

## 6 一酪農家での *Trueperella pyogenes* を主体とした育成牛の疣贅性心内膜炎

中央家畜保健衛生所

○深谷 祐加子・吉田 輝美・黒田 浩之

中井 悠華・北島 絵理子

### I はじめに

牛の心内膜炎は、心臓の内膜、特に三尖弁付近の内膜あるいは弁に細菌が定着して増殖し、疣贅物を形成し、循環障害を引き起こすとされている<sup>1)</sup>。乳房炎や関節炎などの化膿巣から血液に侵入した細菌が原因となることが多く<sup>1)</sup>、牛では *Trueperella pyogenes* (以下 Tp) やレンサ球菌が代表的な原因菌である<sup>2)</sup>。本疾患は、1歳以上の牛での発生が多いと報告されている<sup>3)</sup>が、今回、管内一酪農家において、10か月齢の育成牛で Tp を主体とした疣贅性心内膜炎の発生が確認された。また、疣状物の拭いからは Tp と併せて、県内2例目となる *Streptococcus suis* 血清型 33 型参照株と近縁な、既知の種には属さないレンサ球菌属菌 (以下 *S.suis* 血清型 33 型近縁種) が分離されたので、その概要を報告する。

### II 農場概要及び発生状況

発生農場は、ホルスタイン種の成牛 38 頭、育成牛 8 頭を飼養する管内の酪農家で、飼養形式は対尻式の繋ぎ飼いである。飼養施設は成牛舎と育成舎が各 1 棟ある。

平成 27 年 5 月末に、育成牛 1 頭 (ホルスタイン種 メス 平成 26 年 9 月 13 日生) が食欲不振を呈したため、治療を開始したが、6 月上旬から右後肢飛節の腫脹・疼痛がみられ、その後、負重困難となった。さらに、7 月上旬から心雑音と頸静脈怒張が認められ、7 月 19 日に起立不能となったため、7 月 22 日に病性鑑定を実施した。

### III 病性鑑定

#### 1 材料

発症牛 1 頭を鑑定殺し、検査材料に供した。

#### 2 方法

##### (1) 血液生化学的検査

血液一般検査で血液塗抹及び白血球数等の測定、血液生化学的検査で各種酵素等の測定 (スポットケム SP4410、アークレイ社)、及び蛋白泳動を実施した。

##### (2) 病理学的検査

剖検し、病理組織学的検査を実施した。病理組織学的検査では、主要臓器を 10% 中性緩衝ホルマリン液に浸漬後、常法に従いヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を行った。また、心臓疣贅部のグラム染色を行った。

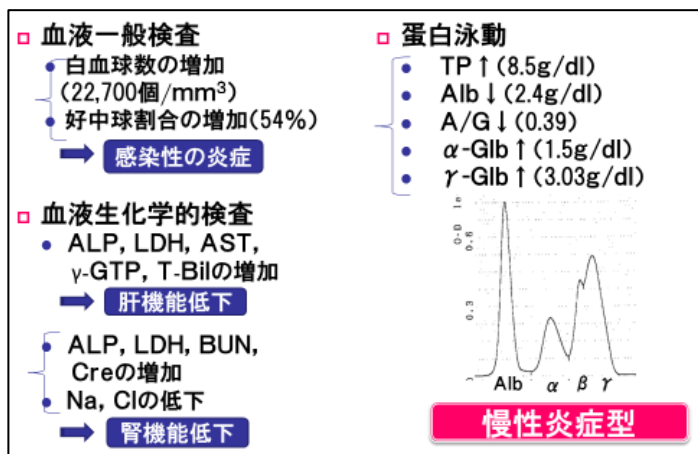
##### (3) 細菌学的検査

主要臓器及び心臓内疣状物、心臓内疣状物拭い、右後肢皮下拭いを 5% 羊血液加寒天

培地(以下BA、(37℃、CO<sub>2</sub>、48時間))、DHL寒天培地(37℃、好気、48時間)、血液加GAM寒天培地(37℃、嫌気、48時間)、変法FM培地(37℃、嫌気、48時間)に塗抹し、分離培養を実施した。分離菌については、簡易同定キット(Api20NE、バイオメリュー社)を用いて同定した。

### 3 成績

#### (1) 血液生化学的検査



血液一般検査では、好中球数の増加に伴う白血球数の増加が認められ、感染性の炎症が疑われた。血液生化学的検査では、ALP、LDH、AST、γ-GTP、総ビリルビン(T-Bil)、BUN、クレアチニン(Cre)の増加及び血清NaとClの低下が確認された。また、蛋白泳動では、慢性炎症型の血清蛋白分画像が認められた(図1)。

図1 血液生化学的検査成績

#### (2) 病理学的検査

##### ①剖検所見(表1)

当該牛は元気消失し、起立不能で腹式呼吸を呈していた。心臓では、三尖弁、三尖弁周囲の右心室内膜、肺動脈弁に小豆大～そら豆大の大小様々な白色疣状物の付着が認められた(図2)。また、皮下組織及び空腸から結腸にかけて重度の水腫性変化が認められた。肝臓は、退色、硬結感があり、小葉構造が明瞭となっていた。

なお、右後肢飛節には著変は認められなかった。

表1 剖検所見

部位	所見
外貌	元気消失、起立不能、腹式呼吸
心臓	三尖弁及び肺動脈弁： 小豆大～そら豆大の白色疣状物付着
皮下組織	水腫状
消化器系	空腸～結腸：漿膜、腸壁の水腫 結腸間膜：水腫性に拡張
肝臓	退色、硬結、小葉構造明瞭

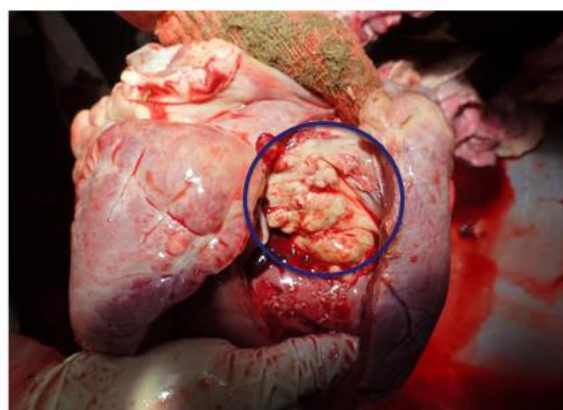


図2 心内膜に付着した白色疣状物(丸枠内)

##### ②組織所見

心臓において三尖弁、三尖弁周囲の右心室内膜、肺動脈弁に菌塊を伴う重度の化膿性心内膜炎が認められ、心臓疣贅部のグラム染色では、多数の陽性桿菌が認めら

れた(図3、4)。また、胃から直腸にかけて、粘膜固有層、粘膜下組織、筋層、漿膜の水腫性肥厚が軽度～重度に認められた(図5)。肝臓では中心静脈を中心とした顕著な線維化が認められた(図6)。

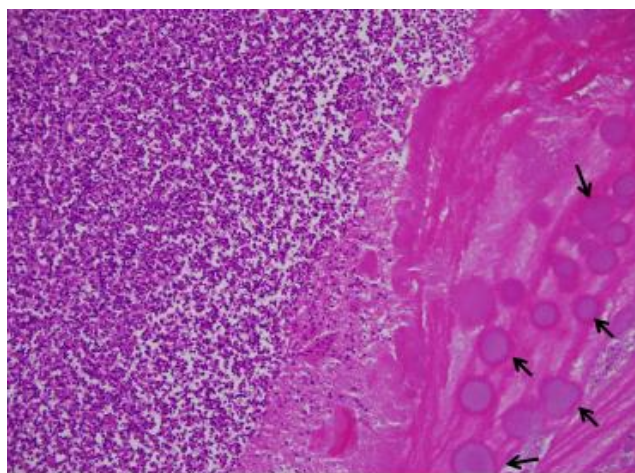


図3 右心室の疣贅部(HE染色 中倍)  
矢印部分: 菌塊

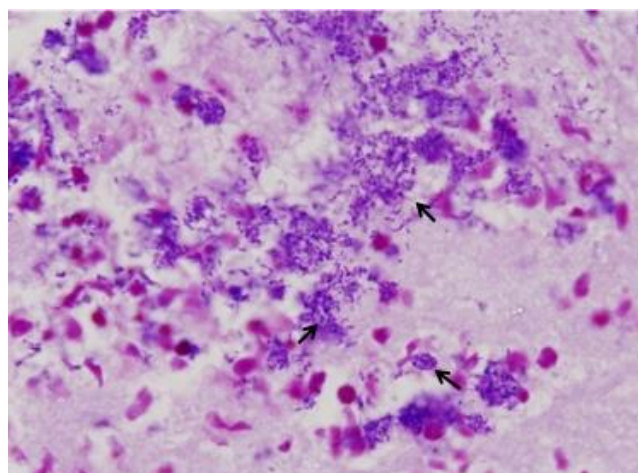


図4 右心室の疣贅部(グラム染色 高倍)  
矢印部分: グラム陽性桿菌

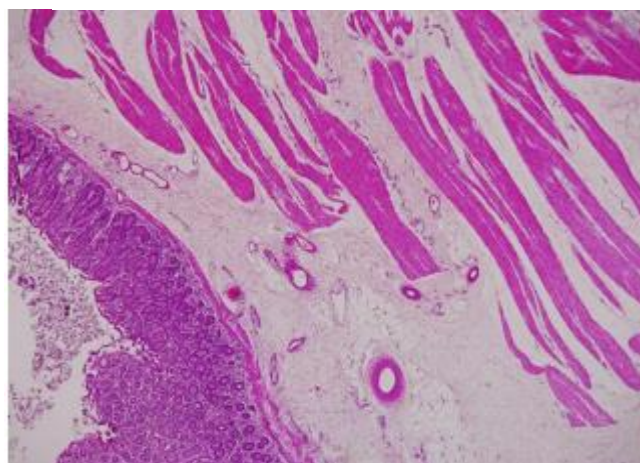


図5 盲腸における粘膜固有層、粘膜下組織、筋層等の水腫性肥厚(HE染色 低倍)

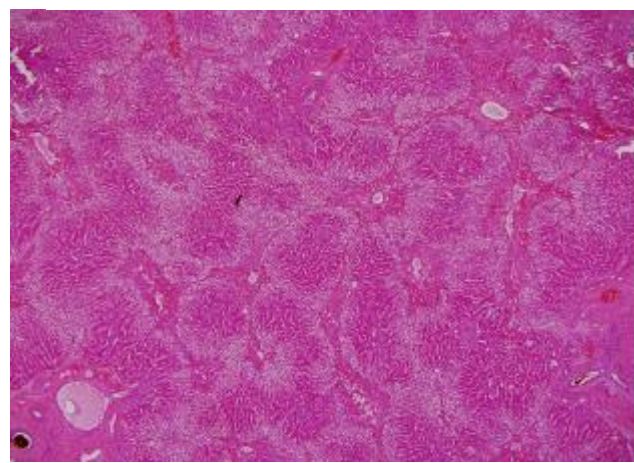


図6 肝臓の線維化(HE染色 低倍)

### (3) 細菌学的検査

肺、心臓内疣贅物及び心臓内疣贅物拭いから、 $\beta$ 様溶血を示すグラム陽性多形性桿菌が分離され、生化学的性状からTpと同定された。また心臓内疣贅物拭いから、カタラーゼ陰性、 $\alpha$ 様溶血を示すグラム陽性球菌が分離され、簡易同定キット、*S.suis* 特異的PCR及び動物衛生研究所に依頼した16SrRNA遺伝子解析の結果、*S.suis*血清型33型近縁種と同定された。

また、右後肢飛節拭いから細菌は分離されなかった。

### (4) 診断

以上の結果から本症例を、Tpを主体とした疣贅性心内膜炎と診断した。

#### IV 当該農場における抗体保有状況調査

##### 1 材料と方法

本農場では、平成 26 年 11 月にも Tp による流産が発生していたことから、平成 27 年 6 月に採材した牛法定検査残余血清 42 検体を用いて、Tp プロテアーゼ抗体検査を実施し、抗体保有状況を調査した。

方法は、市販の豚 AP 感染症診断用ゲル沈抗原(豚 A.P.感染症診断用ゲル沈抗原「科飼研」、株式会社科学飼料研究所)を用い、寒天ゲル内沈降反応を実施した。沈降線の見られた血清については、滅菌生理食塩水で 32 倍まで 2 倍段階希釈し、抗体価を測定した。

##### 2 成績

42 頭中 28 頭(66.7%)の牛が抗体を保有していた。また、本症例及び昨年 11 月の流産牛を含む 4 頭の牛で、32 倍以上の高い抗体価を示した(図 7)。

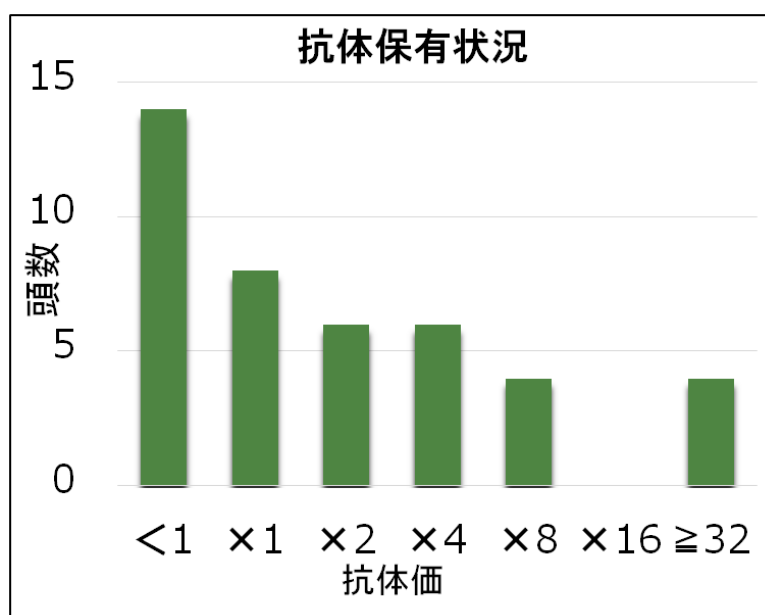


図 7 抗体保有状況

#### V 牛舎消毒と環境及び牛体拭き取り検査

Tp は環境中に広く分布するため、畜舎内の菌数を低減させることを目的として、牛舎消毒を実施した。消毒は、市販の消石灰を用いて牛床は粉状のものを散布し、柱は高さ 1.5m の位置まで石灰乳を塗布した。

また、Tp の分布状況を調査するため、環境及び牛体の拭き取り検査を実施した。

##### 1 材料と方法

採材は消毒前に実施し、滅菌生理食塩水に浸した滅菌綿棒を用いて 10×10cm 角を拭き取り、成牛舎、育成舎それぞれの牛床、通路、柱、牛体の合計 22 検体を材料とした。プロテウス属菌の遊走を抑えるため、p-ニトロフェニルグリセロール加血液寒天培地(37℃、好気、48 時間)を用い<sup>4)</sup>、培地に直接塗抹し、細菌分離を行った。

##### 2 成績

環境及び牛体のいずれからとも、Tp は分離されなかった(表 2)。

表 2 Tp 分離成績

	牛床	通路	柱	牛体
成牛舎	— (5検体)	— (1検体)	— (2検体)	— (4検体)
育成舎	— (5検体)	— (1検体)	— (2検体)	— (2検体)

## VI まとめと考察

本症例では、肺、心臓内疣状物、心臓内疣状物拭いから Tp が分離され、病理組織学的検査で心臓疣贅部に多数のグラム陽性桿菌がみられたことから、Tp を主体とした疣贅性心内膜炎と診断した。また、剖検で確認された皮下組織と消化管の水腫性変化及び、病理組織学的検査で確認された消化管の水腫性肥厚と肝臓の顕著な線維化は、疣贅性心内膜炎による右心不全が原因と考察された。一方、心臓内疣状物から県内 2 例目となる *S.suis* 血清型 33 型近縁種が分離された。*S.suis* 血清型 33 型は、近年、牛の心内膜炎から分離された事例もあり<sup>5)</sup>、本症例においても、病変形成に一部関与した可能性が示唆された。

発生経過から、原発巣と疑われた右後肢に肉眼的に病変は認められず、細菌も分離されなかった。Tp の感染経路は特定に至らなかったが、畜主のりん告から、4 か月齢で実施した除角時の不備により、長期間化膿していたことが判明し、そのことが原因となった可能性が考えられた。

環境及び牛体拭き取り検査では、22 検体いずれからも Tp は分離されず、環境中の分布状況は不明であった。

一方、Tp 抗体保有状況調査では、本症例及び昨年 11 月の流産牛を含む 4 頭の牛で、32 倍以上の高い抗体価を示した。斉藤らの報告によると、と畜場に搬入された Tp 由来全身感染症牛における本抗体は、50 頭中 46 頭 (92.0%) 陽性で、そのうち抗体価 8 倍以上が 66.0% を占め、本抗体の測定が生前診断に有効であるとしている<sup>6)</sup>。このことから、Tp 抗体価の高い個体については、体のいずれかの部位に感染病巣を形成している可能性が考えられ、本病の再発が懸念される。

再発防止に向けて、定期的な牛舎消毒や除角時等の衛生管理の徹底、さらに牛へのストレスの緩和等、今後も衛生管理の向上を指導していく。

## VII 謝辞

最後に、*S.suis* 血清型 33 型近縁種の同定にあたり、16SrRNA 遺伝子解析に御協力いただいた動物衛生研究所、大倉正稔先生に深謝いたします。

## VIII 参考文献

- 1) 吉田ら編集：主要症状を基礎とした牛の臨床<第 5 版>,デーリィマン社, 88-91(1989)
- 2) 安田純夫ら編集：新版獣内科学,文永堂出版,30-31(1987)

- 3) 竹内正太郎ら編集：牛病学<第二版>,近代出版, 272-275 (1988)
- 4) 大西英高：*Proteus*属菌の遊走抑制培地作成の試み,家畜衛生研修会抄録集（病性鑑定：細菌部門）第38号,50-51(2014)
- 5) 佐藤友美ら：牛の心内膜炎から分離された *Streptococcus suis* type33,日獣会誌,66,195-199(2013)
- 6) 斎藤晃ら：牛の *Actinomyces pyogenes* 感染症の血清診断,獣医畜産新報,文永堂出版株式会社,781,489-492(1986)