

【はじめに】

牛のコクシジウム症は *Eimeria* 属原虫による下痢を主徴とする感染症である。*Eimeria* 属原虫は多種にわたり、病原性もさまざまである。これらのうち、*E. bovis* 及び *E. zuerunii* は病原性が高く、2種が関与して発症する子牛の急性コクシジウム症では出血性下痢や粘血便などがみられ、重篤例では死亡に至る[1, 2]。一方、慢性コクシジウム症は複数種感染する場合が多く、水溶性下痢や消瘦、発育不良などを引き起こす[3]。また、クロストリジウムなどの他の病原体と混合感染することにより、病態がさらに悪化することも知られている[4]。

診断は家畜保健衛生所では病性鑑定マニュアルに沿って行われ、糞便または生材を用いた原虫検査、病理組織学検査により総合的に診断する[5]。しかし確定診断は、疫学調査及び臨床検査結果を基に原虫検査結果によりコクシジウム症と判定されるため、原虫検査結果に依存する部分が多い。原虫検査は簡易かつ検出率が高いことから、コクシジウム症を疑う場合は生前診断として用いられている[6, 7]。

今回、原虫検査では陰性であったがコクシジウムの関与が疑われた慢性腸炎に遭遇したため、その概要を報告する。

【発生状況】

県内の黒毛和種牛を約 50 頭飼養する農場において、令和元年 6 月 1 日から約 6 か月齢の子牛 1 頭で血液及び粘液を含む下痢がみられた。抗生物質や抗コクシジウム剤等により治療されたが、血便は治まるも下痢は継続し、10 日に糞便及び血液を採取し、検査を行った。採材時、活力低下、消瘦、直腸粘膜の爛れがみられた。その後、回復を認めず、24 日に予後不良と判断して安楽殺及び剖検を実施した。なお、同居子牛では同様の症状はみられなかった。

【材料及び方法】 (図 1)

(1) 6 月 10 日の採材

当該牛及び周辺子牛の血液及び糞便を材料とした。糞便を用いて、原虫検査

(直接塗抹法及びシヨ糖浮遊法)、細菌分離検査を実施した。また、血清を用いてヨーネライザ・スクリーニングKS (共立製薬株式会社、東京) によりヨーネ病の抗体検査を実施した。さらに、糞便及び血清を用いて、下痢症状関連ウイルスである、牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV)、牛コロナウイルス (コロナV)、牛トロウイルス (トロV)、A~C 群牛ロタウイルス (ロタV)、ヨーネ病の遺伝子検査を病性鑑定マニュアルに沿って実施した[5]。

(2) 6月24日の病性鑑定

剖検後、主要臓器を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、定法に従いパラフィン包埋、薄切後、切片を作製しヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施して鏡検した。消化管については、アザン染色、抗酸菌染色、ワーチン・スターリー染色も実施した。

寄生虫学的検査では、消化管のパラフィン組織切片 (FFPE) 及び腸内容物を用いた6種の *Eimeria* 属原虫 (*E. bovis*, *E. zuernii*, *E. alabamensis*, *E. auburnensis*, *E. cylindrica*, *E. bovis*) の遺伝子検査について大阪府立大学に依頼した[8]。

そのほか、主要臓器から細菌分離検査を実施した。また、消化管から、ローソニア及びサルモネラの遺伝子検査を実施した。

【結果】

(1) 剖検所見

外貌は重度消瘦していた。空回腸では粘膜の軽度肥厚や剥離がみられ、内容物に血液及び粘膜片を混じていた。結腸及び直腸では粘膜は筒状に剥離していた (図2)。その他の臓器に著変はみられなかった。

(2) 病理組織学的検査

回腸で非連続性の粘膜上皮の壊死及び再生像 (杯細胞の過形成及び腸陰窩の不定形) が観察された (図3)。また、粘膜固有層から下組織にかけて単核細胞及び線維芽細胞の浸潤、神経細胞の増数、血管新生がみられた (図4)。大部分の固有構造は消失し、膠原線維に置換されていた。さらに、類上皮細胞、多核巨細胞及びごく少数のコクシジウムのオーシストを伴うリンパ濾胞の壊死が観察

材料と方法	
6月10日 採材	
糞便	虫卵検査 (直接鏡検法、シヨ糖浮遊法)、細菌分離
血清	ヨーネ病の抗体検査
糞便・血清	下痢症状関連ウイルス (BVDV, コロナV, トロV, A~C群ロタV)、ヨーネ病の遺伝子検査
6月24日 剖検	
ホルマリン標本	病理組織学的検査 HE染色、アザン染色、抗酸菌染色、ワーチン・スターリー染色
主要臓器	細菌分離
消化管	ローソニア、サルモネラ遺伝子検査
消化管内容物	
消化管のパラフィン組織切片	コクシジウムの遺伝子検査

図1 材料及び方法

された（図 5、6）。結腸及び直腸では全周性に粘膜上皮の壊死がみられ、固有層以下は回腸と同様であった。ワーチン・スターリー染色及び抗酸菌染色では病原体は検出されなかった。

(3) 寄生虫学的検査

原虫検査は陰性であった。空腸、盲腸、結腸の FFPE、大腸内容物から、*E. bovis*、*E. zuerunii*、*E. auburnensis*、*E. ellipsoidalis* の遺伝子が検出された（図 7）。

(4) 細菌学的検査及びウイルス学的検査

病原細菌は分離されず、抗体検査及び遺伝子検査はすべて陰性であった。



図 2 消化管の剖検所見

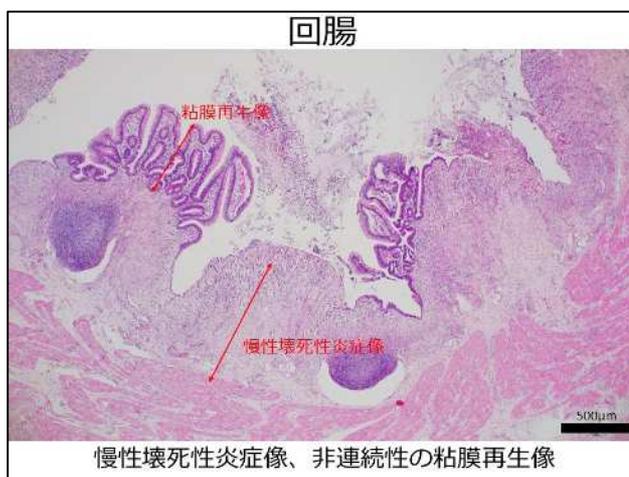


図 3 回腸の非連続性の粘膜上皮の壊死及び再生像

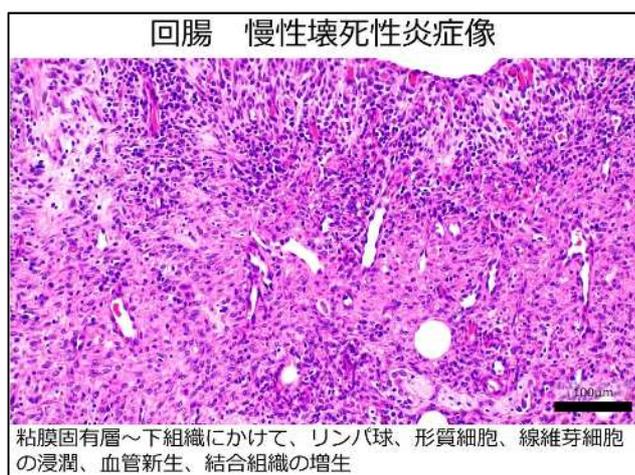


図 4 回腸の慢性壊死性炎症像

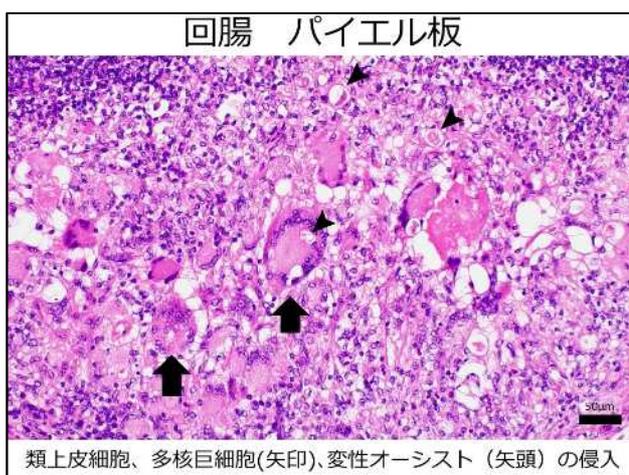


図 5 回腸パイエル板にみられたリンパ濾胞の壊死像

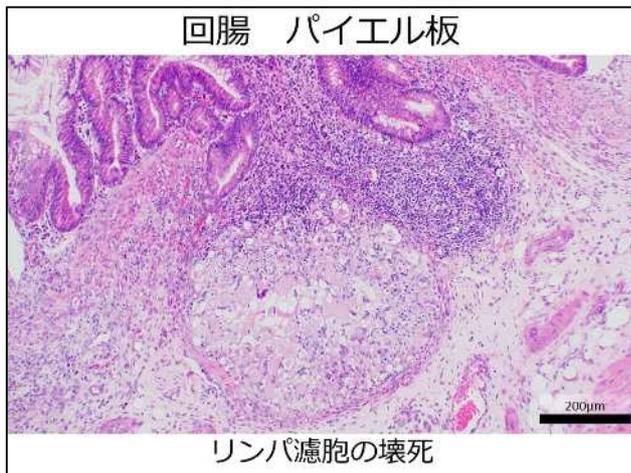


図 6 図 5 の拡大図。類上皮細胞、多核巨細胞、コクシジウム変性オーシストが認められる。

病原検索

○コクシジウムの遺伝子検査結果

大阪府立大学 松林 誠 先生により実施

病原体	病原性	パラフィン組織切片					腸内容物	
		空腸	回腸	盲腸	結腸	直腸	小腸	大腸
<i>E. bovis</i>	高	+	-	+	+	-	-	+
<i>E. zuernii</i>	高	+	-	-	-	-	-	-
<i>E. auburnensis</i>	中	-	-	-	-	-	-	+
<i>E. alabamensis</i>	低	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. cylindrica</i>	低	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. ellipsoidalis</i>	不明	+	-	+	+	-	-	+

⇒病原性の高い*E. bovis* や*E. zuernii*が検出

○その他の病原検索はすべて陰性

図 7 寄生虫学的検査結果

【考察及びまとめ】

病理組織学的検査の結果、広範囲にわたり膠原線維の増生を主体とする壊死性病変や粘膜上皮の再生像が認められ、慢性腸炎像と考えられた。さらに、壊死組織中にコクシジウムのオーシストが認められ、コクシジウムが病変の形成に関与している可能性が疑われた。以上から、組織学的にコクシジウムの関与を疑う慢性壊死性腸炎として診断された。

当該牛は出血性下痢を呈し、病原検索では病原性の高い *E. bovis*、*E. zuerunii* の特異遺伝子が検出されたことから、急性コクシジウム症を発症していた可能性が考えられた。さらに、出血は治まったものの、その後 3 週間にわたり下痢が継続してみられ、慢性経過を辿っていたと推察された。しかしながら、原虫検査では陰性であり、病性鑑定マニュアルにおいては確定診断には至らなかった。

コクシジウムオーシストの排出数は、牛群・個体・季節・感染数等で差はあるものの、下痢の症状に応じて多数の排出がみられることが多い [3, 9, 10]。過去の報告においてもコクシジウムやコクシジウム混合感染による慢性壊死性腸炎では、いずれも原虫検査でオーシストが検出されている [11, 12]。しかしながら、本症例ではオーシストが検出されず、希少な事例であった。

オーシストが検出されなかった理由として、①抗コクシジウム剤によりオーシストの排出が抑制された可能性②原虫検査後にコクシジウムが侵入した可能性が考えられた。②の場合、出血性下痢はコクシジウム以外の要因で起こり、慢性コクシジウム症を発症していたことになる。しかし、上述のとおり本症例では急性コクシジウムが疑わしいこと、また、コクシジウム寄生部位である粘

膜上皮の大部分は壊死しており、再生上皮にはコクシジウムは認められなかったことからコクシジウム侵入の可能性は低く、①の可能性がより高いと考えられた。

本症例のように感染状況や投薬状況によっては原虫が検出されない可能性があり、原虫検査が陰性であっても原虫性疾患に留意する必要がある。

最後に、執筆にあたり多大なるご指導及びご助言をいただいた農研機構動物衛生研究部門 芝原友幸先生、大阪府立大学 松林誠先生に深謝する。

参考文献

- [1] Dauschies A, Najdrowski M. Eimeriosis in cattle: current understanding. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2005. 52:417-427.
- [2] 平健介. 牛の寄生虫病対策 牛の内部寄生虫病の現状と検査法の一例. 2019. 臨床獣医. 37:22-28.
- [3] 前出吉光, 小岩政照. 新版 主要症状を礎にした牛の臨床. 2002.
- [4] 志村亀夫. コクシジウム症-今, 現場で何が起きているか-. 1997. 臨床獣医. 15:13-17
- [5] 全国家畜衛生職員会. 病性鑑定マニュアル第4版. 2016.
- [6] Bangoura B, Bardsley KD. Ruminant Coccidiosis. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2020. 36:187-203.
- [7] Keeton STN, Navarre CB. Coccidiosis in Large and Small Ruminants. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2018. 34:201-208.
- [8] Kawahara F, Zhang G, Mingala CN, Tamura Y, Koiwa M, Onuma M, Nunoya T. Genetic analysis and development of species-specific PCR assays based on ITS-1 region of rRNA in bovine *Eimeria* parasites. Vet Parasitol. 2010. 174:49-57.
- [9] Enemark HL, Dahl J, Enemark JM. Eimeriosis in Danish dairy calves- correlation between species, oocyst excretion and diarrhoea. Parasitol Res. 2013. 1:169-176.
- [10] Bangoura B, Mundt HC, Schmäscke R, Westphal B, Dauschies A. Prevalence of *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* in German cattle herds and factors influencing oocyst excretion. Parasitol Res. 2011. 1:129-138.
- [11] Coccidiosis in Cattle. National Animal Disease Information Service (NADIS) ホームページ. 2009.

<https://www.nadis.org.uk/disease-a-z/cattle/coccidiosis-in-cattle/>

[12] 白川ひとみ, 上野多可子, 牧野淳, 山根俊治, 横山敦史. 壊死性腸炎とコキシウム病の合併症による肥育牛の死亡事例. 日獣会誌. 2001. 54:92-94