

Trueperella(*Arcanobacterium*) *pyogenes*および*Fusobacterium necrophorum*による子牛の肺炎

県中央家畜保健衛生所

松本 英子	篠崎 隆
英 俊征	小菅 千恵子
高山 環	永野 未晴
和泉屋 公一	前田 卓也

はじめに

*Arcanobacterium pyogenes*は、2011年に新しい属名が提唱され、現在*Trueperella pyogenes*（以下T p）が正式名称となっている¹⁾。T pは、グラム陽性の通性嫌気性の小桿菌で、タンパク分解酵素であるプロテアーゼと溶血性の外毒素を産生する、皮膚や臓器に化膿性炎症を起こす日和見感染菌である²⁾。*Fusobacterium necrophorum*（以下F n）はグラム陰性の偏性嫌気性の細長桿菌で、ロイコトキシンを産生し、壊死と膿瘍を主徴とする疾患や二次感染症を起こす³⁾。

今回これら2種類の細菌が関与した子牛の肺炎の発生があったのでその概要を報告する。

発生の概要

県内の乳肉複合経営農場で、平成24年6月頃から2～3ヶ月齢の肉用子牛が肺炎症状を呈し、死亡する事例が頻発した。当該農場では、場所の離れた3カ所の農場（以下A農場、B農場、C農場）を有しており、肺炎症状はそのうちA農場で見られた。A農場では、肉用子牛、乳用牛の成牛および子牛を飼養していた。肉用子牛は、B農場で出生後すぐにA農場の牛舎の一角でベニヤ板で一頭一頭仕切られ個飼いされ、約3ヶ月齢でA農場の別牛舎のパドックで群飼され、約6ヶ月齢でC農場へ移動していた。

平成25年4月17日、A農場のパドックで肺炎症状を呈していた肉用子牛が死亡したため、翌日病性鑑定を実施した。死亡子牛は、平成25年3月、個飼いで飼養されていた際に肺炎症状を呈し、ペニシリンおよびカナマイシンにより治療し、症状が回復したためパドックへ移動した。その後、4月8日に再度

肺炎症状を示し、エンロフロキサシンにより治療したが、11日に容態が悪化、14日にペニシリンおよびカナマイシンにより治療したが17日に死亡した。死亡子牛のいたパドックでは、約半数に発咳が見られていた。

また、平成25年4月17日、個飼いされていたの肉用子牛のうち、鼻汁漏出や発咳などの肺炎症状が重篤な4頭の鼻腔スワブを採材し、病性鑑定を実施した。

材料と方法

1 材料

(1) 死亡子牛

約3ヶ月齢、黒毛和種、雌、1頭

(2) 同居牛の鼻腔スワブ

2～3ヶ月齢、黒毛和種、4頭

2 方法

(1) 細菌学的検査

死亡子牛の脳、脊髄、肝臓、脾臓、腎臓、肺、肺門リンパ節および同居牛の鼻腔スワブについて、 β -NAD加めん羊血液寒天培地、DHL寒天培地を用い、37°C48時間、好気および微好気培養を実施した。死亡子牛の肺、肺門リンパ節および同居牛の鼻腔スワブについて、DNA添加変法Hayflick培地(Broth)およびBHL培地(Broth)で37°C5～7日間培養後、DNA抽出を行い、*Mycoplasma bovis*、*Mycoplasma bovis genitalium*、*Mycoplasma dispar*についてPCR検査を実施した。

(2) ウイルス学的検査

死亡子牛の脳、肺、肝臓、脾臓、腎臓の10%乳剤について、MDBK-SY細胞およびVero-T細胞を用いたウイルス分離を実施した。また、PCR法により、牛パラインフルエンザ3型ウイルス(以下PI3)遺伝子検索および牛RSウイルス遺伝子検索を実施した。

同居牛の鼻腔スワブについて、4頭分を2頭ずつプールし、RSウイルスおよびアデノウイルス抗原検出キットを用いた簡易検査を実施した。また、MDBK-SY細胞およびVero-T細胞を用いたウイルス分離およびPCR法によるPI3遺伝子検索を実施した。

(3) 病理組織学的検査

死亡子牛の脳、小脳、脊髄、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、消化管、扁桃、浅頸リン

パ節、下顎リンパ節、肺門リンパ節、腸間膜リンパ節、腸骨下リンパ節、内腸骨リンパ節について、10%中性緩衝ホルマリン液で固定、パラフィン包埋後薄切し、常法に従いヘマトキシリン・エオジン染色（以下HE染色）を実施した。また、グラム染色、P T A H染色、肺炎起因菌について免疫組織化学染色（S A B法）（独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所に依頼）を実施した。

成 績

1 死亡子牛の外貌・剖検所見

死亡子牛は削瘦しており(写真1)、肺は胸壁と強固に癒着し、左右とも前葉から後葉前部にかけて粟粒大～小豆大の白色病巣が散在していた(写真2)。右肺の病巣は左肺より大きく、隆起していた。中葉にはピンポン玉大の硬結を認め、断面はチーズ様を呈していた。心臓は心嚢膜と癒着し、表面は混濁していた。



写真1 死亡子牛の外貌

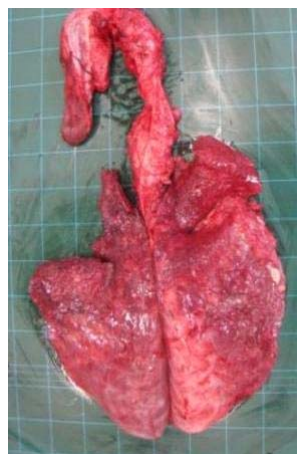


写真2 死亡子牛の肺

2 細菌学的検査

死亡子牛の肺および肺門リンパ節より T p を分離した。*Mycoplasma* spp. の特異遺伝子は検出されなかった。

同居牛4頭全頭の鼻腔スワブより *Mannheimia haemolytica* (M h) を分離した。*Mycoplasma* spp. の特異遺伝子は検出されなかった。

3 ウイルス学的検査

死亡子牛の各臓器からウイルスは分離されなかった。また、P I 3および牛RSウイルスの特異遺伝子は検出されなかった。

同居牛の鼻腔スワブからウイルスは分離されなかった。また、P I 3型の特異遺伝子は検出されなかった。RSウイルスの簡易検査は、2検体ともに陽性で、アデノウイルスの簡易検査は陰性であった。

4 病理組織学的検査

肺では、周囲に好中球の浸潤を伴う凝固壊死巣（写真3）が多発性に認められた。比較的病巣が大きかった右肺では融解壊死巣（写真4）が散在していた。両壊死巣内には菌塊を認めた。凝固壊死巣周囲では一部に燕麦様細胞（写真5）が認められた。肺胞腔内には好中球やマクロファージが浸潤し、一部線維素が析出していた（写真6）。グラム染色では、壊死巣内にグラム陽性と陰性に染まる2種類の菌塊を認めた（写真7）。

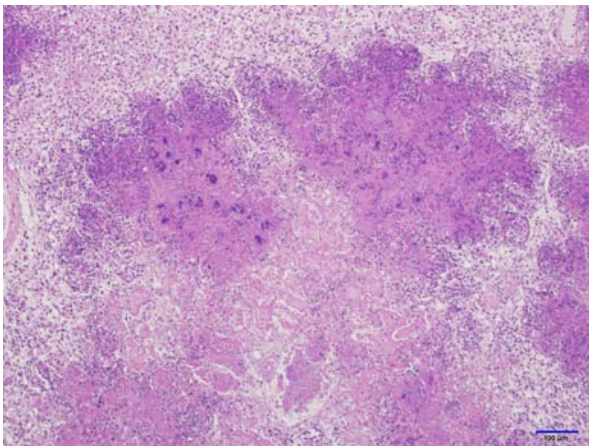


写真3 好中球浸潤を伴う凝固壊死巣 HE染色

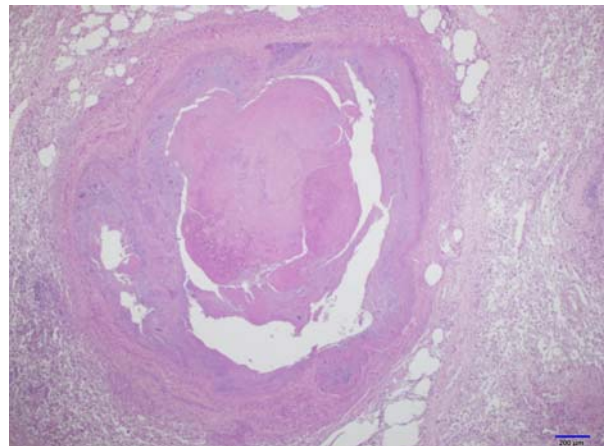


写真4 融解壊死巣 HE染色

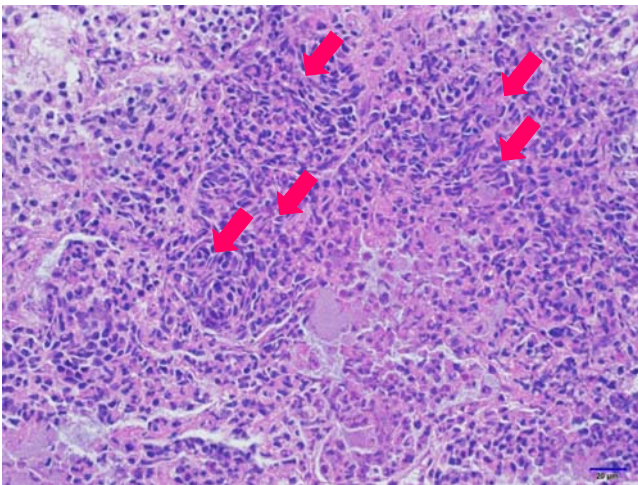


写真5 燕麦様細胞 HE染色

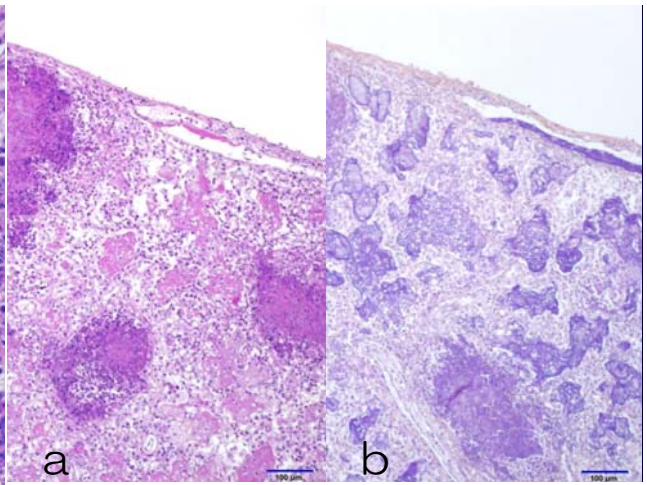


写真6 肺腔内への線維素析出

aHE染色 bPTAH染色

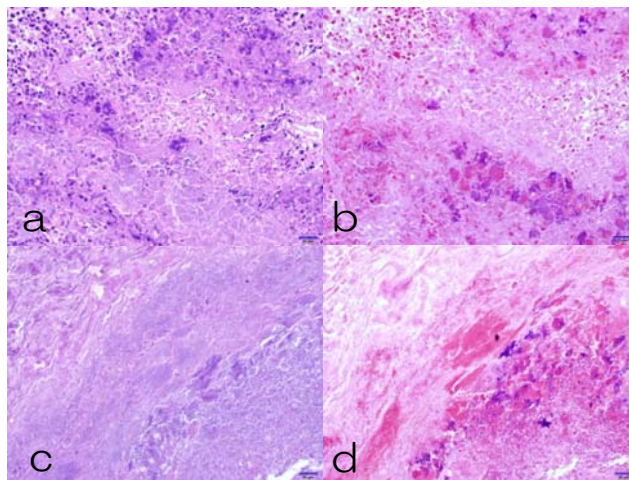


写真7 壊死巣のHE染色とグラム染色

a 凝固壊死巣のHE染色 b 凝固壊死巣のグラム染色

c 融解壊死巣のHE染色 d 融解壊死巣のグラム染色

肺炎起因菌について免疫組織化学染色（以下IHC）を実施したところ、抗Tp抗体、抗Fn抗体で、肺の壊死巣内の菌塊に一致して抗原を認めた（写真8）。融解壊死巣では、壊死中心部で主にTp、周囲でFnの抗原を確認した（写真8）。また、燕麦様細胞周囲ではFnの抗原を認めた（写真9）。IHCでは交差反応試験を実施し、TpとFnが、肺炎症状を示す子牛の鼻汁から分離されたMhと交差反応性がないことを確認した（表1）。

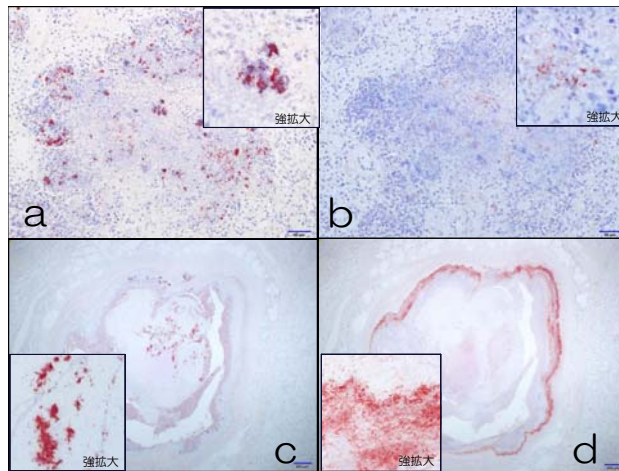


写真8 壊死巣の IHC

- a 凝固壊死巣の T p b 凝固壊死巣の F n
 c 融解壊死巣の T p d 融解壊死巣の F n

表1 IHCの交差反応試験

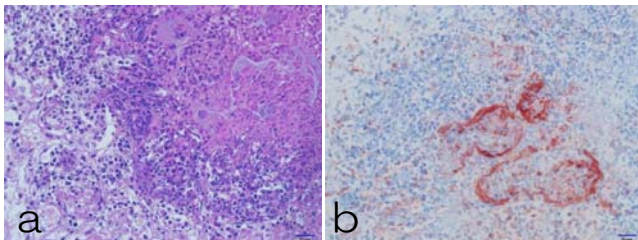


写真9 燕麦様細胞周囲

- a HE染色 b IHC (Fn)

抗血清	M.h	T.p	F.n
陽性対照標本			
M.h	+	-	-
T.p	-	+	-
F.n (T.pとの混合感染)	-	+	+

+:陽性 -:陰性

まとめ

乳肉複合経営農場において、肉用子牛で肺炎症状を呈し死亡する事例が頻発していた。症状を示していた死亡子牛および同居牛の鼻腔スワブについて病性鑑定を実施した。死亡子牛については、細菌

検査でT p が分離され、病理検査の結果から、T p およびF n による壊死性線維素化膿性肺炎と診断した。鼻腔スワブからはM h が分離され、R S ウイルス簡易検査が陽性であった。

今回、同居牛の鼻腔スワブでR S ウイルス簡易検査が陽性であったこと、死亡子牛の細菌検査および病理検査から、日和見感染や二次感染症を起こす細菌が肺炎病巣を形成していたことから、死亡子牛は過去にウイルスの関与があり、細菌との複合感染により重篤化し死亡したものと考えられた。

謝 辞

免疫組織化学染色を実施していただきご助言をいただきました独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 病態研究領域牛病理 播谷亮先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) A. F. Yassin, H. Hupfer, C. Siering and P. Schumann : International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 61, 1265-1274 (2011)
- 2) 柏崎 守、久保 正法、小久江 栄一、清水 実嗣、出口 栄三郎、古谷 修、山本 孝史 : 豚病学 (第4版) 、284~285、近代出版(1999)
- 3) 見上 彪 : 獣医微生物学 (第2版) 、文永堂出版(2008)