Clostridium perfringens による腸炎をともなった *Haemophilus somnus* 感染症の発生例

抗致死作用については検討していない。著者ら²⁾はさきに、本トキソイドを用いてモルモットを免疫し、マムシ粗毒攻撃に対する致死防御能について検討した。対照の無免疫群は 1,500 μ g の攻撃で全例死亡したのに対し、免疫群では 2,000 μ g の攻撃で全例生残した成績を得ている。このようなことから、マムシ咬傷の際、マムシが 1 回に排出する毒量を 1~2mg と考える時、犬を本トキソイドで免疫することは有効であると考えられる。マムシ咬傷の際は、細菌性毒素のように宿主体内で微量宛産生されるのではなく一時に大量の毒素が注入されるわけで、本トキソイドで免疫しても咬傷部位の出血、壊死などの症状を完全に防止し得る抗体が産生されるものではないが、その症状の軽減、咬傷部位から微量宛全身へ流出して行くであろう致死毒性、とくに嗅覚に及ぼすと思われる神経毒性の失活に有効であろうと考えられる。結局、本トキソイドで犬を免疫する場合、基礎免疫と 3 週後および 3 カ月後の追加免疫計 3 回の注射により、おおむね 6 カ月間血中抗体を持続させることが可能である。

したがって、本トキソイドを猟犬に使用することは、猟犬の猟期前の訓練期間に多発するといわれるマムシ咬症の重症化を緩和するに十分と思われる。なお、本トキソイド注射による犬の血液性状および体重に及ぼす影響はほとんど認められなかった。

本実験に当たり終始ご指導賜った三共中央研究所の服部善八郎博士に深く感謝する。

文 献

- 1) 本間 学, 小管隆夫, 阿部良治: 熱帯医誌, 8 (2) 70~73 (1968).
- 2) 大熊俊一, 福田陽一, 甲 厚大, ほか: *The Snake*, 4 (2) 108~113 (1972).
- 3) 沢井芳男, 川村善治, 福山民夫, ほか: *The Snake*, 3 (1) 1~8 (1971).
- 4) SUZUKI, T.: *Men. Inst. Butantan*, 33 (2) 389~410 (1966).
- 5) 館野 功, 沢井芳男, 牧野正顕: 日本医事新報, 2095, 12~21 (1964).

家 畜 衛 生

Clostridium perfringens による腸炎をともなった
Haemophilus somnus 感染症の発生例

土屋博義* 山本慎一郎* 岩崎充祐* 井手口秀夫* 谷川幸敬* 岩崎英昭* 宮本敏朗*

(昭和 56 年 9 月 18 日受理)

An Outbreak of *Haemophilus somnus* Infection Accompanied with Enteritis Caused
by *Clostridium perfringens*

HIROSHI TSUCHIYA et al. (Miyazaki Livestock Hygiene Service Center, Prefecture of
Miyazaki, Sadohara, Miyazaki 880-02)

SUMMARY

Five fattening cattle weighing 270~280 kg each dies suddenly on a farm in September and October, 1980. Two of them were subjected to autopsy, which revealed congestion and hemorrhage in the brain and the mucosa of the small intestine. Histologically, they exhibited suppurative meningitis with cerebral thrombosis, and necrosis and suppurative inflammation of the mucosal epithelium of the intestine. *Haemophilus somnus* was isolated from the brain and other organs in almost pure form, and *Clostridium perfringens* from the contents of the small intestine.

要 約

宮崎県下の一農家で、1980 年 9 月から 10 月にかけて 270~280kg の肥育牛 5 頭が急死し、そのうちの 2 頭について病性鑑定を行ったところ、剖検所見では脳および小腸粘膜の充出血、組織所見では脳の血栓をともなった化膿性髄膜炎、腸の粘膜上皮の壊死および化膿性炎が認められた。細菌

* 宮崎県宮崎家畜保健衛生所 (宮崎県宮崎郡佐土原町下那珂片瀬原 3182-1)

培養で脳および各臓器から *Haemophilus somnus* がほぼ純粋に分離され、また小腸内容物からは *Clostridium perfringens* が分離された。

肥育牛の伝染性血栓塞栓性髄膜炎は、1956年に GRINER⁶⁾ らによって初めて報告されたが、1969年に BAILIE²⁾ によりその病原体が明確にされて以来、その病原体の名称をとり、*Haemophilus somnus* 感染症と呼ぶようになったが、すでに本症はアメリカ、カナダ、ヨーロッパの各地での発生が報告されている^{3,4,6,9,11,13,18,20)}。

わが国では1978年以降、島根、長崎、静岡などで本症の発生が報告^{7,24,25)}され、現在注目すべき疾病の一つとなっている。

今回筆者らは宮崎県下の一農家において急死した2頭の肥育牛について病性鑑定を行ったところ、*H. somnus* および *Clostridium perfringens* が分離されたのでその概要について報告する。

1. 材料および方法

1) 実験材料

1980年9月19日(No.1)および10月6日(No.2)に死亡した2頭を供試した。

供試牛は10カ月齢と11カ月齢の黒毛和種で、体重はいずれも280kg前後であり、死亡から剖検までの経過はNo.1が3時間、No.2が15時間であった。

2) 実験方法

(1) 病理学的検査：剖検後各臓器を採取し、常法どおり10%ホルマリン液で固定、HE染色を行った。

(2) 細菌学的検査：各臓器および小腸内容物を可検材料とした。培地は、好気性培養では5%ヒツジ血液加寒天培地およびDHL寒天培地を、嫌気性および炭酸ガス培養では5%ヒツジ血液加寒天培地を使用し、37℃で24～48時間分離培養を行った。嫌気性培養はガスバック法および炭酸ガス置換スチールウール法で、炭酸ガス培養はローソク法によった。分離菌については常法^{17,21)}どおりの検査を実施し同定した。

(3) 薬剤感受性試験：1濃度ディスク(昭和)を用いた。

(4) 動物接種試験^{1,8)}

a. 腸管内毒素の証明：腸内容物を生理食塩液で2倍希釈し、7,000rpm 10分間遠沈し、上清10mlに対し1滴のクロロホルムを加えたものを接種材料とし、4匹のマウスの尾静脈内に0.4mlずつ接種した。

b. *C. perfringens* の培養濾液の接種：分離した *C. perfringens* を1%フラクトース加クックドミートブイヨンに接種し、37℃、16時間培養後、3,000rpm 30分間遠沈し、上清をメンブランフィルター0.45μmで濾過したものを2匹のマウスの尾静脈内に0.4mlずつ接種した。

2. 成績

1) 発生状況

発生当時、当該農家には畜舎内に肥育牛(黒毛和種)580頭が飼養されており、1980年8月宮崎市内の市場より購入した体重270～280kgの牛が同年9月13・15日および19日、10月4日および6日にそれぞれ1頭の計5頭が急死した。急死した5頭の臨床所見は共通しており、前日まで全く異常を認めなかったものが、朝になって急に元気・食欲がなくなり突然横臥し、数時間後前肢の突張りや後弓反張などの症状をともなって間もなく死亡した。発生畜舎は鉄骨スレート葺で、コンクリートの床の上にゴムマットが敷いてあり、敷料としてノコズとカンナグズが使用され、飼料は市販の配合飼料と藁が給与されていた。

2) 病理学的検査

(1) 剖検所見：脳には充出血がみられ、腸には粘膜面の充出血および赤褐色の粘液が増量し、管腔内に膿汁を認め、No.2では一部胃壁に癒着していた。リンパ節(ソケイ、腸骨下、腸間膜)には充出血と髄様腫脹が認められ、心房、心室内に凝固血液が貯留し、内外膜に出血斑が散在していた。No.2の脾は第二胃に癒着していた。また、ホルマリン固定した大脳の断面には暗褐色を呈した病巣が認められた。

(2) 組織所見：脳は髄膜に多量の線維素を析出し、出血および好中球の浸潤が見られ、静脈の血栓形成が著明で、これらの髄膜病巣直下および実質には大小さまざまな病巣を形成し、血栓を容れた大小血管を中心に好中球浸潤と出血をともない、大病巣を形成していた。これらの病巣は前頭葉、中央部、後頭葉、中脳、小脳、延髄など全域に見られた。小腸はNo.1では粘膜上皮の剝離および壊死が著明でカタル性腸炎を呈し、好中球、プラズ

写真1 小腸粘膜の充出血および赤褐色粘液増量

写真2 大脳割面の暗褐色病巣(矢印) (ホルマリン固定後)

写真3 脳軟膜下の血栓(a)と髄膜炎(b) (HE 染色 ×40)

写真4 血栓の拡大 (HE 染色 ×40)

写真5 脳実質内に限局した細胞集簇 (HE 染色 ×40)

写真6 小腸における粘膜上皮の剝離および壊死 (HE 染色 ×40)

マ細胞, 好酸球, リンパ球などの細胞浸潤が認められ, 粘膜下組織には線維素析出が見られたが, No.2 では死後変化のため, はっきりとした所見が認められなかった. そのほか肝の類洞内の細胞浸潤, 腎のうっ血および細胞浸潤, 心内外膜の出血, 肺のうっ血性水腫が著明であった.

3) 細菌学的検査

(1) 細菌培養: No.1 の肝, 脾, 腎, 心, 肺, 大脳, ソケイおよび腸間膜リンパ節の嫌気性培養および No.2 の腎, 心, 肺, 大脳, 腸間膜リンパ節の嫌気性および炭酸ガス培養でグラム陰性小桿菌が分離された. また, 両者の小腸内容物中からはそれぞれ 1g 中に 10^7 および 10^{10} 個のグラム陽性大桿菌が分離された.

(2) 同定: 分離したグラム陰性小桿菌は CO_2 要求性(+), XV 因子要求性(-), オキシダーゼ(+), 硫化水素産生(-), 硝酸塩還元(+), Heart infusion 寒天培地に発育せず, 血液加寒天およびチョコレート寒天培地で良好な発育を示し, その他の性状および炭水化物分解能から *H. somnus* と同定した.

また, 小腸内容物から分離したグラム陽性大桿菌は好氣的には発育せず, 嫌気下でのみ発育し, 溶血性, 硝酸塩還元能, 硫化水素産生能, セラチン液化能, レシチナーゼ産生などすべて陽性であった. 牛乳培地での Stormy fermentation は No.1 からの分離株のみが陽性であった. また, 乾燥ウエルシュ菌A型抗毒素濾紙(日水)により中和され, 炭水化物分解能の成績とあわせて *C. perfringens* と同定した.

(3) 分離 *C. perfringens* の薬剤感受性試験: 供試17種の薬剤中, ペニシリン, テトラサイクリン, アンピシリン, バシトラシンなどに強い感受性を示した.

(4) マウス接種試験: 腸内容物および *C. perfringens* の培養濾液をマウスに接種し, 72時間観察したがいずれも異常はみられなかった.

表1 細菌培養成績

部位 牛 No.		肝	脾	腎	心	肺	脳	リンパ節			腸内容物
								ソケイ	腸間膜	腸骨下	
1.	好気性	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Cl
	嫌気性	H	H	H	H	H	H	H	H		
2.	好気性	—	—	—	—	Str Pas	Pas		E	—	E ほか
	嫌気性	—	—	H	H	Cl H	H		Cl H	—	Cl
	CO ₂	—	—	H	H	H	H		H	—	

注) No.1 嫌気性培養: ガスパック法

 Str: *Streptococcus* sp.

No.2 { 嫌気性培養: スチールウール法

 Pas: *Pasteurella* sp.

 CO₂ 培養: ローソク法

 E: *E. coli*

 H: *Haemophilus somnus*

—: 陰性

 Cl: *Clostridium perfringens*

 表2 分離 *Haemophilus somnus* の生化学的性状

グラム染色, 菌形	陰性, 小桿菌
CO ₂ 要求性	+
XV 因子要求性 X	—
V	—
XV	—
カタラーゼ	—
オキシダーゼ	+
クエン酸塩利用	—
ゼラチン液化	—
硫化水素産生	—
インドール産生	—
硝酸塩還元	+
尿素分解	—
ハートインフュージョン寒天培地での発育	—
イーストエキストラクト加ハートインフュージョン寒天培地での発育	+
血液加寒天培地での発育	++
チョコレート寒天培地での発育	++
炭水化物分解	
グルコース	+
ラクトース	—
イノシット	—
マルトース	±
マンニット	+
キシロース	+
マンノース	+
デンプン	—
ソルビット	—
サリシン	—
シュクロース	+

オキシダーゼ	—
硝酸塩還元	+
牛乳培地の变化	St.* または—
硫化水素産生	+
インドール産生	—
運動性	—
ゼラチン液化	+
乳光反応 (レンチナーゼ)	+
A型抗毒素濾紙 (日水) による中和	+
真珠層の形成	—
凝固蛋白の消化	—
炭水化物分解	
ラクトース	+
シュクロース	+
グルコース	+
サリシン	—
耐熱性 (70℃ 15分, 80℃ 10分)	+

注) * Stormy fermentation

 表4 分離 *Clostridium perfringens* の薬剤感受性

ペニシリン	+++
テトラサイクリン	+++
アンピシリン	+++
バシトラシン	+++
クロラムフェニコール	++~+++
リンコマイシン	+~+++
エリスロマイシン	++
キタサマイシン	++
フラゾリドン	++
オレアンドマイシン	+
スピラマイシン	+
ストレプトマイシン	—
カナマイシン	—
コリスチン	—
フラジオマイシン	—
ポリミキシンB	—
ゲンタマイシン	—

 表3 分離 *Clostridium perfringens* の生化学的性状

グラム染色, 菌形	陽性, 大桿菌
好気下での発育	—
嫌気下での発育	+
溶血性	+
カタラーゼ	—

3. 考 察

肥育牛の *H. somnus* 感染症は、欧米諸国をはじめ、最近、わが国でも各地でその発生が報告され、多くのものは中枢神経系の血管炎、血栓、髄膜炎を主徴とする敗血症として記載されているが、そのほかにも呼吸器病¹⁸⁾、流産^{4,22)}、虚弱子牛症候群²³⁾、繁殖障害¹⁰⁾、眼病⁵⁾などの報告もみられる。

従来の文献を通覧すると、SEAMAN¹⁹⁾が *H. somnus* と真菌との混合感染による未経産牛の脳炎例について記載しているほかは、*H. somnus* の単独感染例のようにみられる。

今回、筆者らが遭遇した症例では供試牛の2頭とも *H. somnus* 以外に小腸内容物から *C. perfringens* が分離され、その検出菌数も多かった。剖検所見では、腸粘膜の充出血および赤褐色の粘液増量などがみられたので、腸内容物と分離した *C. perfringens* の培養濾液について、マウスを用いてエンテロトキシンの証明を行ったが、いずれも陰性であったことから、発病牛については該菌のエンテロトキセミアは否定できるものと思われる。また、検査に供しなかった3頭についても畜主の稟告や発病状況などから、同じ原因によるものと考えられる。

光岡¹²⁾によると、*C. perfringens* はヒトや家畜の腸管内では常在菌叢として存在することが明らかにされているが、今回の症例ではいずれもその検出菌数が多く、また腸管の病変も認められることから、発病牛は *H. somnus* と *C. perfringens* との混合感染によって症状が悪化したものと思われる。

ROBERTS ら^{14~16)}は、羊の Infective bulbar necrosis (IBN) の起因菌として、*Fusiformis necrophorus* と *Corynebacterium pyogenes* を分離し、両者の病原的な相乗作用によって発病するとしている。今回の症例でも *H. somnus* と *C. perfringens* との相乗作用が考えられるが、この点についてはさらに野外発生例について詳細な検討が必要である。

H. somnus 感染症の発病誘因としては、長距離輸送、飼料の急変および呼吸器系ウイルスの感染などがあげられているが、今回の5頭の死亡例はいずれも導入後1.5カ月以内に発生しており、牛の移動や環境の急変などがストレスとして作用し、発病したものと考えられる。

稿を終わるに当たり、分離菌の同定および本稿のご校閲をいただいた、家畜衛生試験場九州支場の渡瀬 弘先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 東 量三：牛病学，大森常良ほか編，462～468，近代出版，東京（1980）。
- 2) BAILIE, W. E.: *Can. J. Comp. Med.*, 41, 380～388 (1969)。
- 3) BROWN, L. N., DILLMAN, R. C. & DIERKS, R. E.: *Proc. 74th Annu. Mtg U.S. Anim. Hlth Assoc.*, 94～108 (1970)。
- 4) CHLADEK, D. E.: *Am. J. Vet. Res.*, 36, 1041 (1975)。
- 5) DUKES, J. W.: *Can. Vet. J.*, 12, 180～182 (1971)。
- 6) GRINER, L. A., JENSEN, R. & BROWN W. W.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 129, 417～421 (1956)。
- 7) 原文男，上野八朗，白石忠昭，ほか：第82回日獣学会講演要旨，90 (1979)。
- 8) 橋本和典：家畜衛生研修会記録（病鑑・細菌）4号，7～12 (1980)。
- 9) KENNEDY, F. C., BIBERSTEIN, E. W., HOWARTH, J. A., et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 21, 403～409 (1960)。
- 10) KLAVANO, G. G.: *Can. Vet. J.*, 20, 21 (1979)。
- 11) MACDONALD, D. W., CHRISTIAN, R. G., CHALMERS, G. A.: *ibid.*, 14, 57～61 (1973)。
- 12) 光岡知足：腸内菌の世界—嫌気性菌の分離と同定，叢文社，東京（1980）。
- 13) PRITCHARD, D. G., et al.: *Vet. Rec.*, 12, 126～127 (1977)。
- 14) ROBERTS, D. S.: *Brit. J. Exp. Path.*, 48, 665～679 (1967)。
- 15) ROBERTS, D. S., GRAHAM, N. P. H., EGERTON, J. R.: *J. Comp. Path.*, 78, 1～8 (1968)。
- 16) ROBERTS, D. S.: *J. Inf. Dis.*, 120, 720～724 (1969)。
- 17) 坂崎利一訳：医学細菌同定の手びき，第2版，63，89～94，近代出版，東京（1974）。
- 18) SAUNDERS, J. R., THIESSEN, W. A., JANZEN, E. D.: *Can. Vet. J.*, 21, 119～123 (1980)。
- 19) SEAMAN, W.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 171, 435～437 (1977)。
- 20) STÖBER, M. & PITTERMAN, D.: *Vet. Med./S. A. C.*, 73, 1311 (1975)。
- 21) 鈴木祥一郎：嫌気性菌と嫌気性菌症，69～83，医学書院，東京（1968）。
- 22) VAN DREUMEL, A. A. & KIERSTEAD, M.: *Can. Vet. J.*, 16, 367～370 (1975)。
- 23) WALDHALL, D. G., HALL, R. F., MEINERSHAGEN, W. A., et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 35, 1401～1403 (1974)。
- 24) 山本 明：第90回日獣学会講演要旨，73 (1980)。
- 25) 山下達夫：家畜衛生研修会記録（病鑑・細菌）3号，23 (1979)。