

14 展示施設で発生したシラコバトの *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症

中央家畜保健衛生所

○北島 絵理子・平野 晃司・荒井 理恵

I はじめに

Yersinia pseudotuberculosis 感染症は、仮性結核とも呼ばれ、ヒトに下痢や腹痛などの胃腸炎症状を引き起こす人獣共通感染症である。動物の場合、多くは不顕性感染であり、ときに七面鳥、ノネズミ、サルなどに発症がみられる¹⁾が、今回、シラコバトで本症と診断した事例について報告する。シラコバトは、日本では埼玉県とその周辺に生息しており、国の天然記念物に指定されている²⁾。

II 発生概要

1 発生場所

当該施設は、県内の展示施設である。施設内のフライングケージでは、シラコバト 40 羽以外にオオフラミンゴやシロトキ、カルガモ等の鳥類が 9 種類飼育されていた。ケージ内には、一般客が入り、これらの鳥類を間近で観察することができる。また、当時、これらの鳥類には飲水として井戸水が給与されており、ケージ内にはノネズミの侵入が確認されていた。

2 発生経過

平成 25 年 12 月 2 日の朝、シラコバト 1 羽が死亡しているのが発見された。当該施設の管理獣医師が開腹したところ、肝臓全域に黄白色点の散在を認めたため、抗酸菌症を疑い、同日午後には病性鑑定を依頼された。平成 25 年 12 月 24 日、さらに 1 羽の死亡が確認され、同様に病性鑑定を実施した。

III 材料および方法

1 材料

材料はシラコバトの死体 2 検体（ともに成鳥の雌）で、平成 25 年 12 月 2 日に死亡した 1 羽を No. 1、同年 12 月 24 日に死亡した 1 羽を No. 2 とした。

2 方法

(1) 病理学的検査

剖検し、病理組織学的検査を実施した。病理組織学的検査では、10%中性緩衝ホルマリン液浸漬後の諸臓器を用いて、ヘマトキシリン・エオジン染色(HE 染色)での一般染色を行った。また、肝臓、脾臓、肺を材料に、PTAH 染色、グラム染色、アザン染色、チール・ネルゼン染色、グロコット染色、ベルリンブルー染色、コンゴレッド染色での特殊染色および抗 *Y. pseudotuberculosis* 家兔血清を用いた免疫組織化学的検査を行った。コンゴレッド染色した標本は偏光顕微鏡下での鏡検を行った。

(2) 細菌学的検査

肝臓、脾臓および肺のスタンプ標本を作製し、チール・ネルゼン染色後、鏡検を行った。主要臓器(肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺および脳)を材料に 5%羊血液加コロンビア寒天培地(5%CO₂ 培養、48 時間、37°C および好気培養、24 時間、25°C) および DHL 寒天培地(好気培養、24 時間、37°C および 25°C) で分離培養を行った。分離菌は、一次性状・簡易同定キット(アピ 20E)による同定後、一濃度ディスク法(ABPC、CEZ、KM、GM、SM、CL、OTC、CP、ST、NFLX、ERFX)により薬剤感受性試験を行った。血清型別は、*Y. pseudotuberculosis* O 群抗血清を用いて、スライド凝集法により実施(東京農工大学に依頼)した。

(3) ウイルス学的検査

No. 1、No. 2 の気管スワブおよびクロアカスワブを抗生物質添加 Eagle's MEM(日水製薬(株)) 2ml に浸漬し、乳剤とした。乳剤を 9~11 日齢発育鶏卵の尿膜腔内に接種し、37°C で 2 代 7 日間培養、鶏胚の異常の有無を確認した。また、培養後、尿膜腔液を採取、鶏赤血球を用いて赤血球凝集試験(HA 試験)を実施した。

IV 検査成績

1 病理学的検査

(1) 剖検所見

No. 1 および No. 2 には、脱羽、外傷はなかった。2 羽ともに肝臓、脾臓および肺に針頭大黄白色点の散在を認め(図 1)、筋胃には食渣が充満していた。その他の臓器に著変は認められなかった。

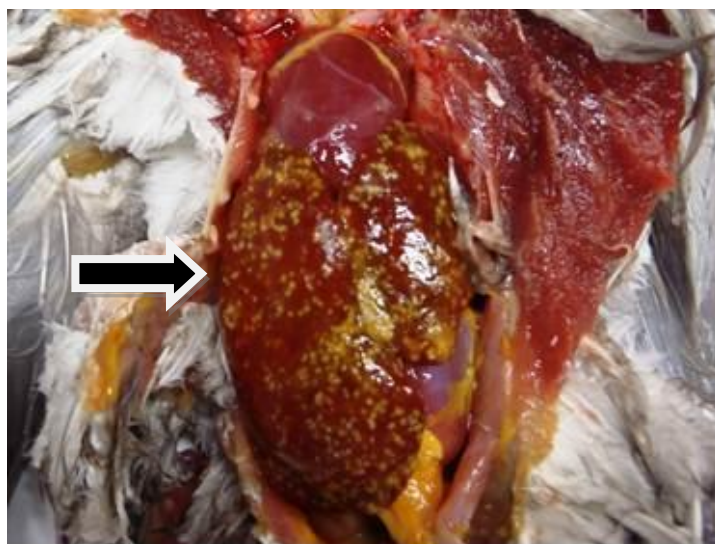


図 1 : 肝臓に散在する黄白色点

(2) 組織所見

No. 1 および No. 2 の所見はほぼ同様であった。肝臓では、多発性巣状壊死が認められた(図 2)。壊死巣は、中心部に菌塊、細胞退廃物を含み、その周囲には線維素の析出、偽好酸球、マクロファージおよび巨細胞の浸潤がみられた(図 3)。壊死巣中心部の菌塊は、グラム陰性桿菌であり、抗 *Y. pseudotuberculosis* 家兎血清を用いた免疫組織化学的検査では、陽性反応が認められた(図 4)。チール・ネルゼン染色で抗酸菌は確認されず、グロコット染色で真菌は認められなかった。壊死巣周囲は、アザン染色では軽度に青く染色された程度で、顕著な器質化がみられる部位はなかった。その他、一部の血管において、重度のフィブリノイド変性、中等度の血管壁の壊死、血管腔内の細胞退廃物貯留、血管周囲の線維素析出、偽好酸球浸潤および好酸性無構造物質の沈着が認められた。その好酸性無構造物質は、コンゴレッド染色により、偏光顕微鏡下でわずかに緑黄色を示したことから、アミロイドであることが確認された。ベルリンブルー染色では、主に類洞のクッパー細胞の細胞質内にヘモジデリンの沈着を認めた。

肝臓以外の臓器では、脾臓および肺に多発性巣状壊死がみられ、小腸、大腸および深胸筋には軽度の巣状壊死がみられた。巣状壊死は脾臓で最も重度であった。脾臓および肺を材料に実施した抗 *Y. pseudotuberculosis* 家兎血清を用いた免疫組織化学的検査では、肝臓と同様に、壊死巣中心部の菌塊に一致して陽性反応が認められた。その他の臓器に著変は認められなかった。

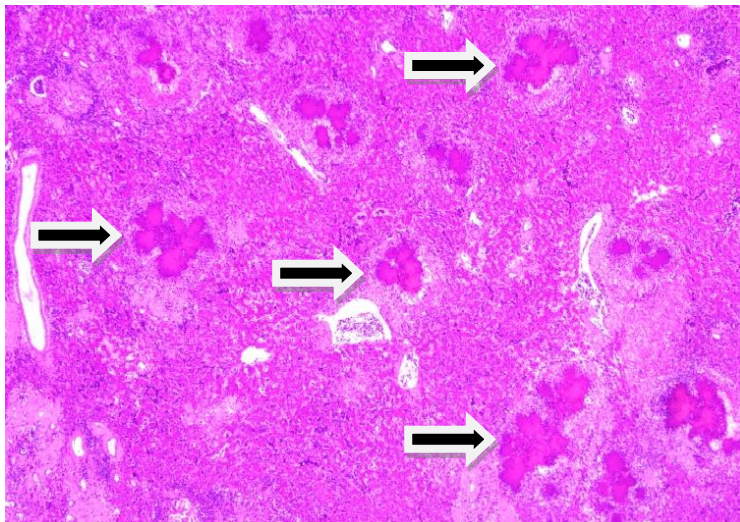


図 2 : 肝臓の多発性巣状壊死 (HE 染色、低倍像)

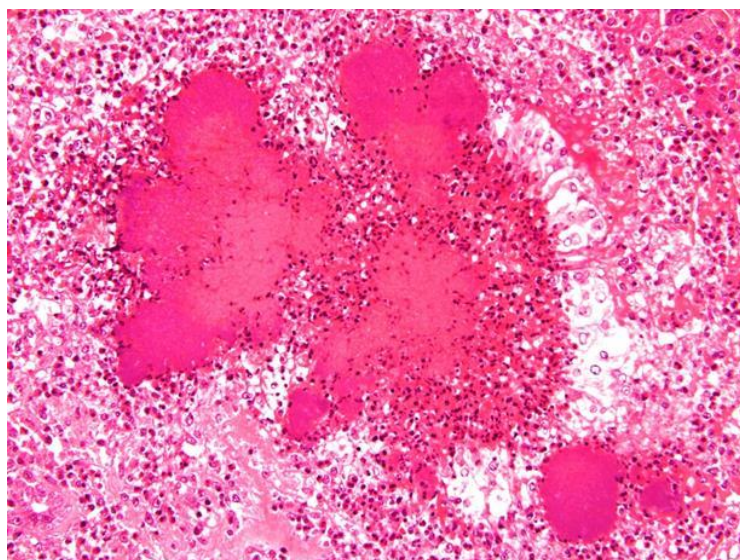


図 3 : 肝臓の壊死巣 (HE 染色、高倍像)

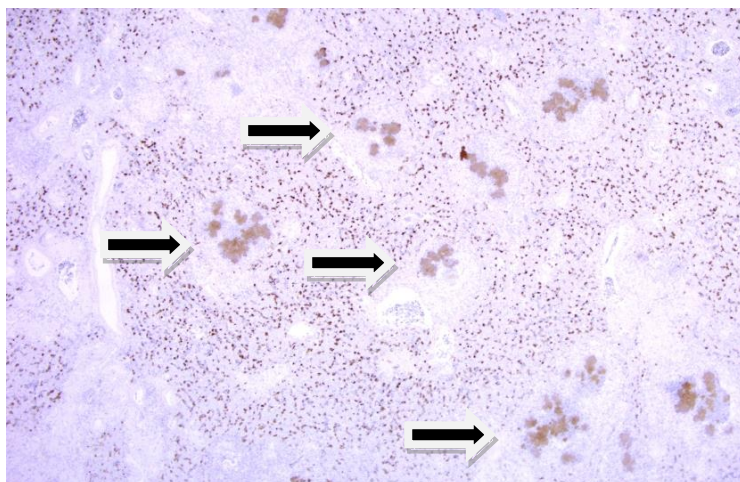


図 4 : 免疫組織学的検査
(矢印 : 陽性部位、周囲の茶褐色物質 : ヘモジデリン)

2 細菌学的検査

(1) 直接鏡検

肝臓、脾臓および肺の臓器スタンプ標本のチール・ネルゼン染色では、抗酸菌は認められなかった。

(2) 細菌分離

No. 1、No. 2 ともに複数の臓器から *Y. pseudotuberculosis* が多量に分離された(表 1)。*Y. pseudotuberculosis* の至適発育温度は 26℃から 28℃である³⁾ことから、DHL 寒天培地では 25℃培養でのみ、その発育が認められた。その他有意な菌は分離されなかった。

表 1 : *Y. pseudotuberculosis* 分離成績

No.	培養温度	培地条件	肝	脾	腎	心	肺	脳
1	37℃	BA(CO ₂)	++++	++++	++++	—	++++	—
		DHL	—	—	—	—	—	—
	25℃	BA	++++	NT	NT	NT	++++	NT
		DHL	++++	NT	NT	NT	++++	NT
2	37℃	BA(CO ₂)	+++	+++	+++	++	+++	—
		DHL	—	—	—	—	—	—
	25℃	BA	+++	+++	NT	NT	+++	NT
		DHL	+++	+++	NT	NT	+++	NT

備考 培養時間はいずれも24時間
NT:未検査

(3) 分離菌の血清型別

分離菌の血清型は、No. 1 由来菌が 4b、No. 2 由来菌が 1b であった。

(4) 薬剤感受性試験

分離菌は、11 種類の抗生物質のうち、CL 以外に感受性を示した(表 2)。

表 2 : 分離菌の薬剤感受性試験成績

No.	由来	A	B	P	CC	E	Z	KM	GM	SM	CL	OTC	CP	ST	NFLX	ERFX
1	肝臓	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	+++
	肺	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	+++
2	肝臓	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	+++
	肺	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	+++

備考 ・ S:感性, I:中間, R:耐性(++++:感性~-:耐性)
・ ST:スルファメキサゾール・トリメプリム

3 ウイルス学的検査

鶏胚に異常はみられず、尿膜腔液の HA 試験も陰性であった。

V 診断

No. 1 および No. 2 に共通して、細菌学的検査で複数の臓器から *Y. pseudotuberculosis* が分離された。病理組織学的検査で肝臓等に多発性巣状壊死がみられ、抗 *Y. pseudotuberculosis* 家兔血清を用いた免疫化学組織学的検査が陽性であったことから、本症例を *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症と診断した。

VI まとめと考察

鳥類の *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症は、急性型と慢性型に大別される。急性型では、3～6 日の潜伏期を経て突発性下痢や急性敗血症をおこし、死亡する。病変としては、腸炎や肝臓および脾臓の腫大がみられる。それに対して慢性型では、2 週間以上の潜伏期を経て呼吸困難、下痢を呈し死亡する。病変として、腸炎、諸臓器、特に肝臓、脾臓、筋肉の粟粒状の壊死病巣がみられる⁴⁾。本症例では、No. 1、No. 2 の肝臓および脾臓に多発性巣状壊死がみられたことから、慢性型であると考えられた。また、慢性炎症の際には、アミロイド症が認められることがあり⁵⁾、No. 1、No. 2 の肝臓における血管周囲のアミロイドの沈着は、*Y. pseudotuberculosis* 感染に伴う病変と考察された。

本症は、感染動物の分泌・排泄物で汚染された土壌、飼料、水を介して伝播し、*Y. pseudotuberculosis* の体内への侵入は消化器あるいは創傷を介しておこる²⁾。今回、No. 1 および No. 2 に明らかな外傷がみられなかったため、*Y. pseudotuberculosis* は消化器から侵入したと考えられた。No. 1 の小腸、大腸および深胸筋の壊死巣について、免疫化学組織学的検査は実施していないが、消化管が侵入経路と考えられること、筋肉は病変の好発部位である²⁾ ことから、いずれも病巣形成に *Y. pseudotuberculosis* が関与したと考察された。

Y. pseudotuberculosis は O 抗原により、1～15 の血清型に型別され、そのうち血清群 1、2、4 および 5 はさらに数亜群に分けられている⁶⁾。野鳥での本菌の国内分布について、ハシブトガラスの調査では、145 羽中 7 羽の盲腸内容から *Y. pseudotuberculosis* が分離され、その血清型がすべて 4b だったという報告があり⁷⁾、また、カモメの調査では、233 羽中 3 羽の糞便から *Y. pseudotuberculosis* が分離され、血清型がすべて 1b だったという報告もある⁸⁾。これらから、国内には *Y. pseudotuberculosis* 4b および 1b を保菌している野鳥が存在することが明らかとなっている。本症例の分離菌の血清型も 4b および 1b であったことから、当該施設のフライングケージでは、保菌野鳥の落下便や他種の保菌動物に接触する機会の多いノネズミ等などの動物を介して土壌、飼料、水などの環境が汚染され、それらが本症例の感

染源になった可能性が示唆された。

当該施設での対策として、本症は人獣共通感染症であるので、ヒトへの感染防止のため、フライングケージを閉鎖し出入りを禁止した。ノネズミの侵入を防ぐために、フライングケージ周辺に殺鼠剤を設置し、飲水としての井戸水の使用を中止した。ケージ内に同居している鳥類に対しては、分離菌の感受性が確認されたエンロフロキサシンを飲水に混ぜて、4 日間経口投与を行った。これらの対策を継続したところ、およそ 1 か月間続発例はなく、フライングケージを一般開放した。しかし、施設の構造上、ノネズミの侵入を完全に防ぐことは困難であるため、今後も本症の監視を継続していく必要があると考える。

VI 謝辞

免疫組織化学的検査および特殊染色をしていただいた、独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 病態研究領域の生澤充隆先生と、分離菌の血清型別をしていただいた、国立大学法人 東京農工大学大学院 農学研究院動物生命科学部門（兼務）農学部獣医学科獣医衛生学研究室の林谷秀樹先生に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) 小川益男, 金城俊夫, 丸山務: 獣医公衆衛生学<第 2 版>, 文永堂出版, 113-115, (2001)
- 2) 叶内拓哉: ポケット図鑑 日本の鳥 300, 文一総合出版, 168 (2005)
- 3) 明石博臣, 木内明男, 原澤亮, 本田英一: 動物微生物学, 朝倉書店, 196-198 (2008)
- 4) 清水悠紀臣, 鹿江雅光, 田淵清, 平棟孝志, 見上彪: 獣医伝染病学<第五版>, 近代出版, 294 (1999)
- 5) 日本獣医病理学会: 動物病理学各論, 文永堂出版, 62-63 (1998)
- 6) 坪倉操, 永野哲司: 仮性結核菌の血清群と, それに関するいくつかの何故?, 微生物の世界, 坪倉操, 平棟孝司, 金子賢一 編, 養賢堂, 東京, 57-70 (1997)
- 7) Y.OTSUKA, S.MAKINO, T.MARUYAMA, Y.OKADA: Isolation of *Yersinia pseudotuberculosis* from City-Living Crows Captured in a Zoo, The journal of veterinary medical science 56 (4), 785-786 (1994)
- 8) C.KANEUCHI, M.SHIBATA, T.KAWASAKI, T.KARIU, M.KANZAKI, T.MARUYAMA: Occurrence of *Yersinia* Spp.in Migratory Bird, Ducks, Seagulls, and Swallows in Japan.Jpn.J.Vet.Sci.51 (4), 805-808 (1989)