

家畜におけるジアルジアおよびクリプトスポリジウムの保有状況

豊橋市食肉衛生検査所 ○陣内俊 ○後藤弘樹
細井美博 齋藤富士雄

はじめに

Giardia (Gi) および *Cryptosporidium* (Cr) は、塩素耐性を有し、水系感染の原因となる。近年、国内外でこれらの原虫による集団感染例が報告され、公衆衛生上問題となっている。我が国の河川における環境水中の調査では、しばしばこれら原虫が検出され、家畜の糞便が河川水の汚染原因のひとつと考えられている。そこで今回、GiとCrの家畜における保有状況を調査するため、(株)東三河食肉流通センターに搬入された牛、豚、馬、山羊の糞便についてGiシストおよびCrオーシストの検索を行ったので報告する。

材料および方法

平成15年6月～12月に(株)東三河食肉流通センターに搬入された豚251頭〔6ヵ月齢の豚207頭、3ヵ月齢の豚29頭、1歳以上の繁殖豚15頭〕、牛183頭〔1歳以上の肥育牛150頭(ホルスタイン種、黒毛和種、交雑種各50頭)、1歳未満の子牛18頭、経産牛15頭〕、馬1頭、山羊3頭〔全て12ヵ月齢以下〕の糞便を検体とした。

遠心沈殿法で濃縮後、シヨ糖浮遊法で精製した材料に直接蛍光抗体染色を行い、検出を試みた。糞便1gにホルマリンと酢酸エチルを加えて攪拌し、FPCキット(EVERGREEN社)でろ過後、1,100G、10分間遠心し得られた沈渣を2mlのPBSで希釈した。次に比重1.2のシヨ糖水に得られた沈渣浮遊液を重層し、1,100G、10分間遠心後、比重の異なる二つの液相の界面付近約1mlを回収した。この浮遊液に滅菌蒸留水を加えて1,100G、10分間遠心し、アスピレーターで上清を吸引し、約1mlの沈渣を得た。この操作を3回繰り返し精製した。3回目は、約200 μ lの沈渣を得るまで上清を吸い取った。この沈渣をスライドグラスに100 μ l塗布し乾燥させた後、1%牛血清および10%山羊血清(牛血清:PBS=1:99、ヤギ血清:PBS=1:9)80 μ lを滴下し室温で10～15分反応させた。次に抗体試薬(ペリタス社AquaGloG/Cdirect)80 μ lを滴下、遮光し37℃で60分間反応させた。(直接蛍光抗体染色)。さらにDAPI染色液(DAPI/PBS=2 μ g/ml SIGMA社)80 μ lを滴下、遮光し室温で10～15分間反応させた。PBSで3回洗浄後、乾燥させてから水性封入剤で封入し、落射蛍光顕微鏡で形態、大きさを観察した。陽性検体については、愛知県衛生研究所毒性部毒性病理科において確認検査(微分干渉法)をお願いした。

成績

豚では、3ヵ月齢の豚29頭中2頭からGiシスト(楕円形、7.5～8 \times 10 μ m)が、3頭

から *Cr.parvum* (C.p) オーシスト (類円形、直径 4~5 μ m) が検出された。(表1)

牛では子牛 18 頭中それぞれ 1 頭から Gi シストが、1 頭から *C.muris* (C.m) オーシスト (楕円形、5 μ m \times 7~8 μ m) が、1 頭から *Cr.parvum* オーシストが、肥育牛 150 頭中 10 頭から C.m オーシストが検出された。肥育牛のうち、品種別の保有率は、ホルスタイン種 50 頭中 6 頭、黒毛和種 50 頭中 4 頭、交雑種では未検出であった。(表2)

なお、馬および山羊からは Gi シスト、Cr オーシストのいずれも検出されなかった。

(表1) 豚GiシストおよびCrオーシストの保有状況

	検査頭数	保有頭数 (%)		
		Gi	Cr	
			C.p	C.m
6ヶ月齢の豚	207	0	0	0
3ヶ月齢の豚	29	2 (6.9)	3 (10.3)	0
繁殖豚	15	0	0	0
計	251	2 (0.8)	3 (1.2)	0

(表2) 牛のGiシストおよびCrオーシストの保有状況

	検査頭数	保有頭数 (%)		
		Gi	Cr	
			C.p	C.m
1歳未満の子牛	18	1 (5.6)	1 (5.6)	1 (5.6)
経産牛	15	0	0	0
肥育牛	ホルスタイン	50	0	6 (12.0)
	和牛	50	0	4 (8.0)
	交雑種	50	0	0
計	183	1 (0.5)	1 (0.5)	11 (6.0)

まとめ及び考察

Gi シストは、新生子牛の下痢症を起こす原因として広く知られている。また幼弱豚の下痢症の原因となるという報告もある[1]。今回、Gi シストの保有が確認されたのは全て若齢豚および子牛であり、若齢家畜に保有頻度が高い傾向があると考えられた。なお、今回ヤギ糞便から Gi シストは検出されなかったが、2002年に愛知県衛生研究所が行った調査によると、34 頭中 21 頭 (61.8%) のヤギで糞便から Gi シストが検出されている[2]。これらのことから、牛、豚、ヤギ等の家畜はある頻度で Gi シストを保有していると考えられる。河川水の汚染との関連性については今後の調査が待たれるが、Gi シストには宿主特異性を示さないものもあると報告されており、ヒトへの感染の可能性も否定できないため、公衆衛生上、家畜由来の Gi について引き続き調査の意義が高いと考えられた。

また 1997 年から 1998 年にかけて愛知県食肉衛生検査所が行った調査では、同と畜場における Cr オーシストの保有率は、C.p については 3 ヶ月齢の豚で 29 頭中 8 頭 (27.5%)、3 ヶ月未満の子牛で 47 頭中 9 頭 (19.1%) であった。また C.m については 3 ヶ月以上 1 歳未満の子牛で 76 頭中 1 頭 (1.3%)、成牛 2165 頭中 76 頭 (3.5%) であった[3]。検査頭数、

検査法共に異なるため、一概に比較は難しいが、今回の調査と共通する傾向として、牛、豚ともに人に病原性を有する C.p は若齢の個体から、C.m は成牛を中心に検出されていた。

今後も調査を続け、詳細な保有状況とその動向を把握し、畜主および家畜保健衛生所に情報を還元することで、汚染防止対策の一助としていきたい。最後に、検査方法のご指導、確認検査に多大な協力をいただいた、愛知県衛生研究所毒性部の皆様に深謝いたします。

引用文献

- [1] Koudela B, Nohynkova E, Vitovec J, Pakandl M, Kulda J. Giardia infection in pigs: detection and in vitro isolation of trophozoites of the Giardia intestinalis group. Parasitology. 1991 Apr; 102 Pt 2: 163-6.
- [2] 都築秀明ら：原虫ジアルジアの河川水及びヤギからの検出状況
- [3] 2003 愛知県食肉衛生検査所：各種動物から検出されたクリプトスポリジウム 学会年次大会 1999 426-427