

細菌行政検査依頼書

- 1 検査の種類
Brucella canis に対する抗体検査、PCR 検査、培養検査
- 2 検査を必要とする理由
Br. canis 感染犬と接触（飼育または治療行為）した動物飼育担当者及び動物病院関係者の Br. canis 感染の有無を確認するため。
- 3 検体の名称及び数量
血液 10検体
- 4 その他参考となる事項
平成15年10月に抗体検査を実施した結果、抗体陰性であった。
- 5 添付書類
(1) 検体送付票 (2) 様式2

上記のとおり検査を依頼します。

平成15年12月12日

静岡県知事



国立感染症研究所長 殿



受理年月日 平成 年 月 日 判定年月日 平成16年 1月 5日

部長 担当室長 担当技官

感染研行検 第 号

試験検査成績書

依頼者 静岡県知事

1. 試験検査の名称

Brucella canis に対する抗体検査、PCR 検査、培養検査

2. 検体の種類及び数量

被験者血液 10 検体

3. 試験検査成績

別紙参照

平成 年 月 日

国立感染症研究所長

[別紙]

検査項目

検体番号	検体名	検査内容
No. 1		抗体検査、PCR検査、菌培養
No. 2		同上
No. 3		同上
No. 4		同上
No. 5		同上
No. 6		同上
No. 7		同上
No. 8		同上
No. 9		同上
No. 10		同上

検査方法

1. 抗体検査：血清を20倍から2倍段階希釈し、ブルセラカニス試験管内凝集反応用菌液を加え、50℃で24時間感作後、凝集反応を判定した。血清の最終希釈倍数160倍以上で50%以上の凝集を示すものを陽性と判定した。
2. PCR検査：ブルセラ属菌特異的細胞表面タンパク（BCSP31）、ブルセラカニス外膜タンパク（OMP2及びOMP31）をコードする遺伝子に対するプライマーを用いてPCRを行った。被験DNAは血液及び血清からそれぞれ分離した。
3. 菌培養：菌数が少ないことを考え増菌培養を行った。血液3.5mlを5～7倍量のプレインハートインフュージョンブロス及びチオグリコレートブロスに加え、35℃で3～4週間培養した。培養4～7日目ごとに血液寒天培地に移植し3～6日間培養し菌分離を試みた。

検査結果

1. 抗体検査：すべての検体で、陰性（1:160未満）であった。
2. PCR検査：すべての検体で、検討した3種類、いずれの遺伝子も検出されなかった。
3. 菌培養：すべての検体で、ブルセラカニスは分離されなかった。

以上。

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症対策研究事業）
分担研究報告書

エキゾチックペット由来感染症の発生状況の調査と予防・診断法の開発
輸入野生齧歯類の病原体保有調査（寄生虫、細菌、真菌の保有調査）

分担研究者	宇根有美	麻布大学獣医学部病理学研究室 助教授
協力研究者	吉川泰弘	東京大学大学院農学生命科学研究科
協力研究者	太田周司	東京検疫所川崎支所
協力研究者	佐藤 宏	弘前大学医学部寄生虫学研究室
協力研究者	加藤行男	麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室
協力研究者	オカタニ・アレクサンドレ・トモミツ	麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室
協力研究者	黒木俊郎	神奈川県衛生研究所
協力研究者	林谷秀樹	東京農工大学農獣医学部家畜衛生学研究室
協力研究者	小菅旬子	宮崎大学獣医学部微生物学研究室

愛玩用に輸入された野生齧歯類9種 144匹の病原体保有状況調査を行った。病原性エルシニア属細菌と豚丹毒は検出されなかったが、消化管よりキャンピロバクター、サルモネラ、ヘリコバクター、コクシジウム、ジアルジア、クリプトスポリジウムが検出され、皮膚から黄色ブドウ球菌と *Aspergillus flavus* などの真菌が高率に分離された。以上の結果から愛玩用として輸入される野生齧歯類は、数多くの微生物、寄生虫を保有していることが明らかになり、これらの動物の取り扱いについては十分注意する必要がある。なお、同じ材料を用いて危険度の高いあるいは日本への侵入が危惧される病原体の保有状況調査を他研究班で実施した。

A. 研究の目的

近年、愛玩動物への嗜好の変化から、エキゾチックアニマルの輸入数および飼育数が増加している。これらの動物の中には、野生捕獲種も含まれているが、検疫は受けておらず、この種の動物が様々な寄生生物や病原体を保有していることが危惧されている。しかし、店頭に並ぶ前の輸入間もない動物を対象として、網

羅的に調査されたことはほとんどない。そこで、本研究では、これらの野生齧歯類の衛生管理の徹底に寄与するための病原体保有状況調査を実施した。

B. 材料と方法

1) 対象とした動物

当初、愛玩用として輸入数が多く、ポピュラーで、かつ人獣共通伝染病発生の

リスクの高い国から輸入される野生捕獲齧歯類 14 種をノミネートして(エリアは北米、南米、中国、ロシア、アフガニスタン/パキスタン、アフリカ)、全種類各 20 匹以上として合計 290 匹を検査する計画で、2 箇所の輸入業者に発注をした。しかし、調査期間中に、アメリカでプレーリードッグを感染源とするサル痘が流行し、その元凶がアフリカ産齧歯類であることが判明したため、防疫管理令によりアフリカ産齧歯類の輸入が禁止された。さらに輸入業者が野生齧歯類の輸入を自粛したため、調査半ばで動物の入手が困難となり、表 1 の 144 頭(予定数の 49.7%)で調査を終了した。また、このうち死着で、腐敗が激しかった 4 匹については検査から除外した。

2) 対象とした寄生虫と微生物の種類と担当者

【 寄生虫 】

・消化管内寄生虫(蠕虫及び原虫)、血液原虫(リーシュマニア)、筋肉内寄生虫(旋毛虫)

：弘前大学医学部寄生虫学研究室 佐藤宏、

・消化管内寄生虫(クリプトスポリジウム)：神奈川県衛生研究所 黒木俊郎

【 細菌と真菌 】

<消化管>

・サルモネラ：麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室 加藤行男

・豚丹毒：麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室 オカタニ・アレクシヤンドレ・トモミツ

・エルシニア属細菌、キャンピロバクター：東京農工大学家畜衛生学研究室 林谷秀樹

・ヘリコバクター属細菌：麻布大学獣医学部病理学研究室 宇根有美

<皮膚>

・真菌、黄色ぶどう球菌：宮崎大学獣医学部微生物学研究室 小菅旬子

C. 結果と考察

表 2

【 寄生虫 】 蠕虫の検出率は予想以上に低率であったが、原虫の検出率が高かった。特にドワーフプレーリードッグあるいはハタリスと称して販売されている北米産リチャードソングリス 17/20 (85%) に多種類のコクシジウムが混合感染していた。ヒトへの感染性を有する可能性があるものとして、ジアルジアがあった。今回観察されたものはシストが大型で、人獣共通寄生虫である *Giardia intestinalis* に類似しており、現在精査中である。なお、リーシュマニアは検出されなかった。

【 細菌と真菌 】

1) 黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* は、5 種類 計 39 匹の皮膚から検出された。特にピグミージェルボアでは、21/39 (53.8%) と高率に分離された。*S. aureus* はヒトの鼻腔からしばしば、分離される菌であるが、実際には健康な人の皮膚にはあまり存在しない。動物由来の菌が大量に人の皮膚に付着した場合、どのような病原性を発揮するのか不明であるが、食中毒の原因やアトピーの憎悪因子としての側面から見ても *S. aureus* を大量に保菌した動物を愛玩用として飼育することには、注意を要する。研究協力者小菅旬子が実施した同様の調査では、健康な犬や猫からは本菌は分離されなかったが、愛玩用齧歯類から分離されたことから、一部の齧歯類が *S. aureus* の保菌動物となっている可能性があり、今後、

注目すべき問題と考えられた。

2) サルモネラは、3種類 11匹から検出されたが、同一業者から同一の便で送られてきた動物から集中して分離されているため、搬送中あるいはロットによる汚染も考えられた。

3) キャンピロバクターは、4種類 17匹から分離された。これらの細菌は、いずれも、Thermophilic Campylobacter の性状を示し、*C. jejuni*、*C. coli*、*C. lari* のいずれの菌種特異的プライマーでも、特異遺伝子の増幅できなかつた。

4) ヘリコバクターは、全ての種類、82匹 (58.6%) の腸に観察された。ヘリコバクターは、Gastric と Enteric に大別されるが、今回は Enteric ヘリコバクターの保有調査を行った。齧歯類におけるヘリコバクターは腸管の正常細菌叢の1つと考えられているが、齧歯類から分離される *H. cinaedi* がヒトの下痢便から分離されたり、髄膜炎を起こしている新生児から分離された報告もあるので、保有状況を知っておくことは重要である。なお、エルシニア属細菌や豚丹毒菌は分離されなかつた。

5) 皮膚糸状菌は、3検体 (全てコロンビアジリス) のみから分離された。うち2検体は *Trichophyton mentagrophytes* であった。予想以上に、皮膚糸状菌を保菌している動物が少なかったが、背側の皮膚の一部のみを検査していることもあり、重度に汚染されたものは少ないと判断すべき数字と考えた。

6) コウジカビ 2種類の発ガン性物質を産生する可能性のあるコウジカビが分

離された。アフラトキシンを産生することのある *Aspergillus flavus* が2種類、38匹から分離され、特に2つの業者から購入したピグミージェルボア 39匹中 37匹 94.9%と非常に高率であった。併せて、アフラトキシン産生性を確認したところ、3株に産生性を認めた。このように、ピグミージェルボアが *A. flavus* に濃厚汚染されていた理由として、ア) もともとこの動物の生息域に本菌が常在し自然の状態でも、常に暴露されている状態にあるのか、イ) 保菌した個体が搬送中に群内全体を汚染したのか、ウ) 与えていた飼料や敷料が汚染されていたなどが考えられたが、異なる2つの業者から購入した動物が同様に高率に汚染されており、ピグミージェルボアの餌と同種のものを他の動物に与えることがあることも考えると、ア) の可能性が高かつた。いずれにしても、ピグミージェルボアが大量にこの菌を体表に付着させたまま、愛玩用として販売されていることは間違いない。さらに、この動物がテレビで紹介され、ブームになった年と思われる 2001年から 2002年にかけてパキスタンから、ハムスター、モルモット・プレーリードッグ・リス・チンチラ以外の齧歯類、おそらくピグミージェルボアが、大量に (5001~7500匹) 輸入されていることを併せると、このような動物を介して、家庭内にカビが大量に持ち込まれるのは衛生上好ましいことではない。また、*A. flavus* と同様にステリグマトシスチンという発癌物質を産生する能力を持つ *Aspergillus versicolor* がフトオアレチネズミ 5匹中 5匹 (100%) 分離された。

D. 結論

以上の結果から、愛玩用として輸入さ

れる野生齧歯類には、数多くの微生物、寄生虫などの寄生生物が感染していることが明らかになった。今回、分離・検出された微生物、寄生虫のヒトへの病原性については、今後検索を進めて、評価する必要があるが、明らかに病原性があるものも、多く含まれており、これらの動物の取り扱いについては十分注意する必要がある。

表 1 野生齧歯類の和名、英名、生息地、検査数

和名	英名	学名/英名	原産国	購入先	
				A業者	B業者
ピグミージェルボア (ニハリスタン ヨミヒトビネズミ)、ミユビコミヒトビ ネズミ	baluchistan pygmy jerboa	<i>Salpingotulus michaelis</i>	アフリカ、中近 東、ロシア	20	19
アフリカヤマネ	woodland (african) dormouse=black- and-white dormouse	<i>Graphiurus murinus=Clavigilis murinus</i>	アフリカ	0	10
フアットテールジャービル、フトオ アシチネズミ、オオフトアシチネズ ミ、スカロニヌス、フトオスナネ ズミ	fat tailed jerbil	<i>Pachyuronyx duprasi</i>	アフリカ	0	5
キタリス、エゾリス、リス、ユーラ シアリス、ヨーロッパリス、ユーラ シアアカリス	red squirrel=eurasian red squirrel=eurasian squirrel=true squirrel=eurasian squirrel squirrel=eurasian squirrel=brown squirrel=squirrel=charlie=common squirrel=conn=skug=squgg	<i>Sciurus vulgaris orientalis</i>	シベリア、朝鮮	10	0
シタリス、トラフネズミ、カラフト シタリス、リス、シベリアシタリ ス、トラネズミ	asiatic chipmunk=asian chipmunk=siberian chipmunk	<i>Tamias sibiricus lineatus</i>	ヨーロッパ、ロ シア、中国	10	10
タイリクモモンガ、エゾモモンガ、 ヨーロッパモモンガ、シベリアモモ ンガ、ユーラシアモモンガ、オオモ モンガ	russian flying squirrel=eurasian flying squirrel=siberian flying squirrel=flying squirrel=eurasian flying squirrel=korean flying squirrel	<i>Pteromys volans</i>	ヨーロッパ、ロ シア、中国、朝 鮮	10	10
コロンビアリス	Columbian ground squirrel	<i>Spermophilus columbianus</i>	北米	10	0
リチャードソンリス、ライオミンダ リス	Richardson's ground squirrel=picker pin=flicker tail=richardson's spermophile=tawny american marmot=Richardson's marmot squirrel=wyoming spermophile	<i>Spermophilus richardsonii</i>	北米	10	10
ジュウサンセンリス		<i>Spermophilus tridecemlineatus</i>	北米	10	0
9種類				80	64

表 2 野生齧歯類の寄生生物（一部病原原体を含む）保有状況

検査頭数	フトオズミ	アフリカヤ	ピグミージェル	エゾリス	タイリクモ	シマリス	リチャードソン	コロニンビ	ジュサンセ	合計
75.4g	5	10	39	10	16	20	20	10	10	140
13.6g					49.2g	63.1g	102.6g	607.4g	207.9g	
Trichomuris sp.		3					5/17			
Trichomonas wenrichi									5	
Giardia sp.				3				7		
Coccidium			Coccidium?1		Eimeria sp. 8	Eimeria sp. 4	Eimeria 2 種類 Eimeria 3 種類 Eimeria 4 種類 Eimeria 5 種類 Eimeria 6 種類 Eimeria 6 種類 合 1			
Trypanosoma					3		1			4
Chilomastrix mesnili-like			1				1/17			
筋肉内被囊線虫	1									
Cryptosporidium sp.				2			2			4
その他原虫			Amoeba? 2 Giardia 2							
S. aureus	4		21		4	8		2		39
Salmonella		1			6		4			11
Campylobacter spp					1	8	6			17
Helicobacter sp.	5	3	4	5	14	20	17	10	4	82
Trichophyton mentagrophyte								2		2
A. versicolor	5								1	6
A. flavus			37			1				38
Rhizopus		4		1				7		12

エキゾチックペット由来感染症の発生状況の調査と予防・診断法の開発
病性鑑定による愛玩動物の疾病把握

分担研究者 宇根有美 麻布大学獣医学部病理学研究室 助教授

各種愛玩動物に発生しやすい疾患やその発生状況を把握し、疾病コントロールに寄与するために、麻布大学に病性鑑定のために持ち込まれる愛玩動物を病理学的に検索した。2003年1月から12月霊長類30頭、他ほ乳類21頭、鳥類8羽、爬虫類・両生類17匹を剖検し、その他、126件のコンサルテイングを行った。その結果、公衆衛生上、問題のある疾患として、展示施設におけるエルシニア症の集団あるいは散発性発生は7機関で新たに確認された。愛玩動物としては、単発例であったが、プレーリードッグのサルモネラ血清群013による敗血症とリスザルの *Pasteurella multocida* による敗血症事例を検索した。

A. 研究の目的

近年、愛玩動物への嗜好の変化から、エキゾチックアニマルの輸入数および飼育数が増加している。これらの動物の中には、野生捕獲種も多く含まれており、動物由来感染症の感染源になり得るものもある。そこで、愛玩動物の病性鑑定をとおして、これらの動物に発生する疾病の動態を捉え、疾病コントロールに寄与することを目的とした。

B. 材料と方法

1) 病性鑑定した動物

2003年1月から12月に病性鑑定したエキゾチックアニマルあるいは野生動物の総数は76頭で（犬とネコを含む家畜は除く）、その内訳は、霊長類30頭（リス

ザル、ワオキツネザル、オラウータン、アジルテナガザル、チンパンジー、ニホンザル）、他ほ乳類21頭（キリン、チーター、カバ、イルカ、ヤマアラシ、オリックス、レッサーパンダ、カピバラ、カラカル、ハクビシン、コアラ、フェレット、ウサギ、プレーリードッグ）、鳥類8羽（オオハシ、インコ、ダチョウ、朱鷺）、爬虫類・両生類17匹（カメ、トカゲ、ヤモリ、ヘビ）であった。その他、ホルマリン固定材料によるコンサルテイングが126件あった。

2) 検査方法

病理解剖後、ホルマリン固定、常法に従いパラフィン切片を作製して、HE染色と必要に応じて特殊染色を行った。また、必要に応じて、微生物学的検査を実施した（麻布大学獣医学部公衆衛生第2研究

室に依頼)

C. 結果と考察

1年間に、7つの展示施設で、リスザルを主として、オラウータンやオオハシに散発性あるいは集団性にエルシニア症が発生した。エルシニア症については、他の研究班で成果報告する。ここでは、愛玩動物であるプレーリードッグとリスザルのヒトに関連する細菌による敗血症事例を報告する。

1) Pr03125-0 プレーリードッグ (オジロプレーリードッグ)、雌、5歳9カ月齢。1998年愛玩用として北米から輸入された。この際にこのロット約100頭のプレーリードッグの90%が熱中症で死亡した(※)。本例も発症していたが治療により回復した。その後、愛玩用として他のプレーリードッグ2-3頭と同居、飼育されていた。2002年より右側瞬膜が膨隆するようになり、2003年初夏より、元気食欲はあるものの、削瘦が目立つようになった。また、右側腹腔内にウズラ卵大2個分の腫瘤を触知した。漸次削瘦が進行し、衰弱して死亡した。剖検にて、1. 肝臓腫瘍(大型、転移なし)腹腔の3分の2を占拠するような大型腫瘍が内側右葉と方形葉に連なるように存在。他葉は軽度に腫大し、針頭大から粟粒大の白色結節が散在。2. 鬱血性心不全(胸水症、心嚢水腫、両心房心室拡張高度、心筋褪色、肺水腫)、3. 心外膜炎、4. 血腹症、5. 脾腫、6. 削瘦(顕著)、7. 右涙腺過形成、8. 胃出血性糜爛がみられた。このうち、心嚢水から大量の *Salmonella* 血清群 013 を分離、組織学的に諸臓器に細菌塊を観察した。癌末期に悪液質に陥り、さらに *Salmonella* による敗血症を

随伴し、斃死したと考えられた。なお、消化管にはサルモネラによる病変と思しき変化は観察されず、同居のプレーリードッグからもサルモネラは分離されなかったことから、どのような感染経路で感染が成立、死に至ったか不明であった。また、本事例が死に至る過程で、飼育者には目立った消化器症状はみられなかったが、愛玩用に飼育されていたプレーリードッグがサルモネラによる敗血症で死亡したことは公衆衛生上注意すべき事例と考えられた。(図1-5)

※) 発生状況: 輸入時期は7月、輸入後間もなく、ほとんど全てのプレーリードッグに、横臥、後軀麻痺、遊泳運動、眼振などの神経症状が観察され、次々に死亡しその割合は90%に達した。このため、何らかの感染症を疑い精査したが、病理学的に高度の全身性循環障害と肺水腫があるのみで、さらに、全身諸臓器の微生物検査においても、感染因子の存在を裏付ける所見は得られなかった。また、本例を含めて発症した2頭にクーリング、給水などの処置を施したところ、回復したため熱中症と診断した。その後、輸入されたロットについては、取り扱い方法を変えたところ、再発はなかった。

オジロあるいはガニソンプレーリードッグは、市中で人気の高いオグロプレーリードッグとは異なり、暑さに非常に弱い。その生態を理解していなかった輸入業者がオグロプレーリードッグと同様の扱いをしたため、ほとんどの動物が熱中症で死に至った事例である。

2) Pr03081M リスザル(コモンリスザル)、成体の雌、体重530g、突然死の状態で見られているため、臨床症状は不明。剖検時、体表リンパ節は、いずれも腫大

し、赤色一暗赤色を呈し、左側扁桃は膿瘍化顕著。組織学的に、全身諸臓器に組織反応に乏しい細菌塊を観察するとともに *Pasteurella multocida* を分離した。*P. multocida* による敗血・症死と診断された。

パスツレラ属菌はグラム陰性、無芽胞、非運動性、単一短連鎖をする細菌で、広く野生動物および家畜の上部気道および消化管粘膜に分布している。一般に日和見感染症として捉えられているが、いくつかの種類あるいは株は動物およびヒトに病原性を示す。代表的な菌種として、*P. multocida* と *P. haemolytica* が知られており、各種動物に肺炎や敗血症を起こす。イヌでは、15-75%、ネコではほぼ100%の割合で *P. multocida* を保有しており、ときに、これらの動物の化膿性疾患に関連する他、咬傷によってヒトに感染し、公衆衛生上問題となっている。サルで *P. multocida* の保有状況を調べた報告はなく、肝臓に壊死性一化膿性病巣がみられた1頭のゲルデーモンキーから *P. haemolytica* が分離された事例や気嚢炎を有する1頭のバブーンから *P. multocida* が分離された報告があるのみで、サル類に対するパスツレラ属菌の病原性についてはまだ不明な点が多い。しかし、今回、愛玩用として人気の高いリスザルにも、*P. multocida* による敗血症死が認められたことから、今後、愛玩用のサルの *P. multocida* の保有状況やその病原性について検討する必要があるかも知れない。(図6-9)

C. 結論

2003年1月から12月に病性鑑定したエキゾチックアニマルあるいは野生動物に、公衆衛生上、問題となる感染症が見

出された。エキゾチックアニマルを介した動物由来感染症のコントロールのためには、今後もこのようなモニタリングを継続する必要がある。



図1 プレリードッグの全景、顕著な消瘦



図2 腹腔全景、腹腔を占拠する肝腫瘍(矢印)
※脾腫

図3 心嚢水腫、混濁した心嚢水が貯留

図4 心臓全景、心外膜面に線維素が析出

図5 心嚢水塗抹標本(ギムザ染色)好中球とともに大量の菌が観察される

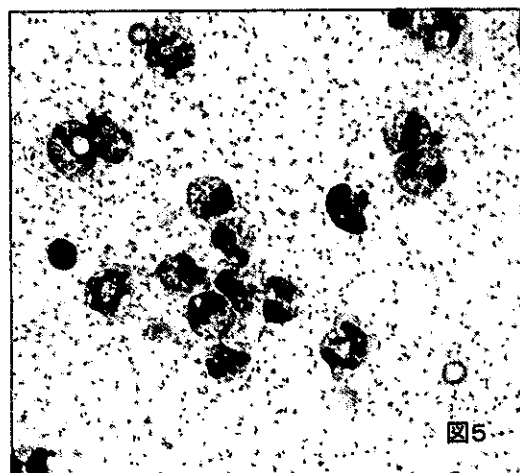
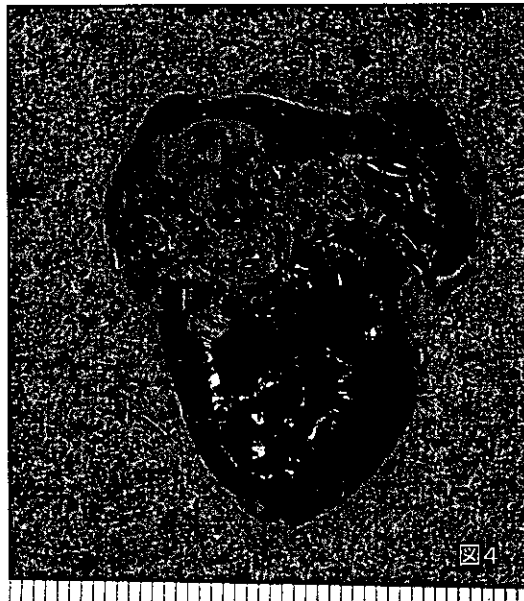


図1-5 プレリードッグ



図6 咽喉頭部、左側扁桃の膿瘍化(矢印)、リスザル

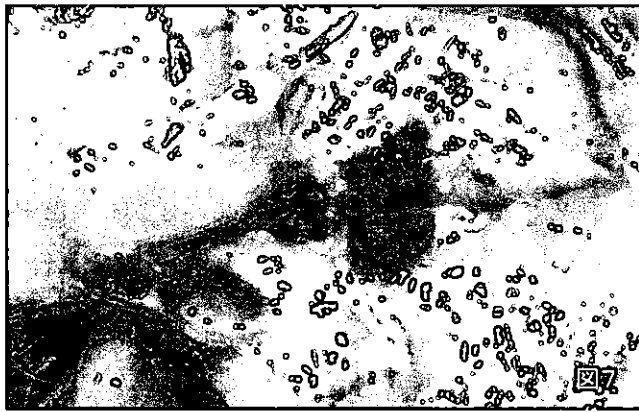


図7 頭頸部リンパ節、充出血を伴ったリンパ節腫大リスザル



図8 肺水腫、リスザル

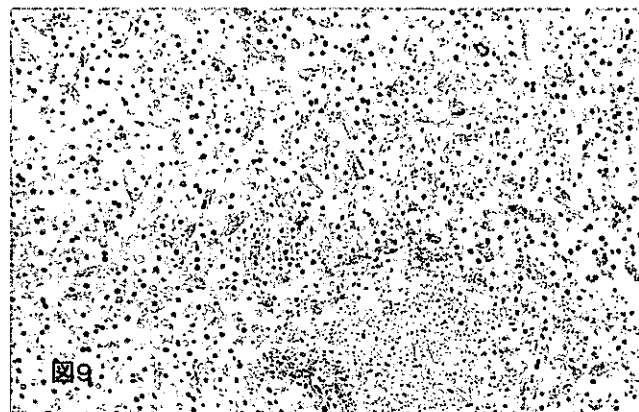


図9 肝臓、HE染色
大量の細菌塊と巣状壊死



細菌拡大:
類洞の鑄型の様に増殖する細菌

オウム病クラミジア感染のペットにおける実態把握と
人のオウム病診断法の開発に関する研究

分担研究者 岸本寿男 国立感染症研究所 ウイルス第一部

研究要旨：愛玩鳥のオウム病クラミジア (*C. psittaci*) の保有状況を、2003年4月から約一年間、輸入卸売りおよび小売り業者、動物病院、および展示施設からの検体を材料とし、PCR法にて調査した。健康鳥で5.4%、感染症が疑われた病鳥で7.6%からクラミジアが検出された。施設別にみると動物病院7.9%、動物販売業者5.6%および展示施設3.1%であった。斃死鳥では感染症が疑われた検体中28.3%からクラミジアが検出された。クラミジアが検出された鳥種ではインコ類からの検出率が高かった。愛玩鳥の *C. psittaci* 治療法について *C. psittaci* 陽性の保菌鳥の治療と経過観察を行い、半年までの陰性化を確認した。新たに開発したPCRプライマーによる *C. psittaci* 遺伝子検出法の特異性、感度等の検討を行い良好な成績を得た。

A. 研究目的

オウム病は古くから知られる人獣共通感染症である。1999年4月より第4類に指定され、人の発生状況が把握できるようになった。しかし、感染源である鳥類に関しては、ほとんどデータがない。1980年代に疫学的な報告がなされたが、その後はなく、現状は不明である。また近年、オウム病の届け出数は増加しているが、オウム病の実際の発生が増加しているためかどうかは必ずしも明確ではない。そこで、我が国のオウム病クラミジア感染のペットにおける実態把握を行い、侵淫現状を把握することを目的とした。つぎに人のオウム病の疫学的調査を市中肺炎例で行い実態を把握することとした。またトリと人の診断法の開発を行うとともに、トリの治療法についても検討する。以上のことを通じて愛玩鳥の衛生管理の徹底について考察し、提言を行うことを目的とする。

B. 研究方法

1. 愛玩鳥のオウム病クラミジア (*C. psittaci*) の保有状況の調査を動物園、ペット業界に協力を依頼して行うことで侵淫現状を把握する。
2. ヒトのオウム病の疫学調査として感染症動向調査の解析と市中肺炎例での検討を行う。
3. 愛玩鳥の *C. psittaci* 治療法の検討を行う。
4. 検出 *C. psittaci* 株の解析を行い、国内由来、外国由来の差を調査する。
5. 新たなPCRプライマーによる鳥からの *C. psittaci* 遺伝子検出法の開発を行う。
6. 新たなヒトのオウム病診断法の開発をめざす。

これらを行うにあたり倫理面には十分な配慮を払う。

C. 研究結果

1. 愛玩鳥のオウム病クラミジア (*C. psittaci*) の保有状況の調査

今回は、2003年4月より2004年1月において鳥類のクラミジア保有状況を調べた。輸入卸売りおよび小売り業者からの依頼検体、動物病院からの依頼検体および展示施設からの依頼検体を材料とした。生鳥は糞便ないしクロアカの拭い液を検査材料とした。死亡鳥は脾臓ないし肝臓を検査材料とした。これらの検体約0.1gからDNAを抽出した。クラミジアの検索は主要外膜タンパク質遺伝子(MOMP)を標的とするPCRによった。健康鳥ないし感染症が疑われた病鳥、491および71検体について検索したところ、それぞれ25検体(5.4%)および5検体(7.6%)からクラミジアが検出された。施設別にみると動物病院7.9%、動物販売業者5.6%および展示施設3.1%であった。斃死鳥では感染症が疑われた59検体中13検体(28.3%)からクラミジアが検出されたが、他の原因が疑われ、剖検を依頼された27検体ではクラミジアは検出されなかった。クラミジアが検出された鳥種は様々であったが、オカメインコ、セキセイインコおよびゴシキセイガイインコからの検出数ならびに検出率が高かった。

また、上記と別に10数箇所の鳥類飼育施設とペットショップに依頼して採取した約600検体の糞について、PCRによる*C. psittaci* 検出率を検討したところ、1%~18%とばらつきがあるものの、平均5%程度の陽性率であった。今回検索した動物販売業者からの依頼検体の多くは輸入個体であるが、陽性率は5.6%と、従来の比率とほぼ同様であった。今後さらに検討数を増やして報告する予定である。

2. ヒトのオウム病の疫学調査

これまでに一般開業医の協力を得て市中肺炎168例について検討したが、現時点でオウム病症例は無かった。現在さらに100例程度の追加検討を行いつつある。

3. 愛玩鳥の *C. psittaci* 治療法の検討

C. psittaci 陽性の保菌鳥については、感染予防の見地から治療を行い、治療後の検出を試みている。今のところ半年まで陰性化が確認されているが、今後病鳥に対する治療との期間、投与量等の比較を行い、適切な治療法について検討する。

4. 検出 *C. psittaci* 株の遺伝子解析

PCR陽性の検体についてはさらに増幅し、シーケンスを行い、それぞれの*C. psittaci* 株の遺伝子について比較を行う。その結果から保有株が外国由来か、国内由来のもので差があるかどうかを検討する。

5. 新たな PCR プライマーによる鳥からの *C. psittaci* 遺伝子検出法の開発

従来報告されているプライマーは属特異プライマーで増幅した後、制限酵素での切断を要するか、nested PCRを必要とするため煩雑である。そこで我々はone step PCRのプライマーを開発し、最適な条件、特異性、感度等の検討を行い良好な成績を得た。さらに臨床検体での検討を進めている。

6. ヒトのオウム病診断法の開発

C. psittaci の基本小体の精製を行い、その外膜複合蛋白を抗原としたELISA法の開発を目指しているが、現在までのところまだ十分な特異性が得られていない。

D. 考察

トリについてはペットショップや動物園等における*C. psittaci* の感染状況の調査を継続し、健康状態と排菌の関係の調査、トリからの検査法の比較検討、感染が確認された場合の治療法の検討を引き続き行う必要がある。また得られた株の分子生物学的解析は今後の課題である。人のオウム病についても、さらに市中肺

炎での実態把握を行う。確立した PCR プライマーを使ってさらに臨床検体での検討をする必要がある。スワブなどからの分離、抗原検出、PCR 法による病原体遺伝子の検出法を比較検討する。

ヒトでの診断法として種特異的で簡便な ELISA 法を確立するためさらに検討を行う。

E. 結論

本邦の愛玩鳥には健康鳥で数%の *C. psittaci* 保有が認められることが明らかとなった。病鳥ではさらに高く検出され、人への感染源となりうるため、衛生管理の徹底が重要である。そのためにもとりと人のオウム病診断がより確実に簡便にできる方法を開発することが重要である。

F. 健康危害情報

特になし。

G. 研究発表等

論文発表

1. Yan Cai, Motohiko Ogawa, Sadashi Shiga, Agus Setiyono, Masanari Ikedo, Toshio Kishimoto, Ichiro Kurane :Application of a one-step polymerase chain reaction to detect psittacosis. Journal of Clinical Microbiology に投稿中

2. Yan Cai, Motohiko Ogawa, Sadashi Shiga, Setiyono Agus, Toshio Kishimoto, Hideto Fukushi, Koyuki Michigoe, Kenji Tabara An investigation in detection of Chlamydomphila psittaci in birds' specimens. Veterinary Microbiology に投稿中

学会発表

1. 小川基彦, 岸本寿男, 佐藤 梢, 志賀定詞, 蔡

燕, 多田有希, 長澤 實: ヒトのアウトブレイクの原因となったヘラジカ由来 *Chlamydia psittaci* の遺伝子学的解析と感染源に関する調査. 第21回日本クラミジア研究会(2003年11月)にて発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

ヒトおよび愛玩動物における真菌症の発生状況の調査と
予防・診断法の開発に関する研究

分担研究者 佐野文子 千葉大学真菌医学研究センター 助教授

研究要旨：すべての真菌症は人獣共通真菌症といっても差し支えない。なかでも皮膚糸状菌は人獣共通感染症原因菌として有名である。しかし他の真菌による人獣共通真菌症はあまり知られていない。今回、1) 野生のアルマジロが保菌者であるパラコクシジオイデス症、2) 日本に存在する最も危険な真菌によって発生するヒストプラスマ症、3) 家禽、ヒトやネコに脳炎、肺炎等を起こし、今流行の高病原性トリインフルエンザとの鑑別が問題となっている新興真菌症で、黒色真菌症の一種のオクロコニス症についての発生状況の調査を行い、分子生物学的迅速診断法について解説する。

A. 研究目的

パラコクシジオイデス症、オクロコニス症についての発生状況の調査を行い、分子生物学的迅速診断法を開発する。

B. 研究方法

文献的検索と原因菌の遺伝子解析に基づいた種特異的プライマーを開発した。

C. 研究結果

以下、各、疾患について解説する。

1) パラコクシジオイデス症

本症は中南米に特有な深在性真菌症で、我が国では輸入真菌症として取り扱われている。

菌学

パラコクシジオイデス症の原因菌 *Paracoccidioides brasiliensis* (Splendore) Almeida 1930 は温度依存性の二形性真菌で、室温では菌糸形、宿主内や 35℃以上では酵母様の生育をし、多極性出芽をするのが特徴である。本菌は危険度レベル 3 に分類されており、炭疽菌やコレラ菌と同じ扱いをしなければならない。室温での生育は遅く、集落は変化に富む。

疫学

パラコクシジオイデス症は南アメリカ分芽菌症 (South American blastomycosis) とも言われるようにその分布は中米および南米に限局する風土病で、特にブラジル、コロンビア、ベネズエラに患者が集中している。アメリカ合

衆国やヨーロッパでも、我が国同様、パラコキシオイデス症は輸入真菌症として取り扱われ、流行地への渡航歴や在住歴のある患者の症例が報告されている。我が国では、現在までに18例が報告されている。すべて中南米に居住・渡航歴を有する方々である。

臨床

パラコキシオイデス症の病型は、1. 急性若年型；30歳以下に男女の別なく全身性で発症（5～10%）、2. 慢性成人型；主に30歳以上の男性に発症し、肺・粘膜・皮膚病変を主徴とする、および3. 後遺症型；肺機能障害、副腎機能障害（Addison's disease）として残る、と分類されている。パラコキシオイデス症の感染経路は2系統あり、厚膜孢子、分生子、菌糸断片を吸入することにより肺に初感染を引き起こす呼吸器感染と粘膜皮膚からの直接感染がある。発症までに数年から数十年と様々である。女性ホルモンが菌の発育を押さえるため、男性に多く、女性に少ない。

生態

自然界ではココノオビアルマジロ（*Dasypus novemcinctus*）（図1）が保菌者であることが確認されており、また、流行地域の土壌、土壌と接触したと考えられるドッグフード、コウモリの糞、南極のペンギンの糞からも分離されている。最近、我が国でもアルマジロをペットとして飼育している人も珍しくない。特にココノオビアルマジロはコキシオイデス症、ヒストプラズマ症、スポロトリコーシスの原因菌の保菌者でもあることから、飼育歴、接触歴の有無を問診することは重要である。

遺伝子診断法

本症の診断には *P. brasiliensis* の *gp 43* を証明する方法が試みられてきた。マウスに実験感染させた病理組織から遺伝子を抽出し nested-PCR により、*gp 43* を証明する方法で、患者検体からも同様に遺伝子検出が可能であった他、感染実験したマウス血液や患者血清からも検出可能であった。Nested-PCR に使用したプライマーは第一 PCR および第二 PCR ともに *P. brasiliensis* だけに特異的であり、種内変異の無い部分から設計している。しかしながら、検出までに2日以上かかり、遺伝子の塩基配列を決定する作業を加えるとさらに2日かかるため、菌分離・同定・確定診断よりは速いものの、迅速診断にはほど遠い状況であった。しかし最近、LAMP 法（loop-mediated isothermal amplification）の導入により、菌体で約2時間、病理組織や喀痰など臨床検体でも約3時間で確定診断することが可能となった。LAMP 法では検出された DNA はラダーバンドになるのが特徴である（図2）。こちらのプライマーも *P. brasiliensis* に特異的な *gp 43* の配列から種内変異の無い部分からプライマーを設計している。現在、検出感度の向上を目指し、改良中である。

2) ヒストプラズマ症

ヒストプラズマ症はかつて輸入真菌症として取り扱われてきたが、輸入と国内感染の双方が存在することから、本邦に存在する最も危険度の高い（レベル3）真菌を原因菌とする人獣共通真菌症として位置づけられるようになってきた。

菌学

ヒストプラズマ症の原因菌 *Histoplasma capsulatum* Darling 1906

は室温での発育は遅く、集落は粉状から綿毛状となる。初め白色で次第に黄褐色を帯びてくる。裏面は黄色あるいは黄橙色を呈する。顕微鏡的には分生子柄 (conidiophore) および短い菌糸側枝の先端に大、小の分生子 (conidium) が形成される (図 3)。

原因菌はかつて病型により 3 つの variety (カプスラーツム型: 原因菌 *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, ズボアジ型: *H. capsulatum* var. *duboisii*, ファルシミノーズム型: *H. capsulatum* var. *farcimosum*) に分類されていたが、現在、分子生物学的解析から、その意義が問われているところである。本菌に関して系統分類の基準遺伝子である Large subunit ribosomal RNA 遺伝子の D1/D2 領域の解析に基づいた解析でも、*H. capsulatum* は variety を問わず 98.9% 以上の相同性を示したことから、variety の区別は意味を持たないことは明らかである。

疫学

ヒストプラズマ症は温帯、亜熱帯に分布し世界的にみられる。本邦では 2004 年 1 月 31 日までにヒト 38 例、イヌ 7 例、ラッコ 1 例、ウマ 1 例の報告がある。ヒト症例は海外で感染したと推測される輸入症例と国内で感染したと推測される土着症例が混在している。イヌとウマは土着症例である。

臨床

ヒストプラズマ症は良性肺型 (benign pulmonary form) と全身性 (disseminated form) に分けられる。いずれも肺に初感染が始まる。多くは無症状あるいは軽い風邪の症状程度で良性に経過する。重篤な場合、特にエイズなど細胞性免疫不全が

伴うと全身性に移行する。細網内皮系細胞にびまん的に寄生するため、各種リンパ節、肝臓、脾臓の腫脹を伴い、皮膚の結節性紅斑や脳への浸襲を伴うこともあり、予後不良である。鑑別診断として結核、腫瘍、ホジキン病等があげられる。この他にかつてウマ、ロバ等の皮膚・リンパ管を特異的に侵すファルシミノーズム型、すなわち「仮性皮疽」といわれていた病型がある。ちなみにウマで「仮性皮疽」と診断されれば届出伝染病である。残念ながらウマ以外の症例はその届け出の義務が無い。

かつて診断には菌体抗原を使った皮内反応 (ヒストプラスミン) が使われていたが、感染病巣を増悪させることがあるので現在は使われていない。特に眼底の病巣を悪化させた場合、失明に陥ることがある。

本菌は細胞内寄生性である。病理学的には著しい肉芽腫性炎症反応をとす。これら肉芽腫を形成している組織球は細胞性免疫不全の場合、取り込んだ酵母細胞を殺すことが出来ず、菌は組織球内で増え続ける。顕微鏡で病理組織を観察する場合、東南アジアの風土病の真菌症: マルネツフェイ型ペニシリウム症との鑑別が重要である。ヘマトキシリン・エオジン染色では菌体の周囲にハローを形成することが特徴である。真菌を特異的に染色する PAS 染色では、染色性が弱いものもあるのでグロコット染色による菌体の確認を推奨したい。

診断

最も重要なことは原因菌を分離同定することである。喀痰、膿、生検材料よりの *H. capsulatum* の分離は当然のことながら、隔離された安全キャビネット内で行われなければならない。本症は菌分離