

ネコ寄生 *Isospora rivolta* に対する sulfamonomethoxine の効果

松井利博 森井勤 飯島利彦

杏林大学医学部寄生虫学教室

伊藤進午 角田清

農林省家畜衛生試験場

(昭和52年6月22日 受領)

緒 論

イス、ネコの *Isospora* についての研究が進むにつれ、これらの *Isospora* も *Toxoplasma* と同様に、原虫が固有宿主の腸以外の臓器にも侵入すること (Dubey and Frenkel, 1972)、また、マウスなど非固有の宿主にも感染して被鞘原虫 (ensheathed-zoites) を形成し、この被鞘原虫を本来の宿主であるイスまたはネコに食べさせると、その生活環を継続してオオシストを排泄すること、すなわち heteroxenous な生活環をたどることが明らかになった (Frenkel and Dubey, 1972; 伊藤ら, 1975)、その結果、これらのコクシジウム病が新たな zoonosis として、近い将来大きな問題になることと思われる。しかし、これら *Toxoplasma* 以外の *Isospora* に対する有効な薬はまだみあたらない。そこで著者らは *Toxoplasma* 増殖型に極めて有効な sulfamonomethoxine (Ito *et al.*, 1974; Tsunoda *et al.*, 1966) のネコ寄生 *Isospora rivolta* に対する効果を調べた。

材料および方法

実験動物

仔ネコは体重 280~750g, マウスは CFW 系, 体重 20~25g のものを用いた。ともに実験前約10日間糞便検査を行ない、オオシスト陰性のものを使用した。

Isospora rivolta 原虫

野外のネコより得られた *Isospora rivolta* (*I. rivolta*) のオオシストを単一オオシスト法 (角田・石井, 1971) によって株化したものを使用した。

薬 剤

sulfamonomethoxine (SM) の純末を使用した。

ネコにおける試験

実験 1

1) 感染方法 ネコへの感染は、まずマウスに孢子形成オオシスト $1.1 \times 10^5 \sim 2.7 \times 10^5$ 個を経口投与して被鞘原虫を形成させておき、1~3週間後に殺処分して腸間膜リンパ節と脾臓との生理食塩液プール乳剤を7匹のネコに経口投与することにより行なつた。この時のネコ1匹に対する乳剤の投与量はおよそマウス1匹分に相当する。

2) 投薬方法 投薬量は1日1匹あたり 200mg/kg, 100mg/kg および 50mg/kg の3段階に分け、1群2匹ずつのおのおの全量摂取されるように餌に混ぜて投薬した。投薬は、感染当日 (0日) から感染後6日目まで1日1回7日間行なつた。なお残りの1匹は無投薬対照とした。

投薬後、感染ネコでの臓器内原虫の有無を調べるため、感染後20日目に上記ネコを殺処分し、その各臓器を次代のネコに食べさせた。投与臓器は、腸、腎筋、肝臓、脾臓、腸間膜リンパ節を混合して投与した。

3) 薬剤効果の判定 オオシスト排泄の有無および殺処分時の腸内原虫の有無により効果を調べた。オオシストの検査は蔗糖液浮遊法で、腸内原虫は空腸下部から回腸の腸粘膜の生鮮標本を作製して鏡検した。なお、同様の検査を実験2でも行なつた。





実験 2

感染ネコに1群1匹ずつ SM の 200mg/kg を感染当日から1日1回7日間投薬し、感染後7日目と21日目に殺処分した。これら2群のネコの腸粘膜、腎筋、および肝臓・脾臓・腸間膜リンパ節の実質臓器3種類の臓器を別々に次代のネコに食べさせた。なお、腸粘膜は空腸下部から回腸まで約10cmの部分の粘膜をかきとり、生理食塩液乳剤を作製して経口投与した。

マウスにおける試験

Table 1 Effects of sulfamonomethoxine on the intestinal and extra-intestinal stages of *Isospora rivolta* in cats

Cat No.	Inoculation with ensheathed-zoites	Days after infection	Subinoculated organs of cats	Cat No.	Subinoculation with cat organs	Days after infection		
							0	10
Experiment 1	200mg/kg/day	[Timeline: 0 to 20]	I. G. L.	No. 21	No. 32	[Timeline: 0 to 10, shaded]		
							No. 22	[Timeline: 0 to 10, shaded]
	100mg/kg/day	[Timeline: 0 to 20]	I. G. L.	No. 27	No. 33	[Timeline: 0 to 10, shaded]		
							No. 28	[Timeline: 0 to 10, shaded]
	50mg/kg/day	[Timeline: 0 to 20]	I. G. L.	No. 23	No. 34	[Timeline: 0 to 10, shaded]		
							No. 24	[Timeline: 0 to 10, shaded]
Untreated control	[Timeline: 0 to 20]	I. G. L.	No. 25	No. 35	[Timeline: 0 to 10, shaded]			
Experiment 2	200mg/kg/day	[Timeline: 0 to 20]	I. G. L.	No. 94	No. 132	[Timeline: 0 to 10, shaded]		
	Untreated control	[Timeline: 0 to 20]					No. 133	[Timeline: 0 to 10, shaded]
							No. 134	[Timeline: 0 to 10, shaded]
	Untreated control	[Timeline: 0 to 20]	I. G. L.	No. 95	No. 135	[Timeline: 0 to 10, shaded]		
			No. 136		[Timeline: 0 to 10, shaded]			
			No. 99		[Timeline: 0 to 10, shaded]			
	200mg/kg/day	[Timeline: 0 to 10]	I. G. L.	No. 138	No. 168	[Timeline: 0 to 10, shaded]		
	Untreated control	[Timeline: 0 to 10]					No. 169	[Timeline: 0 to 10, shaded]
							No. 170	[Timeline: 0 to 10, shaded]
	Untreated control	[Timeline: 0 to 10]	I. G. L.	No. 139	No. 171	[Timeline: 0 to 10, shaded]		
No. 148			[Timeline: 0 to 10, shaded]					
No. 172			[Timeline: 0 to 10, shaded]					

 : Oocyst discharge, positive
 : Oocyst discharge, negative
 : Killed
 : Died
 I. : Intestinal mucous membrane
 G. : Gluteal muscle
 L. : Liver, Spleen & Mesenteric lymph node

1) 感染方法 胞子形成オオシスト 1.3×10^5 個をマウスに経口投与した。

2) 投薬方法 SM の2,000ppm 混合飼料を、感染前日から感染後6日目までの8日間投与した。餌は1日1匹当り5gを与えた。

3) 薬剤効果の判定 感染後13日目に殺処分し、腸間膜リンパ節の生鮮標本を作製して鏡検し、被褥原虫の有無を調べた。

結 果

ネコにおける試験

実験 1

投薬群は全例殺処分した20日目までオオシストの排泄は全く認められなかった (Table 1)。また、殺処分時の腸粘膜検査ではいかなる発育期の原虫も検出されなかった。感染・無投薬対照群は一過性に食欲の廃絶がみられ、prepatent period は4~5日、OPG 値の最高は $5.0 \times 10^5 \sim 1.2 \times 10^6$ 個であった。

投薬群ネコの各臓器を混合して食べさせた次代のネコからは、全例5日目より多数のオオシストの排泄が認められた。

実験 2

実験1では2代目のネコがオオシストを排泄したので、実験2では2代目のネコに与える初代ネコの臓器を腸粘膜とその他の臓器とに別けて調べた。その結果、腸間膜リンパ節などを投与した2代目ネコは全例にオオシストの排泄がみられたが、投薬ネコの腸粘膜を与えた2代目ネコは2例ともオオシストを排泄しなかつた。

マウスにおける試験

投薬群は、無投薬対照群と同様に全例腸間膜リンパ節から多数の被鞘原虫が検出された (Table 2)。

Table 2 Effect of sulfamonomethoxine against *Isospora rivolta* in mice

Number of oocysts	Inoculation with oocysts	Days after infection	Ensheathed-zoites in Mes. l. n.
1.3 x 10 ⁵	2000 ppm/day *	☞	+
			+
			+
☞ : Killed			
Mes. l. n. : Mesenteric lymph node			
* : 5g/mouse			

考 察

一般にコクシジウム病の予防や治療を目的とした薬剤は数多く報告されているが、その多くはニワトリのコクシジウム病を対象としたものである。このニワトリのコクシジウム (*Eimeria*) に対しては、SM より sulfadimethoxine (SD) の方がより高い殺滅効果が認められている (Tsunoda, 1963, 1968)。しかし *Isospora* に属する *Toxoplasma* に対しては逆に SM の方が少量でその効果が認められている (Ito *et al.*, 1974)。著者らは今回の試験を行なう前にまず SD の *I. rivolta* に対する効果を調べたが、100mg/kg/day 7日間投与ではオオシストの排泄を阻止することは出来なかつた。また感染マウスに対しても2,000ppm を8日間餌に混ぜて投与したが、腸間膜リンパ節から多数の被鞘原虫が検出され、その効果は認められなかつた (著者ら、未発表)。そこで今回は SM の *I. rivolta* に対する効果を調べた。その結果、50mg/kg/day 以上の連続投与によつてネコの腸内での発育を阻止できることが明らかになつた。ネコ寄生 *I. rivolta* は、オオシスト投与の場合より、ネコ以外の動物に出現した被鞘原虫を経口投与した場合の方が OPG 値が高い傾向がみられる為、今回の実験では被鞘原虫を投与したが、ネコに直接オオシストを投与した場合でも

SM 50mg/kg/day 以上を7日間投薬することによつてオオシストの排泄は全く認められていない (著者ら、未発表)。

Isospora に対する投薬試験の報告は極めて少ないが、Sheffield and Melton (1976) は同じ *Isospora* に属する *Toxoplasma* に対しネコでの投薬試験を報告している。それによると *Toxoplasma gondii* の cyst を経口投与し、pyrimethamine と sulfadiazine の合剤を感染2日前から感染後10日目まで投薬したネコでのオオシストの排泄状況を調べ、prepatent period が無投薬対照群の3日に比べ13~16日と大幅に延長したことを報告している。彼らはこの理由について「投薬により大半の原虫は死滅したが、一部の原虫が生き残り、投薬終了後に増殖してオオシストを形成したためであろう」と述べている。今回著者らが行なつた *I. rivolta* の場合は、SM の投薬により投薬終了後もオオシストの排泄は認められず、殺処分時における腸粘膜検査でも原虫は検出されなかつた。

I. rivolta は腸内原虫を無感染健康ネコに経口投与すると、新宿主の腸内でその後の発育を継続する性質がある (西川ら, 1975)。実験2で感染後7日目に殺処分した無投薬対照ネコの腸粘膜 (無性生殖期原虫出現中) を経口投与した次代のネコが2日目からオオシストを排泄したのはそのためである。しかし、7日目と21日目に殺処分した投薬ネコの腸粘膜をそれぞれ次代のネコに経口投与した場合は、いずれもオオシストの排泄は認められなかつた。これらのことから、ネコの腸粘膜における原虫の発育は SM によつて阻止されたものと思われる。

しかし腸以外の臓器内に侵入した原虫は、臓器を投与したネコでオオシストの排泄がみられたことから明らかのように、SM の投与後も生存していた。臓器内原虫 (Dubey and Frenkel, 1972) の生物学的性状についてはまだ不明の点が多く現在検討中であるが、*I. belli* のように長期間にわたりオオシストの排泄が認められる *Isospora* があることなどを考えると、後日これらの原虫が腸粘膜に移行して gametogony を行なう可能性も考えられる。

一方、ネコ以外の動物での SM の効果を調べるため、マウスに感染・投薬したが、腸間膜リンパ節から感染無投薬対照群と同様に多数の被鞘原虫が検出され、原虫の侵入、生存を阻止することはできなかつた。

結 論

ネコ寄生 *I. rivolta* に対する sulfamonomethoxine

の効果を調べた。

1. ネコに被鞘原虫（オオシストを経口投与することによりマウスの腸間膜リンパ節に出現した原虫）を経口投与し、sulfamonomethoxine の200mg/kg/day, 100 mg/kg/day および 50mg/kg/day の3投与群をもうけ、それぞれ感染当日から7日間餌に混ぜて投薬した。その結果、オオシストの排泄は全く認められず、腸粘膜での発育を完全に阻止した。

2. 上記ネコの腸以外の臓器を食べさせた次代のネコでは全例オオシストの排泄が認められた。したがって投薬ネコの臓器内には原虫が生存していた。

3. オオシストをマウスに経口投与し、sulfamonomethoxine 2,000ppm を感染前日から8日間餌に混ぜて投薬した。その結果、腸間膜リンパ節から多数の被鞘原虫が検出され、その効果は認められなかった。

文 献

- 1) Dubey, J. P. and Frenkel, J. K. (1972) : Extra-intestinal stages of *Iso spor a felis* and *I. rivolta* (Protozoa: Eimeriidae) in cats. J. Protozool., 19, 89-92.
- 2) Frenkel, J. K. and Dubey, J. P. (1972) : Rodents as vectors for feline coccidia, *Iso spor a felis* and *Iso spor a rivolta*. J. Infectious Diseases, 125, 69-72.
- 3) Ito, S., Tsunoda, K. and Nishikawa, H. (1974) : Effects of robenidine and some other drugs on mice experimentally infected with *Toxoplasma*. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart., 14, 129-136.
- 4) 伊藤進午・角田 清・松井利博 (1975) : 2-3 の *Iso spor a* 原虫の固有宿主以外の動物臓器への出現. 寄生虫誌, 24巻 (増), 26頁
- 5) 西川洋昭・伊藤進午・角田 清・松井利博 (1975) : ネコ寄生 *Iso spor a rivolta* の無性生殖期原虫の経口投与による感染の成立. 寄生虫誌, 24巻 (増), 76頁.
- 6) Sheffield, H. G. and Melton, M. L. (1976) : Effects of pyrimethamine and sulfadiazine on the intestinal development of *Toxoplasma gondii* in cats. Am. J. Trop. Med. Hyg., 25, 379-383.
- 7) Tsunoda, K. (1963) : Drug-resistant chicken coccidia (*Eimeria tenella*) and experimental treatment of chickens infected with them. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart., 3, 133-141.
- 8) Tsunoda, K., Suzuki, K., Ito, S. and Tsutsumi, Y. (1966) : Isolation of *Toxoplasma* from experimental pigs medicated with sulfamonomethoxine. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart., 6, 83-88.
- 9) 角田 清 (1968) : 鶏の衛生. 日獣会誌, 21, 39-43.
- 10) 角田 清・石井俊雄 (1971) : 鶏のコクシジウム検査法. 30頁, 鶏病研究会, 東京.

Abstract

EFFECT OF SULFAMONOMETHOXINE AGAINST *ISOSPORA RIVOLTA*
IN CATS

TOSHIHIRO MATSUI, TSUTOMU MORII, TOSHIHIKO IJIMA
(*Department of Parasitology, School of Medicine, Kyorin University,*
Tokyo, Japan)

SHINGO ITO AND KIYOSHI TSUNODA
(*National Institute of Animal Health, Tokyo, Japan*)

Effect of sulfamonomethoxine (SM) against *Isoospora rivolta* was examined in experimentally infected cats. The cats were infected by oral route with the emulsified mesenteric lymph nodes of mice which were previously infected with 1.1×10^5 to 2.7×10^5 *I. rivolta* oocysts.

Each dosage of SM for 3 experimental groups was 50 mg, 100 mg, and 200 mg respectively, per kg of body weight and per day. The period of medication was 7 continuous days from the day of infection. Nonmedicated infected control cats began to discharge oocysts from 4 to 5 days after infection and that O.P.G. value reached from 5.0×10^5 to 1.2×10^6 at the maximum.

In contrary, the medicated cats were quite normal and no oocyst could be found in those cats by the use of sugar floatation method. Moreover, any endogenous stage of *I. rivolta* microorganism was not found by microscopic examination at necropsy. However, it was found that the cats, which fed several visceral organs of the medicated infected cats, began to discharge oocysts from 5 days after fed. From the results obtained, it was clarified that the development of *I. rivolta* in the cat intestine was prevented perfectly. Whereas, the trophozoites penetrated visceral organs, except the small intestine, were not prevented by the SM medication.

Mice infected with a degree of 1.3×10^5 oocysts of *I. rivolta* were examined on the effect of SM. The drug was mixed with a mouse feed at the concentration of 2,000ppm. The period of medication was 8 days from one day before to 6 days after infection. The amount of medicated feed supplied was 5g per mouse a day. Those mice were sacrificed at 13 days after infection and examined the ensheathed-zoites in the mesenteric lymph nodes. The ensheathed-zoites were found in all the infected mice. From the results, it was suggested that SM failed to protect the mice from *I. rivolta* infection.