

実験的トキソプラズマ・オーシスト感染豚に対する SulfamonomethoxineとPyrimethamine合剤の予防効果

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	佐々木, 栄英 飯田, 辰夫 土屋, 好文 臼井, 勝夫 大村, 康治 関野, 竜雄 角田, 清 伊藤, 進午 堤, 可厚
巻/号	28巻10号
掲載ページ	p. 531-534
発行年月	1975年10月

実験的トキソプラズマ・オーシスト感染豚に対する Sulfamonomethoxine と Pyrimethamine 合剤の予防効果

佐々木栄英* 飯田辰夫* 土屋好文* 白井勝夫* 大村康治* 関野竜雄**
角田 清*** 伊藤進午*** 堤 可厚****

(昭和 50 年 2 月 26 日受付)

Preventive Effect of a Mixture of Sulfamonomethoxine and Pyrimethamine on Swine against Experimental Infection with Toxoplasma Oocysts

YOSHIIHIDE SASAKI, T. IIDA, Y. TSUCHIYA, K. USUI, K. OOMURA, T. SEKINO, K. TSUNODA,
S. ITO and Y. TSUTSUMI

(Shizuoka Prefectural Institute of Animal Health, et al.)

SUMMARY

As feed additives, three mixtures of sulfamonomethoxine and pyrimethamine (100 and 5 ppm; 50 and 2.5 ppm; and 10 and 2.5 ppm) were administered to 12 pigs weighing about 40 kg over a period beginning at 7 days before inoculation with Toxo-

plasma oocysts. As a result, a mixture of more than 100 ppm of sulfamonomethoxine and more than 5 ppm of pyrimethamine was presumed to be necessary for the prevention of a pig from toxoplasmosis.

最近、豚のトキソプラズマ（以下 Tp と略す）には従来から知られていた単発的発生に加えて、多数の死亡豚を伴う集団発生例のあることが明らかにされてきている¹³⁾。

また、1972年7月から、と畜場法施行規則の改正により、食肉検査において Tp 病豚は全廃棄されることになった。わが国におけると畜場での Tp 病豚の摘発率はと畜頭数の 0.1%（約 1 万頭）といわれており²⁰⁾、その経済的損失は軽視できない。

いっぽう、発病豚は薬剤の連続投与により、臨床的には治癒するが、投薬開始時期が遅れるとシストが臓器内に残ることが知られている^{9,10)}。一般に野外の発生では、治療までに時間がかかるため、原虫を残さずに治療するのは困難であるとされている¹⁹⁾。また、野外における抗体調査の結果では、陽性例が高率に認められており、不顕性感染豚の多いことも明らかにされている^{9,10)}。

これらの無病変でありながら、原虫を保有する豚を食肉検査時に摘発するのは現在のところ技術的に困難であり、人への有力な感染源の一つとして憂慮されている^{4,15)}。

このような現況から、豚 Tp 病の完全な予防方法の確立が家畜衛生、公衆衛生の両面から強く望まれている。しかしながら、従来 Tp については発育環、感染経路ともに不明な点が多く、予防方法を確立することは極めて

困難であった。

ところが近年、Tp にオーシスト型のあることが明らかにされ、これは猫のコクシジウム的一种である *Isospora bigemina*（以下 *I. bigemina*）のオーシストと同一であることが明らかになり、その発育環もしだいに解明されつつある^{2,3,5)}。

私達は先に、野外の猫から分離した *I. bigemina* のオーシストを実験的に豚に経口感染させたところ、典型的な Tp 病の発病が認められたことから、野外における豚 Tp 病の感染源としてオーシストは大きな役割を演じているものと考えた¹²⁾。

同時に Sulfamonomethoxine（以下 SM）を 500ppm と Pyrimethamine（以下 Py）を 25ppm の割合に飼料添加することにより、オーシストによる Tp の感染を完全に予防出来ることを実験的に明らかにし¹²⁾、豚 Tp 病の予防方法の一つの示唆を与えた。

今回はこれらの薬剤の量をどこまで減らすことが出来るかを知る目的で実験を行なったのでその成績の概要を報告する。

材料と方法

供試原虫：伊藤ら⁹⁾により野外の猫から *I. bigemina* のオーシストとして分離され、Tp であることが確認されている O-1 株の孢子形成オーシストを用いた。オーシストは薬用のカプセルにつめ、豚 1 頭当たり 1.7×10^8 個を経口的に接種した。

供試豚：体重約 40kg で、Tp HA 抗体価が 64 倍以下の臨床的に健康とみなされた豚 15 頭を選定した。豚

* 静岡県家畜衛生研究所（静岡県藤枝市静葉町1-2-45）

** 静岡県経済連豚センター（静岡県榛原町細江353）

*** 農林省家畜衛生試験場（東京都小平市上水本町1500）

**** 第一製薬KK（東京都中央区日本橋3-14-10）

は4群に分け第1～3群を投薬群として4頭ずつ用い、第4群(対照群)は3頭を用いた。

供試薬品: SM と Py 合剤を用い、第1群には SM 100 ppm・Py 5 ppm, 第2群には1群の 1/2 量 (SM 50 ppm・Py 2.5 ppm), 第3群には1群の 1/10 量 (SM 10 ppm・Py 0.5 ppm) の濃度におのおの飼料添加して、オーシスト接種7日前より試験終了時まで連続投与した。

Tp 原虫分離: 死亡豚は発見後ただちに、無発病豚ならびに回復豚はオーシスト接種後約4週目にと殺剖検し、病理検査と Tp 原虫分離を行なった。原虫分離は肝、肺、リンパ節、脳、心筋、腎筋、横隔膜筋、腸の8臓器について行なった。各臓器は約5gを抗生物質を含む(ペニシリン G 1,000 u/ml, ストレプトマイシン 100 mcg/ml, カナマイシン 100 mcg/ml) 生理食塩液で5倍乳剤を作り、それぞれ4匹のマウスに1匹当たり 1 ml ずつ腹腔内に接種して約4週間観察した。その間に死亡したものは腹水、肺、リンパ節、脳などを検査し、原虫の有無を確認した。異常のなかったマウスは4週目にと殺し、脳内のシストの検査を行ない、シスト陰性の場合には初代マウスの脳乳剤を2代目のマウスに接種し、初代と同様に観察し、4週目にはシストの検出と同時に Tp-HA 抗体価の測定も行なった。

Tp-HA 抗体検査: HA 抗体の検査は信藤・花木法に従い、市販の抗原を用いた。豚からの採血は1週間隔で実施し濾紙法(全血)により検査した。

結 果

臨床所見: 対照群の3頭はオーシスト接種後5～6日目から発病し、体温の上昇、元気食欲の減退、呼吸速迫、便秘または下痢、チアノーゼ、後軀踴躍、起立困難などの症状を示した。3頭のうち1頭(No. 13)はオーシスト接種後12日目に死亡したが、他の2頭は20日目頃からしだいに回復し、28日目にと殺剖検した。

第1群の1頭(No. 4)は6日目から対照群とほぼ同様の症状を示し、22日目に死亡した。他の3頭は全期間を通じて臨床的に異常はみとめられず良好な発育を示したので、29日目にと殺剖検した。

第2群は4頭とも5日目前後から対照群と同様に発病したが、対照群に比較すると一般症状は軽く、回復もやや早かった。

第3群は対照群とほぼ同様の症状と経過を示し、4頭中2頭は16日目と17日目に死亡した。他の2頭は20日目頃から回復に向かった。

以上の所見の概要は図1に示した。

病理所見: 対照群・第1群および第3群の死亡した4例(No. 4, 9, 10, 13)の所見はほぼ共通していた。すなわち胸水・腹水の増量、肝小葉内の多発性巣状壊死、

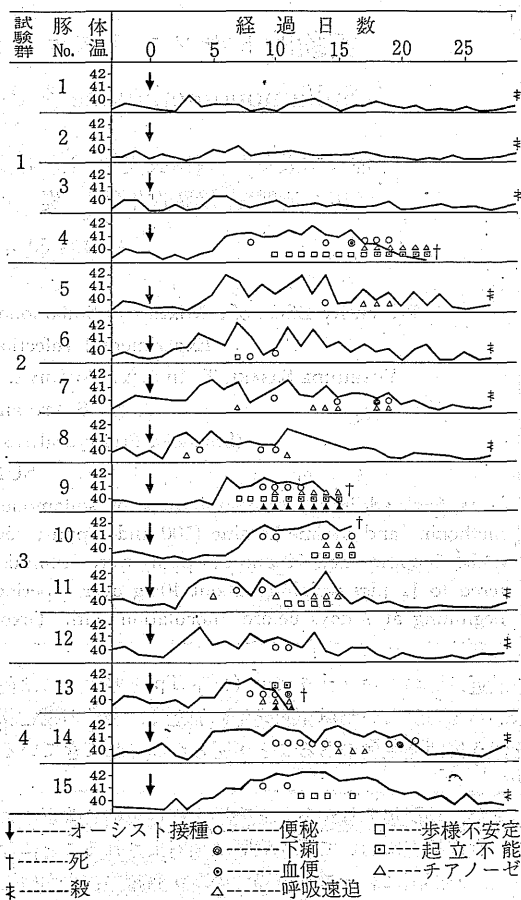


図1 臨床所見

全身リンパ節の水腫ならびに壊死、肺の炎性水腫、脾の壊死巣、回腸および大腸における粘膜の出血ならびに壊死、脳炎など Tp 病特有の所見がみられた。

対照群・第2群および第3群の回復した8例では多くのものがリンパ節の腫大ならびに軽度な壊死、脳炎がみられた。また、少数例の肝に軽度の壊死巣が散見された。

第1群の無症状で経過した3例にはリンパ節の軽度な水腫がみられたが、その他には特記すべき所見がみられなかった。

以上の所見の概要を表1に示した。

Tp 原虫分離成績: 第1群の無症状で経過した3例はいずれの検査臓器からも原虫は分離されなかった。しかしながら、第1群の死亡例1例と第2・第3および対照群の全例、計12例はいずれも全身諸臓器から原虫が分離された。

以上の成績を表2に示した。

Tp-HA 抗体検査成績: 第2・第3および対照群の多くのものは3～4週目に明らかな抗体価の上昇を示した。しかし、無発病で経過し原虫の分離されなかった第

表1 病理所見

試験群	豚 No.	胸量・腹水増	肝壊死巣	脾壊死巣	肺水腫	リンパ節			腸膜粘	
						腫大	水腫	壊死	出血	壊死
1	1	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	4	-	-	+	+	+	++	++	++	-
2	5	-	-	-	-	+	++	+	-	-
	6	-	-	-	-	++	++	+	-	-
	7	-	-	+	-	-	+	++	-	-
	8	-	-	++	-	-	++	++	-	-
3	9	++	+	+++	+	++	+++	+++	++	++
	10	-	++	+++	++	+	++	+++	+++	++
	11	-	-	-	-	-	±	+	+	-
	12	-	-	-	-	-	+	+	-	-
4	13	++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++	++
	14	-	-	+	-	-	++	++	+	-
	15	-	-	+	-	-	+	+	+	-

表2 Tp 原虫分離成績

試験群	豚 No.	経過日数	死・殺	肝	肺	リンパ節	脳	心筋	腎筋	横隔膜	腸
1	1	29	ナ	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	29	//	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	29	//	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	23	+	⊕	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-
2	5	27	ナ	-	-	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-
	6	27	//	⊕	-	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-
	7	27	//	-	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	8	27	//	-	-	-	⊕	-	-	-	-
3	9	15	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	10	16	//	⊕	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-
	11	28	ナ	⊕	⊕	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-
	12	28	//	⊕	-	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-
4	13	17	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	14	28	ナ	⊕	⊕	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-
	15	28	//	⊕	⊕	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-

+…スマー標本にて陽性, ⊕…マウス接種にて陽性, -…マウス2代継代にて陰性.

1群の3例は4週目まで, 抗体価の上昇はみられなかった. 以上の成績を表3に示した.

考 察

細菌性, ウイルス性の伝染病ではその予防方法として

表3 HA 抗体価の推移

試験群	豚 No.	検査時期				
		0週	1	2	3	4
1	1	<64	<64	<64	<64	<64
	2	<64	<64	<64	<64	<64
	3	<64	<64	<64	<64	<64
	4	<64	<64	256	256	
2	5	<64	<64	<64	<64	<64
	6	<64	<64	64	256	256
	7	<64	256	256	256	4,096
3	8	<64	<64	<64	64	256
	9	<64	<64	<64		
	10	<64	<64	256		
	11	<64	<64	<64	64	256
4	12	<64	<64	<64	64	256
	13	<64	<64			
	14	<64	<64	<64	<64	1,024
	15	<64	<64	<64	256	1,024

ワクチン接種が安全で有効, かつ経済的な方法とされている. しかしながら, 原虫病ではワクチン開発がむずかしく, 安全で有効な方法はまだ確立されていない. そのため人のマラリヤ, 鶏のкокシンジウム病, ロイコチゾン病などではもっぱら薬剤による予防方法が応用されている.

Tp 病においても, シスト, または増殖型原虫を用いた実験感染において, 薬剤による予防が可能であることが明らかにされている^{7,11,14}.

しかしながら豚への感染経路として, 近年最も重視されるようになった. Tp オーシストの経口感染に対する予防薬の応用については十分検討されていない.

私達は先に行なった Tp オーシストの豚への実験感染¹²の際, 従来から Tp 病の治療に有効^{17,18})といわれていた SM および Py を SM 500 ppm, Py 25 ppm の割合で飼料中に添加して投与したところ, Tp オーシストの感染を完全に予防出来ることを明らかにした. しかし, これらの薬剤を野外で応用するためには予防に必要な最低量を知り, 出来るだけ少量の薬剤を使用するのが望ましい.

そこで今回は, 第1群は, SM 100 ppm・Py 5 ppm, 第2群は1群の1/2量, 第3群は1群の1/10量を飼料中に添加して予防効果を観察した. その結果, 第2・第3群は全例が発病し, 原虫も分離され, この薬量では感染を防ぐことが出来なかった. 第1群では4頭中3頭は臨床所見, 原虫分離, 抗体検査などの成績から Tp オーシストの感染が完全に予防出来たものと思われた. しかし, 1頭は対照群と同様に発病し, 死亡した. この1頭

が感染発病した理由は何らかの原因により他の3頭にくらべて薬剤の摂取量が少なかったか、または薬剤の吸収が悪かったためと推察される。

マウスでは SM を 150 ppm の割合に混ぜた飼料を感染と同日から7日間連用すれば、Tp オーシストの感染が完全に予防出来ることが明らかにされている⁷⁾。

このマウスでの成績および今回の第1群と第2群の成績などから、今回の第1群の薬量は豚の Tp オーシスト感染予防に必要な最低量にほぼ近い量と考えられた。

薬剤を飼料添加で投与する場合、最少有効量を与えられている動物は正常に飼料を摂取し、薬剤が十分に吸収されていれば病原体の感染を防ぐが、何らかの原因により体内の薬量が少しでも減少すると感染を防ぎ得なくなるものと考えられている。そのためコクシジウム病やロイコチトゾーン病では、野外で応用する場合、最少有効量の1.5~2.5倍の薬量が添加されている。

そこで Tp 病においても、今回用いた薬剤を野外で応用する場合には第1群の2倍前後の薬量が必要と考えられるが、真の最小有効量については基礎および臨床の両面から、今後検討していかねばならない。

今回の試験ならびに SM 500 ppm・Py 25 ppm を飼料添加し約2カ月間連用した前回の試験¹²⁾を通じて、実験豚には薬剤による中毒と思われる所見は臨床的にも病理学的にもみられず、順調な発育を示したが、野外ではさらに長期にわたり連用する場合があると思われるので、さらに毒性について検討する必要があると思われる。

要 約

著者らは野外の猫から分離した *Isospora bigemina* のオーシストが豚にトキソプラズマ(以下 Tp)病をおこさせること、および、このオーシストの感染は Sulfamonomethoxine(以下 SM) 500 ppm と Pyrimethamine (以下 Py) 25 ppm の飼料添加による投与で予防できることをすでに報告した。今回はこれらの薬剤の投与量をどこまで減らすことができるかを知る目的で、本試験を実施した。

供試豚としては体重約40kgの Tp・HA 抗体陰性の豚15頭を用いた。接種原虫としては猫から分離した O-1 株の成熟オーシストを用い、豚1頭あたり 1.7×10^8 個を経口的に接種した。

供試薬剤としては SM と Py を用い、飼料中濃度が下記の量になるように配合し、オーシスト接種7日前から試験期間中連続投与した。

試験区は4群にわけ、第1群には SM 100 ppm と Py 5 ppm、第2群には SM 50 ppm と Py 2.5 ppm、第3群には SM 10 ppm と Py 0.5 ppm、第4群は対照群とし、1~3群には各4頭を、4群には3頭の豚を用い

た。なお、オーシスト接種後無発症のまま経過したもの、および、耐過したものは接種後4週間目にと殺剖検、原虫分離等を行なった。

第4群(対照群)の3頭はオーシスト接種後5~6日目から発病し、12日目に1頭が死亡したが、他の2頭は20日目頃から回復、耐過した。

第1群の4頭中3頭は無発病のまま経過し、Tp・HA 抗体の上昇もなく、Tp 原虫も分離されなかったことから感染を予防できたものと考えられた。しかし、1頭は対照群と同様に発病し、22日目に死亡した。

第2群の4頭は全例発病したが耐過した。

第3群の4頭は全例発病し、2頭が死亡したが、他の2頭は耐過した。

死亡豚4例はいずれも Tp 病の病理所見を示し、原虫が分離された。また、耐過した8頭も全例から原虫が分離された。

以上の結果から、本病予防のためには、第1群に用いたよりも多い薬剤量が必要と考えられた。

終わりに、本実験を行なうにあたり、種々のご協力をいただいた静岡県経済連豚センター滝井芳彦技師、慈恵医大 西川洋昭氏、松岡科学研究所 松井利博氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 阿部 甫, ほか: 日獣学誌, 29, 98~99 (1967).
- 2) DUBEY, J. P., et al.: *J. Protozool.* 19, 155~177 (1972).
- 3) FRENKEL, J.K., et al.: *Science*, 167, 893~896 (1970).
- 4) 深沢 平, ほか: 日獣会誌, 17, 25~27 (1964).
- 5) HUTCHISON, W.M., et al.: *Brit. Med. J.*, 1, 142~144 (1970).
- 6) ITO, S., et al.: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 14, 137~144 (1974).
- 7) ITO, S., et al.: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 14, 129~136 (1974).
- 8) 勝部泰次: 第75回日本獣医学会講演要旨, p.186 (1973).
- 9) 松井武夫, ほか: 日獣学誌, 30, 70~71 (1968).
- 10) 大島 慧, ほか: 日獣会誌, 22, 239~244 (1969).
- 11) 大須賀道代, ほか: 東京女子医大雑誌, 42, 193 (1972).
- 12) SASAKI, Y., et al.: *Jap. J. Vet. Sci.*, 36, 459~465 (1974).
- 13) 佐々木文存: 第33回日本寄生虫学会東日本大会講演要旨, p.34 (1973).
- 14) SHIMIZU, K., et al.: *Jap. J. Vet. Sci.*, 32, 159~167 (1970).
- 15) 島袋 哲: 日獣学誌, 30, 75~76 (1968).
- 16) 鈴木 恭, ほか: 家畜試研究報告, 43, 22~26 (1961).
- 17) TSUNODA, K., et al.: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 5, 27~35 (1965).
- 18) TSUNODA, K., et al.: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 6, 83~88 (1966).
- 19) 角田 清, ほか: 日獣学誌, 28 (学会号), p.396 (1966).
- 20) 徳富剛二郎, ほか: 第75回日本獣医学会講演要旨, p.185 (1973).