

哺乳期黒毛和種子牛に対するジクラズリル製剤の予防的投与適期検討

研究開発第二課 中光大輔・麻植香菜子・中島岳人・武平有理子・億正樹

要 約

当県の先行研究では、トルトラズリル製剤を用いた黒毛和種育成牛（約3ヶ月齢）のкокシジウム症予防を検討してきた。しかしながら哺乳期黒毛和種子牛のкокシジウム感染と治療・予防法については明らかになっていないことが多い。本試験では、トルトラズリル製剤と異なり複数回の投与が認められているジクラズリル製剤に着目し、哺乳期黒毛和種子牛に対するкокシジウム感染予防のための適切な投与時期を検討した。ジクラズリル製剤を投与しない対照区（5頭）とジクラズリル製剤を生後10日齢で投与する投与区（5頭）を設定し、12週齢まで下痢の発生有無およびкокシジウムオーシストの有無、日増体量を調査した。対照区だけでなく投与区においても頻繁に下痢とкокシジウムが検出され、日増体量についても両区間で有意差は見られなかった。両区で最も早い個体では5週齢からкокシジウムが検出されたこと、検出されたкокシジウム種のプリパテントピリオドが約1週間であったことから、哺乳期黒毛和種子牛のкокシジウム感染は生後約4週齢から起こっていると推察された。そのためジクラズリル製剤の投与時期についても10日齢ではなく生後約4週齢が適していると予想された。

諸 言

ウシのкокシジウム症は、牛下痢症の最も重要な原因の一つとして知られている。кокシジウム症は主にкокシジウム原虫である *Eimeria* 属原虫が引き起こす消化管感染症である。免疫が十分についていない子牛がкокシジウム症に罹患すると、水様性下痢や血便を呈し、脱水や増体重の低下がみられ、酷い場合には死に至る¹⁾。一般的に治療にはサルファ剤が用いられてきたが、原虫が耐性を示す場合には期待する効果が得られないことが多い。

近年トルトラズリル製剤を適切な時期に投与することにより、下痢を予防しつつкокシジウムへの免疫を付与できるとの報告が頻繁になされている^{2) 3) 4)}。当県でも、黒毛和種子牛が離乳し3ヶ月齢で育成牛舎へ移動する2週間後での製剤投与で育成期のкокシジウム発症が予防できることを明らかにした。しかしながら、トルトラズリル製剤は副作用のため一生に一回しか投与が承認されておらず、育成期に投与する場合は哺乳期には投与することができないため、哺乳期に対しては別の予防対策が必要となる。そこで、トルトラズリル製剤と同様にкокシジウム治療薬であるジクラズリル製剤に着目した。ジクラズリル製剤はкокシジウム予防と治療の両方に用いることができ、複数回の投与も承認されていることから、汎用性が高く哺乳期での使用にも適している。哺乳期における製剤の投与時期については、先行研究で10日齢でのトルトラズリル製剤投与で約10週齢（約70日齢）までкокシジウムオーシストの排泄抑制効果が見られたという報告もある²⁾ ことから、ジクラズリル製剤においても10日齢での投与で大まかな哺乳期間中のкокシジウム感染抑制効果が期待できると考えられる。

よって本試験では、当牧場の哺乳期黒毛和種子牛におけるкокシジウム感染状況を把握し、ジクラズリル製剤（ゼノアック社「ベコクサン[®]」）を用いた哺乳期黒毛和種子牛のкокシジウム症予防効果と製剤投与適期の検証することを目的とした。

材料及び方法

(1) 使用製剤

ゼノアック社「ベコクサン®」を使用し、添付文書の用量で経口投与した。

(2) 供試牛および区分けと試験スケジュール

奈良県みつえ高原牧場所所有の黒毛和種新生子牛 10 頭を用い、表 1 のように対照区 (5 頭) と投与区 (5 頭) に群分けした。投与区では、生後 10 日齢で体重 1 kg 当たりジクラズリルとして 1 mg (製剤 0.4 mL) を単回経口投与した。

表 1 供試子牛の群分け

	個体番号	性別	出生年月日	出生時体重 (kg)
対照区	C-1	♀	R2.6.18	34
	C-2	♂	R2.7.21	33
	C-3	♀	R2.7.30	35
	C-4	♀	R2.8.7	33
	C-5	♂	R2.8.13	34
投与区	T-1	♀	R2.6.18	30
	T-2	♀	R2.7.13	41
	T-3	♀	R2.8.3	42
	T-4	♀	R2.8.5	33
	T-5	♂	R2.8.22	42

(3) 測定項目・方法

(a) 下痢発生有無の確認

各区 12 週齢まで毎週各個体から直腸刺激による糞便サンプリングを行った。サンプリングした糞便を糞便秤量リングですくい上げ、保持できるものを固形便、保持できず流れるものを下痢便として下痢判定を行った。

(b) コクシジウムオーシスト排出量測定と種同定

(a) の糞便サンプリングで得た糞便を用いて、コクシジウムオーシスト数 (OPG) の排出量測定およびコクシジウムの種同定を行った。OPG 測定・種同定については、O リング法⁵⁾によって行った。糞便秤量リングで採取した糞便を水と金網 (60 メッシュ) を用いて漉し、糞液を作成した。糞液を遠心分離したのち、上清を除去し沈殿を得た。得られた沈殿を飽和食塩水で懸濁し、この懸濁液をスライドグラスに貼付した O リングに満たした後、カバーグラスを被せ観察用標本を作成した。これを顕微鏡で観察することにより OPG 測定および種の同定を行った。

(c) 子牛の日増体量測定

供試牛 10 頭の出生時および 12 週齢時における体重を測定した。その 2 つの時点での体重から日増体量を計算した。

(4) 統計処理

日増体量の群間の比較についてはスチューデントの t 検定を用い、有意水準 $p < 0.05$ の場合に有意差ありとした。

結 果

(a) 下痢の発生状況

各区 12 週齢までの下痢発生頭数の推移を図 1 に示す。対照区では 2 週齢、投与区では 3 週齢から下痢が観察され、両区共に 12 週齢まで似たような頻度で下痢が発生した。

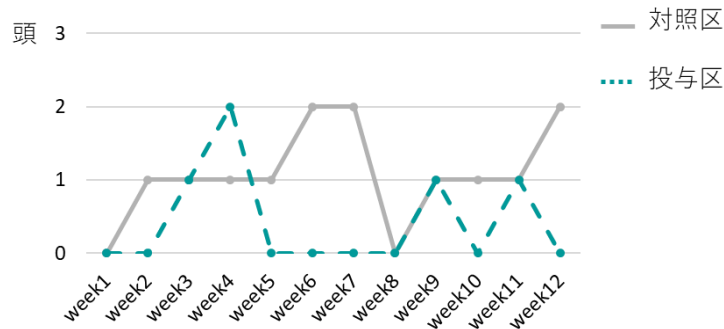


図 1 : 12 週齢までの下痢発生頭数の推移

(b) コクシジウムオーシスト排出量と種同定

コクシジウムオーシストが検出された個体数の推移を図 2 に示す。対照区では 7 週齢、投与区では 5 週齢からコクシジウムを排出する個体が観察された。対照区ではコクシジウムが検出された個体数のピークは 10 週齢時の 2 頭であったのに対し、投与区では 6 週齢時の 3 頭であった。

検出されたコクシジウムの種は *Eimeria alabamensis*、*E. ellipsoidalis*、*E. subspherica* の 3 種であった。各区で検出されたコクシジウムオーシスト数の合計値を図 3 に示す（病原性が軽度といわれている *E. subspherica* については省略している）。対照区では 12 週齢までに検出された最大オーシスト数は 700 であったのに対し、投与区では 5、6、7、11 週齢時に 1000 以上のオーシストが確認された。また、各区個体ごとのコクシジウムオーシスト検出数と下痢発生のタイミングを図 4 および図 5 に示す。両区で下痢発生のタイミングとコクシジウム検出が一致している個体もあれば（個体 C-1, C-2, T-1, T-2）、全く一致していない個体もあった。下痢発生とコクシジウム検出が一致している個体は下痢発生の約 1 週間後にコクシジウムオーシストが検出されていた。

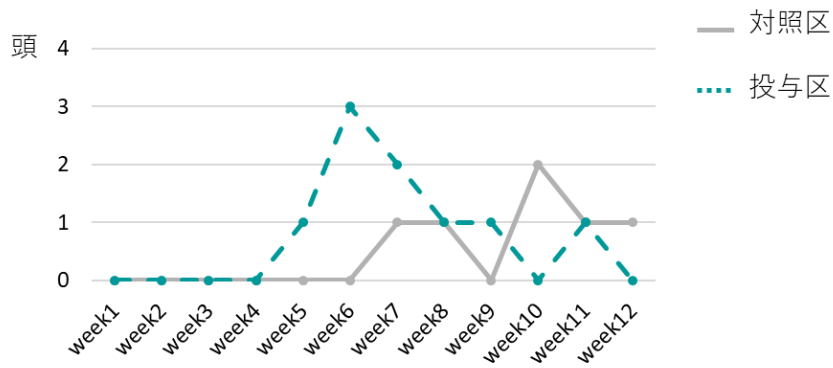


図 2 : コクシジウムオーシストが検出された個体数の推移

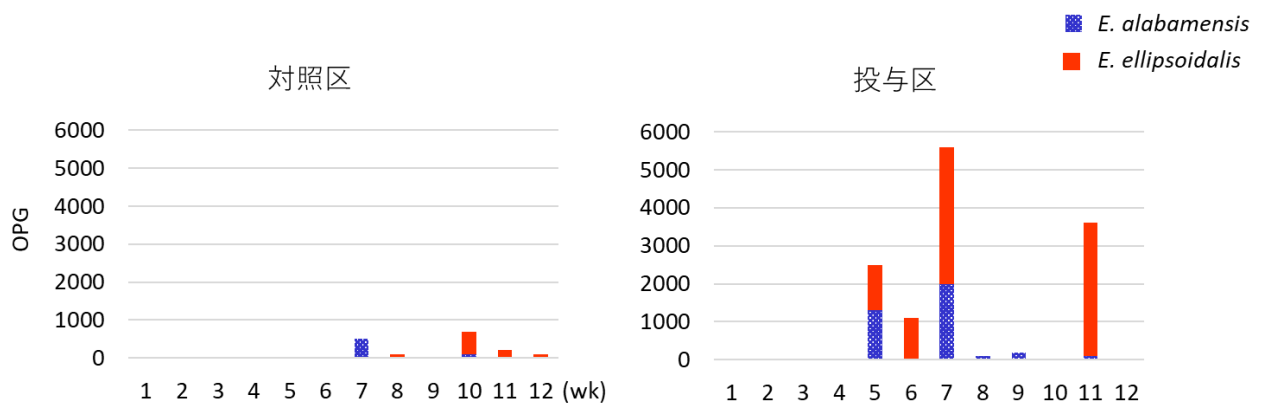


図 3 : 各区におけるコクシジウムオーシスト検出数の合計値

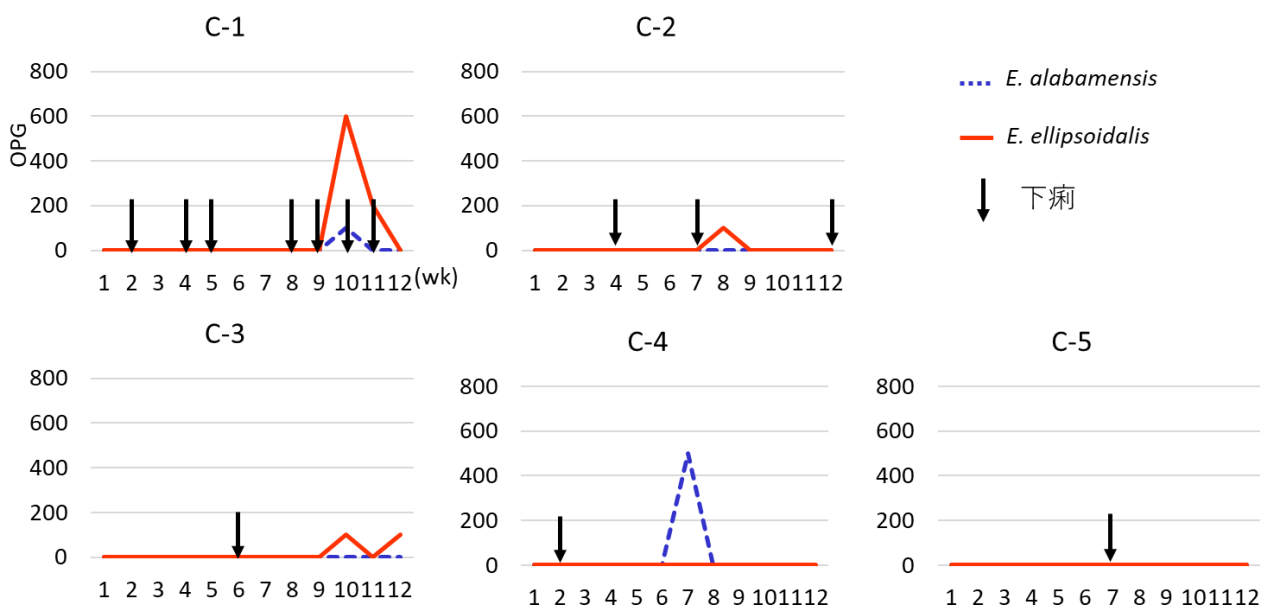


図 4 : 対照区における個体ごとのコクシジウムオーシスト検出数と下痢発生のタイミング

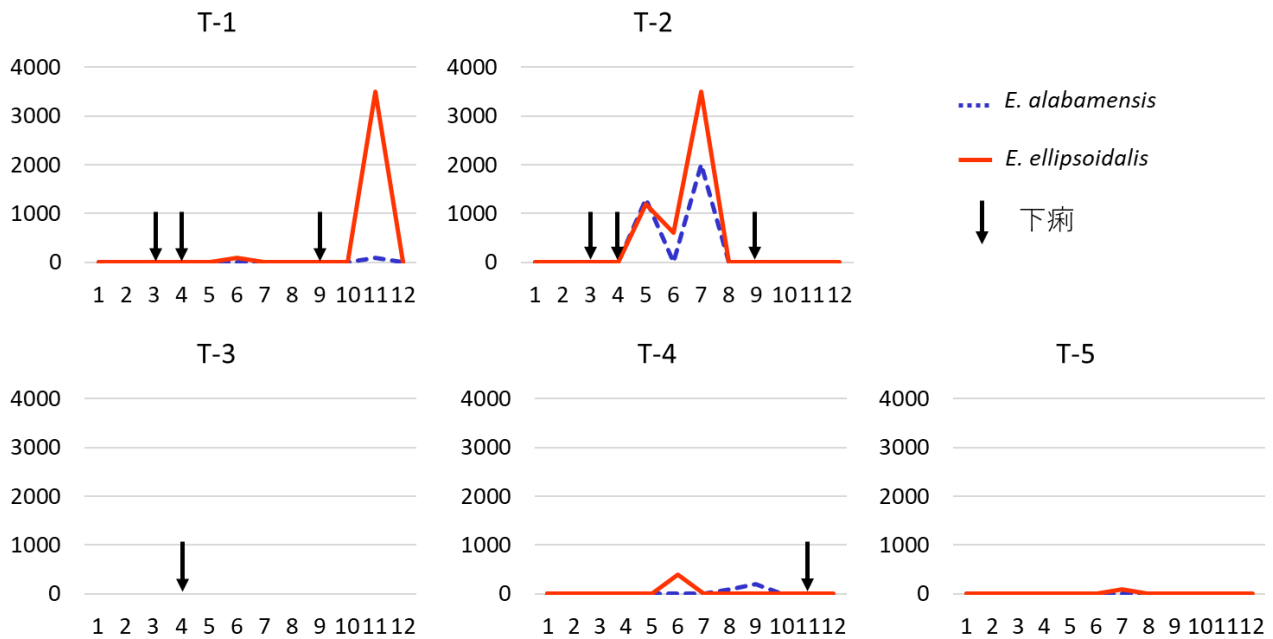


図 5： 投与区における個体ごとのコクシジウムオーシスト検出数と下痢発生のタイミング

(c) 子牛の日増体量

各区における出生時から 12 週齢までの日増体量を図 6 に示す。対照区は平均約 0.77 kg/day、また投与区は平均 0.87 kg/day であったが、両区間で有意差は認められなかった。

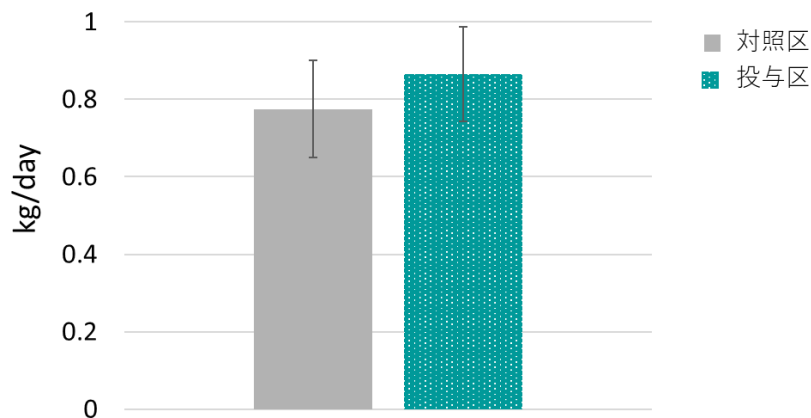


図 6： 各区における日増体量平均値

考 察

本試験では哺乳期黒毛和種子牛のコクシジウム感染時期を明らかにすること、ジクラズリル製剤のコクシジウム症予防効果と製剤投与適期を検討することを目的として調査を行った。

検出されたコクシジウムの種は *E. alabamensis*、*E. ellipsoidalis*、*E. subspherica* の 3 種類であった。このなかでも *E. alabamensis* は当県の先行試験でも検出されており、当場の最優勢種である。また *E.*

alabamensis と *E. ellipsoidalis* の病原性は中程度とされており、水様性下痢を呈する。*Eimeria* 属で特に病原性が高く臨床的に重要なものは *E. zuernii* と *E. bovis* であり、この 2 種の重度感染では激しい出血性下痢がみられる⁹⁾が、本試験では検出されなかった。以上のことから、当牧場で臨床的に重要な種は *E. alabamensis* と *E. ellipsoidalis* の 2 種であるといえる。

E. alabamensis と *E. ellipsoidalis* のプリパテントピリオド（宿主に感染後、虫卵を排泄するまでの日数）はそれぞれ約 6-11 日、約 8-13 日といわれている⁶⁾⁷⁾⁸⁾。本試験の個体ごとのコクシジウムオーシスト検出数と下痢発生タイミングの結果（図 4、図 5）から、下痢とコクシジウム検出がおおよそ一致している個体については、下痢発生の約 1 週間後にコクシジウムオーシストが検出されていた。これは *E. alabamensis* と *E. ellipsoidalis* のプリパテントピリオドが約 1 週間であるため、2 種が宿主に感染したあと腸管内に作用し糞便と共に排泄されるのに約 1 週間かかるということを示唆している。本試験の対照区および投与区の結果より、最も早い個体では 5 週齢でコクシジウムが糞便から検出されていることから（図 4）、当牧場では 5 週齢より 1 週早い 4 週齢のタイミングでコクシジウム感染が発生していると予想される。

本試験でジクラズリル製剤を 10 日齢で投与した投与区では、コクシジウムが検出された個体数およびコクシジウムオーシスト検出数ともに対照区よりも多いという結果（図 2、図 3）になり、当初期待していた予防効果は得られなかった。先述のとおり、先行研究では同様にコクシジウム治療薬であるトルトラズリル製剤を 10 日齢で投与することで約 10 週齢（約 70 日齢）までコクシジウムオーシストの排泄抑制効果が見られたという報告があったため、本試験ではジクラズリル製剤においても 10 日齢投与を採用した。しかしながら、両製剤の作用機序等の違いによるものなのかは明らかではないが、両製剤の投与結果は大きく異なっていた。ジクラズリルの作用機序は正確には知られていないが、コクシジウム類の無性または有性生殖期に作用してオーシストの排出を阻止し、生活環を妨害すると考えられている⁹⁾。そのため、コクシジウムに感染し始めるタイミングが重要であり、宿主体内にある程度コクシジウムが存在している状態でジクラズリル製剤を投与するのが良いと考えられる。本試験の結果により当牧場でのコクシジウム感染は 4 週齢から発生していると予想されることから、ジクラズリル製剤の適切な投与時期は約 4 週齢であると考えられる。

以上より、本試験から当牧場における哺乳期黒毛和種子牛のコクシジウム感染時期および主となるコクシジウム種を特定した。またジクラズリル製剤の投与時期については更なる検証が必要ではあるが、生後約 4 週齢が最適なタイミングである可能性が示唆された。

参考文献

- 1) 平健介：牛の内部寄生虫病の現状と検査法の一例 第 37 巻第 5 号 22-28(2019)
- 2) 武田賢治ら：生後 10 日齢の黒毛和種子牛におけるトルトラズリル製剤の投与効果 岐阜県畜産研究所研究報告 10 1-10(2010)
- 3) 堀井洋一郎：総論：牛コクシジウム症 臨床獣医 第 34 巻第 5 号 12-15(2016)
- 4) Pierre Philippe et al. : Comparative efficacy of diclazuril(Vecoxan) and toltrazuril(Baycox bovis) against natural infections of *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* in French calves. Vet Parasitol. 206:129-137(2014)
- 5) 平健介ら：牛コクシジウム症の糞便検査法：臨床獣医師のための簡易 OPG 検査法 臨床獣医 第 34 巻第 8 号 16-21(2016)

- 6) 平健介, 斉藤康秀: コクシジウム病の発生状況および予防対策の現状 家畜診療 54巻9号 515-521 (2007)
- 7) 福本真一部: コクシジウム症 新版牛の臨床 326-330(2002)
- 8) 石井俊雄: 獣医寄生虫学・寄生虫病学1総論/原虫 66-67(1998)
- 9) **European Medicines Agency Veterinary Medicines Evaluation Unit**: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINA PRODUCTS DICLAZURIL SUMMARY REPORT (1). EMEA/MRL/086/96-FINAL(1996)