

7 肉用牛繁殖農場で発生した真菌性流産

上北地域県民局地域農林水産部十和田家畜保健衛生所

○大澤 光紗 小田桐千鶴恵
高橋 玲 太田 智恵子
田中 慎一

1 はじめに

牛の流産は原因不明のものが大多数を占め、その中でも真菌性の流産については報告が少なく、病原真菌の特定に至らないというのが現状である。また、胎子に病変を形成する症例も少なく、国内での報告は数少ない。

今年度、管内で流産胎子に病変を形成し、原因の特定に至った症例があったため報告する。

2 発生概要

今回発生があった農場は、肉用牛繁殖農場で、飼養頭数は400頭、うち繁殖牛を200頭飼養している。

令和5年10月1日に胎齢7ヵ月で流産。母牛は交雑種で、35ヶ月齢2産目、ETによる受胎で、流産の前後で臨床症状はなし。なお、この牛は、1産目は死産であった。

流産の翌日、当所に病性検査の依頼があり、解剖を実施した。依頼があったのが流産の翌日であったため、胎盤は農場で廃棄済のため確認ができなかったが、農場の管理獣医師からは、融解し不潔汚穢色を呈していたことから、壊死性胎盤炎を疑う所見を認めたとの稟

告があった。

3 剖検所見

胎子の体長は約60cmで、胎齢相応の発育であったが、全身に皮膚病変が見られた(図1)。病変部は灰白色で類円形、大小不同の斑状でやや隆起しており、皮膚糸状菌症の症状と類似していた(図2)。背部には皮下水腫、腹腔には血様の胸水及び腹水の貯留が見られ、その他臓器に著変は認められなかった。

流産及び皮膚病変の原因究明のため、病性鑑定を実施することとした。



図1 全身に皮膚病変が見られた流産胎子



図2 流産胎子皮膚病変部

4 病性鑑定

(1) 材料と方法

ア 病理組織学的検査

流産胎子1頭の皮膚、主要臓器、腸管、臍帯の病理組織学的検査を病性鑑定課に依頼し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、PAS 染色、グロコット染色、ファンギフローラ Y 染色を行った。

イ 細菌学的検査

細菌学的検査では、皮膚、主要臓器、胃内容物、臍帯、母牛の悪露を、血液寒天培地 37℃で好気及び嫌気培養した。胃内容物は、CCDA 培地及びスキロー培地 37℃で微好気培養も行った。また、ブルセラ症の抗体検査を市販の ELISA キットで実施した。

ウ ウイルス学的検査

流産胎子の主要臓器の病理組織切片を材料とし、アカバネウイルス (AKV)、アインウイルス (AIV)、チュウザンウイルス (CHV)、イバラキウイルス (IBV)、ブルータングウイルス (BTV)、牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) について遺伝子検査を実施した。

エ 寄生虫学的検査

流産胎子の腎臓の病理組織切片を材料と

し、ネオスポラの遺伝子検査を実施した。

オ 生化学的検査

母牛の血清の血液生化学検査を、ドライケミストリー法で実施した。

カ 真菌学的検査

細菌培養と同様の材料をポテトデキストロース培地で培養した。真菌は種によって発育する温度が異なるため、25℃及び 37℃で培養を行った。

分離されたものを、ラクトフェノールコットンブルー染色で鏡見した。

(2) 検査結果

ア 病理組織学的検査

皮膚の発疹部において角化亢進が見られ、角質層には完全に角化せず、核が残ったままの錯角化も認められた (図3)。角質層及び毛包内に、PAS 染色、グロコット染色陽性の菌糸が認められた (図4)。菌糸は太さが均一で隔壁がみられ、Y 字状分岐であることから、アスペルギルス属真菌であることが確認された。真菌を特異的に染めるファンギフローラ Y 染色では菌糸が見られた部位での発色を確認した (図5)。

腸管では、組織中に病変形成は認められなかったが、空腸・盲腸内容物において、皮膚病変部と同様の菌糸が認められた。

その他の臓器に著変は認めらなかった。

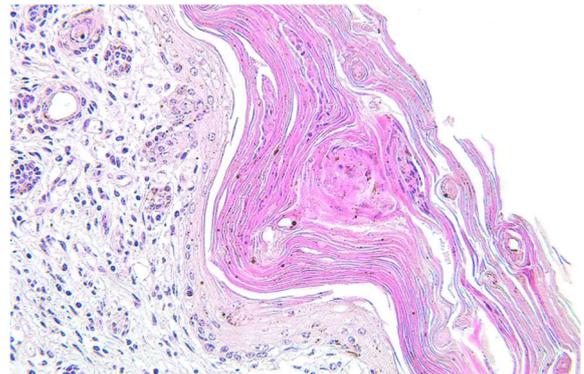


図3 皮膚の HE 染色

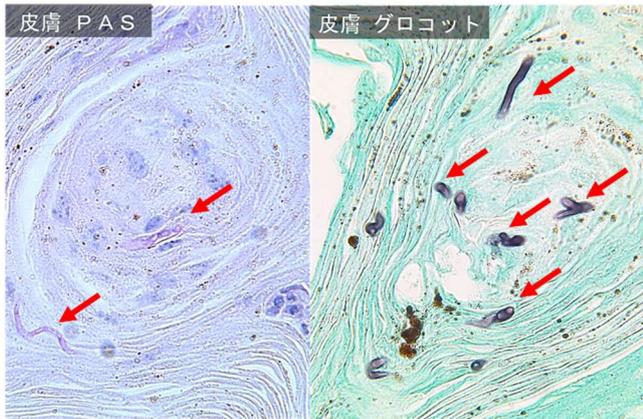


図4 皮膚のPAS染色、グロコット染色

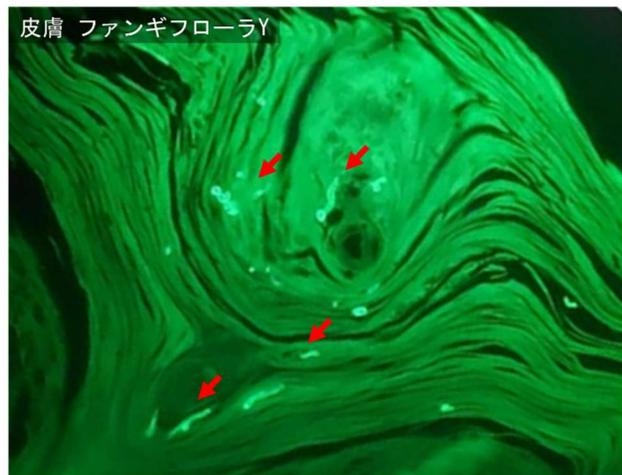


図5 皮膚のファンギフローラY染色

イ 細菌学的検査

有意菌は分離されず、ブルセラ抗体は陰性であった。

ウ ウイルス学的検査

各臓器から、AKV、AIV、CHV、IBV、BTV、BVDVの特異遺伝子は検出されなかった。

エ 寄生虫学的検査

腎臓から、ネオスポラの特異遺伝子は検出されなかった。

オ 生化学的検査

流産前後の母牛の血液検査値に大きな異常は認められなかった（表1）。

表1 母牛血清生化学的検査結果

	流産前	流産後		流産前	流産後		
TP	6.7	6.7	g/dl	GOT	47	51	U/l
Alb	3.4	3.4	g/dl	GGT	47	25	U/l
A/G	1.0	1.0		LDH	640	589	U/l
BUN	10.6	5.9	mg/dl	CPK	47	49	U/l
Cre	0.92	0.99	mg/dl	Ca	10	9.7	mg/dl
Glu	64	86	mg/dl	Mg	2.3	2	mg/dl
T-cho	111	93	mg/dl	IP	6	6.2	mg/dl
T-Bill	0.1	0.1	mg/dl				

カ 真菌学的検査

培養の結果、病理組織学的検査で著変の見られなかった臓器や、臍帯、悪露などからも真菌が分離された。真菌による感染症は、表在性真菌症と深在性真菌症があり、それぞれで発育温度が異なるが、本症例の真菌は25℃、37℃の両方で発育した（表2）。コロニーは白色から茶色で、放射粉状であり、平面的発育を示した（図6）。

コロニーから釣菌し、ラクトフェノールコットンブルー染色で鏡検したところ、分生子を持つ真菌が多数認められた。

皿球型の頂囊の上3分の2を覆うフィアライドが観察されたことから、形態学的にAspergillus属であることが推察された（図7）。

また、菌糸から球状に伸びたアレウリオ型分生子が多数認められた。アレウリオ型分生子は、アスペルギルス属菌の中ではAspergillus terreus (At)のみが形成する分生子であるため¹⁾、形態学的にAtであると推察された（図8）。

表2 真菌分離結果

	25°C	37°C
皮膚（背中）	+	+
皮膚（腿）	+	+
臍帯	+	+
悪露	+	+
心臓	-	-
肝臓	+	+
肺	+	+
脾臓	+	+
腎臓	+	+
胃内容物	+	+
腹水	+	+

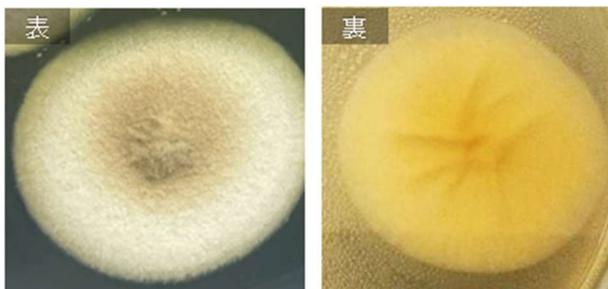


図6 発育コロニー

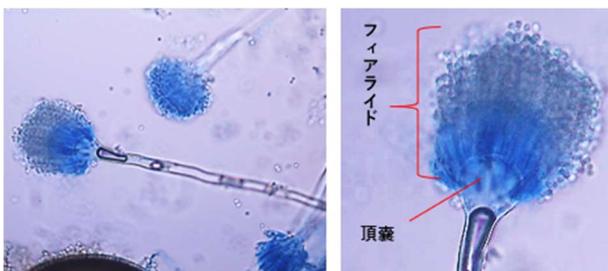


図7 フィアライド

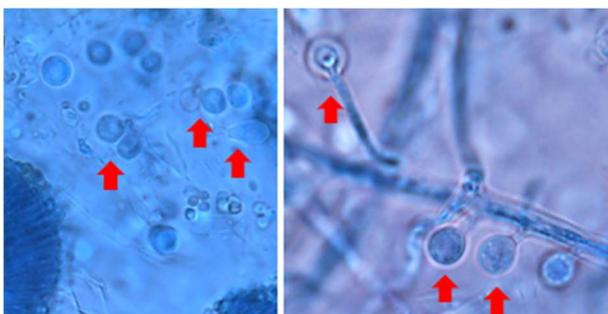


図8 アレウリオ型分生子

(3) 考察

病理組織学的検査及び真菌学的検査の結果より、本症例は真菌性の流産であることが推察された。また、臍帯で病変が見られず、胃内容物及び悪露で真菌が確認されたことから、羊水を介した胎子への感染が示唆された。

胎子の皮膚は、成牛の皮膚と比べて湿潤・軟性であり、真菌が侵入しやすいため、皮膚病変を形成したと推察された²⁾。

今回分離された At は土壌や貯蔵された穀物等、環境中に常在する真菌であることから、感染経路の検討のため、農場で検査を実施することとした。

5 感染経路の検討

(1) 材料と方法

敷料、飼料、飼槽及び水槽の拭取り、母牛の鼻腔、体表、膣のスワブの採材を行った。今回の発生農場では TMR の製造・保存ともに、農場で行っているため、飼料は TMR の原料及び完成品を採材した。それぞれの材料を、ポテトデキストロース培地 25°C で培養した。

(2) 検査結果

環境材料、牛のスワブどちらからも、複数の真菌が分離された。その中でも、水気を含む TMR 及び敷料、粘膜面である鼻腔及び膣スワブからは、At が分離された（表3）。

表3 培養結果

	1 番草	2 番草	わら	WCS	菌床	TMR
真菌	+	+	+	+	+	+
At	-	-	-	-	-	+

	敷料	飼槽	水槽	鼻腔	体表	膣
真菌	+	-	-	+	+	+
At	+	-	-	+	-	+

(3) 考察

At は牛舎の環境中にも広く存在しており、健康牛の粘膜面からも分離された。

既報では、外陰部からの上行性感染による真菌性胎盤炎が報告されている³⁾。今回も母牛の悪露から真菌が分離されているため、敷料等から外陰部が汚染され、上行性感染により起こった、既報と同様の症例であると推察された。

環境中と牛の粘膜面、それぞれから分離されているが、本症例の流産個体は1頭のみであることから、母牛の免疫状態など、個体の条件が発症に関与していると考えられた。

6 まとめ

本症例は、胎子の病変形成を伴う稀な症例であり、病性鑑定により真菌性の流産と診断し、病原真菌の種の特定に至った症例であった。

真菌は培養の際、コンタミネーションの可能性も高く、診断の際には、真菌学的検査及び病理学的検査の両方を行うことが必要とされている⁴⁾。また、発生機序の解明には、適切な採材による病性鑑定を行うことが必要である。

これらの条件に留意し、今後さらに原因の特定に至る病性鑑定へと繋げていきたい。

7 参考文献

- 1) 関口真樹：牛の *Aspergillus terreus* による壊死性胎盤炎、2016. jul. vol. 34, No. 7 臨床獣医
- 2) Gupta, Meera M.D.; Weinberger, Barry M.D.; Whitley-Williams, Patricia N. M.D. : CUTANEOUS ASPERGILLOSIS IN A

NEONATE, The Pediatric Infectious Disease Journal 15(5):p 464-465, May 1996.

3) 日高育成牧場：馬の資料室 胎盤炎、No. 158 (2016年11月1日号)

4) Ali, R, and I. H. Khan: Mycotic abortion in cattle. Pakistan Veterinary Journal 26(1), 44-46 (2006).