

食用に供される牛、豚における 住肉胞子虫類の感染状況と診断技術の開発

小 俣 吉 孝

獣医学科家畜生理学講座

1. 目 的

住肉胞子虫類は、主に哺乳動物の筋肉中に嚢子を形成する事によって、宿主の防御反応から回避出来、長期間生存し得る寄生原虫である。終宿主である肉食動物が嚢子を摂取すると、その腸管内で有性生殖を行い、糞便中に oocyst となって排泄される。終宿主では一般に免疫が成立せず、従って再感染をくりかえし、その度に oocyst の再排泄をくりかえす。中には、中間宿主として牛、豚、羊等の家畜に感染し、筋肉組織内に長期間寄生する一方、栄養障害、心筋炎等を起こす症例も報告されており、また、ヒトに感染し、食中毒様症状を呈する種も存在する事が知られている。

近年、食肉需要の増加に伴い、海外から輸入される食肉の数量も増加し、住肉胞子虫類に関する関心も高まっている。特に、終宿主（犬、狐、ネコなど）が糞便中に排泄する oocyst による飼育環境への汚染は同感染症の蔓延を招来する事も懸念される。

本研究は、道東地域における食用に供される牛ならびに豚の住肉胞子虫類の感染状況を調査し、その感染源について考察を行い、予防対策の一助とする事を目的とし、加えて、診断技術の改善を図る目的で、虫体の有する特異抗原性について免疫学的手法を用いて比較検討を試みた。

2. 方 法

食用に供される牛ならびに豚における住肉胞子虫類の感染状況の調査

平成5年4月より9月までの期間に帯広市内の屠場に搬入された牛のうち、同地域で繁殖肥育された個体（以下、廃用群）、および輸入後、肥育成された個体（輸入群）、ならびに輸入され検査終了直後の個体（屠場直行群）を検査対象とした。これらの各個体の心臓中隔より心筋を一部採取し、圧搾組織標本を作成し、顕微鏡下にて各検体中の住肉胞子虫体の寄生の有無を検索した。検出された虫体の形態学的観察、特に嚢子壁の特徴により虫体を同定した。必要に応じ、虫体の種の同定、ならびに終宿主の確認を行うべく、実験感染を試みた。虫体が検出された心筋材料のうち約20gをビーグル犬に実験的に経口投与し、投与後60日目まで連日同犬の糞便を採取し、33%硫酸亜鉛液を用いた浮遊法により糞便中の oocyst の排泄の有無について観察を行った。

同屠場に搬入された豚のうち、3年以上繁殖飼育されていた廃用豚（種豚）、ならびに1～2年間肥育された養育豚（養育豚）についても、横隔膜筋の一部を採取し、上記と同様に各検体中の住肉胞子虫体の寄生の有無について顕微鏡検索を行った。

診断技術の開発の試み

血清中の抗住肉胞子虫抗体価の測定を試みるため、屠場直行群のうち、一部の検体心残血より血

清を採取した。囊子が検出された心筋材料をトリプシンを用いてホモゲネイトにし、パーコールによる密度勾配遠心法にて囊子の分離を行った。得られた囊子および虫体をパラフォルムアルデヒドにて固定処理し、虫体抗原とした。同抗原を用いて間接蛍光抗体法により被検血清中の抗住肉胞子虫抗体価の測定を試みた。

3. 結 果

牛における住肉胞子虫類の感染状況

牛における住肉胞子虫類の感染状況は、廃用牛では、83頭中、13例(15.7%)に囊子が検出された。輸入群では、91頭中、44例(48.4%)に、屠場直行群では94頭中、48例(51.1%)に囊子が検出された。検出された囊子はいずれも紡錘形で、囊子壁は1 μ 以下であった(図1)。囊子が検出された心筋材料を経口投与されたビーグル犬では接種後12日目より oocyst の排泄が認められた(図

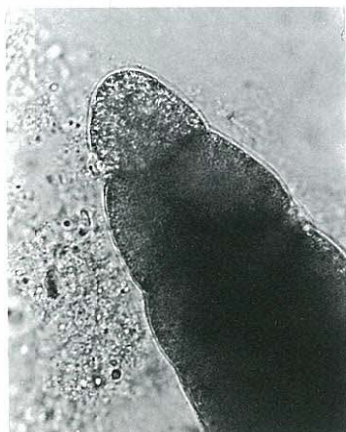


図1. 牛心筋中に検出された住肉胞子虫類の囊子
100倍



図2. 囊子含有心筋材料を経口投与後、ビーグル犬の糞便中に検出された sporocyst. oocyst は既に崩壊してしまっている 400倍

2)。排泄された1日当たりの oocyst 数は極めて少なく、血球計算板による計測は不可能であった。以上の事から、今回の調査で検出された主な住肉胞子虫類は、犬を終宿主とする *Sarcocystis cruzi* と同定された。

豚における住肉胞子虫類の感染状況

豚における住肉胞子虫類の感染状況は、種豚では104頭中、17例(16.5%)に囊子が観察された。一方、養育豚では40頭中全例とも、囊子は検出されなかった。検出された囊子はいずれも囊子壁が1 μ 以下であり、検出された住肉胞子虫類の形態学的特徴は犬を終宿主とする *Sarcocystis miescheriana* と類似していた。(図3)

牛、豚ともにヒトを終宿主とする種類の住肉胞子虫類の感染は検出されなかった。

間接蛍光抗体法による血清中抗体価の測定

住肉胞子虫類の囊子が検出された46例のうち、抗体価が256倍以上の例は約19%、64倍の例が28.2%、16倍の例が43.4%、16倍以下の例が8.6%であった。一方、囊子の検出されなかった43

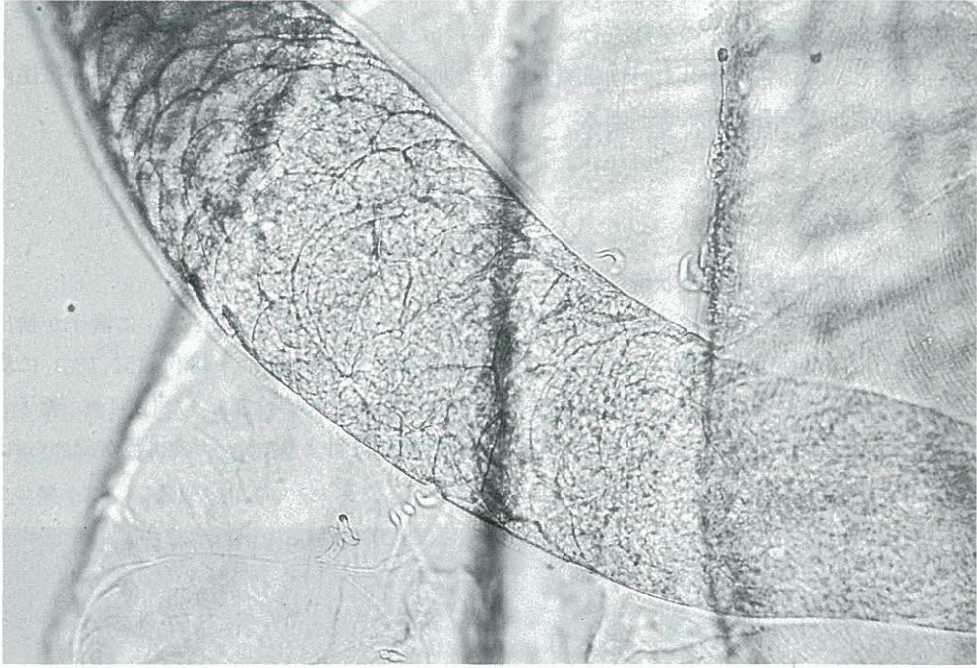


図3. 豚横隔膜中に検出された住肉胞子虫類の嚢子 200倍

のうち、抗体価が256倍以上の例は約9.3%，64倍の例が44.1%，16倍の例が39.5%，16倍以下の例が6.9%であった。以上のように、嚢子が検出された例と、嚢子の検出されなかった例との抗体価の分布には明瞭な差異は認められなかった。

4. 考 察

牛、豚など中間宿主での住肉胞子虫類の感染は、主として oocyst に汚染された食物等の摂取によるとされている。そのため、感染率は oocyst との接触頻度に依存していると考えられる。今回の調査から、輸入牛の住肉胞子虫類の感染率は、帯広近郊で繁殖飼育されていた廃用牛と比較するとかなり高い事が示唆された。輸入後、肥育された牛においても同様に高い感染率であった事から、輸入牛における住肉胞子虫類の感染は、輸入される以前の、おそらく幼若令の時期に罹患したものであろうと推察された。

他の地域での住肉胞子虫類の感染率は、京都では38~80%，岩手では46~95%，新潟では約68%と報告されている。これらの報告で実施された検出方法は今回の検出方法とは異なるため、一概に結果を比較する事は出来ないが、帯広近郊で繁殖飼育された廃用牛における住肉胞子虫類の感染率は他の地域に比べ低い事が示唆された。

Savini らはオーストラリアの乾燥地域で飼育された牛群と同国の湿潤地域で飼育された牛群とを比較し、乾燥地域で飼育された牛群の方が住肉胞子虫類の感染率が低かった事から、oocyst による感染に乾燥、温度と言った環境の及ぼす影響を推察している。北海道、特に道東地域における冬期

間の牧野の環境下では、oocystの感染力が低下する可能性も考えられる事から、同地域での住肉孢子虫類の感染率が低かった理由として、外的環境の影響による可能性が推察された。

豚での住肉孢子虫類の感染は、種豚に限局していた。現在、大半の養育豚は外部と隔離された環境で飼育されており、結果的に感染の防御に役だっていると考えられる。加えて、近年、人糞を肥料として牧野に散布しなくなった事も、ヒトを終宿主とする住肉孢子虫類の感染が極めて少ない理由の一つに挙げられよう。

虫体の抗原特異性を検討すべく、間接蛍光抗体法による血清中抗体価の測定を試みた。トキソプラズマ症等、他の寄生原虫罹患動物における血清中抗体価測定時において、固定処理虫体を虫体抗原として用いた間接蛍光抗体法では、感染群と未感染群との間で明瞭な反応性の差異がみいだされている。今回の研究では、感染群と未感染群との間に明瞭な反応性の差異は認められなかった。その原因は現在のところ不明であるが、トキソプラズマ虫体では、細胞内で活発に分裂増殖を行う栄養型虫体 (tachyzoite) と、比較的緩慢な増殖を示し嚢子を形成する虫体 (bradyzoite) が存在し、両者間に抗原性の差異が認められている。また、oocyst内のsporozoiteもそれらとは異なる抗原性を有している事が知られている。住肉孢子虫体においても、経口感染後、腸壁から侵入する過程(虫体はsporozoite)、その後、血管内皮細胞内で分裂増殖後、筋肉組織に移行していく過程(虫体はshizont, merozoite)、嚢子を形成しながら、分裂増殖する過程(虫体はmerozoite, bradyzoite)で虫体は形態学的変化を生じる事が知られており、トキソプラズマ虫体同様、抗原性の変化も起こり得る事が十分に考えられる。今後、血清反応の特異性を高めるための改善策の一つとして、住肉孢子虫類の生活環各過程における特異抗原物質を分離精製する必要があると思われ、目下、検討中である。