

## 9 *Arcanobacterium pyogenes* の関与が疑われる牛流産例

県央家畜保健衛生所

小菅 千恵子 福井 陽士  
柴田 淑子 窪田 英俊  
荒井 眞弓 福岡 静男  
稲垣 靖子 安藤 正樹

### はじめに

*Arcanobacterium pyogenes* (以下AP) は、化膿巣などから分離されることが多く、牛のAP感染症では、乳房炎や関節炎、心内膜炎などがよく知られているが<sup>2)</sup>、本菌による流産例は比較的少ない。今回、1酪農家でAPが関与し、流産が発生したと考えられる症例に遭遇したので、その概要を報告する。

### 県内における牛流産の病性鑑定状況

平成11～20年度にかけて、県内で牛流産の原因究明を目的とした病性鑑定を46件実施した。確定診断した症例は7件、うち細菌による流産と診断した症例は1件で、確定診断に至らなかった39件のうち、細菌・ウイルス・寄生虫の関与が各4件計12件、否定が16件、不明が11件であった(図1)。細菌の関与が考えられた症例4件

のうち2件で、流産胎子からAPが分離されていたが、確定診断に至らず、県内では、過去、APによる流産と診断した症例はない。

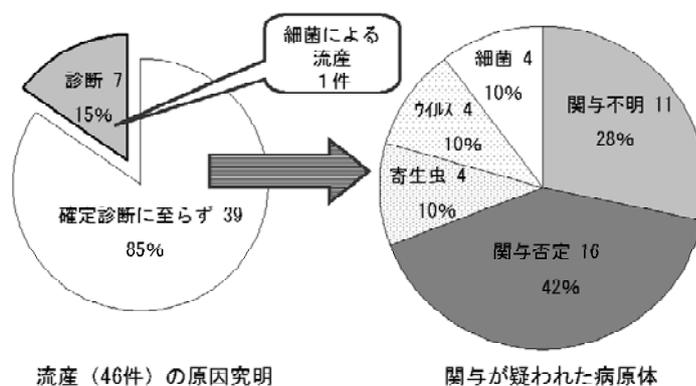


図1 県内における牛流産の原因(平成11～20年度の病性鑑定症例から)

## 農場の概要

ホルスタイン種の成牛約40頭を飼養する酪農家で、牛舎は対尻式、各種疾病予防のためのワクチンは実施していないが、預託牛にのみ、牛5種混合ワクチンを接種している。

## 流産の発生状況

平成21年2月に3歳、及び5月に2歳の牛が、胎齢3ヶ月で流産した。さらに、平成21年6月4日から5日にかけて、3歳で2産目の牛が、雌・雄の双子を流産した。この母牛は、流産前に著変は認めず、アカバネ病・チュウザン病・アイノウイルス感染症などの異常産関連のワクチンは未接種であった。

## 材料及び方法

### 1 検査材料

平成21年6月4日流産の胎子（雌・胎齢6ヶ月・体長42cm・体重10kg）1頭と、血清として、①流産母牛血清延べ3検体（流産時：平成21年6月採材、流産5ヶ月前：平成21年1月採材、流産2年半前：平成18年10月採材）、②当該農場飼養牛血清40検体（平成21年1月採材）、③県内の搾乳衛生の良好な農場（以下対照農場）の牛血清10戸各10検体計100検体（平成21年6月～11月採材）を、病性鑑定に供した。

### 2 検査方法

#### (1) 細菌学的検査

胎子の脳、肝、脾、腎、肺について、 $\beta$ -NAD加めん羊血液加寒天培地、チョコレート寒天培地、DHL寒天培地を用い、好気、微好気、嫌気にて、37℃48時間培養し、菌分離検査を行った。分離菌は、市販キットアピコリネにより同定した。

#### (2) 病理学的検査

胎子主要臓器・リンパ節を20%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、鏡検した。また、必要に応じて、グラム染色、抗AP免疫染色（東京農業大学分与）を実施した。

#### (3) ウイルス学的検査

ウイルス分離は、胎子の脳、脊髄、肝、脾、腎、肺の10%乳剤を材料にMDBK-SY細胞・HmLu-1細胞を用いて、3代継代を行った。抗体検査は、胎子胸水・母牛ペア血清（流産時・流産5ヶ月前）を用い、アカバネ病・チュウザン病・アイノウイルス感染症・イバラキ病・牛流行熱・BVDVの中和試験により実施した。

#### (4) 寄生虫学的検査

胎子胸水・心嚢水、母牛ペア血清を用い、ネオスポラ・カニナム抗体検査（間接蛍光抗体法）を実施した。

#### (5) AP抗体検査

流産母牛血清3検体と、当該農場の牛血清40検体及び対照農場の牛血清100検体を用い、寒天ゲル内沈降反応により実施した。

## 成 績

### 1 外貌及び解剖所見

外貌では著変を認めなかった（写真1）。剖検で赤色の胸水・心嚢水・腹水の貯留を認めた他、各臓器に著変は認めなかった。



写真1 外貌所見

### 2 細菌学的検査

脳・肝・腎・肺から、 $\beta$ -NAD加めん羊血液加寒天培地上で、明瞭な $\beta$ 溶血を示すグラム陽性の短小桿菌が分離された。分離菌は、生化学的性状からAPと同定された。

### 3 病理学的検査

肺で、多発性の菌塊（写真2、矢印）、肺胞壁や細気管支上皮とその内腔、小葉間結合組織などで菌を認めた（写真3）。菌は、グラム染色、抗AP免疫染色に陽性を示し、細気管支内腔では、菌の貪食像を認めた（写真4、矢印）。

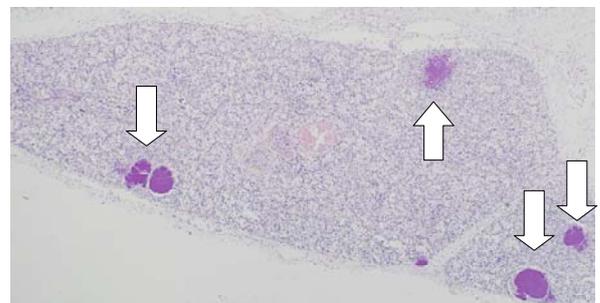


写真2 肺 多発性の菌塊

HE染色 ×40

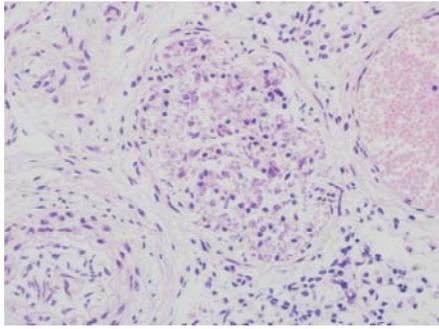


写真3 肺 細気管支内腔の菌

HE染色 ×40

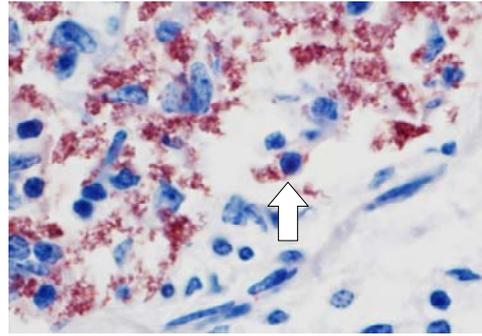


写真4 肺 菌の貪食像

抗AP免疫染色 ×1000

また、肝臓では、類洞に菌の侵入、グリソン鞘周囲にリンパ球の浸潤を認めた。

#### 4 ウイルス学的検査

各臓器からのウイルス分離は陰性、各種抗体検査で有意な抗体価の動きは認められなかった（表1）。

表1 中和抗体検査

検体	胎子	母牛	
		5ヶ月前	流産時
アカバネ病	<2	×2	<2
チュウザン病	<2	<2	<2
イバラキ病	<2	<2	<2
アイノウイルス感染症	<2	<2	<2
牛流行熱	<2	<2	<2
BVD-MD I型	<2	×512	×512
II型	<2	×8	×16

#### 5 寄生虫学的検査

ネオスポラ・カニナム抗体は陰性であった。

#### 6 AP抗体検査

(1) 流産母牛の抗体価は、流産

の2年半前は陰性、5ヶ月前は

2倍、流産時32倍であった。

(2) 当該農場の牛は、0歳から

の全頭で抗体を保有し、1～

32倍の分布をしていた（図2）。

32倍の抗体を保有していた1頭

は、採材時の翌月である2月に

流産していた。

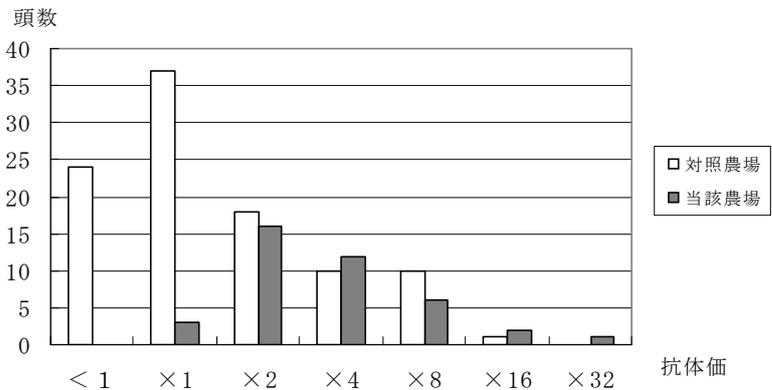


図2 AP抗体保有状況

(3) 対照農場の牛は、抗体保有率76%で、1～16倍に分布していた（図2）。

## まとめ及び考察

平成11～20年度における県内での牛流産の原因究明を目的とした病性鑑定症例46件中、確定診断症例は7件、うち細菌による流産と診断した症例は1件で、確定診断には至らなかったが細菌の関与が考えられた症例が4件あった。うち、2件で、流産胎子からA Pが分離されていたが、県内では、過去、A Pによる流産と確定診断した症例はない。

本症例では、胎子の主要臓器からA Pが分離され、肺で多発性の菌塊や細気管支上皮とその内腔、小葉間結合組織などに菌を認めた。菌は抗A P免疫染色で陽性を示し、細気管支内腔では菌の貪食像を認めた。ウイルス学的・寄生虫学的検査において胎子・母牛ともにアカバネ病・チュウザン病・アインウイルス感染症・ネオスポラ症など異常産に関する疾病の抗体の動きは認められず、流産母牛のA P抗体検査において、流産前の2倍から32倍へと有意な抗体上昇を認めたことから、本流産にはA Pが関与したものと考えられた。平畠ら<sup>1)</sup>は、A Pによる流産には一定の傾向がみられると考察しており、流産は春から初夏にかけて発生しやすく、流産胎齢は6及び7ヶ月に集中し、産歴は初産より2産目以降に多いとしている。本症例でも、6月に流産発生・胎齢6ヶ月・3産目と同様な傾向を認めた。

当該農場の牛と対照農場の牛とのA P抗体保有状況の比較から、当該農場では抗体保有率100%・保有抗体価の分布は32倍までと、ともに高い傾向にあり、過去に報告されたA P流産発生農場の抗体保有率66%<sup>1)</sup>、73.3%<sup>3)</sup>と比較しても、その抗体保有率は高く、当該農場ではA P感染の機会が多かったものと推察された。

また、当該農場で、本症例前の2月と5月に発生した流産2例のうち、1例の母牛は、流産発生1ヶ月前にA P抗体価32倍と高い抗体価を保有していた。平畠ら<sup>1)</sup>によると、A Pによる流産と診断した症例のA P抗体価は32倍以上であったとしていることから、この流産にもA Pが関与した可能性が考えられた。

## 謝 辞

最後に抗A P免疫血清の分与及びご助言を頂いた東京農業大学 家畜衛生学研究室 村上覚史先生に深謝します。

## 引用文献

- 1) 平嶋 淳ら：日獣会誌、55、137～141(2002)
- 2) 竹内 正太郎：牛病学（第2版）、272～275、近代出版（1988）
- 3) 植松和史ら：日獣会誌、42、621～625（1989）