

分染色したのち、紫外線下で撮影して解析を実施した。

Ⅲ. 結果および考察

平成 17 年に千葉県¹⁾と長崎県²⁾で発生したミシシippアカミミガメが関連する *Salmonella* 症から分離された *Salmonella* O4 株と平成 20 年の本研究の調査で九州地区で購入したミシシippアカミミガメから分離された *Salmonella* O4 株を PFGE で解析したところ、パターンが一致した (図 1)。平成 18 年の厚生労働科学研究費補助金 (新興・再興感染症研究事業)「動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究」の調査においては、関東地域の小売店で販売されていたミシシippアカミミガメから分離された *S. Poona* の株と同一の PFGE パターンを有する *S. Poona* による *Salmonella* 症が同年に山形県で発生していた。患者の家族は自宅にミシシippアカミミガメを飼育しており、患者由来株と飼育カメ由来株の PFGE パターンも一致していた。このことは、由来が同一の *Salmonella* 株を保有するミシシippアカミミガメがわが国の広い地域で販売され、*Salmonella* 症の原因となっていることを示唆していた。

平成 18~20 年度の前述の「動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究」において、国内で市販されるミシシippアカミミガメの *Salmonella* 保有状況を調査したところ、227 匹のうち 120 匹 (52.9%) から亜種 I (24 血清型) が検出された。分離株を PFGE 法により解析したところ、特定の血清型において同一パターンを有する

株が全国の広い範囲の複数の店舗に由来するミシシippアカミミガメから検出された。さらに、年度をまたがって検出された同一パターンを有する株もあった。

今年度の調査と平成 18~21 年度の調査結果から、同一の血清型で PFGE パターンが同一の株に汚染されたミシシippアカミミガメが、年余にわたり広い地域で販売されており、こうしたカメが関連する *Salmonella* 症が発生していることが明らかとなった。これらの結果は、特定の養殖場に *Salmonella* 株が定着し、継続的に汚染されたカメが販売されている可能性を示していた。カメが関連する *Salmonella* 症の潜在的な diffuse outbreak は米国でも問題となっており、類似の状況がわが国にもあることが明らかとなった。

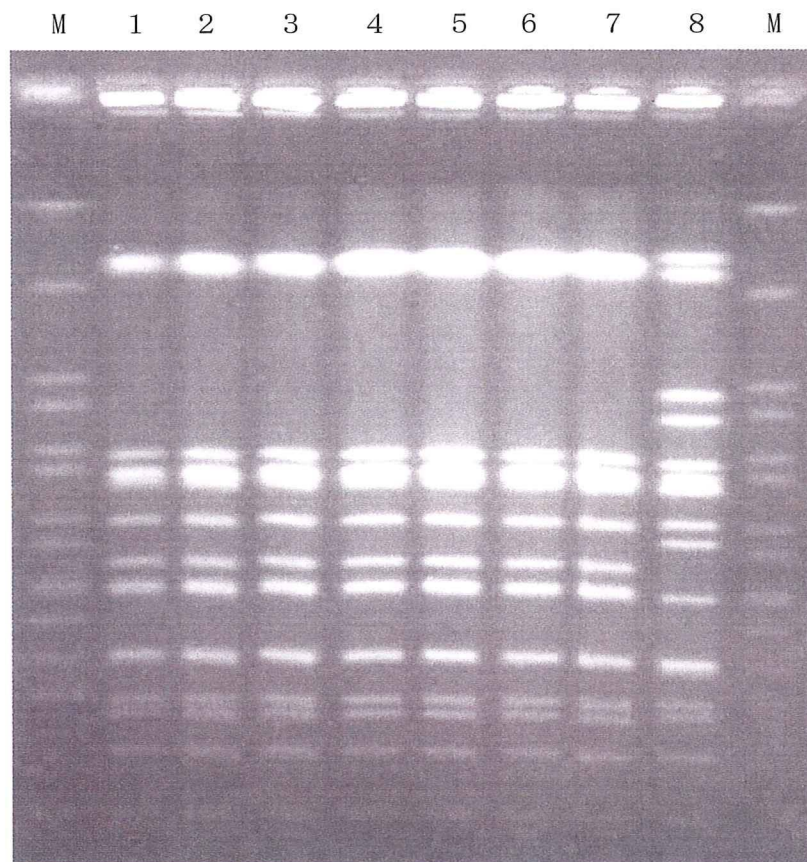
わが国にはミシシippアカミミガメの輸入・販売に関する規制は動物愛護法以外にはなく、毎年 20 万匹前後が米国 (一部中国) から輸入されている。これらのカメは高率に *Salmonella* を保有していることが明らかであり、カメが関連する *Salmonella* 症も発生している。今後、ミシシippアカミミガメが関連する *Salmonella* 症の発生状況などを詳細に調べ、発生予防のための規制や啓発活動を行うことが必要である。

今年度の調査で対象とした O4 群の *Salmonella* は血清型の決定がやや困難であった。カメの調査で分離された株は生化学的検査などにより *Salmonella* Paratyphi B var. Java となったが、この血清型は II 相の有無と生化学的性状により *S. Schleissheim* と区別される。しかし、鑑別のための性状も不安定であり、血清型の決定が難しいことから、本報告では *Salmonella* O4 株と表記した。

参考文献

1) Nagano N, Oana S, Nagano Y, Arakawa Y.: A severe *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection in a child related to a pet turtle, *Trachemys scripta elegans*. Jpn J Infect Dis. 2006;59:132-4.

2) Kaibu H, Iida K, Ueki S, Ehara H, Simasaki Y, Anzai H, Toku Y, Shirono S.: Salmonellosis of infants presumably originating from an infected turtle in Nagasaki, Japan. Jpn J Infect Dis. 2006;59:281.



泳動条件 : 6V.、2.2-63.8s、19hr

図1 患者およびミシシッピアカミミガメに由来する *Salmonella* O4 群株の PFGE パターンの比較

レーン	分離	由来
1	2008年 9月	九州地区購入ミシシッピアカミミガメ由来株
2	2008年 9月	九州地区購入ミシシッピアカミミガメ由来株
3	2008年 10月	九州地区購入ミシシッピアカミミガメ由来株
4	2005年 10月	千葉県 of 症例由来株
5	2005年 10月	千葉県 of 症例由来株
6	2005年 10月	千葉県 of 症例由来株
7	2005年 11月	長崎県 of 症例由来株
8	2008年 9月	関東地区購入ミシシッピアカミミガメ由来株

レーン 8 の株は症例とは無関係だが、対象として示した。

9-3. マーラ (*Dolichotis patagonum*) に集団発生した 致死性 *Salmonella* Enteritidis 感染症

分担研究者：宇根有美 麻布大学獣医学部獣医病理学研究室
研究協力者：林谷秀樹 東京農工大学獣医学部家畜衛生学研究室
：岩田剛敏 東京農工大学獣医学部家畜衛生学研究室
：中村進一 麻布大学獣医学部獣医病理学研究室
：吉村遥子 麻布大学獣医学部獣医病理学研究室

研究要旨：

マーラ 38 頭を飼育する施設で、7 頭が突然、類似の臨床症状を呈し、うち 6 頭が死亡した。この集団致死事例の原因究明を目的とし、病理学および微生物学的に検索した。その結果、6 頭の死因を *Salmonella* Enteritidis (以下 SE) 症と診断し、回復した 1 頭も発症時期と臨床症状から SE 症であったと臨床診断した。よって、発症率 18.4%、死亡率 85.7% の SE 症の流行が起こったものと判断した。その病態は、チフス様と形容されるほど激烈なもので、全身性多発性出血、眼球内出血、脾腫、血腹症がみられた、血清型 Enteritidis による致死例は、野生動物では非常に珍しく、コビトイノシシ、ワシミミズクで報告があるのみである。

A. 研究目的

マーラは、げっ歯類テンジクネズミ科に属し、体長 60~73cm、体重は 9~16 kg で、国内では、29 施設で 303 頭が飼育されている (2005 年度)。その温和な性格から展示施設内で放し飼いされることが多い。今回、国内のマーラ飼育施設 (1 ヲ所) で集団致死事例が発生したため、その原因究明を行った。

B. 材料と方法 (臨床経過を含む)

マーラ 38 頭を飼育する施設で、8 月上旬

から中旬にかけ、7 頭が突然、食欲低下、起立困難、痙攣、後肢伸張など類似の臨床症状を呈し、10 月中旬までにそのうち 6 頭が死亡した (表 1)。下痢はみられなかった。6 頭中 4 頭は一週間以内に相次いで死亡した。いずれも異常発見後、数時間以内に死亡する甚急性経過であった。最初の死亡例から 7 日後に雌と仔に、13 日後に全頭に抗生物質を投与した。死亡した 6 頭中 2 頭は抗生物質投与により回復傾向がみられたものの、1 頭が 9 月下旬に死亡、さらに 1 頭が 10 月中旬に死亡した。

最初の死亡例から13日後、疫学調査として、生存個体全頭(34頭)の直腸スワブ、獣舎内で捕獲したネズミ、マーラの餌(野菜、チモシー等)、マーラの餌の調理場で、取り扱われる肉食動物の餌(鶏頭)を微生物学的に検索した。

死亡個体6頭(成獣3頭、1歳未満3頭)のうち、最初に死亡した2頭は病理解剖検査のみで、その後死亡した4頭を剖検のみならず病理組織学および微生物学的に検索した(表2)。

病理組織学的検査は、全身諸臓器をホルマリン固定後、定法に従ってパラフィン切片を作製し、HE染色、サルモネラ属09群免疫血清抗体を用いた免疫染色を行った。

C. 研究結果

死亡個体のうち、抗生物質投与前に死亡した4頭すべてに顕著な脾腫と高度な全身性出血、血様腹水がみられた。ときに眼球内出血があったが下痢はなかった(図1)。

病理組織学的検査では、症例によって病変に程度の差はあるものの、諸臓器に壊死性炎が観察され、6頭中2頭、抗生物質治療を行い、一時回復したものの死亡した個体に脳炎が認められた。各所で炎症細胞反応に乏しい細菌塊がみられ、それらはサルモネラ09群免疫血清抗体で陽性となった(図2)。

4頭を微生物学的に検査したところ、3頭の諸臓器よりSEが分離された(表2)。残りの1頭は抗生物質を投与されていた。生体より採取した直腸スワブでは34頭中3頭でサルモネラ属09群が、鶏頭からはサルモネラ属07群が分離されたが、ネズミとマーラの餌からは分離されなかった。

D. 考察

以上の所見より、死亡した6頭を致死性SE症と診断、生残した1頭も、発症時期や症状からSE症と推察した。よって、発症率18.4%、死亡率85.7%のSE症の流行が起きたものと判断した。サルモネラ症には、下痢を主徴とした下痢症型と、チフス様病態ともいわれる急性敗血症型があり、甚急性例では、目立った病理所見を示さず、急死するのが特徴である。さらに、血清型Enteritidisは、09群に属し、ヒトの食中毒の原因菌として最も多く、Typhimuriumに比べ、病原性が弱いとされている。今回、甚急性経過をとった4頭で観察された病態は、いわゆるチフスと表現される激烈なものであった。SEによる本病態の報告は、野生動物ではコビトイノシシ、ワシミミズクの報告があるのみである。マーラと同科のモルモットは、サルモネラ属菌に高感受性とされていることから、この病態は種に関連するかもしれない。また、SE症流行時の餌が保管されていなかったことから、感染源は特定できなかった。しかし、マーラの餌を扱う調理場では、他の動物に与える鶏頭を扱っており、疫学調査時に採材した鶏頭からサルモネラ属菌が分離されたこと、かなりの猛暑であったことから、調理場を介した食物汚染、経口感染が疑われた。

老若男女、特に幼児も数多く来園する展示施設で、かつ放し飼い展示されている動物での人獣共通感染症の流行には細心の注意が欠かせない。そのため、今回の事例が細菌性疾患と判明した時点で、動物およびその飼育場および調理場の衛生管理を徹底すると同時に、疫学的調査をしたところ、

その後、マーラの SE 症の発生はなく、さらに、同施設内に他の保菌動物も確認されなかった。

E. 参考文献

- (1) Kocabiyik, L. A., Cangul, T. I., Alasonyalilar, A. et al. (2006) : *J. Wildl. Dis.* 42, 696-698.
- (2) Rahman, H., Chakraborty, A., Deka, P. J. et al. (2001) : *Trop. Anim. Health. Prod.* 33, 95-102.

G. 健康危機管理情報

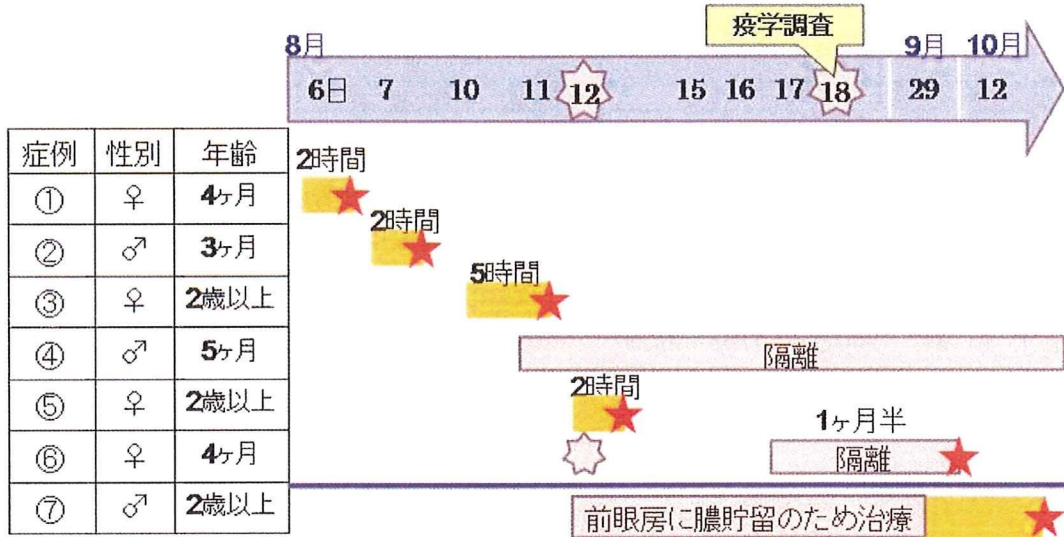
なし

H. 研究発表等

学会発表

- 1) 吉村遥子、岩田剛敏、中村進一、林谷秀樹、宇根有美：マーラ (*Dolichotis patagonum*) の致死性 *Salmonella* Enteritidis 感染症の集団発生. 第 148 回日本獣医学会学術集会. 鳥取. 2009 年 9 月 24~27 日.
- 2) 吉村遥子、岩田剛敏、中村進一、林谷秀樹、宇根有美：マーラ (*Dolichotis patagonum*) に集団発生した致死性 *Salmonella* Enteritidis 感染症. 第 9 回人と動物の共通感染症研究会. 東京. 2009 年 11 月 7 日.

表 1 発生状況



抗生物質投与

症例	①	②	③	⑤	⑥	⑦
培養 SE	ND	ND	+	+	-	+
免染 O9	ND	ND	+	+	+(脳)	+
肉眼 全身性出血	+	+	+	+	+(肺)	+(皮下,肺)
血様腹水	+	+	+	+	-	-
脾腫	+	+	+	+	+	-
組織 細菌性脳炎	ND	ND	-	-	+	+

致死性 Salmonella Enteritidis 症と診断
(発症率18.4%、死亡率85.7%)

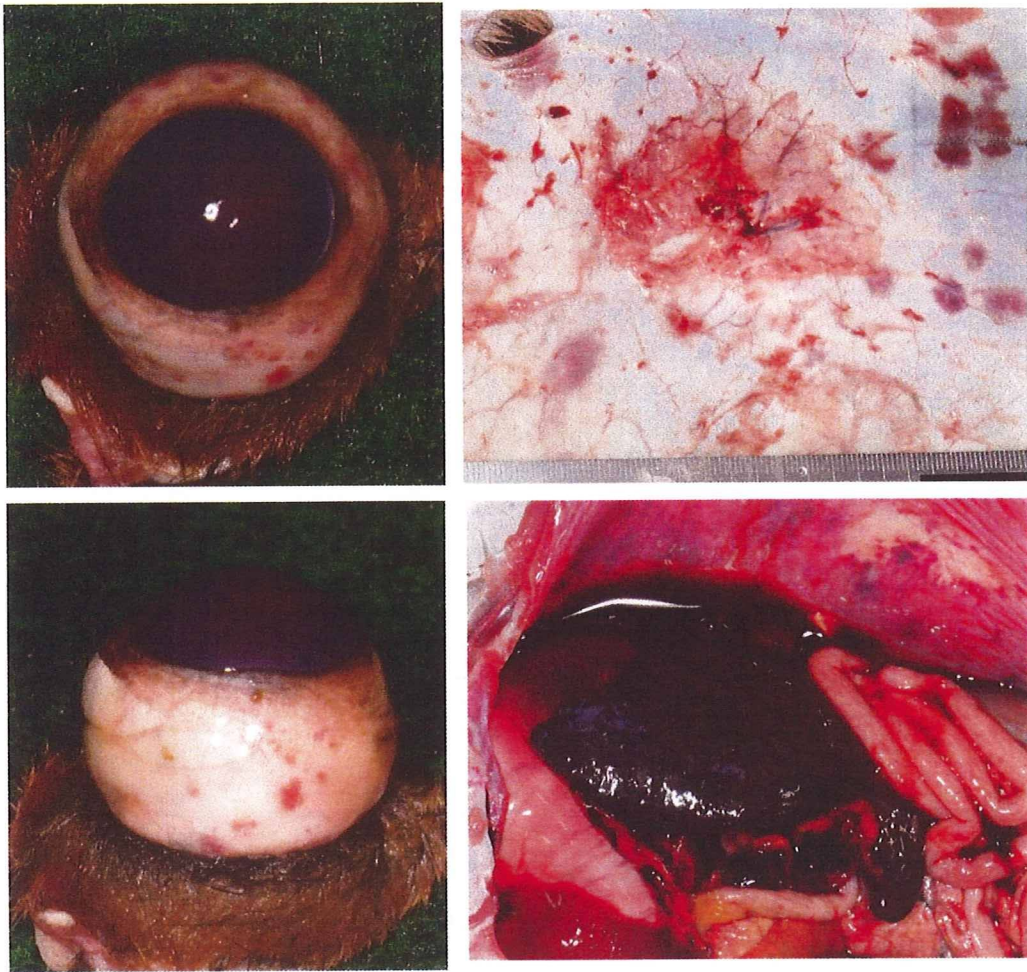


図1 肉眼写真

左上：眼球 眼球内出血

左下：眼球 強膜の点状出血

右上：皮下組織 出血

右下：腹腔 血様腹水が貯留

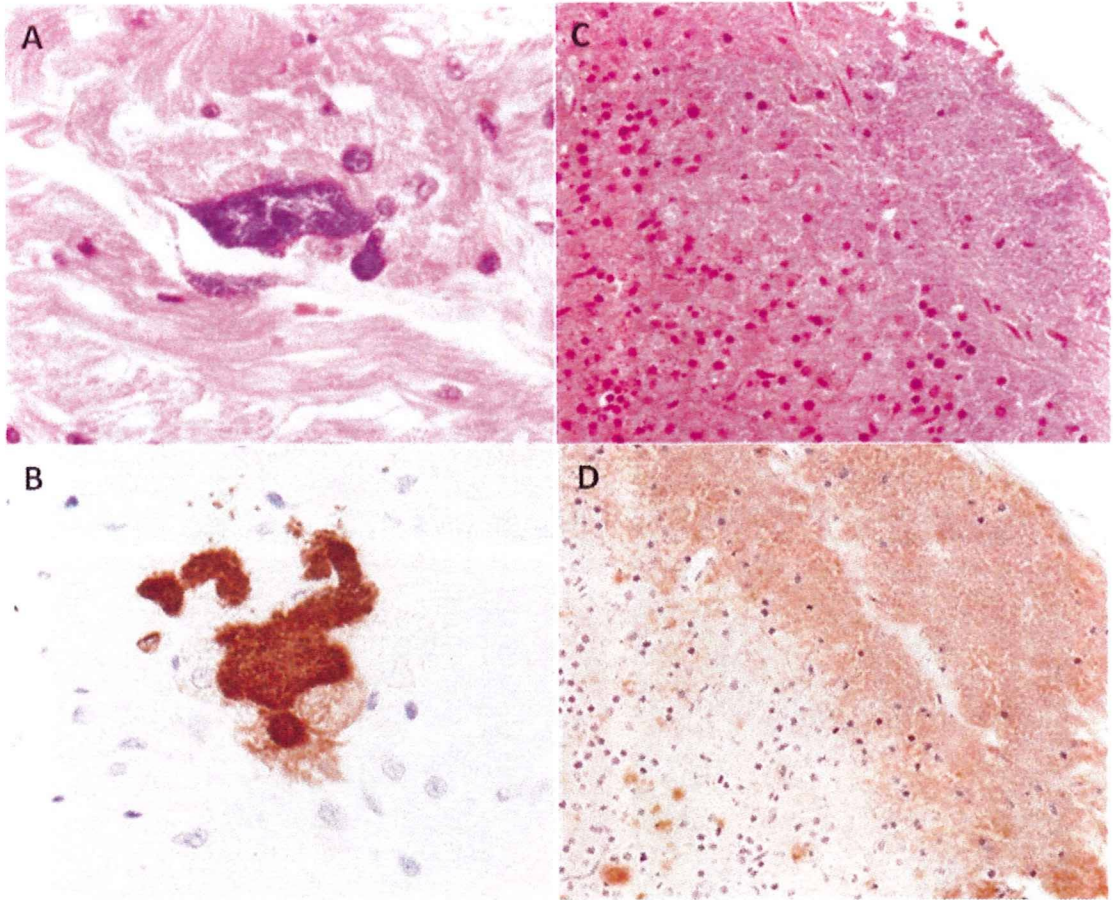


図2 組織写真

上段：HE 染色 下段：免疫染色 A, B：心臓 C, D：脾臓

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

9-4. ブンチョウを用いたスズメ (*Passer montanus*) のサルモネラ症の
病理発生解明および予防法に関する検討

分担研究者：宇根有美 麻布大学獣医学部獣医病理学研究室
研究協力者：加藤行男 麻布大学獣医学部公衆衛生第 2 研究室
：鈴木由衣 麻布大学獣医学部獣医病理学研究室

研究要旨：

我々は、以前北海道で発生したスズメ大量死を *Salmonella* Typhimurium フェージ型 40 (ST 40) によるものと結論づけた。昨年度はブンチョウを用いた ST40 の感染実験を行い、ST40 はブンチョウに対し用量依存性に致死的に働き、病原性が高いことを明らかにした。しかし、スズメの特徴的病変であるそ嚢炎や、排菌、保菌がブンチョウではみられなかったため、本年度はスズメのサルモネラ症の病理発生解明、自然界での ST40 の維持、伝播方法の解明、予防法を検討するための実験を行った。ブンチョウ(成鳥)を 1 群(ワクチン未接種・自然獲得抗体+)5 羽、2 群(市販 *S. Typhimurium*(ST)・*S. Enteritidis* ワクチンを皮下接種後抗体価上昇)5 羽、3 群(ワクチン接種後も抗体-)3 羽に分け、ST40 (5log₁₀CFU)を経口接種後、4 週間観察した。経時的に排菌状況と ST 抗体価を調べた結果、ワクチンを接種した 8 羽中 5 羽(62.5%)で 25~400 倍の抗体上昇があった(2 群)。ST40 接種による 1、2 群(10 羽)の死亡率は 30%、有病率は 50%で、うち 100 倍以上の抗体保有 5 羽中 3 羽が死亡し、有病率は 80%であった。ST40 は、全ての有病例の臓器から検出され、未発症例 1 羽で一過性に排菌が認められた。病理学的所見は既報の ST40 接種ブンチョウとほぼ同様で、肝・脾腫と多発性巣状壊死を主体としていたが、慢性化したものが多かった。スズメのサルモネラ症で特徴的とされるそ嚢炎も 1 羽で誘発できた。なお、抗体陰性 3 羽には、死亡例、病変もみられず、ST40 も分離されなかった。今回の実験で、抗体の有無とその値に関連して高度の病変が形成され、慢性経過をとり、排菌もあったことから、ST40 症の病理発生には何らかの免疫学的機序の関与が疑われた。自然界での *S. Typhimurium* の感染経路は、感染したスズメが *S. Typhimurium* を排菌し、その糞に汚染された水、食物などから経口感染、あるいは無症候性のキャリアーである可能性が考えられた。なお、市販の鶏用 ST・SE ワクチンは、少なくともブンチョウには抗体付与ができないものと考えた。

A. 研究目的

野鳥や飼育鳥において、サルモネラ症は大量死の原因となり、なかでも *S. Typhimurium* (ST) が原因となることが多い。わが国でも、2005年から2006年の冬に北海道でスズメの大量死事例が発生し、その数は1500羽を越えた。この大量死の原因については、本プロジェクトにより *S. Typhimurium* フェージ型 DT40 (ST40) が原因であると特定された。スズメに高率に観察された病変は、肝臓、脾臓の腫大と白色結節形成およびそ嚢炎であった。

昨年度、我々はブンチョウを用いた感染実験を行い、ST40はブンチョウに対し用量依存性に致死的に働き、人食中毒患者より分離されたSTより病原性が高いことを明らかにした。しかし、スズメの特徴的病変であるそ嚢炎や、排菌、保菌がみられなかったため、ST40が自然界でどのように維持され、伝播されているかは不明であった。

そこで本年度は、スズメの特徴的病変であるそ嚢炎の再現、自然界におけるST40の維持・伝播方法の解明、ワクチンの有効性を検討するため、ブンチョウに市販鶏用SE・ST混合ワクチンを接種して、ST40の感染実験を行った。

B. 材料と方法

1. 供試動物

ブンチョウ (*Padda oryzivora*)、約10ヵ月齢。13羽、オス6羽、メス7羽。体重21.5~28.0g、平均24.6g。実験に際し、サルモネラ抗体価を測定。以下のように群分けした(表1参照)。

・1群：自然獲得抗体(+)群…すでに抗体を獲得しているブンチョウ。

・2群：ワクチン接種(Vac.)抗体(+)群…ワクチン接種後、抗体価が上昇したブンチョウ。

・3群：抗体(-)群…ワクチン接種後も抗体価が上昇しなかったブンチョウ。

2. 供試菌

北海道で大量死したスズメから分離されたST40を $6 \log_{10}$ CFU/mlに調整し、ブンチョウに各0.1ml ($5 \log_{10}$ CFU/ml)ずつ経口接種した。菌の分離、維持、接種材料の調整は麻布大学公衆衛生第2研究室に依頼した。

3. ワクチン

市販の鶏サルモネラ症(油性アジュバント加)不活化ワクチン(オイルバックスSET・化学及血清療法研究所製造)を使用した。

鶏では頸部皮下に1羽あたり0.5ml接種する。鶏との体重比からブンチョウには、ワクチン2倍希釈0.1mlと、原液0.5mlを、腋窩と背側部に皮下接種した。

【方法】

1. 実験方法

ブンチョウは室温25°CのP2レベル実験室内アイソレーターで飼育・観察した。

1) 経時的抗体価測定：ワクチン接種前、初回ワクチン接種1週間後、同2週間後、同19日後と、ST40接種19日後、安楽死時または実験終了時の計6回採血し、後述の方法で抗体価測定を行った。

2) 経時的サルモネラ検査：クロアカスワブをST40接種前、導入時とワクチン接種時の2回実施し、ST40接種後は4日目、1週間目、2週間目、3週間目に行い、糞への排菌状況を調べた。

3) 実験手順(図1)

1 週間の検疫期間中に、馬パラチフス急速診断用菌液を用いたマイクロタイター法により、ST 血清型 04 の抗体価を測定(抗体価が ≥ 25 で抗体保持と判定)し、抗体未保有群(SV-1~8)と抗体保有群に分け、抗体保有群を 1 群(Cont. 1~5)とした。

その後、抗体未保有群に 2 倍希釈ワクチンを 0.1ml、1 群に生理食塩水を 0.1ml 皮下接種し、1 週間後抗体価測定と 2 回目ワクチン接種 (SV-1~4:2 倍希釈ワクチンを 0.1ml、SV-5~8:ワクチン原液を 0.5ml 皮下接種)を行った。さらに 1 週間後、抗体価測定と、前回抗体価の上昇がみられなかった個体 4 羽に対し 3 回目のワクチン接種(SV-2、3、6、7:2 倍希釈ワクチン 0.1ml 皮下接種)を行い、4 羽を 5 日間経過観察した。他の 9 羽には ST40($6.69 \log_{10} \text{CFU/ml}$)を 0.1ml 経口接種し、4 週間経過観察。5 日後、SV-2、3、6、7 の抗体価測定を行ない、ST40($6.71 \log_{10} \text{CFU/ml}$)を 0.1ml 経口接種し、4 週間経過観察した。経過観察中に発症し回復の見込みのない個体は、安楽死後、剖検を行なった。実験終了時に生存していた個体は全て安楽死し、剖検を行った。剖検時にはクロアカスワブ、そ嚢、腸管、肝臓、脾臓を採材し、サルモネラ検査を行なった。また、抗体価測定のために心採血を行った。

2) 病理組織学的検索

HE 染色、コンゴ赤染色、サルモネラ 04 免疫血清を一次抗体とした免疫染色を行った。

2. 微生物学的検索

クロアカスワブ、そ嚢、腸管、肝臓、脾

臓を採材し、サルモネラの培養を行った。

C. 研究結果

1. 抗体価推移(表 2、図 2・3)

ワクチンを接種した 8 羽中 5 羽は抗体価が上昇したが(SV-1~4、8)、3 羽は上昇しなかった(SV-5~7)。抗体価が上昇した 5 羽を 2 群、上昇しなかった 3 羽を 3 群とした。それぞれの群の抗体価推移を図 2 と図 3 に示した。

2. 臨床経過

①1 群: ST40 暴露後、2/5 羽が衰弱、膨羽、嗜眠などサルモネラ症を発症、落鳥したため予後不良として安楽死した(Cont. 1、3)。

②2 群: ワクチン接種後、一般状態は良好で、ST40 暴露後、3/5 羽がサルモネラ症を発症し(SV-1、3、8)、1 羽(SV-3)が死亡した。2 羽は発症したが実験終了まで生存していた。

③3 群: 3 羽とも発症せず、ST40 暴露後も、一般状態良好で、実験終了まで生存した。

3. 病理組織学的検索結果

1) 肉眼所見

①1 群: 5 羽中、安楽死した 2 羽に、サルモネラ関連病変である肝臓と脾臓の腫大および、肝臓の白色結節形成が認められた。

②2 群: 5 羽中発症した 3 羽に、サルモネラ関連病変である肝臓、脾臓の腫大と白色結節が認められた(図 4 b、c)。また SV-8 ではクロアカに粟粒大の白色結節が 1 つ存在した。

③3 群: 3 羽ともサルモネラ関連病変は認められなかった(図 4 a)。

ワクチンを接種したブンチョウ全てに、ワクチン接種部位と頸部から腹部にかけて、黄白色のワクチン結節が認められた。SV-6、8 では心膜にもワクチン結節の形成が認められた。

2) 病理組織学的所見

①1 群：Cont. 1 には、肝臓に多発性壊死性化膿性炎があり、脈管周囲にリンパ球が集簇していた(図 5)。2ヶ所の病変部で、抗サルモネラ 04 抗体を用いた免疫染色に陽性を示すマクロファージが観察された。また、小腸粘膜固有層に中程度の偽好酸球が浸潤していた。コンゴ赤染色では、肝臓のディッセ腔と、盲腸リンパ組織にアミロイドが沈着していた。

Cont. 3 には、肝臓の多発性壊死性化膿性炎と肉芽腫があり、脾臓に偽好酸球が浸潤していた。抗サルモネラ 04 抗体を用いた免疫染色では、肝臓病変と脾臓、腎臓、肺、十二指腸に陽性を示すマクロファージがみられた。コンゴ赤染色では、肝臓のディッセ腔と血管壁、脾臓、盲腸リンパ装置、十二指腸・そ嚢・食道・腺胃などの血管壁にアミロイドが沈着していた。

Cont. 5 には、そ嚢の重層扁平上皮に偽好酸球が中程度浸潤し、錯角化、粘膜固有層に多数のリンパ球が浸潤していた(図 6)。免疫染色では陽性反応はみられなかった。コンゴ赤染色では肝臓の血管壁、盲腸リンパ組織にアミロイドが沈着していた。

Cont. 2、4 は、特異的な病変はなかった。

②2 群：発症した 3 羽にサルモネラ病変

が認められた。

SV-1 には、肝臓に多発性壊死性化膿性炎があり(図 7)、また、び漫性にリンパ球が浸潤していた。脾臓に偽好酸球高度浸潤、肺の一部の気管支が壊死し、偽好酸球とマクロファージが多数浸潤していた。抗サルモネラ 04 抗体を用いた免疫染色では、肝臓病変と肺病変に陽性を示すマクロファージが観察された。コンゴ赤染色では、肝臓のディッセ腔と、盲腸リンパ装置にアミロイドが沈着していた。

SV-3 には、肝臓に菌塊が多数みられ、多発性巣状壊死と肉芽腫がみられた(図 8)。また、脾臓は中程度に壊死し、菌塊が存在していた。各臓器にはラッセル小体含有形質細胞の浸潤がみられた。抗サルモネラ 04 抗体を用いた免疫染色では、肝臓病変、脾臓、腎臓、消化管、脳、肺などに陽性を示す菌とマクロファージが観察された。アミロイドは沈着していなかった。

SV-8 には、肝臓の多発性壊死性化膿性炎と肉芽腫があり、脾臓に偽好酸球中程度浸潤。クロアカの粘膜は壊死し、潰瘍形成、偽好酸球が高度浸潤(図 9)。食道とそ嚢のワクチン結節は急性反応で、偽好酸球高度浸潤、1ヶ所肉芽腫形成。盲腸リンパ組織に偽好酸球中程度浸潤。抗サルモネラ 04 抗体を用いた免疫染色では、肝臓病変、盲腸、クロアカの潰瘍、ワクチンの肉芽腫に陽性を示す菌とマクロファージが観察された。コンゴ赤染色では、肝臓のディッセ腔と血管壁、脾臓、盲腸リンパ組織にアミロイドが沈着していた。

SV-2、4 には肝臓や盲腸リンパ組織にアミロイドが沈着していた。

③3 群：サルモネラ関連病変は認められなかった。

SV-5 には、食道の粘膜固有層に中程度にリンパ球が浸潤していた。コンゴ一赤染色では、肝臓のディッセ腔、脾臓の血管壁、盲腸リンパ組織にアミロイドが沈着していた。

SV-6 には、肝臓、脾臓にアミロイドが沈着していた。

SV-7 には、特異的な病変はなかった。ワクチン結節は、大小の空胞(オイルシスト)で構成され、その周囲に線維芽細胞の増生と、マクロファージを主体とする炎症細胞の浸潤が認められた。抗サルモネラ 04 抗体を用いた免疫染色ではオイルシストの外周が弱陽性を示した。

3) 肉眼および病理組織学的所見まとめ
(表 3)

1 群は、2/5 羽に特徴的なサルモネラ関連病変が認められた。また 1/5 羽にそ嚢炎が認められた。

2 群は、3/5 羽に特徴的なサルモネラ関連病変が認められた。そのうち 1 羽で、クロアカに潰瘍を伴う壊死性化膿性炎がみられた。

3 群は、サルモネラ関連病変は認められなかった。

4. 微生物学的検索結果(表 3)

1) クロアカスワブのサルモネラ検査結果

2 群の SV-8 で、ST40 接種後 14 日目にクロアカスワブから ST が分離された。また、剖検時に採取した SV-1 のクロアカスワブから ST が分離された。その他の個体から

は分離されなかった。

2) そ嚢、腸管、肝臓、脾臓のサルモネラ検査結果

①1 群：安楽死した 2 羽(Cont. 1、3)からサルモネラが分離された。

②2 群：発症した 3 羽(SV-1、3、8)からサルモネラが分離された。

③3 群：全てサルモネラが分離されなかった。

D. 考察

本研究では、抗体存在下での病態を検討した。その結果、抗体を保有するブンチョウの 50%が発症し、そのうちの 60%が死亡し、有病率 50%となった。うち 100 倍以上の抗体を保有していた 5 羽のうち、3 羽が死亡し、1 羽が保菌しており、有病率は合わせて 80%であった。

これらの死亡個体、保菌個体の死亡・発症期間は過去の ST40 感染実験より長く、病理学的所見は、肝臓・脾臓の腫大と白色結節など、既報の ST40 接種ブンチョウとほぼ同様であったが、組織学的には、慢性化したものが多く、肝臓では炎症反応が強い多発性化膿性炎や肉芽腫が認められた。また、そ嚢炎も 1 羽で誘発できた。ST40 は全ての有病例の臓器から検出され、1 羽で一過性に排菌が認められた。

本実験では、抗体保有ブンチョウに保菌、排菌がみられたことから、抗体の存在下でブンチョウは排菌し、かつ保菌動物になりえると考えられた。

今回、抗体(-)群では発症せず、逆に抗体(+)群で発症、排菌、保菌した。また抗体価が高いものほど、高度の病変が形成されたことから、ST40 症の病理発生には何ら

かの免疫学的機序の関与が疑われた。

Foster、G. L.らは、*Salmonella* 弱毒生ワクチンと *Salmonella* 強毒株を同時、あるいは時間をずらして静脈内投与したところ、*Salmonella* 強毒株単独で投与した時より、肝臓、脾臓の菌量が増え、病勢が悪化したと報告している。その機序として、生ワクチンにより IL-10 が産生され、マクロファージの殺菌能を低下させるため、その後、感染させた *Salmonella* 強毒株の病状が悪化するというものである。

今回の実験では不活化ワクチンを用いていること、免疫付与後の暴露までの時間など、この報告とはいくつか条件が異なるが、抗体の有無により発症率、致死率に顕著な差があり、慢性化、持続感染が生じたことから、同様の機序の関与が疑われた。すなわち、不活化ワクチンで使用された死菌により IL-10 が産生され、マクロファージの殺菌能が低下し、後に接種する ST40 の増殖を抑制できず、ST40 症を発症したと推察された。自然獲得抗体(+)のブンチョウでは、飼育施設に弱毒あるいは低用量のサルモネラが存在し、慢性感染していた可能性があり、そのサルモネラがワクチンの働きをし、同様の機序によって ST40 症を発症させたと推察された。さらに、慢性的なサルモネラ感染によって、そ嚢炎が惹起されたと考えられた。

今回の実験で高頻度に観察されたアミロイド沈着は、ST40 感染とワクチン接種の両方によるものと考えられる。鶏では SE 感染によってアミロイドが沈着することが報告されている。また、ワクチンによって慢性的な炎症反応が起き、さらに ST40 の発症期間が長期になったことから、血清中の SAA

濃度が上昇し、主に肝臓、脾臓にアミロイドが沈着したと思われた。

自然界での ST 感染経路は、感染したスズメが糞に ST を排菌し、その糞に汚染された水、食物などから経口感染すると考えられ、感染したスズメは無症候性のキャリアーである可能性がある。弱毒性 *Salmonella* や低用量の ST40 に反復感染することによって、発症期間が延長して病状の慢性化、保菌、排菌しやすくなることが考えられ、これにより、感染機会の増大、高用量暴露の危険性が増加することが推察された。

スズメの ST40 感染予防策として、海外で認可されている生ワクチンを、餌台や水から経口接種させることが挙げられる。しかし、良好な免疫獲得には複数回の接種が必要となること、抗体保有によって病勢が悪化する可能性があることや、野外ではワクチン株が病原性を復活させる可能性があることから、ワクチンの使用は極力避け、餌台や水を清潔に保つことが第 1 の予防策と考えられる。

なお、今回使用した市販ワクチンは、鶏では 1 回の接種でほぼ 100%有効な抗体価まで上昇するのに対し、ブンチョウは 2、3 回接種しても、抗体価が上昇したのは 8 羽中 5 羽(62.5%)であった(2 回接種：75%抗体価上昇、3 回接種：50%抗体価上昇)。本実験では、鶏よりも高容量でブンチョウに接種しており、接種量が原因とは考えにくい。抗体価が上昇しなかった理由は動物種による可能性が高く、市販の鶏用 SE・ST 混合ワクチンは、少なくともブンチョウには抗体付与ができないものと考えた。

抗体価推移をみると、ワクチン接種後の抗体価上昇値より、ST40 感染後の抗体価上

昇値の方が大きかった (Cont. 3, SV-1, 4, 6, 8)。過去の報告では、鶏で ELISA 抗体の場合、ワクチン抗体価は感染抗体価よりも低いとされ、今回はこれに一致した。これはワクチン接種中の菌数より ST40 感染の菌数が多いことが考えられた。

ワクチンの副反応として、ワクチン結節がみられ、心膜まで達している個体もいた。これはブンチョウの体積に比べ、接種量が多かったために起こったものと考えられ、今後、小鳥にワクチンを接種する場合には、用量に注意して用いるべきである。

E. 参考文献

- (1) Alley, M. R., Connolly, J. H., Fenwick, S. G., Mackereth, G. F., Leyland, M. J., Rogers, L. E., Haycock, M., Nicol, C., Reed, C. E. M. 2002. An epidemic of salmonellosis caused by *Salmonella* Typhimurium DT 160 in wild birds and humans in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 50:170-176.
- (2) Connolly, J. H., Alley, M. R., Dutton, G. J., Rogers, L. E. 2006. Infectivity and persistence of an outbreak strain of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT160 for house sparrows (*Passer domesticus*) in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 54:329-332.
- (3) Daoust, P. Y., Busby, D. G., Ferns, L., Goltz, J., Mcburney, S., Poppe, C., Whitney, H. 2000. Salmonellosis in songbirds in the Canadian Atlantic provinces during winter-summer 1997-98. *Can. Vet. J.* 41:54-59.
- (4) Foster, G. L., Barr, T. A., Grant, A. J., McKinley, T. J., Bryant, C. E., MacDonald, A., Gray, D., Yamamoto, M., Akira, S., Maskell, D. J., Mastroeni, P. 2008. Virulent *Salmonella enterica* infections can be exacerbated by concomitant infection of the host with a live attenuated *S. enterica* vaccine via Toll-like receptor 4-dependent interleukin-10 production with the involvement of both TRIF and MyD88. *Immunology.* 124(4):469-479.
- (5) Hughes, L. A., Shopland, S., Wigley, P., Bradon, H., Leatherbarrow, A. A., Williams, N. J., Bennett, M., de Pinna, E., Lawson, B., Cunningham, A. A., Chantrey, J. 2008. Characterisation of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from wild birds in northern England from 2005-2006. *BMC. Vet. Res.* 4:4.
- (6) 石原得博、池田修一. 2004. アミロイドーシスの基礎と臨床. 金原出版. 東京.
- (7) 板倉智敏. 1988. 鶏病病理学カラーアトラス. pp.60-61. 学窓社、東京.
- (8) 伊藤武. 1999. サルモネラ食中毒. pp. 186-188. In: 獣医感染症カラーアトラス、見上彪、丸山務、文永堂出版、東京.
- (9) 神谷茂、田口晴彦. 2003. サルモネラ (チフスを除く). 診断と治療. 91(7): 57.
- (10) 梶ヶ谷博、石森礼子. 2000. 飼鳥の臨床指針. pp.46. Inter Zoo. 東京.

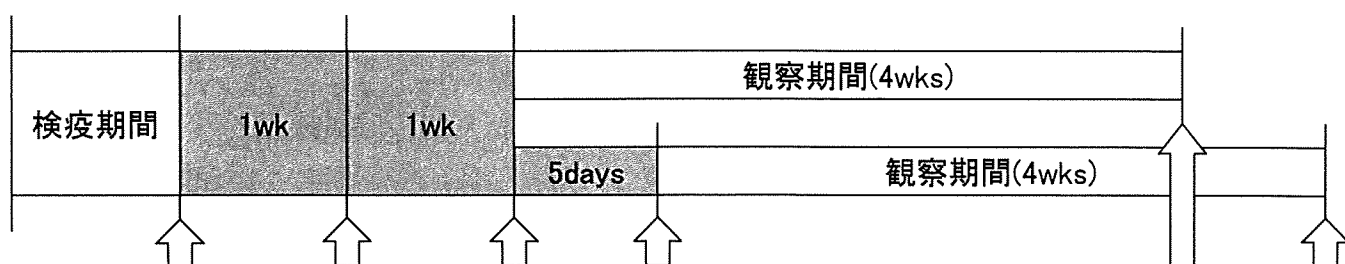
- (11) Kirkwood, K. J. 2007. Salmonellosis in Songbirds. pp.166-169. *In: Zoo and Wild Animal Clinical Current Therapy*, volume 6. Murray, E., R, Eric. Saunders, Philadelphia.
- (12) Landman, W. J., Bagaard, A. E., Doornenbal, P., Tooten, P. C., Elbers, A. R., Gruys, E. 1998. The role of various agents in chicken amyloid arthropathy. *Amyloid*. 5:266-278.
- (13) Okamura, M., Tachizaki, H., Kubo, T., Kikuchi, S., Suzuki, A., Takehara, K., Nakamura, M. 2007. Comparative evaluation of a bivalent killed *Salmonella* vaccine to prevent egg contamination with *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Typhimurium, and Gallinarum biovar Pullorum, using 4 different challenge models. *Vaccine*. 25(25):4837-4844.
- (14) 小沼操、明石博臣、菊池直哉、澤田拓土、杉本千尋、宝達勉. 2007. 動物の感染症 第2版. pp.12、近代出版、東京.
- (15) 小沼操、明石博臣、菊池直哉、澤田拓土、杉本千尋、宝達勉. 2007. 動物の感染症 第2版. pp.216-217. 近代出版、東京.
- (16) Pennycott, T. W. 2001. Death in finches and sparrows. SAC Veterinary Science Division. [online], URL : <http://www.bvpa.org.uk/papers/penn01wb.htm>, Accessed 3 August 2006.
- (17) Pennycott, T. W., Park, A., Mather, H. A. 2006. Isolation of different serovars of *Salmonella enterica* from wild birds in Great Britain between 1995 and 2003. *Vet. Rec.* 158:817-820.
- (18) Refsum, T., Handeland, K., Baggesen, D. L., Holstad, G., Kapperud, G. 2002. Salmonellae in avian wildlife in Norway from 1969 to 2000. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:5595-5599.
- (19) Refsum, T., Vikoren, T., Handeland, K., Kapperud, G., Holstad, G. 2003. Epidemiologic and pathologic aspects of *Salmonella* Typhimurium infection in passerine birds in Norway. *J. Wild. Dis.* 39:64-72.
- (20) 三部あすか、加藤行男、鈴木智、仁和岳史、川上和人、泉谷秀昌、渡辺治雄、宇根有美. 2008. 本州におけるスズメ (*Passer montanus*) の *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium 感染症の集団発生. 獣医畜産新報. 61(3):210-212.
- (21) 佐藤静夫. 2004. 鶏のサルモネラ症の現状と対策(その2). 獣医師会雑誌. 57(12).
- (22) 品川邦汎、関崎勉. 2005. 1. グラム陰性通性嫌気性桿菌 A. 腸内細菌と感染症 3) サルモネラ属. pp.60-63. *In: 獣医微生物第2版*、見上彪、文永堂出版、東京.
- (23) 添田琴絵、政岡智佳、鈴木智、仁和岳史、加藤行男、石原ともえ、宇根有美. 2009. 北海道のスズメ (*Passer montanus*) 大量死事例より分離された *Salmonella* Typhimurium DT40 感染症

- と病理発生に関する検討. 獣医畜産新報. 62(6):471-472.
- (24) 高木昌美. 2004. 鶏サルモネラ症(サルモネラ・エンテリティディス・サルモネラ・ティフィウム)(油性アジュバント加)不活化ワクチン. 動薬研ニュース. 農林水産省動物医薬品検査所. 262:8-9.
- (25) 豊田正武. 2004. 鶏サルモネラ症(油性アジュバント加)不活化ワクチンに係る食品中の残留基準の設定について. [online], URL;
<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2004/04/dl/s0420-4m.pdf>
- (26) 山田果林、竹原一明、中村政幸. 1999. 鶏用 *Salmonella Enteritidis* 不活化ワクチンの有効性評価. 鶏病研報. 35(1):13-21.
- (27) 山本友子、高屋明子. 2005. サルモネラの細胞侵入と食細胞内寄生の分子機構. 日本細菌学雑誌. 60(2):375-387.
- G. 健康危機管理情報
なし
- H. 研究発表等
学会発表
1) 鈴木由依、加藤行男、添田琴恵、三部あすか、宇根有美: ブンチョウを用いたスズメのサルモネラ症の病理発生解明および予防法に関する検討. 第 148 回日本獣医学会学術集会. 鳥取. 2009 年 9 月 24~27 日

表 1：群分け

1 群 自然獲得抗体(+)群	2 群 Vac. 抗体(+)群	3 群 抗体(-)群
Cont. 1~5	SV-1~4、8	SV-5~7

図 1：実験計画



SV-1	○	○	●	ND	×	
SV-2	○	○	○	●		×
SV-3	○	○	○	●		×
SV-4	○	○	●	ND	×	
SV-5	○	△	●	ND	×	
SV-6	○	△	○	●		×
SV-7	○	△	○	●		×
SV-8	○	△	●	ND	×	
Cont. 1	生	ND	●	ND	×	
Cont. 2	生	ND	●	ND	×	
Cont. 3	生	ND	●	ND	×	
Cont. 4	生	ND	●	ND	×	
Cont. 5	生	ND	●	ND	×	

○:2 倍希釈ワクチン 0.1ml 皮下接種

△:原液ワクチン 0.5ml 皮下接種

生:生理食塩水 0.1ml 皮下接種

●:ST40 経口接種

×:計画殺

表 2 : 抗体価推移

	Pre.	Vac. 1 回目	Vac. 2 回目	Vac. 3 回目	ST40 接種 19 日後	安楽死時
Cont. 1	50	50	100	ND	ND	100*
Cont. 2	100	50	50	ND	50	200
Cont. 3	50	100	100	ND	800	1600**
Cont. 4	50	25	25	ND	25	25
Cont. 5	50	50	50	ND	25	25
SV-1	0	0	200	ND	1600	1600
SV-2	25	0	0	50	400	400
SV-3	0	0	0	200	ND	ND
SV-4	0	0	400	ND	1600	12800
SV-8	25	0	25	ND	12800	12800
SV-5	0	0	0	ND	50	50
SV-6	0	0	0	0	3200	12800
SV-7	0	0	0	0	50	50

* : ST40 接種 17 日後 ** : ST40 接種 21 日後

図 2 : 1 群抗体価推移

