

子豚のCryptosporidium寄生例

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	吉永, 直哉 江永, 直樹 市丸, 浩昭 村岡, 豊一郎 下平, 秀丸 打越, 律男 吉武, 一郎 南川, 禮次
巻/号	41巻8号
掲載ページ	p. 590-593
発行年月	1988年8月

子 豚 の Cryptosporidium 寄 生 例

吉永直哉*¹⁾ 江永直樹*²⁾ 市丸浩昭*³⁾ 村岡豊一郎*¹⁾下平秀丸*⁴⁾ 打越律男*¹⁾ 吉武一郎*⁴⁾ 南川禮次*¹⁾

(昭和 63 年 5 月 20 日受理)

Cryptosporidiosis in Piglets

NAOYA YOSHINAGA (Chuhbu Livestock Hygiene Service Center Prefecture of Saga, Takagise, Saga 840-01), NAOKI ENAGA, HIROAKI ICHIMARU, TOYOICHIRO MURAOKA, HIDEMARU SHIMOHIRA, NORIO UCHIKOSHI, ICHIRO YOSHITAKE and REIJI MINAMIKAWA

SUMMARY

In September of 1986, on a swine breeding farm in Saga Prefecture, three 33-day-old, weanling piglets were stricken with diarrhea. As a result, two piglets died and one was in a moribund state immediately after the onset of diarrhea.

Histological examination confirmed numerous round protozoa in the epithelial cells lining the crypts of the cecum and the colon of the dead and moribund piglets. The protozoa were 1.5 to 5 μ m in diameter and were PAS positive. Electron microscopic examination revealed the protozoa in various stages of the development and the disappearance of microvilli at the affected colon. Characteristic findings observed in the present cases corresponded to those previously reported on Cryptosporidiosis.

Due to the findings of catarrhal enteritis in the non-infected small intestine, marked demyelination of the central nervous system of the moribund piglets and OPG obtained in the other healthy piglets of the same litter, some factor other than cryptosporidiosis also be involved.

要 約

1986年9月、佐賀県下の1繁殖養豚場で、離乳後間もない子豚3頭(33日齢)が、水様性下痢症状を呈し、急性経過で2頭が死亡、1頭が瀕死の状態になった。

そこで、死亡例1頭と重症例1頭について検査を実施したところ、病理学的検査において、直径1.5~5 μ mの円形あるいは楕円形で、PAS陽性の原虫を盲腸および結腸の陰窩上皮細胞表層に多数認めた。また、結腸の電子顕微鏡観察では、各種発育段階にある虫体が確認され、これらの付着している腸管の微絨毛は消失していた。このように、微絨毛内寄生を特徴とする原虫は、これまでに報告されているCryptosporidium (CR)の所見と一致していた。

しかしながら、当症例は、CR寄生の認められなかった小腸のカタル性炎や、重症例の中枢神経組織における広範な脱髄性病変、さらには同腹豚のOPG検査所見等から、CR単独感染とは考えられず、他にもなんらかの要因があるものと推察された。

Cryptosporidium (Eimeriorina 亜目, Cryptosporidida

- *¹⁾ 佐賀県中部家畜保健衛生所 (佐賀市高木瀬町大字高木二本杉)
 *²⁾ 佐賀県中部家畜保健衛生所 [現: 佐賀県北部家畜保健衛生所 (東松浦郡鎮西町)]
 *³⁾ 佐賀県中部家畜保健衛生所 [現: 佐賀県西部家畜保健衛生所 (武雄市武雄町富岡)]
 *⁴⁾ 佐賀県中部家畜保健衛生所 [現: 佐賀県畜産課 (佐賀市内1丁目)]

科, Cryptosporidium 属) は、広い宿主域 (哺乳類, 鳥類, は虫類, 魚類) を示し、宿主細胞の微絨毛に寄生し、コクシジウムに酷似した生活環を営む原虫である^{1,3,8)}。本原虫が、幼齢な哺乳動物へ感染した場合のおもな臨床症状は、食欲減退、元気消失、脱水などを伴う下痢である¹⁾。Cryptosporidium (以下 CR) 単独感染による死亡率は低いとされているが、一部の国では、感染家畜が人への感染源となるなど、公衆衛生上問題となりつつあ

る^{1,2,6,8)}。我が国における CR 感染は、猫³⁾、鶏⁴⁾、モルモット、子牛⁷⁾で認められている。しかし、豚の CR 自然感染例は、まだ国内での報告はなく、アメリカ⁵⁾、オーストラリア⁶⁾、西ドイツ⁷⁾で確認されているにすぎない。今回、佐賀県内の 1 繁殖養豚場で、軟便および下痢を主徴とする子豚 2 例について検索した結果、CR の寄生例に遭遇したのでその概要を報告する。

1. 材料および方法

1) 検査材料

1986 年 8 生まれの同腹豚のうち、9 月 19 日に死亡した 1 頭 (No. 1) と下痢を呈するもの 1 頭 (No. 2) を検索した。なお、発病中の子豚については病理組織学的、細菌学的、ウイルス学的検査を行い、死亡した例では病理組織学的検査のみを実施した。

また、発生から 1 カ月半後の 11 月初旬に、同腹豚 3 頭 (76 日齢) の直腸便を用いて、大腸菌の定量ならびに CR のオーシスト検査を実施した。

2) 検査方法

(1) 病理学的検査：剖検の後、常法により組織標本を作製し、標本はヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色し、一部は過ヨード酸シッフ (PAS) 染色、ルクソール・ファースト青 (LFB) 染色し鏡検した。さらに、結腸のホルマリン固定組織の一部をグルタルアルデヒド・オスミウム酸で後固定し、エポン包埋、薄切後、酢酸ウラニル・硝酸鉛二重染色をほどこし、電子顕微鏡的観察を行った。

(2) 細菌学的検査：各臓器、小腸内容、直腸便を可検材料とした。10% 細羊血液加ハートインフュージョン寒天培地、CW 寒天培地、DHL 寒天培地を用い、37°C で 18~48 時間、好気および 10% 炭酸ガス下で培養した。なお、小腸内容、直腸便については滅菌生理食塩液で 10 倍段階希釈を行い、各培地で培養した。

(3) ウィルス学的検査：脳、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、小腸の 10 倍乳剤を遠心し、その上清を豚腎株化 (CPK) 細胞に接種し、37°C で 1 時間吸着後、維持培養液を加え、37°C で 7 日間回転培養を行い、細胞変性効果 (CPE) の有無を観察した。CPE が認められなかった場合は、培養上清を継代し 3 代まで観察した。さらに、培養上清をカバースリップの CPK 細胞に接種し、市販のオーエスキー病診断液 (日本生物科学研究所製造) に添付の陽性血清を用い、間接蛍光抗体法により特異蛍光の有無を観察した。

(4) 寄生虫学的検査：直腸便を用い、ショ糖浮遊法 (比重 1.2~1.3) によって CR のオーシストを検査し、McMaster 改良法に従い OPG (Oocysts per Gram) 値を算出した。また、Kinyoun Acidfast 染色変法⁹⁾によりオーシストの確認を行った。

2. 成績

1) 発生状況

佐賀県中央部の繁殖母豚 15 頭を飼養する一養豚場で、1986 年 8 月 17 日に生まれ、25 日齢で離乳した同腹豚 10 頭のうちの 3 頭 (No. 1, No. 2 を含む) が、30 日齢頃から軟便および水様性下痢を繰り返し、うち 2 頭 (No. 1 を含む) が 2~3 日の経過で死亡した。また、発病中の 1 頭 (No. 2) は、下痢以外に起立不能、振戦、四肢の遊泳運動などの症状が認められた。

2) 剖検所見

No. 1 の豚では、腹腔内に麦稈色の腹水が少量貯留し、腸管内容は暗色粘液性で異臭が強く、空腸および回腸では粘膜面の充出血がみられ、腸間膜リンパ節は暗赤色腫大していた。いっぽう、No. 2 の豚では、小腸粘膜の充血ならびに腸間膜リンパ節が軽度に腫大していた以外、とくに異常は認められなかった。

3) 病理組織学的所見

病理組織学的所見を表 1 に示した。No. 1 の空腸および回腸では、粘膜上皮の変性壊死、脱落が著明で、粘膜固有層、下織は充血し、固有層には好中球、好酸球、リンパ球の浸潤が認められた。いっぽう、No. 2 の小腸では、粘膜上皮細胞は著明に腫大し、軽度の変性剥離がみられ、上皮細胞表層に PAS 陽性の粘液物質が付着していた。

2 例に共通して CR の寄生を盲腸および結腸に認めた。CR の寄生は陰窩上皮表面に観察され、なお、虫体は直径 1.5~5 μ m の円形~橢円形を呈し、PAS 陽性であった。また、粘膜上皮細胞は活生化し、杯細胞の風船様腫大がみられ、粘膜固有層では軽度の水腫と組織球、リンパ球、形質細胞、好中球が軽度に浸潤していた (写真 1)。

結腸の電顕像では、陰窩上皮に付着するように CR の生活期であるトロフォゾイト、シゾン、マクロガメー

表 1 病理組織所見

組 織 所 見	症例番号	
	1	2
空・回腸	・上皮の変性、剥離 ・固有層における細胞浸潤	卅 卅
盲・結腸	・上皮の腫大、増生 ・固有層における細胞浸潤 ・CR の寄生	卅 卅 卅 卅 + 卅
腸リンパ	・洞内カタル	卅 卅
大脳、脳幹	・ウツ血 ・脱髄	卅 卅 - 卅

注) CR: Cryptosporidium

変化の程度 +: 軽度 卅: 中等度 卅: 重度
-: 著変なし

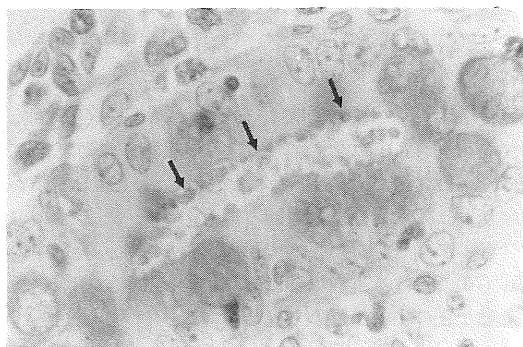


写真1 結腸：陰窩腔内におけるCRの寄生 (PAS染色 ×1,000)

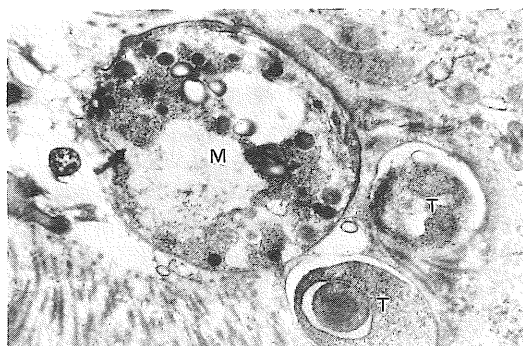


写真2 結腸電顕像：中央に大きなMacrogamete, 小さい2つはTrophozoite (×20,000)

トサイトの寄生を認め、その部位では微絨毛が消失していた(写真2)。

このほか、腸間膜リンパ節は、リンパ洞の拡張と洞内における好中球、好酸球の瀰漫性細胞浸潤や、細網内皮系細胞の活性化を認めた。また、No.2の脳(頭頂葉、アンモン角)、橋、延髄の髄質に広範な脱髄巣がみられ、病変部には神経細胞の変性と軸索の腫脹が観察された。しかし、これらの病変はなんら炎症反応を伴っていない。

4) 細菌学的所見

No.2の細菌分離成績を表2に示した。扁桃から *Streptococcus* と大腸菌が少数分離された。小腸内容からは、正常範囲内の菌量の大腸菌 ($10^4/g$; 好気培養) と *Clostridium perfringens* ($10^{1.5}/g$; 嫌気培養) が分離された。

5) ウィルス学的所見

No.2の各臓器乳剤をCPK細胞に接種し、3代継代して観察したが、ウィルスは分離されなかった。また、オーエスキー病の蛍光抗体法により、特異蛍光は認められなかった。

6) 同腹豚の細菌学および寄生虫学的所見

分離大腸菌量は $2.2 \times 10^5 \sim 1.3 \times 10^6/g$ で、CRのOPG値は $1.3 \sim 4.1 \times 10^6$ 個であった(表3)。

表2 細菌分離成績

臓器	好気	嫌気(10%炭酸ガス)
扁桃	Str.* sp. <i>E.** coli</i>	Str. sp. <i>E. coli</i>
小腸	<i>E. coli</i> —	<i>E. coli</i> <i>Cl.*** perfringens</i>

注) * : *Streptococcus* ** : *Escherichia*
*** : *Clostridium*

表3 直腸便中の大腸菌量及びCryptosporidiumのOPG値

検索例番号	大腸菌量	CR-OPG
1 (76日齢)	2.7×10^5	3.4×10^6
2 (同上)	1.3×10^6	4.1×10^6
3 (同上)	2.2×10^5	1.3×10^6

注) CR-OPG: *Cryptosporidium* のOPG値
McMaster改良法に従い算出

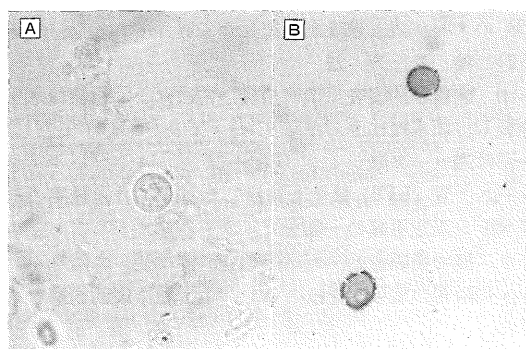


写真3 A: 浮遊法によって分離したオーシスト, オーシストは直径4.5~5μmの円形~楕円形を呈していた(×1,500)
B: オーシスト(Kinyoun Acidfast染色変法 ×1,500)

また、検出したオーシストをKinyoun Acidfast変法で染色すると陽性(赤色)に染まり、オーシスト内部に薄く抜けた残体が認められた(写真3)。

3. 考 察

CRは罹患宿主細胞の微絨毛内寄生を特徴とする唯一の原虫である^{1,3,4,6)}。生活環はコクシジウムと同様にシゾゴニー(無性生殖)、ガメトゴニー(有性生殖)、スポロゴニーの過程をたどる^{1,3,6)}。虫体は、直径2~4μmの楕円形もしくは類円形で、ヘマトキシリンおよびPASに着色し、腸粘膜上皮細胞の表面(小皮縁)に寄生する¹⁻⁶⁾。組織学的変化は、かなり濃厚な感染でも寄生する腸管の上皮細胞や粘膜組織の病変は軽微であり、高度の充血、浮腫や潰瘍形成などの組織傷害が起こる可能性は低い⁶⁾。

また、CR感染による下痢の病理発生については、CR

寄生によって微絨毛が消失し、絨毛も萎縮することから、腸管の吸収面積が減少するので、吸収不良性下痢が惹起されるものと考えられている⁹⁾。

このような原虫の形態的特徴および原虫と宿主細胞との寄生的関係は、今回の症例において得られた所見と一致しており、CR の関与により下痢を発現したものと思われた。

しかしながら、急性経過で3頭が死亡あるいは瀕死の状態になったことは、CR の病原性を考慮した場合、CR 単独感染とは考えられず、ほかにもなんらかの要因があるものと推測された。すなわち、病理組織学的に、CR の寄生を認めた盲・結腸よりも、CR の寄生を認めなかった空・回腸において、上皮細胞や粘膜組織の変性、剝離が観察され、No. 2 の子豚では、中枢神経組織(大脳、橋、延髄)に広範な脱髄巣が見られた。また、同腹豚のOPG 検査結果から、高濃度のCR 寄生があったと推察されるが、下痢を発病したのは3例のみであった。さらに、防御能が十分でない離乳後5日頃より下痢が見られたことは、CR の感染発症について考慮すべきことと思われる。

現在、CR の病原性や、CR 感染に対する治療法など

の研究が活発に行われているが、いまだ不明の点が多い¹⁰⁾。今後、CR の感染予防には、離乳前後の子豚の健康管理に一層の注意を払う必要があると考える。

稿を終えるにあたり、原虫の同定にご協力をいただいた農林水産省家畜衛生試験場九州支場第3研究室の久保正法主任研究官に深謝いたします。

引用文献

- 1) 板倉智敏, 藤原三男, 大内紀章, ほか: 日獣会誌, 38, 796~801 (1986).
- 2) ANDERSON, B. C., DONNDELINGER, T., WILKINS, R. M., et al: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 180, 408~409 (1982).
- 3) ISEKI, M.: *Jpn. J. Parasitol.*, 28, 285~307 (1979).
- 4) ITAKURA, C, GORYO, M. and UMEMURA, T.: *Avian Pathol.*, 13, 487~499 (1984).
- 5) KENNEDY, G. A., KREITNER, G. L. and STRAFUSS, A. C.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 170, 348~350 (1977).
- 6) LINKS, I. J.: *Aust. Vet. J.*, 58, 60~62 (1982).
- 7) SCHMIDT, U. and NIENHOFF, H.: *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, 89, 437~439 (1982).
- 8) 井関基弘: モダンメディア, 32, 489~498 (1986).

— 9月の新刊・好評発売中—

牛病学 (第二版)

B5判740頁 定価21,000円(送料650円)

清水高正 稲葉右二 小沼 操 金川弘司 藤永 徹 本好茂一 編 分担執筆83氏

牛を飼養する人、牛を診療する人など、牛と接する人々のために、
牛の健康を管理する上で、絶対必要な疾病に関する知識を集大成

初版で得た評価を基礎に、実際に牛の飼育をする上で遭遇しやすい疾病を、最新のデータを基に解説。
8年ぶりの全面大改訂。

特に第二版では、臨床症状から疾病を類推することを第一に考え、第1章臨床検査診断、第2章臨床病理学的検査診断法を冒頭約130頁にわたり詳述し、そこで

■主要目次■

臨床診断法/臨床病理学的検査診断法/免疫/ウイルス病/クラミジアおよびリケッチア病/細菌、マイコプラズマおよび真菌病/原虫病/寄生虫病/呼吸器病/循環器病/消化器病/泌尿器疾患/繁殖障害/泌乳障害/代謝および栄養障害/その他の疾病/中毒/外科的疾患およ

の判断を基に後の各論を引けるように工夫した。

その他、繁殖障害、衛生プログラム、関係法規など、牛を飼育していくに必要な疾病への対処から予防、効果的繁殖、関連する法律といった牛を取り巻く諸問題すべてを収載。

び処置/飼養管理と疾病/関係法規

付録: 牛の日本飼養標準表/牛用飼料の主要成分表/和牛・ホルスタインの標準増体曲線/牛用飼料添加物/牛用予防液/牛用抗菌物質/牛の法定伝染病・届出伝染病/主な牛繁殖用ホルモン剤

〒150 東京都渋谷区渋谷1-10-1 近代出版 03(499)5191 振替東京9-168223