# 水様下痢を呈したカピバラ(Hydrochoerus hydrochaeris) 2 症例における共生繊毛虫の消失

松尾加代子<sup>1,2)\*</sup>, 竹内由佳<sup>3)</sup>, 常盤俊大<sup>4)</sup>, 所 正治<sup>5)</sup>, 酒井洋樹<sup>6)</sup>, 幸田知子<sup>7)</sup>

- 1) 熊本県阿蘇保健所 〒 869-2612 熊本県阿蘇市一の宮町宮地 2402
  - 2) 岐阜大学応用生物科学部 〒 501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1
  - 3) 株式会社阿蘇熊牧場 〒 869-2225 熊本県阿蘇市黒川 2163
- 4) 日本獣医生命科学大学獣医学部獣医学科 〒180-8602 東京都武蔵野市境南町1-7-1
  - 5) 金沢大学医薬保健研究域医学系 〒 920-8640 石川県金沢市宝町 13-1
  - 6) 岐阜大学応用生物科学部共同獣医学科 〒 501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1
- 7) 大阪公立大学大学院獣医学研究科 〒 598-8531 大阪府泉佐野市りんくう往来北 1 番地の 58

(2021年12月5日受領, 2022年3月26日採択)

#### 要 約

動物展示施設で飼育されていたカピバラ 6 頭のうち 2 頭に下痢がみられ、メトロニダゾールの投与により一時的に便性状の改善を認めたが、その後に再度水様下痢を呈し死亡した。生存個体の糞便には腸管に寄生するオフリオスコレックス科繊毛虫を多数認めたが、これらの繊毛虫はメトロニダゾール投与歴のある 1 頭および死亡 2 症例では検出できなかった。これらの結果より、植物食であるカピバラの消化吸収の大部分を担う盲腸内発酵を支える共生繊毛虫への影響も今後考慮する必要があると思われた。

キーワード:カピバラ、オフリオスコレックス科繊毛虫、水様下痢

— 日本野生動物医学会誌 27(2):139-144,2022

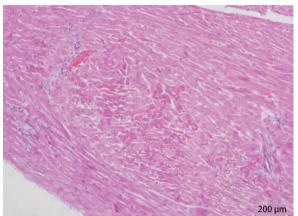
カピバラ Hydrochoerus hydrochaeris は南米原産の世界最大の齧歯類であり、その体長は 106~134 cm、体高 50~62 cm、体重 35~66 kg にもなる [1]。体重に性差はないが、地理的分布によって体重差がみられる。生涯のほとんどを水辺で過ごす半水生で指趾には水掻きが認められ、排便や排尿、交尾も水中で行う。草食性で、消化吸収の約 70%を盲腸での後腸発酵が担い、食糞を行うことも知られている [2-4]。寿命は野生下で 5~10年、飼育下では 10年以上生きることもある [1]。国内には 1965 年頃に近藤典生東京農工大学教授によりベネズエラから導入され [4]、以来北海道から沖縄まで多くの動物園、水族館等で飼育されている。比較的穏やかな性格のため餌やりなどのふれあい展示が行われている施設も多いが、この動物の疾病に関する情報は未だ少ない。今回、水様下痢を呈して死亡したカピバラ 2 症例において共生繊毛虫の消失を認めたので報告する。

施設で飼育されるカピバラは 6 頭で、国内の動物園から移入された個体 A(雌)と動物商から購入された個体 B(雄)とその子供 4 頭(C ~ F,D のみ雌)である。死亡した個体 A、C の 2 頭および D は同じエリアで飼育されていたが、雌同士である A,D と雄の C は簡易な柵で区画されていた。また,このエリアにはアルパカ Vicugna pacos が係留されている他,近くにふれあい動物としての牛も係留されていた。個体 B は単独で飼育されており,2021年1月14日に下痢症状を呈したため,メトロニダゾール 15 mg/kg を 1日2回(BID:bis in die)5日間投与し,便性状の改善を認めた治療歴があった。

**症例 1**:個体 C (雄), 2017 年 7 月 19 日生 (3 歳), 個体 A の子

2021年5月16日(第0病日),急性の水様下痢が見られた。食欲等に変化はなかった。直接塗抹による糞便検査で多数の繊毛虫類とトリコモナス類等が認められ、比較的大型の長桿菌やらせん状の菌が動き回る様子が観察された。同日、生菌製剤(宮入菌末)を10~20g/dayで混餌投与、メトロニダゾール15 mg/kg、BIDで経口投与した。第2病日には軟便となり、

<sup>\*</sup> 責任著者: 松尾加代子 (E-mail: alaeuris@violin.ocn.ne.jp)



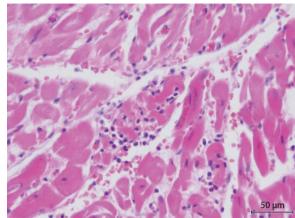


図1 カピバラ症例2の心臓(左:弱拡大,右:強拡大) 心臓全体におよぶ心筋の巣状壊死が観察された。

第4病日で正常便に戻ったため,第5病日にメトロニダゾールの投与を終了した。糞便検査では原虫類や大型桿菌など投与前には活発に動いていた微生物の消失が認められた。第8病日、夕方に下痢が再発した。第9病日には水様下痢を呈し、食欲低下がみられた。第10病日朝、ショック状態で倒れているのを発見し、まもなく死亡を確認した。剖検により採取した盲腸の病理組織学的検査では軽度の慢性盲腸炎と診断された。

**症例2**: 個体A(雌),国内他施設より導入,2013年2月26 日生(8歳)

2021年5月24日(第0病日)より下痢が見られたが、糞 便検査では症例1と同様に常在の大型繊毛虫,長桿菌等が多 数動いているのが認められた。同日、生菌製剤(宮入菌末) 10~20 g/day を混餌投与した。翌日には便性状は改善。第7 病日,再び下痢を呈したため,宮入菌末に加え,Streptcoccus faecalis T-110 (乳酸菌), Clostridium butyricum TO-A (酪酸 菌) および Bacillus mesentericus TO-A (糖化菌) を含む生菌 製剤およびビタミンC顆粒の混餌を開始した。糞便検査では 依然として繊毛虫を多数認めた。第12病日,軟便ないし泥状 便の排出が続き、軽度の食欲不振が見られたため、メトロニダ ゾール 15 mg/kg, BID の経口投与を追加した。第 14 病日, 柔 らかいが有形便の排泄が見られた。第15病日,便性状はほぼ 正常に戻ったが残餌の増加がみられた。第17病日よりメトロ ニダゾールを 10 mg/kg, BID に減量した。糞便検査では繊毛 虫類が消失し、細菌叢がメトロニダゾール投与前と変化してい た。第20病日,メトロニダゾールをさらに減量し,5 mg/kg, BID としたが、食欲不振は続き、笹や乾草は食べるが野菜は摂 取しない状態が継続した。第21病日朝,頻回の水様下痢を呈し, 食欲低下および脱水所見が見られたため、対症療法として乳酸 リンゲル, 腸蠕動促進剤およびビタミン剤の皮下点滴を行った。 第22病日,水様下痢は継続し,脱水は顕著で食欲は廃絶し,歩様蹌踉,起立困難を呈した。前日と同様に補液を行うが死亡した。採材した主要臓器の病理組織学的検査では1例目と同じく軽度の慢性盲腸炎が認められた他,心臓全体にわたる心筋の巣状壊死(図1)が観察されたが,死因の特定には至らなかった。また,微生物学的検索を行うために盲腸内容を採材した。

#### 微生物学的検索

症例2:死亡後に採取され冷蔵状態で2日間経過した盲腸内容 を用い,以下の細菌分離培養を実施した。盲腸内容はセルスト レイナー (100 μm) で濾過し, 10,000 rpm, 10 分間遠心し た沈査を生理食塩水 0.5 ml で 2 倍に懸濁したものと盲腸内容 を生食で10から104倍に希釈したものを検体とした。これら 検体を 10% 卵黄加 CW 寒天培地 (嫌気), 羊血液寒天培地 (嫌 気・好気)、SS 寒天培地、DHL 寒天培地に 0.1 ml ずつコンラー ジ棒で塗布し培養した。グラム陽性球菌をマンニット培地, グ ラム陰性桿菌を DHL 寒天培地に塗布し、好気培養した。また、 芽胞の有無を調べるために、盲腸内容 0.3 ml を 10,000 rpm, 10 分間遠心し、沈査を 0.1 ml 滅菌水で懸濁、0.23 ml の 99% エタノールを添加し、室温で10分間静置した後、羊血液寒天 培地に塗布し培養した。発育したコロニーを血液寒天培地に塗 布し、好気と嫌気培養を行った。上記の方法で得られたグラム 陽性球菌(DHL寒天培地:好気), 羊血液寒天培地(嫌気•好気) で得られたグラム陰性短桿菌とグラム陽性桿菌のコロニーから 熱抽出により DNA を抽出,即ち滅菌水 100 μl にコロニーを懸 濁し、15分間煮沸した後、遠心した上清をテンプレートとし、 16S rDNA 遺伝子領域の塩基配列解析を行った。

結果, グラム陽性球菌は, Enterococcus sp. (Api 20 STREP V8.0 により Enterococcus avium), グラム陰性短桿菌は



**図2** カピバラ症例2から分離された*Clostridium teritium* のグラム染色像

グラム陽性にもグラム陰性にも見える染色態度と一部芽胞が観察された。

Enterobacter sp., グラム陽性桿菌は好気、嫌気条件下の両コロニーとも Clostridium teritium と同定された。C. teritium のグラム染色態度は不安定でグラム陰性桿菌様に染まるものもあった(図 2)。得られた C. teritium について 8 種類の薬剤 (メトロニダゾール、セフタジシム、モクサラクタム、イミベネム、リンコマイシン、クロラムフェニコール、オーグメンチンおよびテトラサイクリン)に対する感受性についても検査を行った。結果、表 1 に示すように今回分離された C. tertium はメトロニダゾール他 4 種の薬剤に耐性を示した。

また、施設内で飼育される他のカピバラ 4 頭(個体 B,D  $\sim$  F)の糞便中にも C. tertium が存在するのか、同様に細菌検査を行ったが、Bacillus spp.,Brevibacillus lacterosporus が検出されたのみであった。

### 寄生虫学的検索

2 症例においてメトロニダゾール投与後に糞便内の繊毛虫が消失したことを受け、2021年6月21日に生存している4頭(個体B,D~F)について排出直後の糞便をホルマリン固定し、その沈査をメチルグリーン・ホルマリン・塩化ナトリウム混合液(MFS液:メチルグリーン 0.3 g,塩化ナトリウム 8.0 g,10% 希釈ホルマリン液 1 L)で5倍希釈した後、光学顕微鏡下で繊毛虫を観察した。繊毛虫を認めた3頭(個体D~F)で、エントディニオモルファ目オフリオスコレックス科の Entodinium spp. が共通してみられた他、個体DからはElytroplastron bubali を検出した(図3)。繊毛虫が検出されなかった個体Bは5ヵ月前にメトロニダゾール投与歴があり、

**表 1** カピバラ症例 2 から分離された C. tertium の薬剤感受性

薬剤名	感受性
ニトロイミダゾール系	耐性
メトロニダゾール	
セフェム系(セファロスポリン系)	耐性
セフタジシム	
セフェム系(セファマイシン系)	中間
モクサラクタム	中间
カルバペネム系	耐性
イミベネム	
リンコマイシン	耐性
クロラムフェニコール	感性
β - ラクタマーゼ阻害剤合剤	<b>武州</b>
オーグメンチン(アモキシシリン・クラブラン暦	感性 変)
テトラサイクリン	感性

他の個体では投与歴は無かった。個体Bについては、メトロニダゾール投与半年後の7月23日にも新鮮糞便を直接薄層塗抹し観察したが、繊毛虫は観察されなかった。

# 考察

カピバラの盲腸は牛のルーメンや馬の大腸と同じく,植物 性食餌の消化吸収の要である発酵タンクとして機能しており, その消化吸収能は小型反芻獣である羊にも勝ると言われてい る [1-4]。草食哺乳類の消化管内発酵には多種多様な細菌、原 虫,真菌などが関わっている[5-8]。またカピバラからも多 くの繊毛虫や細菌が報告されている [9-13]。しかし、古くか ら研究が行われている牛のルーメンですら培養可能なものは 約1割程度と言われている[5,14]。また,動物園飼育のカピ バラでは野生下個体が保有しているカピバラ固有の繊毛虫が 失われる傾向があるとされており [9], 今回得られた繊毛虫 Entodinium spp. と E. bubali も共にカピバラ固有の繊毛虫では なく、反芻類由来のものであった「9]。通常、抗菌性物質製 剤によって排除された腸内細菌は次第に回復し, 固有の微生物 叢を再構築していくが、そのまま永久に戻らない場合がある [15]。今回、水様下痢を呈した2症例では治療経過中に糞便 内の繊毛虫の消失が認められた。今回用いた 15 mg/kg, BID というメトロニダゾールの投与量については、Association of Zoos and Aquariums の Capybara Care Manual [16] に投与量 25 mg/kg との記載があり、15 mg/kg の用量を投与された個 体 B はメトロニダゾール投与後も下痢を起こすことなく植物 性の食餌を消化している。しかし、個体 B ではメトロニダゾー

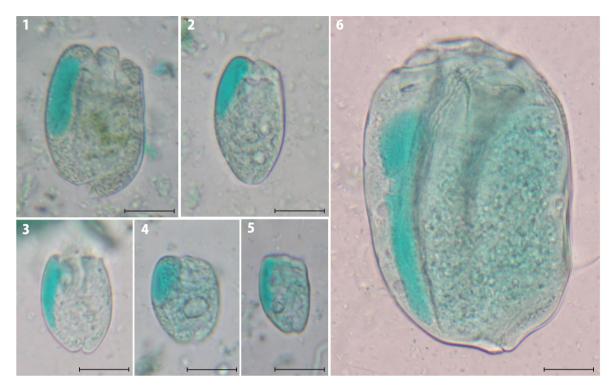


図3 カピバラ (個体 D  $\sim$  F) の糞便から検出されたエントディニウム目オフリオスコレックス科繊毛虫 (MFS 染色像)  $1\sim5:$  Entodinium spp. 6: Elytroplastron bubali Bar =  $20~\mu m$ 

ル投与後、半年経過しても糞便内に光学顕微鏡下において繊毛虫がまったく観察されない。食物が同じであれば全く違う生物であっても構成の異なる腸内微生物叢が同じ機能を持つことが報告されている [17,18]。同様の食餌を消化していても個体によって腸内微生物叢の構成が異なることが推察されるため、下痢を呈したカピバラでは、後腸発酵動物であることに留意し、生命維持に必須の発酵タンクである盲腸内の原虫、細菌を含む共生微生物叢が攪乱されることによる影響を考慮する必要があると思われた。

症例 2 の盲腸内容から分離された C. tertium は、偏性嫌気性である Clostridium 属菌の中でも異質である酸素耐性嫌気性を示し、嫌気条件下のみならず好気培養でも増殖し芽胞形成もみられる [19]。今回の結果でも見られたようにグラム染色態度も不安定でグラム陰性桿菌に見えることもあり、Bacillus と誤認されたり同定不能のまま処理されたりする事例も多いと推察される。C. tertium は土壌や人、動物の腸管にも分布し、最初の報告は第一次世界大戦時に負傷兵の創傷からの分離である [19]。毒素産生性もなく非病原性で患者から分離されたとしてもコンタミネーションだと思われていたが、近年、免疫不全者や好中球減少下で人の血液から分離される例が報告され始め [20]、病原性について再検討されてきている [21]。また、セ

ファロスポリンやメトロニダゾールに耐性を示す事例も知られており、実際上述のように症例 2 より得られた C. tertium はメトロニダゾールなどいくつかの薬剤に耐性を示した(表 1)。動物での症例は、スジイルカ Stenella coeruleoalba の膿瘍[22]、ウサギ Oryctolagus cuniculus の腹腔内肉芽腫 [23]、ゴシキセイガイインコ Trichoglossus haematodus の腸炎 [24]、オオバタン Cacatua moluccensis の巨大結腸症 [25] 牛の腸炎 [26] などの報告がある。しかし、今回のカピバラ 2 症例で観察されたような水様下痢の報告はなく、死亡原因とともに今後の検討課題と考えられた。

## 引用文献

- 1. マクドナルド DW, エルレラ E. 1986. カピバラ. 動物大百科 小型草食獣(マクドナルド DW 編). pp.112-115. 平凡社, 東京.
- Moreira JR, Ferraz KMPMB, Herrera EA, Macdonald DW.
  2014. Capybara: biology, use and conservation of an exceptional neotropical species. Springer, New York.
- 3. Lall KR, Jones KR, Garcia GW. 2018. Nutrition of six selected neo-tropical mammals in Trinidad and Tobago with the potential for domestication. *Vet Sci* 5, 52: 1-18.
- 4. 川島由次, 仲田 正, 高橋 宏. 1985. 将来の食肉資源として

- のカピバラ (Hydrochoerus hydrochaeris)の生産性. 南方資源利用技術研究会 1: 13-22.
- 5. 三森眞琴. 2014. ルーメン機能を支える微生物. 家畜感染症 学会誌 3: 41-44.
- 6. 坂田 隆. 1999. ほ乳動物の食性と消化管の構造・機能. 味と 句学会誌 6: 191-201.
- 7. 今井壮一. 1995. 形態と分布から見たルーメン内繊毛虫の系統分類. 原生動物誌 28: 1-9.
- 8. Fregulia P, Cedrola F, Dias RJP, D'Agosto M. 2020. Checklist of Cycloposthiidae species (Ciliophora, Entodiniomorphida), with a brief review on taxonomy, morphology and hosts. *Zootaxa* 4821: 88-104.
- 9. Dehority BA. 1987.Rumen ophryoscolecid protozoa in the hindgut of the capybara (*Hydvochoevus hydvochaevis*). *J Protozool* 4: 143-145.
- 10. García-Amado MA, Godoy-Vitorino F, Piceno YM, Tom LM, Andersen GL, Herrera EA, Domínguez-Bello MG. 2012. Bacterial diversity in the cecum of the world's largest living rodent (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Microb Ecol* 63:719-725.
- 11. Ito A, Imai S. 2000. Ciliates from the cecum of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in Bolivia 1. The Families Hydrochoerellidae n. fam., Protohallidae, and Pycnotrichidae. *Eur J Protistol* 36: 53-84.
- 12. Ito A, Imai S. 2000. Ciliates from the cecum of Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in Bolivia 2. The family Cycloposthiidae. *Eur J Protistol* 36: 169-200.
- 13. Cedrola F, Fregulia P, D'Agosto M, Dias RJP. 2018. Intestinal ciliates of Brazilian capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris* L.). *Acta Protozool* 57: 61-67.
- 14. 小林泰男. 2019. 消化管環境の制御による家畜生産性の向上と代謝障害の予防. 家畜感染症誌 8: 43-50.
- 15. Willing B, Russell S., Finlay B. 2011. Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nature Rev Microbiol* 9: 233-243.
- AZA Rodent, Insectivore and lagomorph TAG. 2021.
  Capybara Care Manual. Association of Zoos and Aquariums, Maryland.

- 17. Song SJ, Sanders JG, Baldassarre DT, Chaves JA, Johnson NS, Piaggio AJ, Stuckey MJ, Nováková E, Metcalf JL, Chomel BB, Aguilar-Setién A, Knight R, McKenzie VJ. 2019. Is there convergence of gut microbes in blood-feeding vertebrates? *Phil Trans R Soc* B374: 20180249.
- 18. 長谷川政美. 2020. *共生微生物からみた新しい進化学*. 海鳴社. 東京.
- 19. Thaler M, Gill V, Pizzo PA. 1986. Emergence of *Clostridium tertium* as pathogen in neutropenic patient. *Am J Med* 81: 596-600.
- 20. Vanderhofstadt M, André M, Lonchay C, Levecque P, Holemans X, Canon JL, D'Hondt L. 2010. *Clostridium tertium* bacteremia: contamination or true pathogen? A report of two cases and a review of the literature. *Int J Infect Dis* 14: 335-337.
- 21. Muñoz M, Restrepo-Montoya D, Kumar N, Iraola G, Herrera G, Ríos-Chaparro DI, Díaz-Arévalo D, Patarroyo MA, Lawley TD, Ramírez JD. 2019. Comparative genomics identifies potential virulence factors in *Clostridium tertium* and *C. paraputrificum. Virulence* 10: 657-676.
- 22. Seol B, Gomercic MD, Naglic T, Gomercic T, Galov A, Gomercic H. 2006. Isolation of *Clostridium tertium* from a striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in the Adriatic Sea. *J Wildlife Diseases* 42: 709-711.
- 23. D'Elia ML, Santos AB, Ribeiro BNT, Tôrres R, Santos RL, Silva ROS, Nepomuceno AC. 2019. Intra-abdominal granulomas caused by *Clostridium tertium* in an American Fuzzy Lop rabbit. *Ciência Rural* 49: 1-5.
- Ferrell ST, Tell L. 2001. Clostridium tertium Infection in a Rainbow Lorikeet with Enteritis. J Avian Med Surg 15: 204-208.
- Hess L, Bartick T, Hoefer H. 1998. Clostridium tertium infection in a Moluccan cockatoo (Cacatua moluccensis) with megacolon. J Avian Med Surg 12: 30-35.
- 26. Silvera M, Finn B, Reynolds KM, Taylor DJ. 2003. *Clostridium tertium* as a cause of enteritis in cattle. *Vet Rec* 153:60.

Case report Parasitology

# Disappearance of Symbiotic Ciliates in 2 Cases of Capybara (Hydrochoerus hydrochaeris) with Watery Diarrhea

Kayoko MATSUO<sup>1, 2)</sup>\*, Yuka TAKEUCHI<sup>3)</sup>, Toshihiro TOKIWA<sup>4)</sup>, Masaharu TOKORO<sup>5)</sup>, Hiroki SAKAI<sup>6)</sup>, Tomoko KOHDA<sup>7)</sup>

1)Kumamoto Prefectural Aso Public Health Center, 2402, Miyaji, Ichinomiya-machi, Aso, Kumamoto 869-2612, Japan

2) Faculty of Applied Biological Science, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

3) Aso Kumabokujyo Co., Ltd, Kurokawa 2163, Aso, Kumamoto 869-2225, Japan

4) Fuculty of Veterinary Science, Nippon Veterinary and Life Science University,

1-7-1 Kyonancho, Musashino, Tokyo 180-8602, Japan

5) Department of Parasitology, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University,

13-1, Takara-Machi, Kanazawa 920-8640, Ishikawa, Japan

6) Joint Department of Veterinary Medicine, Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University,

1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan

 $7)\ Graduate\ School\ of\ Veterinary\ Sciences,\ Osaka\ Metropolitan\ University,$ 

1-58, Rinkuouraikita, Izumisano, Osaka 598-8531, Japan

(Received 5 December 2021; accepted 26 March 2022)

#### **ABSTRACT**

Two of six captive capybaras in a zoo had developed diarrhea and were given metronidazole to which they responded and the fecal appearance improved temporarily, however, both subsequently developed severe watery diarrhea and died. A large number of ciliates of the family Ophryoscolecidae, which parasitize the intestinal tract, were found in the fecal samples from three of the four surviving animals. These ciliates could not be detected in the two dead and one surviving capybara with a history of previous metronidazole administration. These results indicated that it might be necessary to consider the influence on the microflora including some key symbiotic ciliates and bacteria for digestion and absorption in the digestive system.

Key words: capybara, Ophryoscolecidae ciliates, watery diarrhea

— Jpn J Zoo Wildl Med 27(2): 139-144, 2022

<sup>\*</sup> Corresponding author: Kayoko MATSUO (E-mail: alaeuris@violin.ocn.ne.jp)