

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K08095

研究課題名(和文) ペンギンのアスペルギルス症の早期診断と感染制御法の開発

研究課題名(英文) Development of early diagnosis and preventive measures of aspergillosis in captive penguins

研究代表者

伊藤 めぐみ (Itoh, Megumi)

帯広畜産大学・畜産学部・助教

研究者番号：50390852

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ペンギンのアスペルギルス症が多発する水族館において、定期的な血液検査を実施してアスペルギルス症疑似ペンギンを検出し、CT検査により呼吸器病変の有無を確認することで、早期診断が可能となった。また、飼育施設とパレードコースの環境検査によりアスペルギルスが高度に検出される場所を明らかにするとともに、検出箇所からのペンギンの隔離と消毒・洗浄による予防策を提案・実施した。これらの対策により調査対象の水族館ではアスペルギルス症の発生がゼロとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アスペルギルス症は飼育下ペンギンの主要な死亡原因である。血液検査とCT検査を組み合わせた早期診断法は治療の必要性を判断する指標となる。環境検査に基づくアスペルギルス症高リスク部位からのペンギンの隔離や消毒・洗浄は予防策として有効である。これらの技術を活用することで、貴重な生物資源であるペンギンの健康が維持され、死亡率の低減に寄与できる。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted in an aquarium where aspergillosis of penguins occurs frequently. Early diagnosis was possible with regular blood tests to detect suspected *Aspergillus* penguins and a CT scan of those penguins to confirm respiratory lesions. In addition, by detecting *Aspergillus* in the environment, we proposed and implemented preventive measures such as disinfecting the detected area and keeping penguins away from the source of infection. There are no penguin deaths due to aspergillosis in this aquarium.

研究分野：家畜衛生

キーワード：ペンギン アスペルギルス CT 環境検査

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

鳥アスペルギルス症はアスペルギルス属真菌が原因となる鳥に発生する致死率の高い呼吸器感染症である。アスペルギルスは広く環境中に存在する真菌であるが、免疫能の低下した個体の肺、気管および気嚢で増殖する。本症は、努力呼吸、活力低下などの臨床症状が出てから死亡するまでの時間が短く、発症後に治療を開始してもすでに手遅れとなることが多い。そのためアスペルギルス症の早期診断および早期対策が鳥類飼育施設の課題となっている。動物園、水族館で飼育されている展示鳥類において、アスペルギルス症による死亡は経済的損失のみならず動物資源の確保・種の保存の点からも重要である。

飼育下のペンギンは鳥類の中でも特にアスペルギルス症に罹患しやすい。これまで我々は、アスペルギルス症対策に苦慮していた登別マリパークニクスからの依頼を受け、ペンギンのアスペルギルス症早期診断に取り組んできた。しかし、臨床症状発現後の X 線検査で異常が確認できる個体は既に病態が進行しており、予後は不良であった。また、比較的早期に診断できる CT 検査はペンギンを動物病院まで移動する労力と全身麻酔のリスクを伴うことから、全頭を検査することは現実的ではない。また、早期診断に頼るだけでは、アスペルギルス症の根絶とはならない。アスペルギルスの感染源を明らかにし、感染経路を遮断することができれば、発症を防ぐことができる。ペンギンは、動物園・水族館の重要な集客資源であるため、ウシ・ブタ・ニワトリのように防疫を考慮した衛生管理区域で飼育することはできない。

### 2. 研究の目的

血液検査でのスクリーニングによるアスペルギルス症を疑う個体の摘発と CT による画像診断検査を組み合わせることにより多角的に病態を把握し、有効な早期診断法を確立する。また、飼育環境からアスペルギルスの検出を試み感染源を明らかにし、検出エリアへのペンギンの移動の回避および検出エリアの清浄化により感染経路の遮断を図る。

### 3. 研究の方法

#### 1) 早期診断法の確立

年 3 回の採血を行い、水族館で飼育するキングペンギン、ケープペンギン、ジェンツーペンギン計 20 頭の血液検査値（血球数、タンパク分画、生化学検査、アスペルギルス抗原・抗体価）を蓄積した。感染を疑う数値が出た個体については、水族館周辺の動物病院に移送し、画像診断検査（X 線・CT）を行った。異常値個体は経過観察を行った。血液検査がアスペルギルス症早期診断のスクリーニングとして使えるよう、血液検査項目のカットオフ値を設定した。

#### 2) 感染経路の遮断

3 か月毎に飼育環境（室内飼育場、屋外飼育場、バックヤード）の空气中真菌を寒天培地上に捕集した。また、換気扇、エアコン、プール、岩場の拭き取りサンプリングを行う。捕集真菌サは帯広畜産大学で培養し、出現したアスペルギルスのコロニー数から、アスペルギルス症の感染源を推定し、感染経路遮断による防御の方策を立てた。

#### 3) ペンギンのアスペルギルス症による損耗低減の実証

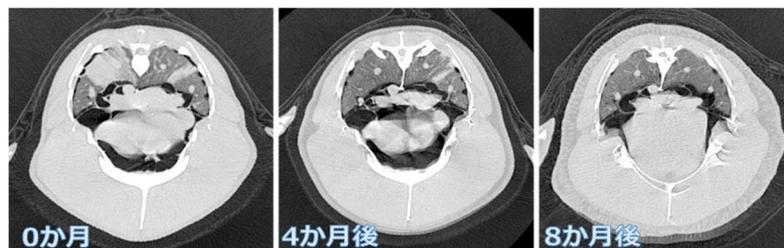
早期診断技術による早期治療効果および感染経路遮断による発生低減効果を実証した。これらの効果は血液検査および画像診断の継続による異常所見の改善、臨床症状の発現の有無、飼育環境からのアスペルギルス検出の有無を検証することで行った。

### 4. 研究成果

#### 1) 早期診断法の確立

過去の報告等から血液検査において、蛋白分画の異常(A/G 比の低下)、アスペルギルス抗原およびアスペルギルス抗体価の上昇が認められたペンギンをアスペルギルス症疑似個体とし、CT 検査を実施した。研究期間中に 15 羽のペンギンが CT 検査対象となり、このうち 2 羽で肺の浸潤像、3 羽で肺シスト、1 羽で気嚢内結節が認められた。抗真菌薬による治療を開始し経過観察したところ、肺浸潤像が認められた 2 羽は浸潤像の消失またはシスト化した。肺シストと気嚢内結節が認められた個体は大きさに変化が

図 1 血液検査でアスペルギルス抗体 32 倍であったペンギンの CT 画像



肺に浸潤像が認められる。抗真菌薬投与を開始し経過観察したところ、血液検査項目は正常に回復し、肺に浸潤像が消失した。

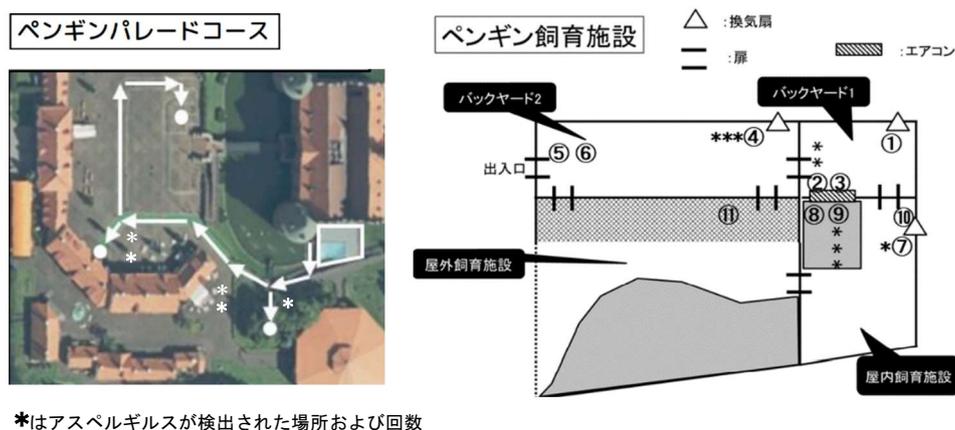
無く、投薬を中止後も変化は認められなかった。これらの変化は X 線検査では検出されなかった。肺浸潤像とアスペルギルス症との関連と CT 検査の有用性が示唆された。アスペルギルス症疑似個体を検出する血液検査指標としては、 $A/G \leq 0.8$  または、アスペルギルス抗原  $\geq 0.5$  またはアスペルギルス抗体  $\geq 16$  倍が適当であった。

## 2) 感染経路の遮断

ペンギンのパレードコースは気温や天候に合わせて、長距離、中間、最短の3つのコースを使い分けていた。高気温時はコンクリート舗装の長距離、中間コースを避け、土壌および木陰のある最短コースが使用されていた。パレードコースのエアースAMPLING結果では、夏季を中心として、土壌の露出する屋外環境およびその付近でアスペルギルスが検出された。また、最短コースの土壌サンプルからもアスペルギルスが検出された。

ペンギンの飼育環境は、屋外施設1か所、屋内施設1か所およびバックヤード2か所の計4カ所に分かれていた。スワブ検査では、屋内施設およびバックヤードの換気扇とエアコンからアスペルギルスが検出された。

図2 環境検査でアスペルギルスが検出された地点と回数



## 3) ペンギンのアスペルギルス症による損耗低減の実証

アスペルギルス症の早期診断としては、夏季を中心として血液検査を行い、 $A/G$  比  $\leq 0.8$  またはアスペルギルス抗原  $\geq 0.5$  またはアスペルギルス抗体  $\geq 16$  倍の個体に対する CT 検査を継続し、肺に浸潤像が認められた個体に対して抗真菌薬の投与を行った。

アスペルギルス症の予防対策としては、パレードでの最短コースの使用を中止し、パレードから飼育施設に戻る際のペンギンの肢の洗浄、次亜塩素酸ナトリウムと熱湯を用いた屋内施設の定期的な消毒を提案した。これらの実践により、本水族館でのペンギンのアスペルギルス症による死亡は認められなくなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 ITOH Megumi, TOYOTOME Takahito, MATSUMOTO Naoya, OKAMOTO Minoru, WATANABE Ken-ichi, YAMADA Kazutaka	4. 巻 82
2. 論文標題 Characteristic imaging findings of the respiratory system in penguins with suspected aspergillosis in an aquarium	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1260 ~ 1266
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0129	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 松本 直也、伊藤 めぐみ、山田 一孝、豊留 孝仁	4. 巻 25
2. 論文標題 一水族館における飼育環境中のAspergillus fumigatus検出および ペンギンのアスペルギルス症根絶を導いた予防対策	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本野生動物医学学会誌	6. 最初と最後の頁 101 ~ 107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5686/jjzwm.25.101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 YAMADA Kazutaka, TOYOTOME Takahito, MATSUMOTO Naoya, ITOH Megumi	4. 巻 82
2. 論文標題 Autopsy imaging for aspergillosis in King Penguin, an economically valuable zoo animal	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 373-375
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.19-0431	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 豊留 孝仁
2. 発表標題 ペンギンのアスペルギルス症 多職種・多分野での取り組み
3. 学会等名 第64回日本医真菌学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田 一孝、伊藤 めぐみ、豊留 孝仁、松本 直也
2. 発表標題 アスペルギルス症疑似ペンギンにおけるCT所見の特徴と早期診断の可能性
3. 学会等名 第58回アイソトープ・放射線研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 めぐみ、豊留 孝仁、松本 直也、岡本 実、渡邊 謙一、山田 一孝
2. 発表標題 アスペルギルス症疑似ペンギンにおけるCT所見の特徴と早期診断の可能性
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

北海道新聞（2020年10月13日）および室蘭民報（2020年10月2日）に登別マリンパークニクスにおけるアスペルギルス症対策に関する記事が掲載された。「水族館における飼育環境中のAspergillus fumigatus検出およびペンギンのアスペルギルス症根絶を導いた予防対策」は日本野生動物医学会論文賞を受賞した。

6. 研究組織			
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山田 一孝  (Yamada Kazutaka)  (80292093)	麻布大学・獣医学部・教授    (32701)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	豊留 孝仁  (Toyotome Takahito)  (90422245)	帯広畜産大学・畜産学部・准教授    (10105)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協 力 者	松本 直也  (Matsumoto Naoya)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関