

管内の牛飼養農家におけるクリプトスポリジウム保有調査

東部家畜保健衛生所

○森田えり・矢野敦史・笹田裕司・宮井俊二・井上英幸

はじめに

クリプトスポリジウムは孢子虫類のコクシジウム目に属する原虫で、人以外にも牛、豚、鶏、犬、猫、ネズミ等の哺乳動物に寄生する人獣共通の寄生虫である。人においては国内外を問わず水道水を介した集団感染が起きており、近年公衆衛生上注目されているが、畜産現場においても子牛の下痢症の原因となり、その有効な治療法もないことから重要な寄生虫病のひとつである。

牛についての全国調査の結果では、1.6～2.7（平均2.1）%の割合で検出されている。¹⁾ また、本県の食肉衛生検査所が2005年に実施した調査結果では1.5%であった²⁾が、畜産農家における調査報告はなかった。

このため、今回、管内の牛飼養農家を対象にクリプトスポリジウムの保有調査を実施した。

材料および方法

(1) 材料

平成18年9月から12月にかけて、管内の乳用牛飼養農家8戸と肉用牛飼養農家3戸の計11戸で、乳用種35頭、交雑種42頭、肉用種5頭の合計82検体のふん便を用いた。

(2) 検査方法

クリプトスポリジウムのオーシストの検出については、抗酸染色および直接蛍光抗体染色により行った。

ふん便1gから遠心沈殿法（変法）で濃縮・精製し、沈渣を回収した。

得られた沈渣をスライドガラス上に塗抹し、Kinyounの石炭酸フクシン染色法で染色、観察を行った。

オーシストの存在が疑われるものについては、濃縮・精製した沈渣を試料として直接蛍光抗体染色（BiotechnologyFrontier社製EasyStain）を行い、蛍光顕微鏡で観察した。

結果

種別、年齢別にクリプトスポリジウムの検出率をみてみたが、いずれもクリプトスポリジウムのオーシストは検出されなかった。（表1）

表1 結果(種別・年齢別)

種別	年齢	検体数	陽性数
乳用種	1ヶ月齢未満	3	0
	1ヶ月齢～1歳	12	0
	1歳以上	20	0
交雑種	1ヶ月齢未満	11	0
	1ヶ月齢～1歳	31	0
	1歳以上	—	—
肉用種	1ヶ月齢未満	1	0
	1ヶ月齢～1歳	4	0
	1歳以上	—	—
合計		82	0

また、ふん便の性状別にクリプトスポリジウムの検出率をみてみたが、いずれもクリプトスポリジウムのオーシストは検出されなかった。(表2)

表2 結果(ふん便の性状別)

性状		検体数	陽性数
正常		38	0
下痢	水様性	6	0
	泥状	16	0
	軟便	20	0
	粘液性	2	0
	計	44	0

考察およびまとめ

クリプトスポリジウムの主な種類には、小型のCryptosporidium parvumと、大型のCryptosporidium murisがあり、C. parvumは牛では1ヶ月齢以下が多く感染し、成牛で検出されるのはC. murisが大半を占める³⁾。今回、種別、年齢別に調査したが、クリプトスポリジウムはいずれの種類も検出されなかった。

しかし、全国平均の検出率が2.7%である¹⁾ことや、2005年に香川県食肉衛生検査所がと畜場に搬入された肥育牛200頭を調査した結果では、検出率は1.5%であった²⁾ため、今後

もクリプトスポリジウム保有状況調査を継続して行い、その動向をモニタリングすることが重要であると思われる。

また、クリプトスポリジウムのオーシストは4~5 μ mと非常に小さく、通常、内部構造を観察するためには電子顕微鏡や微分干渉位相差顕微鏡が用いられているが、当家保では電子顕微鏡や微分干渉位相差顕微鏡を所有していないため、今回、オーシストを検出するにあたり、国立感染症研究所が作成したマニュアル⁴⁾を参考に、数種類の検査方法を試したところ、Kinyounの石炭酸フクシン染色では、オーシストが非常に小さく、酵母や花粉などもオーシストと同様に赤く染まるため、1000倍以上の倍率でなければ内部構造の観察が難しく、識別が困難であった。また、直接蛍光抗体染色（BiotechnologyFrontier社製 EasyStain）では、夾雑物が多いと蛍光を発するものが多くなり観察しづらく、キットも10検体用が定価49,000円と、非常に高価であった。その他、シヨ糖浮遊法による観察も行ったが、オーシストが確認できるのはカバーガラス直下の限られた深度で、オーシストの淡紅色が保持される時間も短いため、かなり熟練された術者で無ければ判断が難しいと思われた。このため、今後さらに簡便で精度の良い検査方法の開発が望まれる。

さらに、クリプトスポリジウムの感受性動物は人や、牛・豚などの家畜の他、犬、猫、ネズミ等、多くの哺乳類や鳥類、爬虫類でも感染が報告されている。さらに、有効な治療法はなく、ほとんどの消毒薬に抵抗性を示すが、加熱処理には弱いという特徴があるが、今回調査した農家では、コクシジウムについては理解していたものの、クリプトスポリジウムについてはこういった特徴はもとより、名前すら聞いたことがない農家がほとんどであったことから、今後、飼養者に感染しないよう、下痢便の取り扱いに注意することや、ふん便の適切な堆肥化処理について指導していくこと、さらには、オーシストが検出された農家については、牛舎で飼われている犬、猫等についても調査していく必要があると思われた。

[引用文献]

- 1) 農林水産省畜産局衛生課；クリプトスポリジウムに係る調査について、家畜衛生週報、No. 2480（1997）
- 2) 多田麻智子他；と畜場に搬入された牛の *Cryptosporidium* の汚染状況、香川県食肉衛生検査所事業概要（2005）
- 3) 社団法人全国家畜畜産物衛生指導協会パンフレット；クリプトスポリジウム
- 4) 国立感染症研究所；病原体検出マニュアル