

【短 報】

肉用子牛のデルマトフィルス症例

太野垣 陽一、 服部 洋祐¹⁾

1) 沖縄県農林水産部畜産課(〒 900-8570 沖縄県那覇市泉崎 1-2-2)

県内の肉用牛繁殖農場で発生したデルマトフィルス症の概要を報告する。

発 生 状 況

農場は肉用牛(黒毛和種)成雌 160 頭、未経産 19 頭、育成 69 頭、子牛 29 頭、計 277 頭飼養の肉用牛繁殖経営。繁殖牛はフリーストール、育成・子牛は 4 × 5m の牛房に 5 ~ 6 頭で群飼。飼料は TMR。

2007 年、子牛 2 頭に皮膚炎が発生。1 頭は症状が軽く自然治癒したが、もう 1 頭は悪化したため、2008 年 1 月、6 ヶ月齢で病性鑑定(図 1)。

★ 肉用牛(黒毛和種)繁殖経営

成雌 160、未経産 19、育成 69、子牛 29、計 277頭

★ 繁殖牛：フリーストール

育成・子牛：4×5mの牛房に5~6頭ずつ群飼

★ 飼料：TMR

★ 飼養環境：普通

★ H19年11月、6ヶ月齢子牛1頭に皮膚炎 → 軽症で自然治癒

H20年1月、別房の6ヶ月齢子牛1頭(当該牛)に皮膚炎

→ 徐々に悪化、数週間で全身的に広がり、病性鑑定

図 1 発生概要

病変部は乳頭腫様の疣から直径 0.5 ~ 2cm、高さ 1 ~ 3cm の円錐状痂皮となっており、頭、顔、頸、背中等全身に認められた。円錐状痂皮は手で容易に剥離でき、下面は発赤し浸出液により湿潤していた(図 2、図3、図4)。



円錐状痂皮が全身(頭、顔、頸、背中等)に認められる

図 2 当該牛(左側外貌)



病変部は概ね円形(直径0.5~2.0cm)で、隆起(1~3cm)

図 3 当該牛(右側外貌)



頭部の隆起は乳頭腫様で剥離困難だが、他の隆起部位は手で容易に剥離でき、剥がすと発赤・浸出液で湿潤している

図4 当該牛(頭頸部外貌)

検査材料

剥離した円錐状痂皮(図5)。



図5 円錐状痂皮

方法及び成績

稟告及び外貌からデルマトフィルス症を疑い、成書¹⁾²⁾³⁾の記載(図6、図7)を参考として以下の検査を実施した。

『病性鑑定マニュアル 第2版』

原因菌: *Dermatophilus congolensis*

- ・ G(+)、抗酸性(-)、溶血性(+)、カタラーゼ(+)、ウレアーゼ(+)、ゼラチン水解(+)、カゼイン水解(+)
- ・ 菌糸と球菌体がある。
- ・ 菌糸は分岐し、内部に球状物(遊走子)がみられる。

図6 デルマトフィルス(1)

『家畜微生物学(三訂版1990)』朝倉書店
(グラム陽性無芽胞桿菌類に記載)

『新編 獣医微生物学(1989)』養賢堂
(Actinomycetes に属する菌種とされる)

最初、1 μ m以下のフィラメントが生じ、その先端は細く尖って伸長し続けるかたわらに、反対の基始部分は伸長する方法に向かって順次隔壁が生じ、またフィラメントに直角に分岐も生じる。

フィラメントの長軸面及び横断面での断裂が進み、多数の球菌様体がそこから出てくる。

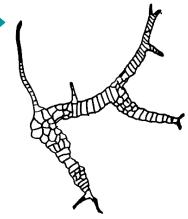


図7 デルマトフィルス(2)

1. ギムザ染色

痂皮を横断し、スタンプ後30分間ギムザ染色。特徴的な分岐と球菌様の遊走子を内包する菌糸が無数に見られた(図8、図9)。

病変部直接塗抹(ギムザ30分) ①

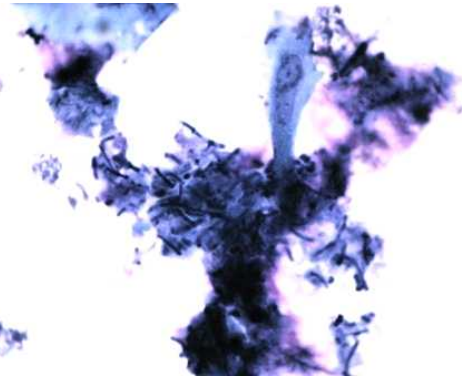


図8 ギムザ染色(1)

病変部直接塗抹(ギムザ30分) ②

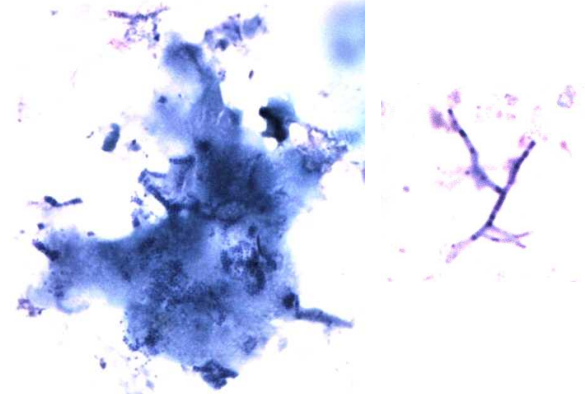


図9 ギムザ染色(2)

2. グラム染色

痂皮のスタンプ材料を定法によりフェイパーG(日水

製薬)によりグラム染色。ギムザ染色と同様に菌糸が観察された。

3. 分離培養

成書¹⁾³⁾⁴⁾の記載(図10)を参考として、痂皮3mm角程度をハサミで1mm角程度に細切し、滅菌蒸留水1mlに浮遊。炭酸ガスパックで室温、4時間静置。水面の1白金耳を5%ヒツジ血液寒天培地に画線塗抹し、炭酸ガスパック、37°C、24時間培養(図11)。

『病性鑑定マニュアル 第2版』

- ・ BHI寒天、CO₂又は好気
- 集落は通常ラフ型で、培地に固着する

『新編 獣医微生物学』

- ・ 通性嫌気性
- ・ 血液(清)寒天、BHI寒天、10% CO₂、37°Cで良好な発育
 - 固型培地上で白〜灰色から橙〜黄色となり、皺壁ないし凹凸のある、乾燥した集落。
 - ・ ムコイド型や中間型 もいられている。
- (同書次頁の記載)
- ・ 病変の一部を1mlの蒸留水に3.5時間つけて軟化
 - 20% CO₂ jar、15分
 - 白金耳で血液寒天斜面に植える

図10 成書記載の培養法



1. 病変部 3mm角程をハサミで 1mm角程度に細切
2. 2ml 容 のサンプルチューブに滅菌DW 1ml と上記検体
3. チューブの蓋を開けたまま、CO₂ガスパック、室温、4時間、静置
4. 上清 1 白金耳を 5%羊血液寒天、CO₂ガスパック、37°C、24時間

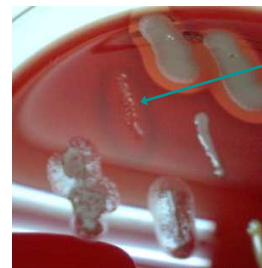
図11 初代分離培養

溶血コロニーをBHI寒天培地に同培養条件で継代再分離(図12、図13、図14)。

初代分離培養から
種々のコロニーを
20個継代
↓
5%羊血寒、CO₂
37°C、24時間



図12 二次分離培養



- ・ 弱いβ溶血
- ・ 培地にめり込むような発育
- ・ カタラーゼ(+)

- ・ ギムザ、30分
- ・ 直接塗抹と同様の菌体
- ・ 他、数種のコンタミ

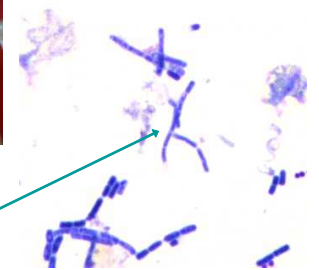
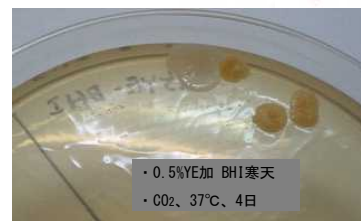


図13 二次分離菌の確認

二次分離培養から
再度、画線塗抹



- ・ 0.5%YE加 BHI寒天
- ・ CO₂、37°C、4日

G染色、×1,000

図14 三次分離培養

48時間程度培養した菌を20%グリセリン加BHIブロスで-80°Cで凍結保存。後日、保存菌株を用いて好気培養でも炭酸ガス培養と差異がないことを確認(図15)。

実際の発生数は不明となっている(図 18)。

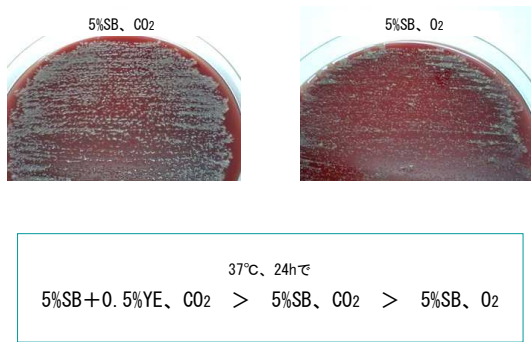


図 15 培養条件の比較

4. PCR

分離菌からボイル法及びInstaGene Matrix (BIO-RAD)によりDNAを抽出。OIEマニュアル⁴⁾及びSanchezらの報告⁵⁾に習いプライマーESP1及びESP2を用いてPCR。ボイル法、InstaGene Matrix のいずれも438bpの明瞭なバンドを認めた。原法では35cyclesだが、30cyclesでも充分であった(図16)。

- ★ PCR : OIEマニュアル : Veterinary Microbiology 99, 67-74
 - ・ primer : A & B → several band
 - ・ primer : ESP1 & ESP2 → 438bp
- ★ DNA抽出
 - ・ DW : Boil法 (McFarland 3, 4, 5で)
 - ・ InstaGene Matrix (BIO-RAD) : Bacteria用プロトコル (McFarland 3, 4で)

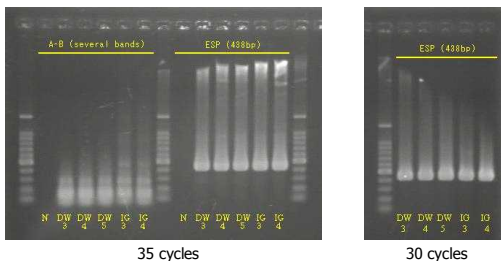


図 16 PCR

経過及び考察

当該畜にペニシリンとストレプトマイシンの合剤を4日連続筋肉内注射。数日後から痂皮は自然に脱落して徐々に被毛も生え揃い、その後、再発もなく子牛セリに出荷され購買された(図17)。

沖縄県では1978年4月から1980年2月に、数カ所の離島の放牧牛に本症と思われる皮膚炎が25頭に発生し、農林水産省旧家畜衛生試験場、大学等と連携して詳細な研究がなされている。)))

本症の発生は肉用牛でごく希に散発し、自然治癒又は治療後1～2ヵ月で完治するため、診療や病性鑑定の依頼は数年に一度あるかないかと少数であり、

ストレプトマイシンとペニシリンの合剤 4日連続 筋注

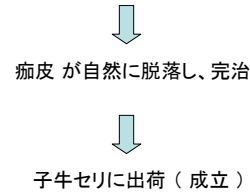


図 17 当該牛の転帰

- ・ 1978年4月～1980年2月
 - 数カ所の離島の放牧牛に本症と思われる皮膚炎が25頭に発生
 - 農林水産省家畜衛生試験場、大学等と詳細な研究
 - 沖縄県家畜衛生試験場年報 第17号(1980)、19号(1983)、23号(1987)

- ・ 発生は肉用牛で、ごくまれに散発 (群飼でも1～2頭)
- ・ 自然治癒 又は 治療後1～2ヵ月で完治
- ・ 診療や病性鑑定は数年に一度あるかないか

↓
実際の発生数は不明

図 18 沖縄県における発生状況

参考文献

- 1) 農林水産省畜産局監修. 病性鑑定鑑定マニュアル(第2版). 1999. 全国家畜保健衛生業績発表会協賛会.
- 2) 尾形学, 坂崎利一編. 家畜微生物学(三訂版). 1990. 朝倉書店.
- 3) 梁川良ら. 新編家畜微生物学. 1989. 養賢堂.
- 4) DERMATOPHILOSIS. OIE Terrestrial Manual 2008. CHAPTER 2.4.10.
- 5) Alfredo Garcia-Sanchez *et al.* Identification of an alkaline ceramidase gene from *Dermatophilus congolensis*. Vet. Microbiol. 99(2004). 67-74.