

ブタのアメーバ原虫 *Entamoeba polecki* subtype 3 が関与する潰瘍性大腸炎の発生とアメーバ原虫の回顧調査

中央家畜保健衛生所 こまつてつや 小松徹也

【はじめに】

感染症による豚の下痢は、細菌、ウイルス、寄生虫、原虫などがあげられ、その原因は様々である。豚の原虫に起因する下痢症では、コクシジウム症、バランチジウム症などが代表的であるが、アメーバ原虫が原因であるものも、わずかながら報告されている⁷⁾。

豚に寄生するアメーバ原虫は *Entamoeba histolytica*、*Entamoeba suis* (*E. suis*)、*Entamoeba polecki* (*E. polecki*) の3種類報告されており、一般的に形態学的に分類されてきたが⁴⁾、一部のアメーバ原虫は遺伝子検査による分類が可能になり^{1),9)}、近年、消化器病変への関与が注目されている^{5),7),10)}。

今回、本県において初めて *E. polecki* subtype 3 (*E. polecki* ST3) が関与した豚の大腸炎事例が発生したため、概要を報告する⁶⁾。また県内におけるアメーバ原虫の浸潤状況を把握するため、過去の病性鑑定事例について、アメーバ原虫の寄生状況を回顧調査したのであわせて報告する³⁾。

【発生状況】

平成26年10月初旬、母豚90頭規模の一貫経営農場で、離乳豚舎にて暗赤色を呈する下痢及び呼吸器症状が見られた。エンロフロキサシン製剤で約2週間治療したものの改善せず、発育にばらつきが出るため、病性鑑定を実施した。

【材料及び方法】

- (1) 病理解剖：LWD、60日齢の豚3頭を鑑定殺し、肉眼病変の確認及び主要臓器を採材を実施した。
- (2) 細菌学的検査：主要臓器を用いた細菌分離検査、回腸粘膜及び糞便を用いた *Lawsonia intracellularis* (*L. i*) の遺伝子検査を行った。
- (3) ウイルス学的検査：肺及び血清を用いた豚繁殖呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV)、豚サーコウイルス2型、小腸を用いた豚伝染性胃腸炎ウイルス、豚流行性下痢ウイルス、ロタウイルスの遺伝子検査をそれぞれ実施した。
- (4) 病理組織学的検査：採材した主要臓器を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施した。消化管についてはワーティン・スターリー (WS) 染色及びPAS染色を実施した。
- (5) 動物衛生研究所への依頼検査 (依頼検査)：結腸及び盲腸について抗 *L. i* マウスモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的染色 (免染) を実施した。またパラフィン切片及びホルマリン固定材料を用いて、アメーバ原虫の遺伝子検査、シークエンス解析及び透過型電子顕微鏡検査を実施した。
- (6) 回顧調査：平成23年4月から27年10月までに下痢又は発育不良で病性鑑定を実施した51農家194頭の十二指腸から直腸について、鏡検によりアメーバ原虫の有無を調査した。

【結果】

- (1) 病理解剖所見：3頭に共通して、回腸の軽度肥厚や腸間膜リンパ節の腫脹が見られた。
- (2) 細菌学的検査：主要臓器から有意な菌は分離されなかったが、回腸粘膜及び糞便から *L. i* の遺伝子が検出された。
- (3) ウイルス学的検査：肺及び血清から PRRSV のウイルスが検出されたが、その他の病原ウイルスの遺伝子は検出されなかった。
- (4) 病理組織学的検査：3頭に共通して盲腸又は結腸に線維素の析出を伴うびらん又は潰瘍が観察された。そのうち2頭については、病変部及び粘膜固有層に直径 10～14 μm 、不整円形、細胞質に空胞のあるアメーバ原虫が多数観察され（図 1）、PAS 染色で細胞質が弱陽性から強陽性を示した。また腸陰窩の一部について、トリコモナスの寄生が観察され（図 2）、さらに腸陰窩上皮の軽度な増勢が見られた（図 2）。一方、細菌学的検査では回腸粘膜などから *L. i* の遺伝子が検出されたものの、WS 染色で *L. i* を疑うようなコンマ状の菌体は確認されなかった。

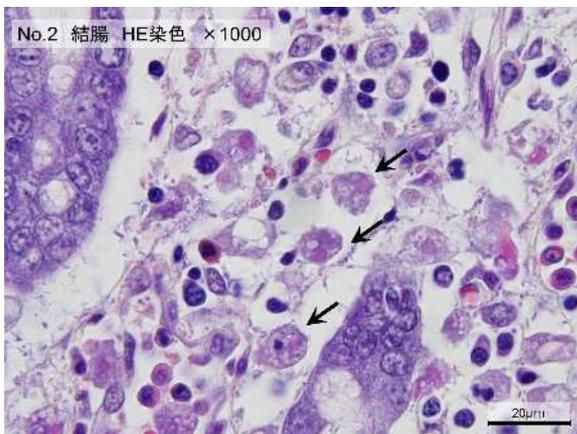


図 1

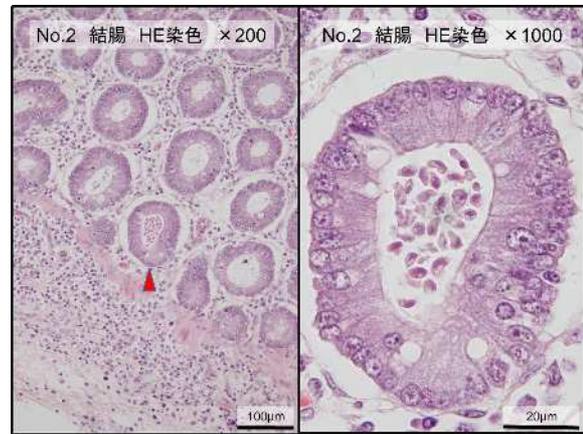


図 2

- (5) 依頼検査：免染では肥厚した腸陰窩上皮細胞内に抗 *L. i* 抗体に対する陽性反応は観察されなかった。遺伝子解析の結果、病変部に確認されたアメーバ原虫は *E. polecki* ST3 と同定された。透過型電子顕微鏡検査では、アメーバ原虫には一つの核と、細胞質内に多数の空胞が認められ、ミトコンドリア様の構造物は確認されなかった。
- (6) 回顧調査：図 3 のオレンジ色で示す、県内 15 市町の 28 農家 45 頭（23%）において、*E. polecki* 様又は *E. suis* 様のアメーバ原虫が、主に盲腸及び結腸の消化管管腔に確認された。また平成 25 年度以降の 7 事例において、アメーバ原虫の病変部への寄生が確認された（図 4）。日齢別では、アメーバ原虫は 60 日齢前後の豚に最も多く観察された。



図 3

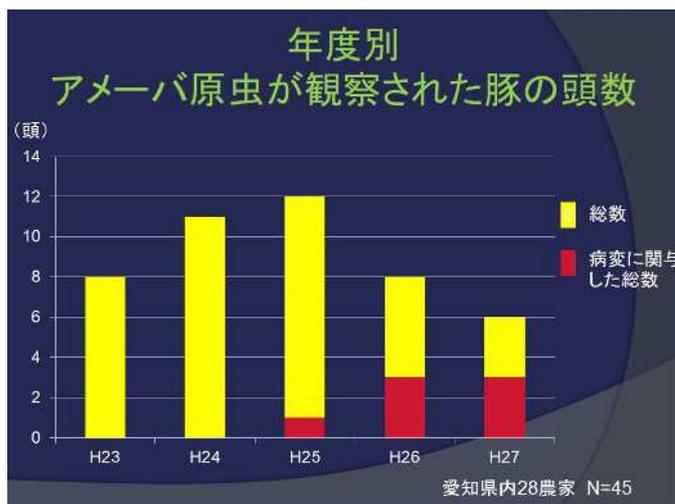


図 4

【まとめ及び考察】

細菌学的検査で回腸粘膜から *L. i* の遺伝子が検出されたものの、病理組織学的検査では WS 染色及び免染により菌体や陽性反応は確認されず、病変部には多数のアメーバ原虫の寄生が見られた。以上より本事例を *E. polecki* ST3 が関与する潰瘍性大腸炎と診断した。また腸陰窩の一部にトリコモナスの寄生が見られたが、一般的に本原虫の病原性は弱く、重度寄生した子豚での下痢症が報告されている²⁾。本事例では軽度の寄生が観察されたのみであったことから、下痢への関与は否定的であった。一方、ウイルス学的検査では PRRSV 遺伝子が検出されており、免疫不全であったことが示唆され、大腸炎を発症しやすい状態であった可能性が考えられた。

回顧調査では、*E. suis* 様及び *E. polecki* 様のアメーバ原虫が平成 23 年時点には既に県内に確認され、養豚農家が多い地域を中心に、県内に広く浸潤していることが明らかとなった。両アメーバ原虫は他のアメーバ原虫同様に主に大腸に寄生しており、一部のアメーバ原虫は病変部への寄生が確認されたことから、消化管病変の形成に関与していた可能性があると考えられた。また病変部への寄生は平成 25 年度以降の事例に 7 件見られ、近年増加傾向にあることが示唆された。今後豚の下痢又は発育不良の事例を検査する際は、アメーバ原虫の寄生についても注意を払う必要がある。なお本研究は、*Infection, Genetics and Evolution*⁶⁾、及び *Japan Agricultural Research Quarterly*³⁾ に誌上発表されている。

最後に各種検索においてご助言・ご指導いただきました、動物衛生研究所の播谷亮先生、芝原友幸先生、大阪府立大学の松林誠先生に深謝する。

○参考文献

- 1) Clark CG, Kaffashian F, Tawari B, Windsor JJ, Twigg-Flesner A, Davies-Morel MCG, Blessmann J, Ebert F, Peschel B, Van AL, Jackson CJ, Macfarlane L, Tannich E. New insights into the phylogeny of *Entamoeba* species provided by analysis of four new small-subunit rRNA genes. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2006. 56: 2235-2239.
- 2) 北野 良夫, 牧野田 勝志, 古川 雅浩, 豊満 義邦, 福山 孝人, 東中川 正和, 米丸

光政, 飛松 雅子, トリコモナス原虫の濃厚寄生を伴った子豚の下痢症. 日本獣医師会雑誌. 1991. 44: 473-477.

3) Komatsu T, Matsubayashi M, Murakoshi N, Sasai K, Shibahara T. Retrospective and histopathological studies of *Entamoeba spp.* and other pathogens associated with diarrhea and wasting in pigs in Aichi Prefecture, Japan. JARQ. 2019. 53: 59-67.

4) Levine ND. Protozoan parasites of domestic animals and of man. Burgess Publishing Company Minneapolis. 1961.

5) Matsubayashi M, Kanamori K, Sadahiro M, Tokoro M, Abe N, Haritani M, Shibahara T. First molecular identification of *Entamoeba polecki* in a piglet in Japan and implications for aggravation of ileitis by coinfection with *Lawsonia intracellularis*. Parasitol Res. 2015. 114: 3069-3073.

6) Matsubayashi M, Murakoshi N, Komatsu T, Tokoro M, Haritani M, Shibahara T. Genetic identification of *Entamoeba polecki* subtype 3 from pigs in Japan and characterisation of its pathogenic role in ulcerative colitis. Infect Genet Evol. 2015. 36: 8-14.

7) Matsubayashi M, Suzuta F, Terayama Y, Shimojo K, Yui T, Haritani M, Shibahara T. Ultrastructural characteristics and molecular identification of *Entamoeba suis* isolated from pigs with hemorrhagic colitis: implications for pathogenicity. Parasitol Res. 2014. 113: 3023-3028.

8) 野崎宏, 平田和則, 天野武, 村木優子, 實方剛, 栗倉毅, 島田章則, 梅村孝司. 香川県で発生した豚のアメーバ症. 日本獣医師会雑誌. 1993. 46: 639-642.

9) Santos HL, Bandea R, Martins LA, de Macedo HW, Peralta RH, Peralta JM, Ndubuisi MI, da Silva AJ. Differential identification of *Entamoeba spp.* based on the analysis of 18S rRNA. Parasitol Res. 2010. 106: 883-888.

10) 篠川有理. 新潟県内で認められたアメーバ感染豚の病態検索. 新潟県. 2014.