

感染症予防の観点からの愛玩鳥の適正飼養に関する調査 The Study on Pathogens in Pet Birds for Preventing Zoonotic Infections Diseases

東京農工大学農学部共同獣医学科 佐々 悠木子
Yukiko Sassa, Tokyo University of Agriculture and Technology

キーワード： 愛玩鳥、人獣共通感染症、オウム病クラミジア、サルモネラ、クリプトコッカス
keywords : Pet Birds, Zoonosis, Chlamydia psittaci, Salmonella, Cryptococcus

1. 調査研究の背景

日本では古来より犬猫が愛玩動物として一般家庭で飼養されて来たが、近年、多種の愛玩鳥が一般家庭で飼養されるようになって来た。愛玩鳥のペットとしての需要が高まった理由として、①日本の人口が都市に密集し住宅が狭くなったために、ペットの小型化が進み、小型犬や猫よりさらに小さい愛玩鳥が注目されている。②ペット不可の賃貸マンションでも愛玩鳥は飼養可能である。③小鳥カフェやフクロウカフェが大流行したために、愛玩鳥の愛らしさが一般に認知された。などの理由が挙げられる。このことから、愛玩鳥のペットとしての需要は今後さらに高まっていくであろう。

愛玩鳥の一般家庭での飼養が一般化する一方で、飼主さんの小鳥の適正飼養に関する知識は非常に限られている。鳥類は哺乳類とは異なる特有の解剖・生理を有するため、愛玩鳥の飼養は、飼育環境の管理や健康管理という点で難しい局面が多々ある。また、感染症についても一般の飼主さんが得られる情報は非常に少なく危険性があまり認知されていない。このため、口移しで餌を与えたり、鳥類の場合は糞尿が寝具に付着するにもかかわらず、添い寝をしたりするなどの濃厚な接触がしばしば認められる。これらの習慣を継続すれば、愛玩鳥から人へと伝搬する感染症をコントロールすることは難しいと言わざるを得ない。

2017年に、国内において初めてオウム病による妊娠女性の死亡例が報告された¹⁾。オウム病は細菌の一種であるオウム病クラミジア (*Chlamydia psittaci*; *C.psittaci*) による感染症であり、*C.psittaci* は 140 種を超える鳥類から検出

されている。ヒトへは乾燥した鳥類の糞・排泄物を吸引することにより感染するとされている。しかしながら、オウム病の存在、感染経路、妊娠女性がリスクファクターであることなどは一般に広く知られているとは言い難い状況である。これまで、日本での *C.psittaci* の疫学調査は、1980年代に輸入した愛玩鳥においてと、セキセイインコにおいて報告されている。以前の調査から長い年月が経過し、以前と比較して感染症の動向が変化していること、また現在では極めて多種の愛玩鳥が一般に飼養されるようになってきたことから、現在の感染状況を改めて調査する必要がある。

鳥類からヒトに感染する病気は多く存在し、オウム病の他にもサルモネラ感染症、クリプトコッカス感染症、高病原性鳥インフルエンザ、ウエストナイル熱、非定型抗酸菌症などがある。感染症の制御は、先ず、感染の状況を把握することが重要である。しかしながら、愛玩鳥を対象とした調査研究は、養鶏などの産業鳥と比較して非常に少なく、実態は謎に包まれている。

2. 調査研究の目的

鳥類から人へと感染する病原体の中で、感染した鳥で明瞭な症状を示さずに病原体を排出する、サルモネラ、*C.psittaci* を含むクラミジア、クリプトコッカスを対象とし、一般家庭で飼養される愛玩鳥での保有率を調査した。

3. サンプルの収集

関東地方、中部地方、近畿地方、四国地方に位置する鳥の診療を主体とする 11 の動物病院から、75 鳥種の糞便 827 検体を収集した。

4. クラミジア

オウム病はオウム病クラミジア(*Chlamydia psittaci*)による感染症で、鳥から人へと感染する。鳥では、眼症状、呼吸器症状が定型的ではあるが必発ではない。感染した鳥は糞便などの排泄物へと *C. psittaci* を排泄する。人は感染した鳥の糞便の塵埃を吸入することによって、また口移しの給餌や咬傷によっても感染する。*C. psittaci* の宿主域は広く、オウム・インコ類、ハトをはじめ140種を超える鳥類から検出されている。人への感染源としては、インコ、オウム、ハトが多い。

人では、急激な高熱と咳嗽にて発症する。オウム病の病型には、インフルエンザ様の症状を呈する異型肺炎の型と、肺炎症状が顕著ではない敗血症様症状を呈する型とがあり、ときに致死的な経過を辿る。オウム病は主として成人に発症することが多く、小児の感染は比較的少ないとされ、妊婦では重症化する傾向があり胎児の死亡も報告されている。

4.1 材料と方法

糞便から DNA を抽出し、クラミジアの16SrRNA を標的としたプローブ法のリアルタイム PCR により検出した⁴⁾。リアルタイム PCR にて陽性であった検体の一部は、塩基配列を決定し、データベースにて相同性を検索した。さらに、一部の検体についてはクラミジアの envB⁵⁾および23SrRNA⁶⁾を PCR にて増幅し、塩基配列を決定した。

4.2 結果

16SrRNA を対象とした検出では、827 検体中、493 検体(59.6%)が陽性であり、Cq 値が35未満の強い感染を示す検体は40 検体(全体の4.8%)であった。塩基配列を決定したものは、水から得られた Uncultured Chlamydiales bacterim や Parachlamydia acanthimoebae などの環境に存在するクラミジアと高い相同性を示した。また、envB を対象とした PCR で得られた塩基配列は *C. psittaci* を、23SrRNA を対象とした PCR で得られた塩基配列は *Neochlamydia* と高い相同性を示した。

4.3 考察

鳥は *C. psittaci* に感染しても必ずしもすぐに発症するわけではなく、無症状で少量の病原体

を排泄しつつ長年を過ごし、病気や育雛及び老化などによって免疫機能が低下した際に体内で *C. psittaci* が増殖し、臨床症状を示すとともに大量の *C. psittaci* を糞便などの排泄物へと排泄することが知られている。臨床症状を示さない鳥が糞便に排泄するクラミジアの量は、少量であっても人への感染源となり、社会福祉施設など免疫力の不十分な人が過ごす施設では集団感染を惹きおこす可能性がある。しかしながら、従来の PCR 検査では検出限界ギリギリであると言われてきた。また、近年、*C. psittaci* 以外の新しいクラミジアが、鳥で発見されている^{2), 3)}。

本方法は、新しいクラミジアを含む幅広いクラミジアを検出し、かつ人の肺からの液体を材料とした場合には5コピーから検出可能であるという非常に感度が高い方法であるため採用した。しかしながら、環境中に存在する病原性のないクラミジアも検出し、鳥の糞便ではそういったクラミジアが多く存在することが分かったため、本方法は *C. psittaci* の疫学調査には不适当であると考えられる。

その一方で、envB に対するプライマーを用いた PCR では、*C. psittaci* が検出されていた。本プライマーは、*C. psittaci* 以外にも *C. abortus* や *C. felis* を検出する可能性があるプライマーであるが、環境中のクラミジアよりも *C. psittaci* に高い親和性を有すると考えられる。今回使用した Ampdirect Plus は糞便由来の PCR 阻害物質を抑制する PCR バッファーであり、BIOTAQ HS DNA polymerase はこのバッファーと相性の良い酵素である。今後は、この試薬に SYBRGreen を添加してインターカレーター法でのリアルタイム PCR を実施するなどの手法の改良に取り掛かる予定である。

4.4 結論

493 検体(59.6%) からクラミジアの遺伝子断片が検出されたが、*C. psittaci* ではなく環境に存在する非病原性のクラミジアを検出した可能性が高く、鳥の疫学調査に使用するクラミジアの検出系を再考する必要がある。

3. サルモネラ

サルモネラは自然界のあらゆるところに生息し、2500種類以上の血清型や亜型が確認されている。サルモネラは哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類が保有しており、人のサルモネラ症の原因菌である *S. enterica* では、爬虫類などのペット

を介した感染も多く認められている⁷⁾。鳥類でのサルモネラの保有は鶏において重要な課題と認識されている。鶏では感染しても症状がなく、臓器内にサルモネラが定着して卵や肉に付着することで食中毒の原因となる場合がある⁸⁾。家畜で10-30%、犬や猫で3-10%、爬虫類では50-90%がサルモネラ属の菌を保有していることが知られているが、愛玩鳥でのサルモネラの疫学調査や、サルモネラの感染源としての愛玩鳥の重要性を調査した研究はこれまでなかった。

3.1 材料と方法

サルモネラの検出は、培養にて行った。糞便を前培養した後に、MLCB, DHL, BRS 培地を用いてサルモネラを培養し、TSI 培地と LIM 培地に植え継いで性状を確認した。次にサルモネラ抗血清を用い、スライド凝集反応を行った。また、PCR により、*invA* 遺伝子⁹⁾及び *hns* 遺伝子¹⁰⁾の検出を試みた。

3.2 結果

サルモネラの選択的分離培養にて、4 検体が BRS 培地の赤色変化を示した。うち 3 検体の抗原型別を行ったが、陰性であった。また、4 検体とも PCR にて陰性であった。

3.3 考察

本研究では、 H_2S 産生性以外を鑑別指標とする BRS 培地にて 4 検体がサルモネラを疑う検体として得られた。これらの 4 検体は、サルモネラの代表的生化学性状である H_2S 産生を示さず、またリジン産生能もなかった。しかしながら、近年、 H_2S 産生が微弱または認められない株やリジン脱炭酸反応陰性といった非定型的生化学性状を示す株が食中毒の原因となっている例があるため、サルモネラを疑い調査を進めた。O 抗原型別でも陰性であったが、血清型別のキットはマイナーな血清型を含まないため、血清型別で陰性であっても PCR では検出できる場合があるため、サルモネラに特異的な PCR を行なったが、いずれの遺伝子も検出されなかった。

3.4 結論

愛玩鳥でのサルモネラの保有率は極めて低く、愛玩鳥から人へとサルモネラが感染する危険性もまた極めて低いと考えられる。

4. クリプトコッカス

クリプトコッカス症は、真菌の *Cryptococcus* 属による感染症で、かねてより *C. neoformans* が人に病原性を起こすものとして知られてきた。*C. neoformans* は全世界に分布し、日本でも *C. neoformans* による発症例が報告されている。ヒト感染症の感染源として鳥の糞との関係が指摘されており、環境中に浮遊する *C. neoformans* を吸入し、あるいは皮膚の創傷を介して感染する。人では *C. neoformans* は肺クリプトコッカス症が多いが、播種性感染症を起こす場合があり、中枢神経系に播種して脳脊髄炎として発症し時に致死性である。免疫機能が低下した人は発症しやすく重症化しやすいため注意が必要である。

C. gattii は健常者に多く起こり重症化もしやすい高病原性クリプトコッカス症の原因となる¹⁰⁾。オーストラリアやパプアニューギニアといった熱帯・亜熱帯地区に限定的に分布し、ユーカリの樹に生息するコアラの病原体として知られてきたが、発生地域の世界的な拡大傾向が懸念されている。ユーカリなどの樹木や樹木の土壌を感染源として、空気中に舞い上がった *C. gattii* を吸い込むことで人が感染すると考えられているが、感染源や感染経路については完全には明らかになっていない。

4.1 材料

糞便から DNA を抽出し、クリプトコッカスの *intergenic spacer 1 (IGS1)* を標的としたインターカレーター法により検出した¹¹⁾。かねてから問題となっている *Cryptococcus neoformans* に加え、近年、高病原性クリプトコッカス症を惹き起こす *C. gattii* が注目されている。本方法は、*C. neoformans* と *C. gattii* の両方を検出し、かつ Tm 値からこれら二つの病原体を区別することが可能である。

4.2 結果

クリプトコッカスは 7 検体 (0.85%) から、Tm 84.2°C となる遺伝子の増幅が確認され、*C. neoformans* と推定される遺伝子が検出された。*C. gattii* は検出されなかった。

4.3 考察

C. neoformans の愛玩鳥の糞便での検出率は 0.85% と非常に低かったが、これは *C. neoformans* は鳥の糞便で増殖する環境性の真菌であり、排泄された直後の糞便を集めた本研究

では *C. neoformans* が十分に増殖していなかったためであると考えられる。

愛玩鳥から排泄された糞便には、環境から経口的に摂取した *C. neoformans* が排泄されて含まれており、あるいは排泄したのちに環境中の *C. neoformans* に接触した糞便を採取することも考えられるにも関わらず低い検出であったことは、多くの家庭で鳥の糞便を適切に清掃しており、日常的に *C. neoformans* が増殖する環境がないことを示すものである。本研究で *C. neoformans* の検出した遺伝子断片は、糞便にて増殖する前のものであり、すぐに人への感染への脅威となるものではない。

C. gattii は検出されなかった。これは、*C. gattii* がユーカリなどの植物に生息しているとされてきたこれまでに報告と一致する。*C. gattii* はある種の樹木や樹木の周囲の土壌を感染源として、空气中に舞い上がった浮遊真菌を吸い込むことでヒトに感染すると考えられているが、その感染源や感染経路に関しては完全には明らかとなっていない。本研究の結果は、愛玩鳥の糞便は *C. gattii* の感染源としては重要性を持たず、愛玩鳥から人へと感染する危険性は極めて低いことを改めて示した。

4.4 結論

一般家庭で飼養される愛玩鳥の糞便での *C. neoformans* の検出率は 0.85% と非常に低く、人のクリプトコッカス症を惹きおこす脅威になりうるとは考えられない。また、一般家庭では愛玩鳥の糞便は適切に処理されていることが伺える。*C. gattii* は愛玩鳥の糞便には含まれないため、愛玩鳥から人への感染のリスクを考慮する必要はない。

5. まとめと結論

クラミジアの遺伝子断片が 493 検体(59.6%) から検出されたが、*C. psittaci* ではなく環境に存在する非病原性のクラミジアを検出した可能性が高く、鳥の疫学調査に使用するクラミジアの検出系を再考する必要がある。サルモネラは分離されなかったことから、愛玩鳥でのサルモネラの保有率は極めて低く、愛玩鳥から人へとサルモネラが感染する危険性もまた極めて低いと考えられる。人でクリプトコッカス症を惹きおこす *C. neoformans* の遺伝子は 7 検体 (0.85%) から検出された。*C. neoformans* は排泄された鳥の糞便中で増殖するため、鳥の糞便を放置しな

いことで人へと感染しない環境を整えることができるであろう。

6. 参考文献

- 1) 柳原格, (2017), 「オウム病について」, 日本産婦人科医会
- 2) Vorimore, F., Hsia, RC., Huot-Creasy, H. et.al., 2013. Isolation of a New Chlamydia species from the Feral Sacred Ibis (*Threskiornis aethiopicus*): *Chlamydia ibidis*. PLoS One. 8(9): e74823.
- 3) Sachse, K., Laroucau, K., et.al., 2014. Evidence for the existence of two new members of the family Chlamydiaceae and proposal of *Chlamydia avium* sp. nov. and *Chlamydia gallinacea* sp. nov. Syst Appl Microbiol. 37(2): 79-88.
- 4) Lienard J, Croxatto A, Aeby S, et.al., (2011), Development of a new chlamydiales-specific real-time PCR and its application to respiratory clinical samples. J Clin Microbiol. 49(7):2637-42
- 5) Okuda H, Ohya K, Shiota Y, et.al., (2011), Detection of *Chlamydophila psittaci* by using SYBR green real-time PCR. J Vet Med Sci. 73(2):249-54.
- 6) Everett KD, Hornung LJ, Andersen AA., (1999), Rapid detection of the Chlamydiaceae and other families in the order Chlamydiales: three PCR tests., J Clin Microbiol. 37(3):575-80.
- 7) 林谷秀樹, 岩田剛敏, 中臺文, (2008), 「爬虫類とサルモネラ」, モダンメディア 54 巻 6 号
- 8) 有吉理佳子, (2011), 「サルモネラ 4:i:-について」 Avian Disease Information, 第 15 号
- 9) Rahn K, De Grandis SA, Clarke RC, et.al., (1992), Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. Mol Cell Probes, 6(4): 271-279.
- 10) Jones DD, Law RR, Bej AK. Detection of *Salmonella* spp in oysters using polymerase chain reaction (PCR) and gene probes., (1993), J Food Sci, 58(6): 1191-1197.
- 11) Okamoto K, Hatakeyama S, Itoyama S, et.al., (2010), *Cryptococcus gattii* genotype VGIIa infection in man, Japan, 2007. Emerg Infect Dis. 16(7): 1155-7.
- 12) Tavares ER, Azevedo CS, Panagio LA, et.al., (2016), Accurate and sensitive real-time PCR assays using intergenic spacer 1 region to differentiate *Cryptococcus gattii sensu lato* and *Cryptococcus neoformans sensu lato*., Med Mycol. 54(1):89-96.