搾乳牛に発生した *Haemophilus somnus* 感染症の臨床病理学的観察の 1 例

後藤新平*¹⁾ 池田達雄*¹⁾ 西村盛夫*¹⁾ 大山順一郎*²⁾

(昭和 60 年 9 月 20 日受理)

Clinicopathological Observation on *Haemophilus somnus* Infection in a Dairy Cow
SHIMPEI GOTO (Tono Livestock Hygiene Service Center, Prefecture of Gifu, Ena,
Gifu 509-72) et al.

SUMMARY

Haemophilus somnus infection occurred in a 6-year-old Holstein dairy cow in Gifu Prefecture in June, 1984, a month after delivery. The cow was condemned within a day.

Opisthotonus and clouding of consciousness were noticed. When the cerebrospinal fluid was examined, its pressure was high and its color yellowish red. The count of floating cells was 198/mm³. Pandy's reaction was four plus. The concentration of total protein was 100 mg/dl, glucose 80 mg/dl, inorganic phosphorus 2.7 mg/dl, and calcium 7.0 mg/dl. An increase in staff neutrophils was seen.

Microscopy revealed hemorrhagic meningoencephalitis, thrombosis, vascular degeneration, and perivascular necrosis of the brain and subdural and subarachnoidal hemorrhage of the spinal cord.

H. somnus was isolated from the brain and the spinal cord. It was very sensitive *in vitro* to aminobenzyl-penicillin and oxytetracycline. The titer of the micro-plate agglutination test against *H. somnus* was 1:1,280.

要 約

1984年 6 月, 岐阜県内の 1 酪農家において, 産後 1 カ月経過した 6 才の搾乳牛 1 頭に, *Haemophilus somnus* (*H. somnus*) 感染症の発生があり, 後弓反張の異常姿勢で意識不明瞭のまま廃用となった。

脳脊髄液検査では液圧を亢進し, 外観は帯黄赤色で混濁。細胞数, 総蛋白量, 糖量, カルシウム量の増加がみられた。

血液検査では, 好中球の増加と核の左方移動が認められた。

病理組織所見では, 脳に出血性髄膜脳炎, 血栓形成, 血管の変性および血管周囲の壊死像がみられ, 脊髄に硬膜・クモ膜下の出血がみられた。

細菌分離では, 脳・脊髄から *H. somnus* が分離され, 分離菌株は, アミノベンジルペニシリンおよびオキシテトラサイクリンに対して高い感受性を示した。 *H. somnus* 抗体価は, 1,280 倍と高い値を示した。

わが国における, 牛の *Haemophilus somnus* (*H. somnus*) 感染症は, 1978 年⁹⁾に島根県で発生が確認されて以来, 全国各地で発生がみられている。

岐阜県では 1982 年¹⁾以来, 肥育牛を中心に発生しており, 発症から死亡に至るまでの経過が急であることや, 予防対策が困難であること等から, 経済的損失も大きい。

著者らが経験した症例の中において, 現在までに報告

例の少ない搾乳中の乳牛に発生がみられた。本症例について臨床病理学的に各種検査を試み, その病理組織学的および細菌学的所見との関連について知見を得たので報告する。

1. 材料および方法

1) 材 料

後頭下穿刺法 (図 1) により採取した脳脊髄液 (Cerebrospinal fluid: CSF), 頸静脈採血法により採取した血液, 尿道カテーテルにより採取した膀胱尿および放血殺後の各臓器を, 生化学的検査, 病理組織学的検査および細菌学的検査に供した。

*¹⁾ 岐阜県東濃家畜保健衛生所 (岐阜県恵那市長島町正家1067-71)

*²⁾ 岐阜県蛭川村家畜管理所 (岐阜県恵那郡蛭川村2778-8)

図1 後頭下穿刺法

2) CSF 検査

(1) 液 圧：穿刺時にマンドリンを抜いた直後の CSF の流出状況により、亢進（噴出）、正常（湧出）、低下（不出）と判定した。

(2) 外 観：CSF を透明スピッツ管に採取し、肉眼的に色調、透明度、浮遊物および沈渣について観察した。

(3) 細胞数算定：Fuchs-Rosenthal 法^{3,4)}により算定した。

(4) 総蛋白定量：Kingsbury-Clark 法^{3,4)}により定量した。

(5) 蛋白分画：セルロースアセテート膜を用いた電気泳動法により分画した。

(6) グロブリン反応：Pandy 反応^{3,4)}を試みた。小試験管に飽和フェノール液 3 ml を入れ、採取した CSF を 1~2 滴、静かに落とし、両液の接触部に起こる変化を観察した。判定は表 1 によった。

(7) 糖定量：野外での簡易迅速定量を試みるため、動物用グルコバット〔動物血中ブドウ糖測定用；(株)京都第一科学〕を用いた。試験紙に採取直後の CSF を満載し、正確に 1 分後、非水溶性ティッシュペーパーでただちに拭き取り、2 分後、比色表により判定した。

(8) 無機リン (iP) およびカルシウム (Ca) の測定：Rapid Blood Analyzer (RaBA) システムによる簡易測定を行った。

3) 血液生化学的検査

(1) 血液検査：ヘマトクリット (Ht) 値は毛細管法により、血球数の算定は Bürker-Türk 計算盤を用いて行った。血球像の検査は血液塗抹標本にギムザ染色を施して鏡検した。

表 1 PANDY 反応判定表^{3,4)}

両液接触部の変化	判定
透明又は淡い白濁	—
石 濁	+
混 濁	++
強度の混濁	+++
乳状の混濁	++++

(2) 血清酵素活性値および成分値の検査：Glutamic oxalacetic transaminase (GOT), Glutamic pyruvic transaminase (GPT), 乳酸脱水素酵素 (LDH), チモール混濁反応 (TTT), 血中尿素態窒素 (BUN), iP および Ca は RaBA システムによる測定を行い、血糖値は動物用グルコバットを用いて簡易定量を行った。

(3) 血清蛋白の検査：総蛋白量はアタゴ蛋白計を用いて測定し、蛋白分画はセルロースアセテート膜を用いた電気泳動法により分画した。

(4) 尿検査：検尿用シノテスト 3 号〔アセトン体定量試薬；(株)シノテスト研究所〕を用いた。

(5) 病理組織学的検査：採取した各臓器を、10%ホルマリン液で固定後、パラフィン包埋により切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施して鏡検した。

(6) 細菌学的検査：細菌分離は、5% 綿羊血液寒天培地およびチョコレート寒天培地を用い、好気培養およびローソク培養を行った。分離菌の同定は、形態、運動性、溶血性の他、API システムによる生化学的性状検査および X-V 因子要求性を調べ、さらに *H. somnus* 抗血清を用いた平板凝集反応により行った。

分離菌の薬剤感受性試験は、昭和ディスク〔1 濃度法；昭和薬品化工(株)〕を用いた。

(7) *H. somnus* 凝集反応：血清および抗原の希釈には、0.5% 石炭酸加 VBD (Veronal Buffered Diluent) を使用し、V 底マイクロプレートを用いたマイクロタイター法により行った。抗体価は、50% 凝集を示す最終血清希釈倍数で表わした。

2. 成 績

1) 発生状況および臨床症状

岐阜県恵那郡の搾乳牛 8 頭を飼養する農家で、1978 年 4 月 28 日生れのホルスタイン種（雌）1 頭に発生がみられた。

1984 年 5 月 26 日に 4 産目を分娩。6 月 27 日の夕方突然、飼槽をかむ等の異常行動を示し、翌朝には起立不能となり、四肢伸張、後弓反張の異常姿勢で意識不明瞭のまま廃用となった。体温は 39.8℃、呼吸数は 74/分、心拍数は 64/分で、泌乳日量は 25 kg であった。

同居牛に異常所見は認められず、肝臓検査（寒天ゲル内沈降反応）および肝機能検査（ルゴール反応）もすべて陰性であった。

2) CSF 検査成績

CSF の液圧は亢進し、外観は帯黄赤色で混濁していた。細胞数は 198 (単核球 99, 多形核球 99) 個/mm³ と増加していた。総蛋白量は 100 mg/dl と増加し、アルブミン 55.7%, β -グロブリン 44.3% で、他のグロブリン分画は検出されなかった。Pandy 反応は (++) であった。iP は 2.7 mg/dl と正常範囲にあったが、Ca は 7.0 mg/

表2 脳脊髄液検査成績

検査項目	検査値
液 圧	亢進(噴出)
外 観	帯黄赤色・混濁
細胞数	198 個/mm ³
総蛋白量	100 mg/dl
A/G 比	1.3
Pandy 反応	+++
糖 量	80 mg/dl
iP	2.7 mg/dl
Ca	7.0 mg/dl

表3 血液生化学検査成績(1)

検査項目	検査値
Ht 値	44%
赤血球数	573 万個/mm ³
白血球数	6.5 千個/mm ³
白血球百分比	
好塩基球	0%
好酸球	0%
好中球	64%
桿状核	(36%)
分葉核	(28%)
リンパ球	32%
単 球	4%

表4 血液生化学検査成績(2)

検査項目	検査値
GOT	289 Karmen 単位
GPT	58 Karmen 単位
LDH	1,901 Wróblewski 単位
TTT	1.4 MacLagan 単位
BUN	24.1 mg/dl
iP	10.0 mg/dl
Ca	8.5 mg/dl
血糖値	120 mg/dl
血清蛋白	9.2 g/dl
A/G 比	1.0

dl, 糖量は 80 mg/dl と増加していた(表2)。

3) 血液生化学検査成績

血液検査では, 好中球の増加と核の左方移動がみられた(表3)。酵素活性値では GOT, GPT の上昇がみられ, 成分値の検査では, iP と血糖値の増加がみられた。血清総蛋白量は 9.2 g/dl と高く, α -グロブリン 6.5%, β -グロブリン 6.8%, γ -グロブリン 36.0% と γ -グロブリンの増加がみられた(表4)。

4) 尿検査成績

尿アセトン体は検出されなかった。

5) 病理組織学的検査成績

(1) 剖検所見: 脳軟膜下に分布する血管は充盈し, 脳溝部には, 脳回に沿って出血がみられた。脳断面では,

写真1 小静脈の血栓形成(大脳: HE 染色 ×100)

写真2 好中球の小集簇を伴う出血(大脳: HE 染色 ×400)

皮質・髄質ともに点状あるいは斑状の出血が散在していた。脊髄では頸髄から腰髄にかけ数箇所に硬膜下, クモ膜下斑状出血が認められた。

その他, 肝臓では肝蛭の寄生と肝の萎縮・硬化がみられ, 前肢では皮下組織および諸筋間組織に膠様浸潤が認められた。

(2) 組織所見: 脳軟膜下には出血が著しく, 軽度の線維素析出を伴っていた。この領域の小動脈壁は硝子様に膨化し, 内皮細胞の腫大および血栓形成が認められた。脳実質では, 前頭葉, 大脳中央部, 後頭葉, 中脳の灰白質および白質に, 球状あるいは輪状出血が散在し, 小さい細胞・静脈の管壁では硝子様変性, 内皮細胞の腫大, 血栓形成(写真1)およびその周囲組織の壊死像がみられた。また, 好中球の小集簇を伴う出血巣が認められた(写真2)。脊髄では, 硬膜下およびクモ膜下の出血以外, 著変は得られなかった。

その他, 肝臓において肝蛭の寄生と間質結合組織の増生および好酸球の浸潤がみられたが, 他臓器にはなんら特記すべき所見は認められなかった。

6) 細菌学的検査成績

細菌分離では, 脳・脊髄から *H. somnus* が分離された

表5 *H. somnus* 分離株の性状

検 査 項 目	性 状	検 査 項 目	性 状
グラム染色性	陰性	X 因子要求性	—
形 態	桿菌	V 因子要求性	—
CO ₂ 要求性	+	XV 因子要求性	—
カタラーゼ	—	(糖分解能)	
オキシターゼ	+	グルコース	+
インドール産生	+	マンニット	+
Voges-Proskauer 反応	—	アラビノース	—
硫化水素産生	+	サッカロース	—

表6 *H. somnus* 分離株の薬剤感受性

薬 剤	感受性
アミノベンジルペニシリン	卅
オキシテトラサイクリン	卅
ペニシリン	卅
カナマイシン	卅
ストレプトマイシン	+

が、CSF からは分離されなかった。分離菌株の性状は、グラム陰性の短桿菌で、 α 溶血性を示し、運動性(—)、炭酸ガス要求性(+), X・V 因子要求性(—), その他表5に示すとおりである。硫化水素産生(+)は、佐々木⁶⁾、原ら²⁾、土屋ら⁷⁾の報告と異なる性状を示したが、*H. somnus* 抗血清との凝集反応は陽性であった。

分離菌株の薬剤感受性試験では、アミノベンジルペニシリンおよびオキシテトラサイクリンに対して高い感受性を示した(表6)。

7) *H. somnus* 凝集反応成績

発症牛の *H. somnus* 抗体価は1,280 倍と高い値を示した。

同居牛の抗体価は発症時には、20 倍が4例、40 倍が1例、80 倍が1例、160 倍が1例であったが、5 カ月後には、80 倍が2例、160 倍が5例と、抗体価の上昇を認めた。

3. 考 察

搾乳中の乳牛に *H. somnus* 感染症の発生があった。

H. somnus 感染症の臨床的診断を確実なものにするため、後頭下穿刺法による CSF 採取および Pandy 反応等の CSF 検査法を試みたところ、野外で簡易に実施できることがわかった。

CSF の性状については、液圧亢進、色調変化、細胞数増加、総蛋白量の増加、Pandy 反応陽性と、山口ら¹⁰⁾の報告と同様な成績が得られたが、A/G 比の顕著な低下はみられず、また浮遊細胞においても、単核球と多形核球の同時増加がみられる点で、若干異なる所見を得た。これは、脳脊髄における反応性細胞増多を伴う出血性機転と、炎症性機転とが同時進行していることによるもの

と考えられた。さらに糖量の増加がみられることは、脳出血やクモ膜下出血の所見⁹⁾と類似しており、CSF での菌増殖の否定を意味したが、これらのことは、病理組織所見において、脳は化膿性変化に乏しく、血栓の形成や血管の変性等、出血性変化が強かったことや、細菌分離で脳・脊髄から *H. somnus* が分離されたにもかかわらず、CSF からは分離されなかったことと一致し、臨床病理学的に CSF の性状を検査することにより、脳脊髄の病変像を推測することが可能であるように思われた。

血液検査で、好中球の増加と核の左方移動がみられたにもかかわらず、脳脊髄病変において上野ら⁹⁾、土屋ら⁷⁾の報告と異なり、好中球の集簇が顕著でなかった。このことは、大島⁵⁾の報告による病理像および病理発生からみて、本症例は、病巣内における好中球の浸潤を引き起こす以前の初期病変像であったと考えられた。しかし、血清中の *H. somnus* 抗体価が高かったことや、分離菌株の性状が他の報告例と若干異なっていたことから、菌株による病理学的変化の差異⁸⁾も起こり得ることが示唆された。

同居牛は、*H. somnus* の抗体上昇がみられたにもかかわらずその後の発生はなく、肝機能検査や肝経検査においてはすべて陰性であった。

本症例は、分娩後1カ月の泌乳量の増加時に発症し、GOT、GPT の上昇と γ -グロブリンの増加等、肝経の寄生によると思われる肝機能障害がみられたことから、これらのストレスが発症に何らかの影響を与えていることが考えられ、今後、搾乳牛については分娩後の管理や、肝経寄生に対する注意がとくに必要と思われた。

[本論文の要旨は、第26回岐阜県家畜保健衛生業績発表会において報告した。]

文 献

- 1) 後藤新平, 牟田口一義, 馬淵貞三, ほか: 昭和58年度日本臨床獣医学会年次総会(産業動物部門) 82~83 (1984).
- 2) 原 文男, 上野八朗, 白石忠昭, ほか: 日獣会誌, 34, 319~323 (1981).
- 3) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要, 第25版, 第16編, 1~29, 金原出版, 東京 (1941).
- 4) 松下博治: 家畜の臨床検査, 高橋 貢ら編, 第1版, 187~193, 医歯薬出版, 東京 (1973).
- 5) 大島寛一: 日獣会誌, 36, 435~440 (1983).
- 6) 佐々木文存: 畜産の研究, 36, 837~841 (1982).
- 7) 土屋博義, 山本慎一郎, 岩崎充祐, ほか: 日獣会誌, 35, 150~154 (1982).
- 8) 附田彰二, 佐々木英知, 古谷 真, ほか: 日獣会誌, 35, 355~359 (1982).
- 9) 上野八朗, 原 文男, 白石忠昭, ほか: 日獣会誌, 34, 268~272 (1981).
- 10) 山口 純, 小屋正人, 小形芳美, ほか: 昭和58年度日本臨床獣医学会年次総会(産業動物部門) 80~81 (1984).