

## 10. *Mycoplasma bovis* 単独感染による牛の死亡事例

大分家畜保健衛生所

○病鑑 滝澤亮・病鑑 首藤洋三・病鑑 山田美那子・病鑑 中野雅功

### 【はじめに】

*Mycoplasma bovis* (Mb) は、一般にウイルスや細菌との複合感染による牛呼吸器複合病 (BRDC) の一要因として知られているが、今回我々はMb単独感染により呼吸器症状を呈して死亡した事例に遭遇したので、その概要と併せて疫学調査結果を報告する。

### 【農場概要】

当該農場は、黒毛和種80頭、交雑種704頭を飼養する肥育農場で、通常時は肥育素牛として7～8ヶ月齢を導入している。2010年7月、通常時と異なり4～5ヶ月齢の交雑種25頭 (同一群) を導入したところ、導入1ヶ月後から同一群内で発熱、下痢、呼吸器症状が多発し、8月～10月まで群内に症状が拡がり、25頭のうち3頭が死亡したため、病性鑑定を実施した。治療歴として、呼吸器症状発症牛については、一次選択薬としてチルミコシン製剤を、二次選択薬としてエンロフロキサシン製剤を投与していた。

### 【病性鑑定】

#### 1. 材料および方法

死亡牛3頭のうち2頭 (No. 1、2) について病理解剖を実施し、それら2頭の肺を用いて、HE染色並びに抗Mb兔血清を用いた免疫組織化学染色 (IHC) による病理組織学的検査を実施した。ウイルス学的検査では、死亡牛2頭の肺と同一群25頭の鼻腔スワブとペア血清を用いて、牛呼吸器関連ウイルス (牛ヘルペス1型、RSウイルス、牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルス1型、コロナウイルス、アデノウイルス7型、パラインフルエンザ3型) の抗原についてRT-PCR法、PCR法による特異遺伝子検索とウイルス分離を実施し、上記ウイルス抗体については中和試験並びにHI試験により実施した。細菌学的検査では、死亡牛2頭の肺と鼻腔スワブ25検体を用いて、5%羊血液寒天培地、DH L寒天培地、M-agar (ムチンPPL0寒天培地) により細菌およびマイコプラズマの分離を実施した。

#### 2. 成績

外貌は、発症牛及び死亡牛ともに重度の消瘦が見られ、その解剖所見では、No. 1の肺の一部が肝変色し、気管から気管支部にかけて泡沫状の滲出液が観察され、一部に膿瘍も観察された (図-1)。No. 2の肺全体は肺炎像を呈し、気管内には泡沫状の滲出液が観察され、肺前葉には微小な化膿による白色斑、後葉は前葉に比べ新鮮で化膿も見られなかったが、肉様を呈していた (図-2)。



図-1 解剖所見 ～死亡牛No.1～

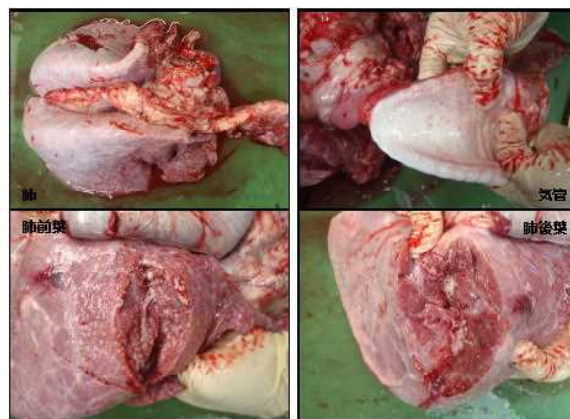


図-2 解剖所見 ～死亡牛No.2～

病理組織学的検査では、No. 1の肺の組織所見で、肺胞腔内に重度の好中球浸潤および漿液の貯留、線維素の析出、硝子膜の形成が観察され、一部の気管支腔内には好酸性凝塊を入れていた。また、一部の細気管支周囲には結合織の増生およびリンパ球の浸潤が観察され、気管支腔内には好中球および細胞類廃物の充満、粘膜上皮細胞の脱落と扁平化が観察された。No. 2の肺でも、No. 1と同様、肺胞腔内に漿液の貯留、硝子膜の形成、線維素の析出、好中球の浸潤が観察され、細気管支腔内には好酸性凝塊を入れ、周囲にマクロファージおよびリンパ球の浸潤、重度の線維化が見られる壊死巣が密発していた。また、細気管支の粘膜固有層にリンパ球の浸潤および周囲にリンパ濾胞の過形成も観察された。IHCでは、No. 1、2共に気管支腔内の細胞類廃物内にMbの陽性像が観察された（図-3、4）。

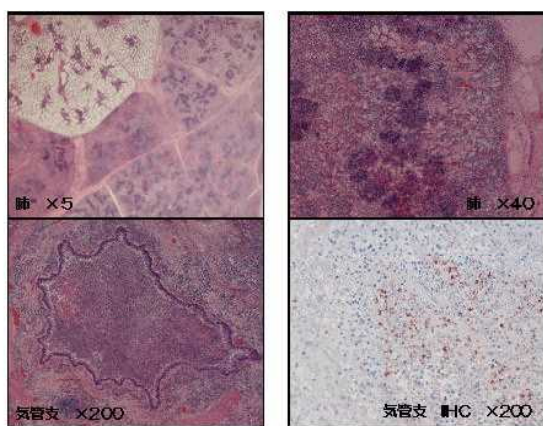


図-3 病理検査成績 ～死亡牛No.1～

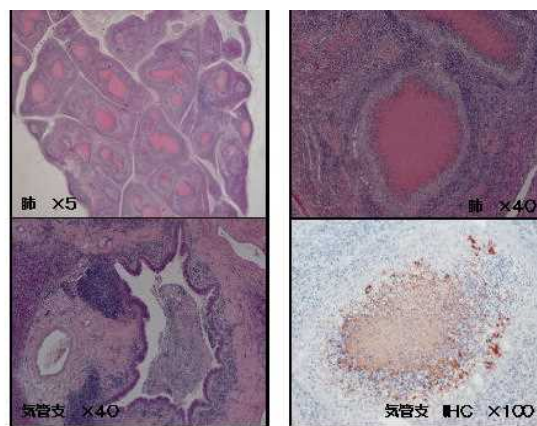


図-4 病理検査成績 ～死亡牛No.2～

ウイルス学的検査では、死亡牛並びに同一群において、呼吸器症状に関連するウイルス抗原は検出されず、それらウイルス抗体価の有意上昇も認められなかった。

細菌学的検査では、死亡牛2頭の肺からMbのみが分離され、鼻腔スワブからもMbが25頭中14頭で分離された。

以上の検査成績から、本症例をMbによる「牛マイコプラズマ肺炎」と診断した。

成書では牛マイコプラズマ肺炎の自然発症例のほとんどはウイルスや細菌が関与したBRDCとされるが、本事例では他の病原体の関与がなく、Mb単独感染により死亡した事例であることから、その要因解明のため疫学調査を実施した。

【疫学調査】

1. 薬剤感受性比較

1) 材料および方法

死亡牛2頭の肺から分離されたMb2株と同一群の鼻腔スワブから分離されたMb10株を用いて、8薬剤に対する最小発育阻止濃度（MIC）を微量液体希釈法により測定した。

2) 成績

Mb12株のMIC範囲は、4薬剤で3～5管差のバラツキが認められた（表-1）。

株毎の比較では、No. 1の肺由来株のMICパターンを基準とし、その1管差以内のMICの違いを同一パターンとしたとき、当該農場で分離されたMb12株は6パターンに区分された（表-2）。

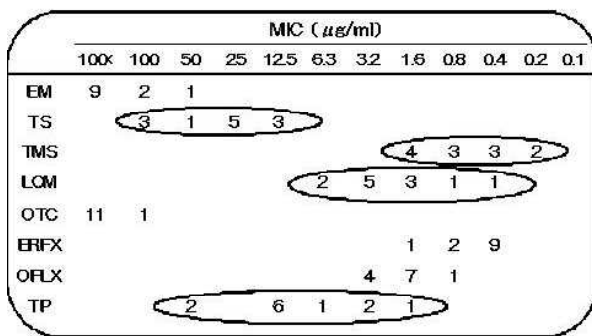


表-1 疫学調査結果 ～薬剤感受性比較（MIC範囲）～

菌株 No.	由来	感受性傾向		MIC* パターン
		高	低	
1	死亡牛-1 肺	LOM・TP	—	A
2	鼻腔	—	—	B
3	鼻腔	—	TMS	C
4	鼻腔	—	TMS	C
5	鼻腔	—	TS・TMS・LOM・TP	D
6	鼻腔	—	TS・TMS・LOM・TP	D
7	鼻腔	LOM・TP	—	A
8	鼻腔	—	TS・TMS	E
9	鼻腔	—	TMS	C
10	鼻腔	TP	TS	F
11	鼻腔	—	TMS	C
12	死亡牛-2 肺	—	—	B

MIC：6パターン

※1管差以内を同一

表-2 疫学調査結果 ～薬剤感受性比較（株ごとの比較）～

2. 遺伝子学的同一性比較

1) 材料および方法

上記12株と2008年、2009年に県内で分離されたMb4戸8株（県内分離株；繁殖農場由来3戸6株、肥育農場由来1戸2株）を用いて、制限酵素 Sma I を用いたパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）を実施した。

2) 成績

県内分離株のPFGEでは、繁殖農場由来株では、分離年月・部位が異なっても同一パターンを示し、肥育農場由来株は同時期に分離されたにも関わらず、異なるパターンを示した（図-5）。当該農場由来株では、6パターンに区分された（図-6）。

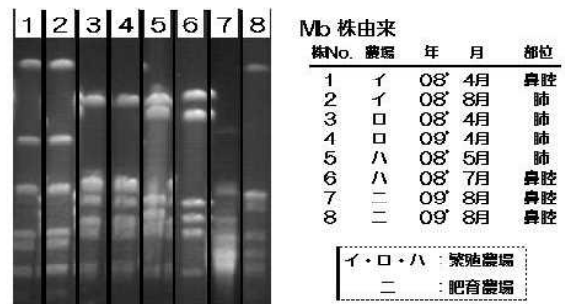


図-5 疫学調査結果 ～遺伝子学的同一性比較（県内分離株）～

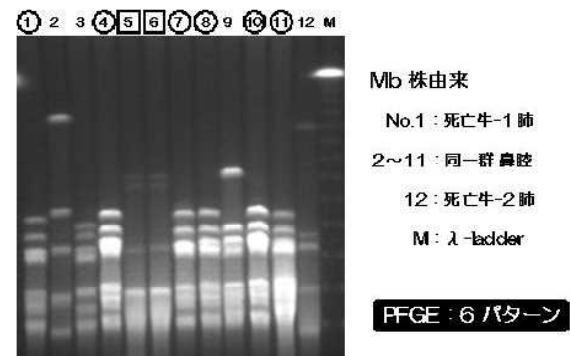


図-6 疫学調査結果～遺伝子学的同一性比較（当該農場分離株）

### 【まとめ・考察】

本事例では、呼吸器症状を呈して死亡した牛2頭の肺からMbのみが分離され、呼吸器関連ウイルス抗原は検出されなかった。その肺の病理組織所見もマイコプラズマ肺炎を示唆する組織像であったことから、死亡はMb単独感染による牛マイコプラズマ肺炎によるものと考察した。今回、当該農場で呼吸器症状を呈した牛は同一群のみであり、成書ではMbの感染から発症までの期間は1週間程度とあり、本事例の発生は導入から1ヶ月が経過していたことから、Mb感染は導入後に成立したものと考えられることから、当該農場にはMbが常在化していたと考察した。さらに同一群の鼻腔スワブからは呼吸器関連ウイルスが検出されず、高率にMbが分離されたことから、本牛群にはMbがまん延していたと考察した。

疫学調査では、当該農場分離株の薬剤感受性比較でMICが6パターン見られ、4薬剤で、MIC範囲で3～5管差のバラツキが見られたことから、有効薬剤を絞れず、抗生剤治療が困難であったと考察した。また、PFGEでは、過去県内で分離された株の中でも繁殖農場由来株は農場毎で同一パターンを示したのに対し、当該農場を含めた肥育農場では、そのパターンはバラバラであったことから、当該農場には多様なMb株の存在が示唆された。

### 【総括】

今回の事例から肥育農場には様々な地域・農場から群単位で素牛が導入され、さらにマイコプラズマ肺炎は顕在化しにくく、耐過しやすい特徴から、肥育農場では多様なマイコプラズマが牛から牛へと維持・継代されやすい環境であることが考えられた。そして、そのような環境に通常よりも幼弱な子牛を導入したことでマイコプラズマ肺炎が発生したものと考察した。当該農場には多様なMb株が存在したため抗生剤治療では完治せず、慢性化し、一部が死亡にまで至ったと考えられ、一見Mb単独感染による死亡事例であるが、実際は複数のMb株が多重感染したことにより難治性の呼吸器症状に陥り死亡した事例であると考察した。このことから、肥育農場のような多様なMb株が維持・継代されるような農場では、ひとたび呼吸器症状を発症すると治療が困難となり、耐過するのを待ち、対症療法を行うのみとなることから、その対策として、導入牛の隔離および検査の徹底を行うことで、農場内への新たなMb株の侵入防止を図り、さらに導入牛群と既存牛群との混在化を避けることにより、複数あるMb株の減数化を図ることが重要であると考えられる。

### 【引用文献】

1. 興水馨、清水高正、山本孝史ほか. 1988. マイコプラズマとその実験法.
2. Hirose, K., Kobayashi, H., Ito, N., Kawasaki, Y., Zako, M., Kotani, K., Ogawa, H., and Sato, H. 2003. Isolation of Mycoplasmas from nasal swabs of calves affected with respiratory diseases and antimicrobial susceptibility of their isolates. *J. Vet. Med.* B50. p. 347-351

3. McAuliffe, L. , Kokotovic, B. , Ayling, R. D. , and Nicholas, R. A. J. 2004. Molecular epidemiological analysis of *Mycoplasma bovis* isolates from the United Kingdom shows two genetically distinct clusters. J. Clin. Microbiol. p. 4556-4565.