

08. 黒毛和種流産胎子で *Aspergillus* 属菌による真菌性流産

と診断した一事例

宇佐家畜保健衛生所 大分家畜保健衛生所¹⁾

○山中恒星・長谷部恵理・佐伯美穂・(病鑑) 武石秀一
病鑑 大木万由子¹⁾・病鑑 磯村美乃里¹⁾・病鑑 人見徹¹⁾

【はじめに】牛の真菌性流産は、米国では *Aspergillus* 属菌が 60～80%を占め、世界的にも主要な流産の原因であると言われている。また胎盤炎を伴う場合、真菌性胎盤炎と診断されることもある。一方、胎子に病変が観察される割合は 3 割程度とされており、真菌の分離培養のみではコンタミネーションの可能性があり診断が難しい疾病である。今回、流産胎子に真菌性皮膚炎及び気管支炎を示す病変が確認され、病原真菌の分離及び特定に至った症例に遭遇したので報告する。

【発生概要】当該農場は黒毛和種約 70 頭を飼養する繁殖農場。症例は胎齢 7 ヶ月齢の雄、2020 年 9 月 9 日に予定日より 54 日早く流産。母牛は自家産の 3 歳齢で 3 産目。流産前後に母牛の元気・食欲は異常なく、流産直後の血液検査所見も著変なし。流産胎子の全身の皮膚に痂皮を伴う発疹が見られたため病性鑑定を実施。

【病性鑑定】定法に従い病理解剖後、病理組織学的検査、細菌学的検査及びウイルス学的検査を実施。病理組織学的検査では主要臓器、脳、脊髄、眼球、皮膚、浅頸リンパ節、胸腺、気管、回盲部、空回腸の HE 染色及び PAS 染色による観察を行い、その後グロコット染色及び真菌を特異的に染色するファンギローラ Y を用いて蛍光染色を実施した他、免疫組織化学的検査を農研機構動物衛生研究部門に依頼。細菌学的検査では流産後 6 日目及び 48 日目の母牛の子宮内液を主要臓器、脳、皮膚並びに腔粘液、子宮内液及び飼料を用いて細菌と真菌分離を実施した。また母牛血清でブルセラ症急速凝集反応を確認した。ウイルス学的検査では、流産胎子の脳を用い、牛ウイルス性下痢ウイルス（以下、BVDV）、ブニヤウイルス属シンプ血清群ウイルス、オルビウイルス属パリウム血清群ウイルス、流行性出血病ウイルス群を特異的に増幅させるプライマーペアを用いて RT-PCR 実施した。

【成績】外貌では全身の皮膚に発疹（特に頭部と肘部は痂皮様）が見られた（図 1）。剖検所見では肺にモザイク状の肺炎、血様心嚢水の貯留が見られた。肝臓はやや肥大し、腸間膜リンパ節等、全身のリンパ節の腫大を認めた（図 2）。

図1：流産胎子外貌



図2：剖検所見



病理組織学的検査では、HE 染色で皮膚、肺及び大腸で好中球主体の炎症細胞の浸潤が見られた。皮膚は角質層の剥離、真皮に重度の好中球の浸潤および壊死（主に毛包）、血栓の形成や血管の壊死が見られた。肺は細気管支腔内に好中球およびマクロファージの浸潤が見られ、退廃物も確認された（図3）。PAS 染色では皮膚、肺細気管支腔内及び大腸管腔内で菌糸様構造物が観察された（図4）。

図3：病理組織学的検査（HE染色）

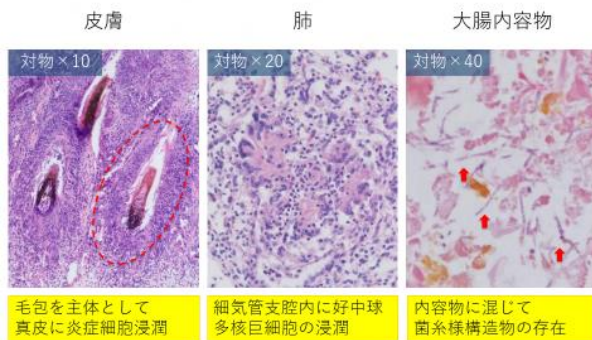
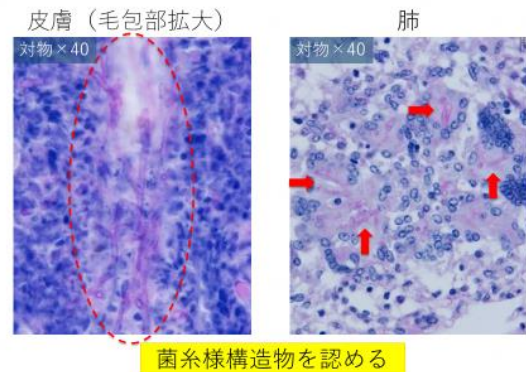
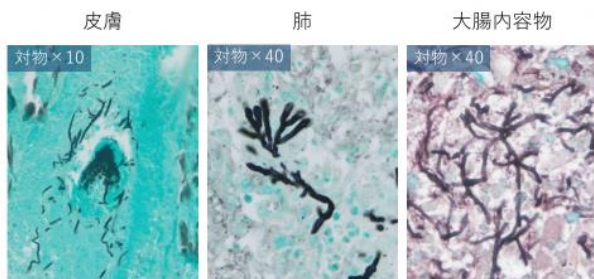


図4：病理組織学的検査（PAS染色）



菌糸様構造物はグロコット染色で強く染まり、隔壁を持った Y 字状菌糸であった（図5）。蛍光染色では、真菌を特異的に蛍光染色するファンギローラ Y を使用したところ、菌糸様構造物に特異的に染まる発色を確認できた（図6）。なお材料は皮膚

図5：病理組織学的検査（グロコット染色）



黒染する菌糸様構造物を認める
→隔壁あり、一部Y字状に分岐

図6：病理組織学的検査（蛍光染色）



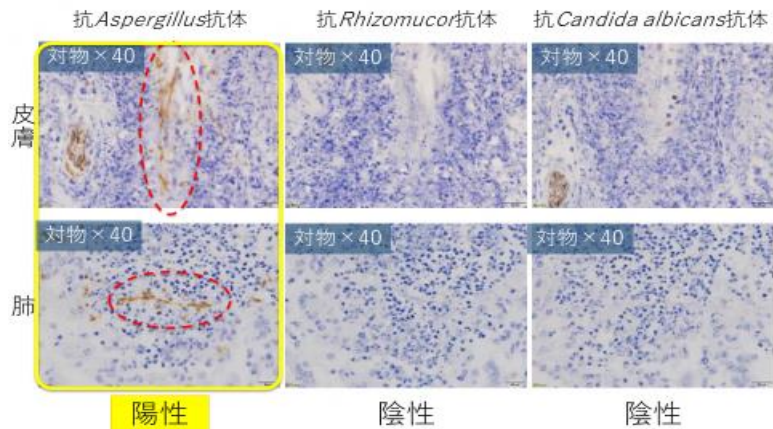
真菌に特異的に染まる蛍光発色を確認

のパラフィン切片及び凍結切片を使用しており、どちらも発色を確認できた。

免疫組織化学的染色では、肺および皮膚にみられた菌糸様構造物がマウス抗 *Aspergillus* 抗体で陽性反応を示した（図7）。一方抗ムコール抗体と抗カンジダ抗体では染色されなかった。

以上ここまでの結果で、病理組織学的検査では *Aspergillus* 属菌による真菌性皮膚炎及び気管支肺炎と診断した。

図7：病理組織学的検査（免疫染色）



細菌学的検査では各臓器からの細菌分離、ブルセラ症の急速凝集反応共に陰性であった。流産後6日目の母牛から沈殿物を含む膈内及び子宮腔内の貯留液が採取され、これらの直接塗抹をグロコット染色したところ病理組織学的検査と同様の菌糸様構造物が観察された（図8）。後日比較対象として、流産後48日目（採取2日前に子宮のイソジン洗浄が実施済）にも子宮内液を採取した。子宮内液の外見は6日目と比較すると顕著に沈殿物が減っており、鏡検しても菌糸様構造物は確認されず、子宮内の真菌汚染状況は改善されたようであった。

検査材料のうち皮膚、肺、膈内及び子宮腔内の貯留液で真菌が分離され、形態的特徴は病理学的検査で確認されたものと一致していた（図9）。また分離された真菌からDNAを抽出し、PCR検査を実施したところ *Aspergillus* 属菌に特異的とみられる遺伝子増幅が見られたことから、病原体は *Aspergillus* 属菌と特定した。

図8：細菌学的検査

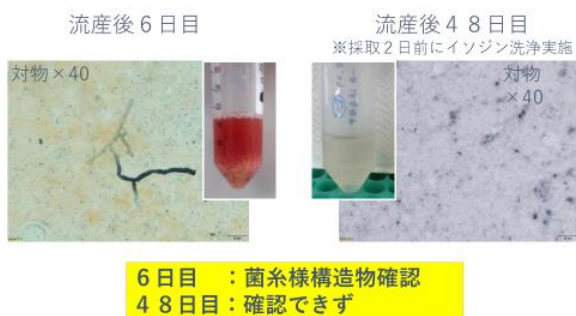
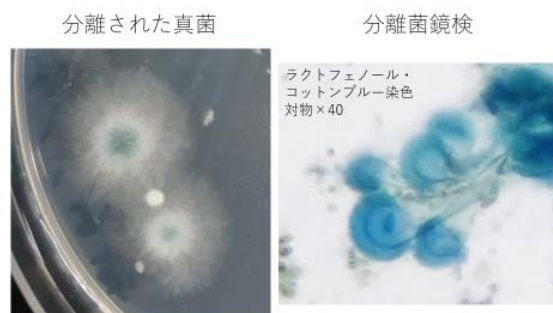


図9：細菌学的検査



ウイルス学的検査での流産関連ウイルスについては検査陰性であった。

【まとめおよび考察】本症例は、胎子の病変は皮膚に痂皮様の発疹、肺にモザイク状病変が見られた。病理組織学的検査でこれら病変に炎症細胞浸潤と菌糸様構造物が確認され、この菌糸様構造物は抗アスペルギルス抗体陽性であった。その他主要臓器では病変・真菌ともに確認されなかった。細菌学的検査ではこれら病変と母牛の子宮内液等で真菌が分離され、PCRで *Aspergillus* 属菌に特異的と考えられるバンドが確認された。その他細菌分離及びウイルス学的検査では実施した検査は全て陰性であり、以上の結果を総合して、*Aspergillus* 属菌による真菌性流産と診断した。

本事例では胎子の病変や *Aspergillus* 属菌が確認されたが、皮膚や肺、腸管腔内に局在しており、その他主要臓器では病変・真菌ともに確認されなかった。これらの所見は過去の文献と照らし合わせても概ね一致していた。また今回は未採材であったが胎盤や胎膜で真菌が確認されている文献もあった。本事例では残留した羊水を含むと思われる母牛の子宮内液等で真菌が確認されており、胎盤や胎膜が採取できていればそれらにも *Aspergillus* 属菌が確認されていたと推察している。胎子への感染経路としては、皮膚や肺に真菌による病変が確認されたため、羊水中に真菌が存在し経皮・経口的に感染したと推察された。

一方、冒頭で述べたとおり真菌性流産は必ずしも病変が観察されず、原因不明で処理される一因であると推察される。確実な診断をするために、発生機序の考察から今後の真菌性流産の病性鑑定における、採材及び検査方法について検討した。

過去の文献や発生機序の考察を踏まえると、本事例では未採材であった胎盤や、羊水とほぼ同様と思われる胃腸内容物が検査に有用であると言えそうであった。通常採取する胎子の主要臓器に加え、これらの材料でまず病理組織学的検査を実施し、そこで病変の形成や真菌を確認ができた場合、細菌学的検査でも同様の真菌が認められれば更に検査結果の裏付けとなり、信頼性の高い診断につながると考えられる。以上のことから、真菌性流産を病性鑑定する場合、胎盤や胃腸内容物等の適切な採材が重要であり、今後これを実施し確実な診断に繋げていきたい。