

8 県内動物展示施設で発生したシロフクロウの鳥マラリア

ア

中央家畜保健衛生所

○小池 絵理子

I はじめに

鳥マラリアは *Plasmodium* 属原虫による感染症の総称であり、*Haemoproteus* 属原虫が含まれる場合もある¹⁾。原虫は血液に寄生し蚊によって媒介される。飼育下の鳥類では、特に極地性鳥類であるペンギンやシロフクロウは血液原虫に対する感受性が高いとされている²⁾。国内では、*P. juxtannucleare* による鳥マラリアが鶏³⁾、ペンギン⁴⁾で、*P. relictum* による鳥マラリアがペンギン⁴⁾で報告されている。しかし、シロフクロウの *P. elongatum* による鳥マラリアの病理組織学的検査を含めた詳細な報告は世界的にも少ない。今回、県内の動物展示施設において、本症の発生が確認され、貴重な症例と考えられたので報告する。

II 発生概要

平成 30 年 10 月 5 日、2 歳齢の雄のシロフクロウ 1 羽が元気消失、食欲低下を呈し、6 日に食欲廃絶となった。同月 8 日の朝に死亡が確認されたため、9 日に病性鑑定を実施した。シロフクロウは単独で一面が金網張りの飼育小屋で飼育されていた。

III 材料及び方法

1 材料

死体 1 検体を病性鑑定に供した。

2 方法

(1) 病理学的検査

病理解剖を実施した後、メイ・グリュンワルド・ギムザ染色により肝臓のスタンブ標本を作製した。また、10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬した諸臓器について、病理組織学的検査を実施した。病理組織学的検査では、諸臓器を材料にヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色での一般染色、肝臓を材料に、過ヨウ素酸シッフ (PAS) 反応、リンタングステン酸・ヘマトキシリン (PTAH) 染色、コンゴレッド染色を実施した。さらに、肝臓について電子顕微鏡検査を行った。

(2) 細菌学的検査

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、脳を材料として、5%羊血液加コロンビア寒天培地

(5%CO₂下 48 時間培養) 及び DHL 寒天培地 (好気 24 時間培養) で分離培養を行った。

(3) ウイルス学的検査

脾臓、腎臓、肺、気管、直腸を材料として、発育鶏卵尿膜腔内接種法によりウイルス分離を行った。

(4) 寄生虫学的検査

肝臓を材料として、Hellegren らの方法⁵⁾ の PCR 及び遺伝子解析を行った。

IV 検査成績

1 病理学的検査

(1) 剖検所見 (表 1)

肝臓は辺縁が鈍化し、表面に粟粒大黄褐色点が散在していた (図 1)。脾臓は長径 7 cm に腫大し、赤黒く脆弱であった。割を入れると、泥状物の漏出がみられた。心外膜及び盲腸の漿膜には、び漫性に粟粒大の赤色点がみられ (図 2)、胸部気嚢は混濁、肥厚していた。

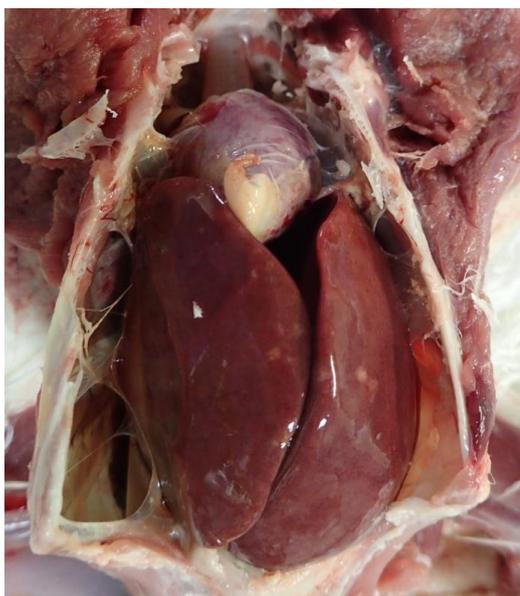


図 1 肝臓



図 2 心臓

【図 1】肝臓：辺縁は鈍化し、粟粒大黄褐色点の散在がみられる

【図 2】心臓：び漫性に粟粒大の赤色点がみられる

表 1 剖検所見

部 位	所 見
出生日	平成28年6月28日
体重・性別	1.35kg・雄
体長等	体長47cm、翼長53cm、翼開長126cm
死殺の別	斃死
外 貌	左足根間関節部:腫脹、皮下暗赤色、軽度波動感あり 足根間関節の関節液薄赤色透明
皮下組織	浅胸筋:軽度乾燥
体 腔	胸部気囊:混濁、肥厚
肝 臓	辺縁鈍 表面に粟粒大黄褐色点散在
脾 臓	腫大、脆弱(泥状)、赤黒色混濁
腎 臓	著変なし
心 臓	表面に粟粒大赤色点散在
肺	著変なし
中枢神経系	脳:著変なし
消化器系	腺胃、筋胃:骨等内容物貯留
	十二指腸～回腸:著変なし
	盲腸:漿膜面粟粒大赤黒色点散在
	直腸:著変なし
その他	気管:著変なし
	坐骨神経:著変なし

(2) 肝臓のスタンプ標本所見

単球様細胞の細胞質にはメロントが観察された。赤血球の細胞質内には、原虫のトロフォゾイトやメロゾイト、稀に褐色色素を伴う虫体がみられた (図 3)。



単球細胞内の原虫
(メロント)

赤血球内の原虫
(トロフォゾイト)

赤血球内の原虫
(メロゾイト)

図 3 スタンプ標本の原虫像 (矢印:原虫、矢頭:褐色色素)

(3) 病理組織学的所見 (表 2)

肝臓では、類洞は一様に拡張し (図 4)、多数のクッパー細胞内や単球内、稀に肝細胞内に原虫が認められた (図 5)。多くの肝細胞やクッパー細胞には、褐色色素がみられた。腎臓では、間質の拡張がみられ、間質に浸潤したマクロファージの細胞質内に少数の原虫が認められた。また、小葉間動静脈は血管壁が変性し、血管腔内

の単球の細胞質内に少数の原虫、周囲にリンパ球やマクロファージ浸潤が認められた。脾臓では、広範に出血がみられ、び漫性に褐色色素が沈着し、脾索には好酸性物質が貯留していた。PTAH 染色、コンゴレッド染色を実施したところ、好酸性物質はコンゴレッド染色では染色されず、PTAH 染色でわずかに濃青色に染まったことから、線維素及び漿液と考えられた。また、血管炎が重度にみられ、血管腔内の単球の細胞質内には少数の原虫が認められた。大腿骨の骨髄では、赤血球系細胞の細胞質に原虫が少数認められた。肺では、軽度の血管炎がみられた。一か所のみ認められた肉芽腫には PAS 反応で真菌が確認された。真菌は菌糸にくびれがなく隔壁があり、Y 字状に分岐している等の形態から *Aspergillus* 属と推察された。心臓では、心外膜に出血、心筋層に充出血が認められた。

表 2 病理組織学的所見 (HE 染色)

部 位	組 織 変 化	No.1
肝 臓	死後変化	++
	肝細胞:変性、褐色色素沈着	++
	:細胞質内に原虫	+
	類洞:クッパー細胞内に原虫	++
	血管:腔内の単球内に原虫、赤血球、剥離細胞貯留 :血管壁変性、周囲に単核細胞浸潤	++ ++
脾 臓	死後変化	+++
	脾髄構造不明瞭、好酸性均一無構造物沈着、マクロファージ浸潤	+++
	血管壁変性、血管周囲にリンパ球、マクロファージ浸潤、褐色色素沈着	++
	血管:腔内の単球内に原虫	+
腎 臓	死後変化	++
	小葉間動静脈:周囲にリンパ球、マクロファージ浸潤	+
	:腔内の単球内に原虫、マクロファージ、リンパ球浸潤	++
	:血栓	+
心 臓	間質:マクロファージ、リンパ球浸潤、浸潤したマクロファージ内に原虫	+
	死後変化	++
	心外膜:出血、マクロファージ浸潤	+
肺	死後変化	++
	二次気管支、旁気管支:粘膜に粉塵沈着	++
	血管:血管壁に単核細胞浸潤 (一か所のみ)肉芽腫形成、肉芽腫の内部～周囲に真菌菌糸	+
中枢神経系	大脳:死後変化	+
	小脳:死後変化	++
消化器系	腺胃、筋胃:死後変化	++
	十二指腸～直腸:死後変化	+++
その他	気管:死後変化	++
	気嚢(胸部、腹部):死後変化、リンパ球、マクロファージ浸潤	+
	精巣:死後変化、出血	+
	精巣上部:死後変化	+
	坐骨神経:著変なし	・
	浅胸筋:死後変化	+
	骨髄(大腿骨):赤血球系細胞の細胞質に原虫	+

+ : 軽度、++ : 中等度、+++ : 重度

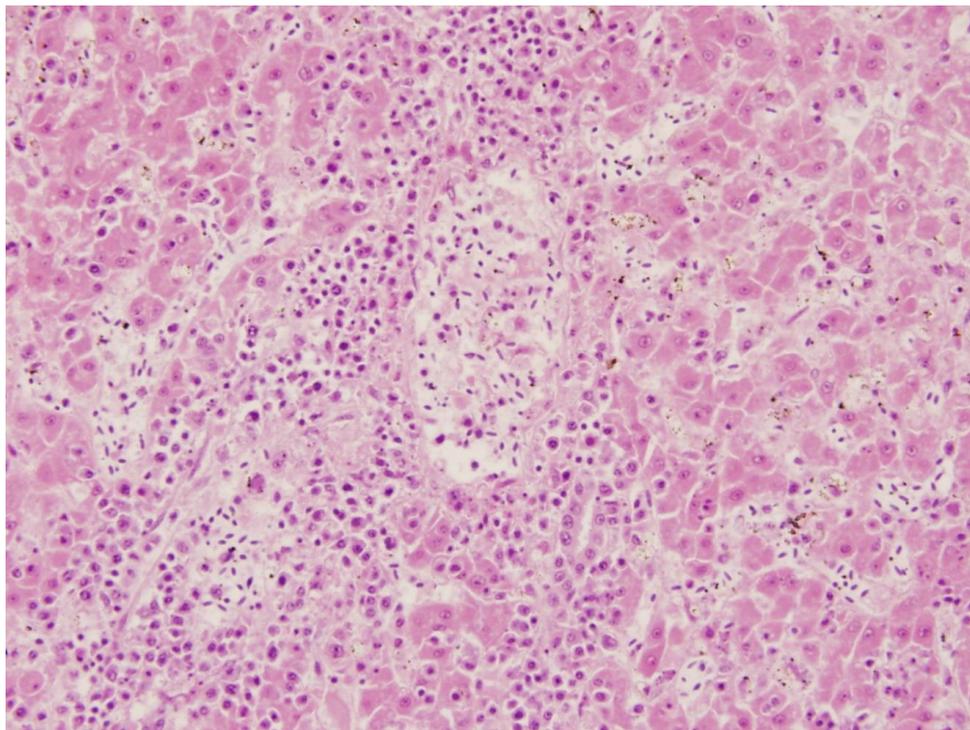


図 4 肝臓 (HE 染色)

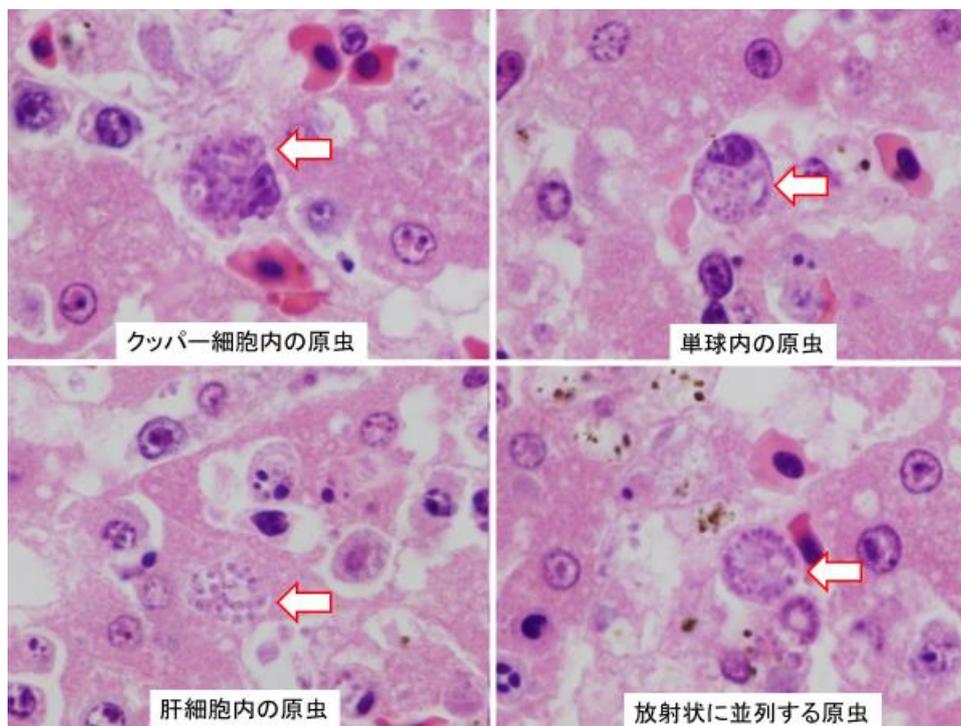
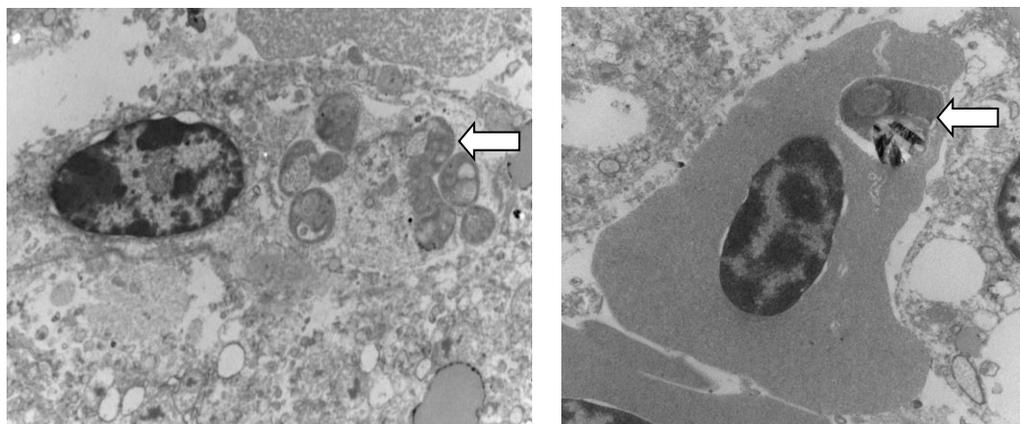


図 5 肝臓に寄生する原虫 (HE 染色) (矢印：原虫)

(4) 電子顕微鏡所見

肝臓のクッパー細胞やマクロファージ、赤血球の細胞質内に原虫が認められた。赤血球内には、結晶様物を伴う原虫もみられた (図 6)。



クッパー細胞内の原虫

赤血球内の結晶様物を持つ原虫

図 6 肝臓に寄生する原虫 (電子顕微鏡検査) (矢印: 原虫)

2 細菌学的検査

細菌は分離されなかった。

3 ウイルス学的検査

ウイルスは分離されなかった。

4 寄生虫学的検査

P. elongatum GRW06 系統と一致する遺伝子が検出された。

V まとめと考察

病理学的検査及び寄生虫学的検査の結果から、本症例を *P. elongatum* による鳥マラリアと診断した。原虫は赤血球内でヘモグロビンを消化する際、生体内結晶化によって毒性のあるヘマチンをマラリア色素 (別名ヘモゾイン) に変換して解毒し^{6, 7, 8)}、食物胞に蓄積する⁹⁾と考えられている。このことから、肝臓のスタンプ標本、肝臓の病理組織学的検査、電子顕微鏡検査で赤血球内の原虫体内にみられた褐色色素及び結晶様物は、マラリア色素と推測された。

今回、血液検査は実施していないが、肝臓のスタンプ標本において、多数の赤血球内に原虫が観察されたこと、顕著な脾腫が認められたことから、貧血が進行していたことが示唆された。また、肝臓において、多数の原虫の寄生に伴う肝細胞の変性や壊死により肝障害が進行していたことや、脾臓において、組織学的に漿液の貯留や線維素の析出

がみられたことから急性炎症がおこったことが示唆され、これらが死因となったと考察された。さらに、シロフクロウは主に北極圏に生息する鳥類¹⁰⁾であり、暑熱に対する耐性が低いため、暑熱ストレスで免疫が低下したことが重症化の一因と考えられた。

*P. elongatum*による鳥マラリアは世界各国の動物園で飼育されているペンギンで複数の死亡事例の報告がある¹¹⁾。ケープペンギンの例では、臨床症状は非特異的で死亡直前に現れ、血液検査では、血液中に原虫は認められないが顕著なリンパ球数の増加がみられた。剖検では、顕著な肺、心外膜の浮腫、心嚢の水腫、著しい肝腫と脾臓の腫大が観察され、主に肺での多数の原虫寄生により呼吸困難で死亡した。本症例では、剖検で肝臓及び脾臓の腫大はケープペンギンの事例と共通していたが、肺において原虫の寄生はみられず、肝臓において最も原虫が多く観察された点で相違があった。これは、*P. elongatum*の適応宿主は野生のスズメ目であり、非適応宿主では膨大な数の原虫が細胞内皮系細胞で増殖するという報告¹¹⁾と合致するが、鳥種によって臨床症状や死因が異なる可能性が考えられた。また、*P. elongatum*の生活環は、鳥マラリアの代表的な生活環(図7)と同様と考えられるが、一回目の赤血球外期については詳細不明である¹¹⁾。

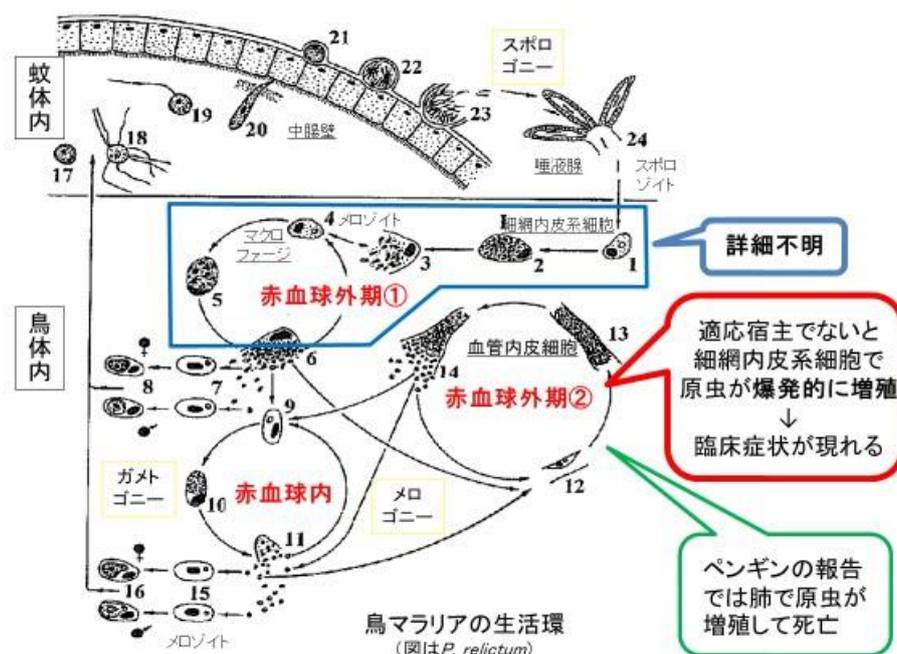


図7 鳥マラリアの代表的な生活環

出典「Avian malaria parasites and other haemosporidia」改変

前述のように、シロフクロウやペンギンは血液原虫に対する感受性が高い²⁾。また、臨床症状から鳥マラリアを疑うことが困難であるため、これらの鳥類を飼育する施設では、予防的な駆虫薬の投与、鳥マラリアを媒介する蚊の駆除、本症を重症化させるストレス要因の排除等の対策が重要である。

VI 謝辞

本症例の発表にあたり、寄生虫学的検査を実施していただいた、日本大学生物資源科学部獣医学科実験動物学研究室佐藤雪太教授、電子顕微鏡検査を実施していただいた、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門病態研究領域病理ユニットの山本佑先生に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) Pérez-Tris, J. ら (2005) . *Trends in Parasitology*, **21**, 209-11.
- 2) Mcconkey GA. ら (1996) . *Journal of Eukaryot Microbiol*, **43**, 393-399.
- 3) 山田美那子ら (2010) . 県内の動物展示施設で発生したペンギンの鳥マラリア, 大分県家畜保健衛生並びに畜産関係業績発表会収録 平成 22 年度, 15.
- 4) 日高遼太郎ら (2015) . 鶏病研究会報, **51** (3), 167-171.
- 5) Olof Hellgren ら (2004) . A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood, *Journal of Parasitology*, **90** (4), 797-802.
- 6) Coy D. Fitch and Phitsamai Kanjanangulpan (1987) . The state of ferriprotoporphyrin IX in malaria pigment, *Journal of Biological Chemistry*, **262** (32), 15552-15555.
- 7) Silvina Pagola ら (2000). The structure of malaria pigment β -haematin, *Nature*, **404** (6775), 307-310.
- 8) Hempelmann E (2007) . Hemozoin biocrystallization in *Plasmodium falciparum* and the antimalarial activity of crystallization inhibitors, *Parasitol Research*, **100** (4), 671-676.
- 9) Sullivan DJ (2002). Theories on malarial pigment formation and quinoline action, *International Journal for Parasitology*, **32** (13), 1645-53.
- 10) Amaru.me 「シロフクロウ」動物図鑑, <https://amaru.me/animal/bubo-scandiacus/>
- 11) Gediminas Valkiunas (2004) . *Avian malaria parasites and other haemosporidia*, 27-35, 721-724.