

全国農業共済協会会長賞

岡山県内飼養牛における クリプトスポリジウムの浸潤状況 および抗体保有状況

水戸 康明¹⁾ 西山 篤¹⁾ 大賀 まりえ¹⁾ 梅田 浩二²⁾

NOSAI岡山 西部基幹家畜診療所

¹⁾同 生産獣医療支援センター

²⁾(株)イーダブルニュートリション・ジャパン 岐阜免疫研究所

(〒719-0303 岡山県浅口郡里庄町浜中 93-269)

(Email: mito_y@ok-nosai.or.jp)

要約

岡山県内の飼養牛におけるクリプトスポリジウム (Cr) の浸潤状況、および抗体保有状況を調査した。下痢症状を呈した2~202日齢の子牛の糞便117検体を検査したところ、Crオーシストの抗原陽性率(抗原陽性検体数/試験供試検体数)は、29.1%(34/117)であった。また、抗Cr抗体価(血清中ELISA OD値)は、乳用種母牛108検体の62.0%、黒毛和種母牛17検体の94.1%が0.3以下であった。母牛の抗Cr抗体価は全体的に低いことから、初乳を介して子牛へ賦与されるCrに対する移行抗体も少ないと考えられた。

【キーワード：抗体価、子牛、クリプトスポリジウム、下痢】

家畜診療, 66, 621-625(2019)

牛のクリプトスポリジウム (Cr) 症は、原生動物界アピコンプレクサ門アイメリア亜目クリプトスポリジウム科に分類される原虫によって引き起こされる感染症である^{1,2)}。人畜共通の病原体として公衆衛生上問題となっているが、産業動物分野では特に *Cryptosporidium (C.) parvum* によって引き起こされる新生子牛の下痢症が問題となっている³⁻⁵⁾。Crに対する駆虫薬は開発されておらず、効果的な治療法がないのが現状である^{1,2)}。また、Crに対する感受性は幼若子牛で高く、1カ月齢以内に発生すること

が多い³⁻⁷⁾。新生子牛の病原体に対する感染防御には母子免疫が重要であり、母牛のCrに対する抗体保有状況に影響すると考えられる。そこで、岡山県内に飼養されている牛におけるCrの浸潤状況および抗体保有状況を調査した。

材料および方法

試験1：Crの浸潤状況調査

試験検体として、平成29年8月~平成30年12月の間に下痢発症子牛(2~202日齢、黒毛和種:雄15頭・

雌10頭, F1: 雄32頭・雌16頭, ホルスタイン: 雄5頭・雌37頭, ブラウンスイス: 雌2頭)の糞便117検体を供試した。病原体検出キット(DipFit: コスモバイオ社)を用いてCrの抗原検出を行った。子牛の診療回数, 初診日齢, 転帰を家畜共済病傷カルテより調査した。

統計解析について, 診療回数および初診日齢はマン・ホイットニ解析を用い, 死亡率(死亡転帰数/死亡転帰数+治癒転帰数)はフィッシャーの直接確率検定を用いた。

試験2: Crに対する抗体保有状況調査

試験検体として, 平成28年8~12月の間に採血した1.9~10.0歳の乳用種母牛(ホルスタイン種87検体, ジャージー種21検体)の血清108検体, 1.2~14.2歳の黒毛和種母牛の血清17検体, 59~322日齢の子牛11検体を用いた。*C. parvum*オーシストを固相抗原としたELISA法にて抗Cr IgG抗体の検出を行った。精製した*C. parvum*オーシストをホルマリン不活化後, 超音波処理を行い, 0.05 M炭酸緩衝液pH 9.6にて1ウェルあたり 10^4 個のオーシストを4℃で一晩固相化した。0.05%ツィーン20リン酸緩衝生理食塩

水(PBS-T)にて洗浄後, 3%ヤギ血清PBS-Tにて37℃で1時間ブロッキングした。PBS-Tにて洗浄後, 各血清検体をPBS-Tで160倍希釈して, ELISAプレートに加えて25℃で2時間反応させた。PBS-Tにて洗浄後, 抗ウシIgG HRP標識ヒツジ抗体(Sheep anti-Bovine IgG H+L HRP Conjugated: BETHYL社)をELISAプレートに加えて25℃で1時間反応させた。PBS-Tにて洗浄後, TMB発色基質にて25℃で15分間発色させ, その後発色を停止させた。450 nmで吸光度を測定した。なお, 山田らの報告⁸⁾により, カットオフ値としてELISA OD値0.3以上を抗Cr抗体陽性とした。

成績

Crの県内での抗原陽性率(抗原陽性検体数/供試検体)は, 県北部で18.2%(2/11), 中部で0%(0/10), 南部で33.3%(32/96), 県下全域では29.1%(34/117)であった。

初診日齢は, Cr陽性牛で 12.61 ± 1.46 (平均値 \pm 標準誤差)日, Cr陰性牛で 39.10 ± 5.51 日であり, Cr陽性牛の初診日齢が有意に低かった。Cr陽性牛で8

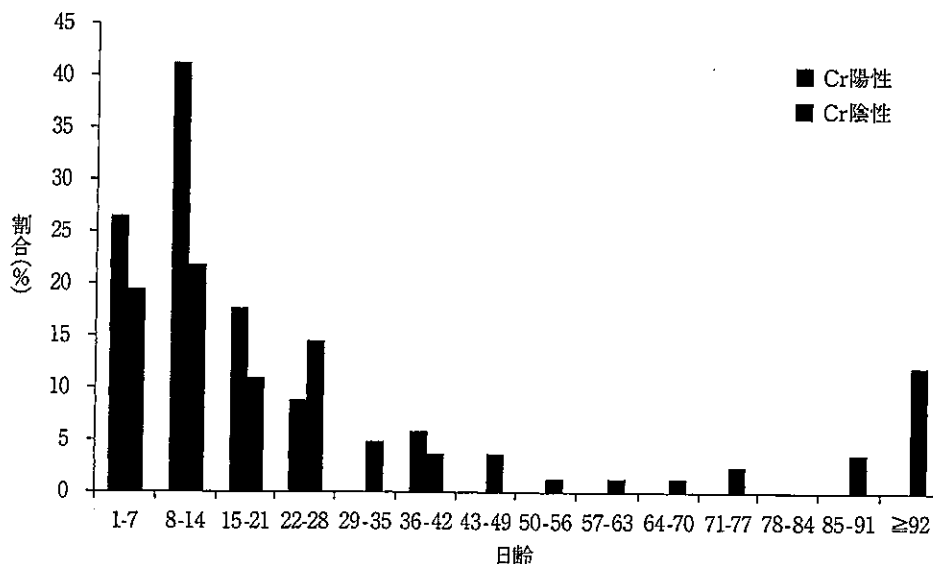


図1 下痢発症子牛の初診日齢
Cr陽性: Cr抗原陽性牛(n=34), Cr陰性: Cr抗原陰性牛(n=83)

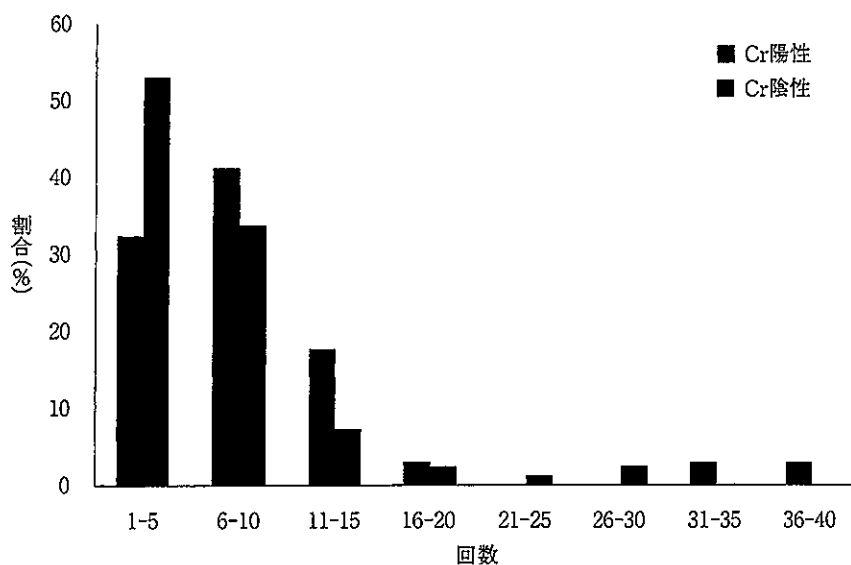


図2 下痢発症子牛の診療回数
Cr陽性：Cr抗原陽性牛(n=34), Cr陰性：Cr抗原陰性牛(n=83)

～14日齢で発症割合が一番高く、94.1%は28日齢未満で発症していた(図1)。診療回数は、Cr陽性牛で 9.14 ± 1.32 回、Cr陰性牛で 6.06 ± 0.57 回であり、Cr陽性牛の診療回数が有意に多かった。Cr陽性牛の診療回数の割合は、6～10回が41.1%であり一番高かった(図2)。死亡率(死亡転帰検体数/死亡+治癒転帰検体数)は、Cr陽性牛で25.0% (7/28)、Cr陰性牛で65% (5/77)であり、Cr陽性牛で有意に高い値であった。また、農場陽性率(検査陽性農場数/供試農場数)は1農場あたり1検体以上検査した場合は、25.9% (7/27)、1農場あたり5検体以上検査した場合は、100% (5/5)であった。

抗Cr抗体価(血清中ELISA OD値)は、乳用種母牛の62.0%、黒毛和種母牛の94.1%が0.3以下を示し、子牛では11例中1例のみ0.3以上であった(図3, 4)。

考 察

日本における牛の大規模な調査では、Crオーシストの保有率は2.14%であり、1カ月齢以下での検出率が高く、病原性のある*C. parvum*が1カ月齢以下の子牛のみで検出されたと報告されている^{1, 6)}。今回の岡山県下でのCr抗原陽性率は29.1%であり、

全国調査よりはかなり高い値となっていた。これは調査が20年以上前に実施されたものであり、20年間にCrが広範囲に浸潤した可能性が考えられた。また、島田らの調査⁷⁾によると、往診依頼があった農場における60日齢以下の子牛では、Crオーシスト陽性率は49.5%、20日齢以下の下痢発症子牛では63.1%であり、今回の調査と同様に高値を示していた。したがって、地域によってはCrが子牛下痢症の発症原因として高い割合で関与していることが示唆された。

診療回数、死亡率ともにCr陽性牛が、Cr陰性牛より有意に高く、Crによる下痢症は他の要因による下痢症よりも症状が重篤化していると考えられた。特に死亡率が高いことが問題であった。Crに対する有効な駆虫薬やワクチンは市販されていないため^{1, 2)}、消毒や対症療法を実施しているが、対応には苦慮している。黒瀬の報告³⁾では、消毒や大量輸液などの適切な対策をとると死亡率が低下しているとされている。また、ロタウイルスやETECなどと混合感染すると死亡する場合があるとされている¹⁾。下痢は様々な要因で発症するため、Cr対策ばかりでなく、他の下痢症も含めた総合的な対策が必要と考

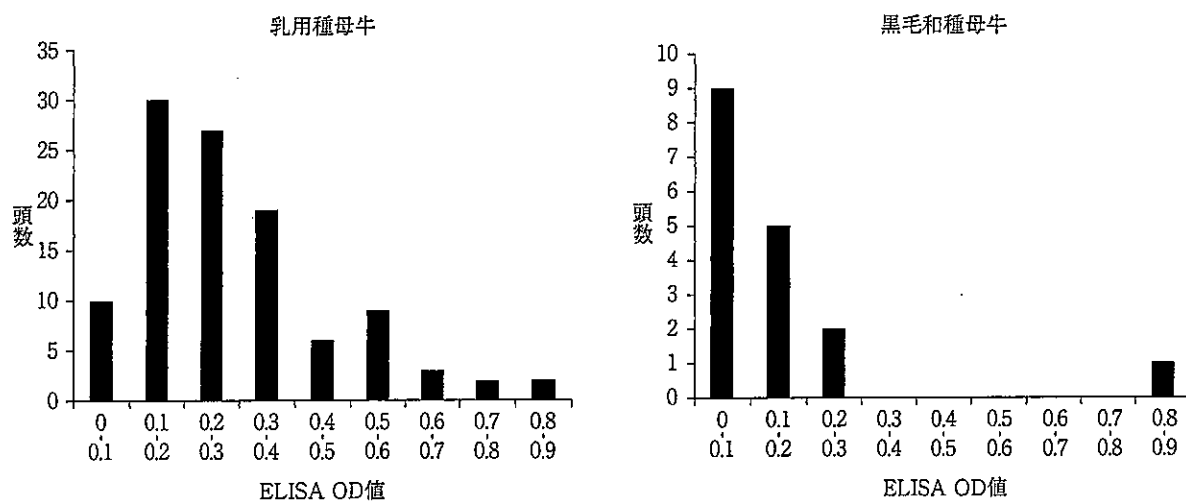


図3 血清中抗クリプトスポリジウム抗体価の分布(ELISA法, OD値)

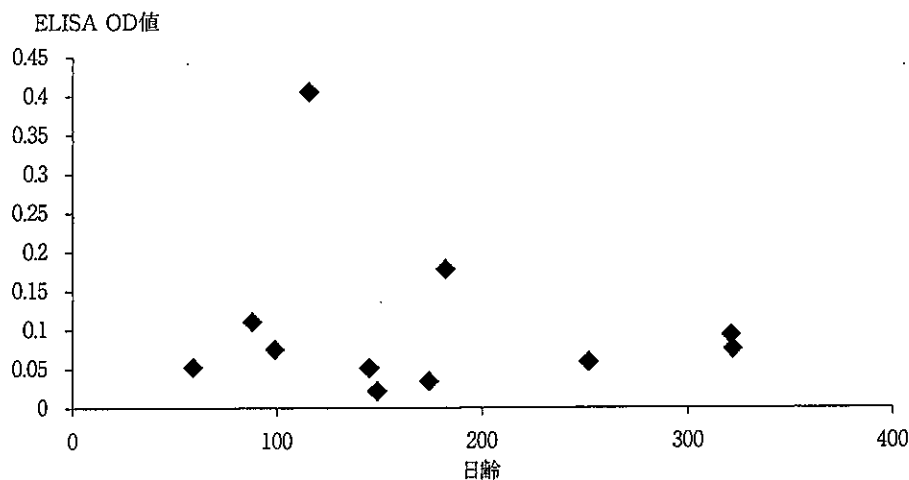


図4 日齢別の血清中クリプトスポリジウム抗体価(ELISA法, OD値) n=11

えられた。

発症日齢は1カ月齢以下がほとんどであり^{1,7)}, 特に20日齢以下での発症が多く, 今回の成績と同様であった。松田⁴⁾は, 子牛糞便の追跡調査により20~30日齢でCrオーシストの排泄が自然に陰性になると報告している。人ではAIDS患者など免疫力不全者での感染が問題となっているが, 牛も同様に1カ月齢以内の免疫機能が未熟な子牛で発生している。Cr症の発症を抑えるためには, 出生直後からの子牛の衛生管理が重要と考えられた。

新生子牛の感染防御は, 初乳を介した母子免疫が重要である。今回, 母牛における抗Cr抗体の保有

状況は, 全体的に低いものであった。初乳中の抗体は, 母牛の免疫が初乳を介して移行することから, 初乳中の抗Cr移行抗体も少ないと考えられる。新生子牛に対して受動免疫の賦与が少ないことが, Crの発症と他の原因による下痢症より臨床症状が重篤化する原因の一つと考えられた。筆者ら⁹⁾は, 以前に出生直後の黒毛和種牛に代用初乳とともに抗Cr P23鶏卵黄抗体(抗Cr P23 IgY)を含む製剤を投与したところ, 異常便の発生率やCrの検出率が対照群より有意に低かったことを報告した。Crの発症予防対策として, 抗Cr P23 IgYの投与による受動免疫の賦与が対策の一つになる可能性がある。

引用文献

- 1) 志村亀夫：牛のクリプトスポリジウム症、動物の感染症，小沼操，明石博臣，菊池直哉ら編，第二版，150，近代出版，東京(2006)
- 2) 中井裕：クリプトスポリジウム病，牛病学，明石博臣，江口正志，神尾次彦ら編，第三版，330-332(2013)
- 3) 黒瀬智泰：管内一酪農家における子牛クリプトスポリジウム症の発生分析と対策，家畜診療，59，491-496(2012)
- 4) 松田智行：管内3酪農場における哺乳子牛の*Cryptosporidium parvum*浸潤状況調査，家畜診療，57，557-560(2010)
- 5) 羽石敬史，斎藤雄太，島田亘ら：子牛下痢症にクリプトスポリジウム感染症がみられた3酪農場での清浄化対策とその効果，家畜診療，63，481-486(2016)
- 6) 志村亀夫：クリプトスポリジウム症，農林水産技術研究ジャーナル，24，41-45(2001)
- 7) 島田亘，羽石敬史，斎藤雄太ら：管内の下痢を呈した子牛における腸内細菌叢の判定とクリプトスポリジウム感染状況調査，家畜感染症学会誌，4，153-160(2015)
- 8) 山田倫文，稲垣望：クリプトスポリジウム症の事例と検査方法の検討，臨床獣医，33，16-20(2015)
- 9) 水戸康明，富永由香：鶏卵黄抗体(IgY)の経口受動免疫による下痢症予防効果，日獣会誌，69，626-627(2016)

Prevalence of *Cryptosporidium* and Its Antibody in Cattle Fed in Okayama Prefecture

Yasuaki Mito, Atsushi Nishiyama, Marie Ooga¹⁾, Koji Umeda²⁾

Seibu Core Veterinary Clinic,

¹⁾Production Medicine Supporting Center, Okayama A.M.A.A.

²⁾Immunology Research Institute in Gifu, EW Nutrition Japan

(93-269 Hamanaka, Satoshicho, Asakuchi-gun Okayama 719-0303)

SUMMARY

The prevalence of *Cryptosporidium* (Cr) and that of its antibody were investigated in cattle fed in Okayama Prefecture. Testing of 117 feces samples taken from calves with diarrhea aged from 2 to 202 days revealed that the positive rate of Cr oocyst antigen (the ratio of the number of antigen-positive samples to the number of total test samples) was 29.1% (34/117). The Cr antibody titer [enzyme-linked immunosorbent assay optical density (ELISA OD) value in serum] was ≤ 0.3 in 62.0% and 94.1% of 108 samples from mother dairy cows and 17 samples from mother Japanese Black cows, respectively. The low Cr antibody titer in mother cows suggested that the level of the maternal antibody against Cr transmitted to calves through colostrum was also low.

【Key words : antibody titer, calves, *Cryptosporidium*, diarrhea】

J Livestock Med, 66, 621- 625(2019)