

16 県内各地で斃死した野生カラスの病性鑑定事例報告

中央家畜保健衛生所

○北島 絵理子・平野 晃司・曾田 泰史
中井 悠華

I はじめに

今回、2014年未から翌年にかけての約2週間に、県内各地で斃死した野生カラスについて、病性鑑定を実施したのでその概要を報告する。カラスは、人と生活圏を共有し、また、家畜にも接する機会の多い鳥である。高病原性鳥インフルエンザをはじめ様々な伝染病を媒介する可能性があり、問題視されている^{1) 2)}。

II 発生概要

2014年12月30日から2015年1月13日の間に、合計138羽のカラスの死体が県内各地で確認された。発生場所、期間、死亡羽数の内訳については、入間市宮寺(67羽)、同市向陽台(12羽)、狭山市南入曽(13羽)、所沢市東狭山ヶ丘(12羽)、熊谷市大麻生(34羽)であった(表1)。入間市、狭山市、所沢市は県西部、熊谷市は県北部に位置しており、県西部の3市から熊谷市までは直線距離で約40km離れている。そのうち、1月6日、7日、8日にそれぞれ回収された、4羽、1羽、4羽について当所で病性鑑定を実施した。

表1 カラス死体発見場所、期間、羽数について

場所	期間	死体確認羽数
入間市宮寺	12月30日～1月13日	67
入間市向陽台	1月1日～8日	12
狭山市南入曽	1月5日～8日	13
所沢市東狭山ヶ丘	1月5日～10日	12
熊谷市大麻生	1月5日～8日	34

III 材料及び方法

1 材料

材料はカラスの死体9検体で、2015年1月6日、7日、8日に回収された個体をそれぞれNo.1～No.4、No.5、No.6～No.9とした。No.1～No.5は入間市、No.6～No.9は熊谷市で回収された。なお、No.5は、捕獲後、当所への搬送中に斃死した個体であり、その他は回収時に斃死していた(表2)。

表 2 検体の回収時の状況

検体	回収日	回収場所	生死
No. 1 ~No. 4	1月6日	入間市宮寺	斃死
No. 5	1月7日	入間市宮寺	搬送中に斃死
No. 6 ~No. 9	1月8日	熊谷市大麻生	斃死

2 方法

(1) 病理学的検査

全羽について剖検し、病理組織学的検査を実施した。病理組織学的検査では、10% 中性緩衝ホルマリン液浸漬後の諸臓器を用いて、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色での一般染色を行った。また、肝臓、脾臓、十二指腸～直腸を材料にグラム染色及びリンタングステン酸・ヘマトキシリン (PTAH) 染色、肝臓、脾臓、回腸、盲腸を材料に過ヨウ素酸シッフ (PAS) 反応を実施した。さらに、No. 5 及びNo. 8 の肝臓、脾臓、回腸、盲腸について抗 *Clostridium perfringens* 家兎血清 (Abd Serotec) を用いた免疫組織化学的検査を行った。

(2) 細菌学的検査

9羽の肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺及び脳を材料として、5% 羊血液加コロンビア寒天培地 (5% CO₂ 培養) 及び DHL 寒天培地 (好気培養) で、肝臓及び脾臓についてシステイン強化 GAM 血液寒天培地及びカナマイシン含有卵黄加 CW 寒天培地 (嫌気培養) でそれぞれ分離培養を行った。また、No. 5 ~No. 8 の小腸内容を用いて DHL 寒天培地 (好気培養) 及びカナマイシン含有卵黄加 CW 寒天培地 (嫌気培養) で定量培養、Rappaport-Vassiliadis 培地でサルモネラ増菌培養を実施した。分離菌は、生化学的性状・簡易同定キット (アピケンキ: シスメックス・バイオメリュー (株)) による同定後、PCR 検査により *C. perfringens* 毒素型別を行った。

(3) ウイルス学的検査

9羽の気管スワブ及びクロアカスワブを用いて簡易検査キット (エスプライン A インフルエンザ: 富士レビオ (株)) による鳥インフルエンザ抗原検査を実施した。また、9羽の気管スワブ及びクロアカスワブを抗生物質添加 Eagle's MEM (日水製薬 (株)) 2 ml に浸漬し、乳剤とした。乳剤を 9~11 日齢発育鶏卵の尿膜腔内に接種し、37°C で 2 代 7 日間孵卵、鶏胚の異常の有無を確認するとともに、孵卵後、尿膜腔液を採取し、鶏赤血球を用いて赤血球凝集試験 (HA 試験) を実施した。

(4) 農薬等化学物質検査 (埼玉県環境科学国際センターにて実施)

消化管内容物を材料にガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) 及び液体クロマトグラフータンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) により計 82 項目の殺虫剤や除草剤 (表 3 及び表 4) について測定した。

表3 農薬等化学物質検査の検査項目①

(GC/MS測定)

物質名	用途	物質名	用途
1 ジクロルボス (DDVP)	殺虫剤	31 プロシミドン	殺菌剤
2 ジクロベニル (DBN)	除草剤	32 メチルダイムロン	除草剤
3 エトリジアゾール(エクロメゾール)	殺菌剤	33 フサライド	殺菌剤
4 クロロネブ	殺菌剤	34 プレチラクロール	除草剤
5 ペンフルラリン(ベスロジン)	除草剤	35 フェントエート (PAP)	殺虫剤
6 フェノブカルブ (BPMC)	殺虫剤	36 ジメビベレート	除草剤
7 ペンシクロン	殺菌剤	37 ブタミホス	除草剤
8 プロピザミド	除草剤	38 フルトラニル	殺菌剤
9 ダイアジノン	殺虫剤	39 ププロフェジン	殺虫剤
10 シマジン (CAT)	除草剤	40 キャプタン	殺菌剤
11 エチルチオメトン	殺虫剤	41 ナプロバミド	除草剤
12 ジチオピル	除草剤	42 メチダチオン (DMTP)	殺虫剤
13 イブペンホス (IBP)	殺菌剤	43 イソキサチオン	殺虫剤
14 ジメトエート	殺虫剤	44 イソプロチオラン (IPT)	殺菌剤
15 ブロモブチド	除草剤	45 メプロニル	殺菌剤
16 テルブカルブ (MBPMC)	除草剤	46 クロルニトロフェン (CNP)	除草剤
17 ピロキロン	殺菌剤	47 イプロジオン	殺菌剤
18 クロタロニル (IPN)	殺菌剤	48 エディフェンホス(エジフェンホス、EDD)	殺菌剤
19 エスプロカルブ	除草剤	49 テニルクロール	除草剤
20 トルクロホスメチル	殺菌剤	50 ビリブチカルブ	除草剤
21 メタラキシル	殺菌剤	51 ビペロホス	除草剤
22 シメトリン	除草剤	52 EPN	殺虫剤
23 クロルピリホス	殺虫剤	53 ビリダフェンチオン	殺虫剤
24 マラソン(マラチオン)	殺虫剤	54 ビフェノックス	除草剤
25 チオベンカルブ	除草剤	55 ビリプロキシフェン	殺虫剤
26 フェントロチオン (MEP)	殺虫剤	56 エトフェンプロックス	殺虫剤
27 ペンディメタリン	除草剤	57 メチルジメトン	殺虫剤
28 フェンチオン (MPP)	殺虫剤	58 パラチオン	殺虫剤
29 イソフェンホス	殺虫剤	59 メチルパラチオン	殺虫剤
30 ジメタメトリン	除草剤	60 シアノホス	殺虫剤

表4 農薬等化学物質検査の検査項目②

(LC/MS/MS測定)

物質名	用途	物質名	用途
1 メソミル	殺虫剤	12 シデュロン	除草剤
2 プロベナゾール	殺菌剤	13 ダイムロン	除草剤
3 ベンタゾン	除草剤	14 フラザスルフロン	除草剤
4 チウラム	殺菌剤	15 ハロスルフロンメチル	除草剤
5 カルバリル	殺虫剤	16 トリシクラゾール	殺菌剤
6 カルボフラン	殺虫剤	17 ベンスリド	除草剤
7 アシュラム	除草剤	18 アズキシストロビン	殺菌剤
8 カルプロバミド	殺菌剤	19 ベンスルフロンメチル	除草剤
9 チオファネートメチル	殺菌剤	20 メコプロップ	除草剤
10 チオジカルブ	殺虫剤	21 2,4-D	除草剤
11 ジウロン	除草剤	22 トリクロピル	除草剤

IV 検査成績

1 病理学的検査

(1) 剖検所見

9羽に外傷はみられず、十二指腸から回腸は著しく膨隆しており、小腸から大腸にかけての漿膜面はび漫性に暗赤色から暗紫色を呈していた(図1)。空回腸には粘膜面に偽膜形成(図2)がみられた(8/9羽)。その他、脾臓は通常の3倍以上に腫大(8/9羽)し、腺胃には線虫(2/9羽)がみられた。



図1 開腹時の腸管



図2 空回腸の偽膜

(2) 組織所見

全羽の回腸において、粘膜上皮から粘膜固有層にかけて中等度～重度の壊死、出血及び線維素の析出が広範囲にみられた(図3)。壊死した粘膜固有層には偽好酸球、マクロファージの浸潤、好酸性細胞退廃物が認められた。漿膜及び筋層では、中等度の線維素析出、出血、偽好酸球及びマクロファージ浸潤がみられた。壊死した粘膜固有層のグラム染色では、グラム陽性を示す中型から大型の桿菌が少数認められた。抗 *C.perfringens* 家兔血清を用いた免疫組織化学的検査では、明瞭な陽性反応を示す菌体は認められなかった。同様の病変は、十二指腸(1/9羽)、空回腸(9/9羽)、直腸(4/9羽)にもみられたが、回腸の病変が最も重度であった(表5)。また、腸管にはコキシジウム及びヒストモナス等の寄生虫は認められなかった。その他、多発性巣状壊死が肝臓(8/9羽)(図4)および脾臓(9/9羽)において認められた(表6)。肝臓の壊死巣では、壊死部の周囲に主にマクロファージ、巨細胞の浸潤がみられ、脾臓の壊死巣では、壊死部の周囲に主に偽好酸球の浸潤がみられた。

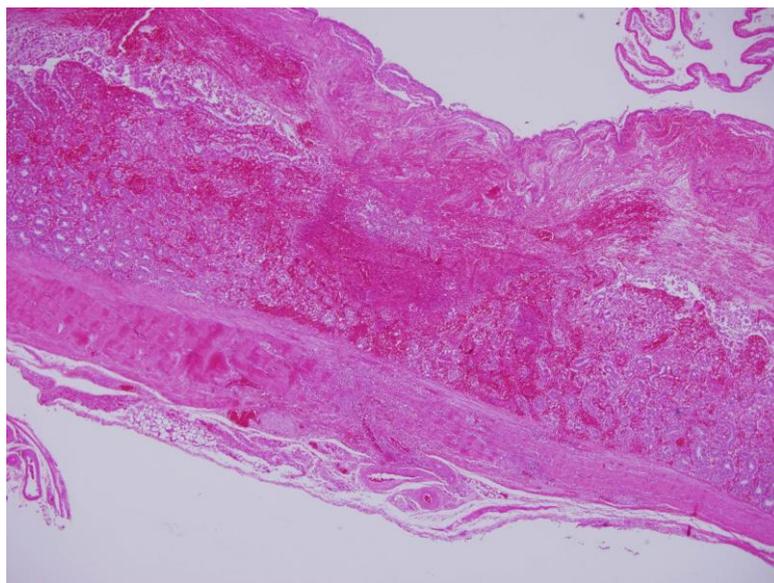


図3 回腸における壊死病変 (HE 染色、低倍像)

表5 粘膜上皮から粘膜固有層の壊死

部位	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9
十二指腸	+	-	-	-	-	-	-	-	-
空腸	++	++	++	+++	+++	++	++	++	-
回腸	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
盲腸	++	++	+++	+++	++	+++	++	++	+
直腸	-	++	-	-	-	++	++	-	++
備考	- : 著変なし、+ : 軽度、++ : 中等度、+++ : 重度								

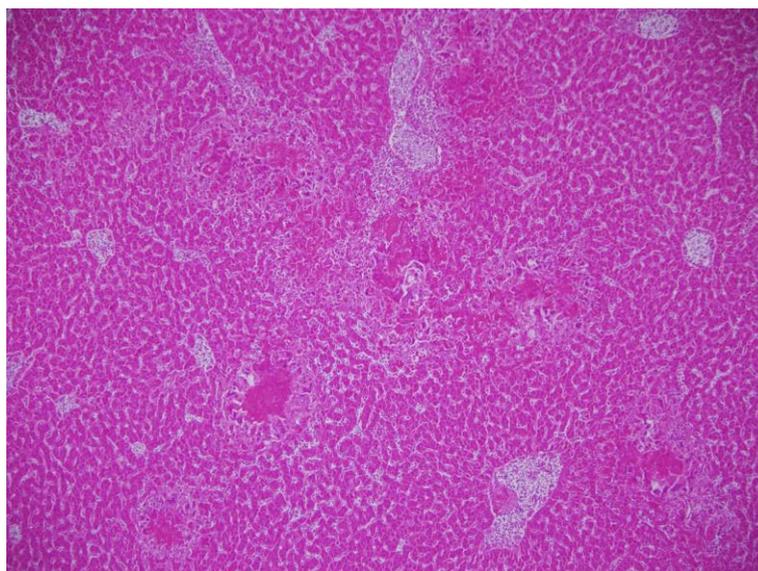


図4 肝臓における多発性巣状壊死 (HE 染色、低倍像)

表6 多発性巣状壊死形成の有無

部位	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9
肝臓	++	+++	+	++	++	-	++	++	++
脾臓	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++
備考	- : 著変なし、+ : 軽度、++ : 中等度、+++ : 重度								

2 細菌学的検査

(1) 細菌分離

No. 3、No. 8の脾臓から *C.perfringens* A型菌が分離された。

(2) 定量培養

No. 5、No. 6、No. 7、No. 8の小腸内容からそれぞれ 8.0×10^5 、 2.9×10^7 、 6.0×10^6 、 1.1×10^7 cfu/gの *C.perfringens* A型菌が分離された。

(3) サルモネラ検査

全羽において陰性であった。

3 ウイルス学的検査

(1) 鳥インフルエンザ抗原検査

全検体において陰性であった。

(2) ウイルス分離

鶏胚に異常はみられず、尿膜腔液のHA試験も陰性であった。

4 農薬等化学物質検査

化学物質は検出されなかった。

V まとめと考察

全羽において、病理組織学的に回腸における出血性壊死性腸炎及び脾臓における多発性巣状壊死がみられ、細菌学的検査で数羽の小腸内容及び脾臓から *C.perfringens* A型菌が分離されたが、免疫組織化学的検査では有意な結果は得られなかった。

野生カラスの *C.perfringens* に起因した壊死性腸炎について、2002年2月及び9月に国内で発生した事例が報告されており³⁾、肉眼所見および組織所見は本県の事例に類似していた。剖検では、小腸の著しい膨張、小腸粘膜の暗赤色、脾腫、肝臓の粟粒状白色点がみられ、病理組織学的検査では、十二指腸から直腸にかけての壊死性腸炎、肝臓及び脾臓における多発性巣状壊死がみられた。*C.perfringens* A型抗血清を用いた免疫組織化学的検査では、腸管の壊死部に陽性反応を認めている。

鶏の壊死性腸炎(鶏クロストリジウム・パーフリンゲンス感染症)では、*C.perfringens* に汚染された飼料や敷料を鶏が経口的に摂取し、何らかの原因で免疫状態が低下したときにその菌が小腸で増殖し発症に至る⁴⁾。その病変は一般に空腸と

回腸に限局し、盲腸や他の臓器にはあまり認められない。しかし、2002年と本県のカラスの症例では、大腸における壊死性腸炎や肝臓及び脾臓の多発性巣状壊死がみられたことから、これらはカラスでの本菌感染による特徴である可能性が考えられた。

一方で、野鳥の大量死発生時には、一部の農薬や殺鼠剤の関与が疑われ、国内での野鳥の中毒死については、タリウム中毒⁵⁾、クマリン中毒⁶⁾、コリンエステラーゼ阻害剤中毒⁷⁾の報告がある。本症例では、これらと同様の組織所見は認められず、前述の82項目の農薬等化学物質検査は陰性であった。

以上のことから、本症例の病変形成には、*C.perfringens* A型菌が関与した可能性が最も高いと考えられた。

最後に、カラスは雑食性であり、残飯や動物の死体等、病原体を含む可能性が高いものに頻繁に接触する⁸⁾。また、カラスの若鳥や縄張りを持たない成鳥は、群れで暮らし、群れのカラスは個体ごとに数十kmもの範囲を移動する^{8) 9)}。このため、群れのカラスは様々な病原体を保有しつつ、その移動に伴い、人や家畜に病原体を伝播する恐れがある。そのため、引き続き感染症の重要な媒介動物として、カラスの死亡動向等注意していく必要がある。

VI 謝辞

免疫組織化学的染色に協力していただいた、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 病態研究領域の生澤充隆先生と農薬等化学物質検査をしていただいた埼玉県環境科学国際センターの化学物質担当の諸先生に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) 杉田昭栄：カラスの行動特性および保有病原体，鶏病研究会報，40巻2号，81～89（2004）
- 2) Mase M *et al.* : Characterization of H5N1 influenza A viruses isolated during the 2003-2004 influenza outbreaks in Japan. *Virology*. 332, 167-76 (2005)
- 3) Y.Asaoka *et al.* "Fatal necrotic enteritis associated with *Clostridium perfringens* in wild crows (*Corvus macrorhynchos*) " *Avian Pathology*33 (1), 19-24 (2004)
- 4) 鶏病研究会編：鳥の病気 第6版，94～97（2008）
- 5) 安田正明ら：タリウム中毒による野鳥の死亡例．日本獣医師会雑誌，60，879～883（2007）
- 6) 浅野隆：いわての伝染病・中毒症をひもとく（その十三）野鳥に発生したクマリン中毒，岩手獣医師会会報（Iwate Vet.），Vol.30（No.4），132-133（2004）
- 7) 清宮幸男：野鳥のコリンエステラーゼ阻害剤中毒，日本獣医師会雑誌，60，191～195（2007）

- 8) 吉田志保子：カラスの生態と牛舎における被害，臨床獣医，Vol.32，No.7，12～16（2004）
- 9) 吉田保晴：ハシボソガラス *Corvus corone* のなわばり非所有個体の採食地と埒の利用，山階鳥類研究所研究報告，34，257～269（2003）