

Pasteurella multocida A:1による疣贅性心内膜炎を伴う 子牛の敗血症

河村美登里^{1)†} 星野尾歌織²⁾ 小川寛大³⁾ 本多俊次⁴⁾ 恵谷美江³⁾
兼廣愛美¹⁾ 菊池浩久³⁾ 阿川啓雄⁵⁾

- 1) 広島県西部家畜保健衛生所 (〒739-0013 東広島市西条御条町1-15)
2) (独)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 (〒305-0856 つくば市観音台3-1-5)
3) 広島県農林水産局畜産課 (〒730-8511 広島市中区基町10-52)
4) 広島県東部家畜保健衛生所 (〒720-8511 福山市三吉町1-1-1)
5) 広島県北部家畜保健衛生所 (〒727-0011 庄原市東本町1-4-1)

(2009年12月3日受付・2010年6月17日受理)

要 約

広島県内の乳用牛約40頭を飼養する農場で、35日齢の子牛1頭が、呼吸器症状と四肢関節の腫脹を呈し斃死した。病性鑑定の結果、非定型的生化学的性状(ラクトース分解能陽性およびβ-ガラクトシダーゼ陽性)を示す*Pasteurella multocida*血清型A:1(莢膜抗原CarterのA型, 菌体抗原Heddlestonの1型)が分離され、左心室の疣贅性心内膜炎を伴う敗血症と診断した。牛から*P. multocida*血清型A:1が分離されることはまれで、同様の病態に関する報告はない。——キーワード：*Pasteurella multocida*, 血清型A:1, 疣贅性心内膜炎。

----- 日獣会誌 63, 866～869 (2010)

Pasteurella multocida (PM) は種々の動物に対して病原性を有し、1次感染菌として家畜に出血性敗血症を引き起こす [1, 2] が一方で健康家畜の口腔内や鼻腔など上部気道粘膜の常在菌としても存在し、2次感染菌として、肺炎等の呼吸器疾患を引き起こす [1, 2] ことが知られている。これらの病態の違いには、本菌の保有する莢膜や内毒素等の病原因子が関与すると考えられているが [1, 2], 詳細は明らかではない。PMは莢膜抗原ならびに菌体抗原により複数の血清型に分類されており、以下のような病態を示す [1-3]。家禽コレラからの分離株は、血清型A:1, A:3, A:4が主体であり、B:2またはB:2・5ならびにE:2またはE:2・5は、牛や水牛の法定伝染病である出血性敗血症の原因となる。このように血清型と宿主や病態には、関連性があると考えられている [1, 2]。

今回、牛ではまれな血清型A:1株による子牛の疣贅性心内膜炎を伴う敗血症に遭遇したので、その概要を報告する。

材料および方法

発生概要：乳用牛約40頭を飼養する酪農家において、

7日齢の子牛が、発熱(40.7℃)、元気消失、努力性呼吸を呈し、その3日後に四肢関節の腫脹を示して起立困難となった。その後、セファゾリン、エンロフロキサシン、フロルフェニコール、カナマイシン、ペニシリンおよびタイロシンによる治療の結果、一時症状は軽減したものの35日齢で斃死し、同日病性鑑定を行った。子牛は生後、自発的に十分量の初乳を摂取していた。

病理学的検査：剖検後、主要臓器を10%ホルマリン液で固定し、常法によりパラフィン切片を作製後ヘマトキシリン・エオジン染色、グラム染色を施し鏡検した。

細菌学的検査：主要臓器の10%乳剤を、5%羊血液加寒天培地およびDHL寒天培地に接種し、37℃好気、嫌気または5%炭酸ガス下で24～48時間の定量培養を行った。分離菌はグラム染色により形態を確認後、2種類の市販キット(IDテスト・HN20ラピッド、日本製薬(株)、東京、API20NE、シスメックス・ビオメリュー(株)、東京)ならびにBergey's Manual [4]に基づき同定を試みた。また、分離菌3株について、16S rRNA遺伝子のダイレクトシーケンス法により塩基配列

† 連絡責任者：河村美登里 (広島県西部家畜保健衛生所病性鑑定グループ)

〒739-0013 東広島市西条御条町1-15 ☎082-423-2441 FAX 082-424-1826

E-mail : njwchikusan@pref.hiroshima.lg.jp

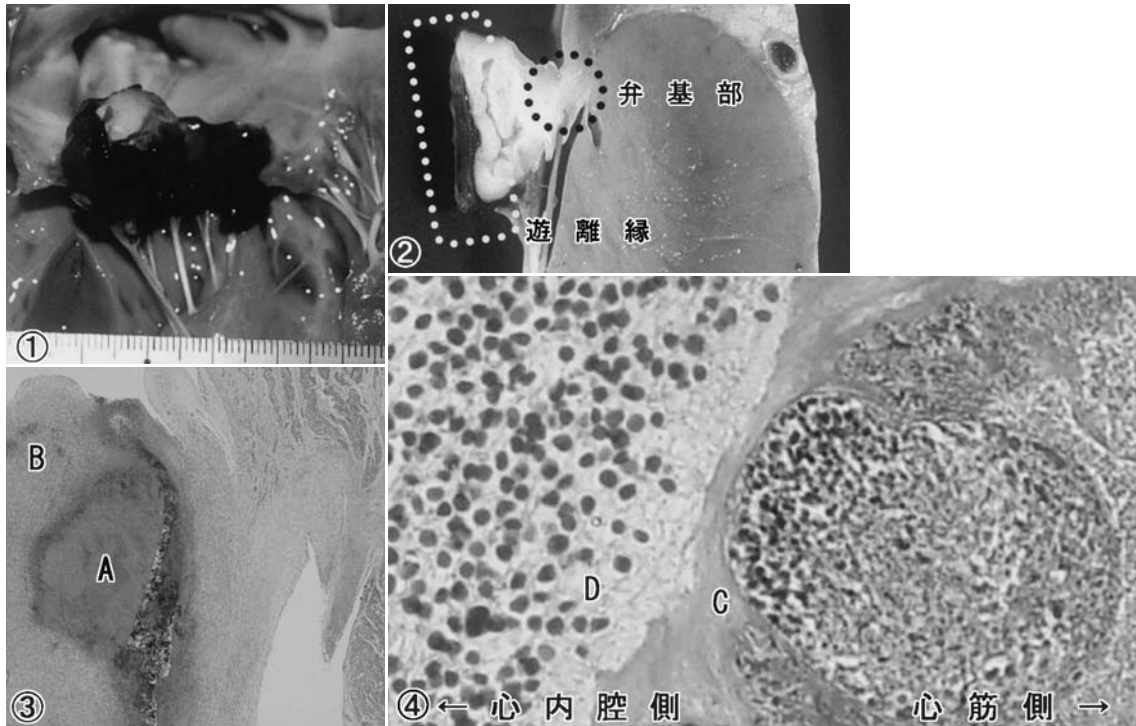


図1 左房室弁腫瘍物の病理所見

- ①左房室弁に形成された疣状の腫瘍
- ②腫瘍の断面像（ホルマリン固定後）
- ③弁基部（HE染色 ×2）
A：好中球と細菌からなる壊死部 B：Aを囲むように膠原線維の増生がみられる
- ④遊離縁（HE染色 ×60）
C：細菌塊を囲むように線維素の析出がみられる D：Cの外側に赤血球を伴う線維素の析出がみられる

(1504bp)を決定し、相同性検索（BLAST）による分離菌の同定を行った。また、Carterの莢膜抗原型の決定は間接赤血球凝集反応およびPCR法 [5]、Heddlestonの菌体抗原型は寒天ゲル内沈降反応により行った。

ウイルス学的検査：主要臓器の10%乳剤を遠心し、上清を初代牛腎臓細胞に接種し、ウイルス分離を試みた。

成 績

剖検所見：左房室弁に、2.0 × 2.0 × 1.5cm大と1.5 × 1.5 × 0.7cm大の腫瘍物が付着していた（図1-①、②）。両側の膝関節、足根関節および左手根関節は腫脹し、関節面には乳白色膿様物が貯留していた。脳脊髄液は増量し、透明～白色粕状物が混在していた。左右腎臓と内腸骨リンパ節は腫大していた。

病理組織学的所見：左房室弁に肉眼的にみられた腫瘍は、組織学的には弁基部と弁遊離縁で異なる病変を呈していた。弁基部は、好中球およびグラム陰性菌を主とした壊死退廃物により形成され、周囲を膠原線維が取巻き肥厚していた（図1-③）。弁遊離縁の心筋側は、グラム陰性菌塊を中心に線維素の析出がみられ、心内腔側は赤血球を伴う線維素に覆われていた（図1-④）。また、乳

頭筋付近では間質小血管周囲に好中球が浸潤し、冠状動脈内にフィブリン血栓が認められた。おもに後頭葉の大脳髄膜では好中球浸潤がみられ、一部の髄膜血管に血栓が認められた。中脳実質では、血栓および好中球浸潤を伴う血管炎が認められ、下垂体神経葉に接する髄膜や三叉神経線維束周囲にも好中球が著明に浸潤していた。脾臓では、好中球浸潤を伴うリンパ濾胞の壊死が多中心性に認められた。腎臓では、尿細管壊死および尿細管腔における好中球円柱を伴う化膿性間質性腎炎がみられ、線維化も認められた。肺では、軽度の好中球浸潤と細気管支の著明な拡張、肺胞上皮細胞の腫大および肺胞腔内への漿液の貯留が認められ、軽度の肺胞性肺気腫を呈していた。両側の関節には化膿性膝関節周囲炎が、また、遺残した臍帯動脈の内腔には好中球の退廃物が貯留し、壁には好中球の浸潤が認められたが、これらの部位では器質化も進んでおり、菌体は確認できなかった。

細菌学的検査所見：肝臓、脾臓、心臓、腎臓、肺、脳および内腸骨リンパ節から、白色で、ややラフ型のコロニーを形成する菌が、各 $10^{1\sim5}$ cfu/g、心臓腫瘍および手根関節液から各 10^6 cfu/g以上優位に分離された。分離された細菌は、すべてグラム陰性で二極染色を示す短桿菌で、莢膜は不明瞭であった。またこれらの株は、ID

表1 生物学的・生化学的性状比較

	分離株	<i>P. multocida</i>	<i>P. pneumotropica</i>	<i>P. ureae</i>	<i>P. aerogenes</i>	<i>P. gallinarum</i>	<i>M (P). haemolytica</i>
溶血性 (β)	-	-	-	-	-	-	+
マッコンキー寒天培地上での発育	-	-	-	-	+	-	+
インドール産生	+	+	+	-	-	-	-
ウレアーゼ活性	-	-	+	+	+	-	-
β -ガラクトシダーゼ	+	d*	+	-	+	d	d
ラクトース分解能	+	-	d	-	-	-	d
マンニトール分解能	+	+	-	+	-	-	+

*：菌株により異なる

テスト・HN20ラピッドでは該当コード(7615771)がなく判定できなかった。ラクトース分解陽性および β -ガラクトシダーゼ陽性である点がPMの定型的性状と一致しなかった。API20NEでは、*Pasteurella pneumotropica* (PP) 93.6% (7020004)と判定されたが、ウレアーゼ活性が陰性である点がPPの定型的性状と一致しなかった。分離株は、ウレアーゼ活性陰性、ラクトース分解能陽性ならびにマンニトール分解能陽性であり、Bergey's Manual [4]に基づいたPMとPPおよびその他のパスツレラ属菌との鑑別も不可能であった(表1)。しかしながら、16S rRNA遺伝子配列の比較による同定の結果、心臓腫瘍、脳、内腸骨リンパ節由来株の16S rRNA遺伝子配列はいずれも*P. multocida* subsp. *septica* 基準株 NCTC 11995の登録配列と99.80%、同subsp. *multocida* 基準株 NCTC 10322の登録配列および同subsp. *gallicida* 基準株 NCTC 10204の登録配列と98.51%の相同性であったことから、PMと同定した。莢膜抗原はCarterのA型、菌体抗原はHeddlestonの1型(A:1)であった。

ウイルス学的検査所見：3代継代したが、ウイルスは分離されなかった。

以上の成績から、本症例はPM血清型A:1に起因した、疣贅性心内膜炎を伴う敗血症と診断された。

考 察

A:1による代表的疾病としては、家禽コレラがあげられ[1-3]、わが国においても七面鳥やガチョウ等の報告例[3, 6]がある。いっぽう牛では、渥美ら(酪農学園大学紀要自然科学編, 1986)が呼吸器病由来株においてHeddleston 1型が分離された例を報告しているが、A:1であったかどうかは明記されていない。国内の牛由来株における血清型別傾向について、渥美らの他に精査された報告はなく、単発事例としては脳炎症例[7]等があるが、これらはA:3である。また、われわれがこれまでに血清型別した国内牛呼吸器病由来のPMもA:3の株が最も多く、A:1の株はない(未公表データ)。これらことから、わが国の牛に浸潤している株の多くはA:3

であり、A:1はまれであると推察される。牛からのA:1分離報告例は海外でもごくわずかであり[8]、A:1を起因菌とする本症例はまれな例であると考えられた。

畜産分野においては、これまで、PMに起因した疣贅性心内膜炎の報告はされていないが、人において類似した報告例[9, 10]が少数ながら存在する。これらの症例は、腎疾患や肝硬変等の基礎疾患に付随した発生であったことから、抗病性低下に起因した可能性が示唆されている。本症例は若齢牛における感染であったことから、人の報告と同様に、免疫能が十分ではなかったことが、このような病態を呈した一因と考えられた。

前述のようにPMについては経気道感染が知られているが、本症例では、肺炎等の化膿性の所見が確認できなかったことから、PMが肺から侵入した可能性は低いものと考えられた。したがって、初診時から認められた努力性呼吸等も肺炎によるものではなく、敗血症や疣贅性心内膜炎に起因した循環障害によるものと考えられた。いっぽう、遺残臍動脈に化膿性の炎症が確認されたことから、PMが臍帯から侵入した可能性が考えられたが、臍帯およびその周囲の炎症部位では器質化が進行しており、同部位に菌体は確認されなかったことから、感染経路の特定には至らなかった。本症例では、体内に侵入したPMは血行性に移行し、心臓に病変を形成するとともに関節や主要臓器に化膿性の炎症を呈したと推察された。本症例発生前後において当該農場では呼吸器病や乳房炎等、PMの浸潤が疑われる疾病は確認されなかったことから、感染源は特定できなかった。その後現在まで、同様疾患の発生は認められていない。

牛において、本例のような非定型的な生化学的性状を示すPM血清型A:1の関与した症例の、詳細な報告はこれまでなく、このような株が野外でどのように疾病と関わっているのかは不明であるが、同様症例について精査が行われなかったために、これまでPM感染症と診断できず見逃されてきた可能性もある。本菌が本症例のような病態を示す可能性があることが明らかになったことから、今後、農場における浸潤状況を明らかにし、本菌による病態について情報を収集していくことが必要である

と考えられた。

引用文献

- [1] 澤田拓士：パスツレラ，獣医感染症カラーアトラス，見上 彪編，第2版，63-71，文永堂出版，東京（2006）
- [2] 杉本千尋：パスツレラ属，新編獣医微生物学，梁川 良編，第1版，230-238，養賢堂，東京（1989）
- [3] 澤田拓士：家禽コレラ，日獣会誌，41，383-393（1988）
- [4] Mannheim W：FAMILY III. Pasteurellaceae, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1, Barbara T, et al eds, 1st ed, 552-557, Williams & Wilkins, Baltimore (1984)
- [5] Townsend KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B：Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system, J Clin Microbiol, 39, 924-929 (2001)
- [6] 高井 光，早川雄二，新谷英一，小前博文，吉田幸雄，井出久義，阿部玄立，沢田拓士：七面鳥における *Pasteurella multocida* 感染症の発生，日獣会誌，47，923-927（1994）
- [7] 丹治敏夫：牛の感染による化膿性脳室炎および脳室上衣炎，日獣会誌，50，453-454（1997）
- [8] Kumar AA, Harbola PC, Rimler RB, Kumar PN：Studies on *Pasteurella multocida* isolates of animal and avian origin from India, Ind J Comp Microbiol Immunol Infect Dis, 17, 120-124 (1996)
- [9] Fayad G, Modine T, Mokhtari S, Legout L, Decoene C, Azzaoui R, Al-Ruzzeh S, Naja G, Larrue B, Lecomte F, Senneville E, Warembourg H：Pasteurella multocida aortic valve endocarditis, case report and literature review, J Heart Valve Dis, 12, 261-263 (2003)
- [10] Hombal SM, Dincsoy HP：Pasteurella multocida endocarditis, Am J Clin Pathol, 98, 565-568 (1992)

Bovine Septicemia with Vegetative Endocarditis Caused by *Pasteurella multocida* A:1

Midori KAWAMURA^{*†}, Kaori HOSHINO, Kandai OGAWA, Syunji HONDA, Mie EYA, Megumi KANEHIRO, Hirohisa KIKUCHI and Hiroo AGAWA

* Western Center of Livestock Hygiene Service, Prefecture of Hiroshima, 1-15 Gojo, saijo, Higashi-Hiroshima, 739-0013, Japan

SUMMARY

A 35-day-old calf on a dairy farm in Hiroshima Prefecture died after showing respiratory disorder and swelling of joints. A bacteriological and histopathological examination revealed systemic infection and vegetative endocarditis caused by *Pasteurella multocida* A:1 (Carter's capsular type A : Heddleston's somatic type 1), showing atypical biochemical characteristics, i.e., positive acid production from lactose and positive hydration of o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside. This is the first report of bovine septicemia caused by *P. multocida* A:1.

— Key words : *Pasteurella multocida* Serotype A:1, Vegetative endocarditis.

† Correspondence to : Midori KAWAMURA (Western Center of Livestock Hygiene Service, Prefecture of Hiroshima) 1-15 Gojo, saijo, Higashi-Hiroshima, 739-0013, Japan

TEL 082-423-2441 FAX 082-424-1826 E-mail : njwchikusan@pref.hiroshima.lg.jp

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 63, 866 ~ 869 (2010)