

17 鳥取県で初めて確認された牛の核内コクシジウム症

倉吉家畜保健衛生所 ○岡田綾子 郡司美緒

1 はじめに

コクシジウムは牛の下痢の原因としてよく知られた病原体の一つだが、一般的にはその生活環のほとんどを腸管粘膜上皮の細胞質で過ごす。一方、核内コクシジウムは核内で生活環を営む*Eimeria*（以下E.とする）、*Isospora*等を言い、約20種類が知られている。主に両生類・爬虫類・魚類で一般的で、哺乳類においては、モグラや牛などでの報告がある。

牛の核内コクシジウム症については、1940年代からすでに米国等で報告があり [1, 2]、国内では2009年の北海道の*E. alabamensis*によるものが初発である [3]。その後いくつかの発生報告がある。国内症例は、いずれも慢性下痢・発育不良を呈した黒毛和種子牛や育成牛の鑑定殺例で認められている。[4-7]

今回、慢性下痢症例の病性鑑定で核内に寄生するコクシジウムを確認したので、その概要を報告する。

2 発生状況

症例は、黒毛和種去勢牛で鑑定殺時15か月齢であった。生産農場では分娩予定日より10日早く生まれ、出生時から体格が小さかった。8日齢から下痢を発症し、1か月齢までに8回の獣医師による治療を受けているが、抗コクシジウム剤の投与記録はなかった。9か月齢で管内の肥育農場に市場導入されたが、すでに発育不良であり、その後半年間下痢を呈していた。獣医師による治療は実施されず、畜主が生菌剤等の投与を行っていた。症状は改善せず、消瘦が顕著となったため予後不良と判断され、当家保で鑑定殺を行った。なお、同居牛に下痢などの以上は認められていない。

3 材料と方法

鑑定殺前に採血・採糞し一般血液検査及び生化学検査、寄生虫検査（飽和食塩浮遊法）に供した。安楽殺後常法に従い病理解剖を実施した。消化管を含む主要臓器を15%中性緩衝ホルマリン液で固定し、全身諸臓器のヘマトキシリン・エオジン（HE）染色標本作製、顕微鏡観察し、病変部連続切片のギムザ染色標本により核内コクシジウムの形態観察を行った。さらに、小腸病変部のホルマリン固定材料を用いた透過型電子顕微鏡による観察、小腸のパラフィン包埋材料を用い*Eimeria*属の18S small subunit ribosomal RNA遺伝子を標的としたPCR検査及び増幅部位1800bpのシーケンス解析による種の同定を実施した。また、腸間膜リンパ節を用いてペスチウイルス属共通5' UTR領域を標

検査成績1

【剖検所見】

体格小（8ヶ月齢程度）、被毛粗剛、腹部臓器貧血調、腸内容茶褐色泥状～水様腸間膜リンパ節 重度腫脹、盲腸粘膜 鞭虫軽度寄生・充血・軽度びらん胸腺確認できず、その他著変なし

【血液検査所見】

HCT 22.9%、TP 5.1g/dl、ALB 1.9g/dl
A/G 0.59、TCHO <50mg/dl、
GOT 152U/L

的としたRT-PCRを行った。

4 検査成績

血液検査では貧血・低栄養・慢性炎症等の所見が認められた。糞便検査ではコクシジウムオーシスト、鞭虫卵は検出されなかった。BVDVについてはPCRで陰性を確認した。

体格は8カ月齢程度と非常に小さく、栄養状態が悪く、腸内容は茶褐色泥状～水様であった〔図1〕。腸間膜リンパ節の重度の腫脹、盲腸粘膜に鞭虫が軽度寄生し、粘膜は充血や軽度のびらんを呈していた〔図2, 3〕。

検査成績2

【寄生虫学的検索】

飽和食塩浮遊法 糞便中にコクシジウムオーシスト、鞭虫卵は検出されず

【ウイルス学的検索】

血清からBVDV遺伝子は検出されず

【病理組織学的検索】

空腸粘膜上皮細胞核内のコクシジウム様構造多発、第一胃粘膜表層微小膿瘍多発及び固有層軽度気腫、大腸粘膜線虫類侵入



図1 症例の外貌

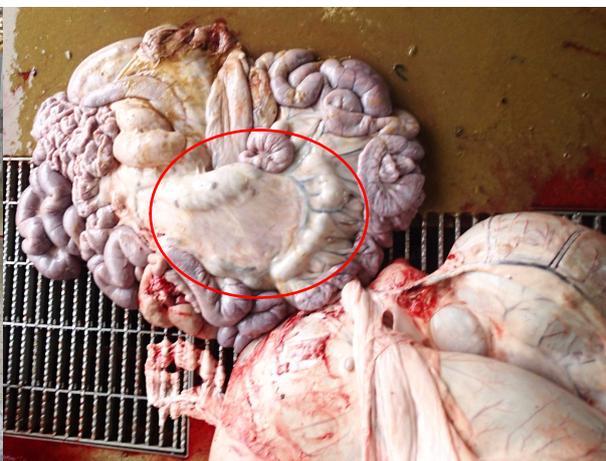


図2 腸間膜リンパ節の腫脹

病理組織写真を図4～7に示す。

空腸粘膜では、絨毛の萎縮と癒合が認められた〔図4〕。拡大すると、絨毛粘膜上皮細胞の腫大した核内に好酸性から両染色性の円形構造が多数認められた〔図5, 6〕。一部では細胞質内にも好酸性の構造物が見られた〔図5〕。これらは原虫のメロント、メロゾイトと思われた。オーシストは確認できなかったが、ギムザ染色標本でよく探すとまれにマクロガメートサイトやミクロガメートが認められた〔図7〕。電子顕微鏡による観察でも、上皮細胞の核内にメロントと思われる構造が認められた〔図8, 9〕。いずれも核内や細胞質内に直接寄生し、上皮細胞の崩壊や炎症は誘発していないように思われた。



図3 盲腸粘膜

病変部パラフィン包埋材料を用いた遺伝子解析により、病変部の寄生虫は*Eimeria*

subspherica (以下Esとする) と同定された。

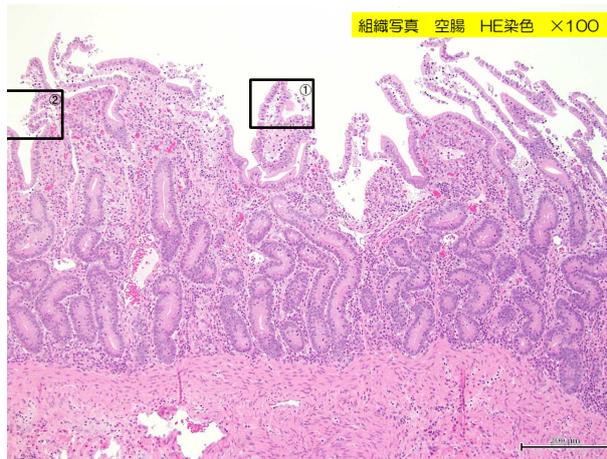


図4 空腸HE染色像 (中拡大)

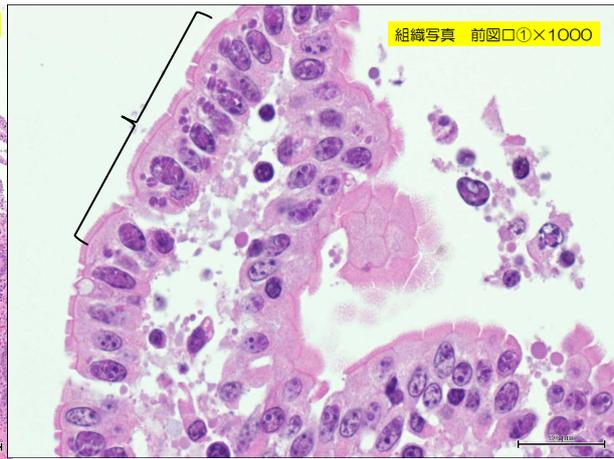


図5 図4□①部 (強拡大)



図6 図4□②部 (強拡大)

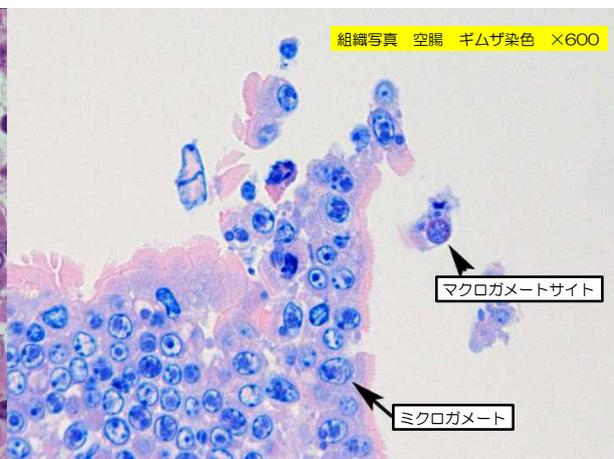


図7 空腸ギムザ染色像 (強拡大)

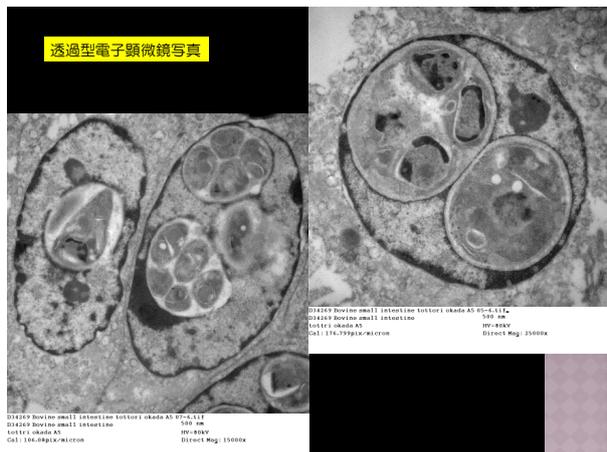


図8 電顕写真1



図9 電顕写真2

5 診断

本症例は、空腸粘膜上皮の核内に多数のコクシジウム寄生を認めたことと、鞭虫寄生以外に下痢の原因を示唆する所見が認められないこと、また、過去の核内コクシジウム症の報告例 [4-7] に発生状況・臨床症状・病理所見等が酷似していることから、核内コクシ

ジウムが下痢の発症に関与していることが示唆された。よって本症例を「牛の核内コクシジウム症」と診断した。

念のため、平成11年度以降の症例で、「慢性下痢」と記録があり病理組織検査が可能なものについて検索したが、核内コクシジウムは認められなかった。よってこれが鳥取県初の症例と考えられた。

6 考 察

牛に寄生するコクシジウムには13種類の*Eimeria*が知られ [8, 9]、病原性の強い *E. bovis* や *E. zuernii* が問題となっているが、Esについても以前から検出されており [10, 11]、オーシストは直径約10 μ mの類円形、淡黄色、マイクロパイルは無いとされる [7, 9]。病原性についてはあまり知られておらず、感染実験も行われているが軟便を起こす程度 [7, 11] で、病原性は低いまたは不明とされている [7, 9]。糞便中オーシストの調査では、複数の道県で1~11%の検出率で見つかっており [7, 10, 12]、全国的に浸潤しているものと思われる。

今回、慢性症例で核内寄生しているコクシジウムが確認され、病変部の遺伝子解析により、Esと同定された。病原性が不明かあまり高くないと考えられているEsが検出されたことは、長い経過の中でたまたまこの時日和見的に感染していたことを示しているとも考えられるが、全国的に同様の症例が確認されていることや、治療未実施にも関わらず少数の鞭虫の他に下痢の原因と思われる所見や病原体が認められなかったことは、この牛の病態に核内コクシジウムが関与していた可能性を示唆しているものと思われる。

下痢の発生には他の疾病と同様、牛、環境及び病原体それぞれの様々な要因が関与していると考えられる [図12]。最初の発症は単純な原因であっても、不適切な投薬による腸内フローラの攪乱や、栄養状態が低下することによって免疫状態が悪化し別の病原体に感染するなど、複合的な要因が絡み合い、慢性化することでさらに複雑化する。病性鑑定においては、感染ステージや宿主の免疫状態等により、必ずしも採材時に原因の病原体が検出されるわけではないし、未知のものや想定外のものについては検査自体をしないので、原因の特定には至らないことがある。また病理組織検査の場合は、消化管の死後変化の進行が非常に速いため、病変や病原体が確認できない場合がある。

このような慢性下痢における病性鑑定の難しさや、核内コクシジウムがあまり知られておらず、一般的なコクシジウムよりオーシストが小さいこと等のため、これまで見過ごされてきた可能性もあるように思われる。

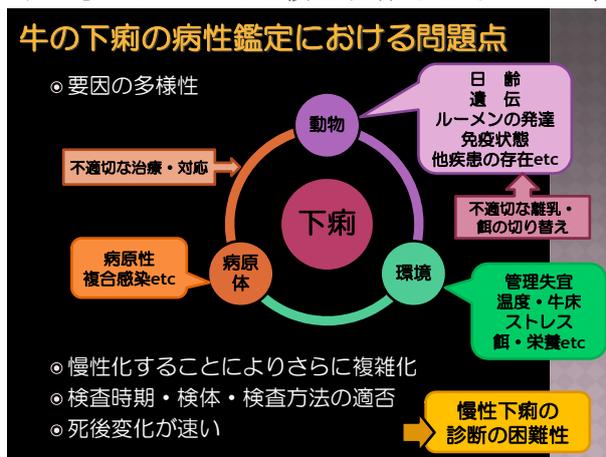


図12 下痢病性鑑定の問題点

7 まとめ

慢性下痢を呈した黒毛和種肥育牛の小腸に核内コクシジウムを確認し、遺伝子解析でEs

であることが判った。これは全国的に浸潤している、病原性が軽度または不明とされている種だが、これが核内に寄生することは、昨年度初めて報告された [7]。牛の核内コクシジウム症はよく知られていない稀な疾病であり、鳥取県では本症例が初めての報告である。

コクシジウムが核内に寄生して下痢を発症させる機序についてはまだ不明であり、今後症例の蓄積とその解明が期待される。また、慢性下痢や発育不良牛の病性鑑定では、本症についても考慮に入れて検査を進めるべきと思われる。

8 謝 辞

本症例の病性鑑定及び発表に際し、詳細な検索と貴重なご助言をいただいた下記の諸先生方に深謝します。

- ・ 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構農研機構 動物衛生研究部門
北海道研究拠点 門田 耕一 先生
- ・ 同 動物衛生研究部門 芝原 友幸 先生
- ・ 公立大学法人 大阪府立大学大学院 松林 誠 先生
- ・ 鹿児島県農政部畜産課 是枝 輝紀 先生
- ・ 福島県中家畜保健衛生所 今井 直人 先生

9 参考文献

1. Davis L. R. et al, Am. J. Vet. Res. 4, 274-281, 1955
2. Davis L. R. et al, J. Protozool. 4, 219-225, 1957
3. Nishida T. et al, J. Vet. Med. Sci. 71(8), 1109-1113, 2009
4. 瀧澤勝敏, 家畜衛生研修会(病性鑑定病理部門)提出事例参考資料, (独)農研機構動物衛生研究所・農水省 消費・安全局動物衛生課, 2010
5. Yamada M. et al, J. Vet. Diagn. Invest. Vol. 26(5), 678-682, 2014
6. 山田美那子他, 臨床獣医 Vol. 33, No. 2, 40-43, 2015
7. 是枝輝紀他, 平成27年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会 産業動物地区学会長賞受賞講演抄録, 18, 2016
8. 平 健介他, 家畜診療54巻9号, 515-521, 2007
9. 平 健介他, 臨床獣医 Vol. 34, No. 8, 16-21, 2016
10. Oda K. et al, J. Vet. Med. Sci. 52(1), 71-77, 1990
11. Oda K. et al, J. Vet. Med. Sci. 53(4), 615-619, 1991
12. 平健介他, 家畜診療54巻9号, 477-481, 2007