

# 大腸菌 08 群の関与が疑われる黒毛和種放牧牛の血色素尿症

京都府丹後家畜保健衛生所

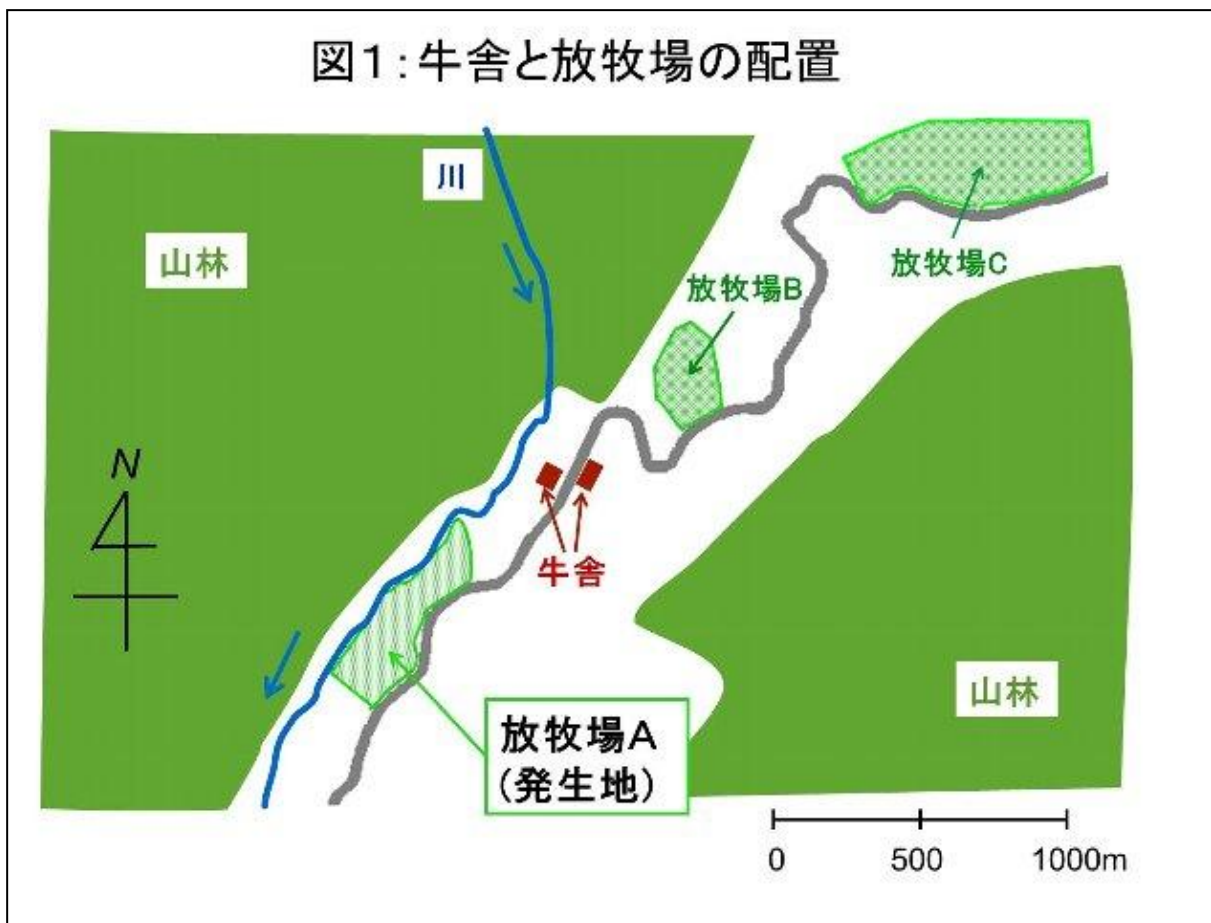
○田中 究 田中義信 極山 太

## 【はじめに】

当所管内の一和牛繁殖農家において、2008年と2011年に同一放牧場で成牛の血色素尿症が発生した。いずれの症例からも泌尿器系から大腸菌 08 群（以下 08 群と略す）が分離されたため、関連があるものと推察し、調査と対策を実施した。

## 【発生農場の概要】

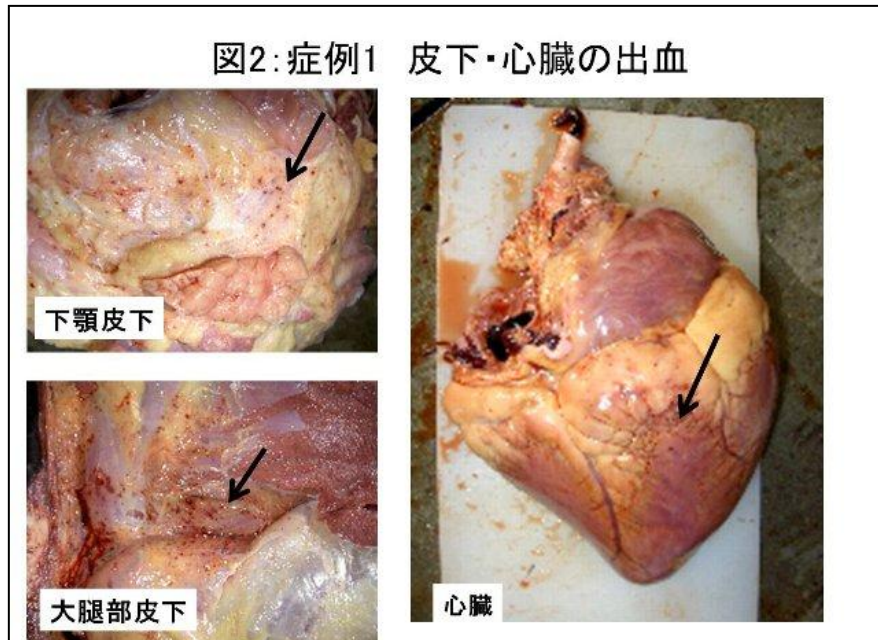
発生農場は黒毛和種の繁殖農家で、2011年の発生時には成牛 27 頭、育成牛 15 頭、子牛 4 頭、肥育牛 7 頭を飼養していた。飼養形態は繋ぎ飼いで、牛舎周辺の 3 か所で休耕田等を利用した夏期放牧を実施していた。給与飼料は配合飼料と乾草（チモシー、イタリアンライグラス、オーツヘイ）であった。牛舎と放牧場の配置は図 1 のとおりで、山林に挟まれた谷間の道路沿いに牛舎と三つの放牧場があり、一番南側の放牧場 A が今回の二つの症例の発生地である。



## 【症例の概要】

(1) 症例 1（2008 年発生）

発症牛は10月分娩予定の20か月齢の繁殖雌牛で、2008年8月27日に収牧されたが食欲がなく、その3日後に畜主が陰部から暗赤色の液体の流出を発見した。流産を疑っていたが9月1日の早朝に死亡し、当所で病理解剖を実施した。剖検では皮下の広範囲に点状の出血を認め、心臓表面にも点状出血が見られた(図2)。腎臓を含めその他の臓器に肉眼的な異常は認められなかった。病理組織学的検査では腎臓の髓質に慢性的線維化病変が見られ、肝臓の中心静脈周囲に炎症像が見られた(図3)。腸粘膜には異常は見られなかった。細菌検査では腎臓、肝臓、副腎、膀胱から純培養状に大腸菌を分



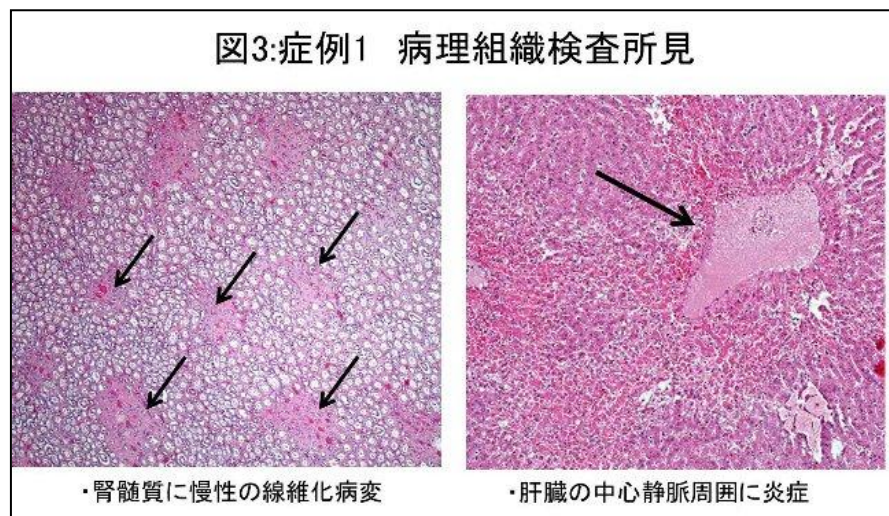
他の臓器に肉眼的な異常は認められなかった。病理組織学的検査では腎臓の髓質に慢性的線維化病変が見られ、肝臓の中心静脈周囲に炎症像が見られた(図3)。腸粘膜には異常は見られなかった。細菌検査では腎臓、肝臓、副腎、膀胱から純培養状に大腸菌を分

離した。その他の臓器から有意菌は分離されなかった。分離された大腸菌について「病原大腸菌免疫血清抗血清(生研)」および「毒素原性大腸菌線毛抗血清(生研)」を用いた急速凝集反応により抗原型別を検査したところ、08

抗原とK88抗原を有し、H抗原は特定されなかった。また逆受身ラテックス凝集反応にて、ベロ毒素およびエンテロトキシンは検出されなかった。

(2) 症例2 (2011年発生)

発症牛は1月分娩予定の37か月齢の繁殖雌牛で、2011年8月16日に畜主が赤色尿を発見して収牧し、翌17日に往診依頼があった。初診時の体温は40.1℃、暗赤色の血色素尿を排泄していた(図4)。可視粘膜は蒼白となり、



食欲が低下していた。初診時の血液検査では著しい血色素血症を呈し、ヘマトクリット値は 11%に低下していた。生化学性状は、総蛋白 8.7g/dl、アルブミン 3.9g/dl、BUN32.2mg/dl、CRE1.7mg/dl、GOT183U/l、CPK262U/l であった。血液塗抹染色でピロプラズマ等の原虫寄生は認めなかった。尿の直接塗抹染色で、グラム陰性桿菌が多数確認され、尿から純培養状に大腸菌 (7.0×10<sup>7</sup>CFU/ml) が分離された。また、PCR 検査においてレプトスピラ抗原は検出されず、血液からは有意な菌は分離されなかった。尿から分離された大腸菌は 08 抗原および K88 抗原を有し、ベロ毒素は検出されなかった。薬剤感受性検査の結果、マルボフロキサシンとセファゾリンに感受性を示した。

初診日はペニシリン・補液剤により治療したが、翌日も発熱等の症状の改善が見られなかったため、薬剤感受性検査の結果に基づき、マルボフロキサシン製剤を投与したところ、翌日からは症状の改善が見られた。初診から 6 日目には一般状態はほぼ回復し、ヘマトクリット値も 17%に改善した。8 日目に尿を検査したところ、大腸菌は分離されなかった。

しかし、初診から 20 日目に尿から大腸菌が分離された。この大腸菌は 08 抗原を持たず、生化学的性状と薬剤感受性も、初診時の菌とは異なるものであったため、二次感染した菌と推察し、セファゾリンナトリウム製剤により再び治療したが、39 日目にも 08 抗原を持たない大腸菌が分離された。当該牛は平成 24 年 1 月 24 日に分娩し、現在も経過を観察している。

**【疫学調査】**

(1) 分離菌の比較

2008 年と 2011 年の症例から分離された 08 群が、同じ感染源に由来することを疑い、菌の性状を比較した。

ア. 抗原型・毒素産生能

いずれの 08 群も K88 抗原を有し、ベロ毒素は検出されなかった。

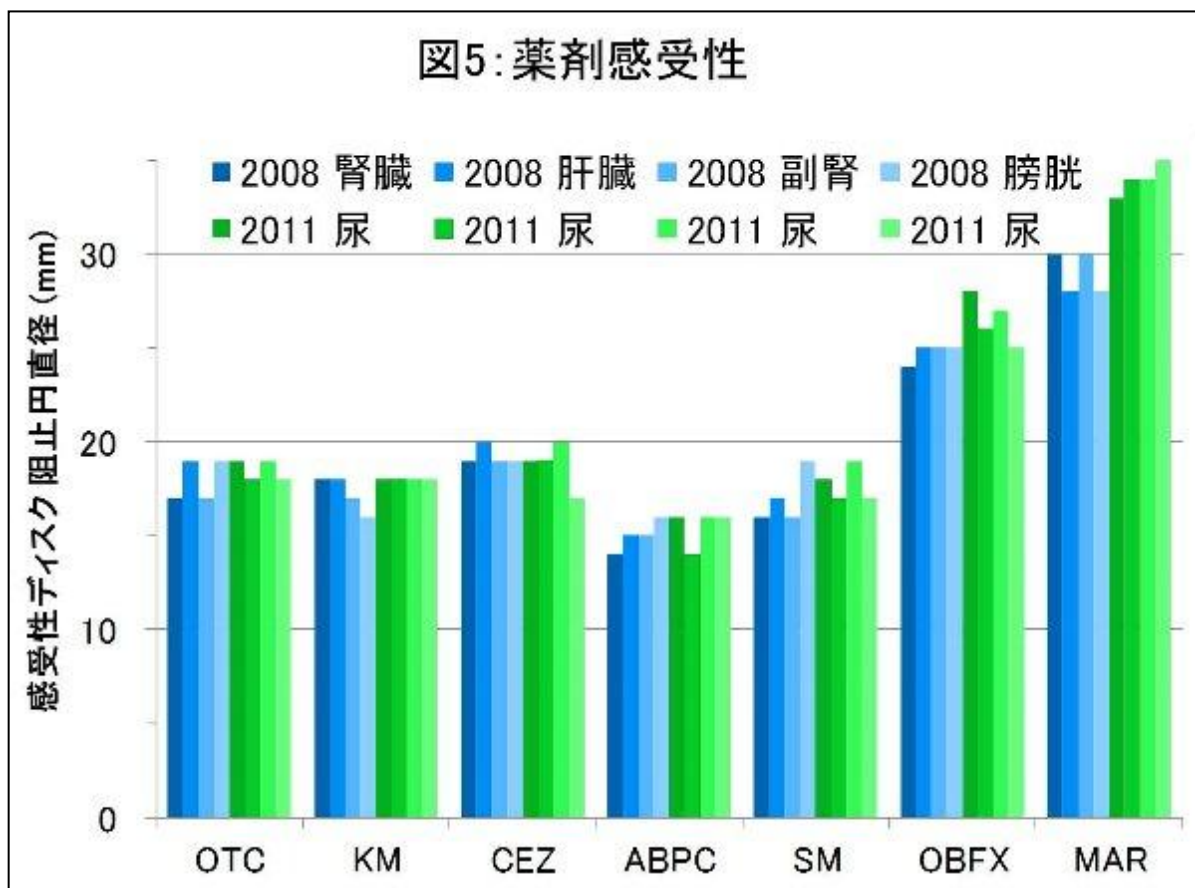
イ. 生化学性状

アピマニユアルキットを用いて比較したところ、どの菌株もサッカロースの分解能以外のすべての項目で、性状が一致した。(表 1)

	検査材料	アピマニユアルキット (api20E) 結果																				
		ONP G	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX
2008 症例	腎臓	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
	肝臓	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
	副腎	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
	膀胱	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
2011 症例	尿 (4株)	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
		+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
		+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-

#### ウ. 薬剤感受性

感受性ディスク法により比較したところ、7種類の抗生物質による阻止円直径はどの菌株も近い数値を示した。(図5)



#### (2) 環境調査

2008年と2011年の二つの症例は、同一放牧場で発生し、川水が給与されており、山林と近接して野生鳥獣も出没すること、分離された08群の性状が近似していること、また2011年の症例において分離された08群が感受性を持つ抗生物質を投与した後に臨床症状が改善したことから、血色素尿に08群が関与しているのではないかと推察し、同居牛と環境の調査を実施した。

#### ア. 同居牛調査

発症牛と同じ放牧場で同時期に放牧されていた成牛3頭の尿から細菌は分離されなかった。

発症牛と同居牛の直腸便をノボビオシン加mEC培地で18~20時間培養した後、大腸菌それぞれ7~9株を分離し、血清型を検査した。その結果、発症牛からのみ08群1株が分離された。この菌からはK88抗原は検出されなかったが、生化学的性状は尿から分離された菌と一致し、薬剤感受性も近似の性質を示した。

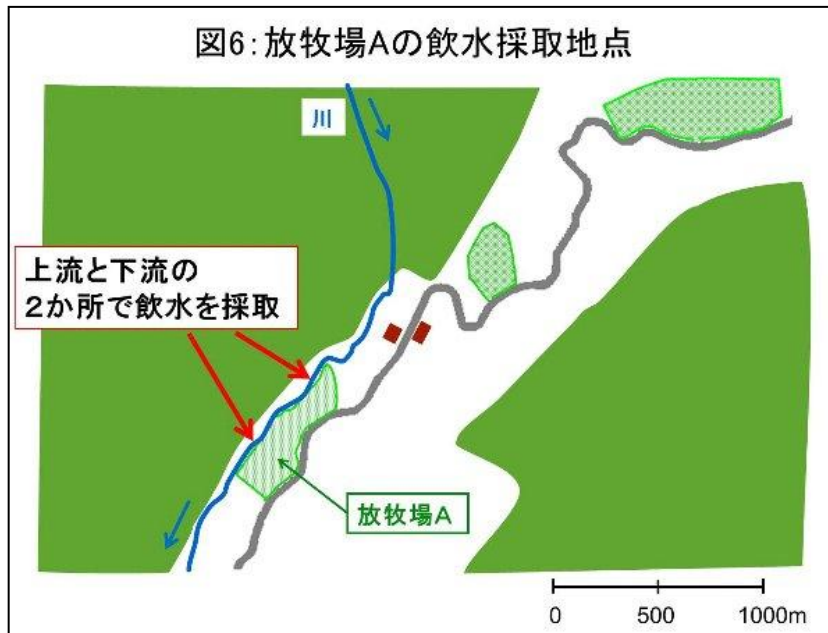
#### イ. 放牧場調査

放牧場周辺においてイノシシのものと思われる糞便1検体を採取し、ノボビオシン加mEC培地で増菌培養した後、大腸菌9株を分離し血清型を検査したが、08群は分離

検出されなかった。

#### ウ. 飲水調査

放牧場及び牛舎の飲水を調査した。放牧場 A では牛が放牧場の 3 か所で川から直接水を飲んでいました。牛舎では山からの水を牛舎外のタンクに貯めた後、牛舎内に引き入れて使用していた。そこで、放牧場 A の上流と下流の飲水場（図 6）と牛舎用の水の大腸菌群数と O8 群の有無を検査した。O8 群の有無はノボビオン加 mEC 培地で増菌培養したのち大腸菌を分離して検査した。その結果、飲水から O8 群は分離されなかったが、放牧場の上流飲水場で大腸菌群 8CFU/ml を分離し、それ以外の場所



ではすべて 100CFU/ml 以上の大腸菌を分離した（表 2）。

ではすべて 100CFU/ml 以上の大腸菌を分離した（表 2）。

#### 【対策】

2 例目の尿からグラム陰性菌が分離された時点で感染症を疑い、発症牛の隔離と牛舎の消毒を指導した。飲水からは O8 群は分離されなかったが、大腸菌群数が高かったため、飲水対策を講じることとした。放牧場 A については、下流の飲水場の汚染が顕著であったことから、飲水場を上流 1 か所に限定することとした。

牛舎の水は、飲水タンクを洗浄した後、滴下式の塩素消毒装置を設置した。

また、子牛への感染予防のため、O8 抗原保有菌株を含む大腸菌ワクチンを母牛に投与しており、これらの対策の後、今日まで続発はない。

#### 【考察】

牛の重篤な血色素尿症は *Clostridium haemolyticum* によるものが報告されている<sup>1),2)</sup>が、今回の放牧場における血色素尿症については O8 群の関与を疑った。2008 年の症例については、腎臓の髄質と肝臓の中心静脈周囲に病変が見られたことから、血行性の感染であったのではないかと考える。2011 年の症例については、発症牛の糞便か

表2: 飲水調査結果

調査区分	採材場所	大腸菌群 (GFU/ml)	O8群
放牧場A	上流飲水場	8.0	—
	下流飲水場	$3.2 \times 10^2$	—
牛舎	湧水地点	$1.2 \times 10^2$	—
	タンク	$3.2 \times 10^2$	—
	蛇口	$2.7 \times 10^2$	—

ら 08 群が分離されたことから環境からの経口感染を疑った。調査により感染源は特定できなかったが、飲水の大腸菌汚染が判明した。牛舎消毒と飲水対策の後、続発はなく、今後も飲水消毒や環境の調査を継続していく予定である。

飲水の衛生管理や野生動物対策は、家畜伝染病予防法の飼養衛生管理基準でも強調されているところだが、放牧場の飲水の野生動物による汚染などもよりいっそう注意すべきと考える。

#### 【引用文献】

1)Mitsuhiro TAKAGI et.al:Successful Treatment of Bacillary Hemoglobinuria in Japanese Black Cows,*J. Vet. Med. Sci.*,71:1105-1108(2009)

2)Yasunori SHINOZUKA et.al:Bacillary Hemoglobinuria in Japanese Black Cattle in Hiroshima,Japan:A Case Study,*J. Vet. Med. Sci.*,73,255-258(2011)