Clostridium perfringens による牛の急性壊疽性乳房炎について

白幡敏一* 清水亀平次* 吉田 隆* 後藤 仁* 三宅 勝* 小野 斉*

(昭和 43 年 12 月 6 日受付)

A Case of Bovine Gangrenous Mastitis Caused by *Clostridium perfringens* Type A

T. SHIRAHATA, K. SHIMIZU, T. YOSHIDA, H. GOTO, *M. MIYAKE, and *H. ONO

(Lab. of Vet. Microbiology and *Lab. of Vet. Obstetrics, Obihiro, Zootechnical

University, Obihiro, Hokkaido

SUMMARY

Gangrenous mastitis caused by *Clostridium perfringens* was observed in a three-year-old Holstein cow on a dairy farm near Obihiro, Hokkaido. It was noticed on the next day of parturition by the manifestation of marked congestion, edema, pain, discoloration, and hard swelling of the rear quarters. Sulfonamides or antibiotics had no effect to prevent it from spreading to the other quarters. Milk secretion stopped completely and the udder became cold. The animal was slaughtered on the 5th day of ill-

ness. Autopsy revealed edema and hemorrhage of the subcutaneous tissue, and gangrene of the mammary gland. There were congestion in the liver and follicular swelling in the spleen.

Gram-positive, anaerobic bacilli were isolated from three mammary quarters and a milk sample before death, and identified as *Cl. perfringens* by biological and cultural findings. The toxin-antitoxin reaction and the agglutination test demonstrated that they belonged to type A.

I 緒 言

著者らは牛の急性壊疽性乳房炎に関する細菌学的検索を重ねつつあるが、その多くは分娩直後に発生し、大腸菌が主原因となっているようである。これについては例数を重ね後日報告する予定であるが、*Cl. perfringens* による急性壊疽性乳房炎例の発生は本邦においてはもちろん諸外国においても比較的珍らしいものと思われる。これに関する最初の報告は C.T. PARSHALL (1934年)⁶⁾ によるが、その後、1962 年 W. RENK⁷⁾ にいたるまで、アメリカ、ドイツ、スイス等において合計 10 編程の報告を見るに過ぎず、その後は寡聞にしてきかない。本菌は哺乳動物の消化管内における正常菌叢の 1 種で糞便とともに排泄され、土壌中に生残したその芽胞はしばしば人獣に創傷感染し、ガス壊疽の主原因となり、また消化管内にあって何らかの原因で異常増殖した場合急性腸炎となり、また毒素は腸管から吸収されいわゆる Enterotoxemia を惹起する。また消毒不完全な器具類を介して乳房内に本菌が持ち込まれた場合には急性壊疽性乳房炎が発生するといわれる。最近 KATITCH ら (1968)⁴⁾ は *Cl. perfringens* type A.C.D による羊の Enterotoxemia 発生群に多発した羊の壊疽性乳房炎について原因学的調査を行なったところ、その 30% は *Cl. perfringens* type A によることを報告している。著者らが今回経験した例は *Cl. perfringens* type A によるものであるが、その後同一牧場牛に同じく type A による急性斃死例 (Enterotoxemia) の

発生をみている。これら相互間に直接的な関係があるか否かは全く明らかでないが、最近原因不明で急死した牛の症例について検討を重ねたところ、Enterotoxemia によるものが意外に多く観察されることから KATITCH ら⁴⁾ の報告に鑑みて羊の場合の様に今後、同菌による牛の壊疽性乳房炎の発生も考えられるのでここに概要を報告し諸賢の御参考に供する次第である。

II 臨 床 経 過

患畜は市内 O 農場繋養の 3 才のホルスタイン種で分娩 (初産) が数日遅れているとのことで往診、直腸検査法で胎児の生存を確認、翌 12 月 20 日には正産している。当日は異常なく 3 kg の初乳を搾乳したが 21 日朝に至り、突然後部乳房の腫脹と疼痛、泌乳廃絶がみられ、前部乳房も血乳あるいはガスを排泄するとのことで再び往診した。臨床経過はおおむね表 I に示すごとくである。すなわち第 1 病日：体温 40.1℃、脈搏 115、乳汁の細菌検査で両端鈍円の大形桿菌が多数注目された。これに対し午後 3 時と午後 10 時に抗生物質 (ケミセチン Fc 8080) の筋肉内注射を行なっている。第 2 病日：体温 39.7℃、脈搏 112、元気、食欲はやや回復、反芻軽度に出現するも右後乳房後面の変色極めて顕著となり、乳房後面に水腫が出現した。抗生物質およびサルファ剤投与。第 3 病日：体温 39.3℃、脈搏 110、サルファ剤を投与。第 4 病日：体温 39.9℃、脈搏 112、反芻、食欲はさらに良好となったが、乳房は腫脹、硬結し疼痛のためか運歩は渋滞した。また後部乳房の水腫もさらに増大

* 帯広畜産大学

表1 患者の臨床症状と経過

	症状および備考	療 法
第1病日 (21/XII/66)	T 40.1°C P 115 乳汁の細菌検査 Giemsa 染色: 多数の大 型桿菌検出 血液寒天培養: 好気性菌 の発育皆無	1. P.M. 3:00 ケミセチン 3g i.m. 2. A.M. 10:00 ケミセチン 1g i.m.
第2病日	T 39.7°C P 112 元気, 食欲やや回復, 反 芻も軽度出現 右後乳房の変色顕著で中 央部に水腫出現 左後乳房もまた変色し, 血乳を漏出する.	1. A.M. 6:00 ケミセチン 1g i.m. 2. P.M. 2:00 ケミセチン 1g i.m. メトファジン 50ml i.m.
第3病日	T 39.3°C P 120 Giemsa で注目された大 型桿菌を嫌気培養で無数に 検出 Gram ⊕ の大型桿菌, ウ ェルシ菌を疑う.	1. A.M. 6:00 メトファジン 50ml i.v. 2. P.M. 2:00 同 上
第4病日	T 39.9°C P 112 反芻, 食欲良好なるも乳 房の腫脹, 硬結が著しく運 歩渋滞する. 右後乳房の水腫増大, 帯 黄色漿液が水腫内に顕著に 滯溜する. 壊疽性乳房炎にて予後不 良と判定	行なわず

し, 帯黄色の漿液を容れる. 結局 *Cl. perfringens* による予後不良の壊疽性乳房炎と判定淘汰された.

Ⅲ 剖 検 所 見

臍部から肛門にいたる下腹部には高度の浮腫が認められ, 乳房もまた著しく腫大し, 悪臭を放ちとくに左右後分房において著明であった. 左前分房: 乳頭は外観略正常であるが割面の粘膜は浮腫が強く皮下織もまた著しく厚さをまじ浮腫性であった. 乳腺実質は黄褐色となり一部は赤色~灰緑色を帯び透明感を失っている. 左後乳房: 乳房は著しく増大し, 乳頭は紫色色で腫大し, 皮下浮腫も極めて強く, かつ線維組織著しく粗鬆となり実質は原形を留めず大部分壊死に陥っている. 右前分房: 皮下は浮腫性であるが, 乳頭の大きさは正常, 乳汁もまたほとんど正常である. 右後乳房: 皮下浮腫強く乳やや大となり乳槽内には黄色絮片を含む乳汁を入れ, 粘膜は浮腫性, かつ不潔赤色を呈している. 乳腺実質の後部および上部には黄色~褐色の不透明な広範囲の壊死領域があり一部では出血が見られた. 肝には限局性の黄褐色脂肪肝部が散在し割面は高度に鬱血, 脾は汙胞の腫大を認める程度で, また他臓器には著変は認められなかった.

Ⅳ 細 菌 検 索

乳汁の好気培養は全く陰性であったが, 塗抹標本で多

写真1 左後乳汁のギムザ染色標本 ×612

写真2 乳汁の24時間血液寒天培養集落 ×1

数の大型桿菌が注目されたため(写真1), 5%羊血液寒天に塗布 Rosenthal 法による嫌気培養を行なったところ溶血環を伴う径 1 mm 大のS型露滴様集落がほぼ純粹無数に検出された(写真2). また淘汰後の左前後乳房組織についても TGC 培地, Zeissler 寒天等を用いて Rosenthal 法による嫌気培養を行なところ何れからも純粹無数に同菌集落が検出されたが, 子宮悪露からの培養は陰性であった. なお肝, 脾, 腎等の実質臓器は Giemsa 染色による鏡検上類似菌が全く認められなかったのとくに嫌気培養は行なわなかった.

i) 分離株の生物学的性状: 本菌はグラム陽性で $1.0 \mu \times 4 \sim 10 \mu$ 程の円端鈍門の大型桿菌で肝肝ブイオンやクックドミート培地などで旺盛なガス産生を伴って発育した. 乳房組織より分離した本菌の集落5コを任意に釣菌し, おのおのを肝肝加肝藏ブイオンに移植培養しさらに Zeissler ブドウ糖血液寒天で培養した後, それぞれの生物性状検査のための培地に培養, 判定した.

その成績は表2に示すごとくで, いづれもグルコース, ラクトース, サッカロース, マルトースを24時間内に分解した. また硫化水素の産生, セラチンの液化は陽性で, 硝酸塩を還元した. 反面サリシンの分解は陰性で, インドールの産生はなく, 尿素培地での増殖も認められなかった. 一般に本菌種は他のクロストリディアに比

表2 分離株の生物学的性状

	分離株 No.					Control PB6K
	1	2	3	4	5	
グルコース	+	+	+	+	+	+
ラクトース	+	+	+	+	+	+
サリシン	—	—	—	—	—	—
サッカロース	+	+	+	+	+	+
マルトース	+	+	+	+	+	+
硫化水素	+	+	+	+	+	+
インドール	—	—	—	—	—	—
硝酸塩還元	+	+	+	+	+	+
ゼラチン液化	+	+	+	+	+	+
リトマス牛乳	AGC	AGC	AGC	AGC	AGC	AGC
芽胞	+	+	+	+	+	+
運動性	—	—	—	—	—	—
溶血性	+	+	+	+	+	+
レンチナーゼ	+	+	+	+	+	+

べ芽胞を形成しにくいといわれているので種々の培地について試みた結果 Ellner 培地で3日間嫌気培養を行なうことにより卵円形の芽胞形成が観察された。本芽胞の熱抵抗性についてみると 90℃ 10分まで生残し 100℃ 5分では死滅した。

ii) 分離株の血清型別と病原性：東大尾形らの好意による血清型別の成績によれば、分離株の毒素液はマウスを斃さないが、毒素抗毒素中和試験の成績から分離株 (Cl-M) は血清学的にA型であることが判明した。また試験管法による 50 倍ためし凝集反応による成績も、本菌は Type B, C, D, E, F のいずれの抗血清とも反応しなかった。

本菌を HAUSCHILD, A.H. W. ら (1967)²⁾ の cp-2v 培地で 37℃ 6時間培養後の遠心上清は試験管法 (0.5 ml の PBS 稀釈毒素液+0.5 ml の 3%羊血球液, 37℃ 2時間感作) で 1:64 まで完全溶血を起した。同上清液 0.5 ml をモルモットの皮内に接種した場合 48 時間後に約 10 mm×5 mm 大の皮膚壊死域を形成した。また本菌の肝片加肝臓ブイヨン 24 時間培養菌液 0.5 ml をモルモットの腹腔内へ接種したところ24時間内にこれを斃し、体内諸臓器より同菌が回収された。

V 考 察

W. RENK (1962)⁷⁾ は5例の急性感染例について述べているが、いずれも致死的な経過をとり、発熱、下肢、下腹部等の腫脹、乳房、粘膜、皮下結合組織の出血性変状を報告している。また J.O. Foss (1954)¹⁾ が経験した1例も突然の乳房の充血と腫脹による起立不能で、その腫脹部位は陰門、会陰、乳房等を含む下腹部から胸部にいたる広範におよび、体温は 106°F (41.1℃) に上昇したことを報告している。一方、H.J. HEIDRICH (1951)³⁾ も

2例の急性感染について報告しているが、その1例は4分房とも罹患し、予後不良と判定された。他の1例は1分房のみ罹患し一般状態も良好であったため抗生物質、サルファ剤投与により回復したと述べている。著者らの遭遇した症例もまたこれらと同様急性経過をたどり、突然の乳房腫脹と発赤、疼痛、発熱等が観察され急速に全乳房へと拡大している。剖検上も皮下浮腫、出血、壊死等が顕著でおおむね先人の報告と一致している。

今回の感染経路については明確ではないが、剖検時、体表には創傷は認められず、また消化管、実質臓器等にも異常がなく、病変は主として乳房に観察された事等から考え糞便、土壤等に常在する本菌が何等かの誘因によって乳頭口を介して乳槽内に侵入、増殖したものと考えられる。H.J. HEIDRICH, ら (1959)³⁾ は「牛乳房は外界と常に接触、流通する乳頭管があるため本菌の侵入を阻止できない状態にあり、加えて乳房は汚染され数ワラ等の存在する環境におかれている。したがって *Cl. perfringens* が偶発的ではあるが、乳房中に乳頭管を介して侵入することはもちろん可能であり、乳房中に残乳がある場合、本菌にとって好適でその結果増殖が起り、ついには発病せしめるものと推測される。」と述べており、著者らの推論と同様である。W. RENK (1962)⁷⁾ によれば致死的に経過する多くの症例ではブドウ球菌との混合感染の場合が多く、また実験的にも両菌種を接種した場合自然感染致死例と相似の急性症状が起ると報告しているが、今回の著者らの観察例ではブドウ球菌、その他細菌の混合感染は認められなかった。その後間もなく著者ら⁸⁾ は同一牧場牛に本菌A型による Enterotoxemia の発生をみているところから、本農場は *Cl. perfringens* の汚染度がとくに高い状態にあるのではないかと推測されたので同農場繋養牛 35 頭について糞便検索を行ってみたが *Cl. perfringens* はわずか3例から分離されたにすぎず尾形ら⁵⁾ の成績に鑑みてとくに汚染されているとは考えられない。

本分離菌の型別試験を心よくお引き受けいただいた東京大学尾形教授、また病理解剖所見を提供いただいた本学獣医学科病理学教室に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) Foss, J.O.: *North. Amer. Vet.*, 26, 406 (1945).
- 2) HAUSCHILD, A.H.W. et al: *J. Food Sci.*, 32, 467 (1967).
- 3) HEIDRICH, H.J. et al: *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 72, 1 (1959).
- 4) KATITCH, R. et al: *Vet. Bull.*, 38, 436 (1968).
- 5) 尾形ら：日獣学誌, 27, 263 (1965).
- 6) PARSHALL, C.T.: *Cornell Vet.*, 24, 146 (1934).
- 7) RENK, W.: *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 75, 162 (1962).
- 8) 清水ら：第66回日本獣医学会講演要旨 27 (1968).

× × ×