家兎にみられたエンセファリトゾーン症

高野 茂¹⁾ 近藤友美²⁾ 浅井敏文²⁾ 美川 茂²⁾

1) 北海道釧路家畜保健衛生所(釧路市大楽毛 127, 〒084)

2) 北海道空知家畜保健衛生所(岩見沢市岡山町 12-37, 〒079-01)

(平成 4 年 3 月 6 日受付・平成 4 年 10 月 16 日受理)

Encephalitozoonosis Found in Rabbits Reared in Sorachi, Hokkaido
Shigeru TAKANO¹⁾, Yumi KONDOH²⁾, Toshifumi ASAI²⁾ and Shigeru MIKAWA²⁾

1) Kushiro Livestock Hygiene Service Center, Hokkaido Prefecture, Kushiro-shi, Hokkaido 084, Japan

2) Sorachi Livestock Hygiene Service Center, Hokkaido Prefecture, Iwamizawa-shi, Hokkaido 079-01, Japan

SUMMARY

An outbreak of a disease characterized mainly by depression and torticollis was observed in six rabbits reared on a resort farm. From the findings of the pathological and parasitological examinations, three of them were diagnosed as having encephalitozoonosis. Regarding clinical signs, depression and torticollis were noticed in one rabbit each while nasal discharge and sneeze were observed in all the rabbits. On the 7th day of observation, the rabbit with torticollis began to show incoordination. The autopsy disclosed no marked change but white spots in the kidney of one rabbit and sinusitis in two. Histological examinations revealed granulomatous encephalitis and interstitial nephritis in three rabbits. In one of them, pseudocysts were confirmed in the cerebral cortex. Emulsion of the brain and kidney which had histological lesions was intraperitoneally inoculated into mice which had been subjected to immunosuppressive treatment. As a result, protozoan proliferation was observed in ascites. The protozoa was $2.5 \times 1.5 \mu\text{m}$ in size and gram-positive. Electron microscopy revealed a 5-6-round polar filament and polaroplast lamellae. From these morphological characteristics, the protozoa was identified as being *Encephalitozoon cuniculi*.

—Key Words: *Encephalitozoon cuniculi*, experimental infection, field case, rabbit, ultrastructure.

-----J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 46, 143~146 (1993)

要 約

観光牧場で飼育していた兎に沈うつ、斜頸を主徴とする疾病が発生し、病理検査および原虫検査によりエンセファリトゾーン症と診断した。経過観察中に斜頸を示していた1頭が平衡失調を呈した。剖検では腎の白斑形成と副鼻腔炎を認めたほか著変はなかった。組織所見では肉芽腫性脳炎と間質性腎炎がみられ、うち1頭の大脳皮質に偽シストを確認した。組織病変のみられた兎の脳および腎の臓器乳剤を免疫抑制処理したマウスの腹腔内に接種し、21日から28日後に腹水中に原虫の増殖を確認した。原虫は、大きさが約 $2.5 \times 1.5 \mu\text{m}$ 、染色性はグラム陽性、電子顕微鏡による観察では5~6回転の極糸と極胞ラメラを確認し、これらの形態特徴から *Encephalitozoon cuniculi* と同定した。

—キーワード: *Encephalitozoon cuniculi*, 接種試験, 野外例, 兎, 微細形態。

-----日獣会誌 46, 143~146 (1993)

エンセファリトゾーン症(Ez症)は微胞子虫類に属する *Encephalitozoon cuniculi* の寄生によっておきる疾病で兎やその他の齧歯類、肉食獣、霊長類など広い動物に発生がみられる^{2,4-6)}。

わが国でのEz症の自然感染に関しては、田崎¹⁾が1956年にアカネズミで報告して以来、実験用マウス⁷⁾、人⁸⁾等で数例が報告されている。兎では、白鳥ら(1978, 私信)の実験用兎での報告と宮崎ら(1990, 私信)の集団飼育兎での発生例のみである。われわれは観光牧場で

飼育されていた家兎の沈うつと斜頸を主徴とする疾病に遭遇し、病理学的検査ならびにマウス接種試験によりEz症と診断した。

材料および方法

被 検 兎

北海道空知支庁管内の観光牧場で飼育されていた家兎のうち、平成2年4月下旬から6月上旬にかけて臨床的に異常の認められた6頭の成兎について検査を行った。

病理学的検査：クロロホルム麻酔下で安楽死させ、常法により病理学的検査を行った。

寄生虫学的検査：被検家兎6頭と一般所見の良好な同居兎10頭の糞便について、マックマスター法により寄生虫卵検査を行った。また、被検家兎6頭の血清について、トキシチェック-MT '栄研' *によりトキソプラズマ抗体価の測定を行った。

マウス接種試験：病理組織検査で病変の認められた2頭の家兎の脳および腎臓の乳剤0.1mlをマウスの腹腔内に接種して原虫の検出を行った(表1)。臓器乳剤の作製は、臓器1gに抗生物質加生理食塩液9mlを加えてホモジナイズし、その濾液を接種材料とした。また、免疫抑制処理としてマウス1頭当たりブレドニゾロンを初回に5.0mg、以後2.5mgを4〜7日間隔で筋肉内注射した。

原虫の形態観察：マウスの腹腔洗浄液を1,800Gで20分間遠心してその沈渣をスライドガラスに塗布し、常法によりギムザ染色およびグラム染色を行って光学顕微鏡観察に供した。また、残りの沈渣を2.5%グルタルアルデヒドで前固定した後、2%寒天で封入・細切し、1%オスミウム酸で後固定、常法により脱水・包埋・薄切を行って電子顕微鏡による微細形態観察に供した。

成 績

被検家兎の臨床症状

平成2年4月に沈うつ、鼻汁漏出するものが散見されたため1頭(No. 6)が病性鑑定に供され、病理組織検

表1 マウス接種試験

試験区	マウス 頭 数	供試家兎		成 績	
		No.	臓器	原虫検出	腹水症
1	5	1	脳	5/5	2/5
2	5	1	腎	4/5	1/5
3	2	5	脳	2/2	0/2
4	2	5	腎	2/2	0/2
対照	4	ND	ND	0/4	0/4

ND：実施せず

表2 供試家兎の臨床症状

兎 No.	性別	観察 日数	症 状 区 分				
			沈うつ	斜頸	平衡失調	鼻汁	くしゃみ
1	雄	9	—	+	+(7)*	+	+
2	雄	15	—	—	—	+	+
3	雌	15	—	—	—	+	+
4	雌	16	—	—	—	+	+
5	雌	16	—	—	—	+	+
6	雄	2	+	—	—	+	+

—：症状なし +：症状あり *：() 内数字は症状発現までの日数

* トキシチェック-MT '栄研'：栄研化学㈱

査でEz症が疑われた。被検家兎6頭の臨床症状は表2のとおりで、鼻汁漏出、クシャミが全頭にみられた。

病理学的検査

剖検所見および病理組織所見は表3に示した。

脳では主に大脳皮質において類上皮細胞、リンパ球、マクロファージからなる限界明瞭な類上皮性肉芽腫が形成されていた(図1)。比較的大きい肉芽腫は、数層の結合組織細胞で取り囲まれていた。結節の中心に壊死細胞を含むものもみられた。脳実質内の血管周囲腔と脳軟膜にリンパ球が強く浸潤し、血管性細胞浸潤と髄膜炎がみられた。また、No. 6の大脳皮質に偽シストがみられ(図2)、グラム染色で陽性を示した。腎臓では間質性腎炎が皮質と髄質に認められた(図3)。髄質の病巣部では上皮が変性脱落した集合管もみられた。

寄生虫学的検査

No. 6からコクシジウムのオーシストがOPGで400、同居兎4頭から100〜2,300検出された。トキソプラズマ抗体価は、全頭が16倍未満であった。

マウス接種試験

原虫は対照区を除く各試験区のマウスの腹腔洗浄液から検出され(表1)、その形態は次のとおりであった。

光学顕微鏡観察では、遊離した虫体の大きさは約2.5×1.5μmで、両端が円味を帯びた楕円型を呈していた。

表3 病理検査結果

兎 No.	病理解剖所見			病理組織所見		
	鼻腔内 湿 潤	副鼻腔炎	腎白斑	肉芽腫 性脳炎	間質性 腎 炎	偽シスト
1	+	—	—	+	+	—
2	+	—	—	—	—	—
3	+	+	—	—	—	—
4	+	—	—	—	—	—
5	+	—	—	+	+	—
6	+	+	+	+	+	+

+：病変あり —：病変なし

図1 家兎の大脳皮質に形成された肉芽腫(No. 1)(HE染色 ×100)

図2 家兎の大脳皮質にみられた偽シスト (No. 6) (HE染色 ×400)

図3 家兎の腎臓の髄質における細胞集簇 (No. 6) (HE染色 ×40)

グラム染色では虫体は一様に陽性に染まるが、小円形の無染色部分を持つものもみられた。ギムザ染色では細胞質がわずかに淡青色に染まり全体が中空状を呈し、赤紫色に染まる円形の小体が偏在していた。原虫が多数寄生した細胞は核がソラメ状を呈して偏在し、細胞質中に原虫を認めた (図4)。

電子顕微鏡観察では、虫体は3層の膜でおおわれており、中間層の厚さは約 $0.1\mu\text{m}$ と最も厚かった。直径約 $0.1\mu\text{m}$ の極糸の断面が虫体の両側に5個ずつ配列し、さらに反対極に1個の断面がみられ、これを中心にした同心円状構造を示す極胞ラメラが囲んでいた。細胞質は顆粒状を呈し、核などの構造は判別できなかった (図5)。これらの形態、染色性は *E. cuniculi* と一致した^{2,4-6)}。

考 察

Ez症に類似する疾病としてスナッフ病やトキソプラズマ病などがある。スナッフ病については細菌培養で1頭の副鼻洞から *Pasteurella multocida* が分離されたが、他臓器から分離されなかったことおよび組織学的病変を欠いていたことから否定された。また、トキソ

図4 マウスの腹腔内細胞の細胞質内にみられた原虫。寄生された細胞の核は偏在している。(2区 No. 2) (ギムザ染色 ×1000)

図5 マウスの腹腔内細胞原形質中にみられた *E. cuniculi* の電顕写真。虫体の両側に5対の極糸断面と反対極に極胞ラメラがみられる。(bar: $0.5\mu\text{m}$)

プラズマ抗体が陰性であったことと原虫の染色性と形態が異なっていたこと^{6,9)}からトキソプラズマ病も否定された。

哺乳動物に病原性のある微胞子虫類としては *E. cuniculi* のほかに *Thelophania apodemii*, *Nosema connori*, *Enterocytozoon bieneusi* など未同定種を含めて8種類が知られている²⁾が、いずれも胞子の大きさや極糸の回転数は *E. cuniculi* と異なる。接種試験でマウスの腹水から検出した原虫の大きさは約 $2.5 \times 1.5\mu\text{m}$ であり、極糸は5~6回転していると思われる。これらの形態は成書^{2,4-6)}に記載されている *E. cuniculi* のものと一致した。

Ez症の予防・治療法は確立されておらず、外国では実験用、毛皮用等の動物に対し血清学的検査を行って清浄化に努めている²⁾が、わが国ではまだ行われていない。

さらに、幼若兎では臨床的に発生する危険性が高く同腹の子に体重減少の進行がみられ、死に至るなど育成率に及ぼす影響は大きいといわれている³⁾。近年、実験用や展示用に限らず、地域活性化のために採毛用や食肉用などを目的とした家兎の集団飼育が増えつつあるとき、健康な家兎を安定的に供給するうえで本症の存在は無視できない。

稿を終えるにあたり、ご助言いただいた酪農学園大学獣医寄生虫病学教室大林正土教授に深謝いたします。

引用文献

- 1) BISMANIS JE : Can J Microbiol, 16, 237-242 (1970)
- 2) CANNING EU, LOM J, DYKOVA I : The Microsporidia of Vertebrates, 189-241, Academic Press,

London (1986)

- 3) 今道友則：ウサギと嚙菌類の生物学と臨床医学，95-96，養賢堂，東京（1985）
- 4) 石井俊雄：獣医臨床寄生虫学，獣医臨床寄生虫学編集委員会編，590-592，文永堂，東京（1979）
- 5) 北岡茂男：獣医微生物学，第2版，1060-1061，養賢堂，東京（1989）
- 6) KLEIER JP : Parasitic Protozoa IV, 155-196, Academic Press, London (1977)
- 7) 京 吉美：日新医学，44，480-486，（1957）
- 8) MATSUBAYASHI H, KOIKE T, MIKATA I et al : Arch of Pathol, 67, 181-187 (1959)
- 9) 信藤謙蔵，堤 可厚：最近におけるトキソプラズマ症・その知識と診断，86-88，日本動物薬事協会，東京（1974）
- 10) 田崎 光：慶応医学，33，275-279（1956）

SHOPin

総合医科器械

株式会社 **本郷いwashiya**

本社 ● 東京都文京区本郷2-39-5 〒113 Tel. 03(3813)4791(代)
地下鉄丸の内線：本郷三丁目駅前 Fax. 03(3812)4175

いwashiya

本郷いwashiyaは、永年の実績と多彩なノウハウを活用し医療機に関する最新の情報をいち速くお届けできるよう、カタログによる販売および、店頭販売をさらに充実いたします。良い製品をより良いサービスと低料金でお届けできますよう、全社一体となって取り組んでまいります。〈カタログ資料お送りします〉

- 新規開業・増改築をお考えの先生へ
①資金計画②建設計画③医療機器導入
④事業計画作成…おまかせ下さい。