

## H13年11月の特記事項

この論文は、平成11年度に当課で扱った病性鑑定例をまとめたもので、学術雑誌に投稿する予定です。

標題 *Mycoplasma bovis*の関与が疑われた乳牛の流産

著者名 宮崎大<sup>1)</sup> 吉川恵郷<sup>1)</sup> 村上満喜子<sup>1)</sup> 浅野隆<sup>1)</sup>  
本川正人<sup>1)</sup> 八重樫岳司<sup>1)</sup> 本波美香<sup>1)</sup> 高橋真紀<sup>1)</sup>

所属機関 1)盛岡家畜保健衛生所

住所 岩手県岩手郡滝沢村砂込 3 8 9 - 7  
〒020-0173

連絡責任者 宮崎大 盛岡家畜保健衛生所

岩手県岩手郡滝沢村砂込 3 8 9 - 7

TEL 019-688-4111 FAX 019-688-4112

## 要 約

1998年9月から翌年6月にかけて、3農場19頭の乳牛が、妊娠3から9カ月齢時に臨床的に前駆症状を示すことなく流産を起こし、多くは胎盤停滞を伴った。3農場5例の胎子とそれら3例の絨毛膜を病理学および細菌学的に検索した。剖検により、4例の胎子に胸水と腹水の増量ならびに皮下織の水腫が観察された。他の1例はミイラ化していた。1例の絨毛膜には多数の壊死巣が存在した。組織学的に、単核細胞浸潤が5例の胎子の諸臓器あるいは諸組織ならびに3例の絨毛膜に分布する小血管の壁と周囲域に認められた。PCR法により、1例の胎子の臓器と3例のパラフィン包埋された絨毛膜から*M. bovis*の遺伝子が検出された。異常産牛15頭の全頭が2倍から128倍の*M. bovis*抗体を保有した。以上の検査成績から、流産の要因として*M. bovis*の関与が疑われた。

キ - ワ - ド : 乳牛, 流産, <i>Mycoplasma bovis</i>
---

マイコプラズマ科に属する数種のマイコプラズマとウレアプラズマの牛への感染は、肺炎、乳房炎、関節炎、結膜炎および流産を引き起こす [ 5, 11 ]。我が国の牛マイコプラズマ感染症は肺炎 [ ]、乳房炎 [ ] および関節炎 [ ] に限られ、異常産に関与したとする報告は少ない。この報告では、*Mycoplasma bovis*の関与が疑われた流産胎子および絨毛膜の病理学および細菌学的検査成績を述べる。

## 材料および方法

1998年9月から1999年6月にかけて、岩手県内でホルスタイン種を飼養する3農場(A,B,C)において流産が散発した。この原因を究明するため、給与飼料の調査、発症牛のネオスポラ抗体検査およびウイルス抗体検査を実施した。ネオスポラ抗体検査は*Neospora caninum* JPA1株(*N. caninum*)を抗原とした間接蛍光抗体法により、また、ウイルス抗体検査は牛伝染性鼻気管炎、牛ウイルス性下痢・粘膜病、アカバネ病、アイノ、チュウザンおよびイバラキ病の各ウイルスについて、流産発生時とその1カ月後に採材した血清を用いて中和反応によりそれぞれ行った。しかし、当該流産の原因と判断される成績が得られなかったことから、A農場由来の2頭(Nos1,2)B農場の1頭(No3)およびC農場の2頭(Nos4,5)の計5例の流産胎子と3例(Nos1,3,5)の絨毛膜の病理学的および細菌学的検査ならびに血清マイコプラズマ抗体検査をそれぞれ実施した。検索した胎子の胎齢は6から8カ月であった。

病理組織検査：胎子より得た全身諸臓器および絨毛膜を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した後、常法に従いパラフィン包埋および薄切し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施し鏡検した。免疫組織化学検査(SAB法)はパラフィン標本を常法に従い処理し、家畜衛生試験場から分与を受けた抗*M. bovis*免疫血清を一次血清に用いて実施した。

細菌検査：5例の流産胎子から得た主要臓器、リンパ節および脳を材料として、5%羊血液加およびGAMの両寒天培地に直接塗抹し、37、24~48時間の好気性下およびジャー法による嫌気性下でそれぞれ培養した。マイコプラズマの分離は、1例(No.3)の主要臓器と脳の乳剤をHAYFLICの液体培地で希釈してHAYFLICK, TAYLOR-ROBINSONおよびGSの各培地に塗抹した後にジャー法によるろうそく培養法で行い、1週間観察した。

マイコプラズマの遺伝子検査：1例(No.3)の肺と肝臓の混合乳剤および3例(Nos.1,3,5)のパラフィン包埋された絨毛膜を材料とした。*M. bovis*はGONZALEZら[2]、*M. bovis genitalium*および*M. alkalescens*はKOBAYASHIら[5]また、*Ureaplasma diversum*はMaristelaら[7]によってそれぞれ報告された方法に準じて実施した。陽性対照は*M. bovis* DONETTA株の培養菌体を、陰性対象には正常分娩を経た胎子および絨毛膜をそれぞれ用いた。

*M. bovis*抗体検査：胎子が検索された5頭を含む流産牛15頭とそれらの同居牛15頭の流産発生時およびその1カ月後に採材した血清を用いて、DONETTA株を抗原として橋本ら[4]の方法に準じて間接赤血球凝集反応を実施した。

## 成 績

発生状況：A農場は480頭を飼養する周年預託牧場でありB農場は47頭を繋養し、A農場に育成牛を預託していた。C農場は51頭を飼養していたが、A,Bの両農場との関連はなかった流産の月別発生状況と発生時の胎齢を表1に示した。農場別には、A農場の初妊牛6頭、B農場の初妊牛2頭と経産牛2頭およびC農場の経産牛9頭の計19頭に発生した。いずれの母牛も流産前に臨床的異常を示さなかったが、多くは流産後に胎盤停滞を伴った。

剖検所見：4例の胎子(Nos.1,2,4,5)において皮下織の水腫、胸水および腹水の増量ならびに肺水腫がみられ、2例(Nos.4,5)では骨格筋の筋間織にも水腫が存在した。他の1例

(No.3)はミイラ化していた.1例(No.5)の絨毛膜には粟粒大から米粒大の黄灰白色を呈する壊死巣が多発した他の2例(Nos.1,3)のそれらに著変は観察されなかった.

病理組織所見:単核細胞浸潤が胎子の諸臓器あるいは諸組織に分布する小血管壁および小血管周囲に観察された.すなわち,小動脈壁の単核細胞浸潤が,肝グリソン鞘(No.2)肺,腎,脾(No.5),食道,十二指腸(No.4),胸腺および骨格筋(No.5)に認められた.小血管周囲の単核細胞浸潤は,肝グリソン鞘(Nos.1,5),肝リンパ節(No.5),腎(Nos.2,4,5),肺(Nos.2,4),副腎(No.4),扁桃(No.2),食道(No.4),第四胃(No.2),前腸管膜(No.4)胸腺(No.2)および骨格筋(Nos.2,4)にそれぞれ観察された.血管から離れた領域における単核細胞浸潤がNo.3を除く4例の諸臓器あるいは諸組織に認められ,肝グリソン鞘,心外膜,前腸管膜および食道において頻度高くみられた.3例の絨毛膜では,絨毛膜板の血管壁に単核細胞,マクロファージおよびリンパ球が瀰漫性に浸潤した(図3).石灰沈着が2例(Nos.1,5)の絨毛膜絨毛と絨毛膜板にみられた(表2).胎子および絨毛膜に*M. bovis*抗原は観察されなかった.

細菌検査:いずれの例からも細菌とマイコプラズマは分離されなかった.

マイコプラズマの遺伝子検査:全ての検査材料(Nos.1,3,5)から陽性対照とした*M. bovis*と同一サイズの360bpのバンドを検出した(図4).*M. bovis genitalium*,*M. alkalescens*および*Ureaplasma diversum*は陰性であった.

マイコプラズマ抗体検査:3農場由来の流産牛15頭の全頭が抗体を保有した.同居牛ではA農場由来の8頭中8頭およびC農場の2頭中2頭が抗体陽性を示したが,B農場の5頭は全て陰性であった.

## 考 察

3農場に散発した流産の原因究明のため,給与飼料の調査ならびに流産に関与する既知のウイルス,細菌および原虫について検査を実施したが,流産との関連が示唆される成績は得られなかった.

流産胎子と絨毛膜の病理組織所見は血管炎および血管周囲炎に要約された.STALHEIM[12]は*M. bovis*の実験感染牛の絨毛膜に血管炎を観察し,Millerら[7]は*Ureaplasma diversum*の実験感染牛において,絨毛羊膜における動脈炎の存在を報告している.すなわち,検索例の胎子および絨毛膜は,既報例のそれらに類似する血管病変を有した.PCR検査により,1例の胎子の肺と肝臓の混合乳剤から陽性対象とした*M. bovis* DONETTA株と同サイズの360bpにバンドが認められた.また,パラフィン包埋された3例の絨毛膜からも同遺伝子が検出された.*M. bovis*抗体検査では流産牛の全頭と同居牛の一部に抗体保有がみられ,同病原体の各農場への浸潤が示唆された.以上の検査成績から,3農場に発生した流産の一要因として*M. bovis*の関与が疑われた.

マイコプラズマは経気道感染による肺炎[]および乳頭口感染による乳房炎[]を起こす.乳房炎における感染ルートの多くは前述の乳頭口からの上行性の感染と考えられるが,慢性の肺炎病巣を起源とする下行性の感染も存在し得る[4].STALHEIM[]は*M. bovis*の腹腔内投与により胎子と絨毛膜ならびに母牛の関節に病変形成を確認し,関節炎からの下行性感染を示唆している.また,橋本[4]は人工授精による汚染精液を介した生殖器への感染も危惧

されると述べている。流産牛の検索を欠いていることから、検索例の正確な感染ルートは不明であるが、不顕性の肺炎や乳房炎からの下行性の感染が最も可能性が高いように思われた。

今後、既知のウイルス、細菌あるいは原虫との関連が否定された流産胎子の検索には、マイコプラズマも考慮する必要があるものと思われた。

本検索にあたり、御指導賜った動物衛生研究所生物学的製剤センターの今田由美子品質管理科長ならびに免疫研究部の森康行免疫機構研究室長に深謝いたします。