

10. 妊娠牛及び子宮内死亡胎子から*Prevotella*属菌が分離された一事例

大分家畜保健衛生所

○安達恭子 病鑑 河上友 手島久智

【はじめに】

偏性嫌気性菌である*Prevotella*属菌は、人の子宮内膜炎や妊娠性歯肉炎の原因菌の一つとして知られている。一方、牛では*Prevotella*属菌の分離事例は少なく、国内における牛流死産胎子からの分離報告はない。

2015年4月に管内酪農家1戸において、子宮内胎子死亡に伴う化膿性子宮内膜炎を発症したホルスタイン種妊娠牛及びその死亡胎子から*Prevotella*属菌が分離され、牛における*Prevotella*属菌の保有状況調査を行ったので、その概要を報告する。

【発生農場の概要】

飼養頭数は搾乳100頭で、飼養形態はフリーバーン、管理者は4名で、内1名は従業員である。異常産ワクチンの接種はしていない。

当該畜は25カ月齢の乳用牛ホルスタイン種で、妊娠5カ月であった。2015年4月22日、元気消失、食欲不振により獣医師に診療を依頼。獣医師が皮温低下と汚れた子宮粘液の排出を確認、超音波画像診断で子宮内に膿充満を認めたが胎子は確認できなかった。翌23日に、体温が上昇し、子宮内胎子の死亡を確認した。補液やホルモン剤投与による治療を行うも母牛の回復、胎子の娩出には至らず、予後不良により鑑定殺を実施。

【材料及び方法】

病性鑑定には鑑定殺を行った妊娠牛1頭、死亡胎子1頭を供試した。

病理学的検査は、剖検後、主要臓器ならびに脳を採材し、10%中性ホルマリンで固定後、情報に従いHE染色を施し鏡検した。

細菌学的検査は、5%羊血液加寒天培地、DHL寒天培地、卵黄加CW寒天培地を用い、好気・嫌気にて分離培養した。分離菌は、細菌同定キット（アピケンキ、シスメックス・ビオメリユー(株)、東京）を用い同定を行った。

血液生化学検査は、他項目自動血球数計数装置（KX-21NV、sysmex）、乾式臨床科学分析装置（DRI-CHEM7000V、FUJIFILM）を用い、一般血球数等ならびに血清中の各種酵素、マグネシウム値、カルシウム値を測定した。

【成績】

1. 剖検所見

外貌は削瘦、腹腔内に繊維素の析出を認めた。また、子宮内の胎子は腐敗していた（写真-1）。

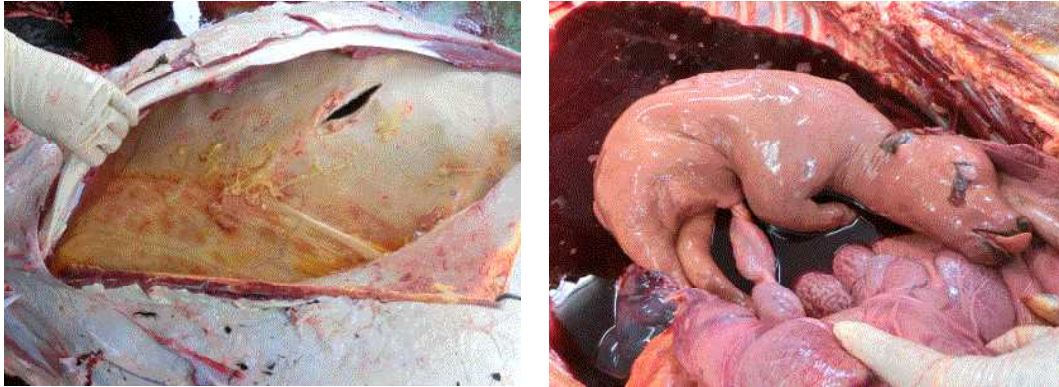


写真-1 腹腔内の繊維素析出（左）と腐敗した子宮内胎子（右）

2. 病理組織学的所見

肝臓に被膜の繊維増生、血管増生及びリンパ球、好中球、マクロファージの浸潤による肥厚が認められ（写真-2）。脾臓に被膜の繊維増生、血管増生及びリンパ球と好中球の浸潤が認められた。腎臓間質に繊維の増生とリンパ球、好中球の浸潤が認められた。心外膜に軽度の好中球、リンパ球の浸潤と右心に壊死巣が認められた。子宮の粘膜上皮は壊死し、粘膜固有層に好中球、マクロファージ、リンパ球の浸潤が認められた（写真-2）。

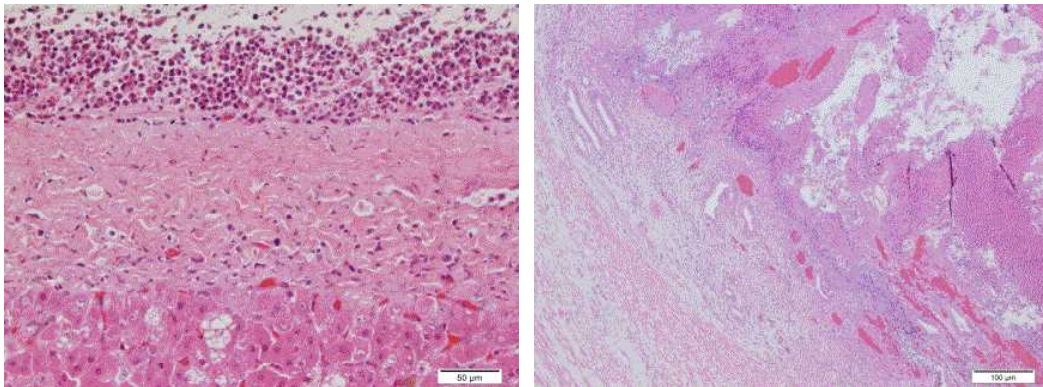


写真-2 肝臓の被膜増生と炎症細胞浸潤（左）と子宮の粘膜上皮壊死および粘膜固有層への炎症細胞浸潤（右）

3. 細菌学的検査成績

母牛の脾臓、死亡胎子の肝臓および心臓より *Prevotella* 属菌が純培養的に分離された。分離菌は簡易同定キット（アピケンキ、シスメックス・バイオメリユール（株）、東京）を用い、*Prevotella intermedia* (*P. i*) もしくは *disiens* (*P. d*) と判定された。

4. 血液生化学的検査

血液検査結果を表-1に示す。

母牛血清で白血球の著しい増加とGOT, GGT, BUN, CRE, CPK, LDH、無機リンの上昇とT-cho, Caの低下がみとめられた。このことから、母牛は細菌感染症、骨格筋障害、尿毒症、低栄養の状態であったと推察された。

また、本症例では組織融解が著しく死亡胎子の病理学的検査およびウイルス

学的検査は実施不能であった。以上の検査結果から、『Prevotella属菌の関与を疑う化膿性子宮内膜炎と全身性化膿性炎』と診断した。

本症例は、母牛と胎子から同一菌が分離されたことから、胎盤を通して母子間で細菌感染があったことが示唆された。また、母牛において右心の膿瘍と脾臓に化膿性炎が認められ、脾臓から細菌が分離されたことより、細菌感染が血行性に全身に拡大したのではないかと考えられた。

【牛におけるPrevotella属菌の保有状況調査】

1. 調査菌の選定

純培養的に分離された菌は、簡易同定キットにより*P. i*もしくは*P. d*と同定されたが、確定には至らなかった。しかし、分離菌の生化学性状がインドール陽性であること、血行性に感染が拡大したことが示唆されたことから、*P. i*である可能性が強いと思われたため、*P. i*について調査を行うこととした。

2. 保有状況調査

調査は、管内酪農家3戸で行った。

検査材料は、妊娠牛20頭および非妊娠牛35頭の唾液を用いた。

採材牛の授精後日数および分娩後日数は表-3に示す。妊娠群はプロゲステロンが急上昇する50日まで、エストロゲンの1次ピークとなる受精後150日まで、エストロゲン濃度が低下する150日から240日まで、エストロゲンの2次ピークとなる受精後240

表-1

WBC	× 10 ² /μL	315 ↑	BUN	mg/dL	80.2 ↑
RBC	× 10 ⁴ /μL	735	CRE	mg/dL	4.1 ↑
HGB	g/dL	11	T-cho	mg/dL	22 ↓
HCT	%	34.7	Ca	mg/dL	5.3 ↓
TP	g/dL	6.0	IP	mg/dL	15
ALB	g/dL	2.9	Mg	mg/dL	2.4
GOT	U/L	253 ↑	CPK	U/L	>2000 ↑
GGT	U/L	42 ↑	LDH	U/L	2751 ↑

表-2 *P. i*と*P. d*の比較

菌名	<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Prevotella disiens</i>
ヒトでは	歯周病原菌	子宮内膜炎原因菌
保有状況調査用菌検出材料	唾液	膿粘液
予想される子宮への感染経路	口腔内の傷から血行性(菌原性敗血症?)	膣から上向き
生化学性状(インドール産性)	+	-

表-3 妊娠牛の受精後日数および非妊娠牛の分娩後日数と頭数の内訳

妊娠牛				
授精後日数	~50	51~150	151~240	241~
頭数	3	10	6	1
非妊娠牛				
分娩後日数	~40	41~150		
頭数	4	11		

日以降の4グループに分類した¹⁾。非妊娠群は理想初回発情開始時の40日までと、それ以降の2グループに分類した（表-3）。

唾液は、滅菌した鉗子をストッパーとして、滅菌ガーゼを牛口腔内で60秒保持（写真-3）した後、50ml遠沈管に採取し、凍結保存した。

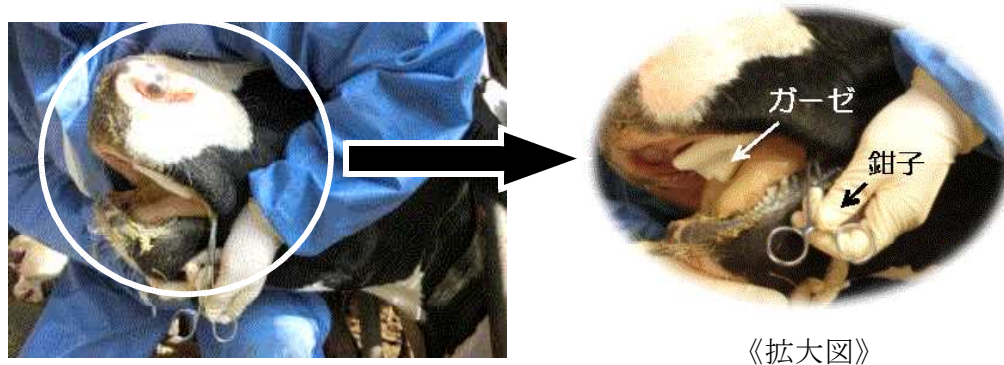


写真-3 唾液の採材

DNA抽出キット（QIAamp DNA Mini Kit、（株）キアゲン、東京）を用い唾液からDNAを抽出。プライマーに*P. i*の16SrRNAの一部を用いPCR法を実施した²⁾が、全頭において*P. i*は検出されなかった。

【まとめ及び考察】

本症例は妊娠5カ月の乳用牛ホルスタイン種において胎子の死亡が確認され、*Prevotella*属菌の関与を疑う化膿性子宮内膜炎と全身成化膿炎と診断された。

剖検により、母牛の右心に膿瘍、脾臓に化膿性炎が認められ、脾臓から*Prevotella*属菌が分離されたこと、また、母牛と死亡胎子に同一菌が分離されたことから、胎子から分離された菌は、母牛体内で血行性に増殖した後、胎盤を通し胎子に垂直感染したことが示唆された。

分離菌は簡易同定キットにより*P. i*もしくは*P. d*と同定されたが確定には至らなかったが、生化学性状がインドール陽性であることから*P. i*である可能性が高いと思われた。

ヒトにおいて、*P. i*はプロゲステロンやエストロゲン等の女性ホルモンにより活性化し、妊娠性歯肉炎や思春期性歯肉炎の原因菌となる。一方、*P. d*は子宮内膜炎の原因菌である。しかし、*P. i*および*P. d*は牛における分離事例が少なく、また、国内で死流産胎子からの分離事例は報告がないことから、乳用牛ホルスタイン種の唾液中における*P. i*保有状況調査をおこなった。しかし、結果は全頭で陰性であった。

今後は、乳用牛ホルスタイン種における膣内の*P. d*保有状況も含めて調査を進めていくことで、原因不明となることが多い乳用牛の死流産における原因究明の一助としたい。

1) 森純一 金森弘司 浜名克己編、獣医繁殖学第2版、2002

2) 渡邊竹美、妊婦の口腔内健康状態と*Prevotella intermedia*の妊娠への影響、秋田大学医学部保健学科紀要、第14巻、第2号