

輸入インコ類にみられた鳥ポリオーマウイルス 感染症による突然死

工 藤 慈^{1)†} 真 田 靖 幸²⁾

- 1) 北海道 開業 (さっぽろ小鳥のクリニック：〒062-0051 札幌市豊平区月寒東1-16-1-14)
2) 千葉県 開業 (小鳥の病院 BIRD HOUSE：〒277-0843 柏市明原3-20-2)

(2010年7月5日受付・2010年11月8日受理)

要 約

2007年および2008年に輸入された2羽のインコ類(コガネメキシコインコおよびワカケホンセイインコ)が、札幌近郊のペットショップで突然死した。解剖検査では、両症例ともに、皮下および心臓、肺、肝臓、脾臓、小腸に出血所見がみられた。組織学的に、肝臓には多発性の出血性壊死病巣が認められた。また、肝臓のクッパー細胞および脾臓の単核食細胞系細胞には、特徴的な好塩基性の核内封入体が認められた。さらに、PCR法では、肝臓、脾臓および小腸からポリオーマウイルス遺伝子が検出された。以上の結果から、これらの症例は鳥ポリオーマウイルス感染症と診断された。本症の潜伏期間およびこれらの症例と同居していた他の飼育鳥の臨床状況から、ウイルス感染はペットショップへ搬入される前に成立していたものと考えられた。

——キーワード：鳥ポリオーマウイルス感染症、ワカケホンセイインコ、突然死、コガネメキシコインコ。

----- 日獣会誌 64, 301~305 (2011)

鳥ポリオーマウイルス (Avian polyomavirus : APV) 感染症は、鳥ポリオーマウイルスの感染による疾患で、以前はセキセイインコのヒナ病 (Budgerigar fledgling disease : BFD) と呼ばれていた。本症はセキセイインコのみならず、オウム・インコ類およびフィンチ類などのあらゆる鳥種で突然死や発育不良、脱羽などの羽毛障害を引き起こすことが知られている [1-3]。本症は世界中で局所的・流行的に発生がみられており、特にオウム・インコ類の商業鳥では大きな被害を及ぼすことがある [4-7]。わが国では、Hiraiら [4] によって集団発生したセキセイインコの脱羽性疾患として1984年に初めて紹介され、その後、1998年に本症によるワカケホンセイインコ輸入幼鳥の死亡例が真田ら [8] によって報告された。近年では、2006年にOgawaら [9] が輸入鳥類のAPV保有率を明らかにしているが、実際の本症発生例はあまり知られていない。

今回、札幌近郊の大型ペットショップにおいて、突然死したコガネメキシコインコおよびワカケホンセイインコの幼鳥2羽からAPV遺伝子が検出され、病理検査でもAPV感染症を支持する所見が得られた。国内の飼鳥

の臨床現場で本症による急性死亡例に遭遇し、確定診断にまで至ったケースは希少と考えられるため、その概要を報告する。

材 料 お よ び 方 法

症例：症例1は、台湾で人工繁殖された雄のコガネメキシコインコ (*Aratinga solstitialis*) で、2007年11月に動物輸入業者を介して国内に輸入され、その数日後に動物卸業者を介して札幌近郊のペットショップに搬入された。搬入後、その内容物の停滞が軽度のみみられたが、食欲および体調には問題なく、発育も良好であった。搬入後12日に突然死した。死亡時は5週齢で、体重は102gであった。

症例2は、台湾で人工繁殖された雄のワカケホンセイインコ (*Psittacula krameri manillensis*) で、2008年3月に動物輸入業者を介して国内に輸入され、その数日後に動物卸業者を介して症例1と同じペットショップに搬入された。搬入後3日に当院 (さっぽろ小鳥のクリニック：札幌市) で健康診断を行った。その内容物の顕微鏡観察で少数の桿菌が認められた以外、いかなる異常も

† 連絡責任者：工藤 慈 (さっぽろ小鳥のクリニック)

〒062-0051 札幌市豊平区月寒東1-16-1-14 ☎・FAX 011-855-9331 E-mail : wasimimi@nifty.ne.jp

表1 本研究で使用したプライマーセット

病原体名	プライマー名	塩基配列	文献
鳥ポリオーマウイルス	Primer A	5'-CTTATGTGGGAGGCTGCAGTGTT-3'	[10]
	Primer B	5'-TACTGAAATAGCGTGGTAGGCCTC-3'	
オウム嘴羽病ウイルス	PBFDdupF	5'-TTGGGTCTCCTTGTAGTGGGATC-3'	[11]
	PBFDdupR	5'-CAGACGCCGTTTCTCAACCAATAG-3'	
ヘルペスウイルス	DFA	5'-GAYTTYGCNAGYYTNTAYCC-3'	[12]
	ILK	5'-TCCTGGACAAGCAGCARNYSGCNMTNAA-3'	
	KG1	5'-GTCTTGCTCACCCAGNTCNACNCCYTT-3'	
	TGV (nested)	5'-TGTAACCTCGGTGTAYGGNTTYACNGGNGT-3'	
	IYG (nested)	5'-CACAGAGTCCGTRTCNCCRTADAT-3'	
アデノウイルス	Hex L1-s	5'-ATGGGAGCSACCTAYTTCGACAT-3'	[13]
	Hex L1-as	5'-AAATTGTCCCKRAANCCGATGTA-3'	
クラミドフィラ・シッタシ	CPF	5'-GCAAGACACTCCTCAAAGCC-3'	[14]
	CPR	5'-CCTTCCCACATAGTGCCATC-3'	

認められなかった。その後、元気、食欲とも問題なく発育も良好であったが、搬入後10日に突然死した。死亡時は5週齢で、体重は120gであった。

病理検査：上記2症例は可能なかぎり速やかに剖検を行い、肉眼的に全身を観察した。剖検時に採取し10%中性緩衝ホルマリンで固定した全身諸臓器・器官について、常法に従ってパラフィン切片を作製後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、光学顕微鏡にて観察した。

遺伝子検査：剖検時に採取した肝臓、脾臓および小腸について、市販のDNA抽出キット（QIAamp DNA Mini Kit, (株)キアゲン、東京）を用いてDNAを抽出し、APV [10]、オウム嘴羽病ウイルス（PBFDV）[11]、ヘルペスウイルス [12]、アデノウイルス [13] およびクラミドフィラ・シッタシ（*Chlamydophila psittaci*: *C. psittaci*) [14] の各遺伝子を検出するポリメラーゼ連鎖反応（PCR）を実施した（表1）。得られたPCR産物をアガロースゲル電気泳動した後、UVトランスイルミネーター下で観察し、特異バンドの認められた検体を陽性と判定した。また、症例2と同時に搬入した台湾産の5羽（ワカケホンセイインコ、コガネメキシコインコ、ネズミガシラハネナガインコ、オオハナインコおよびヨウム）および隣接するケージで飼育されていたコマドリコンゴウインコ1羽についても、血液およびクロアカスワブを検体としてAPV遺伝子の検出を試みた。

培養検査：死亡した2症例について、剖検時に採取した肺、肝臓、脾臓および腎臓を培養材料とした。これらの材料を、常法に従って5%羊血液加寒天培地およびサブロー寒天培地に直接塗付し、37℃、好気下で1週間培養し、培地上のコロニーの発育を観察した。

成 績

病理検査：症例1の主たる剖検所見は、頸部皮下および胸部筋肉の出血斑、全身筋肉および大腿骨骨髓の褪色、

心臓の微小出血斑、肺のうっ血・水腫、脾臓の暗赤色・腫大化、小腸の暗赤色化であり、肝臓では肉眼的異常は特に認められなかった。症例2の主たる剖検所見は、頸部から肩関節部皮下における点状出血、体腔内の血様液貯留、全身筋肉および大腿骨骨髓の褪色、心臓の点状ないし斑状出血、肺の赤色斑、肝臓の褪色・腫大化および点状出血、脾臓の暗赤色・腫大化、小腸の赤色斑であった（図1, 2）。

組織学的には、症例1, 2ともにほぼ同様の病変が認められた。すなわち、肝臓全域に出血を伴った凝固壊死巣が多発性にみられ、まれに壊死病巣周囲のクッパー細胞には核壁が濃染し、腫大した核内を占拠するように広がる灰青色の封入体が認められた（図3）。脾臓は水腫性で脾髄構造は消失し、莖組織内の単核食細胞系（MPS）細胞には核壁が濃染し腫大した核内を占拠するように広がる灰青色の封入体形成が認められた（図4）。その他、肺ではうっ血・水腫が明らかで、皮下織、筋間結合織および心外膜では肉眼病変に一致して出血巣が認められた。腸では死後融解が進行しており、有意な所見は得られなかった。

遺伝子検査：剖検時に採取した肝臓、脾臓および小腸について、PCR法を用いた遺伝子検査を実施した結果、両症例のすべての臓器からAPV遺伝子が、症例1のすべての臓器から*C. psittaci*遺伝子がおのおの検出された。PBFDV、ヘルペスウイルスおよびアデノウイルスの各遺伝子は、両症例のいずれの臓器からも検出されなかった。なお、症例2と同時に搬入されたワカケホンセイインコ、コガネメキシコインコ、ネズミガシラハネナガインコ、オオハナインコおよびヨウム、ならびに隣接ケージのコマドリコンゴウインコの臨床材料からAPV遺伝子は検出されなかった。

培養検査：剖検時に採取した肺、肝臓、脾臓および腎臓について、細菌および真菌培養を実施した結果、両症

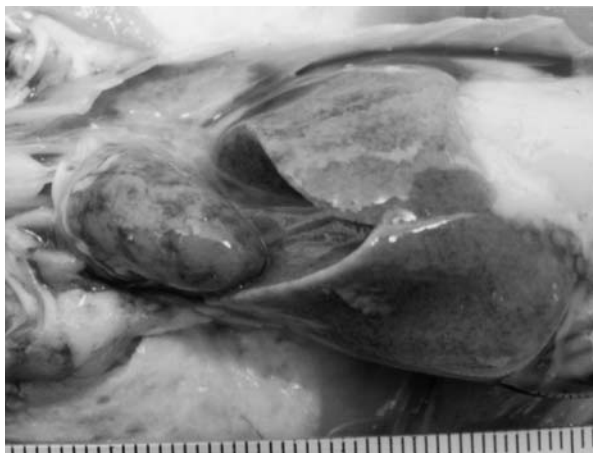


図1 肉眼病変 (症例2). 心臓には点状ないし斑状出血がみられる。肝臓は褪色・腫大化し, 点状出血がみられる。



図2 肉眼病変 (症例2). 体腔内には血様液が貯留し, 脾臓は暗赤色・腫大化している。

例ともにいずれの臓器からもいかなるコロニーの発育も認められなかった。

考 察

今回、ペットショップで遭遇した症例1および2の病態はほぼ同様であり、病理学および病原学的検索の結果、両症例の死亡はAPV感染症によるものであることが明らかとなった。すなわち、臨床的には幼若期に突然死がみられ、剖検では皮下織および複数臓器の漿膜または被膜下に出血が認められ、病理組織学的には肝臓の多発性壊死と、肝臓のクッパー細胞および脾臓のMPS細胞に核壁が濃染し腫大した核内を占拠するように広がる灰青色の封入体形成が認められた。これらの臨床所見および病理所見は、本症の診断根拠となる成書 [2, 16] の記載と一致していた。APV感染症は古くからセキセイインコの脱羽性疾患として知られているが [4, 15], その原因となるAPVは他のさまざまな鳥種に感受性がある [1-3]。本症の病態は鳥種によって異なり、不顕性

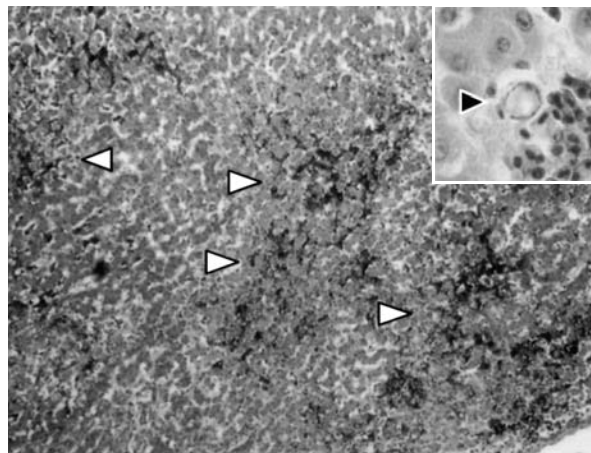


図3 肝臓の組織病変 (症例1). 出血を伴う凝固壊死巣 (白矢頭) が多発性にみられる (HE染色 ×40). 挿入図: 壊死病巣周辺のクッパー細胞には、まれに特徴的な核内封入体 (黒矢頭) が認められる (HE染色 ×400).

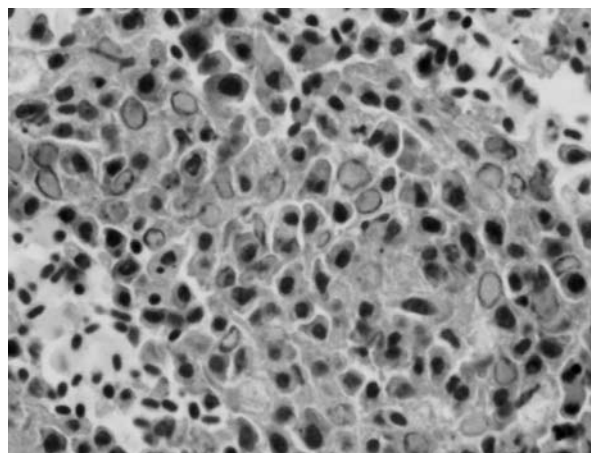


図4 脾臓の組織病変 (症例1). 莢組織内の多くのMPS細胞には特徴的な核内封入体が認められる (HE染色 ×400).

感染することも多い [2, 16]。特にコンゴウインコ、オオハナインコ、ワカケホンセイインコおよびメキシコインコでは2~12週齢の幼鳥における発病が多く、急性死を引き起こす [2]。今回死亡した鳥はコガネメキシコインコおよびワカケホンセイインコの生後5週齢の幼鳥であり、最も発症しやすい鳥種および年齢であったと考えられた。両症例は、特に明らかな臨床症状を示すことなく突然死したが、これは全身性出血による急性循環障害および肝臓壊死による肝不全が直接的な原因と考えられ、いずれもAPV感染症の急性病態とみなすことができると思われた。成書においても、本症はオウム目の幼鳥における急性経過では何ら臨床兆候を示すことなく、皮下や内臓漿膜下に出血を伴った突然死を起こすことが知られており [2, 16], 今回の両症例の特徴所見と一致

した。また、APV 感染症以外に、オウム・インコ類の幼若鳥に感染して肝臓に壊死病変を形成することが知られている PBFDV、ヘルペスウイルス、アデノウイルスおよび *C. psittaci* の各病原体について遺伝子検査による検出を試みた結果、症例1の肝臓、脾臓および小腸から *C. psittaci* 遺伝子が検出された。しかしながら、少なくとも病理検査ではその感染を特定できる組織病変および封入体は認められなかったことから、本症例に対する *C. psittaci* の関与の程度は不明である。

セキセイインコ以外のオウム・インコ類では、APV 感染症の潜伏期間は2週間以内であるとされている [2]。今回の両症例はペットショップ搬入後12日（症例1）および10日（症例2）に突然死したことから、APV 感染はペットショップ搬入前の可能性はあるが、厳密には特定できなかった。Ogawa ら [9] が行った2003年～2004年の調査によると、わが国における輸入鳥類の APV 陽性率は2.7%であった。いっぽう、今回死亡したワカケホンセイインコの生産国である台湾では、2002年～2005年のオウム目飼育鳥類における調査 [7] で APV 陽性率は15.2%と高率であり、台湾産鳥には APV が広く蔓延していると考えられる。さらに、症例2と同時に搬入された5羽の台湾産鳥および隣接ケージの飼育鳥は、PCR 検査では APV 遺伝子が検出されず、その後も問題なく生育していったことから、今回の両症例はペットショップ搬入前の段階で感染が成立した可能性が高いと考えられた。

近年、その親しみやすさから中～大型オウム・インコ類の人気は高まっており、ペットショップでは常にそれらの幼鳥が店頭で並んでいる状態にある。今回の事例で、突然死を引き起こす APV 感染症がペットショップの展示飼育鳥に存在することが明らかとなったことは、飼鳥の臨床上きわめて重要な知見であり意義深いことである。APV は不顕性感染も起こりうるため、本症の蔓延を予防するには幼鳥を仕入れる段階での積極的な病原体検査が重要であり、その検査によって発症前の個体を摘発するとともに、新たな感染源を断つことで、ペットショップや家庭に迎えた後の発病および死亡率を減らすことができると考えられた。今後は、ペットショップへの搬入段階で、APV 感染症に限らず、感染症全体の監視体制を確立していく必要があると考えられた。

引用文献

[1] Lafferty SL, Fudge AM, Schmidt RE, Wilson VG, Phalen DN : Avian polyomavirus infection and disease in a green aracaris (*Pteroglossus viridis*), Avian Dis, 43, 577-585 (1999)
 [2] Phalen DN : Viruses, Avian medicine and surgery, Altman RB et al eds, 281-322, WB Saunders Compa-

ny, Philadelphia (1997)
 [3] Aroube AS, Halami MY, Johne R, Dorrestein GM : Mortality due to polyomavirus infection in two nightjars (*Caprimulgus europaeus*), J Avian Med Surgery, 23, 136-140 (2009)
 [4] Hirai K, Nonaka H, Fukushi H, Shimakura S, Masegi T, Mizoguchi T : Isolation of a Papovavirus-like agent from young budgerigars with feather abnormalities, Jpn J Vet Sci, 46, 577-582 (1984)
 [5] Gough JF : Outbreaks of budgerigar fledgling disease in three aviaries in Ontario, Can Vet J, 30, 672-674 (1989)
 [6] Literak I, Smid B, Dubska L, Bryndza L, Valicek L : An outbreak of the polyomavirus infection in budgerigars and cockatiels in Slovakia, including a genome analysis of an avian polyomavirus isolate, Avian Dis, 50, 120-123 (2006)
 [7] Hsu CM, Ko CY, Tsai HJ : Detection and sequence analysis of avian polyomavirus and psittacine beak and feather disease virus from psittacine birds in Taiwan, Avian Dis, 50, 348-353 (2006)
 [8] 真田直子, 真田靖幸 : 過去3年間に輸入されたワカケホンセイインコの死亡例, 日獣会誌, 54, 785-789 (2001)
 [9] Ogawa H, Chahota R, Hagino T, Ohya K, Yamaguchi T, Fukushi H : A survey of avian polyomavirus (APV) infection in imported and domestic bred psittacine birds in Japan, J Vet Med Sci, 68, 743-775 (2006)
 [10] Phalen DN, Wilson VG, Graham DL : Polymerase chain reaction assay for avian polyomavirus, J Clin Microbiol, 29, 1030-1037 (1991)
 [11] Ogawa H, Yamaguchi T, Fukushi H : Duplex shuttle PCR for differential diagnosis of budgerigar fledgling disease and psittacine beak and feather disease. Microbiol Immunol, 49, 227-237 (2005)
 [12] VanDevanter DR, Warrener P, Bennett L, Schultz ER, Coulter S, Garber RL, Rose TM : Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR, J Clin Microbiol, 34, 1666-1671 (1996)
 [13] Raue R, Gerlach H, Muller H : Phylogenetic analysis of the hexon loop 1 region of an adenovirus from psittacine birds supports the existence of a new psittacine adenovirus (PsAdV), Arch Virol, 150, 1933-1943 (2005)
 [14] Hewinson RG, Griffiths PC, Bevan BJ, Kirwan SES, Field ME, Woodward MJ, Dawson M : Detection of *Chlamydia psittaci* DNA in avian clinical samples by polymerase chain reaction, Vet Microbiol, 54, 155-166 (1997)
 [15] Bernier G, Morin M, Marsolais G : A generalized inclusion body disease in the budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) caused by a papovavirus-like agent, Avian Dis, 25, 1083-1092 (1981)
 [16] Garlach H : Viruses, Avian Medicine : principles and application, Ritchie BW et al eds, 471-519, Winger Publ, Lake Worth (1997)

Two Cases of Sudden Death Following Avian Polyomavirus Infection
in Imported Psittacine Birds

Megumi KUDO*† and Yasuyuki SANADA

* *Sapporo Bird Clinic, 1-16-1-14 Tsukisamu-higashi, Toyohira-ku, Sapporo, 062-0051, Japan*

SUMMARY

Two psittacine birds, a Sun conure (*Aratinga solstitialis*) and an Indian ring-necked parakeet (*Psittacula krameri manillensis*) imported in 2007 and 2008, respectively, died suddenly at a pet shop in the suburbs of Sapporo, Hokkaido, Japan. In necropsy, both dead birds showed similar macroscopic lesions, with hemorrhaging in subcutaneous tissue and in several internal organs, such as the heart, lung, liver, spleen and small intestine. Histopathologically, multifocal hemorrhagic necrosis lesions were found in the liver. Typical basophilic intranuclear inclusions were formed within the Kupffer cells in the liver and within the MSP cells in the spleen. In the PCR method, polyomaviral DNA were detected from the livers, spleens and intestines of both birds. Therefore, the cases were diagnosed as avian polyomavirus infection. It was suggested that viral infection occurred before their arrival at the pet shop, given the incubation period of this disease and the clinical condition of other birds housed in the same facility.

— Key words : avian polyomavirus infection, Indian ring-necked parakeet, sudden death, Sun conure.

† *Correspondence to : Megumi KUDO (Sapporo Bird Clinic)*

1-16-1-14 Tsukisamu-higashi, Toyohira-ku, Sapporo, 062-0051, Japan

TEL · FAX 011-855-9331 E-mail : wasimimi@nifty.ne.jp

— *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 64, 301 ~ 305 (2011)