び肺病巣からの菌の分離:

今回、Cr オーストを投与した鶏群のうち、Cr10⁶群 (3羽)、Cr10⁴群 (2羽)、IBDV+Cr10⁶群 (3羽)、IBDV+Cr10⁴群 (3羽)、IBDV+Cr10³群 (2羽)、IBDV+Cr10²群 (3羽) に化膿性の肺炎病巣が確認された。そこで、病巣内の細菌の有無を知る目的で、Cr10⁶群のうち化膿病巣を形成した3羽の肺病巣部からの菌分離を行なった

結果 (Table 5)、*Klebsiella pneumoniae* と *Aerococcus viridans* の2種類の菌が分離でき、またこれらの菌は無処置対照群の気管からも分離された。

考 察

鶏由来 *Cryptosporidium* の野外症例では、呼吸器や消化器に病変を生ずるといわれており、呼吸器の解剖所見から肺炎病巣の形成が認められている⁴⁾。

OGIMOTO *et al.*¹⁰⁾ や福田ら²⁾ は、Cr の病原性を経鼻投与実験によって証明しようとしたが臨床症状や呼吸器の病変は観察されず、呼吸器への病原性は確認されなかった。しかし、今回著者らが、Cr オーストを気道内に投与し、Cr の病原性を確認する実験を行なった結果、Cr オーストを10⁴個以上、気道内に投与すれば、投与された鶏の33~50%に野外症例と同様の呼吸器症状が認められた。これら呼吸器症状を示した鶏の気管や気管支の粘膜上皮にはCrの発育期虫体が認められた。粘膜上皮の線毛は減少し、上皮細胞の腫大・増生により上皮は重層化していた。さらに気管や気管支の粘膜下に多量の細胞浸潤が見られた。また気管支腔内に多数のオーストやリンパ系細胞が充満した肺炎病巣を形成していた。これらの結果から、Crは呼吸器に対して病原性を持つことが明らかとなった。

IBDV と Cr とが混合感染した場合における Cr の病原性を検討した結果、Cr のみを投与した鶏では病原性の発現に必要な投与オースト数が10⁴個であったのに対し、IBDV と Cr を投与した鶏では10²個の投与で、Cr

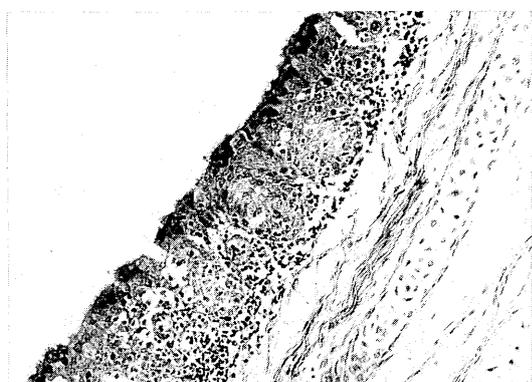


Fig. 2.



Fig. 6.

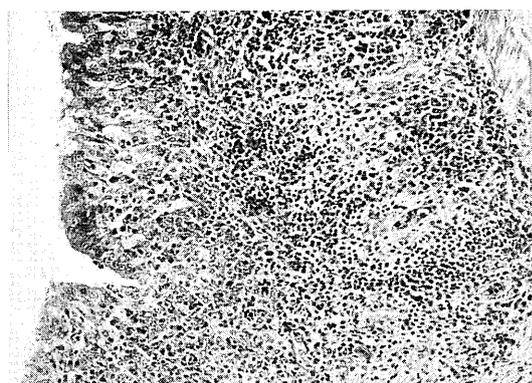


Fig. 3.

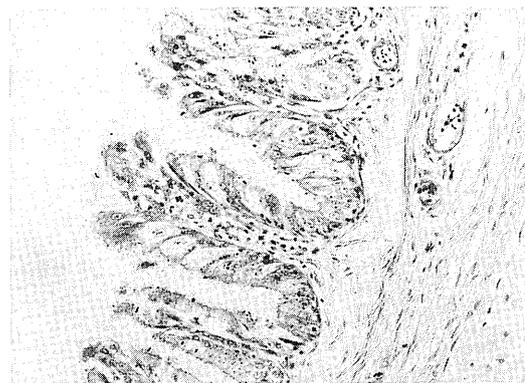


Fig. 7.

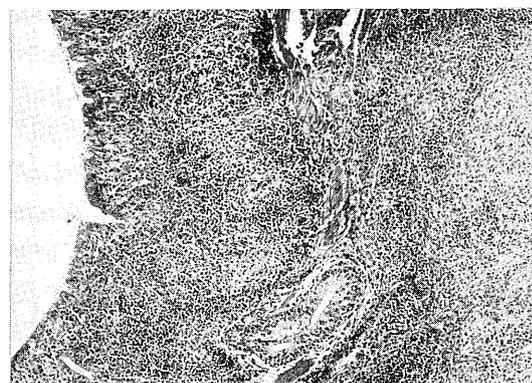


Fig. 4.

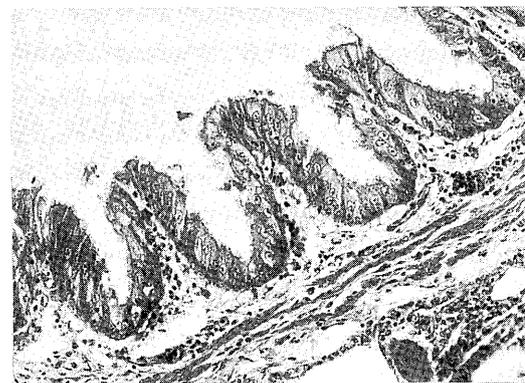


Fig. 8.

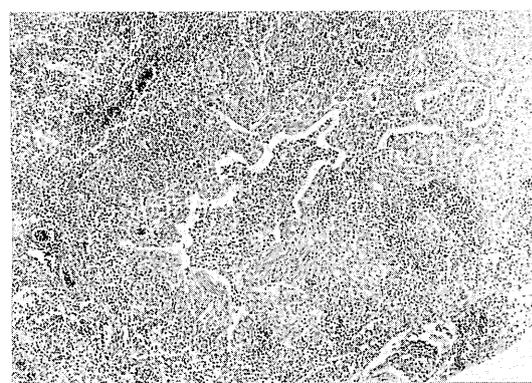


Fig. 5.

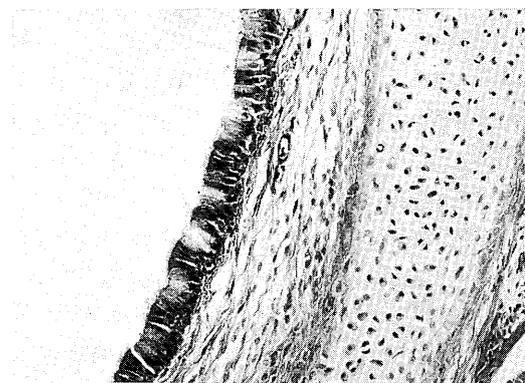


Fig. 9.

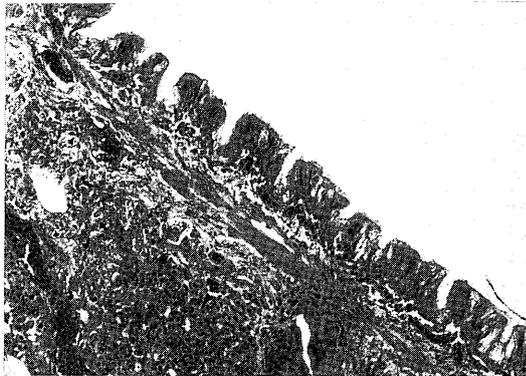


Fig. 10.

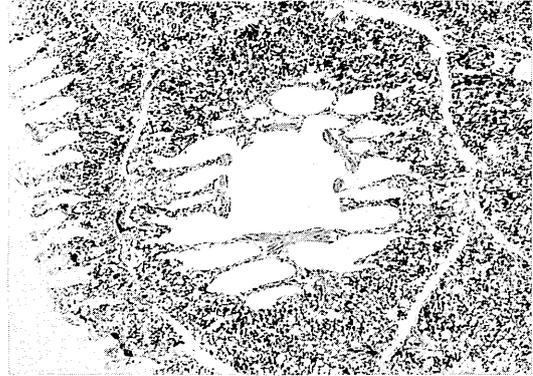


Fig. 11.

Figs. 2-8. Histopathological findings in Cr-10⁶ group of chickens.

Fig. 2. Tracheal findings of a chicken with respiratory signs. Many parasites are seen on the deciliated mucous epithelium. The stratified epithelial cells are hypertrophic and hyperplastic. Cellular infiltration appears under the mucous membrane. (×700)

Fig. 3. The similar findings to those in Fig. 2. Many parasites appear on the deciliated mucus epithelium. In addition to phypertrophy and hyperplasia of the epithelium, pseudo-eosionphils are seen. Intensive cellular infiltration occurs under the mucous membrane. (×700)

Fig. 4. The findings similar to those in Fig. 2. Hypertrophy and hyperplasia of the mucous epithelium and stratification of the epithelial cells are observed. Intensive cellular infiltration is present under the thickened mucous membrane. (×350)

Fig. 5. Histopathological figure of the bronchus and its surrounding tissue. Many Cr-like organisms are present in the bronchus together with pseudo-eosinophils and macrophages. (×350)

Fig. 6. The figure similar to that of Fig. 4. The bronchus is filled with many oocysts, pseudo-eosinophils and macrophages and the surrounding tissue is also highly infiltrated. (×350)

Fig. 7. Histopathological figure of the bronchus of a chicken without respiratory signs. Many parasites are seen on the deciliated epithelium and the mucous epithelium is hypertrophic and hyperplastic. Slight cellular infiltration is seen under the mucous membrane. (×700)

Fig. 8. Similar figure to that in Fig. 7. Many parasites are found on the deciliated mucous epithelium, the cells of which hypertrophic and hyperplastic. The mucous membrane is lost in part and slight cellular infiltration is seen under the membrane. (×700)

Figs. 9-11. Histopathological findings in the non-treated control of chickens.

Findings of the trachea, bronchus, and bronchus and its surrounding tissue are shown in Fig. 9. (×350), Fig. 10. (×700) and Fig. 11. (×350), respectively.

のみを投与した鶏と同様の症状や病変が観察された。このように投与オーシスト量が少量でも感染が成立し、発症した理由として、IBDVに感染した鶏は免疫が低下す

るため、Crの定着、増殖が増強されるからだと考えられる^{3,11,12)}。従って野外ではIBDVに感染している鶏から頻繁にCrが検出されるものと考えた。

Table 5. Bacteria isolated from the trachea and pulmonary

Species	Cr10 ⁶ group						Non-treated control		
	No. 1		No. 2		No. 3		No. 1	No. 2	No. 3
	Trachea	Pulmonary lesion	Trachea	Pulmonary lesion	Trachea	Pulmonary lesion	Trachea	Trachea	Trachea
<i>Aerococcus viridans</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	+
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	-	-	+	-	+	-	+	+	-
<i>Enterococcus gallinarum</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	-
<i>Enterococcus faecium</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	+
<i>Enterococcus avium</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella ozaenae</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Lactobacillus</i> sp.	+	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	+
<i>Staphylococcus</i> sp.	-	-	+	-	+	-	+	+	-

これまでの報告では、混合感染の病原体の検出にとどまり、呼吸器症状を示した鶏の病巣内の細菌叢を検索したものはなかった。そこで、実験感染によって生じた病巣内の細菌の有無を調べた結果、化膿病巣からは *Klebsiella pneumoniae* と *Aerococcus viridans* の2種の菌が分離された。これらの菌は無処置対照群からも分離されたことから、肺の常在菌だと思われるが、これらの菌が、Crの感染による粘膜上皮細胞の障害によって異常に増殖するという、Crと常在菌の共同作用の結果として肺炎病巣を形成したと思われる。

文 献

- 1) 福田輝俊・森尾 篤・宮本修治 (1987) 長崎県下の養鶏場における *Cryptosporidium* 感染症, 鶏病研報, **23**, 26-30.
- 2) 福田輝俊・山口雅之・宮本修治 (1987) ニワトリ由来 *Cryptosporidium* のニワトリ, マウス及びモルモットに対する感受性, 鶏病研報, **23**, 217-219.
- 3) 平井克哉 (1979) 鶏伝染性ファブリキウス嚢病—最近の研究と将来の展望—, 鶏病研報, **15**, 23-40.
- 4) 板倉知敏 (1984) 鳥類のクリプトスポリジウム感染について, 鶏病研報, **20**, 111-122.
- 5) ITAKURA, C., GORYO, M. and UMEMURA, T. (1984) Cryptosporidial infection in chickens. Avian Pathol. **13**, 487-499.
- 6) ITAKURA, C., NAKAMURA, H., UMEMURA, T. and GORYO, M. (1985) Ultrastructure of Cryptosporidial life cycle in chicken host cells. Avian Pathol. **14**, 237-249.
- 7) 北野良夫・横峯 弘・長谷 学・溝下和則・豊満義邦 (1989) 鹿児島県下に見られた鶏のクリプトスポリジウム寄生, 鶏病研報, **25**, 26-34.
- 8) 西川比呂志・高瀬公三・山田進二 (1984) 鶏の *Cryptosporidium* 寄生例, 日獣会誌, **37**, 667-669.
- 9) 西尾正敏・松井利博・渡邊忠男・斉藤紀子・並河和彦・須永藤子・菅野康則 (1997) 鶏に経気道感染させた *Cryptosporidium* sp. 虫体の発育, 動物の原虫病, **11**, 18-24.
- 10) OGIMOTO, K., INAMOTO, T., SOGA, T. and ITAKURA, C. (1987) Experimental infection of chickens with *Cryptosporidium*. Zbl. Bakt. Hyg. A **264**, 343-347.
- 11) 大滝与三郎 (1992) 伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスの免疫抑制, 鶏病研報, **28** 増, 41-50.
- 12) 湯浅 襄 (1978) 鶏疾病に及ぼす伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスの影響 (実験例について), 鶏病研報, **14**, 47-53.

Pathogenicity of *Cryptosporidium* sp. Inoculated
into the Trachea of SPF and IBDV-infected Chickens

Masatoshi NISHIO¹⁾, Toshihiro MATSUI²⁾, Minoru HIGASHIHARA³⁾,
Fujiko SUNAGA¹⁾, Kazuhiko NAMIKAWA¹⁾, Yoshihiko SUZUKI¹⁾,
Toshio HONJO¹⁾ and Yasunori KANNO¹⁾

¹⁾ School of Veterinary Medicine, Azabu University, 1-17-71
Fuchinobe, Sagami-hara, Kanagawa 229-8501, Japan

²⁾ Kyorin University School of Medicine, 6-20-2 Shinkawa,
Mitaka, Tokyo 181-0004, Japan

³⁾ Research Center for Veterinary Science, The Kitasato Institute,
6-111 Arai, Kitamoto, Saitama 364-0026, Japan

Abstract

Cryptosporidium (*Cr.*) spp. infect the respiratory and digestive tracts of chickens and develop pathological changes in these organs in the field clinical cases. In these case it is not clear whether the changes are produced by *Cr.* organisms alone or not, because complications with infectious bursal disease virus (IBDV) and/or coliform bacteria are frequently observed. Experimental nasal inoculation of *Cr.* oocysts to chickens could not prove the pathogenicity in the respiratory system. In this study SPF chickens and those previously infected with IBDV were intratracheally inoculated with *Cr.* oocysts to elucidate the pathogenicity to the respiratory organs. As a result, inoculum doses of more than 10^4 and 10^2 oocysts were necessary to develop respiratory clinical signs and neumonic lesions in SPF chickens and those previously infected with IBDV, respectively. This show that *Cr.* organism itself has pathogenicity to the respiratory organs and pneumonia in the inoculated chickens is considered to be produced by both *Cr.* and the following bacteria, because *Klebsiella pneumoniae* and *Aerococcus viridans* were isolated from the lesions.

Journal of Animal Protozooses No. 14 : 7-15, 1999

Key words : chickens, *Cryptosporidium*, infectious bursal disease, intratracheal inoculation, pathogenicity