

短報

***Mycoplasma bovis* が分離された黒毛和種肥育牛における関節炎の3症例**

乙丸孝之介^{1)*} 永田仰¹⁾ 米重隆一¹⁾ 森木啓²⁾
 大塚浩通³⁾ 安藤貴朗⁴⁾ 小岩政照⁴⁾

- 1) 北薩農業共済組合川薩家畜診療所 (〒 895-1813 薩摩郡さつま町轟町 13-1)
- 2) 鹿児島中央家畜保健衛生所 (〒 899-2201 日置市東市来町湯田 1678)
- 3) 北里大学獣医畜産学部 (〒 034-8628 十和田市東 23 番町 35-1)
- 4) 酪農学園大学獣医学部 (〒 069-8501 江別市文京台緑町 582)

*連絡責任者：乙丸孝之介

鹿児島県農業共済組合連合会 家畜臨床検査研修センター
 (〒 891-0132 鹿児島県鹿児島市七ツ島 1 丁目 6-24)
 TEL099-261-0821 FAX099-261-1063
 E-mail:otomaru@nosai-net.or.jp

【要約】

2009年3月～5月に鹿児島県内にある黒毛和種の1肥育農場で3頭が関節炎に罹患した。3頭の関節液から *Mycoplasma bovis* が分離された。分離された *M.bovis* 2株を用いて薬剤感受性試験を実施した結果、チルミコシンには、最も低い感受性 (MIC:>100 μ g/ml) を示した。一方、エンフロロキサシン、オルビフロキサシンには、高い感受性 (MIC:0.39 μ g/ml, MIC: \leq 0.39 μ g/ml) を示した。以上のことから、*M.bovis* の関与する関節炎治療に際し、薬剤感受性試験に基づいた感受性の高い抗菌剤選択の必要性が示唆された。

【キーワード：薬剤感受性試験，関節炎，肥育牛，黒毛和種，*Mycoplasma bovis*】

【緒論】

牛の感染性関節炎は *Mycoplasma*, *Streptococcus*, *Salmonella* などの病原微生物が感染することにより発症するとされている [10,11]。しかしながら、臨床現場では、関節炎の治療前後における細菌学的検査は必ずしも行われていないのが現状である。

これまで、呼吸器病ならびに乳房炎罹患牛から *Mycoplasma* の分離は多く報告 [4,8,9] されているが、日本国内における関節炎からの *Mycoplasma* の分離および薬剤感受性試験の結果についての報告はきわめて少ない。今回著者らは、関節炎に罹患した肥育牛の関節液

について細菌学的検査を実施し、分離された *Mycoplasma* の薬剤感受性試験を行ったので報告する。

【材料および方法】

本病は鹿児島県内の黒毛和種を約3000頭飼養する鹿児島県内の1肥育農場にて発生した。2009年3月～5月に関節の腫脹、跛行などから関節炎と診断された3頭を供試牛とした (Table1)。あわせて、農場での *Mycoplasma* の浸潤状況を把握する事を目的として、同農場にて飼養されていた臨床的に健康な16頭についても検査を実施した。

細菌学的検査：関節炎に罹患した3頭から、滅菌16G留置針を用いて関節液を採取した。臨床的に健康な16頭から長さ約50cmの滅菌綿棒を鼻腔内深部まで挿入しは鼻腔ぬぐい液を採取した。関節液は、一般細菌およびMycoplasmaを検査するため、鼻腔ぬぐい液はMycoplasmaを検査するため、それぞれ輸送培地(Tryptic Soy Broth, Hayflick培地)に保存し冷蔵状態で検査室に搬入した。関節液の細菌分離には、DHL寒天培地、めん羊血液加Tryptic Soy寒天培地を用い、関節液および鼻腔ぬぐい液のMycoplasmaの分離にはHayflick培地を用いた。Mycoplasmaの同定はPCR法により行った[2,9]。

薬剤感受性試験：日本化学療法学会標準法[1]に準拠して各種薬剤の最小発育阻止濃度(MIC)を調べた。供試薬はオキシテトラサイクリン(OTC)、カナマイシン(KM)、ストレプトマイシン(SM)、フロルフェニコール(FF)、チアンフェニコール(TP)、タイロシン(TS)、チルミコシン(TMS)、エンロフロキサシン(ERFX)、オルピフロキサシン(OBFX)とした。

[成績]

臨床経過：症例1は肥育農場導入17日後に呼吸やや速拍症状を呈し、体温39.2℃であった。抗生物質(ペニシリン(PC), SM)の筋肉内投与にて全身症状の改善がみられた。農場導入26日後には体温39.0℃で左前腕手根関節の腫脹と跛行がみられ、関節炎と診断された。関節炎発症後、第3病日まで抗生物質(PC, KM)の筋肉内投与にて治療したが症状改善せず、第4病日に前腕手根関節の関節液を採取した。症例2は肥育農場導入25日後に元気消失、食欲不振を呈し、翌26日後には体温39.5℃で左腕手根関節腫脹、起立困難となり関節炎と診断された。関節炎発症第1病日より強肝剤、消炎剤、抗生物質(ERFX, PC, SM)を用いて治療するも症状は改善せず、第30病日に左前腕手根関節の関節液を採取した。症例3は肥育農場導入14日後に食欲不振、呼吸器症状、両側耳下垂を呈し、体温39.7℃であった。農場導入14~20日後まで、抗生物質(PC, SM, ERFX)を用いて治療し症状の改善が認められたが、農場導入24日後には体温40.0℃となり再び呼吸器症状を呈した。農

Table1. Summary of three cases

Case	Berrd	Sex	Disease part	Age of month at introduction to farm	Age of month at isolated from joint fluid	MIC
1	Japanese Black	Bullock	Left knee joint	7	10	
2	Japanese Black	Female	Left knee joint	8	10	○
3	Japanese Black	Female	Both knee joint	8	10	○

Table2. MICs for two *M. bovis* isolated from joint fluid

Case	MIC range (μ mg/ml)									
	Antimicrobial ¹⁾									
	OTC	KM	SM	ERFX	OBFX	FF	TP	TS	TMS	
2	50	50	>100	0.39	0.39	12.5	12.5	>100	>100	
3	50	25	25	0.39	0.2	12.5	12.5	100	>100	

1)OTC:oxytetracyline, KM:kanamycin, SM:streptomycin, ERFX:enrofloxacin, ORFX:orbifloxacin
FF:florfenicol, TP:thiamphenicol, TS:tylosin, TMS:tilmicosin

場導入 24～28 日後まで抗生物質 (PC, SM, ERF X) を用いて治療し症状の改善が認められた。農場導入 35 日後には活気やや減退し、両側腕手根関節腫脹により関節炎と診断された。関節炎発症第 1～6 病日に消炎剤、抗生物質 (TS, PC, SM) を用いて治療するも症状改善せず、第 18 病日両側前腕手根関節の関節液を採取した。

細菌学的検査成績：供試牛 3 頭の関節液から *Mycoplasma bovis* が分離された。症例 3 では左前腕手根関節の関節液からは *M. bovis* が分離されたが右前腕手根関節からは分離されなかった。すべての症例においてその他の細菌は分離されなかった。臨床的に健康な 16 頭の鼻腔ぬぐい液からは 8 頭で *M. bovis* が分離された。

薬剤感受性試験成績：症例 2 および症例 3 から分離された *M. bovis* の 2 株を供試した。TMS には、最も低い感受性 (MIC:100 μ g/ml) を示した。一方、ERF X, OBFX には、高い感受性 (MIC:0.39 μ g/ml, MIC: \leq 0.39 μ g/ml) を示した (Table2)。

関節炎治療抗菌剤変更後の成績：薬剤感受性試験成績より同農場においてほとんど使用していなかった OBFX に変更した。その結果、治療抗菌剤変更以前の 1 年間には、関節炎と診断され抗菌剤を用いて治療を行った関節炎治療牛のうち、6 頭が死亡または廃用となっていたが、治療抗菌剤変更後の 1 年間には、抗菌剤を用いて治療を行った関節炎治療牛の死亡または廃用は認められなかった。

【考察】

Mycoplasma による関節炎の報告は少なく、国内においては、海老沼ら [3] が交雑種哺乳子牛において病理解剖時に関節から *M. bovis* 分離を報告しているのみである。今回、黒毛和種肥育牛 3 頭の関節液より *M. bovis* が分

離された。*Mycoplasma* が原因で発症する関節炎は関節への直接感染も考えられるが、清水 [10] は *Mycoplasma* による関節炎は、*Mycoplasma* が原因で発症した肺炎や乳房炎に伴って自然感染の形で発症する例が多いとしている。Gagea ら [5] は肺病変から *M. bovis* が分離された 54 頭のうち 25 頭で関節からも *M. bovis* が分離されたと報告しており、これは肺病変から二次的に血行性に移行した結果であるとしている。同農場で飼養されている臨床的に健康な鼻腔ぬぐい液を調査したところ 16 頭中 8 頭から *M. bovis* が分離され、同農場における *M. bovis* の浸潤が明らかとなった。今回関節炎を呈した牛からの鼻腔ぬぐい液の調査は実施していないが、*M. bovis* が分離された 2 症例は、関節炎発症前に呼吸器症状を呈し呼吸器病治療を行っており、*M. bovis* が呼吸器から血行性に関節へ伝播した可能性が考えられた。石崎 [6] は輸送により呼吸器局所の免疫が顕著に変化し、輸送自体が呼吸器病発生の要因となる可能性を指摘し、さらに輸送直後は群編成、管理者のハンドリング、飼料など多くの飼養環境が激変するためこれらが複合的にストレスとして作用するとしている。今回、3 症例の関節炎発症は、いずれも肥育農場導入 2 ヶ月以内であり、関節炎発症前には抗菌剤による治療が行われていたため、輸送ストレスおよび導入後の馴致におけるストレスも関節炎発症に関連があると考えられた。*M. bovis* に対するワクチンは、わが国では使用されていない。*M. bovis* の関与する疾病の治療には、罹患牛そのものの抗病性を高めるとともに、抗菌剤の使用に頼らざるをえない。これまで同農場においては関節炎治療抗菌剤として、主に *Mycoplasma* に効果の期待できない PC 系薬剤を用いて治療を実施していた。今回関節液から *M. bovis* が分離されたことにより、*M. bovis* の関与が疑われる関節炎治療に際し、感

受性の高い抗菌剤選択の必要性が示唆され、実際に関節炎治療抗菌剤を ORBX に変更した。臨床現場における効果的な治療のために、起因菌の細菌学的調査ならびに薬剤感受性試験はきわめて重要であると考えられた。

[引用文献]

1. 動物用抗菌剤研究会 . 2004. 動物由来細菌に対する抗生物質の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法 . 動物用抗菌会報 . 26 : 52-63.
2. Chavez González, Y. R., Ros Bascuñana, C., Bolske, G., Mattsson, J. G., Fernández Molin, a C. and Johansson, K. E. 1995. In vitro amplification of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* by PCR. *Vet. Microbiol.* 47 : 183-190.
3. 海老沼久枝, 大慈祐介, 吉原俊明, 名嘉元俊二, 栗原永治 . 2010. 酪農家の子牛に多発したマイコプラズマ感染による関節炎および中耳炎の発生状況と対策 . 家畜診療 . 57 : 485-491.
4. 布施勝利, 清水高正, 菊一三四二, 中礼俊彦 . 1990. *Mycoplasma bovis* が分離された牛乳房炎 2 例 . 日獣会誌 . 43 : 719-722.
5. Gagea, M. I., Bateman, K. G., Shanahan, R. A., Dreumel, T. V., Mcewen, B. J., Carman, S., Archambault, M. and Caswell, J. L. 2006. Naturally occurring *Mycoplasma bovis*-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves . *J. Vet. Diag. Invest.* 18 : 29-40.
6. 石崎 宏 . 2010. 育成期の子牛の免疫抵抗性を低下させる要因 . 日本家畜臨床感染症研究会誌 . 5(2) : 47-53.
7. 加藤敏英, 斉藤雅一, 庄司和明, 板垣昌志 . 2003. *Pasteurella multocida* および *Mycoplasma* が関与した導入牛の呼吸器病に対するエンロフロキサシンとチルミコシンの予防効果 . 日獣会誌 . 56 : 7-11.
8. 小池新平, 宇佐美佳秀 . 2011. *Mycoplasma bovis* の薬剤感受性とマクロライド耐性株の 23 S リボソーム RNA ドメイン V 領域の解析 . 日獣会誌 . 64 : 45-49.
9. Kobayashi, H., Hirose, K., Worarach, A., Paugtes, P., Ito, N., Morozumi, T. and Yamamoto, K. 1998. In vitro amplification of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma bovirhinis*, *Mycoplasma alkalescens* and *Mycoplasma bovirhinis* by PCR. *J. Vet. Med. Sci.* 60 : 299-303.
10. 清水高正 . 1988. マイコプラズマとその実験方法 . 218. 近代出版 . 東京 .
11. 田浦保穂 . 2002. 牛の臨床 . 420-424. デーリイマン . 北海道 .

Note**Three cases of arthritic on Japanese Black fattening calves by *Mycoplasma bovis***

Konosuke Otomaru*, Aogu Nagata, Ryuichi Yoneshige, Kiraku Moriki, Hiromichi Ohtsuka,
Takaaki Ando and Masateru Koiwa

Veterinary Clinical Inspection Training Center, Kagoshima Prefectural Federation of
Agricultural Mutual Aid Associations

1-6-24, Nanatujima, Kagoshima, 891-0132, Japan

Abstract

Three calves suffered arthritic on a Japanese Black fattening farm in Kagoshima prefecture from March to May, 2009. On bacteriological examinations, *Mycoplasma bovis* was isolated from joint synovial fluid of three calves. Two samples were examined the antimicrobial susceptibilities. The minimum inhibitory concentration (MIC) of tilmicosin exhibited a low susceptibility ($>100 \mu\text{g/ml}$). enrofloxacin exhibited a high susceptibility (MIC: $0.39 \mu\text{g/ml}$), and orbifloxacin exhibited a high susceptibility (MIC: $\leq 0.39 \mu\text{g/ml}$). The results of these cases suggested that selecting antimicrobial drugs of high susceptibilities to arthritic associated with *M. bovis* need to improve the efficacy of treatment.

【Key words : antimicrobial susceptibility, arthritic, fattening cattle, Japanese Black, *Mycoplasma bovis*】