

## *Eimeria caviae* の生物学的諸性状

藤野隆志 松井利博 森井 勤

(掲載決定:平成3年7月17日)

### 要 約

単一 oocyst 法により純粋に分離した *Eimeria caviae* S-1 株の oocyst をモルモットに経口投与して、その詳細な生活史および形態、病原性などの生物学的諸性状について調べた。

Oocyst の大きさは平均  $21.0 \times 17.2 \mu\text{m}$  で、polar granule, micropyle, 外部残体は認められなかった。Sporozoite 形成時間は  $25^\circ\text{C}$  で約 2 日であった。Prepatent period は 12~13 日, patent period は 3~10 日であった。寄生部位は盲腸と結腸で、原虫はいずれも粘膜上皮細胞に寄生しており、特に腸絨毛の陰窩部付近に集中していた。OPG 値の最高は  $10^6 \sim 10^7$  個台であった。病原性は強く、 $10^5$  個台またはそれ以上の oocyst を経口投与したモルモットでは、12 日目ごろから食欲減退、軟便、下痢便(しばしば粘血便を伴う)などの症状が認められ、中には死亡するものもあった。生活史については全容を解明して記載した。

**Key words:** *Eimeria caviae*, guinea pigs, endogenous stages, biological characteristics

### 緒 言

*Eimeria caviae* は Sheather (1924) によって命名されたモルモットに寄生するコクシジウムで、世界中に広く分布している。わが国においても武藤ら (1985 a, b) により、その高率な寄生が報告されている。しかし、本種の生物学的諸性状についてはまだ十分に解明されておらず、また oocyst の大きさや prepatent period が報告によって若干異なっている (Sheather, 1924; Henry, 1932; Lapage, 1940) ことから、これらの成績には他種が混在している可能性も指摘されている (角田, 1979)。したがって、モルモットに寄生するコクシジウムについては単一 oocyst 法により株化した原虫については、その詳細な生物学的性状を調べる必要がある。

我々は関東地方の実験動物業者より購入したモルモットについてその糞便検査を行った結果、高率にコクシジウムの oocyst を検出し、それらの中から 2 株を純粋に分離した。すでに極めて病原性の強い N-1 株についてはその感染モルモットにおける治療薬の効果を報告した (飯島ら, 1989)。今回は *E. caviae* S-1 株についてその詳細な生活史および他の生物学的諸性状について調べ、あわせてすでに報告されている成績と比較検討したので報告する。

### 材料と方法

供試原虫は、某実験動物業者より購入した自然感染モ

ルモットの糞便から oocyst を分離した後、単一 oocyst 法により純粋分離した S-1 株で、これをモルモットに投与して増殖させた後に使用した。

供試モルモットは体重約 350 g の Hartley 種の雌で、感染前約 1 ヶ月間定期的に蔗糖液浮遊法による糞便検査を行ない、oocyst 陰性であることを確認した後、coccidium-free の管理下で飼育した。

生活史:

モルモット体内における各発育期原虫を観察するために、28 頭のモルモットに 1 頭当り sporozoite 形成 oocyst  $2.0 \times 10^5$  個を経口投与した後、1~14 日目まで 1 日 2 頭ずつ剖検して、それらの十二指腸~直腸および腸間膜リンパ節についてそれぞれ生鮮標本とギムザ染色標本とを作製し、生物顕微鏡にて原虫の検索を行なった。なお原虫の大きさは oocyst ならびに sporocyst については生鮮標本で、それ以外の虫体については塗抹標本をギムザ染色し、それぞれマイクロメーターを用いて計測した。OPG 値の推移と病原性:

OPG 値 (糞便 1g 中の oocyst 数) の推移、prepatent period およびモルモットに対する病原性などを調べる目的で、sporozoite 形成 oocyst  $2.0 \times 10^6$  個とその 10 倍段階希釈系列を  $10^2$  個台まで作製して、1 群 3 頭のモルモットにそれぞれ経口投与した。なお、 $10^6$  個台と  $10^5$  個台投与群とについては病原性を観察する目的でそれぞれ 7 頭および 4 頭を追加した。

## 結 果

生活史：

Oocyst の形は類円形で、その大きさは長径 $17.5\sim 23.8\mu\text{m}$ 短径 $15.0\sim 20.0\mu\text{m}$  (平均 $21.0\times 17.2\mu\text{m}$ )であった。Fig. 1 に大きさの度数分布を $1\mu\text{m}$ 単位で示した。Polar granule, micropyle, 外部残体は認められなかった (Fig. 2)。Sporocyst の大きさは長径 $7.5\sim 14.5\mu\text{m}$ , 短径 $4.8\sim 8.3\mu\text{m}$  (平均 $11.4\times 6.8\mu\text{m}$ )で、内部残体と Stieda body が認められた。2%重クロム酸カリウム溶液で培養した sporozoite の形成時間は $10^\circ\text{C}$ で、6~7日、 $25^\circ\text{C}$ で2~3日、 $30^\circ\text{C}$ では2日であった。モルモットにおける寄生部位は盲腸と結腸で、原虫はいずれも粘膜上皮細胞に寄生していたが、特に腸絨毛の陰窩部付近に集中しており、また宿主細胞の核の位置とは無関係に侵入していた (Fig. 3)。なお、濃厚感染の場合には直腸にも寄生が認められたが、小腸および腸管外組織である腸間膜リンパ節とからは原虫がまったく検出されなかった。

Sporozoite は1~2日目に認められ、その大きさは $9.4\sim 14.7\times 1.3\sim 2.2\mu\text{m}$  (平均 $12.3\times 1.9\mu\text{m}$ )で、核の前後に大きな vacuole が1つずつ認められた (Fig. 4)。成熟 schizont は1日目から認められ、その大きさは $8.0\sim 15.5\times 7.9\sim 12.0\mu\text{m}$  (平均 $11.4\times 9.9\mu\text{m}$ )で、内部に2~16個の merozoite が含まれていた (Fig. 5)。

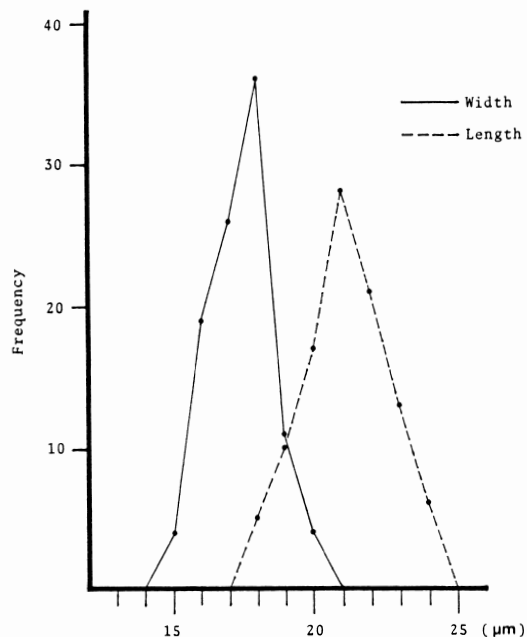


Fig. 1 Frequency distribution of size of oocysts of *E. caviae*.

Merozoite は1日目から認められた (Fig. 6) が、10日目以降には小型のものが多くみられた (Fig. 7)。その大きさは1~9日目までが $7.5\sim 14.8\times 0.9\sim 2.5\mu\text{m}$  (平均 $11.8\times 1.3\mu\text{m}$ )、10~14日までが $5.6\sim 11.0\times 0.7\sim 1.7\mu\text{m}$  (平均 $8.3\times 1.1\mu\text{m}$ )であった (Fig. 8)。しかし、schizogony の代数は明確にできなかった。有性生殖期原虫は11日目から認められた。Microgametocyte の大きさは $8.6\sim 21.8\times 8.3\sim 19.1\mu\text{m}$  (平均 $12.8\times 11.9\mu\text{m}$ )で、中心に大きな残体があり、中に多数の Microgamete が含まれていた (Fig. 9)。Microgamete の大きさは $1.6\sim 3.3\times 0.3\sim 0.8\mu\text{m}$  (平均 $2.3\times 0.5\mu\text{m}$ )で、体部の約3倍の長さの鞭毛が2本認められた。Macrogametocyte は類円形で、その大きさは $5.5\sim 7.8\times 4.7\sim 7.5\mu\text{m}$  (平均 $6.5\times 5.9\mu\text{m}$ )であった (Fig. 10)。Zygote の大きさは $8.8\sim 14.7\times 8.3\sim 13.9\mu\text{m}$  (平均 $11.4\times 10.9\mu\text{m}$ )であった (Fig. 11)。

OPG 値の推移と病原性：

Oocyst の排泄は $10^6$ 個台投与群の一部で12日目から、その他は $10^3$ 個台投与群までが13日目から認められたが、 $10^2$ 個台投与群のみが14日目から検出された。Patent period は3~10日であった。OPG 値の最高は $10^4$ 個台またはそれ以上の投与群で $10^7$ 個台を示したが、 $10^3$ と $10^2$ 個台投与群ではそれぞれ $10^5$ 個台または $10^4$ 個台であった (Fig. 12)。

一方、 $10^5$ 個台またはそれ以上の oocyst を経口投与したモルモットでは、12日目ごろから食欲減退、軟便、下

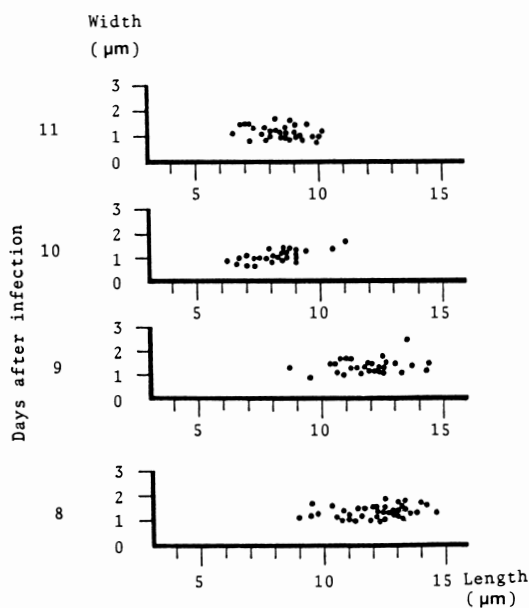


Fig. 8 Distribution of size of merozoites examined on the 8th to 11th day after infection of *E. caviae*.

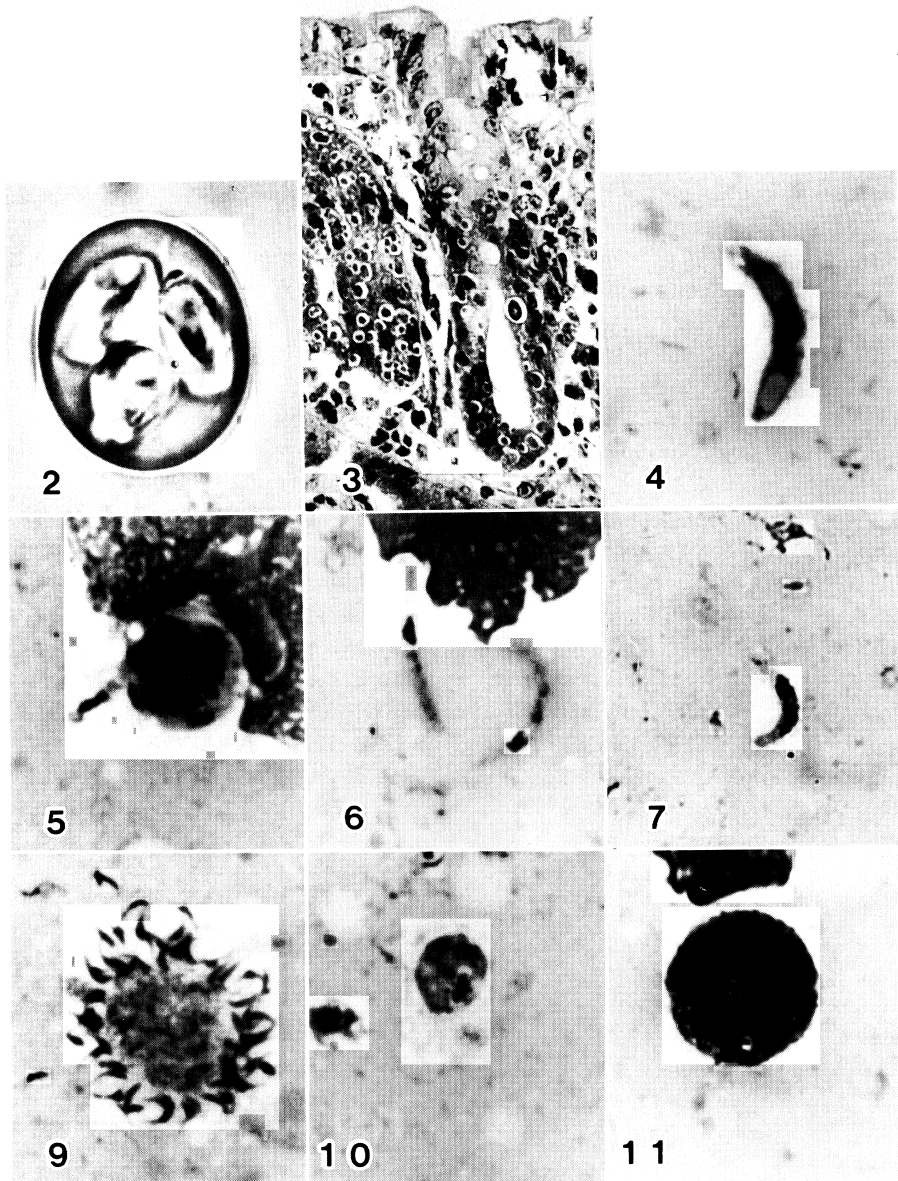


Fig. 2 A sporulated oocyst of *E. caviae*.  $\times 1714$

Fig. 3 Endogenous stages of *E. caviae* in a section stained with hematoxyline-eosin from the colon of guinea pig 12 days after infection.

Figs. 4–7 and 9–11 Asexual and sexual stages of *E. caviae* in smears stained with Giemsa's stain from the colon of guinea pigs.  $\times 1836$

Fig. 4 A sporozoite of *E. caviae* at 1 day.

Fig. 5 A mature schizont of *E. caviae* contained 12 merozoites at 12 days.

Figs. 6–7 Merozoites of *E. caviae*. (Fig. 6: 8 days. Fig. 7: 12 days.)

Fig. 9 A mature microgametocyte of *E. caviae* at 12 days.

Fig. 10 A mature macrogametocyte of *E. caviae* at 12 days.

Fig. 11 A zygote of *E. caviae* at 12 days.

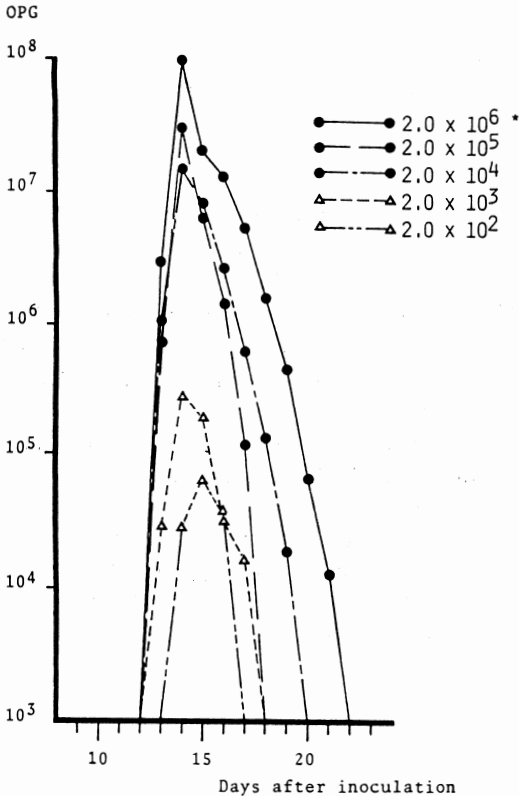


Fig. 12 Mean OPG values in guinea pigs infected with *E. caviae*.  
\* Number of oocysts inoculated.

痢便（しばしば粘血便を伴う）、体重の減少、行動の不活発、被毛粗剛などの症状が認められ、中には死亡するものもあった。これらのモルモットの結腸と直腸には充血や点状出血が認められた。

### 考 察

一般にコクシジウムでは oocyst の形態、prepatent period、寄生部位などがその分類上重要視されている。*E. caviae* の oocyst の大きさは Sheather (1924) によると  $17\sim 25 \times 13\sim 18 \mu\text{m}$  で、Lapage (1940) もこれと類似した成績を報告しているが、Henry (1932) の報告では  $12.8\sim 25.6 \times 12.8\sim 22.4 \mu\text{m}$  で、彼らのそれより約  $5 \mu\text{m}$  小さなものが含まれている。今回分離した S-1 株の oocyst は  $17.5\sim 23.8 \times 15.0\sim 20.0 \mu\text{m}$  で前二者の報告とほぼ類似していた。なお、oocyst の内部構造には報告者による大きな差が認められなかった。Prepatent period については、Sheather (1924) によると 7~13 日であるが、Henry (1932) は大多数のコクシジウムが種によって一定していることから、この成績が汚染の

影響によるものと考えてその追試を行い、11~12日に訂正している。この成績はすでに報告した N-1 株のそれ（飯島ら、1989）と一致しており、今回調べた S-1 株のそれは 12~13 日で 1 日長いもののほぼ類似していた。本種の寄生部位は Sheather (1924) によると結腸、Henry (1932) では盲腸、結腸および一部小腸、Lapage (1940) では結腸と報告されており、S-1 株では盲腸および結腸であったことからほぼ前者らの成績と類似していた。以上の結果から、S-1 株は *E. caviae* と同定し、本種の oocyst の大きさは  $17\sim 25 \mu\text{m}$ 、prepatent period は 11~13 日、寄生部位は盲腸および結腸であるものと考えた。一方、Henry (1932) の報告では約  $5 \mu\text{m}$  小さな oocyst が存在し、また小腸にも少数ながら原虫を認めていることから、モルモットに寄生するコクシジウムには *E. caviae* 以外の種が存在する可能性が推測される。

モルモット体内における原虫の発育については Henry (1932) と Lapage (1940) が報告しているが、特に初期の発育については詳細に調べられていない。今回の観察で sporozoite は oocyst 投与後 1~2 日目に検出され、その核の前後には大きな vacuole が存在し、merozoite は 1 日目から認められ、その大きさは 10 日目を境にして小型のものが増加することが明らかになった。しかし両者の生活史における関係については解明できなかった。

有性生殖期原虫は oocyst 排泄の 2 日前から検出され、この成績と原虫の形態は Henry (1932) や Lapage (1940) の報告とほぼ類似していたが、Lapage (1940) の報告した macrogametocyte については、その大きさが S-1 株の zygote のそれと類似していた。なお、腸管膜リンパ節からは原虫がまったく検出されなかったことから、本原虫は他の多くの *Eimeria* 属原虫と同様に消化管にのみ寄生するものと考えられた。

OPG 値の推移については、すでに N-1 株を用いて調べ、 $10^2\sim 10^4$  個台投与群では、投与数の増加に伴って OPG 値の上昇がみられたことから、oocyst の投与数と OPG 値との間に一部相関関係が認められることを報告した（飯島ら、1989）。しかし、N-1 株は病原性が極めて強く、 $10^5$  個台またはそれ以上の oocyst を投与すると全例が死亡するため、濃厚感染における OPG 値の推移が明らかにできなかった。今回 S-1 株で調べた結果、 $10^4\sim 10^6$  個台投与群ではほぼ同様の推移をたどることが明らかになり、また軽感染の場合には N-1 株と同様の推移を示した。

本種は一般にかなり強い病原性を示すと報告されているが（Henry, 1932; Lapage, 1940; Kleeberg and Steenken, 1963; Pellerdy, 1974; 武藤ら, 1985a, b),

一部では非病原性であるとの報告もある (Flynn, 1973)。今回調べた S-1 株では12日目から食欲減退, 軟便, 下痢便, 体重の減少, 行動の不活発, 被毛粗剛などの臨床症状と, 結腸の充血や点状出血などの病変が認められた。すでに報告した N-1 株は S-1 株よりもさらに強い病原性を示し,  $10^4$  個台の oocyst の投与により半数のモルモットが死亡する (飯島ら, 1989) ことなどを考え合わせると, 本種の病原性については株によりかなり差があるものと考えられる。

#### 文 献

- 1) Flynn, R. J. (1973) : Parasites of Laboratory Animals. Iowa State Univ. Press, Ames., Iowa, 52-54.
- 2) Henry, D. P. (1932) : Coccidiosis of the guinea pig. Univ. Calif. Berkeley, publ. Zool., 37, 211-268.
- 3) 飯島利彦・松井利博・森井 勤・小林富美恵・藤野隆志 (1989) : *Eimeria caviae* 感染モルモットにおける Sulfadimethoxine と Sulfamonomethoxine の効果, 寄生虫誌, 38, 129-134.
- 4) Kleeberg, H. H. and Steenken, Jr. W. (1963) : Severe coccidiosis in guinea-pigs. J. S. Afr. Vet. Med. Ass., 34, 49-52.
- 5) Lapage, G. (1940) : The study of coccidiosis (*Eimeria caviae* [Sheather 1924]) in the guinea pig. Vet. J., 96, 190-202.
- 6) 武藤 健・杉崎正雄・遊佐智栄・野口洋子 (1985a) : モルモットのkokシジウム症に関する研究 1. 臨床-病理学的研究, Exp. Anim., 34, 23-30.
- 7) 武藤 健・遊佐智栄・杉崎正雄・田中金一・野口洋子・田中京子 (1985b) : モルモットのkokシジウム症に関する研究 2. 疫学調査. Exp. Anim., 34, 31-39.
- 8) Pellerdy, L. P. (1974) : Coccidia and Coccidiosis, 2nd ed., Akademiai Kiado, Budapest, 616-618.
- 9) Sheather, A. L. (1924) : Coccidiosis in the guinea pig. J. Comp. Pathol., 37, 243-246.
- 10) 角田 清 (1979) : 獣医臨床寄生虫学. 第7版, 584頁, 文永堂, 東京.

Abstract

ENDOGENOUS STAGES AND THE OTHER BIOLOGICAL CHARACTERISTICS  
OF *EIMERIA CAVIAE* IN GUINEA PIGS

TAKASHI FUJINO, TOSHIHIRO MATSUI AND TSUTOMU MORII

*Department of Parasitology, Kyorin University School of Medicine,  
Shinkawa 6-20-2, Mitaka, Tokyo 181, Japan*

The endogenous stages and the other biological characteristics of *Eimeria caviae* in guinea pigs were studied. The S-1 strain of *E. caviae* was isolated from feces of a natural infected guinea pig purchased from a commercial source. It was purified by a single oocyst isolation and maintained by passage in the coccidium-free guinea pigs. The oocysts were ovoid in shape and  $21.0 \times 17.2 \mu\text{m}$  in size. Micropyle, polar granule and oocyst residual body were not observed. The sporulation time was 2 days at  $25^\circ\text{C}$ . The prepatent period was 12 or 13 days and patent period was 3 to 10 days. Twenty eight guinea pigs given  $2.0 \times 10^5$  oocysts per head were killed at a rate of two a day between the 1st and 14th day post infection (PI), and their small and large intestines were examined. Endogenous stages developed within villous epithelial cells of cecum and colon, and most of the parasites were located near the crypt of the villi. Sporozoites,  $12.3 \times 1.9 \mu\text{m}$  on average, were seen on the 1st and 2nd day PI. Two large vacuoles were present before and behind of the nucleus. Schizonts were observed on and after the 1st day PI and their size was  $11.4 \times 9.9 \mu\text{m}$  on average. They contained 2 to 16 merozoites. Merozoites were seen on and after the 1st day PI and their size was about  $11.8 \times 1.3 \mu\text{m}$  until 9th day. Smaller merozoites, an average size of  $8.3 \times 1.1 \mu\text{m}$ , increased in number between the 10th and 14th day PI. Sexual stages were first seen on the 11th day PI. Mature microgametocytes were about  $12.8 \times 11.9 \mu\text{m}$  in size and each of them contained microgametes measuring  $2.3 \times 0.5 \mu\text{m}$  and a large residual body. Mature macrogametocytes were about  $6.5 \times 5.9 \mu\text{m}$  in size. Zygotes were  $11.4 \times 10.9 \mu\text{m}$  on average. No extra-intestinal stages were observed. The guinea pigs given  $10^5$  and or more oocysts showed several clinical signs (anorexia, diarrhea and rough hair) on and after the 12th day PI.