

Streptococcus pluranimalium に起因する新生早産子牛の髄膜脳室炎

病性鑑定課

新生子牛の細菌性髄膜脳室炎は髄膜、脈絡叢および脳室壁の表面関連性炎症により特徴づけられる。*Escherichia coli* が本病の最も一般的な起因菌であるが、稀に *Pasteurella*, *Klebsiella oxytoca* および *Enterobacter cloacae* も関与する。*Streptococcus* 属菌も本病を引き起こすことが知られ、これまでに *S. pneumoniae* および *S. bovis* が報告されているが、*S. pluranimalium* と本病との関連を述べる報告はみあたらない。

S. pluranimalium は 1999 年に分類された連鎖球菌属の新しい菌種であり、牛および鳥類の病変あるいは正常な臓器から分離されている。すなわち、牛の潜在性乳房炎乳および雌性生殖器から、またカナリアの鶏痘病巣および肺から分離されている。しかし同菌の病原性は明らかにされていない。この報告では、*S. pluranimalium* の敗血性感染を伴う髄膜脳室炎に罹患した新生子牛の病理学的および細菌学的検査成績を述べる。

材料および方法

計 500 頭の黒毛和種成雌牛とそれらの子牛を飼養する農場で、1 頭の新生子牛が罹患した。同子牛は 2005 年 7 月に 252 日の胎齢時に娩出され、出生時の体重は 19kg であった。出生時より沈鬱、起立不能、反弓緊張、盲目より成る神経症状を示し、自力哺乳ができないことから初乳を経口的に投与された。1 日齢および 2 日齢時に抗生剤が投与されたが、症状の改善は得られず、5 日齢時に安楽死された。

病理学的検査: 剖検を行い、全身諸臓器から得た検査材料を 10% 緩衝ホルマリン液で固定して、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施して鏡検した。中枢神経系(CNS)および他の幾つかの組織にはグラム、PTAH およびアザン染色も施した。

細菌学的検査: 剖検時に得た脳、脳脊髄液および 5 臓器を 37 の好気性および嫌気性下で 48 時間培養した。好気性に 5% 羊血液加寒天培地を、嫌気性には 5% 卵黄加 GAM 寒天培地を用い、後者はガスパック法で培養した。

分離株を生化学的および分子学的に分析し、前者には市販キット(API 20 Strep, bioMerieux, フランス)を使用した。分離株の 16S rRNA 遺伝子(*E. coli* の配列番号 11 ~ 1544 に相当する領域)の断片をプライマー F2 および R13 を用いて PCR により増幅し、市販のシークエンスキットおよびシークエンサー(ともに Applied Biosystems, 米国)によりダイレクト・シークエンスを行った。得られた成績に近似する菌株を、NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)の BlastN program network service から得た DNA データベースで検索した。

成 績

病理学的検査成績: 剖検により、脳脊髄液は混濁および増量し、脳脊髄を被う広範な髄膜に鬱血、点状出血および混濁領域が観察された。側脳室から脊髄中心管に至る脳室系は拡張し、同変化は側脳室においてより顕著であった。多量の線維素性滲出物が脳室系の上衣層表面および脈絡叢の皺壁間に付着していた。脳室の上衣層表面は褪色して粗造であった。脳室系の前頭断面上、脳室上衣直下から深部の実質に波及する水腫層が観察され、その厚さは 1 ~ 4mm に及び、側脳室壁において重度であった。CNS 以外では肝臓に粟粒大の壊死巣が多発し、胸腺は萎縮していた。

主要な組織病変は CNS に存在し、線維素化膿性炎が髄膜、脈絡叢および脳室壁にみられ、後二者で重篤であった。同変化は脊髄の上衣層下の実質内にも及んでいた。髄膜には鬱血、囲管性出血、線維素性滲出物ならびにマクロファージ、好中球およびリンパ球の浸潤がみられた。全ての脈絡叢の上皮細胞が頻りに剥

離し、間質は鬱血および炎症細胞の浸潤により肥厚していた。

脳室系のほとんどの領域で、上衣細胞が多発巣状に剥離していた。上衣直下域には前述の炎症性変化に加えて、毛細血管の増生ならびに血管外膜とその周囲における膠原線維の軽度な増殖がみられた。アストロサイトの腫大を伴う神経網の粗鬆化が、上衣直下域から白質領域の深層あるいは中間層に及び、後頭葉では皮質領域の深層にまで波及していた。

粗鬆化した神経網への炎症細胞の浸潤は一般的に軽微ないし軽度であったが、第1および第2頸髄では化膿性病変が上衣直下域から中間質中心部に波及していた。同病変は神経網の粗鬆化、神経細胞の変性および炎症細胞の巣状ないしびまん性浸潤より成り、毛細血管の増生と線維素性血栓を伴っていた。眼球組織に病変はみられなかった。

連鎖を示す多数のグラム陽性球菌が、CNSの化膿性病変に浸潤するマクロファージと好中球の細胞質内あるいはそれらの周囲に存在した。少量の同菌が炎症像を示す脈絡叢の間質および上衣直下域にもみられた。他の病変は肝臓における多発巣状壊死、線維素化膿性腹膜炎および急性脾炎であった。

細菌学的検査成績: 好気性および嫌気性下の両培養下で、脳および脳脊髄液から以下のコロニーが培養された。同コロニーは血液寒天上で溶血を示し、周囲には明瞭な緑色帯が存在した。分離株はグラム陽性の連鎖球菌から成り、hippurate hydrolysis および α -glucuronidase, alkaline phosphatase 活性, trehalose からの酸産生において陽性に反応した。Voges-Proskauer 試験ならびに L-arabinose, glycogen, inulin, mannitol, ribose, sorbitol および starch からの酸産生はいずれも陰性であった。市販キットによる成績は 2-5-6-0-4-1-0 であり、*S. acidominimus* と判定された。

16S rRNA シークエンス分析では、774 塩基が決定され、2 つの gap と不明な 8 塩基を伴った。分離株の塩基配列は *S. pluranimalium* (accession number Y18026) のそれと 1 塩基を除いて同一であり、両株は 99.9% の相同性を示した。相違は配列番号 1002 の adenine が guanine により置換されていた。

考 察

非溶血性連鎖球菌株の正確な同定には、生化学および分子学の両解析が求められる。*S. pluranimalium* は *S. acidominimus* と多くの生化学的特徴を共有するが、両株は菌体タンパクあるいは 16S rRNA シークエンス解析により区別される。出生時より神経症状を示した早産子牛の検索により、溶血性連鎖球菌が分離された。分離株の生化学性状は、*S. pluranimalium* を同菌株と生化学的および分子学的に近似する菌株から区別するために示されている同菌株の生化学的性状と同一であり、*S. acidominimus* 株のそれとは hippurate hydrolysis, alkaline phosphatase 活性および trehalose からの酸産生に関して相違した。分離株および *S. pluranimalium* 株の 16S rRNA 塩基配列の相同性は 99.9% であった。得られた成績から、分離株は *S. pluranimalium* 株と同定された。

検索例の主要病変は線維素化膿性髄膜炎、脈絡叢炎および脳室炎であり、他の幾つかの臓器と組織における化膿性炎を伴っていた。これらの結果から検索例が分離菌の敗血症感染を伴う髄膜脳室炎に罹患したことが示され、分離菌が新生子牛の敗血症あるいは髄膜炎を引き起こし得ることが示唆された。新生子牛の髄膜炎を引き起こす連鎖球菌感染の幾例かは、子宮内感染であることが指摘されている。検索例の感染時期も、出生時から神経症状が観察されたことから胎内感染であろうと推察された。

新生子牛の細菌性脳室炎における上衣層から深層への炎症の波及は、一般的には上衣直下域に限定され、同領域には軽微ないし軽度の水腫と細胞浸潤がみられる。検索例の上衣下領域の水腫は、既報例のそれより重度であり、後頭葉では皮質領域の深層にまで及んでいた。上衣下の化膿性病変も近位の脊髄では深層の実質にまで波及していた。

新生獣の感染ではマクロファージが細菌を髄膜、脈絡叢および脳室壁に運び、マクロファージの殺菌能

は胎子、新生獣および成獣の順序で低いことが示唆されている。重篤な上衣下病変の形成に関与した正確な要因は不明であるが、検索した早産子牛のマクロファージの殺菌能が正常な新生子牛のそれより低く、重篤な脳室上衣炎および化膿性炎の深部実質への波及を招いたのではないかと推察された。抗生物質による治療も生存期間を延長させ、病変の進行に寄与したように思われた。

大腸菌感染に起因する新生子牛の重篤な脳室上衣炎例で、水頭症とともに上衣下実質の水腫が観察されている。上衣下実質の水腫は、脳脊髄液が上衣細胞を欠く脳室壁から浸潤した結果であり、脳脊髄液圧の上昇がその浸潤を容易にしたように思われた。

新生子牛の連鎖球菌感染では髄膜炎と内眼球炎が頻繁に併発する。視力障害を示した検索例に内眼球炎はみられなかった。その正確な理由も不明であるが、内眼球炎が感染後早期に形成されることから、抗生物質による治療が眼病変の形成を防止した可能性は低いと考えられた。観察された視力障害は後頭葉の重篤な水腫により影響された結果であろうと推察された。*S. pluranimalium* の動物への、とくに新生子牛への病原性に関する研究を進める必要がある。

(岩手の畜産 2007 年 8 月号に掲載)