



日本中央競馬会
特別振興資金助成事業

牛肺疫 **Contagious bovine pleuropneumonia:CBPP** の早期発見と 発生予防のために



平成25年2月

社団法人 中央畜産会

発刊にあたって

平成 22 年 4 月に宮崎県内で発生した口蹄疫は、我が国の畜産にとってこれまで経験をしたことがない未曾有の被害をもたらしました。口蹄疫などの海外悪性伝染病の被害を最小限にとどめるためには、「発生の予防」、「早期発見・通報」及び「迅速・的確な初動対応」が極めて重要であることが再認識されたところであります。

このため、このような極めて重要な防疫対応策の強化を図る観点から、平成 23 年 4 月に家畜伝染病予防法の一部が改正され、飼養衛生管理基準の見直し、農林水産大臣の定める特定症状を呈する家畜の届出義務の創設等が行われました。

このような情勢に対応して、財団法人全国競馬・畜産振興会の助成事業である平成 24 年度民間産業動物獣医師防疫支援体制確立対策事業の一環として、海外悪性伝染病の危機管理対策の一助とすべく、今般「牛肺疫に関するパンフレット」を作成することといたしました。本冊子は、牛肺疫の早期発見と発生防止のために、牛肺疫の発生の歴史的な経緯、病性、感染環、疫学及び国際獣疫事務局（OIE）の国際的なサーベランス等を中心として作成しております。

我が国は、昭和 16 年（1941 年）の発生後は、牛肺疫の清浄国であり、日常遭遇する伝染病でないことから、本病の診断、防疫等の体験を欠く伝染病の 1 つになっております。

このようなことから、本病の迅速な診断をするために必要な写真については、公益社団法人日本獣医師会発行の「図解 海外家畜疾病診断便覧」に掲載されている写真、FAO（Food and Agriculture Organization）、CFSPH（the Center for Food Security & Public Health, Iowa State University）で公表されている写真をそれぞれ在日米国大使館及び国際連合食糧農業機関（FAO）のご了解とご協力を得て、また、Plum Island Animal Disease Center（USDA）のご厚意により写真提供をいただき掲載させていただいております。

なお、牛肺疫がマイコプラズマに起因していることから、国内で発生しているマイコプラズマ性呼吸器病等についても参考として本冊子に掲載することといたしました。また、そこでの写真については、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所及び福岡県家畜保健衛生所からご提供をいただきました。

本冊子の作成に携われた関係者各位に対し改めて深く感謝申し上げます。

この冊子が多くの関係者に広く活用され、牛肺疫等の理解と防除のための一助となれば幸いです。

平成 25 年 2 月

社団法人 中央畜産会
会長 小里 貞利

目 次

牛肺疫の早期発見と発生予防のために

1. 牛肺疫とマイコプラズマの分類	P1
2. 国内外における牛肺疫発生 of 歴史	P2
3. 牛肺疫病原体	P4
(1) 生物学的特徴	P4
(2) 血清学的特徴	P5
4. 感染環	P5
5. 症 状	P6
(1) 甚急性症状	P6
(2) 急性症状	P6
(3) 亜急性・慢性症状	P6
6. 診 断	P7
7. 治療・予防	P10

牛肺疫の写真集

(参考)

1. 国際獣疫事務局(OIE)の国際基準コード(2012年秋検討)における 推奨牛肺疫サーベイランス	P16
(1) 臨床サーベイランス	P16
(2) 病理学的サーベイランス	P17
(3) 血清学的試験	P17
(4) 病原体サーベイランス	P17
2. 牛マイコプラズマ感染症	P18
(1) 呼吸器病	P18
(2) 中耳炎	P18
(3) 関節炎	P18
(4) 乳房炎	P19
(5) <i>Mycoplasma bovis</i> が関与した感染症	P19
① マイコプラズマが関与した子牛の呼吸器症	P20
② マイコプラズマが関与した肥育牛の呼吸器病	P21
③ マイコプラズマが関与した中耳炎	P21
④ マイコプラズマ性乳房炎	P22
⑤ <i>M. bovis</i> の人工培地での発育状況	P22
3. 現場で分離頻度が高いマイコプラズマと牛肺疫菌の鑑別	P23
4. 牛呼吸器症由来の主要マイコプラズマの特徴及び生化学的性状	P24
5. 類症鑑別	P25

牛肺疫の早期発見と発生予防のために

1. 牛肺疫とマイコプラズマの分類

中世ヨーロッパで牛に原因不明の胸膜肺炎 (pleuropneumonia) が発生し、19世紀には北米、南米およびオーストラリア大陸にまで伝播し畜産に大被害を与えた。1889年、Frankはこの疾病がカビに似た特徴を持つ病原体により惹起されると類推し、ギリシャ語の「mykes」(fungus: カビ) と「plasma」(formed: 細胞) の合成語でマイコプラズマ (Mycoplasma) と命名した。この病原体は1898年、パスツール研究所のNocard & Rouxが液体培地での培養に、1900年にはDujardin-Beaumetzが固形培地での分離培養にそれぞれ成功した。その病原体こそが国内外で法定伝染病に指定されている牛肺疫 (Contagious bovine pleuropneumonia: CBPP) マイコプラズマである。その後、新たに分離されたマイコプラズマは、牛胸膜肺炎菌と類似した微生物「pleuropneumonia-like organisms: PPLO」と呼称された。

20世紀に入ると各種脊椎動物から多種のPPLOが分離され、1955年、FreundtはこれまでPPLOと呼んだものを「マイコプラズマ目」とし、牛肺疫菌を *Mycoplasma mycoides* とすることを提唱した。1967年には、「マイコプラズマ目」を栄養要求性や生化学性状等の異同から分類整理を行った。すなわち、それまでの「マイコプラズマ目」を「*Mollicutes* 綱」に格上げし、その下にいくつかの目で分類した。一般的に「マイコプラズマ」=「*Mollicutes*」であり、狭義の「マイコプラズマ」は「マイコプラズマ属」を意味する。

マイコプラズマ (*Mollicutes*) は細胞壁を欠いた原核生物門 (*Tenericutes*) に分類される。*Mollicutes* (Mollis: 柔らかい、cutis: 皮膚) は所

属不明の1目を含む5目、5科、9属に分類されている。菌種数は230種以上あり、うち *Mycoplasma* 属は約180菌種を占め、ひとつの属として最多の菌種数である。

(補足説明)

Mollicutes 内の分類は昆虫と植物を宿主とするものを *Entomoplasma* 目 (科) とし、脊椎動物を宿主とするものがそれ以外の目 (科) となる。ただし *Phytoplasma* 属は昆虫と植物を宿主とするが暫定的な分類として目としている。*Entomoplasma* 目は形態 (ラセン状) とステロール要求性の有無で3属に分類される。*Mycoplasma* 目と *Acholeplasma* 目はステロール要求性と尿素分解性で *Mycoplasma* 属、*Ureaplasma* 属および *Acholeplasma* 属に分類される。*Anaeroplasma* 目は偏性嫌気性で、ステロール要求性の有無で *Anaeroplasma* と *Asteroplasma* の2属に分類されており反芻獣の第一胃の非病原性常在菌と考えられているがほとんど研究されていない。

一方、2002年にはリケッチア目アナプラズマ科に分類されていた *Haemobartonella* 属と *Eperythrozoon* 属が遺伝子の相似性からマイコプラズマ属に編入された。*Mollicutes* の分類は形態、発育性状、栄養要求性等の生化学性状および血清学的性状で行なわれてきたが、これらに加え、近年ではリボソームRNAとDNAジャイレースをコードする遺伝子の解析 (遺伝系統解析) も有力な手法として取り入れられている。

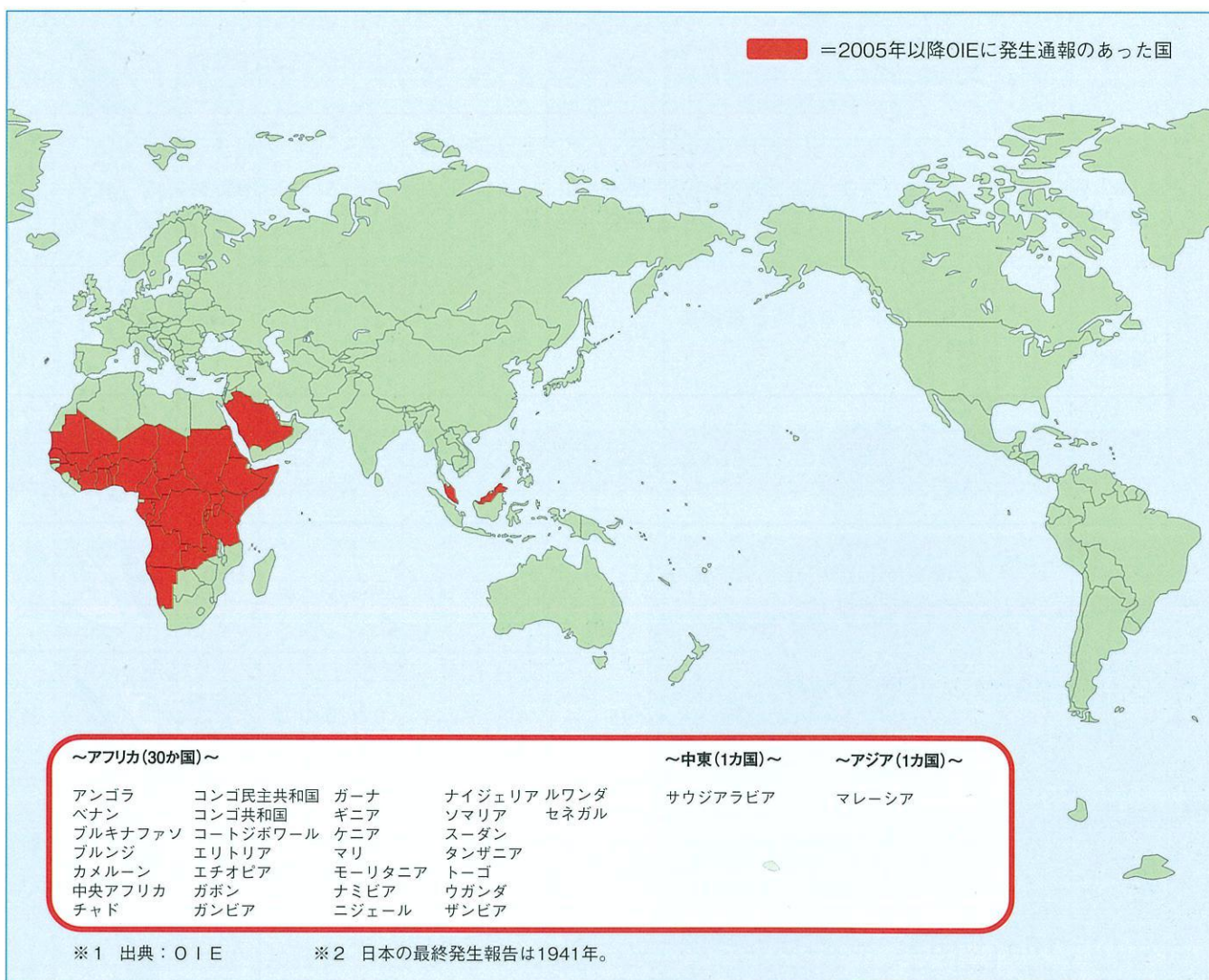
なお、半数近くのマイコプラズマに病原性が認められているが、動物と人に病原性が確認されているのは *Mycoplasma* 属、*Ureaplasma* 属および *Acholeplasma* 属菌種の一部である。

2. 国内外における牛肺疫発生履歴

現在までに海外における正確な発生報告は不明であるが、少なくともヨーロッパ諸国、アフリカ、中東、西アジア、東南アジア、東アジア、オーストラリア等、南北アメリカを除く全世界で発生がみられたと推測される。2005年以降でOIEに発生通報のあった国はアフリカ30カ国、中東でサウジアラビア、アジアではマレーシアがある。オーストラリアは1973年に清浄化宣言をしている(図1)。

我が国の流行は1924年に大連から輸入した蒙古牛によるものが最初である。翌年までの2年間に2

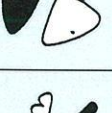
府10県に拡がり234頭が発症し、疑似患畜2,094頭と共に殺処分された。殺処分に対する農民の激しい抵抗もあり、防疫史上特筆すべき緊急勅令の公布という極めて異例の措置がとられた。損害額は当時の金で220万円に及んだ。2回目の発生は1929年朝鮮牛の移入により265頭が感染した。3回目は1940～1941年に朝鮮半島経由で朝鮮牛の侵入があったが早期発見により損害は少なかった。これを最後に国内発生はない(表1)。



(図出典：農林水産省ホームページ)

図1 牛肺疫の発生状況 (2012年11月19日現在)

表 1 牛肺疫自然感染牛の検査成績 (1941 年の流行)

病 牛		稟告と臨床症状			CF 血清反応 (1≦で陽性)								転帰 日/月	肺炎所見	
畜主	発生地	T：体温	A：呼吸数	P：脈数	採血 日/月	血清希釈倍数								病変部位	病変
						10	20	50	100	250	500	1000			
A	千葉県 松戸と 畜場	T39.2	4月4日異常を認め、翌日鼓張症 と下痢のためと畜場に出す		15/4	4	4	4	4	4	4	2	と殺 15/4		新
B	〃 土村	T40.8 A60 P90	4月19日より異常を認む		21/4	4	4	4	4	2	1	1	鑑定殺 22/4		新
C	〃 府馬町	T41.0 A60 P90	3月17日異常を認め、4月24日の 検診においては、食欲不振、軽 い咳および血液を混ぜた下痢便 をみる。4月21日に子牛を分娩し、 この血液及び臓器は諸検査陰性		24/4	4	4	4	4	2	1	0	死亡 25/4		新
D	〃 八木町	T39.8 A26 P72	4月25日の検診において、左肺後 葉肺泡音聞こえず、季肋部圧痛 あり、下痢、歩行やや困難		25/4	4	4	4	4	3	3	1	鑑定殺 26/4		新
E	〃 鎌ヶ谷	T39.4	栄養良好、一般症状異常なし		27/4 29/4	0 2	0 2	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0	鑑定殺 29/4		新
F	〃 松戸と 畜場		元気食欲不振のためと畜場に出す		30/4	4	4	4	4	4	4	3	と殺 30/4		新
G	長野県 洗馬村	T40.1 A45 P86	5月3日の検診において、元気食 欲なく左右胸側打診により疼痛 あり		4/5	4	4	4	4	3	1	0	鑑定殺 5/5		新
H	香川県 桑山村		5月28日ごろより元気食欲不振、 6月4日未明急死		27/5	1	1	0	0	0	0	0	死亡 4/6		やや古
I	千葉県 水治町	T41.0 A58 P64	元気食欲不振、瘦削著しく、横 臥を好まず、5～10分間隔で発 咳あり		26/5	4	4	3	1	0	0	0	鑑定殺 31/5		新
J	山口県 長穂村	T39.0	一般状態正常、左肺上部気管支 音粗励で、下部は聞こえず打診 により疼痛あり		5/5 31/5 10/6	0 4 4	0 4 4	0 4 4	0 1 4	0 0 4	0 0 4	0 0 3	死亡 14/6		新
K	香川県 山田村	T41.5 A19 P50	6月23日より元気なく、8日の検 診において咳と左肺にラッセル 音を聞く		28/6 3/7	0 4	0 4	0 4	0 4	0 3	0 2	0 1	死亡 3/7		新
L	岡山県 連島村	T41.7 A60 P90	7月10日の検診時異常なし、同23 日に2～3回続く連続性の咳と右 肺中後葉にラッセル音と摩擦音を きく、左肺気泡音粗励で圧痛あり		9/5 19/5 24/7	0 0 4	0 0 4	0 0 4	0 0 3	0 0 1	0 0 0	0 0 0	死亡 26/7		新

(注) 現地家畜防疫員の報告による (稟告と臨床症状)。

(表1の補足解説)

1. 表1は、我が国3回目発生時の個体別検査成績(1941年の流行)を掲載したものである。このときの本病のまん延は、主として病牛の咳によるものと考えられている。そして潜伏期間が長い(31～45日)ので、発病するまでには牛の移動も加わり、二次、ときには三次の接触感染が起こり、かなりの広い地域が汚染してしまった。1940年から1941年にかけての流行でも、朝鮮牛が本病の潜伏期中に門司検疫所を通過し、第一の系統は解放15日後に発病し、切迫と殺のため、と畜場での解体時に(表中A)、第二の系統は52日後に発病し血清診断によって発見された。さらに、移入汚染牛によって濃厚汚染していた家畜商の畜舎に、たまたま2日間だけ繋留された在来牛が、その後45日と55日目(表中F、I)にそれぞれ発病し、明確な二次感染例が確認された。

2. 1941年我が国における最終発生牛のCF成績と肺炎所見について。

急性型の全てがCF試験で強陽性を示した。表1のKのように初採血では陰性だったものが5日後には強陽性にまで力価が上昇する事例もあった。

また、表1のHの牛のように、陰性であったものが、8日後の死亡時には既に片肺のほとんどが侵され、病期の進行の極めて早いことがわかる。

CF試験でもまれに感染牛でないのに、他のマイコプラズマと共通抗原を持つため、疑陽性または陽性反応を示す牛があることが確認されている。わが国のような清浄国では、たとえCF試験で陽性を示しても直ちに感染牛と断定せず、疫学調査を十分行くと共に、必要に応じて鑑定殺を行い病変の有無と菌分離検査をしてから最終判定を下すべきである。

3. 牛肺疫病原体

(1) 生物学的特徴

牛肺疫の病原体は「*Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*」と呼ばれるマイコプラズマの一種*である。人工培地に発育可能な最小の無細胞壁の原核生物のひとつであり、ペニシリンに耐性である。菌形は球状、球桿状を呈する(図2)ことが多いが、フィラメント状など様々な多形性を示すこともある。大きさは球状のもので $0.2 \sim 0.8 \mu\text{m}$ 、フィラメント状のものは $150 \mu\text{m}$ にも及ぶ。体積比でみると大腸菌の1/10以下で孔径 $0.45 \mu\text{m}$ のメンブランフィルターを通過する。再生・増殖するための最小粒子(最小発育体という)の直径は $0.2 \sim 0.3 \mu\text{m}$ である。細胞表面は脂質と蛋白質に富んだ厚さ約10 nmの3層の細胞膜で覆われている。

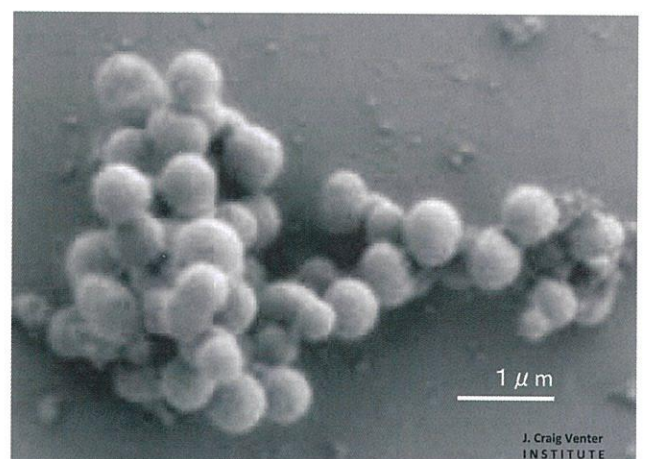


図2 牛肺疫菌 (*M. mycoides* subsp. *mycoides*) の走査電顕像

注(*)：この菌種は2種の生物型、SC型(牛肺疫菌)とLC型(山羊伝染性無乳症菌)が定義されていたが、2012年6月をもってLC型が*M. mycoides* subsp. *capri*に編入されたため生物型の定義が解消された。

細胞膜重量は乾燥菌体の35%を占める。乾燥に比較的強いのはこれらの構造による。細胞膜外層に粘液層や莢膜様物質を有し、宿主の免疫寛容性に関与する。細胞質は無構造で核酸類とリボソームの他は小器官が認められない。ゲノムは環状2本鎖DNAで、サイズは約120 kbとマイコプラズマの中では最も大きな部類である（大腸菌の約1/3）が、生命維持に必要な最小限の遺伝子しか保有しない。ゲノムのGC含量は26%で真性細菌の中で特に低い。3種類ある停止コドンのうち「UGA」をトリプトファンの遺伝暗号としている。真性細菌であるので二分裂増殖するが、代謝活性が乏しく細胞質の造製がDNAの複製より遅れるため、分裂前に複数のゲノムDNAが伸長した細胞内に存在するためフィラメント状を示すことが多い。莢に包まれたインゲンマメ（豆の部分）がゲノムDNAの様相である。次いで豆間の細胞質がくびれ球（桿）状に分かれる。至適条件で培養した寒天培地上の集落は直径1 mm前後まで成長する。実体顕微鏡で観察すると目玉焼き状が確認できる（図3）。目玉焼きの「黄身」の部分は集落の中央部分が寒天培地内部に円錐状に侵入したもので、この部分をnippleとよぶ。クエン酸回路やチトクローム系等を欠くなど、あまり多くの代謝系をもたないため生化学性状に乏しい。従って、生化学性状のみで菌種同定はできない。牛肺疫マイコプラズマに共通な安定した鑑別性状試験に供試されるものは、ブドウ糖(+)、アルギニン(-)

および尿素の分解性(-)、テトラゾリウム塩還元性(+)やフォスファターゼ活性(-)程度である。

(2) 血清学的特徴

マイコプラズマは特異抗血清により代謝や発育が阻止される特徴がある。つまり、ある菌種を抗原として作製した抗血清に反応する菌株は、抗血清の作製に用いた菌種と同一である。いいかえれば、マイコプラズマは1菌種1血清型である。この特徴を利用することで分離株の菌種同定を行う。血清学的試験方法には代謝阻止試験、発育阻止試験、蛍光抗体法等がある。抗血清を用いて分離株を同定するのと対照的に、既知抗原を用いて動物から採取した血清の抗体価も測定可能である。

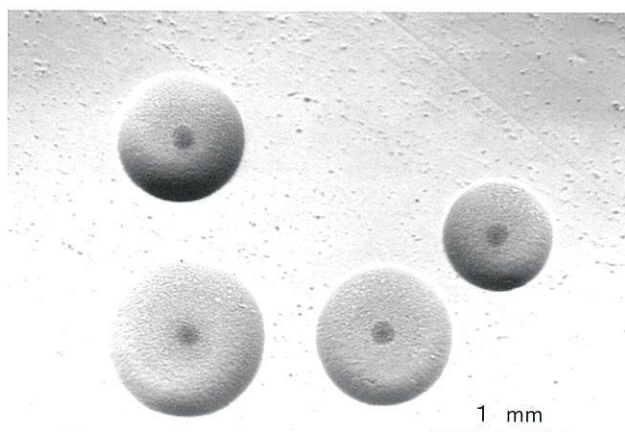


図3 牛肺疫菌(*M. mycoides* subsp. *mycoides*)の寒天平板上コロニー
(PPLO 寒天培地 5%CO₂, 37°C, 72 時間培養)

4. 感染環

牛肺疫の感染環としては、感染牛との接触や飛沫吸入による気道感染が一般的である。発症牛の鼻汁や気管粘液には多量の病原体が含まれ、発咳により飛沫となるため集団における伝染力は極めて高い（図4）。牛肺疫菌の病原性や宿主

の免疫応答については未解明部分が多く、これは菌株による抗原の多様性や宿主の免疫学的な個体差など多くの要因が絡んでいるからである。これらの理由により有効なワクチン開発が困難となっている。

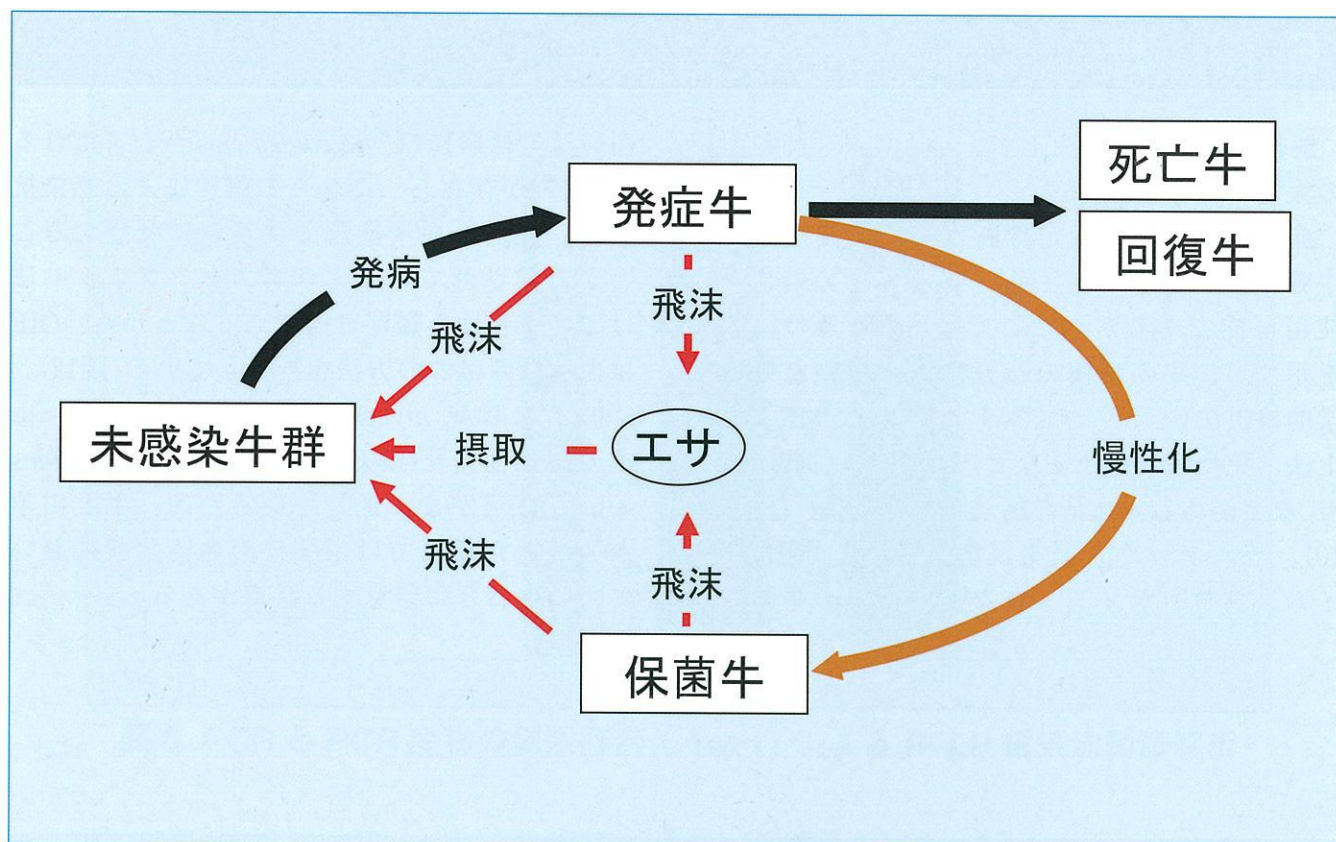


図4 牛肺疫の感染環

5. 症 状

(1) 甚急性症状

急性症状が急性経過で現れるもので、滲出性の心外膜炎による胸膜癒着がおこり、急性時にみられる典型的な呼吸器症状を呈し1週間以内に死亡する。

(2) 急性症状

牛肺疫の初期症状は他の重篤な胸膜肺炎と区別できない。罹患動物は元気消失、食欲不振、反芻不順、緩慢な発熱ならびに呼吸器症状を呈する。続いて、乾性の連続的な発咳がはじまり、体温は時に40～42℃まで上昇する。肺炎病変が広がるにつれ症状は悪化し、背中を弓状に曲げ、首を伸長させ、開脚して起立不能となる。

このような典型的な症状は子牛で顕著に現れる。子牛では心内膜炎、弁膜炎、心筋炎を伴うことが多い。

(3) 亜急性・慢性症状

臨床症状は乏しく、負荷をかけたときに軽い発咳がみられる程度である。数ヶ月間にわたり感染持続し、その間に感染を拡げる。このタイプでの死亡率はアフリカで10～70%、ヨーロッパでは2～3%と大きく異なる。これは家畜の健康状態、飼養環境やエサの栄養、ストレスなどの違いに加え、それぞれの地域に流行する菌株の病原性の差異によるものと考えられている。

6. 診 断

解剖時の肉眼診断として、いわゆる「肺割面の大理石紋様」がある。

抗原検出による確定診断は肺病変部からの牛肺疫菌の分離同定（図5：ほとんどの培地が使用可能であるが、ここではBHL培地の組成を示す。）、牛肺疫菌の特異抗体を用いた免疫学的検出法（イムノバインディング法、MFドット法、免疫病理染色法など）、PCR法（図6、7、8）などがある。血清診断法にはCF試験（図9、10）、ラッセックス凝集反応、ELISA（図11）、イムノプロットティング法などがある。牛肺疫

菌には近縁菌種（*M. mycoides* clusterとよばれる6菌種）が存在し、これらの菌種による感染抗体は一般的な血清診断では互いに交差することが確認されている。ウェスタンブロット法はこの交差性を鑑別可能であることから、OIEは血清診断にこの方法を推奨している（図12）。

日本には*M. mycoides* clusterのひとつ、山羊の伝染性無乳症の原因菌である*M. mycoides* subsp. *capri*がまん延しているため、牛と山羊が同居した農場では牛肺疫の血清診断において、このことに留意する必要がある。

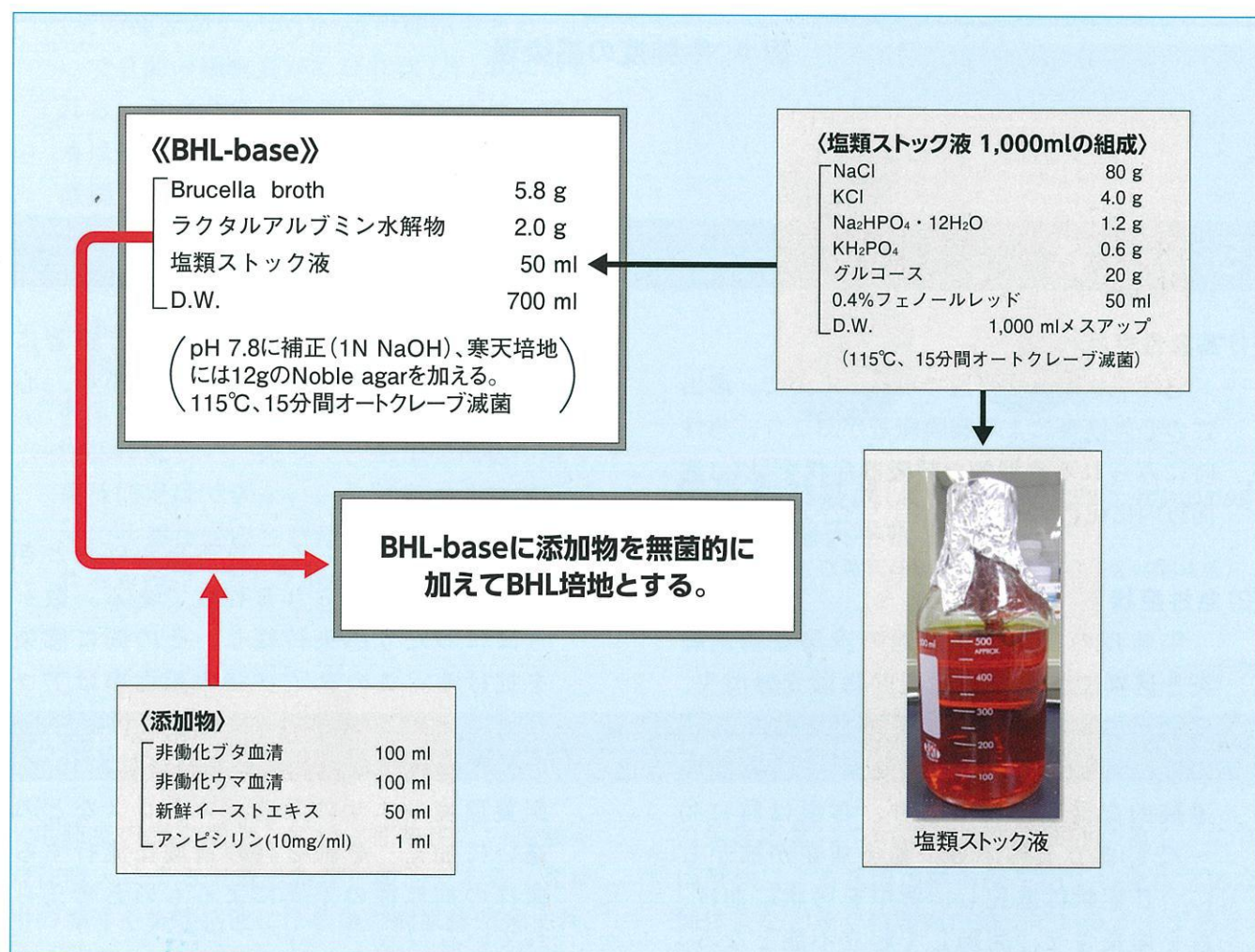


図5 牛肺疫や牛由来マイコプラズマが分離可能な BHL 培地とその組成

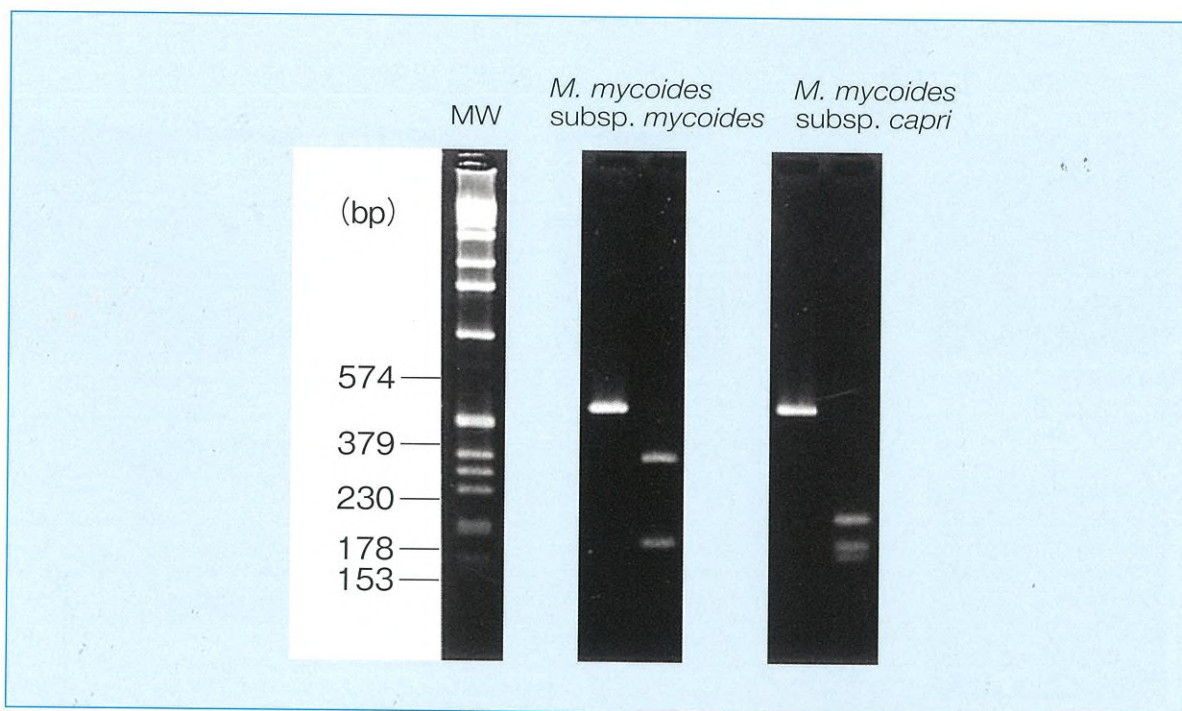


図6 PCR と PCR 産物の制限酵素 (*Asn* I) による RFLP 電気泳動像解析

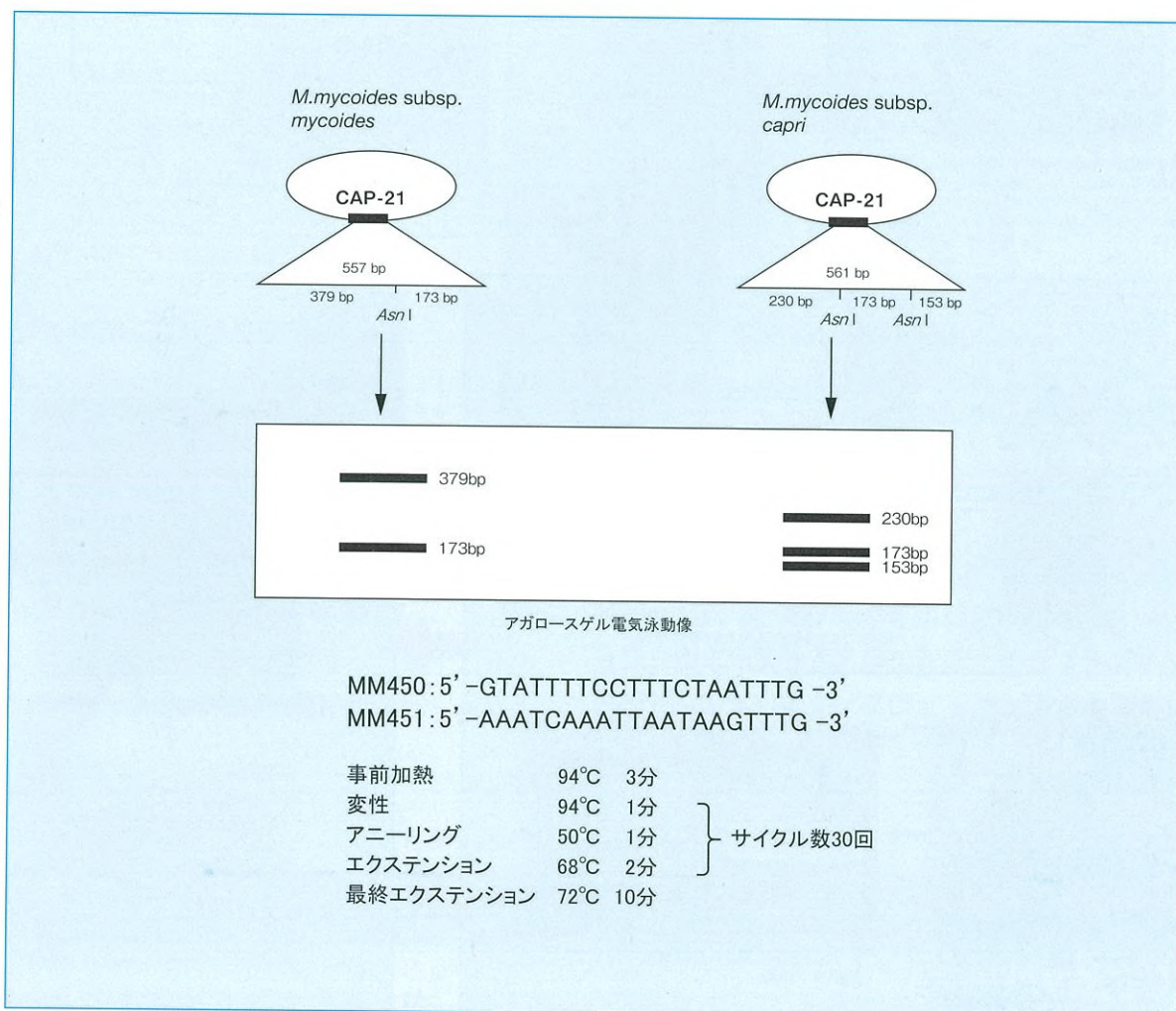
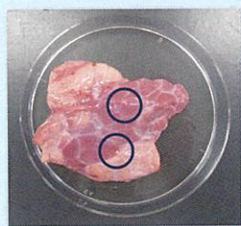
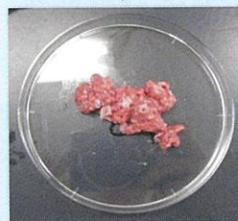


図7 牛肺疫マイコプラズマ同定のための PCR と PCR 産物の RFLP 解析法

① 病変部組織の切り出し処置



病変部と正常部分を切り出し、100%エタノールで表面を殺菌してキムタオルで軽く押さえてエタノールを除き、シャーレに入れる。



病変部(病変部との境界)を1cm角に切り出し、滅菌したハサミで細かく切り刻む。

② 病変組織検査の前処置等



ストマッカー用袋に肺1gとBHL-baseを9 ml入れ、ストマッカーで60秒処理する。



上清1mlをInstaGene処理し、PCR templateを作製する。
上清の一部は培養用に採取する。
残りの上清は-80℃に保存する。

直接平板培養



③ 階段希釈増菌培養



BHL-broth



BHL-brothを滅菌小試に2.5mlずつ分注する。
1検体につき6段階まで希釈増菌培養



肺のストマッカー上清液を100μlずつ
階段希釈する。



シリコン栓を滅菌ゴム栓に変えて37℃で2
週間まで培養。

④ 増菌培養から寒天培地への継代



BHL寒天培地

図8 牛肺疫菌 (*M. mycoides* subsp. *mycoides*) の分離手順と PCR 材料の作製方法



図9 試験管法用に調整されたCF抗原
(農研機構販売)



図10 CF試験の実際：試験管法(上)
とマイクロプレート法(下)



図11 OIEの推奨する牛肺疫
競合 ELISA キット
(800 検体検査用)

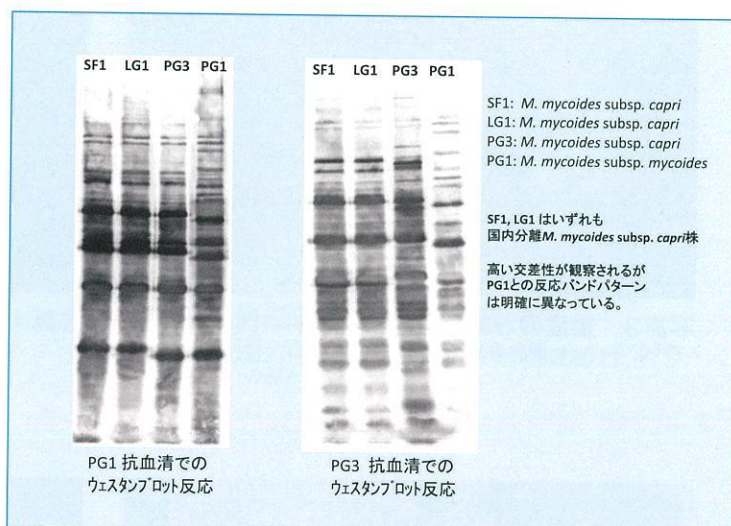


図12 *Mycoides* clusterのうち牛肺疫菌(PG1株)と最も
近縁な山羊伝染性無乳症の起因マイコプラズマ(PG3
株等)間のウェスタンブロット法による血清反応

7. 治療・予防

海外の牛肺疫多発地域の農場では、大量の抗菌薬剤を長期間使用して発生を低減化した報告があるが、我が国では治療は行わず罹患

牛はすべて淘汰することとされている。牛肺疫清浄国における本病の予防は国内侵入を防ぐことに尽きる。

牛肺疫の写真集



写真1 重度の呼吸困難を示す子牛
(頭頸部の伸長、前膝を伸ばし開脚姿勢を示した努力呼吸)



写真2 呼吸困難を示す子牛



写真3 重度の呼吸困難を示す成牛
(頭頸部の伸長、開脚姿勢を示し、鼻孔を拡げ努力呼吸)



写真4 急性型牛肺疫にみられた子牛の関節腫脹
(若齢牛にみられる傾向があり、跛行、疼痛を示す。)

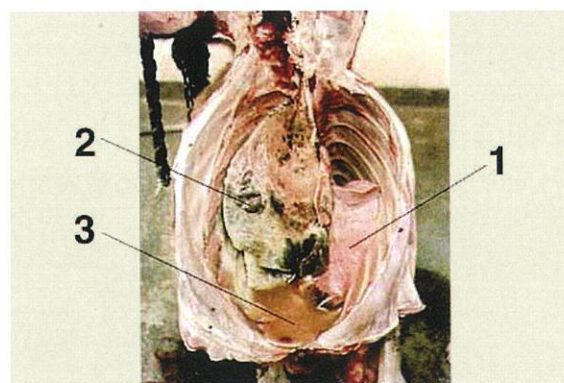


写真5 早期の牛肺疫にみられた胸腔異常
(1: 右肺は正常、2: 左肺の表面は黄色のフィブリン、
3: 胸腔内は黄色の胸水が貯留)



写真6 死亡後の特徴的な胸腔
(肺の一部にオムレツ様のフィブリンが重度に癒着)

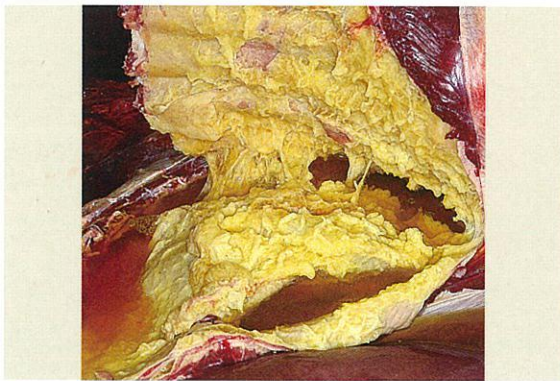


写真7 胸腔所見
(重度のフィブリン癒着)

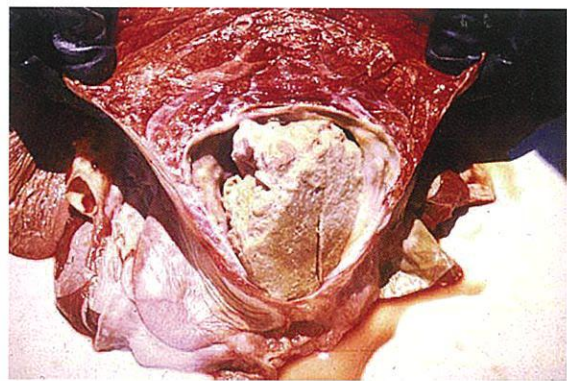


写真8 慢性型牛肺疫にみられた壊死病変
(チーズ様物塊)
(牛肺疫の慢性例ではしばしば、このような病変がみられる。)



写真9 胸腔病変
(大量の胸水貯留)

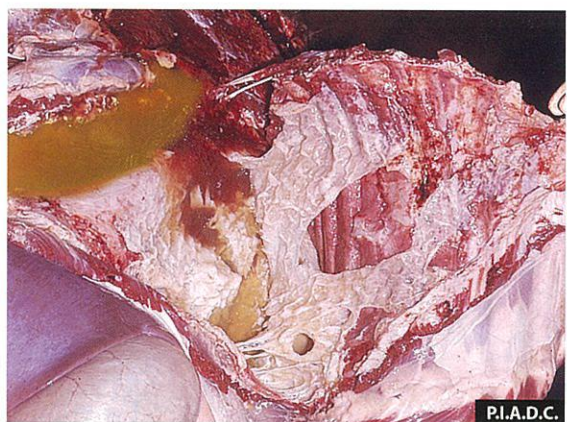


写真10 胸腔の病変(肋骨と胸膜部)
(厚いフィブリン層が肋骨と胸膜を覆い、ムギワラ色の胸水が貯留)



写真11 胸腔の病変
(ムギワラ色の胸水貯留)

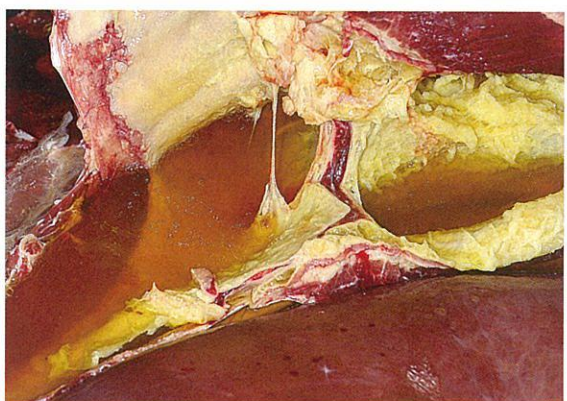


写真12 胸腔の病変
(大量の胸水貯留)

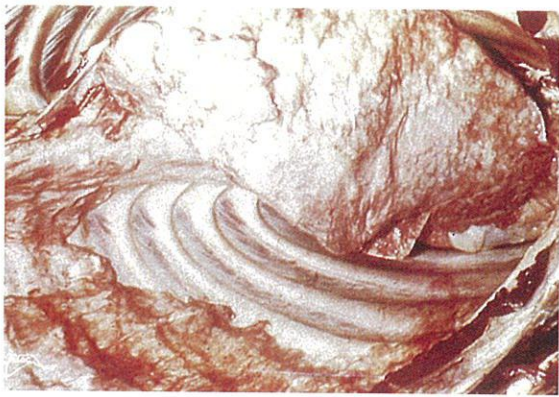


写真13 胸腔の病変
(左肺の一側性感染を伴う胸膜炎)

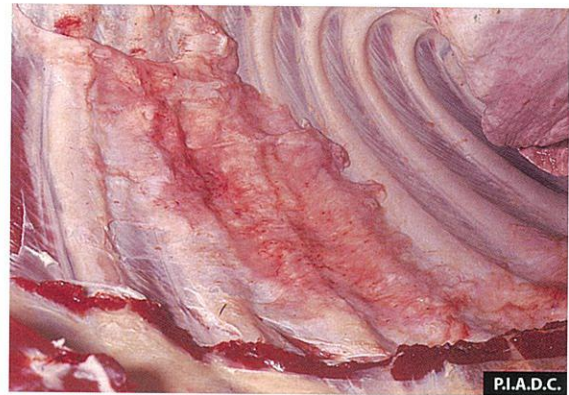


写真14 胸腔の病変(写真13左下部の拡大)
(胸壁に増生した線維組織が密着)

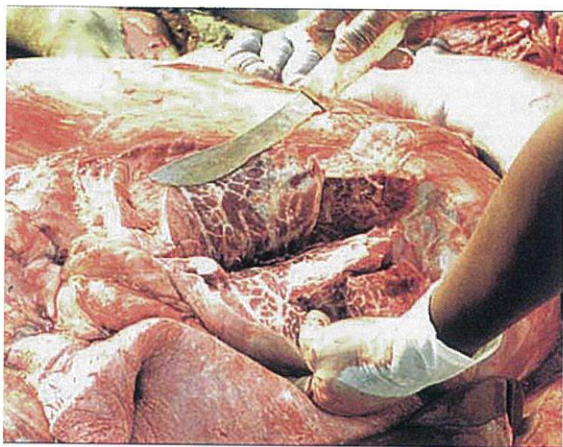


写真15 肺の病変(大理石紋様)

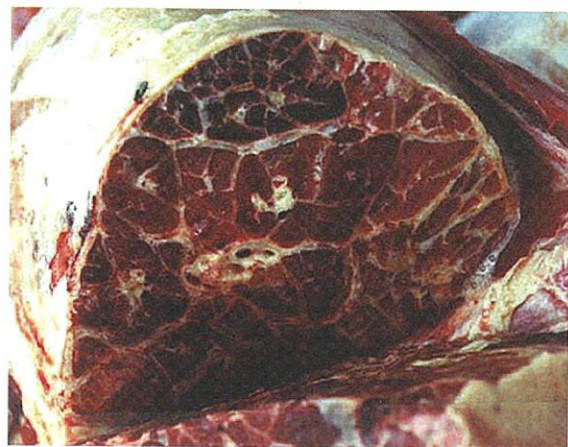


写真16 肺の大理石紋様



写真17 肺の大理石紋様

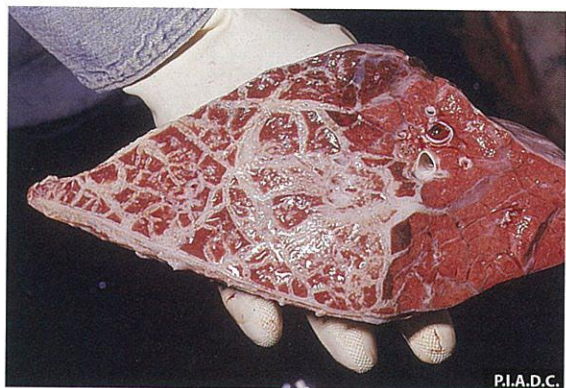


写真18 肺の大理石紋様
(左側肺はフィブリン性の結合組織増生、小葉間質の線維性肥厚)

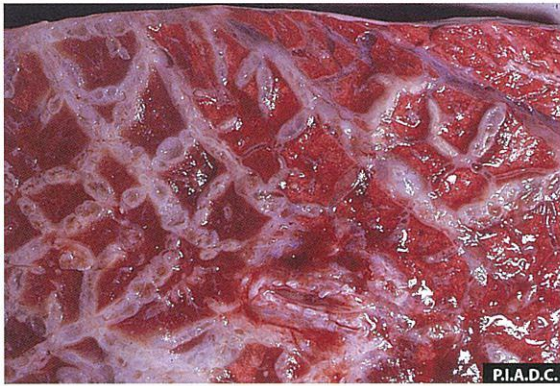


写真19 大理石紋様の拡大像
(小葉間の著しい線維性肥厚)

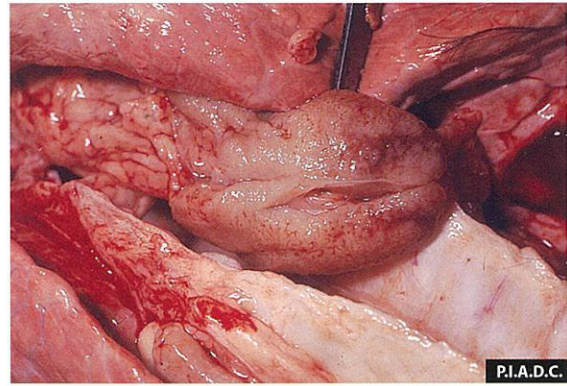


写真20 気管支リンパ節の出血と肥大



写真21 心外膜の出血

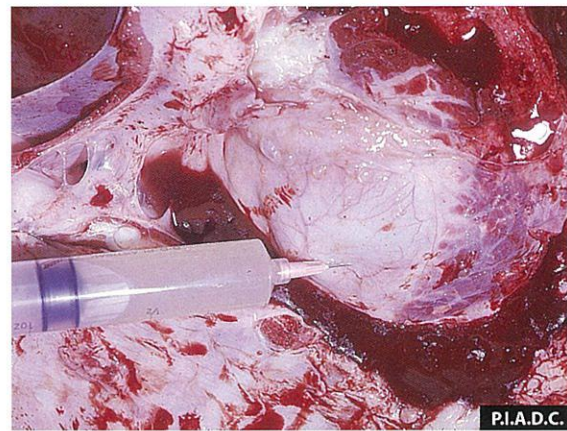


写真22 心嚢水の貯留

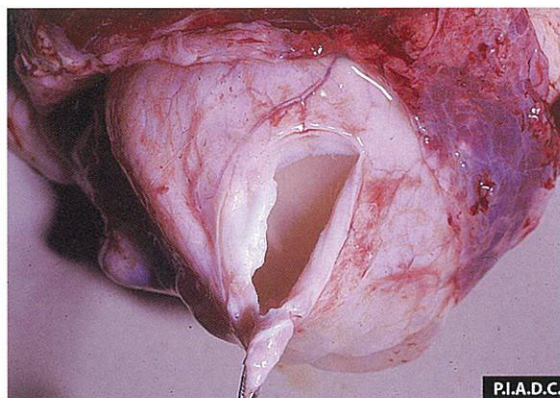


写真23 心膜の著しい肥厚
(淡褐色の混濁した心嚢水が貯留)

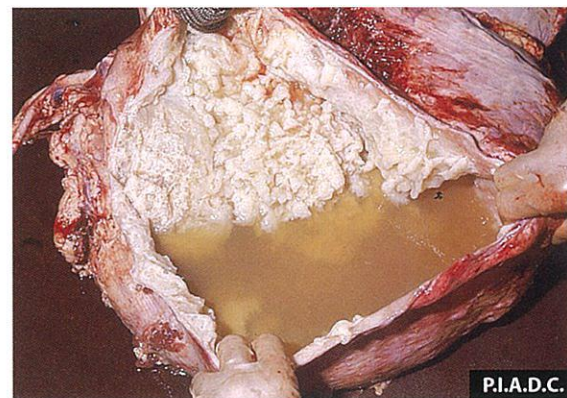


写真24 心膜切開像
(混濁した淡褐色の心嚢水が大量貯留)

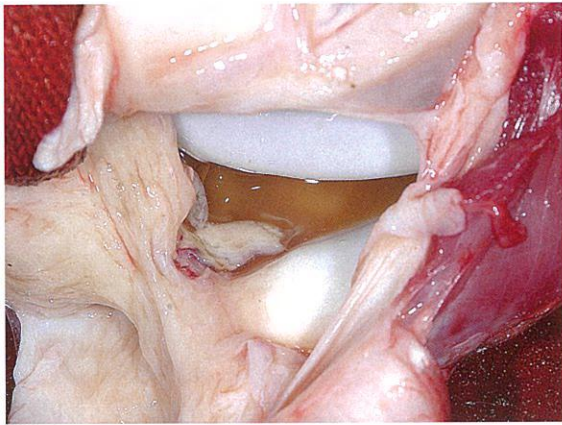


写真25 関節包の切開像の拡大
(滑液の著しい増量)

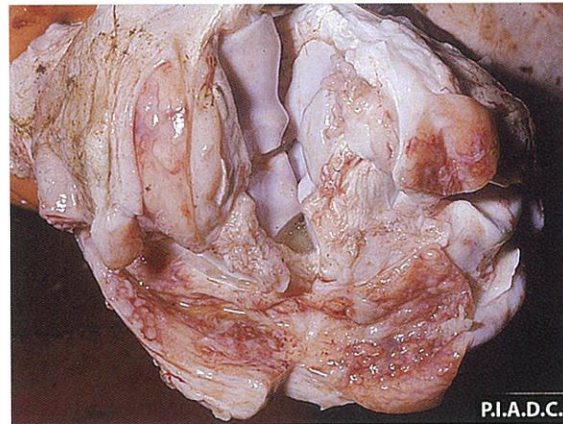


写真26 手根関節包の切開像
(腱鞘は著しく肥厚しフィブリンに覆われ、滑液は増量)

(牛肺疫の写真出典)

1. 写真1、3-6、8、15、16；FAO（国際連合食糧農業機関）の許可を得て掲載
 ※ <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4142E/y4142E00.pdf>
 ※ <http://www.fao.org/docrep/004/AC147E/AC147E00.HTM>
2. 写真10、14、18、19、20、22、23、24、26；CFSPH（the Center for Food Security & Public Health, Iowa State University）の許可を得て掲載（写真中の「P.I.A.D.C.」；Plum Island Animal Disease Center（USDA））
 ※ <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/clinical-signs-photos.php?name=contagious-bovinepleuropneumonia>
3. 写真11、13、21；公益社団法人日本獣医師会発行「図解 海外家畜疾病診断便覧」からの引用は在日米国大使館の許可を得て掲載
4. 写真2、7、9、12、17、25；Plum Island Animal Disease Center（USDA）のElizabeth D. Clark氏から写真提供を得て掲載

参 考

1. 国際獣疫事務局(OIE)の国際基準コード(2012 年秋検討)における推奨牛肺疫サーベイランス

牛肺疫 (CBPP) の診断ツールは特異性や経済的な理由から無制限に実施するわけにはいかないため、個々の動物ではなく群レベルの診断に用いるべきである。無作為化したサーベイランスは、その病気が小さな集団で起こっていたり、不均等分布した感染状況であったりした場合、疫学的には好ましいアプローチではないかもしれない。従って、ターゲットとする疾病のサーベイランスは、例えば、感染増加の可能性のある特定の地域、鑑定殺家畜や特に重点的な臨床監視下にある家畜に焦点を当てて実施するのが最も適切といえる。牛肺疫を診断する家畜防疫員は牛肺疫の診断技術や疫学的背景を熟知したものが選ぶ必要がある。

ターゲットとする疾病のサーベイランスの対象は、母集団全体あるいは母集団の一部となる。後者の場合、サンプリングは疫学的に適切な種々の条件設定を組込む必要がある。試験に供するサンプルの大きさは疾病発生が前もって定義した最小率で生じた場合でも有意に統計処理できるだけの必要がある。なぜならサンプルの大きさおよび予想された罹患率は調査結果の信頼度を決定するからである。家畜防疫員はサーベイランスの目的および疫学的観点において、過去の経緯に基づいた

疫学状況により正当な条件設計の標準化および信頼水準の選択を行う必要がある。選択した診断試験方法はその特異性と感度により診断結果に最も影響を与える要因であり、理想的には完全な特異性と感度を兼ね備える試験法があればよりベターである。

採用したサーベイランスシステムに関係なく、診断試験は偽陽性反応の発生を予想するべきである。試験法の特異性が解っている場合、これらの偽陽性が生じる割合は前もって計算することができる。診断結果が感染を示しても示さなくても、より高いレベルの確信をもって判定できる必要があり、以降の診断法改良に有効でなくてはならない。これを実践するには、用いた診断試験以外にそれを補足する試験、臨床試験および鑑定殺検査などのフォローアップを含んでいるべきである。

(1) 臨床サーベイランス

臨床サーベイランスとは物理的接触のある群内の感受性動物においてCBPPの臨床症状を発見することを目的にしている。臨床検査は、臨床的により多くの感受性動物を検査するにつれ、疾病検知の信頼度が高くなり、CBPPサーベイランスの重要な因子といえる。

臨床サーベイランスと実験室試験はCBPP発生ステータスを明確にするため、常に併用されるべきであり、これらの相補的な診断のアプローチがよりサーベイランスの有用性を高める。実験室試験および解剖検査は臨床の疑いを確認するために寄与するかもしれない。その一方で臨床サーベイランスは、肯定的な血清学的検査の確認に寄与しているかもしれない。感染疑いのある動物のいかなるサンプルも検査結果が出るまでは罹患動物のものであると位置づける必要がある。

(2) 病理学的サーベイランス

病理学的サーベイランスはCBPP診断の最も有効なアプローチで、と畜場および他の鑑定殺施設で行なわれるべきである。病理所見からの確定診断は抗原の検出によって確認されるべきである。鑑定殺を行う者および食肉検査員のためのCBPP鑑定トレーニング・コースを設けることが推奨される。

(3) 血清学的試験

血清学的サーベイランスはCBPP診断のための好ましい手段とはいえない。しかしながら、疫学的調

査のフレームワークの中のひとつとして、血清学的試験は使用されてもよいと考えられている。これは、個体レベルのCBPP診断を血清検査のみで実施するのは困難であるからで、群レベルの感染の有無の判断には有用といえる。血清の陽性結果は臨床・病理学的検査および抗原鑑定によってフォローアップされるべきである。血清陽性反応の動物群ではCBPPの伝染まん延が容易に想像されるに違いないし、臨床症状を通常伴う。血清反応陽性の確認された動物の群は伝染性を考慮してその群全ての動物をサーベイランスの対象として組み入れられるべきである。CBPPに感染した群の病性鑑定に続いて、その群と接触のあった群は全て血清学的試験をする必要がある。群の感染状況を確認のもてる水準まで上げるためには繰返しの試験が必要である。

(4) 病原体サーベイランス

病原体サーベイランスは「Terrestrial Manual」に述べられた手法に従って実施し、疑似患畜の診断を行うべきである。分離病原体は *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* に型別される。

2. 牛のマイコプラズマ感染症

臨床現場でみられる牛の主たるマイコプラズマ感染症としては、呼吸器病（肺炎（Bovine respiratory disease complex；BRDC））、中耳炎、関節炎及び乳房炎の4疾病が挙げられる。

(1) 呼吸器病

*Mycoplasma bovis*のほか*M. dispar*や*Ureaplasma diversum*などが関与し、若齢牛（哺乳子牛や育成牛）を中心に、大規模、群飼育農場で多発する。野外例の多くはマイコプラズマ単独感染ではなく、パストレラやマンヘミア、呼吸器病ウイルスなど他の病原体との混合感染であり、マイコプラズマは症状の増悪や病態の慢性化に関わっていると推察される。

マイコプラズマ感染と診断できる特徴的な呼吸器症状がないことから、通常は予後不良となった症例の解剖所見や菌分離成績などにより同菌の関与が確認される。

治療には、タイロシンやエリスロマイシンなどのマクロライド系、テトラサイクリン系、フルオロキノロン系などの抗菌剤が有効とされているが、近年は日本を含む世界各国でさまざまな薬剤に対する低感受性あるいは耐性化が報告されている。一方、ニューマクロライド系のチルミコシンに対する薬剤感受性の低下も確認されているが、現在のところ臨床的には群飼育における予防的効果が数多く報告されている。

(2) 中耳炎

*M. bovis*が主因とされているが、他の病原体も関与している可能性が高い。片側又は両側の耳介の下垂が特徴的であり、耳漏がある場合には鼓膜が破れていることが多い。初期症状は頭頸部を振る行動だが、ほとんどの場合、耳介の下垂で発見される。

症状進行により、眼瞼麻痺や咀嚼障害、斜頸などを示すが、鼓室腔に貯留した膿汁が周囲の神経や血管を圧迫するために生じる神経症状であり、炎症が脳に波及すれば脳炎に至り死亡する。

一般に、呼吸器症状を伴うことが多く、耐過した個体では著しい発育障害が認められる。治療および予防に関しては呼吸器病と同様だが、発症初期に生理食塩水などで外耳から鼻腔に通じる耳管（耳道）を洗浄することが有効であるといわれている。

(3) 関節炎

*M. bovis*が血行性に関節まで到達し炎症を惹起すると推察されている。

臨床的には腕関節など四肢の関節が腫脹し、関節周囲炎とは異なる著しい疼痛および運動障害が認められる。

抗菌剤の全身投与では著効がみられず、慢性化することが多い。臨床症状のみではマイコプラズマ性関節炎と診断することは困難であり、確定診断には関節液の細菌学的検査が必要である。

(4) 乳房炎

欧米では以前から報告されていたが、近年、我が国においても北海道の大規模酪農場で問題となってきたほか、他の地域にも感染が徐々に広がっているものと推察される。*M. bovigenitalium* 及び *M. bovis* が原因と言われているが、抗菌剤治療にはほとんど反応しない。

臨床所見は乳性状の異常や乳房の腫脹および硬結など他の病原体による場合と大きな差はなく、臨床的にマイコプラズマ性乳房炎と診断することは難しい。臨床現場で汎用されているβラクタム系抗菌剤（乳房内注入薬）による治療効果が得られないような農場では、マイコプラズマ感染を疑って早期に確定診断することが望まれる。現在ではPCR法による迅速な診断が可能となったことから、感染が確認された場合にはまん延防止のための速やかな対応（積極的な淘汰）が重要となる。

(5) *Mycoplasma bovis* が関与した感染症

現場で遭遇する機会が多い牛呼吸器症はウイルスや細菌、マイコプラズマが複合感染している場合が多いため、臨床症状のみからマイコプラズマの関与を特定することは不可能である。

現在、PCR法を活用してマイコプラズマの存在を確認することは容易であるが、その分離培養は一般細菌に比べて、分離培地の調整がやや煩雑であるため敬遠されることが多い。マイコプラズマが分離されてはじめて、有効な抗生物質の選択が可能になるため、その関与を疑う場合、分離培養は必須である。



①マイコプラズマが関与した子牛の呼吸器症

肺は胸壁と癒着しており、前葉から中葉にかけて病変部は硬化し、健康部との境界が明瞭な肝変化を呈し、白色円形の膿瘍も多数観察された。

病変部の細菌分離培養では、*Mycoplasma bovis*のほか*Mannheimia*

*haemolytica*が分離され、この他に*Pasteurella multocida*、*Streptococcus bovis*、*Arcanobacterium pyogenes*、*Mycoplasma bovirhinis*、*Mycoplasma alkalescens*などが共存していた(図13～16)。



図13 胸壁と肺の癒着

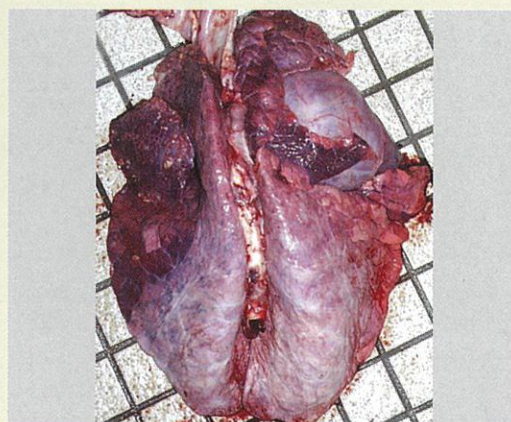


図14 肺の肝変化



図15 微小膿瘍の形成



図16 胸壁と肺の癒着及び膿瘍形成

② マイコプラズマが関与した肥育牛の呼吸器病

肺小葉間質の顕著な水腫性肥厚、いわゆる大理石紋様が確認された事例では、肺表面は厚い線維性被膜で覆われており、胸腔内面は肺や心臓と癒着し、肺断面からは大量の漿液が流出していた。

この事例では牛RSウイルスが関与しており、*Mycoplasma bovis*のほ

か*Histophilus somni*、*Mannheimia haemolytica*が分離された。

同居牛の鼻腔ぬぐい液からは*Mycoplasma bovis*のほか*Histophilus somni*、*Mannheimia haemolytica*、*Streptococcus bovis*が高率に分離された(図17a～c)。

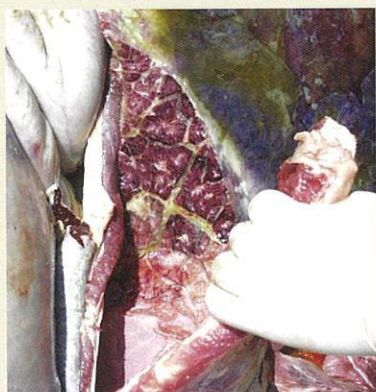


図17a 肺の大理石紋様



図17b 肺の大理石紋様



図17c 肺の大理石紋様

③ マイコプラズマが関与した中耳炎

呼吸器症に継続して、子牛の斜頸、耳介の下垂が観察された中耳炎などでは*Mycoplasma bovis*が共通して分離される傾向があり、一般細菌では*Arcanobacterium pyogenes*、

Staphylococcus spp.、*Streptococcus* spp.が分離された。

これらは発熱を伴い、呼吸器症状のほか、外耳道には粘稠性の浸出液が漏出し、外耳道から内耳、鼓室周囲に膿瘍を形成していた(図18～20)。



図18 耳介の下垂



図19 粘稠性の浸出液漏出



図20 鼓室周囲の膿瘍

④マイコプラズマ性乳房炎

経産牛から初産牛に拡散したマイコプラズマ性乳房炎では疼痛感を伴う乳房の腫脹、乳房上リンパ節の腫大、乳量の急激な減少が確認され、乳汁は細粒状の凝固物を含み、固形成分の分離が認められた。

乳汁の体細胞数は >700 万/ml、CMTテスト強陽性を示し、各分房乳から *Mycoplasma bovis* は $10^6 \sim 10^8$ CFU/mlが分離され、少数の *Staphylococcus*

spp.、*Arcanobacterium pyogens*が分離された。

剖検所見では乳房断面に凝乳塊や膿瘍、乳房上リンパ節の腫大が確認された(図21、22、23)。

剖検後、分離培養を行ったところ、心臓、腎臓、乳房上リンパ節、腸間膜リンパ節、腸骨下リンパ節、腸間膜リンパ節、鼠径リンパ節、膝関節腔液から共通して *Mycoplasma bovis*を分離した。

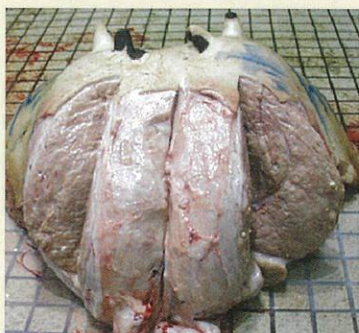


図21 凝乳塊の形成

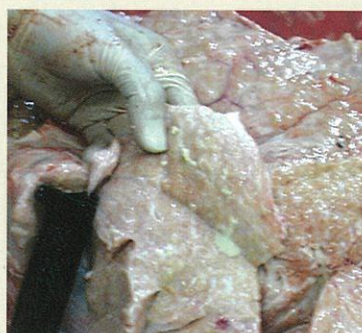


図22 微小膿瘍の形成



図23 乳房上リンパ節の腫大

⑤ *M. bovis*の人工培地での発育状況

図13～図23の材料から分離されたマイコプラズマ株の性状はグルコース分解性(-)、アルギニン水解性(-)、フィルム形

成(+)、*M. bovis*特異PCR(+)であったため、牛肺疫菌を否定した(図24～26)。



図24 *M. bovis*コロニー
(PLO寒天培地5%CO₂、37℃、72時間培養)



図25 *M. bovis*コロニー
(PLO寒天培地5%CO₂、37℃、120時間培養)

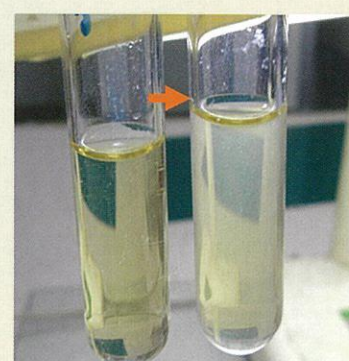


図26 液体培地での
*M. bovis*の発育
(PLOブロス、72時間培養)

3. 現場で分離頻度が高いマイコプラズマと牛肺疫菌の鑑別

現場で分離頻度が高いマイコプラズマと牛肺疫菌をコロニー形状だけで鑑別することはできないため、生化学的性状検査や血清学的診断等による鑑別が必要になる。牛肺疫菌はグルコース分解性(+)、アルギニン水解性(-)であるので、その性状が否定される場合、本菌ではないということになる。

る。最終判定は血清学的性状検査により同定を行う。

(参考) 生化学的性状検査の一例

グルコース分解性、アルギニン水解性試験は、培養前の培地色と培養後の培地の色調変化によって判定を行う(図27、28)。

(グルコース分解性)



図27 培養前→培養後
M. bovirhinis (+)

(アルギニン水解性)



図28 培養前→培養後
M. alkalescens (+)

4. 牛呼吸器症由来の主要マイコプラズマの特徴及び生化学的性状

牛の呼吸器症から分離される主要なマイコプラズマのうち、*M. bovirhinis*、*M. dispar*はグルコース分解性(+)、アルギニン水解性(-)、*M. alkalescens*、*M. arginini*グルコース分解性(-)、アルギニン水解性(+)であり、*M. bovis*、*M.*

bovigenitalium、*Ureaplasma diversum*はいずれも陰性である(図29～31)。

牛肺疫の原因菌である*M. mycoides* subsp. *mycoides*はグルコース分解性(+)、アルギニン水解性(-)の性状を示す。

「寒天培地での各種マイコプラズマの発育、5%CO₂、37℃ 72時間培養」

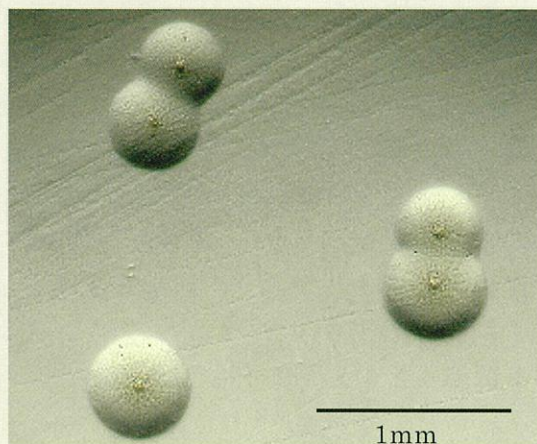


図29 *M. alkalescens* コロニー

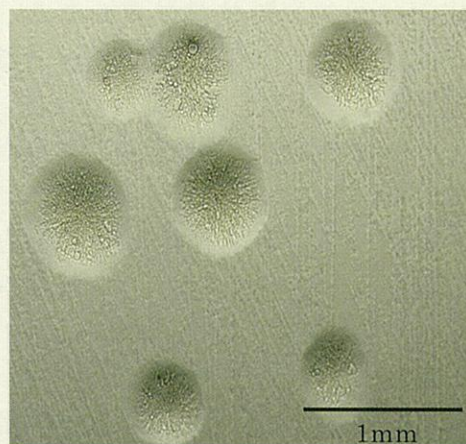


図30 *M. bovigenitalium* コロニー

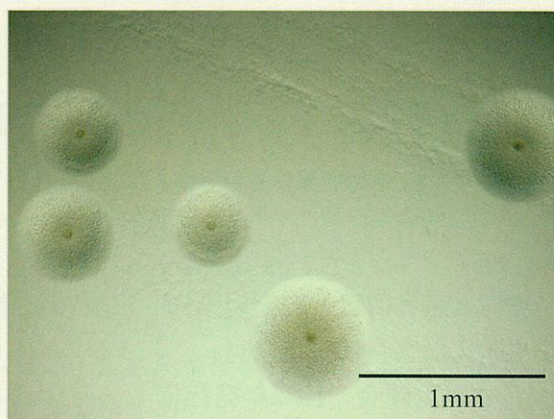


図31 *M. bovirhinis* コロニー

5. 類症鑑別（菌の鑑別は前出 3 を参照）

牛肺疫の診断は、同様の臨床症状や剖検所見を示す可能性のある他の感染症と本病を鑑別する必要がある、発生農場に飼養されている同居牛のうち、どの程度の割合で類似症状を呈するのか確認する必要がある。

牛肺疫の急性例では発熱や帯痛性の発咳、呼吸困難を示し、死亡牛または極期の病牛は胸膜肺炎の剖検所見を呈し、肺の表面は線維素性被膜で覆われる。また、耐過牛ではしばしば肋・胸膜と肺が強固な癒着を示す。肺の実質は炎症の進行に伴って赤褐色、黄褐色など多彩な肝変化小葉に正常な桃色部が混雑し、これらを包むように著大な水腫性拡張を示す間質がつらなって、あたかも「大理石紋様」の所見を呈する（写真15～19）。一方、耐過牛の肺実質は“sequestrum（壊死片：写真8）”とよばれる結核様結節が

形成され、灰黄色の泥状ないし乾酪様の内容を包含する。牛出血性敗血症、牛マイコプラズマ感染症、ヒストフィルス・ソムニ感染症、異物性肺炎のほか、牛伝染性気管炎、イバラキ病、牛流行熱などのウイルス感染症や、ウイルスと細菌が複合感染した呼吸器症では牛肺疫と類似する呼吸器症状や剖検所見を呈することがある。（写真17a～c）

また、結核病、アクチノバチルス症や膿瘍を形成する感染症は牛肺疫に類似する膿瘍や結節を形成することに留意する。

さらに、牛肺疫に罹患した若齢牛では呼吸器症状が無くとも、跛行や関節炎（写真4）を呈することがあり、同様の症状を示す牛肺疫菌以外のマイコプラズマによる関節炎との鑑別が必要である。

（写真提供）

1. 図2～11、27～31；独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
2. 図13～26；福岡県中央家畜保健衛生所

（参考文献）

1. 病性鑑定マニュアル第三版 農林水産省消費・安全局監修 平成20年発行
2. マイコプラズマとその実験法 近代出版 1988年発行
3. 図解 海外家畜疾病診断便覧 日本獣医師会 1985年発行
4. 牛病学 近代出版 1981年発行

執筆者
(五十音順)

尾川 寅太 (福岡県筑後家畜保健衛生所 技術主査)
加藤 敏英 (山形県農業共済組合連合会 中央家畜診療所 副所長)
小林 秀樹 (農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 動物疾病対策センター
生物学的製剤製造グループ 品質管理科長)
村上 洋介 (帝京科学大学生命環境学部アニマルサイエンス学科 教授)

写真提供

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
福岡県中央家畜保健衛生所
牛肺疫の写真提供は、別途本文中 15 頁に記載した。

民間産業動物獣医師防疫支援体制確立対策事業
(民間診療獣医師防疫支援技術向上事業)

発行

社団法人 中央畜産会

〒101-0021 東京都千代田区外神田2-16-2 第2ディーアイシービル9階

TEL. 03-6206-0832