

管内の牛にみられた腸炎2症例の病理学的検討

和歌山県紀北家畜保健衛生所

○ 亀位 徹 小松 希

山田 陽子 豊吉 久美

【背景および目的】

和歌山県内における平成22年4月～平成28年10月に和歌山県紀北家畜保健衛生所（以下、当所）で病理組織学的検査を実施した病性鑑定や検査依頼の中で、牛の症例が多くを占めた。当所管内における平成24年4月～平成28年10月の牛の斃死事例に係る検案書および斃死診断書を調べてみると63頭あり、そのうち3か月齢以下の子牛が30頭と多数を占め、原因別では腸炎に関する診断が多くみられた（表1）。

そこで、今後の対策の一助とするため、特徴的な腸炎症状を示し斃死した2症例を選び、病理学的に検討した。

【方法】

定法により解剖し主要臓器を採材、または生体から検体を採取し、病理組織学的検査、ウイルス学的検査、細菌学的検査、および寄生虫卵検査を実施した。

病理組織学的検査は、検体を10%中性緩衝ホルマリン液で固定、パラフィン包埋後薄切、HE染色標本を作製し実施した。また、PAS反応、マッソントリクローム染色、PTAH染色、およびグラム染色を実施した。

ウイルス学的検査は、牛ウイルス性下痢・粘膜病の遺伝子検査（以下、BVD-MD検査）をRT-PCR法にて、牛トロウイルス病、牛コロナウイルス病、および牛ロタウイルス病（A群、B群、C群）の遺伝子検査（以下、牛下痢症検査）をマルチプレックスRT-PCR法にて、ならびに牛白血病の遺伝子検査（以下、EBL検査）をnested PCR法にて実施した。

細菌学的検査は、一般細菌検査として、血液寒天培地、DHL寒天培地、卵黄加MSA培地、チョコレート寒天培地等を用いて37度24時間好気定量培養または微好気培養を実施した。サルモネラ検査として、NBGA培地およびNDHL寒天培地へ直接塗抹、また同検体をラパポート液体培地で37度一晚増菌培養したものをNBGA培地およびNDHL寒天培地へ塗抹し30度および37度24～48時間好気培養を実施した。嫌気性菌分離検査として、卵黄加CW寒天培地および血液加GAM寒天培地で37度24～48時間嫌気定量培養を実施した。

寄生虫検査は糞便について浮遊法によりコクシジウムオーシストや線虫卵の検出を実施した。

【症例1】黒毛和種子牛の斃死事例

1 採材経緯

平成28年6月6日生まれの牛が7月13日（38日齢）に血便、脱水、活力低下等を呈し、当所に診療依頼があった。加療するも本症例は8月2日（58日齢）に斃死し、当所で病性鑑定を実施した。

2 臨床経過等

本症例は初診前の35日齢の時にトルトラズリル製剤が投与され、37日齢の糞便検査でコクシジウムオーシストが検出され、初診時には補液とともにサルファ剤や抗生物質等が投与された（表2）。

その後も本症例は水様性下痢等の症状を繰り返し、補液や抗生物質、抗炎症剤等による加療、ならびに経口補液剤や整腸剤等による畜主の看病が続けられたが、58日齢で斃死した。

3 剖検所見

消瘦（図1-1）。解剖時の血液凝固不全の傾向。胸腺萎縮。脾臓萎縮。盲腸および結腸は腫大し液状内容物充満（図1-2）。結腸粘膜面にびらん形成。気管および気管支内に泡沫状滲出液貯留、粘膜面に白色壊死塊付着（図1-3）。肺では左右ともに前葉から後葉にかけて小葉性肝変化。第四胃内に固形飼料貯留、胃体部粘膜の水腫。腎臓では左右ともに出血性梗塞巣が認められた（図1-4）。

4 病原検査結果

ウイルス学的検査では、直腸便および鼻腔スワブについてBVD-MD検査を、さらに直腸便について牛下痢症検査を実施し、いずれも特異的遺伝子は検出されなかった。

細菌学的検査では、心臓、肝臓、脾臓、肺、腸間膜リンパ節、心嚢水、および腹水について一般細菌検査を実施し、腸間膜リンパ節から好気培養で極少数のコロニーが観察され、全て大腸菌と同定された。小腸内容から分離された大腸菌および腸間膜リンパ節由来株について遺伝子検査により線毛抗原付着因子F5（K99）が陽性、LT、ST、およびVTは陰性であった。小腸内容および胆汁についてサルモネラ検査を、さらに小腸内容について嫌気性菌分離検査を実施し、いずれも陰性であった。

5 病理組織学的検査結果

結腸では全周性に腸粘膜上皮が脱落、びらん形成、出血、粘膜組織の壊死、炎症細胞の浸潤、線維素析出、および偽膜形成等が認められた（図2）。腫脹した部位では粘膜ヒダは認められず、菲薄化した結果と考えられた。盲腸や小腸では腸絨毛の萎縮や炎症細胞の

浸潤がみられ、回腸では腸管付属リンパ組織のリンパ球減少等が認められた（図3）。空腸下部の腸絨毛先端部の粘膜固有層内にコクシジウムの寄生が認められた（図4-1、2）。気管では粘膜上皮細胞の線毛消失、変性、壊死、一部で脱落、固有層内に炎症細胞浸潤、粘膜表層に付着した細胞類廃物中に真菌や細菌の菌体が認められた。肺ではカタル性気管支肺炎が認められ、肺胞腔内には炎症細胞浸潤し、粘液、線維素析出、血栓、ラングハンス型巨細胞が認められた。腎臓では腎皮質の壊死、出血、血栓、近位尿細管の壊死等が広範に認められ、腎不全と考えられた。

6 診断結果等

本症例はコクシジウム感染量が多く、血便を呈し牛コクシジウム病を発症し、病態が改善せず斃死に至った事例と考えられた。多数のコクシジウムが寄生すると腸の傷害が広範囲となり、またコクシジウムの種類によって寄生部位が異なるので、腸陰窩など腸粘膜組織の再生に関わる部位が破壊されると傷害がより重度になると考えられた。腸粘膜組織の回復力を超えて傷害されると、炎症、腸の吸収機能障害、および腸の防御機能低下といった腸内環境の悪化が長引き、衰弱し全身の免疫機能低下に陥ると考えられた。本症例はこれらの経過をたどり、敗血症、ショック、播種性血管内凝固症候群、腎不全等と至り、最終的に斃死したと考えられた。

【症例2】黒毛和種繁殖雌牛の斃死事例

1 採材経緯

平成26年3月28日生まれの牛（未経産、最終人工授精平成27年10月13日、妊娠）が、平成28年3月7日に食欲不振および肉片を含む無色水様性下痢を主訴に当所に往診依頼があった。

検査は3月7日（肉片①）および3月23日（肉片②）に排出された肉片、下痢便、ならびに血液について実施した（表3）。

2 臨床経過等

本症例は初診の約1か月前から食欲不振と下痢、その後泥状便になり、軟便に回復するということを3度繰り返していた。初診の数日前にサルファ剤を投与済であった。また、子牛の頃から下痢気味であったが生育は順調で、過去に流産の経歴があった。

初診時は水様性下痢を呈し、第一胃運動はほぼ停止し食欲廃絶であった。水様性下痢便中に肉片が認められた。腹水は認められなかった。血液生化学的検査では総蛋白（TP）：2.7 g/dL、アルブミン（ALB）：1.2 g/dL、総コレステロール（Tcho）：17 mg/dL と低値であった（表4）。臨床経過や血液生化学的検査結果、および肉片の

排泄から当初は慢性炎症の一つである好酸球性胃腸炎が疑われた。

本症例は初診後も、水様性下痢、泥状便、回復を繰り返し、その後平成28年4月4日に流産し、さらに徐々に削瘦衰弱し4月29日に斃死した。斃死後の病性鑑定は実施されなかった。

3 病原検査結果

ウイルス学的検査では、糞便について牛下痢症検査を、糞便および血清についてBVD-MD検査を、さらに全血から抽出した白血球についてEBL検査を実施した。いずれも特異的遺伝子は検出されなかった。

細菌検査では、糞便および肉片について一般細菌検査を実施し有意菌分離されず、糞便についてサルモネラ検査を実施し陰性、糞便および肉片について嫌気性菌分離検査を実施し*Clostridium perfringens*が分離され、いずれもPCR検査によりA型（ α 毒素保有）と同定された。3月23日採材の糞便について1gあたりの*Clostridium perfringens*の菌数は 1.0×10^7 であった。肉片についてスタンプ面のほぼ全面に*Clostridium perfringens*の発育が確認された。

寄生虫検査では虫卵は検出されなかった。

4 病理組織学的検査結果

肉片は表面平滑で、レーズン様や発芽した豆様の形状を呈していた（図5-1、図6-3）。肉片の他に、線維状の構造や紐状の構造が認められた（図6-1、2）。色調は桃白色、黄白色のものや、ホルマリン固定後に茶色を呈したものが認められた。断面では外周を膠原線維様の結合組織からなる膜状の構造、内側には層状や袋状の構造が認められ、層間に壊死した組織等が認められた。一部の肉片では、食物残渣であると考えられる植物の茎の部分が内部に包み込まれていた（図5-2）。

病理組織学的検査はレーズン様や豆状の形状の肉片について実施した。3月7日採材の肉片①は、HE染色では肉片は一様に好酸性に染まり、多数の層状構造とその層間や内側にある細胞類廃物からなると思われる内部構造からなることが観察された（図7）。マッソントリクローム染色では、内部構造について、線維素、膠原線維様構造、粘液、細胞質様構造等が様々に混じり合っていることが観察された（図8）。3月23日採材の肉片②は、肉片①と同様に外周を膜状構造に覆われ、内部に類廃物等からなると考えられる柔らかい構造を呈していた（図9-1）。内部構造は、HE染色では全体が好酸性に染まり（図9-2）、PTAH染色では一部が陽性に染まり（図9-3）、PAS反応では大部分が陽性に染まった（図9-4）。さらに、HE染色では多数の層状構造が認められ（図10-1）、その内側に腸粘膜組織様の

構造が認められた（図10-2）。肉片中には好中球様の構造が散在していた。一方、好酸球様の構造は少数しか認められず、好酸球性胃腸炎は否定された。PTAH染色では、主に層状構造部分に陽性が認められ、線維素や線維状の構造が観察された（図10-3）。PAS反応では、主に肉片内部に陽性が認められ、粘液球や植物片が観察された（図10-4）。グラム染色では、肉片中に陽性に染まる大桿菌が多数認められ（図11-1）、これらはクロストリジウム属菌と考えられた。糞便検査では未検出であったが、肉片中にシズント様構造（図11-2）やコクシジウムオーシスト様構造（図11-3）が少数認められた。

5 診断結果等

肉片の構成要素は線維素、粘液、壊死組織、腸粘膜上皮組織様構造、粘膜固有層様構造、白血球様細胞、グラム陽性の大桿菌、食物残渣、結合組織様構造等と考えられ、偽膜と同様の成分からなると考えられた。腸粘膜に何らかの炎症が起き、粘膜表面に線維素や粘液等が滲出し、壊死した腸管粘膜組織構造とともに管腔内に脱落し、食物残渣や菌塊等をまきこみ、体外に排泄されるまでの間に形が整えられ塊となったと考えられた。以上より、肉片は偽膜の塊と考えられ「偽膜塊」と診断した。

本症例は、凜告から過去に腸炎を発症し腸粘膜組織破壊が起こり、その後も慢性的に腸炎を発症しやすい状態になっていたことが考えられ、何らかの原因により *Clostridium perfringens* が異常に増殖し偽膜性腸炎を発症し、斃死に至ったと考えられた。

【考察】

症例1より、抗コクシジウム薬を用いた対策のみでは、防御能を超える多数のコクシジウムの感染があった場合には、子牛が重篤な腸炎のために斃死することがある。症例2より、腸内環境が破壊され慢性的に腸炎を引き起こしやすい状態となったことに加え、さらに *Clostridium perfringens* が関与する重篤な偽膜性腸炎を発症した場合には、成牛でも斃死する可能性があること示された。

重篤なコクシジウム病が関与する斃死事故発生を防ぐためには、子牛の腸組織障害を少なくするためコクシジウム曝露量を減少させることが有効であり、そのためには、農家自身が牛床を清掃および消毒等で清潔に保持した上で、薬剤を適切に使用することが重要と考えられた。

【参考】

- ・石井俊雄：獣医寄生虫学・寄生虫病学 総論／原虫、講談社
- ・日本獣医内科学アカデミー編：獣医内科学 大動物編、文永堂出

版

- ・ 清水高正ほか：牛病学第2版、近代出版
- ・ 獣医病理学会編：動物病理学各論第2版、文永堂出版
- ・ 獣医病理学会編：動物病理学総論第3版、文永堂出版
- ・ 藤田尚男ほか：標準組織学各論第2版、医学書院
- ・ 日本獣医解剖学会編：獣医組織学改訂第2版、学窓社
- ・ 白川ひとみほか：壊死性腸炎とコクシジウム病の合併症による肥育牛の死亡事例、日獣会誌、54、92-94、2001
- ・ 岩松茂ほか：コクシジウム寄生を伴った*Clostridium perfringens* A型菌による子牛のエンテロトキセミア、日獣会誌、39、652-655、1986
- ・ 獣医師生涯研修事業のページ、日獣会誌、66、298-301、2013
- ・ 谷口有紀子ほか：乳用子牛にみられた*Clostridium perfringens* A型菌による出血性線維素性胃炎について、北海道、第61回家畜保健衛生業績発表会集録（平成25年度）、13