

19 黒毛和種去勢牛における播種性接合菌症の一症例

倉吉家畜保健衛生所 ○中村 耕太郎 岡田 綾子

1 はじめに

接合菌感染症は接合菌、主にムコール目（ケカビ目）の真菌に起因する感染症で、ムコール目の *Rhizopus*、*Rhizomucor*、*Mucor*、*Absidia* の4属が主要な原因菌となる。ヒトでは免疫低下の基礎疾患を持つ患者に好発し、血管侵襲性が強く、急性かつ致命的な転機をとることが多く、鼻腔から脳に侵入する鼻脳型接合菌症、肺接合菌症、皮膚接合菌症、および全身に病変を形成する播種性接合菌症に分類される。

牛においては、潰瘍性胃腸炎や肺炎、リンパ節炎、脳炎、全身感染症や流産などが報告されているが、今回、8か月齢の黒毛和牛で、接合菌の一種である *Rhizomucor pusillus* 感染により、全身に結節病変を形成した事例に遭遇したので概要を報告する。

2 概要

症例は黒毛和種、8ヶ月齢の去勢牛で、約5ヶ月齢で、発熱や呼吸器症状を呈し、抗生剤、解熱剤等で治療を実施した。いったん、症状は治まったものの、その後、再発を繰り返し、高熱、食欲廃絶となったため、予後不良と判断し、6月20日に鑑定殺をおこなった。

概要

患畜
牛、黒毛和種、去勢、8ヶ月齢

運告

- ◆ H28.3.19 (5ヶ月齢)、T39.6°C、食欲低下、呼吸速迫、発咳、肺胞音粗励。抗生剤、解熱剤等で治療を実施。4/5まで同様の治療を実施
- ◆ 5/15再発～5/23まで治療を実施
- ◆ 6/14再発、治療を行うも40°C以上の高熱が続き、食欲廃絶、肺胞音粗励、発咳、ラ音著明。
- ◆ 6/20 病性鑑定殺

3 剖検所見

患畜は努力性呼吸を呈し、外貌は削瘦、発育不良が認められた。剖検の結果、舌根部に潰瘍形成を伴うピンポン玉大の黄白色腫瘍が形成され、断面は肉芽状で、硫黄顆粒状物や石灰沈着を伴っていた。

肺は左右の肺の前葉から中葉にかけて胸壁との癒着を伴う慢性の被包化膿瘍が密発。特に右肺で病変が顕著であった。また、右後葉にソフトボール大に至る黄白色腫瘍が散発していた。



同様の腫瘍は心臓、浅頸リンパ節、縦隔リンパ節、肺門リンパ節にも認められた。これらの腫瘍は舌の腫瘍とほぼ同様であったが、舌の腫瘍と比較して硬く、線維化、石灰化が顕著であった。

4 病性鑑定

剖検所見から、細菌感染や真菌感染による肉芽腫あるいは腫瘍を疑い、以下の検査を実施した。

【病理組織学的検索】 常法に従ってHE, PASおよびグロコトット染色を実施。

【免疫組織化学的検索】 動物衛生研究部門に依頼し、抗*Rhizomucor*抗体、抗*Aspergillus*、および抗*Candida albicans*抗体を用いた免疫染色を実施。

【細菌および真菌検査】

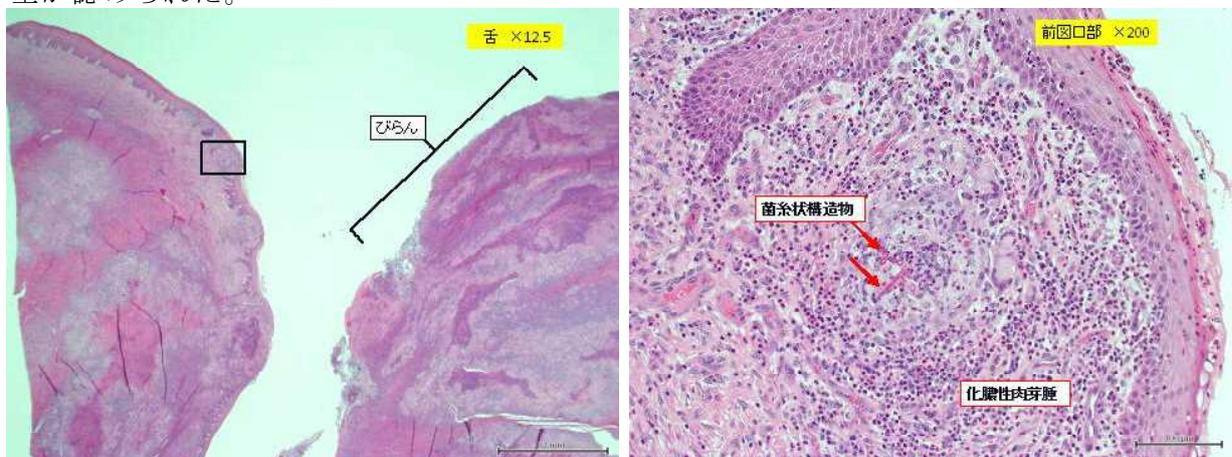
- ・直接とまつ：病変部スタンプ標本のグラム染色およびチールニールゼン染色を実施。
- ・細菌培養：羊血液寒天培地にて、24～72hr、好気、嫌気および炭酸ガス培養を実施。
- ・マイコプラズマ検査：肺炎病変部について、*M. bovis*および*M. dispar*のPCRを実施。
- ・真菌培養：ポテトデキストロース培地を用い、37℃ 3～4日間培養後、ラクトフェノール標本を作製し、観察を実施。真菌の菌種同定は動物衛生研究所に依頼し、Internal Transcribed Spacer (ITS) 領域遺伝子の塩基配列の解析を実施。

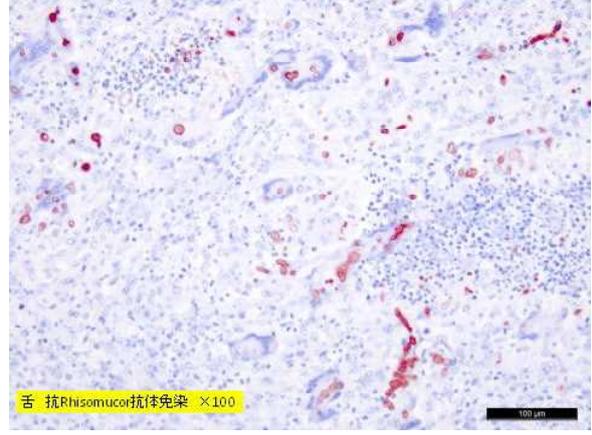
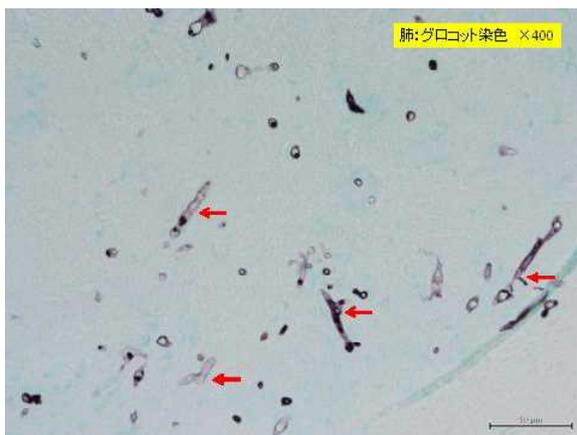
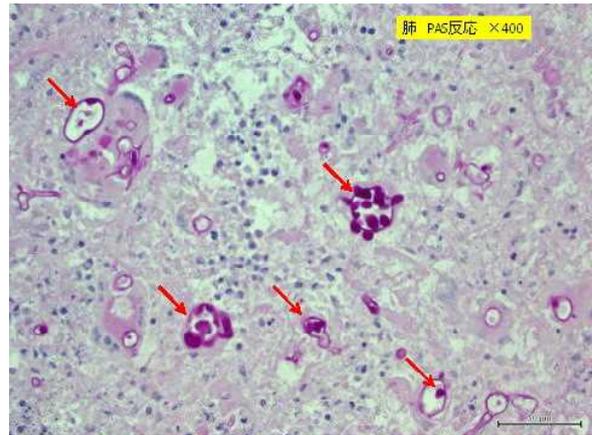
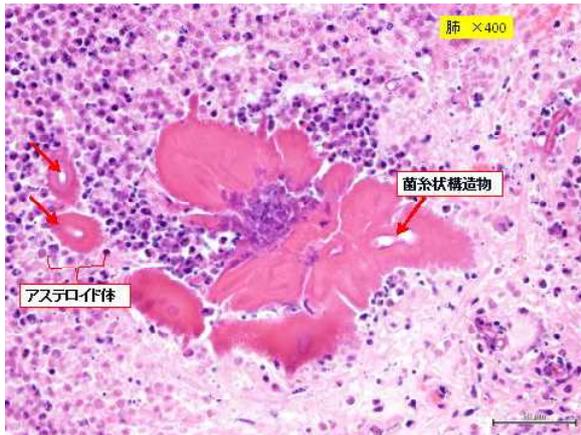
【ウイルス検査】 牛白血病のリアルタイムPCRを市販のキットを用いて実施、

5 結果

【病理組織学的検索】

全身の結節病変はいずれも同様の病変で、好酸性の凝固壊死巣（凝固壊死）、多核巨細胞・マクロファージ浸潤が入り混じり、石灰沈着及が多発していた。壊死巣内やマクロファージ、多核巨細胞の細胞質内に、PAS反応陽性・グロコトット染色で黒染する菌糸様構造が認められ、菌糸様構造は概ね太く、隔壁を持たず、不規則に鈍角に分岐し、時に、大きく風船状に腫大し内部に好塩基性の微細な無定形物質を入れるものや、細胞壁から内部に向かって強好酸性・PAS陽性の滴状～コブ状の隆起を持つものが認められた。また、周囲にアステロイド体様構造を持つものも存在した。壊死巣やその周囲には好酸球・好中球・リンパ球・形質細胞の軽～中等度浸潤、線維芽細胞増生が認められた。





また、結節病変以外の肺炎病変内にもマクロファージ、多核巨細胞の浸潤を伴う、菌糸様構造物が多数確認された。肉眼的に病変の確認されなかった腸間膜リンパ節においても、切り出し時に中央部の軟化巣が認められ、組織では皮髄境界部付近に小壊死巣散在、マクロファージ・多核巨細胞散発、好酸球の重度浸潤から成る病巣を認めた。

【免疫組織科学的検索】

各病変部内の菌糸様構造物と一致して抗*Rhizomucor*抗体の陽性反応が確認され、抗*Aspergillus*および抗*Candida albicans*抗体は陰性であった。

【細菌検査】

各病変部のスタンプ標本の直接鏡検では、肺炎病変部からグラム陰性短桿菌が多数確認された。チールニールゼン染色ではすべての病変で抗酸菌は確認されなかった。

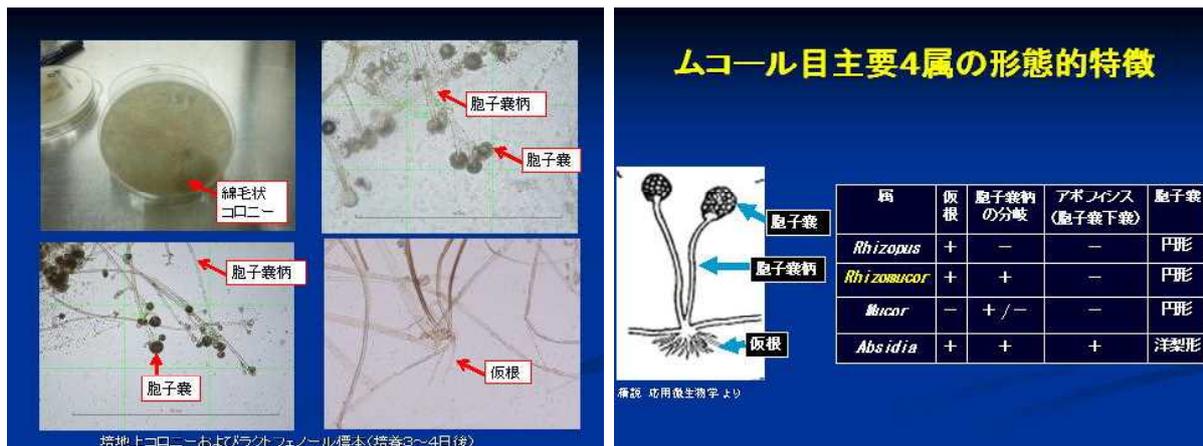
培養の結果、肺炎病変部から*P. multocida*が多数分離され、PCRにて*M. bovis*および*M. dispar*が陽性、結節病変部からは有意菌は分離されなかった。

【ウイルス検査】

BLV遺伝子は陰性だった。

【真菌検査】

肺、リンパ節などの結節病変部と一致して綿毛状のコロニーが分離された、分離真菌は発育が速く、培地全面に綿毛状に発育し、培養後、2～3日後に白から茶褐色に色調が変化した。ラクトフェノール標本では、菌糸は隔壁を持たず、孢子囊柄が分岐し、先端に円形の孢子囊の形成が認められ、仮根と呼ばれる構造が確認された。アポフィシス（孢子囊下囊）は認められなかった。*Mucor*属との鑑別のため、発育温度試験を実施した結果は、52度での発育が確認された。



接合菌症の主要な原因となるムコール目の *Rhizopus*、*Mucor*、*Rhizomucor*、*Absidia* の4属は仮根、胞子囊柄の分岐の有無、胞子囊の形、アポフィシス（胞子囊下囊）と呼ばれる漏斗状に肥大した構造があるかどうかによって肉眼的に判別できるとされているが、今回分離された菌は上記の結果から *Rhizomucor* 属菌と考えられた。ITS領域遺伝子の塩基配列解析の結果、既知の *Rhizomucor pusillus* 遺伝子と100%一致した。以上の結果から、播種性接合菌症（*Rhizomucor pusillus* 感染症）と診断した。

6 まとめおよび考察

呼吸器症状を繰り返す黒毛和種去勢牛の鑑定殺を実施したところ、全身に巨大な腫瘤の形成がみとめられ、病変部と一致してリゾムコールプシルスが分離された。解剖所見、病理、および培養結果から、種性接合菌症（*Rhizomucor pusillus* 感染症）と診断した。本症例は舌、心臓、肺、リンパ節など、全身に腫瘍を疑うような巨大な結節を形成した珍しい症例と思われる。感染経路は不明だが、病変の大きさや程度から、おそらく、慢性肺炎に本菌の感染を併発し、その後、リンパ行性または血行性に、全身に播種性に病変が形成されたものと推察した。今回のように結節病変のみられる病性鑑定においては、真菌感染による肉芽腫も考慮に入れ、真菌培養を含めた検査を実施することが必要と考えられる。

7 謝辞

分離真菌の遺伝子解析、同定を実施して頂いた動物衛生研究部門の花房先生、並びに免疫染色を実施していただいた芝原先生に深謝いたします。