

誤嚥が疑われた子牛の *Fusobacterium necrophorum* 及び *Trueperella pyogenes* による 壊死性化膿性肺炎

県央家畜保健衛生所

山本 英子 後藤 裕克
荒木 尚登 和泉屋 公一

はじめに

子牛の肺炎は、晩秋から初春にかけて冬季を中心に発生することが多く、宿主、ウイルスや細菌などの病原体及び環境要因が複雑に関連して発症する。

今回、冬季になると子牛が呼吸器症状を呈する農場において、誤嚥が疑われ、*Fusobacterium necrophorum*（以下F n）及び*Trueperella pyogenes*（以下T p）が関与したと思われる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

県内の総飼養頭数 65 頭の乳肉複合経営農場で、平成 30 年 2 月、呼吸器症状を呈し治療中の 44 日齢の子牛が起立不能となり病性鑑定を実施した。当該子牛は前日までは起立しており、哺乳欲もあったが、呼吸のたびに喘鳴をおこしていた。発生農場では、冬季に生まれる子牛が呼吸器症状を呈すると、その都度治療を実施しているが、回復する子牛と再発を繰り返す子牛がいた。病性鑑定時、呼吸器症状を呈する子牛は 6 頭おり、成牛に異常はなかった。当該子牛へのワクチン接種は未実施で、農場では、冬から春にかけて分娩する母牛に単味のRSウイルスワクチンを接種している。

材料と検査方法

1 材料

44 日齢の子牛で、品種は交雑種、性別は雌。病性鑑定施設搬入後に死亡した。

2 検査方法

(1) 細菌学的検査

肺、肝臓、脾臓、腎臓、脳、肺門リンパ節、胸水、回腸内容物について、 β -NAD加血液寒天培地、DHL寒天培地を用い、37°C24時間、好気および微好気培養を実施した。また、PCR法により、肺について、*Mycoplasma bovis* (以下Mb)、*Mycoplasma bovis genitalium* (以下Mb g)、*Mycoplasma dispar* (以下Md) の遺伝子検索を実施した。

(2) ウイルス学的検査

肺、肝臓、腎臓、脳、肺門リンパ節について、MDBK細胞及びVero細胞を用いたウイルス分離を実施した。また、PCR法により、肺、肺門リンパ節について、牛パラインフルエンザウイルス3型(以下PIV3)、牛RSウイルス、牛コロナウイルス、牛アデノウイルス及びペスチウイルスの遺伝子検索を、血清についてペスチウイルス遺伝子検索を実施した。

(3) 病理組織学的検査

肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、脳、脊髄、胃、腸管、肺門リンパ節、下顎リンパ節、浅頸リンパ節、縦郭リンパ節、腸間膜リンパ節、内腸骨リンパ節、腸骨下リンパ節、単径リンパ節について、10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、定法に従いパラフィン包埋、薄切後、ヘマトキシリン・エオジン染色(以下HE染色)を実施した。肺についてグラム染色、PAS染色、真菌用蛍光染色、肺炎起因菌について免疫組織化学的染色(以下IHC)を実施した。

結 果

1 外貌・剖検所見

体重は34kg(写真1)で、鼻腔から膿性鼻汁の漏出が両側でみられた(写真2)。また、臀部周囲に黄色便がみられた(写真3)。肺は胸壁と強固に癒着しており(写真4)、左肺には悪臭のあるガスが貯留していた。左肺は黒色斑様を呈し、右肺前葉から後葉前部にかけて暗赤色肝変化がみられ、中葉・後葉が強固に癒着していた(写真5)。左肺前葉後部のガス貯留部付近や副葉では、灰緑色円形隆起病巣が多数見られた(写真6)。肝臓は横隔膜と癒着していた(写真7)。腎臓は腎盂が水腫様を呈し、腎皮質が薄く、形成不全が疑われた(写真8)。



写真1 死亡子牛の外貌



写真2 膿性鼻汁の漏出



写真3 臀部黄色便付着



写真4 肺は胸壁と強固に癒着



写真5 肺全景



写真6 灰緑色円形隆起病巣



写真7 肝臓横隔膜と癒着



写真8 腎盂水腫・腎皮質菲薄化

2 細菌学的検査

肺、肺門リンパ節及び胸水より、*Mannheimia varigena* (以下Mv) を分離した。また、肺から、Mb及びMdの特異遺伝子を検出した。

3 ウイルス学的検査

各臓器からウイルスは分離されなかった。また、肺からPIV3、肺門リンパ節からPIV3及び牛ウイルス性・下痢ウイルス1型の特異遺伝子を検出した。

4 病理組織学的検査

肺では、小型壊死巣と融解壊死を伴った大型壊死巣が多数見られた(写真9)。小型壊死巣及び大型壊死巣では、内部は凝固壊死し、周囲には好中球を主体とした炎症細胞の浸潤がみられた(写真10)。グラム染色を実施すると、凝固壊死部には多数のグラム陰性菌及び陽性菌が確認された(写真11)。また、細菌塊とは異なる小型の円形物質が多数確認された(写真12)。この小型円形物質について、真菌を疑いPAS染色を実施したところ均一には染まらず、また真菌用蛍光染色では陰性であったため、真菌ではないことはわかったが、物質の特定には至らなかった。大型壊死巣辺縁部では、燕麦様細胞が確認された(写真13)。肺胞腔内には好中球や、マクロファージの浸潤がみられ、多核巨細胞も多数確認された(写真14)。肺全体に、灰白色の、HEには染色されない大型円形物質が確認され、マクロファージに貪食されているものも確認された(写真15)。これら大型円形物質は、直腸内容物にも多数みられた(写真16)。大型円形物質についてPAS染色を実施したところ陽性を示し(写真17)、これらを偏光下で観察したところ、デンプン粒子で確認されるマルタ十字の偏光所見を示した(写真18)。次に肺病変への病原体の関与を確認す

るため、病原検索で分離及び遺伝子が検出されたMv、Mbについて、また関与が疑われた *Mannheimia haemolytica* (以下Mh)、Fn、Tpについて、IHCを実施した。その結果、凝固壊死巣内及び壊死巣境界領域に見られた細菌塊や浸潤炎症細胞の細胞質に、Fn及びTpの陽性抗原が確認された(写真19)。またMv及びMhは、壊死巣中心部にわずかに陽性抗原が認められる程度で、炎症細胞浸潤部では確認できなかった(写真20)。Mbについては陽性抗原は確認されなかった。

肺以外の臓器では、肝臓において、漿膜に線維素の析出がみられ、脾臓、肺門リンパ節、浅頸リンパ節、縦郭リンパ節、腸間膜リンパ節、内腸骨リンパ節、腸骨下リンパ節、兎径リンパ節において、ヘモジデリンが多数確認された。

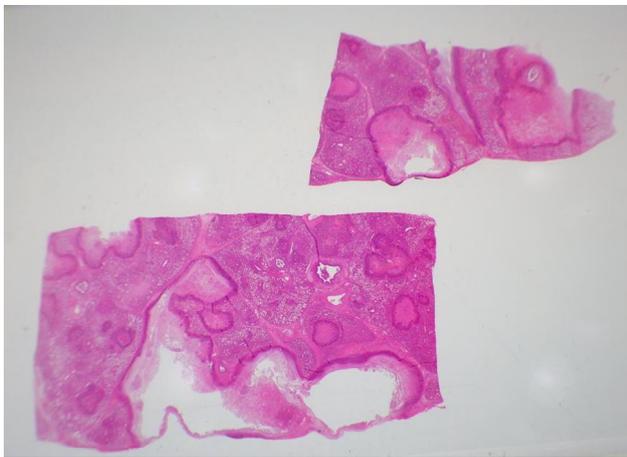


写真9 小型及び大型壊死巣

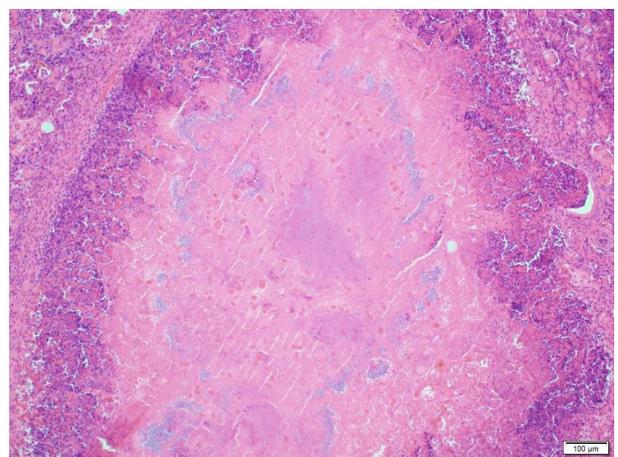


写真10 凝固壊死及び炎症細胞浸潤

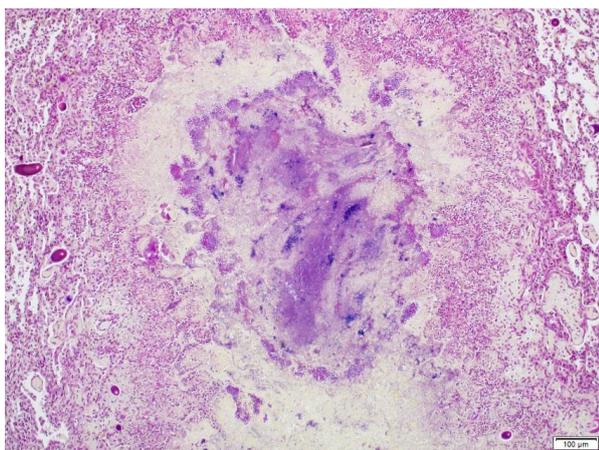


写真11 多数のグラム陰性菌及び陽性菌

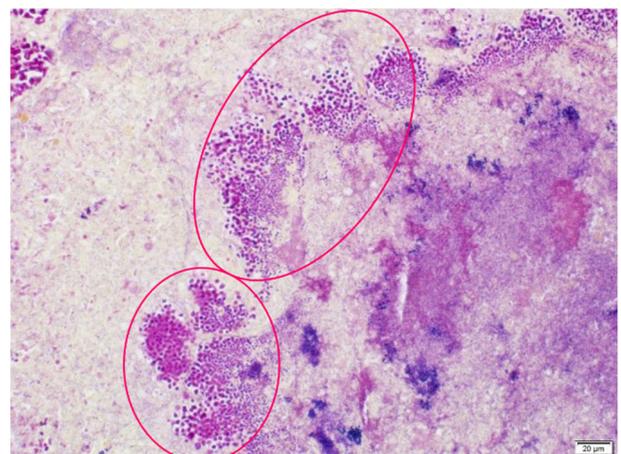


写真12 凝固壊死巣内の小型円形物質

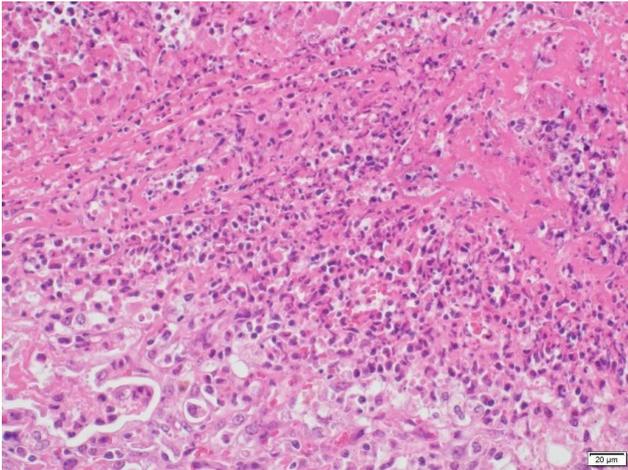


写真 13 壊死巣辺縁部の燕麦様細胞

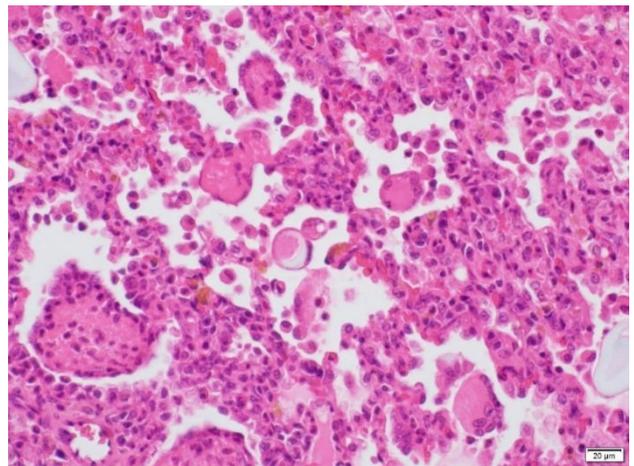


写真 14 肺胞腔内の炎症細胞浸潤

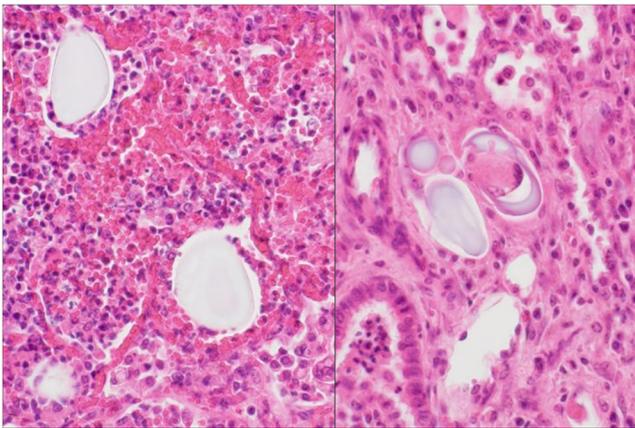


写真 15 肺全体にみられた大型円形物質

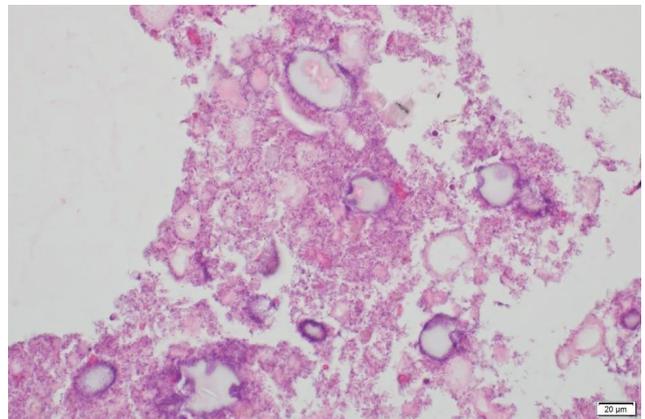


写真 16 直腸内容物の大型円形物質

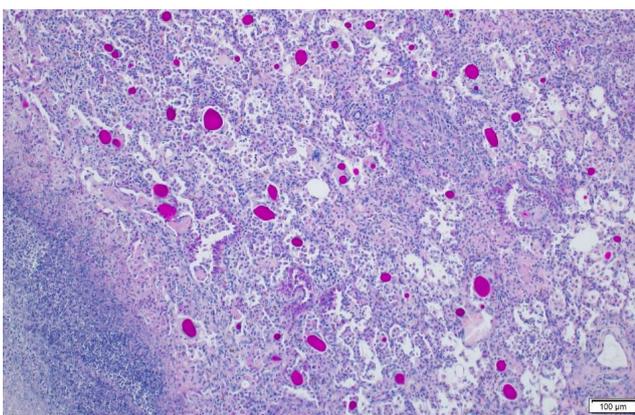


写真 17 大型円形物質のPAS染色

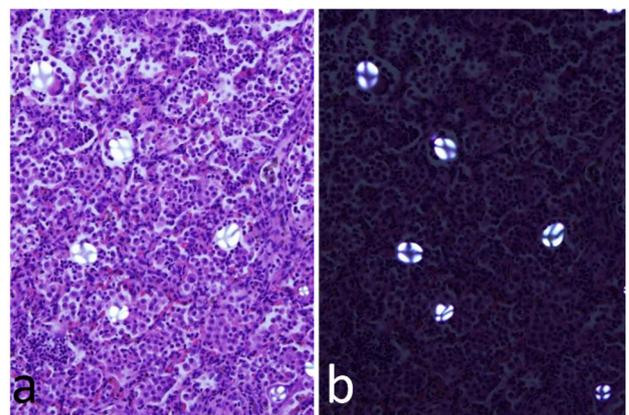


写真 18 大型円形物質

a HE染色下の大型円形物質

b 偏光下の大型円形物質 (マルタ十字)

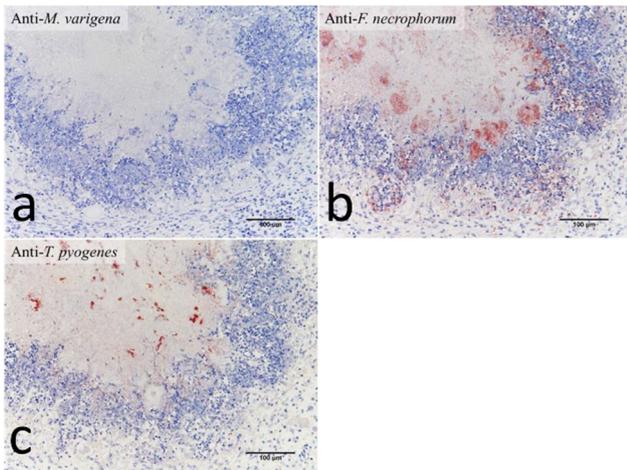


写真 19 IHC 結果

- a 凝固壊死巣のM v b 凝固壊死巣のF n
c 凝固壊死巣のT p

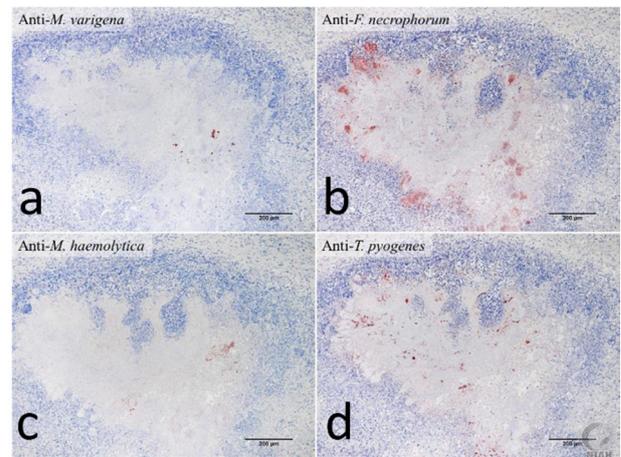


写真 20 IHC 結果

- a 凝固壊死巣のM v b 凝固壊死巣のF n
c 凝固壊死巣のM h d 凝固壊死巣のT p

まとめ及び考察

乳肉複合経営農場において、呼吸器症状を呈し治療中の 44 日齢の子牛が起立不能となったため、病性鑑定を実施した。病理組織学的検査から、肺では、小型壊死巣と融解壊死を伴った大型壊死巣が多数見られ、凝固壊死した内部には多数のグラム陰性菌及び陽性菌が確認され、周囲には好中球を主体とした炎症細胞の浸潤がみられた。IHCの結果、凝固壊死巣内及び壊死巣境界領域に見られた細菌塊及び浸潤炎症細胞の細胞質にF n及びT pの陽性抗原が確認されたことから、これらが病変形成に関与していることが示唆された。M v及びM hについては、壊死巣中心部にわずかに陽性抗原が認められる程度で、炎症細胞浸潤部では確認できなかったことから、病変形成には関与している可能性は低いと考えられた。また肺全体には大型円形物質が多数みられ、これらは直腸内容物にもみられた。肺及び腸内容物に同一のものがみられたことから、肺でみられた大型円形物質は、誤嚥によるものではないかと考えた。この大型円形物質は偏光観察下でマルタ十字の所見を示したことから、デンプン様物質であることが示唆された。以上のことから、まず誤嚥により肺炎を引き起こし、その病変部にF n及びT pが二次的に増殖し肺炎が進行したものと考えられた。今回の病性鑑定結果より、当該農場における子牛の肺炎対策は、飼養環境対策によるストレス緩和や病原体防除のほか、誤嚥防止のための哺乳法の確認等も必要と思われた。

謝辞

稿を終えるにあたり、肺炎起因菌についてのIHC及び真菌蛍光染色を実施していただきました国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 病態研究領域 病理ユニット 木村久美子上級研究員に深謝致します。

参考文献

動物病理学各論 第2版 日本獣医病理学会 編