

住肉胞子虫シストの新簡易直接検査法の検討と応用

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	斎藤, 守弘 鉢須, 桂一 岩崎, 一弥 中島, 董 渡辺, 昭宣 守屋, 英樹 板垣, 博
巻/号	37巻3号
掲載ページ	p. 158-162
発行年月	1984年3月

皮下に移植され、ホルモンの大部分は代謝・排泄されるが一部は食用とされる組織に残留することになる。今回著者らは肥育ホルモン剤を移植後5カ月間にわたり、血清中および種々の組織中におけるその残留性について検討したところ、血清中 $E_2-17\beta$ については妊娠末期の牛における値よりも低く、また血清中Pについても黄体期の牛における値 (1ng/ml 以上)⁶⁾よりも低かった。

組織中 $E_2-17\beta$ については、移植5カ月後の値は対照例にくらべ肝臓で1.8倍、腎臓で4.4倍、筋肉で4.8倍、脂肪で1.1倍高かったが、その量は微量であり、飲用に供される分娩3週間後の乳汁中の濃度 (200pg/ml)⁷⁾よりも低いものであった。また組織中Pについては、移植5カ月後の対照例にくらべ筋肉で7.3倍、脂肪で2.6倍高かったが、黄体期の乳脂肪中の値 (400ng/ml)¹⁾とくらべると著しく低かった。

以上のように、肥育ホルモン剤を移植した牛における血中および肝、腎、腸、脂肪中の $E_2-17\beta$ およびPの残留は5カ月経過後においても牛の生理的濃度以下であり、食品衛生上まったく問題がないものと考えられた。

稿を終るにあたり、ステロイドのEIAについて基礎的な面でご指導をいただいた前帝國器械製薬株式会社主任研究員の神戸川明博士、本学獣医化学教室の湯浅

亮教授、ならびに実験材料採取にあたり便宜を与えられたデンカ製薬株式会社に深謝する。

文 献

- 1) GÜNZLER, O., RATTENBERGER, E., GÖRLACH, A., et al.: *Br. Vet. J.*, 135, 541~549 (1979).
- 2) HARWOOD, D. J., HEITZMAN, R. J. and JOUQUEY, A.: *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 3, 245~254 (1980).
- 3) HEITZMAN, R. J. and HARWOOD, D. J.: *Br. Vet. J.*, 133, 564~571 (1977).
- 4) HENRICKS, D. M. and TORRENCE, A. K.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 61, 1280~1283 (1978).
- 5) HOFFMANN, B.: *FAO/WHO Symposium on Use of Anabolic Agents in Animal Production.*, 181~191 (1976).
- 6) NAKAO, T.: *Acta Endocrinol.*, 93, 223~227 (1980).
- 7) NARENDHAN, R., HACKER, R. R., SMITH, V. G., et al.: *J. Dairy Sci.*, 62, 1069~1075 (1979).
- 8) REYNOLDS, I. P.: *Vet. Rec.*, 18, 367~369 (1980).
- 9) RUMSEY, T. S. and BEAUDRY, N.: *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 23, 405~411 (1979).
- 10) TAMAMURA, F., NAKAO, T., TSUNODA, N., et al.: *Steroids*, 39, 657~666 (1982).

公衆衛生

住肉胞子虫シストの新簡易直接検査法の検討と応用

斉藤守弘*1) 鉢須桂一*2) 岩崎一弥*1) 中島 董*1) 渡辺昭宣*1) 守屋英樹*3) 板垣 博*4)

(昭和58年12月19日受理)

A New Simple Method for Detection of Bovine Sarcocystis Cysts

MORIHITO SAITO (Meat Inspection Office, Prefecture of Saitama, Yono, Saitama 336) et al.

SUMMARY

A new detection method of bovine *Sarcocystis* cysts (sarcocysts) was devised. In it, a small piece (about 2×5×0.5cm in size) of cardiac muscle was cut out at right angles to the fibers and examined by a binocular dissecting microscope with illumination from above. Sarcocysts could be observed as minute whitish bodies. The new method was superior to the conventional one in the following points: Fresh sarcocysts could easily be removed from muscle with a dissecting needle. They could be used for morphological examination in order to identify the species and for experimental infection of final hosts, such as dogs.

The new method was applied to 104 healthy cattle slaughtered. It revealed that the incidence rate of sarcocysts increased with the advance in age, that it was 100% among cattle more than 5 years old, and that the larger the cyst, the larger the number of bradyzoites contained.

*1) 埼玉県食肉衛生検査センター (埼玉県与野市上落合 846-18)

*2) 埼玉県深谷保健所 (埼玉県深谷市田谷 11)

*3) 山梨県食肉衛生検査所 (山梨県東八代郡石和町唐柏 1028)

*4) 麻布大学獣医学部 (神奈川県相模原市淵野辺 1-17-71)

要 約

住肉孢子虫シストの検出のため新簡易直接検査法を考案し、従来との比較を行った。また、本法を用いて昭和 58 年 3 月から 5 月までに埼玉県北部の 3 つ畜場に搬入された健康牛から無作為的に抽出した 204 頭について、住肉孢子虫シストの感染状況を明らかにし、さらに検出されたシストを用いて犬への実験感染を試み次の結果を得た。

- 1) 直接法と従来用いられているトリプシン消化法とを検出率の点で比較したところ、両者間に有意差は認められなかった。
- 2) 病理組織標本による種の同定の結果、検出されたシストはすべてシスト壁の薄い、*Sarcocystis cruzi* のものであった。このシストの特徴は直接法により取り出した生鮮なシストにおいても認められた。
- 3) ウシの年齢別の住肉孢子虫の感染率および感染シスト数は宿主年齢の増加とともに増加する傾向が認められた。
- 4) シストの大きさとブラディゾイト数の関係ではシストの大きさに比例してブラディゾイト数が増加した。
- 5) 直接法によって取り出されたシストを用いて終宿主である犬への感染が成立し、スポロシストの排出が認められた。

ウシの住肉孢子虫の感染状況についてはわが国においても多くの報告がなされており、斉田¹²⁾、細川ら⁶⁾により 5 才齢以上の牛ではほぼ 100% の感染が認められたと報告されている。

ウシに寄生する住肉孢子虫の種類について、HEYDORN ら⁶⁾はイヌ (*Sarcocystis cruzi*)、ネコ (*S. hirsta*)、ヒト (*S. hominis*) を終宿主とする 3 種に分類し、また、DUBEY¹⁾、FRENKEL⁵⁾、MARKUS ら⁹⁾はその種の同定は病理組織標本等によるシストの形態学的差異により可能であると報告している。

いっぽう、ウシに対する住肉孢子虫の病原性については、近年 FAYER ら²⁾が実験的にウシに流産などを誘発させる急性住肉孢子虫症を報告し、わが国においても志村ら¹³⁾によって実験感染例が報告されている。さらに、FRELIER ら⁴⁾によって自然発症例も報告されている。また、HEYDORN ら⁷⁾は終宿主であるヒトにおいては食中毒様症状があらわれると報告している。

近年わが国では牛肉を生食することが多くなり、住肉孢子虫の人への影響が懸念されるので食肉検査においても本原虫の寄生については今後重視しなくてはならない。

そこで著者らは食肉検査レベルでの住肉孢子虫シストの簡易検査法を考案し、従来のトリプシン消化法と比較するとともに、この方法を用いて住肉孢子虫の検出を行い、さらに検出されたシストを用いて種々の実験を試みた。

1. 材料および方法

1) 調査期間

昭和 58 年 3 月から 5 月までの 3 カ月間。

2) 調査対象および材料

埼玉県北部の熊谷、本庄、寄居の各と畜場に搬入され

た健康牛のうちから無作為的に抽出した 204 頭を調査対象とし、心筋 (中隔) を採取して検体とした。

3) 検査方法

(1) 直接法：心筋を線維方向に対して垂直に切り出し、その小片 (2×5×0.5 cm) をスライドガラスにのせ、上方より光をあて、実体顕微鏡下でシストの有無を検査した。判定はこの肉片 5 cm³ 中にシストが確認された検体を陽性とした。

(2) トリプシン消化法：斉田¹²⁾、細川ら⁶⁾が行った方法に準じて実施し、ブラディゾイトの確認された検体を陽性とした。

(3) 病理組織標本の作り方：直接法でシストの認められた検体について実体顕微鏡下で、シストの寄生が認められた部位を含むように肉片を切り出し、10% ホルマリン液で固定後、パラフィン包埋、薄切後、ヘマトキシリン・エオジン染色をほどこし顕微鏡下でシストの形態を観察した。

(4) シストの取り出し方および形態の観察：直接法でシストの確認された肉片からシストを取り出すには、虫ピンを用いてシスト周囲の筋肉を圧迫し、シストを押し出す。これをあらかじめ生理食塩液を滴下しておいたスライドガラス上に置き、カバーガラスで覆い、マイクロメーターを使用して大きさを測定したのち、シスト壁等の構造を観察した。なお、カバーガラスで覆う際に少量の脱脂綿を置き、虫体の圧平の程度を調節した。

(5) ブラディゾイトの計数：取り出したシストは大きさを測定した後、実体顕微鏡下で虫ピンを用いて 1 ml の生理食塩液の入ったシャーレー内に移し、シスト壁を虫ピンで壊しブラディゾイトを遊出させた。さらに生理食塩液 1 ml を加え、ピペットを用いて十分攪拌したの

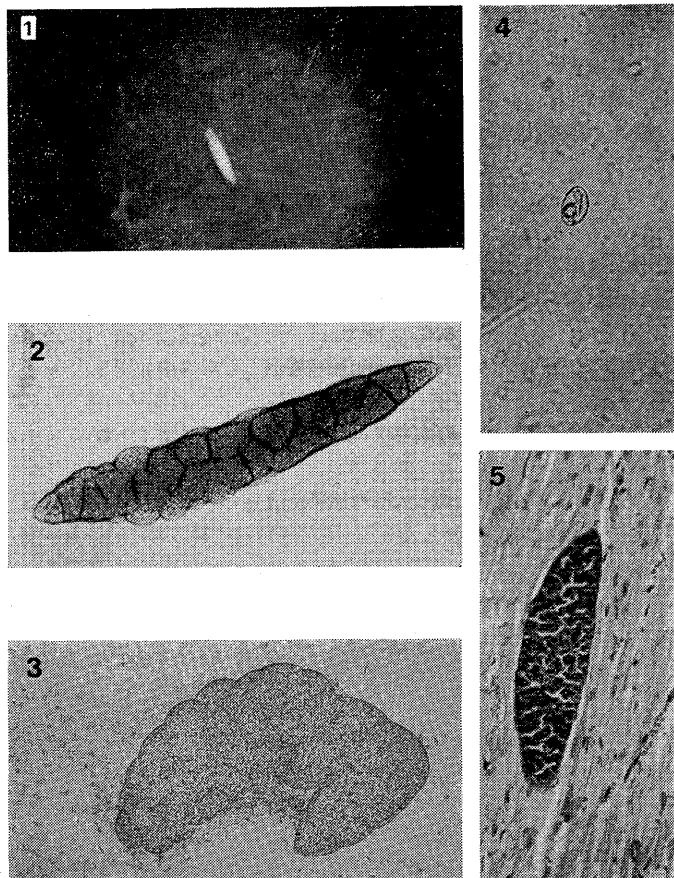


写真1 生鮮肉中のシスト (中央のラグビーボール状のもの) (×50)
 写真2 写真1から抽出したシスト (×100)
 写真3 つぶした同シストから放出されたブラディゾイト (×100)
 写真4 実験感染の結果、犬の糞便内に排出されたスポロシスト (×400)
 写真5 シストの病理組織標本 (HE 染色 ×100)

ち、その0.05 mlをプランクトン板に滴下し、カバーガラスで覆い顕微鏡下でブラディゾイトを計数した。このブラディゾイト数を40倍した数をシスト内に含まれるブラディゾイトの総数とした。

(6) **イヌへの実験感染**：直接法により取り出したシスト1個を小寒天片にのせ、これをゼラチンカプセルに入れ、2カ月齢の雑種犬に合計20個径口投与した。

表1 同一検体によるトリプシン消化法と直接法の検出率の比較

性別	検体数	トリプシン消化法陽性頭数	直接法陽性頭数
雌	45	43	43
去勢	5	1	1
計	50	44	44
(検出率)		(88%)	(88%)

2. 成績

1) 直接法とトリプシン消化法との検出率の比較

健康牛204頭中の50頭についてトリプシン消化法と直接法による住肉胞子虫の検出率を比較したところ表1のような結果を得た。すなわち、トリプシン消化法による住肉胞子虫の検出率は44/50(88%)であり、直接法による検出率とまったく同率であった。

2) 年齢別の住肉胞子虫感染状況

年齢別感染率の調査は、1)で用いた調査牛以外の104頭において直接法により行った。

検出率は表2にみられるように2才以下では3/7(43%)、3才9/14(64%)、4才13/17(76%)、5才17/17(100%)、6才以上49/49(100%)で、5才以上では全頭から検出された。また、直接法で陰性であったものについてトリプシン消化法により検査したがすべて陰性であった。

3) 宿主年齢と住肉胞子虫シスト数との関係

2)で調査した健康牛104頭について直接法によりシストを検出し、肉片5 cm³中の感染シスト数と調査牛の年齢との関係を図1に示す。すなわち、2才以下では平均11.7個、3才12.5個、4才18.7個、5才24.2個、6才以上44.3個となり、宿主年齢の増加に比例して虫体数が増加する傾向が認められた。また、虫体数と年齢との関係に

は1%の危険率が有意差が認められた。

4) 病理組織標本によるシストの形態学的所見

健康牛104例中、住肉胞子虫感染の認められた91例について、病理組織標本作製し形態学的に虫体の同定を行った。検出された住肉胞子虫はすべてシスト壁の薄い *Sarcocystis cruzi* であった。直接法で取り出されたシスト

表2 直接法による健康牛104頭の住肉胞子虫感染状況

宿主年齢	検査頭数	陽性頭数	陽性率(%)
2才以下	7	3	43
3才	14	9	64
4才	17	13	76
5才	17	17	100
6才以上	49	49	100
計(平均)	104	91	(87.5)

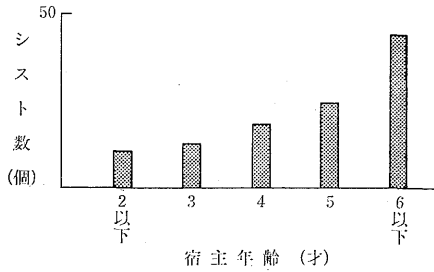


図1 宿主年齢と住肉胞子虫の感染シスト数 (肉片 5cm² 中のシスト数) との関係

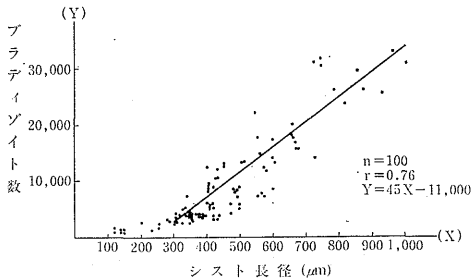


図2 シストの大きさとブラディゾイト数との関係

の観察においてもこの特徴が認められた。なお、病理組織学的に住肉胞子虫感染によると思われる心筋の変性は認められなかった。

5) シストの大きさとブラディゾイト数の関係

シストの大きさとブラディゾイト数の関係を調べるために、1) および 2) で調査した以外の健康牛 50 頭について、1 検体より 2 個ずつシストを取り出し、計 100 個のシストについてブラディゾイトを計数した。その結果は図 2 に示すごとくで、シストの長径が 0~200μm のものではブラディゾイト数は平均 632 個、200~300μm のものでは 1,884 個、300~400μm のものでは 2,987 個、400~500μm のものでは 6,409 個、500~600μm のものでは 9,478 個、600μm 以上のものでは 25,482 個であった。結果的にシストの長径が増大するのに比例してブラディゾイト数も増加することが認められた。

6) 終宿主への感染実験

直接法により取り出したシストを、合計 20 個犬に経口投与したところ投与後 11 日目に糞便内にスポロシストの排泄が確認された。

スポロシストは長楕円形で内部にはバナナ状あるいは三日月形の 4 個のスポロゾイトが含まれており、さらに円形ないし類円形の内部残体が多数認められた。スポロシストの大きさは、糞便排泄直後に計測したところ長径 16~17μm、短径 9.5~10.8μm であった。また、スポロゾイトの長径は約 7μm、短径は約 3μm であった。したがって、本スポロシストは形態的に FAYER⁹⁾、森¹⁰⁾、

MUNDAY ら¹¹⁾の報告にある *Sarcocystis cruzi* のものとはほぼ一致した。

3. 考 察

今回著者らは畜検査時に即応しうる住肉胞子虫の検査法として直接法を検討し、同一検体について本法とトリプシン消化法による検出率を比較検討したところ、同様の結果をうることができた。

直接法によって調べたウシの住肉胞子虫感染率は宿主年齢に比例して増加し、5 才以上では 100% であった。この成績は前年度同期に同一場へ搬入された健康牛 102 頭についてのトリプシン消化法による成績とはほぼ一致し、また齊田¹²⁾、細川¹³⁾らの報告ともほぼ一致した。

病理組織標本による種の同定は、DUBEY¹⁾、FRENKEL⁵⁾、MARKUS ら⁹⁾の報告に述べられた形態的特徴に基づいて実施したが、検出虫体はすべてシスト壁が薄く、かつ平滑で *Sarcocystis cruzi* の特徴を備えていた。また、直接法によって取り出したシストにおいてもこの特徴が認められたことから、直接法で取り出したシストは種の鑑別にも利用できるものと考えられる。

直接法により取り出されたシストを用いた終宿主への感染実験の結果、排便中にみられたスポロシストは大きさや形態的特徴において森ら¹⁰⁾の報告にある *Sarcocystis cruzi* のものと一致した。

以上のことから直接法はすでに報告されているトリプシン消化法と比較したとき、住肉胞子虫の検出法としては検出率の点においてほとんど差がないものと考えられる。しかも本法は消化法と比較して手技が簡単であって簡易検査法として十分応用できるものと考えられる。直接法の利点は検査時間が短く、短時間に多数の検体を処理できるなど食肉検査レベルで十分利用できるものと思われる。またトリプシン消化法等ではブラディゾイトしか検出できないため、種の同定には病理組織標本によりシストの構造を観察する必要があるが直接法ではシストを生鮮状態のまま取り出すことができ、その形態の観察により種の同定が可能である。

以上のように直接法は住肉胞子虫の感染率の調査に利用できるのみならず食肉検査における検査時間の短縮、さらにシストの形態学的観察、種の同定に活用できるなど多くの利点を有している。さらに、直接法によって取り出したシストを用いて終宿主への感染実験が可能である。

[本論文の要旨は第96回日本獣医学会 (1983) で報告した。]

終わりに当たり、検体採取にご協力いただいた本庄食肉センター、寄居食肉センター、および熊谷食肉センターの職員各位に深謝します。

文 献

- 1) DUBEY, J. P.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 169, 1061~1078 (1976).
- 2) FAYER, R., JOHNSON, A. J. and LUNDE, M.: *J. Infect. Dis.*, 134, 624~628 (1976).
- 3) FAYER, R. and LEEK, R. G.: *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 40, 294~296 (1973).
- 4) FRELIER, P., MAYHEW, I. G., FAYER, R., et al.: *Science*, 195, 1341~1342 (1977).
- 5) FRENKEL, J. K., HEYDORN, A. O., MEHLHORN, H., et al.: *Z. Parasitenkd.*, 58, 115~139 (1979).
- 6) HEYDORN, A. O.: *Arch. Lebensmittelhyg.*, 28, 27~31 (1977).
- 7) HEYDORN, A. O., GESTRICH, R., MEHLHORN, H., et al.: *Z. Parasitenkd.*, 48, 73~82 (1975).
- 8) 細川 修, 柴田 穰, 斉藤守弘, ほか: 食品衛生研究, 5, 59~66 (1982).
- 9) MARKUS, M. B.: *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 22, 159~193 (1978).
- 10) 森 泰良, 広永 潔, 榎本千可志, ほか: 家畜保健衛生技術研究会会報, 24, 83~86 (1976).
- 11) MUNDAY, B. L. and CORBOULD, A.: *Brit. Vet. J.*, 130, ix~xi (1974).
- 12) 齊田 清, 星野利得, 小山 孝, ほか: 獣医畜産新報, 671, 340~343 (1977).
- 13) 志村亀夫, 伊藤進午, 角田 清: 日獣会誌, 35, 647~652 (1982).



Microsporium gypsum による子犬の皮膚真菌症

高鳥浩介*1) 清水邦一*2) 一条 茂*3)

(昭和 58 年 11 月 18 日受理)

Dermatophytosis Caused by *Microsporium gypsum* in Three Puppies
KOSUKE TAKATORI (Hatano Research Institute, Food and
Drug Safety Center, Hadano, Kanagawa, 257) et al.

SUMMARY

Dermatophytosis caused by *Microsporium gypsum* was found in 2 male and 1 female puppies born from a mongrel 6 years old with brown hair. Primary lesions were observed simultaneously at about 2 weeks of age. By 1 month of age lesions were scattered on legs and tail, and small lesions on back and abdomen. *Microsporium gypsum* was purely isolated from hair and scale. The dam of the puppies had no lesions or dermatophytes detected.

The puppies were treated by oral administration with 22 mg/kg of griseofulvin and topical application with an iodine preparation (Isodin). The lesions were completely cured in about 1 month. *M. gypsum* was isolated abundantly. From the soil of the birth place.

要 約

Microsporium gypsum に感染をうけた同腹の子犬 3 頭の皮膚真菌症に遭遇した。母犬(6才, 雑種, 茶)の出産頭数は雄 2 頭, 雌 1 頭の計 3 頭であり, いずれも生後約 2 週間に初期症状を認め, 約 1 カ月齢には四肢, 尾を主病巣とし, 一部背腹部にも散在性の小病巣を認めた。病巣部の被毛, 鱗屑の直接鏡検でいずれも菌要素を確認でき, 菌検索を行ったところ純培養的に *M. gypsum* を分離できた。いっぽう, 母犬には臨床的になんら症状を認めず, 菌検索でも陰性であった。ヨード剤塗布とグリセオフルビン経口投与の併用により完治した。

母犬の出産場所の菌検索を行ったところ, *M. gypsum* を多く検出できたことから, 本症の感染源は同場所の土壌と推察された。

*1) 食品薬品安全センター・秦野研究所 (神奈川県秦野市落合 729-5)

*2) 横浜市 開業 (横浜市鶴見区佃野)

*3) 帯広畜産大学畜産学部 (北海道帯広市稲田町)