

11 腹膜炎と胸膜炎を併発した子牛の腸管外病原性大腸菌感染症を疑う2症例

中央家畜保健衛生所
浦川 了
県北家畜保健衛生所
鈴木史子

1 はじめに

大腸菌症の原因となる大腸菌は下痢原性大腸菌と腸管外病原性大腸菌 (ExPEC) に大別される。

ExPEC 感染症は敗血症や髄膜炎など全身症状を伴うものと定義されており¹⁾、国内における子牛の ExPEC 感染症の報告では、髄膜炎や肺炎の報告が多く、腹膜炎及び胸膜炎を併発した報告は見当たらず、今回の2例は貴重な症例と考えられる。

また、毒素や付着因子、鉄取込能等様々な病原関連因子 (ExPEC 関連因子) について検討されているものの、感染経路については解明されておらず、病態についても不明な点が多い状況である。

そこで今回、腹膜炎及び胸膜炎を併発した2症例について ExPEC 関連因子について調査し、一定の知見をえたので報告する。

2 発生状況

症例1は平成31年2月28日に出生した黒毛和種子牛が出生直後から元気・哺乳欲が消失し、起立不能であり、同日に凍結初乳を給与するも翌日死亡した。

症例2は平成31年2月19日に出生した黒毛和種子牛が22日から黄色下痢を呈していき、加療により下痢は改善するも、23日から元気、食欲が低下し、3月1日に死亡した。

3 病性鑑定

(1) 外貌及び剖検所見

症例1は外貌に著変はなく、腹腔内において線維素析出及び赤色混濁腹水が貯留、胸腔においては胸膜の癒着及び赤色胸水貯留が認めら

れ、肝臓の退色や脾臓の脆弱化等全身性に異常所見が認められた。(図-1)

症例2では、外貌はやや削瘦そうしており、腹腔内には線維素析出及び黄色腹水貯留、胸腔の線維素析出、脳血管の充盈等全身性に異常所見が認められ、胸腺の低形成も認められた。(図-2)



図-1 外貌及び剖検所見(症例1)

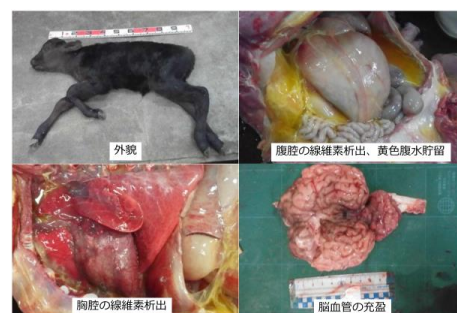


図-2 外貌及び剖検所見(症例2)

(2) 病理組織学的検査

症例1、2ともに定法に従い、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色及びグラム染色を実施した。

症例1では胃や腸管の漿膜面にグラム陰性桿菌を伴う好中球、マクロファージの浸潤、線維素析出が認められ、腎臓や肝臓類洞、脳の血管内にグラム陰性桿菌が認められた。

症例2では第四胃リンパ節漿膜は重度の炎症細胞浸潤、水腫、線維素析出により肥厚してお

り、グラム陰性桿菌も確認された。

前頭葉髄膜は炎症細胞浸潤及びグラム陰性桿菌が確認された。

その他、腎臓や肺等全身臓器にグラム陰性桿菌が確認され、第四胃においては真菌性胃炎も確認された。

(3) 細菌学的検査

主要臓器、脳、腹水等を用いて5%馬血液寒天培地及び DHL 寒天培地にて好気又はろうそく培養にて実施した。

症例1は主要臓器、脳、腹水、胸水等から、症例2は主要臓器、大脳、腹水、第4胃内容物から大腸菌が分離された。

(4) 血清型別検査及びExPEC関連因子検索

分離された大腸菌について血清型別検査は病原性大腸菌免疫血清(デンカ生研(株))を用いて定法に従い実施し、ExPEC関連因子検索は小島らの方法²⁾によりPCRにて実施した。

症例1由来株の血清型はO18であり、ExPEC関連因子は鉄取込能である *fyuA*、*iutA*、*irp1*、*irp2* が陽性であった(表-1)。

症例2由来株の血清型はO166であり、ExPEC関連因子は主要臓器、大脳及び腹水(主要臓器等)由来株では鉄取込能である *iutA*、付着因子因子である *afa8* が陽性であった。

胃内容物由来8株では主要臓器等由来株と同じExPEC関連因子を保有していた株が8株中2株あり、血清型も同じO166であった。他6株のExPEC関連因子保有状況は主要臓器等由来株とは異なっていた(表-2)。

表-1 血清型別検査及びExPEC関連因子等検索(症例1)

由来	血清型	毒素					付着因子				鉄取込能				その他 ※1
		<i>cnf2</i>	<i>cdt3</i>	<i>F17</i>	<i>afa8</i>	<i>papC</i>	<i>iutA</i>	<i>fyuA</i>	<i>irp1</i>	<i>irp2</i>					
肝臓(2/2株)	NT	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
腎臓(2/2株)	NT	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
脾臓(2/2株)	NT	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
脳(2/2株)	O18※2	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
心臓(2/2株)	NT	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
肺(2/2株)	O18※2	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
腹水(2/2株)	NT	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
胸水(2/2株)	NT	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
心臓水(2/2株)	NT	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
脳脊髄液(2/2株)	NT	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	

NT: 試験未実施 ※1: 下痢性大腸菌因子 ※2: 各1株を実施

表-2 血清型別検査及びExPEC関連因子等検索(症例2)

由来	血清型	毒素					付着因子			鉄取込能				その他 ※1
		<i>cnf2</i>	<i>cdt3</i>	<i>F17</i>	<i>afa8</i>	<i>papC</i>	<i>iutA</i>	<i>fyuA</i>	<i>irp1</i>	<i>irp2</i>				
肝臓(2/2株)	NT	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
腎臓(2/2株)	NT	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
脾臓(2/2株)	NT	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
脳(2/2株)	O166※2	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
心臓(2/2株)	NT	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
肺(2/2株)	O166※2	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
腹水(2/2株)	NT	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
胃内容(2/8株)	O166※2	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
胃内容(3/8株)	O166※2	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
胃内容(2/8株)	OUT※2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
胃内容(1/8株)	OUT※2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-

NT: 試験未実施 ※1: 下痢性大腸菌因子
OUT: 血清型別不能 ※2: 各1株を実施

(5) 薬剤感受性試験

症例1の脳由来1株、症例2の脳由来1株、第四胃内容物由来について1濃度ディスク法で実施した。

症例1はFRM、ST合剤、ERFXが感性、ABPC、AMPC、KMが耐性であった。症例2は主要臓器等由来株に感性薬剤はなく、第4胃内容物由来株で、主要臓器等由来株と同じExPEC関連因子を保有している株の試験結果は、主要臓器等由来株と同じであった(表-3)。

表-3 薬剤感受性試験結果

症例1		SM	KM	GM	FRM	OTC	ABPC	AMPC	CEZ	CL	ST	FF	ERFX
脳由来		I	R	I	S	I	R	R	I	I	S	I	S

症例2		SM	KM	GM	FRM	OTC	ABPC	AMPC	CEZ	CL	ST	FF	ERFX
脳	<i>afa8</i> 、 <i>iutA</i>	0	0	13	0	0	0	0	0	8	0	18	0
腎臓	<i>afa8</i> 、 <i>iutA</i>	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
胃内容	<i>afa8</i> 、 <i>iutA</i>	0	0	13	0	0	0	0	0	0	8	0	18
胃内容	<i>afa8</i> 、 <i>iutA</i>	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
胃内容	<i>afa8</i> 、 <i>iutA</i> 、 <i>papC</i>	0	0	11	0	0	0	0	0	8	0	16	0
胃内容	<i>afa8</i> 、 <i>iutA</i> 、 <i>papC</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
胃内容	<i>afa8</i> 、 <i>fyuA</i> 、 <i>irp1</i> 、 <i>irp2</i>	0	0	0	0	0	0	0	18	10	0	0	0
胃内容	<i>afa8</i> 、 <i>fyuA</i> 、 <i>irp1</i> 、 <i>irp2</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	I	R	R	R
胃内容	<i>afa8</i> 、 <i>fyuA</i> 、 <i>irp1</i> 、 <i>irp2</i>	0	0	0	0	0	0	0	18	10	0	0	0
胃内容	<i>afa8</i> 、 <i>fyuA</i> 、 <i>irp1</i> 、 <i>irp2</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	I	R	R	R

S: 感性
I: 中間
R: 耐性

4 他県の症例^{1), 3), 4), 5), 6)}におけるExPEC関連因子保有状況

今回の2症例と他県における症例とを比較した結果、発生日齢は多くの症例が今回の2症例と同様若齢であり、血清型は様々であった。

ExPEC関連因子の保有状況も様々であったが、全ての症例において、鉄取込能の何れかを保有していた(表-4)。

表-4 他県の症例におけるExPEC関連因子保有状況

報告県	日(月)齢	血清型	毒素					付着因子			鉄取込能				その他 ※1
			<i>cnf2</i>	<i>cdt3</i>	<i>F17</i>	<i>afa8</i>	<i>papC</i>	<i>iutA</i>	<i>fyuA</i>	<i>irp1</i>	<i>irp2</i>				
長崎	2日	O18	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
	10日	O166	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
	2日	O15	+	+	+	+	+	NT	+	+	+	+	-	-	
福島	4日	OUT	+	+	+	-	NT	+	-	-	-	-	-	-	
	2日	O15	+	+	+	+	+	NT	+	-	-	-	-	-	
	2日	O119	+	+	-	+	NT	-	+	+	+	-	-	-	
	23日	O55	+	+	-	+	NT	+	-	-	-	-	-	-	
山形	8日	OUT	+	+	+	+	NT	+	-	-	-	-	-	-	
	60日	O59	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
山口	2日	O88	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
	脳脊髄液25日	O161	-	-	-	-	-	+	NT	+	+	+	+	-	
山口	脳脊髄液27日	OUT	-	-	-	-	-	+	NT	+	+	+	+	-	
	脳脊髄液28日	O78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
石川	4. 6日	OUT	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
	39日	O119	+	+	+	+	+	NT	+	-	-	-	-	Sbx1	

OUT: 血清型別不能 ※1: 下痢性大腸菌因子

5 まとめ及び考察

今回2例は腹膜炎及び胸膜炎といった共通所見が確認されたが、症例ごとに保有している関連因子は異なっていたことから、共通所見があったとしても、保有している ExPEC 関連因子は異なることがわかった。

これまでの報告では、主な剖検所見として肺炎や髄膜炎が多かったが、2例は、腹膜炎及び胸膜炎といった全身的な共通所見が確認され、うち1例で胸腺の低形成や第四胃において真菌性胃炎が確認されたことから、複合感染等宿主的な要因が腹膜炎及び胸膜炎を引き起こしたと推察された。

また、2例の ExPEC 関連因子保有状況は異なっていたが、2例ともに鉄取込能を保有しており、他県における報告でも全ての症例で鉄取込能を保有していました。鉄は細菌が増殖していく上で不可欠な元素であり、宿主組織内に侵入した細菌は宿主内に存在する結合鉄から鉄を奪い取る必要があります⁷⁾、菅原らは ExPEC の鉄取込能の保有が敗血症に至る1要因と推察していることから、本因子が ExPEC の全身的な病態に関与していることが示唆された。

薬剤感受性試験の結果、2例ともに分離された大腸菌は多剤耐性であり、治療薬の選択には注意が必要と思われ、今後の治療薬選択の一助とするため、ExPEC の耐性状況について調査していく必要があると思われた。

症例2において、第四胃内容物由来株から主要臓器等由来株と同じ ExPEC 関連因子を保有した株が増殖しており、これらは血清型及び薬剤感受性試験結果が同じであり、同一クローン由来である可能性が高いと思われた。

これらのことから、ExPEC は経口感染または胃内に常在、増殖し、消化管の毛細血管等を通じて全身に感染した可能性が示唆された。

ExPEC については不明な点が多いが、今後さらに敗血症を呈した大腸菌の症例の検索を重ね、病態解明に寄与したい。

7 参考文献

1) 菅原克ら：子牛の腸感慨病原性大腸菌感染

症と PCR による分離株の病原関連因子の検索についての報告, 日獣会誌, 65, 689-693 (2012)

2) Ojima *et al*: Development of a multiplex PCR assay for rapid virulence factor profiling of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from cattle. *Journal of Microbiological Methods*, 128, 31-33 (2016)

3) 古田ら：子牛の腸管外病原性大腸菌感染症2例と培養細胞を用いた病原性の検討, 日獣会誌, 69, 524-528 (2016)

4) 佐野：同一農家で発生した大腸菌による死産及び子牛死亡事例, 第73回九州・山口病性鑑定協議会 (2017)

5) 丹羽ら：子牛の腸管外病原性大腸菌感染症と病原関連因子について, 平成29年度石川県家畜保健衛生業績発表会集録, 27-29 (2017)

6) 水谷ら：敗血症を呈した牛から分離された大腸菌の病原関連因子の検索, 日獣会誌, 71, 307-310, (2018)

7) Wiles *et al*: Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli* (APEC), *Exp Mol Pathol*, 85, 11-19 (2008)