

9 重度の肺炎を呈した育成牛のマンヘミア症と県内分離株の性状確認

中央家畜保健衛生所 ○服部 美紀、佐藤 俊介、因泥 優樹

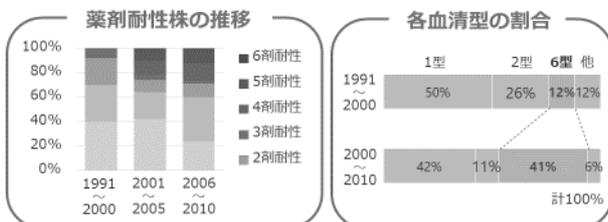
牛マンヘミア症は *Mannheimia haemolytica* (以下 Mh) によって起こる子牛の肺炎であり、発症すると死亡事例も多く重要な生産性阻害要因となっている [1]。

治療には適切な抗菌剤の投与が有効であるが、近年、多剤耐性を示す血清型 6 型の Mh が分離される割合が年々増加していることから [2]、適切な薬剤選択のために分離状況の把握は非常に重要である (図 1)。

今回、マンヘミア症による育成牛の死亡事例を経験したためその概要を報告するとともに、過去の県内分離株と合わせて性状確認を実施したので報告する。

Mannheimia haemolytica (Mh)

- 子牛にマンヘミア症を起こす細菌の一つ。死亡事例も多く、重要な生産性阻害要因となる。
- 治療には適切な抗菌剤の投与が有効。



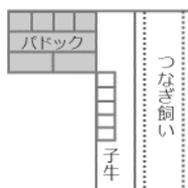
※ 勝田賢：牛呼吸器主要原因菌 *Mannheimia haemolytica* の薬剤感受性について

図 1 Mh について

症例の発生概要

●農場

管内酪農家
飼養規模および形態：
成牛 60頭 つなぎ飼い方式
育成牛 22頭 パドック



●経緯

R5年5月末 県内他農場から育成牛3頭導入
6.17 敷料交換、呼吸器症状散見
6.22 1頭死亡 (症例牛①)
6.23 1頭死亡 (症例牛②)

病性鑑定
実施

図 2 症例の概要

1 発生概要

60頭の成牛をつなぎ飼い、22頭の育成牛をパドックで飼養する管内酪農家から、令和5年6月22日と翌23日に育成牛が1頭ずつ死亡したとの通報があり、病性鑑定を実施した。

当該農場では、5月末に県内の他農場から育成牛を3頭導入し、6月に入り敷料交換を行ったところ、呼吸器症状が散見されるようになったとのことであった (図 2)。

2 材料および方法

(1) 病性鑑定

症例牛① (11か月齢のホルスタイン種、雌。発熱、呼吸促迫を呈して急死。) 及び症例牛②

(9か月齢のホルスタイン種、雌。発熱、呼吸促迫に加え、皮下気腫を呈して死亡。) の2頭を病理解剖し、採取臓器を材料とした。細菌学的検査は、各種臓器をスタンプした5%羊血液加寒天培地、DHL寒天培地、卵黄加GAM寒天培地及びマイコプラズマ分離用寒天培地を用いて常法に従い培養した。分離菌株については市販の簡易同定キット (IDテスト・HN-20ラピッド「ニッスイ」 (島津ダイアグノスティクス (株)) による生化学的性状検査を実施するとともに、2008年にAlexanderらが報告した *Mannheimia* 属菌同定用 Multiplex PCR (同定PCR) [3] 及び2017年にKlimaらが報告した Mh の血清型別 PCR [4] を実施し、菌種同定および血清型別を実施した。薬剤感受性試験はアンピシリン (ABPC)、セフトオフル (CTF)、ストレプトマイシン (SM)、カナマイシン (KM)、テトラサイクリン (TC)、フロルフェニコール (FFC)、エンロフロキサシン (ERFX) の7薬剤について、1濃度ディスク拡散法により実施した。ウイルス学的検査及び病理組織学的検査は常法に従い実施した。

(2) 保存菌株の性状確認

2003～2023年の20年間に県内の牛の肺から分離され、Mhとして保存されていた15株を使用した。簡易同定キット及び同定PCR、血清型別PCRにて菌種を再確認し、判定不能となった株については16S rRNA遺伝子解析による菌種同定を行った。Mhと同定された株についてパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)及び1濃度ディスク法による薬剤感受性試験を実施した。

3 結果

(1) 病性鑑定

症例牛①、②ともに病理解剖にて胸腔の線維素析出、肺の暗赤色化や大理石紋様を呈する重度の肺炎を確認した(図3)。症例牛②では頸部皮下に捻髪音を伴う気腫、肺後葉に鶏卵大から拳大の気腫が複数みられた(図4)。細菌学的検査では、2頭の肺等から溶血性グラム陰性短桿菌を多数分離し、Mh血清型1型と同定した。マイコプラズマは分離陰性であった。症例牛②の肺や筋肉の気腫部分からは*Paeniclostridium sordellii*を分離した。Mhの薬剤感受性結果は、カナマイシンに中間で他の6薬剤は感性であった。

ウイルス学的検査では、肺乳剤を用いたrRT-PCRにて、牛ヘルペスウイルス1型、牛ウイルス性下痢ウイルス、牛パラインフルエンザウイルス3型、牛RSウイルス、牛コロナ

ウイルス、牛アデノウイルス7型、牛鼻炎Aウイルス、牛トロウイルス及びインフルエンザD型ウイルスの遺伝子不検出であった。

病理組織学的検査では、2頭ともに燕麦様細胞を伴う線維索性胸膜肺炎(図5)、症例牛②ではグラム陽性大桿菌を伴う間質性肺気腫、水腫や気腫がみられた(図6)。

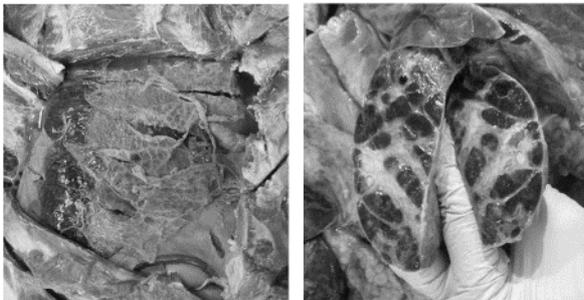
(2) 保存菌株の性状確認

15株の内訳は、乳牛9頭9株、肉牛6頭6株で、様々な呼吸器疾病から分離されていた(表1)。簡易同定キットでは、7株がMh complex、7株が豚の莢膜肺炎の原因菌である*Actinobacillus pleuropneumoniae*、1株が主に馬から分離される*Actinobacillus equuli*と判定された。同定PCRではMh13株、不明2株であり、Mhと同定された13株の血清型は1型が11株、2型が2株であった(表2)。PCRで判定不能となった2株は、16S rRNA遺伝子解析によって*Mannheimia varigena*及び*Gallibacterium anatis*と同定された。

PFGEでは、Mh13株はバンドパターンから3グループに分類され(図9)、少なくとも3つの系統のMhが福岡県内に浸潤しているという状況が明らかになったが、年代や地域でグループの偏りは確認できなかった(図10)。

薬剤感受性試験では、2株にABPC耐性、12株にアミノグリコシド系抗菌剤の耐性傾向を認めた。PFGEグループごとに耐性の違いや多剤耐性化は見られなかった(表3)。

病理解剖



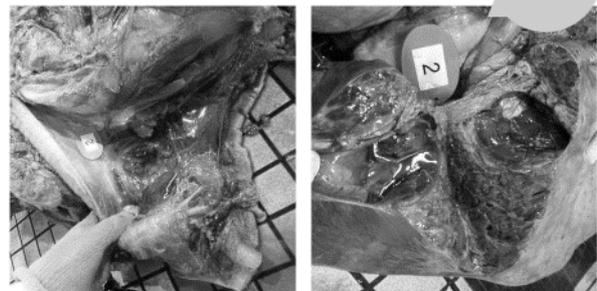
重度の線維索性胸膜肺炎
黄色胸水貯留

断面は大理石紋様

図3 病理解剖所見(症例牛①、②)

病理解剖

症例牛②



頸部皮下に捻髪音・気腫

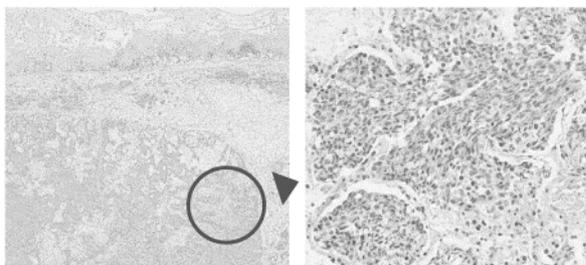
肺後葉に拳大の気腫

図4 病理解剖所見(症例牛②)

4 まとめ及び考察

本症例は、病性鑑定の結果、症例牛①を牛マンヘミア症、症例牛②を牛マンヘミア症と悪性水腫の併発と診断した。発生の要因として、外部からの導入やパドックの移動によるストレス、敷料交換による呼吸器への刺激等が考えられ、当該牛舎の風通しの悪さも症状の増悪や伝搬に関与したと推察された。発熱を呈する個体が牛舎全体まで広がったものの、臨床獣医師によりペニシリンとエンロフロキサシン、マルボフロキサシンの投与が行われ、18日後に終息した。農場へは、導入時の隔離や健康観察を念入りに行うこと、早期発見・早期治療のため毎日観察すること、異常がある場合はすぐに臨床獣医師に相談することを指導した。保存菌株の性状確認では、近年増加している血清型6型株の県内侵入や多剤耐性化の傾向は認められなかった。

組織病理学的検査



凝固壊死

燕麦様細胞

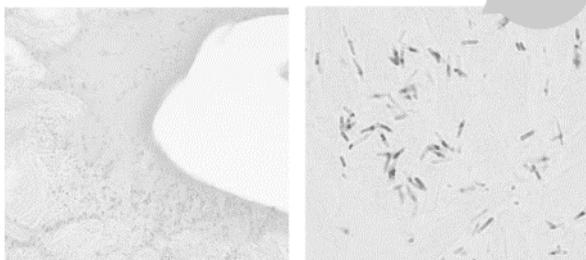
小葉間結合組織の線維素析出

Mhによる肺炎に特徴的！

図5 病理学的検査所見（症例牛①、②）

組織病理学的検査

症例牛②



皮下組織の水腫・気腫
(肺、心臓も同様)

心筋線維間に
グラム陽性大桿菌

図6 病理学的検査所見（症例牛②）

今後も株数や地域を増やして調査し動向を注視することで、適切な薬剤選択の一助としたい。また、既報[5]と同様、簡易同定キットを使用した Mh の同定に苦慮した株があったため、*Mannhemia* 属菌の同定は、生化学的性状検査に加え PCR 等の遺伝子解析を併用し、慎重に行う必要があると考えられた。

Mh 保存菌株の分子疫学的解析を実施していただいた農研機構 動物衛生研究部門 動物感染症研究領域 細菌グループの上野勇一先生に深謝いたします。

表1 保存菌株の情報

株No.	分離年	地域	畜種	診断名
1	2003	M市	乳牛	牛RSウイルス病、Mh、 <i>Mycoplasma</i> spp.
2	2004	I市	肉牛	牛バステラ症
3	2004	I市	乳牛	<i>Pasteurella multocida</i> 、Mh、 <i>M. bovirhinis</i> による肺炎
4	2004	O市	肉牛	牛ウイルス性下痢・粘膜炎
5	2005	I市	乳牛	牛伝染性鼻気管炎
6	2005	I市	乳牛	Mhの関与を疑う牛RSウイルス病
7	2006	M市	肉牛	牛バステラ症
8	2006	I市	乳牛	不明
9	2006	I市	乳牛	Mhによる肺炎
10	2007	C市	乳牛	牛伝染性鼻気管炎
11	2007	O市	肉牛	牛バステラ症
12	2014	M市	肉牛	細菌性肺炎 (Mh、 <i>Mycoplasma</i> 等)
13	2016	I市	肉牛	細菌性肺炎 (Mh、 <i>Pasteurella multocida</i> の関与)
14	2023	F市	乳牛	牛マンヘミア症
15	2023	F市	乳牛	牛マンヘミア症・悪性水腫

表2 保存菌株 簡易同定及びPCR結果

株No.	IDテスト・HN-20ラピッド			同定PCR	血清型
	CODE	判定	%		
1	7007351	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	93	Mh	1
2	7007250	Mh complex	>99	Mh	2
3	7007350	Mh complex	75	Mh	2
4	7007351	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	93	Mh	1
5	7007253	Mh complex	>99	不明	不明
6	7007351	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	93	Mh	1
7	7007353	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	93	Mh	1
8	7007351	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	93	Mh	1
9	7015773	<i>Actinobacillus equuli</i>	>99	不明	不明
10	7017353	Mh complex	83	Mh	1
11	7017353	Mh complex	83	Mh	1
12	7007353	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	93	Mh	1
13	7007351	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	93	Mh	1
14	7007251	Mh complex	>99	Mh	1
15	7007251	Mh complex	>99	Mh	1

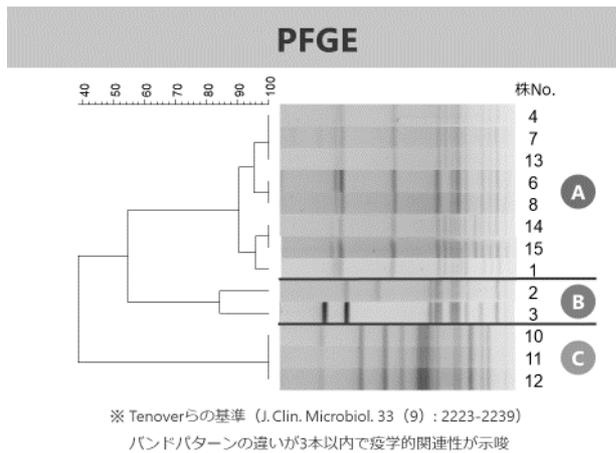


図9 Mh13株のPFGE結果①

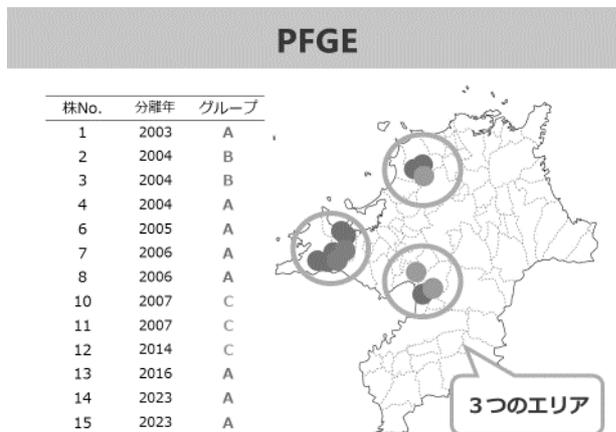


図10 Mh13株のPFGE結果②

表3 Mh13株の薬剤感受性試験結果

株No.	ABPC	CTF	SM	KM	TC	FFC	ERFX	グループ
1	S	S	I	I	S	S	S	A
2	S	S	I	I	S	S	S	B
3	S	S	S	I	S	S	S	B
4	S	S	R	I	S	S	S	A
6	S	S	I	I	S	S	S	A
7	S	S	I	I	S	S	S	A
8	I	S	S	I	S	S	S	A
10	S	S	S	S	S	S	S	C
11	S	S	R	I	S	S	S	C
12	R	S	R	I	S	S	S	C
13	S	S	R	I	S	S	S	A
14	S	S	I	I	S	S	S	A
15	S	S	I	I	S	S	S	A

引用文献

- [1] 明石博臣：牛病学、第3版、267-270、近代出版、東京(2013)
- [2] 勝田賢：総説 牛呼吸器主要原因菌 *Mannheimia haemolytica* の薬剤感受性について (2010)
- [3] Alexander, T.W., et al.: Vet. Microbiol. 130, 165-175(2008)
- [4] Klima, C.L., et al.: J. Microbiol. Methods. 139, 155-160(2017)
- [5] 勝田賢ら：牛から分離される *Mannheimia* 属菌の野外実態と生化学的性状について. 家畜感染症学会誌. 4 : 81-86 (2015)