

11. 黒毛和種子牛に認められた*Cyclospora* sp. による 核内コクシジウム症

大分家畜保健衛生所

○病鑑 山田美那子

牛のコクシジウム病は、*Eimeria zuernii*や*E. bovis*などの寄生による血便を主徴とする感染症である。今回4頭の黒毛和種子牛が長期間の水様性下痢や重度削瘦、発育不良を呈したため、予後不良と判断され病性鑑定を行ったところ空腸粘膜上皮細胞の核内にコクシジウムの寄生を認め、核内コクシジウム症と診断したので、その概要について報告する。

一般的にコクシジウムは、細胞質内で生活環を営むが、核内で生活環を営むコクシジウムとして、*Eimeria*属、*Isospora*属、*Cyclospora*属の約20種類が報告されている。核内コクシジウムは、魚類、は虫類、両生類などでは、一般的に観察され、非病原性あるいは低病原性とされているが、カメでは死亡例の報告がある。ヒトを除く哺乳類では、モグラで*Cyclospora talpae*、*C. caryolytica*の2種類と、牛で*Eimeria alabamensis*（以下、Ea）の計3種類が報告されており、国内の畜産領域では、2009年に「我が国で初めて発生した黒毛和種育成牛の*Eimeria alabamensis* による核内コクシジウム症の一症例」として北海道胆振家畜保健衛生所の西田らによる報告がある。

1. 発生概要

(1) 症例1

発生農場は、肉用牛繁殖農家、母牛12頭を飼養。

2010年2月20日生まれの黒毛和種子牛、雌が9月10日頃より食欲不振、水様性下痢が見られるようになったため治療を行ったが改善が見られず、発育不良と重度の削瘦のため予後不良と判断され、10月6日に鑑定殺を実施。病理解剖では、主要臓器・胃・小腸に著変は認められなかった。結腸・盲腸・直腸内に水様性の内容物が見られた。糞便検査ではコクシジウムオーシストは検出されず、乳頭糞線虫卵が300EPG検出された。



糞便検査ではコクシジウムオーシストは検出されず、乳頭糞線虫卵が300EPG検出された。

(2) 症例2および症例3

発生農場は同じ肉用牛繁殖農家、母牛32頭を飼養。

症例2は、2010年5月27日生まれの黒毛和種子牛、去勢が重度の発育不良および削瘦のため予後不良と判断され12月20日に鑑定殺を実施。病理解剖では、主要臓器および腸管に著変は認められなかった。糞便検査は実施せず。

症例3は、2010年5月29日生まれの黒毛和種子牛、去勢が9月上旬から水様性下痢、食欲不振を呈して発育不良になり、2011年1月20日に起立不能となったため鑑定殺を実施。病理解剖では腎臓皮質の退色、副腎の脆弱化、心臓心室壁のひ薄化、胸腺の重度萎縮が見られた。糞便検査でコクシジウムオーシストは検出されず、乳頭糞線虫卵が5800EPG検出された。

(3) 症例4

発生農場は、肉用牛繁殖農家、母牛4頭を飼養。

2010年10月2日生まれの黒毛和種子牛、雌が2011年年2月に白痢のため治療、4月下旬、肺炎・コクシジウム症にて治療を行ったが5月10日から再発、肺炎、水様性下痢排出が認められ、その後、症状は好転せず予後不良と判断し、7月26日に鑑定殺を実施。病理解剖では心臓は肥大し、肺前葉を中心に赤色斑が見られた。腸管膜リンパ節の一部に膿瘍が観察された。糞便検査でコクシジウムオーシストは検出されず。



2. 材料および方法

病理学的検査では、主要臓器、空腸、回腸、結腸を用い10%中性緩衝ホルマリン液にて固定し、常法に従いパラフィン切片を作製しヘマトキシリン・エオジン染色(HE染色)、空腸にはギムザ染色を実施。

遺伝子解析(PCR)では、動物衛生研究所にて、西田らの方法により、パラフィン切片からDNAを抽出し、コクシジウムの18S小サブユニットリボゾームRNA領域に特異的なプライマーを設定し、得られた増幅産物を用いダイレクトシーケンスを実施し、種の同定を行った。細菌学的検査、ウイルス学的検査は未実施。

3. 成績

症例1~4に共通して粘膜上皮の剥離・脱落、陰窩の過形成、分枝状をした陰窩が観察された(図1)。また、杯細胞の減少や陰窩上皮細胞重層化、核分裂像も散見されました。一部絨毛の軽度な萎縮が見られた部位もあった。症例3では、絨毛の萎縮が非常に重度であった。粘膜上皮や脱落した上皮では、核内に好塩基性の核内封入体様物が多数観察された。マクロガメートサイトやマイクロガメートサイト(図2、3)が観察されたことからコクシジウムと判断。核内コクシジウムは、空腸か

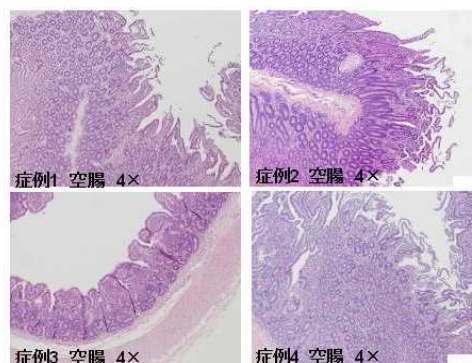


図1(HE染色)

ら回腸にかけて認められ、結腸には認められなかった。電子顕微鏡検査の結果、核内にメロントやメロゾイトの寄生が観察されたが核や細胞質の崩壊は認められなかった(図4,5)。

PCRの結果、症例1についてのみ*Cyclospora sp.*に99%相同性を持つ遺伝子が検出(図6)。

4. まとめおよび考察

2009年の西田らにより報告された症例と本症例のミクロガメートサイトの大きさやミクロガメート数が異なることから、*Eimeria alabamensis*とは異なる種であると判断(図7)。症例2、3、4のPCRでは、腸内容の細菌や真菌などの影響でシーケンスによる同定は出来なかったが、全症例のマクロガメートサイトとミクロガメートサイトを比較した結果、形態学的に同一と判断した。以上の結果から本症例を「*Cyclospora sp.*による核内コキシジウム症」と診断した。

これまで国内で家畜の本疾病報告例はなく、今後、早期診断や治療のため長期水様性下痢や発育不良を示す症例の検討を重ね、本疾病の特徴を明らかにする必要がある。

最後に、病理学的検査、遺伝子解析に多くのご指導、ご助言を頂きました動物衛生研究所北海道支所、門田耕一先生、畠間真一先生、電子顕微鏡検査を実施してくださいました元動物衛生研究所 久保正法先生に深謝いたします。

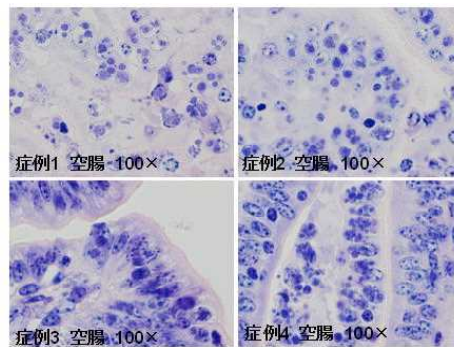


図2(ギムザ染色)

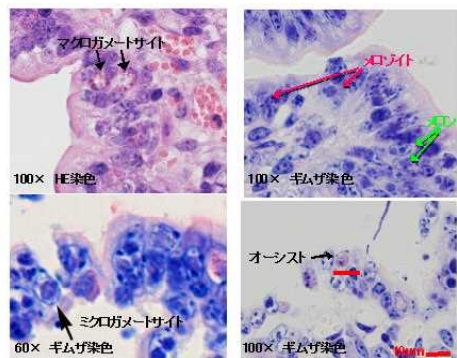


図3(症例3)

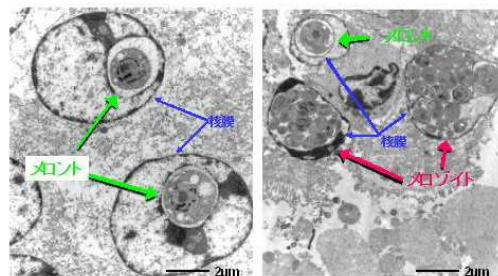


図4

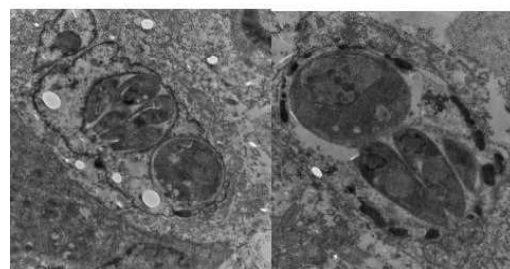


図5

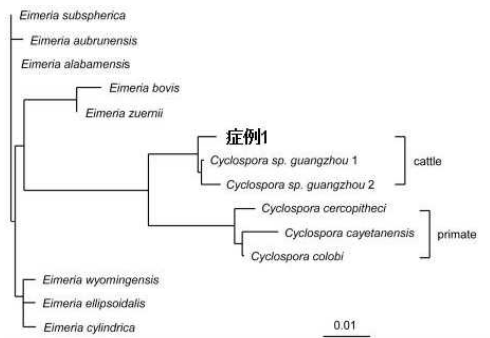


図6

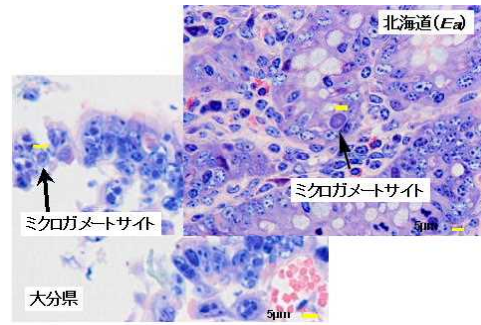


図7

Davis LR et al. J. Protozool. 4, 219-225, 1957

Guoqing Li et al. Molecular characterization of *Cyclospora*-like organism from dairy cattle. Parasitol Res. 100, 955-961, 2007

Tomoko NISHIDA et al. Intranuclear Coccidiosis in Calf. J. Vet. Med. Sci. 7, 1109-1113, 2009

吉田幸雄、図説 人体寄生虫学、改訂8版、54-55、南山堂、2011