

Streptococcus pluranimalium が関与した牛流産

葛城肅仁^{1)†} 二本木俊英¹⁾ 笠原香澄¹⁾ 武田佳絵¹⁾
三竹博道¹⁾ 大崎慎人²⁾

1) 福井県家畜保健衛生所 (〒918-8226 福井市大畑町69-10-1)

2) ㈱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)

(2011年12月16日受付・2012年4月3日受理)

要 約

福井県内の酪農家において、1頭のホルスタイン牛が胎齢158日齢で流産した。流産胎子は雄で、体長は40cm、体重は3.0kgであり、臍帯で胎盤と繋がっていた。剖検所見では、広範な膠様萎縮が胎子の皮下結合織と胎膜で認められた。また、血様の腹水、胸水及び心嚢水の貯留が認められた。病理組織学的検査では、胎盤に多数の好中球とマクロファージの浸潤を伴う炎症反応が認められた。また、胎盤と肺を含む胎子の多臓器にグラム陽性球菌が多数認められた。細菌学的検査では、これらの臓器からレンサ球菌が分離され、16S rRNA 遺伝子の配列解析により、*Streptococcus* (*S.*) *pluranimalium* と判定された。他の流産起因微生物が検出されなかったことから、本症例は*S. pluranimalium* が関与していることが示唆された。この報告は、牛の流産胎子から*S. pluranimalium* が分離された国内で初めての報告である。——キーワード：流産，牛，*Streptococcus pluranimalium*。

----- 日獣会誌 65, 601～604 (2012)

牛の細菌性流産については、ブルセラ病 [1] や牛カンピロバクター症 [2] 及びレプトスピラ症 [3] 等があるが、長年の防疫対策により、近年ではそれらの発生はほとんど見られない。一方、その他の細菌性流産は、散発的ではあるが発生が見られる [4-9]。

2010年初頭、福井県内の一酪農家において、1頭のホルスタイン牛に流産が発生した。病性鑑定を実施した結果、これまでに国内では報告がない*Streptococcus* (*S.*) *pluranimalium* の関与が疑われたので、その概要について報告する。

材料及び方法

症例：2010年1月4日、ホルスタイン牛を18頭飼養する福井県内の一酪農家において、1頭の牛が胎齢158日齢で流産した。当該母牛は自家生産で、過去に5産しているが、流産歴はなかった。この酪農家では、過去10年間に牛の導入歴はなく、牛の異常産関連のワクチンについては未接種だった。なお、当該母牛は隣村の牛による異常な攻撃行動（腹部への角突き）の対象となっていた。

病理学的検査：流産胎子を病理解剖し、10%中性緩衝ホルマリンで固定した全身諸臓器、中枢神経系及び胎盤について、常法に従ってパラフィン切片を作製後、ヘマトキシリン・エオジン染色及びグラム染色を施し、光学顕微鏡にて観察した。

細菌学的検査：胎子の主要臓器を5%羊血液寒天培地及びチョコレート寒天培地に直接塗沫し、37℃で24時間5%炭酸ガス培養した。また、同材料をGAM寒天培地に直接塗沫し、37℃で48時間嫌気培養した。分離された細菌は、グラム染色及びカタラーゼ試験を実施し、生化学性状は、アピ同定キット（アピストレップ20、シスメックス・バイオメリュー(株)、東京）を用いて検査した。また、ダイレクトシークエンス法により16S rRNA 遺伝子の塩基配列を決定し、EzTaxonによる相同性検索を行った [10]。母牛の血清についてブルセラ病急速診断菌液（(一財)化学及血清療法研究所、熊本）を用いた凝集反応を実施した。牛カンピロバクター症については、胎子の肺及び肝臓塗沫標本を蛍光抗体（㈱農業・食品産業技術総合研究機構、茨城）で染色し、蛍光顕微鏡で観察した。また、胎子の臓器乳剤についてレプトスピ

† 連絡責任者：葛城肅仁（福井県家畜保健衛生所）

〒918-8226 福井市大畑町69-10-1

☎0776-54-5104 FAX 0776-54-5966

E-mail : k-katsuragi-iw@pref.fukui.lg.jp

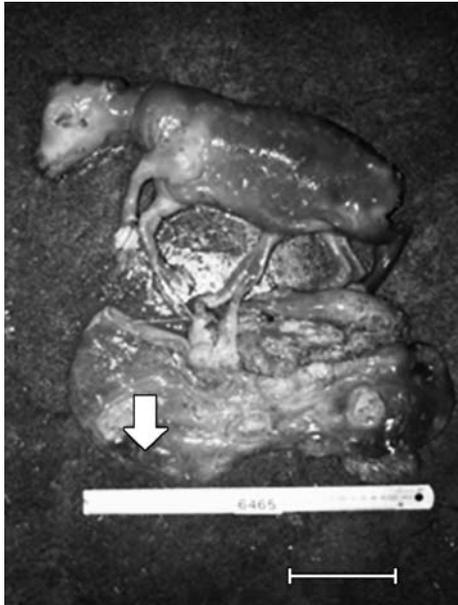


図 症例の外貌
胎子が臍帯で胎盤と繋がっている。
体形異常は認められない。胎膜に膠様
萎縮 (矢印) が認められる。
(Bar = 10cm)

ラ *flaB* 遺伝子を標的とした PCR 検査を行った [11]。

ウイルス検査：胎子の胸水及び母牛の流産発生時と2週間後に採血して得たペア血清を非働化後、アカバナウイルス、アイノウイルス、チュウザンウイルス、イバラキウイルス、牛ウイルス性下痢症ウイルス及び牛ヘルペスウイルス1型について、中和試験による抗体検査を実施した。

成 績

剖検所見：流産胎子は雄で、体長は40cm、体重は3.0kgであり、臍帯で胎盤と繋がっていた。胎子の皮下と胎膜の広範囲に膠様性萎縮が認められた (図)。また、血様の腹水、胸水及び心嚢水の貯留が認められた。なお、体形異常はなかったが、脳や主要臓器の脆弱化が認められた。

病理組織学的所見：胎子の肺、皮膚や骨格筋及び胎盤に多数のグラム陽性球菌が観察された。特に気管支では菌の集塊が散見された。胎盤では多数の好中球やマクロファージの浸潤を伴う炎症反応が認められた。なお、中枢神経系にネオスポラ症の特徴であるシスト様構造を伴う炎症像は確認されなかった。

細菌学的検査：5%羊血液寒天培地を用いた37℃24時間の5%炭酸ガス培養で、すべての主要臓器より、 α 溶血性カタラーゼ陰性のグラム陽性球菌のみの増殖が認められた。細菌コロニー周囲の α 溶血帯は、コロニーの直径の約3倍に及ぶきわめて広範囲に形成された。ま

た、分離菌はチョコレート寒天培地及びGAM寒天培地で微小コロニーを形成した。分離菌の生化学性状は、馬尿酸加水分解、アルカリフォスファターゼ活性並びにトレハロース分解による酸生成において陽性であった。一方、VP反応と β -グルクロニダーゼ活性では陰性を示し、L-アラビノース、グリコーゲン、イヌリン、マンニトール、リボース、ソルビトール及びでんぷん分解による酸生成でも陰性結果が示された。アピシステムにおけるプロファイル (6160410) 判定は *S. acidominimus* が90.7%の確率を示したが、馬尿酸加水分解、 β -グルクロニダーゼ活性、アルカリフォスファターゼ活性及びトレハロース分解による酸生成の各項目は *S. acidominimus* の一般的な性状と異なっていた [12]。これに対し、同文献に記載されている *S. pluranimalium* の性状と完全に一致していた。また、16S rRNA 遺伝子の解析 (DDBJ accession number AB701574) では、*S. acidominimus* (DDBJ accession number X58301) との相同性は93%以下であり、*S. pluranimalium* (DDBJ accession number Y18026) との相同性が99.6%であった。以上の成績より分離菌を *S. pluranimalium* と同定した。ブルセラ病、牛カンピロバクター症及びレプトスピラ症についてはすべて陰性だった。

ウイルス検査：胎子胸水のアカバナウイルス、アイノウイルス、チュウザンウイルス、イバラキウイルス、牛ウイルス性下痢症ウイルス及び牛ヘルペスウイルス1型に対する中和抗体価はいずれも2倍以下であり、流産発生時と2週間後に採血して得た母牛のペア血清についてもこれらのウイルスに対する中和抗体価の変動は確認されなかった。

以上の成績より、本症例は *S. pluranimalium* が関与していることが示唆された。

考 察

S. pluranimalium は、牛の潜在性乳房炎、雌性生殖器と扁桃等から分離され、1999年にDevrieseら [12]により新菌種として提唱された。*S. pluranimalium* の生化学性状は多様性に富むといわれている [12]。このため、*S. acidominimus* を含むいくつかのレンサ球菌種との鑑別において幾分困難な場合も想定される。一方、本症例における分離株の16S rRNA 遺伝子配列 (DDBJ accession number AB701574) は、既知のレンサ球菌のなかで、*S. pluranimalium* の配列と最も高い類似度 (99.6%) を示した。*S. pluranimalium* 株の特徴とされている明瞭かつ広範囲に及ぶ α 溶血帯の出現や、その他の生化学性状の特徴を勘案すれば、この分離株を当該菌種に同定することは妥当と考えられる。なお、5%羊血液寒天培地上での α 溶血帯が大きいことは、*S. pluranimalium* を推定する指標の一つになると思われる。

当酪農家においては、過去10年間に27検体の乳房炎検査依頼並びに3件の流産に関する病性鑑定依頼があったが、いずれの検体においても *S. pluranimalium* を疑う細菌の分離歴はなかった。 *S. pluranimalium* は健康牛の雌性生殖器にも常在している可能性のある菌であることから [12]、流産した母牛の生殖器に存在した *S. pluranimalium* が、隣牝の牛の悪癖によるストレスをきっかけとして異常増殖し、胎盤炎を経て流産に至った可能性が考えられる。今回の流産は単発的な発生であり、その後、同酪農家において流産の発生は確認されていない。

S. pluranimalium と流産との因果関係は現在のところ不明だが、国外では Foster ら [13, 14] により、2008年に牛の流産材料から、2010年には羊の流産材料から分離された報告がある。また、国内においては、2007年に Seimiya ら [15] により、早産子牛の髄膜炎の症例から分離された報告があり、出生直後から神経症状を示していたことから、子宮内感染であると考察している。これらのことから、 *S. pluranimalium* は、流産起因菌として今後注意が必要となる可能性が示唆された。

引用文献

- [1] 木嶋真人：牛のブルセラ病，動物の感染症，清水悠紀臣編，第2版，131-132，近代出版，東京（2002）
- [2] 今田由美子：牛カンピロバクター症，動物の感染症，清水悠紀臣編，第2版，132-133，近代出版，東京（2002）
- [3] 足立吉数：牛のレプトスピラ症，動物の感染症，清水悠紀臣編，第2版，142-143，近代出版，東京（2002）
- [4] 藤田敦子：家畜衛生研修会（病性鑑定部門，2006）における事例記録（V），*Arcanobacterium pyogenes* による牛流産胎子の膿性カタル性肺炎，日獣会誌，61，784-789（2008）
- [5] 畑段千鶴子：家畜衛生研修会（病性鑑定部門，2008）における事例記録（IV），牛の *Arcanobacterium pyogenes* による壊死性胎盤炎，日獣会誌，63，442-447（2010）
- [6] van Wuijckhuise L, Otten J : Abortions, fertility problems and mastitis on a cattle farm and a sick farmer : a zoonosis? Infection with *Staphylococcus aureus* phagetype T543, Tijdschr Diergeneeskd, 133, 944-946 (2008)
- [7] Bawa B, Bai J, Whitehair M, Purvis T, Debey BM : Bovine abortion associated with *Nocardia farcinica*, J Vet Diagn Invest, 22, 108-111 (2010)
- [8] 鎌田博志：家畜衛生研修会（病性鑑定部門，2006）における事例記録（V），*Nocardia farcinica* による牛死産胎子の壊死性肉芽腫性肺炎，日獣会誌，61，784-789（2008）
- [9] Otter A : *Fusobacterium necrophorum* abortion in a cow, Vet Rec, 139, 318-319 (1996)
- [10] Chun J, Lee JH, Jung Y, Kim M, Kim S, Kim BK, Lim YW : EzTaxon : a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences, Int J Syst Evol Microbiol, 57, 2259-2261 (2007)
- [11] Kawabata H, Dancel LA, Villanueva SY, Yanagihara Y, Koizumi N, Watanabe H : *flaB*-polymerase chain reaction (*flaB*-PCR) and its restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis are an efficient tool for detection and identification of *Leptospira* spp, Microbiol Immunol, 45, 491-496 (2001)
- [12] Devriese LA, Vandamme P, Collins MD, Alvarez N, Pot B, Hommez J, Butaye P, Haesebrouck F : *Streptococcus pluranimalium* sp. nov., from cattle and other animals, Int J Syst Bacteriol, 49, 1221-1226 (1999)
- [13] Foster G, Barley J, Howie F, Falsen E, Moore E, Twomey DF, Wragg P, Whatmore AM, Stubberfield E : *Streptococcus pluranimalium* in bovine reproductive disease, Vet Rec, 163, 638 (2008)
- [14] Foster G, Hunter L, Baird G, Koylass MS, Whatmore AM : *Streptococcus pluranimalium* in ovine reproductive material, Vet Rec, 166, 246 (2010)
- [15] Seimiya YM, Takahashi M, Kudo T, Sasaki K : Meningoventriculitis caused by *Streptococcus pluranimalium* in a neonatal calf of premature birth, J Vet Med Sci, 69, 657-660 (2007)

Bovine Abortion Associated with *Streptococcus pluranimalium*

Kiyohito KATSURAGI^{*†}, Toshihide NIHONGI, Kasumi KASAHARA, Yoshie TAKEDA,
Hiromichi MITAKE and Makoto OSAKI

** Fukui Livestock Hygiene Service Center, 69-10-1 Obatake, Fukui, 918-8226, Japan*

SUMMARY

A male Holstein fetus was aborted at the age of 158 days on a dairy farm in Fukui Prefecture, Japan. The fetus was 40 cm in length and weighed 3 kg. The fetus was connected with the placenta by the umbilical cord. A postmortem examination revealed gelatinous atrophy in the subcutaneous connective tissue and fetal membranes. Moreover, bloody ascites, pleural effusion, and capsula cordis effusion were observed. Histologically, inflammatory neutrophils and macrophages were present in the placenta. Numerous Gram-positive cocci were observed in the placenta and the fetal multiple organs, including the lungs. The 16S rRNA gene sequence of the bacteria isolated was nearly identical to the sequence of *S. pluranimalium*. In addition to these observations, negative results for the detection of pathogens generally associated with bovine abortion indicate the involvement of *S. pluranimalium* in the case. To our knowledge, this is the first report on the isolation of *S. pluranimalium* from a bovine abortion case in Japan.

— Key words : abortion, bovine, *Streptococcus pluranimalium*.

† Correspondence to : Kiyohito KATSURAGI (*Fukui Livestock Hygiene Service Center*)

69-10-1 Obatake, Fukui, 918-8226, Japan

TEL 0776-54-5104 FAX 0776-54-5966 E-mail : k-katsuragi-iw@pref.fukui.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 65, 601 ~ 604 (2012)