Clostridium perfringens A および C 型菌が検出された新生豚の壊疽性腸炎

山本慎一郎*¹⁾ 土屋博義*¹⁾ 井手口秀夫*¹⁾ 岩崎充祐*¹⁾ 谷川幸敬*¹⁾

岩崎英昭*¹⁾ 宮本敏朗*¹⁾ 浜岡隆文*²⁾ 湊 一*²⁾

(昭和 56 年 12 月 18 日受理)

Gangrenous Enteritis in Newborn Piglets with *Clostridium perfringens* Types A and C Detected
SHINICHIRO YAMAMOTO (Miyazaki Livestock Hygiene Service Center, Prefecture of
Miyazaki, Miyazaki 880) et al.

SUMMARY

On a hog farm in Miyazaki Prefecture a home-produced primiparous sow gave birth to 9 piglets, five of which died within 24 hours after birth, discharging red bloody feces. Autopsy revealed hemorrhagic enteritis in the small intestine, especially in the jejunum. Necrosis, hemorrhage, and emphysema were seen in villi, submucosa, and tunica propria mucosae of the jejunum.

After bacterial culture a small amount of *Clostridium perfringens* was isolated from parenchymatous organs and $10^9 \sim 10^{10}$ organisms/g of this species were from the jejunal contents in dead piglets. When 4 isolated strains were examined for toxin type, 2 strains were of type A organisms and another two of type C ones. The 4 strains showed an α -toxin value of more than 3.

The isolates were highly Sensitive to penicillin, aminobenzyl penicillin, and bacitracin, but not at all to streptomycin, kanamycin, or colistin. Finally, this case was diagnosed as enterotoxemia caused by mixed infection with type A and C organisms of a high virulent strain of *C. perfringens*.

要 約

宮崎県下の一貫経営の養豚場で同腹の新生豚 9 頭のうち 5 頭が生後間もなく赤色血様便を排出し、24 時間以内の甚急性の経過で斃死する事例に遭遇し、死亡豚のうちの 3 頭について病性鑑定を行った。

1) 3 例とも貧血が著明で、肛門周囲に血様便が付着していた。剖検では小腸とくに空腸が全域にわたって出血性腸炎を起こし、粘膜面の充出血、血様液の貯留がみられ、腸壁は菲薄になっていた。肝臓は脆弱となり、腎臓の包膜下には針尖大の出血点が散在していた。病理組織学的検査では空腸の絨毛、粘膜下織、粘膜固有層に壊死、出血、気腫がみられた。

2) 細菌学的検査では 3 例とも実質臓器のほぼ全例から少量と、腸内容の定量培養により $10^9 \sim 10^{10}$ 個/g の *Clostridium perfringens* を分離した。腸内容、肝乳剤、腹水をクロロホルムで処理し、マウスの尾静脈に接種したところ、腸内容についてのみ 24 時間以内にマウスは死亡した。分離した *C. perfringens* 4 株の毒素型別の結果、2 株が A 型、2 株が C 型であり、その α -毒素値はいずれも 3 以上の強毒株であった。

3) 分離株の薬剤感受性試験の結果、ペニシリン、アミノベンジルペニシリン、バシトラシンに強い感受性を認め、ストレプトマイシン、カナマイシン、コリスチンには全く感受性が認められなかった。

わが国における *C. perfringens* による家畜のエンテロトキセミアについては、これまでいくつかの報告^{9,16,26)} がなされており、その毒素型は A 型菌であるとされていた

が、1980 年塩井ら²¹⁾ により福島県下で C 型菌による新生豚の壊疽性腸炎の集団発生がはじめて報告されて以来、大分²²⁾ および福井県下¹⁹⁾ でも C 型菌による発生が報告さ

*¹⁾ 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)

*²⁾ 農林水産省家畜衛生試験場 (茨城県筑波郡谷田部町観音台 3-1-1)

れた本菌が広く浸潤していることが確認された。

今回筆者らは、当所管内の一貫経営の養豚場で同腹の新生豚が、生後 24 時間以内に赤色血様便を排出し、甚急性の経過で斃死する事例に遭遇し、死亡豚の腸管および実質臓器より *C. perfringens* A および C 型菌を分離し、かつその α -毒素値の測定により強毒株であることを確認したので、その概要について報告する。

1. 材料および方法

1) 材 料：斃死豚 5 頭のうち死後間もない 3 頭について検索した。

2) 病理組織学的検査：材料を 10% ホルマリン液で固定し、組織標本を作製、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。

3) 細菌学的検査：主な臓器の塗抹標本を作製しグラム染色により鏡検した。細菌培養は実質臓器については 5% ヒツジ血液加寒天、DHL 寒天、チョコレート寒天培地の各平板を用いて、37°C、24~48 時間、好気性培養、ガスバック法による嫌気性培養、およびローソク法による炭酸ガス培養を行った。また腸内容は滅菌生理食塩液で 10 倍段階希釈し、10% 卵黄加 CW 寒天平板で 37°C、48 時間嫌気培養（ガスバック法）を行った。それぞれの分離菌はグラム染色を施し菌形を確認したのち成書^{4,24)}により生物学的性状を調べて同定した。また嫌気性培養により分離したクロストリジウム様菌については 10% 卵黄加 CW 寒天培地と、*C. perfringens* A 型抗毒素ろ紙（日水）を用いて乳光反応の抗毒素による中和、さらに乳糖分解性の有無を調べた¹⁴⁾。

4) 臓器内毒素の検出^{1,7)}：小腸（空腸）内容、肝臓の 5 倍乳剤および腹水の各 10 ml にクロロホルム 1 滴を加え、7,000 rpm、15 分遠心し、上清を 2 匹ずつのマウスの尾静脈に接種しその生死を 3 日間観察した。

5) 分離株の毒素型別：嫌気性培養より分離した *C. perfringens* 4 株について毒素型別を実施した。

(1) A 型別法：供試株を cooked meat broth にて 37°C、24 時間培養した菌液 0.5 ml を 1% フラクトース加 3% ペプトン水 cooked meat broth に接種し、37°C、16 時間培養液の 8,000rpm、15 分遠心上清を可検毒素液とした。毒素液 1.0 ml に生理食塩液 1.0 ml または A 型抗毒素血清 (25 u/ml) 0.2 ml と生理食塩液 0.8 ml を加え、よく混合し、37°C、30 分感作した。その 0.5 ml を各々 2 匹のマウス尾静脈に接種し、48 時間その生死を観察した。

(2) A 以外の型別法：上記毒素液に生理食塩液のみを加えたもの、および A 型抗毒素血清を加えたものの両者とも、マウスを斃死させた場合、A 型以外として、さらに B、C、D、E 型の型別を行った。A 型判定時と同様の培地および 2% フラクトース加培地を用い、OAKLEY¹⁵⁾

らの方法に準拠して型別した。

6) α -毒素値の測定：EVANS⁵⁾の方法に従い、毒素液 1 ml を中和するのに要する 1 単位の A 型抗毒素血清の量で表現した。中和点を知る指標として用いた卵黄液は VAN HEYNINGEN²⁵⁾の方法により作製し、A 型抗毒素血清は千葉県血清研究所製造のものを使用した。

7) 薬剤感受性試験：分離した *C. perfringens* 4 株につき 1 濃度ディスク（昭和）を用い、ペニシリン、アミノペンシルペニシリン、バントラシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、オレアンドマイシン、ストレプトマイシン、カナマイシンおよびコロistin の 9 薬剤に対する感受性を測定した。なお培地は GAM 寒天培地を使用した。

2. 成 績

1) 発 生 状 況

発生養豚場は常時およそ繁殖豚 100 頭、肥育豚 600 頭を飼養する一貫経営の養豚場で市販の配合飼料を給与していた。1980 年 9 月 4 日夕刻、自家育成の初産豚が 9 頭の子豚を分娩し、翌 9 月 5 日朝そのうちの 5 頭が水様性の血様便を排出し、元気消失しているのを発見した。ただちにカルバドックスを投与したにもかかわらず翌まで

写真 1 小腸とくに空腸における出血性腸炎

写真 2 腎臓：線維素の付着と間質および包膜下の出血 (HE 染色 ×40)

に3頭、夕刻までに2頭の計5頭が甚急性の経過で斃死した。このうちの3頭について病性鑑定を行った。なお母豚と残りの4頭の子豚には異常を認めず、またこの養豚場で過去に類似疾病の発生はなかった。

2) 病 理 学 的 所 見

3例とも貧血が著明で肛門周囲には赤色血様便が付着していた。剖検では血液凝固は正常であったが、腹水が増量していた。著変がみられたのは小腸、とくに空腸が全域にわたる出血性腸炎を起こし、粘膜面の充出血、血様液が多量に貯留しており、腸壁は菲薄になっていた。肝臓は脆弱となり、腎臓の包膜下は針尖大の出血点が散在していた。病理組織学的検査では小腸とくに空腸が全域にわたり絨毛、粘膜下織、筋層の広範な壊死を起こし、さらに粘膜固有層、粘膜下織、漿膜の出血と気腫、血管の変性壊死などがみられた。腎臓は間質および包膜下に出血を起こし、血栓を形成しているものもあった。

写真3 空腸：全域に広範な壊死と出血，漿膜下，筋層間の気腫（HE 染色 ×40）

写真4 空腸：正常な絨毛構造が見られない（HE 染色 ×40）

3) 細 菌 学 的 検 査

- (1) 直接塗抹検査：各実質臓器、腸内容のほぼ全例よりグラム陽性大桿菌を認めた。
- (2) 細菌培養：肝臓、脾臓、腎臓、空腸内容から全例、心臓、肺から1/3、脳から2/3の *C. perfringens* を分離し

表1 細菌培養成績

豚 No.	臓器	肝	脾	腎	心	肺	脳	空腸内容
1	{Cl	+	+	+	-	-	+	+
	{E	+	+	+	-	+	+	(1.5×10^{10})
2	{Cl	+	+	+	-	-	-	+
	{E	+	+	+	-	-	-	+ _A (6.8×10^9)
3	{Cl	+ _A	+ _{C,C}	+	+	+	+	+
	{E	+	+	+	+	+	+	(1.2×10^{10})

注) Cl: *C. perfringens* E: *E. coli* - : 菌分離陰性
+ : 菌分離陽性 数字は試料1g中の菌数
A, C: A-A型菌, C-C型菌

表2 分離株の生化学的性状

項 目	菌 株	265	267	269	270
グ ラ ム 染 色					
形 態					
卵 寒 天					
真 珠 層 の 形 成					
運 動 性					
芽 胞 溶 血 性					
牛 乳 培 地					
硝 酸 塩 還 元 能					
イ ン ド ー ル 産 生 性					
ゼ ラ チ ン 液 化 性					
硫 化 水 素 産 生 性					
炭 水 化 物 分 解 能					
グ ル コ ー ス					
ラ ク ト ー ス					
サ ッ カ ロ ー ス					
サ リ シ ン					
ズ ル シ ッ ト					
マ ン ニ ッ ト					
マ ル ト ー ス					
マ ン ノ ー ス					
肉 の 消 化					
凝 固 タ ン パ ク の 消 化					
75℃, 30 分					
耐 熱 性					

注) S・F: Stormy Fermentation γ: 形成しにくい

た。空腸内容の定量培養では $10^9 \sim 10^{10}$ 個/g の菌数であった。

(3) 分離 *C. perfringens* の生物学的性状：嫌気性培養のヒツジ血液加寒天培地で明瞭なβ溶血を示したものおよびCW卵黄加寒天培地で乳光反応を呈したコロニー4株について生物学的性状を調べた結果、グラム陽性大桿菌、卵黄加寒天培地上でのA型抗毒素濾紙（日水）による乳光反応の中和、牛乳培地での発酵、硝酸塩還元能、硫化水素産生能がいずれも陽性、運動性、インド-

ル産生能、肉の消化、凝固タンパクの消化能が陰性、グルコース、ラクトース、サッカロース、マルトース、マンノースから酸を産生し、サリシン、ズルシット、マンニットからは酸を産生しなかった。以上の成績により *C. perfringens* と同定した。

4) 臓器内毒素の検出

腸内容については24時間以内にマウスは死亡したが、他については3日間観察後も生存していた。

5) 分離株の毒素型別と α -毒素値

4株とも可検毒素液はマウスをすべて死亡させた。このうち2株はA型抗毒素血清により中和されたのでA型と判定された。残りの2株はA型およびA, D抗毒素血清でも中和されず、A, C抗毒素血清で中和されたので、C型と判定した。また α -毒素値は4株とも、3以上の強毒株であった。

6) 薬剤感受性試験

ペニシリン、アミノベンジルペニシリン、バシトラシンに強い感受性を示し、ストレプトマイシン、カナマイシン、コリスチンには全く感受性を示さなかった。

表3 臓器内毒素と分離菌株の毒素型

接 種 材 料	空 腸 内 容	肝乳剂 (×5)	腹 水		
マウスの生死	●	○	○		
項 目	供試菌株	265	267	269	270
毒 素 液	●	●	●	●	
抗 A 毒 素	○	○	●	●	
毒素+抗A・D毒素	—	—	●	●	
抗A・C毒素	—	—	○	○	
毒 素 型	A	A	C	C	
α-毒 素 値	3<	3<	3<	3<	

注) ○: マウス生 ●: マウス死

表4 薬剤感受性試験

ディスク	感受性
ペニシリン	卅
アミノベンジルペニシリン	卅
バシトラシン	卅
テトラサイクリン	卅
クロラムフェニコール	卅
オレアンドマイシン	卅
ストレプトマイシン	—
カナマイシン	—
コリスチン	—

3. 考察

C. perfringens を病因とする家畜の壊疽性腸炎は諸外国では古くから子羊の赤痢や成羊のエンテロトキセミアとして知られ、多くの報告がなされている^{6,10,11,13,17,19}。

豚では1965年、BARNES²⁾によって *C. perfringens* C型菌を原因菌とする子豚の壊疽性腸炎が報告されて以来、デンマーク⁸⁾、米国⁹⁾などでその発生が知られている。これまでわが国で報告された例は、腸管内常在菌といわれるA型有毒株によるもの^{9,16)}、A型有毒株と他のクロストリジウムとの混合感染と思われるもの²⁰⁾、C型菌による子豚の集団発生^{21,22)}などが知られている。

今回の症例はC型菌の強毒株に加えて、本来無毒で正常菌叢¹²⁾として存在するといわれているA型菌の強毒株が関与しており、疫学的な面も含めて注目すべきことと思われる。

STERNE¹³⁾は *C. perfringens* A型菌によるエンテロトキセミアの診断には少なくとも、(1) 腸管内容物からA型菌が多数分離されること、(2) 腸管内容物中に α -毒素の存在が証明されること、(3) 検出された毒素が動物に対して病原性を有していること、以上の条件を最少限度満足することが必要であるとしている。今回は空腸内容物中の α -毒素の証明はできなかったが、マウスを倒す強い毒素を含んでいたこと、空腸内容物中の *C. perfringens* が $10^9 \sim 10^{10}$ 個/gの菌数であったこと、分離株からの α -毒素の測定でも、いずれも3 α -毒素値以上を示す強毒株のA型菌とC型菌であったことにより、本症例はこれら強毒株の混合感染によるエンテロトキセミアであったことは疑う余地がないものと思われる。

近藤⁹⁾によると、エンテロトキセミアと診断した各各3頭の牛、豚から分離した *C. perfringens* A型菌の毒素値は大部分2.5~4.0、また0.5~1.5の間に分布しており、中には6.0の α -毒素値を示す株が存在していたとしている。また塩井²¹⁾によると子豚の壊疽性腸炎から分離した *C. perfringens* C型菌4株の α -毒素値は2.0~3.0であった。豚の壊疽性腸炎はこれまでの報告でも生後短日時のうちに発症から死亡までの転帰をとる場合が多いが、本症例も異常発見後、治療薬として合成抗菌剤が投与されているが効果なく、その経過が甚急性で発症豚全頭が生後間もなく死亡するという激しいものであった。筆者らは、このことは空腸内からの分離菌量が異常に多かったことや、分離菌の α -毒素値が3以上と高かったことと考え併せ、両者の関連性がかなり強いものと推察される。

壊疽性腸炎が成立するためには、豚の環境すなわち畜舎内の糞便、敷料、母豚の体表などに存在している菌が何らかの形で経口的に摂取されることが必要であると考えられるが、今回の発生例では病原菌の侵入経路や発病の誘因については不明であった。また、今回の症例は幸い死亡豚が少なかったが、C型菌が関与している他の発生例では、発生頭数が多く、また致死率も高く、大規模化が進む現況下で一度発生すればその経済的損失も多大なものと思われ、分娩前後の衛生管理、予防対策等につ

いてはさらに今後詳細に検討していく必要があろう。

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) BARNES, D.M., et al.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 144, 1391~1394 (1964).
- 3) BERGELAND, M. E.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 160, 568~571 (1972).
- 4) COWAN, S. T. (坂崎利一訳): 医学細菌同定の手びき, 第2版, 89~94, 近代出版, 東京.
- 5) EVANS, D. G.: *J. Path. Bacteriol.*, 57, 75~85 (1945).
- 6) GRINER, L. A., et al.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 122, 99~102 (1953).
- 7) 橋本和典: 家畜衛生研修会記録(病性鑑定・細菌), 第4号, 7~12 (1980).
- 8) HøH, P.: *Acta. Vet. Scand.*, 8, 26~38 (1967).
- 9) 近藤房生, 尾形 学: 感染症学雑誌, 47, 326~334 (1973).
- 10) MACRAE, D. R., MURRAY, E.G. and GRANT, J. G.: *Vet. Rec.*, 19, 203~204 (1943).
- 11) MCGOWAN, B., MOULTON, J. E. and ROOD, S. E.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 133, 219~221 (1958).
- 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) NILO, L., et al.: *Can. Vet. J.*, 15, 224~226 (1974).
- 14) 西田尚紀: *Cl. welchii* の分離 ことに食中毒との関係について, メディアサークル, 29, 11~18 (1962).
- 15) OAKLEY, C. L. and G. H. WARRACK: *J. Hyg.*, 51, 102~107 (1953).
- 16) 尾田 進, 安原敏治: 全国家畜保健衛生所業績抄録, 昭和46年度(4), 50 (1971).
- 17) ROSE, A. L. and EDGAR, G.: *Aust. Vet. J.*, 12, 212~220 (1936).
- 18) RUSSELL, W. C.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 157, 643~646 (1970).
- 19) 酒井ゆかり: 家畜衛生研修会記録(病性鑑定: 細菌), 第4号, 32 (1980).
- 20) SCHOFIELD, F. W.: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 126, 192~194 (1955).
- 21) 塩井一二三, ほか: 第90回日本獣医学会講演要旨, 108 (1980).
- 22) 志賀一穂, ほか: 昭和55年度日本獣医畜産学会(九州)講演要旨, 81~82 (1980).
- 23) STERNE, M. and THOMSON, A.: *Bull. Off. Int. Epiz.*, 59, 1489~1498 (1963).
- 24) 鈴木祥一郎: 嫌気性菌と嫌気性菌症, 69~83, 医学書院, 東京 (1968).
- 25) VAN HEYNINGEN, W. E.: *Biochem. J.*, 35, 1246~1256 (1941).
- 26) 依田親一, ほか: 第88回日本獣医学会講演要旨, 107 (1979).

17 α -hydroxyprogesterone caproate 投与による牛の習慣性 流産予防試験と乳汁中プロゲステロン値

北川博章*¹⁾ 佐藤邦忠*²⁾ 三宅 勝*²⁾

(昭和57年3月12日受理)

Prevention of Habitual Abortion in Cows with 17 α -Hydroxyprogesterone
Caproate and Progesterone Level in Milk
HIROAKI KITAGAWA et al. (Obihiro University of Agriculture and Veterinary
Medicine, Obihiro, Hokkaido 080)

SUMMARY

Experiments were conducted to investigate the clinical and metabolic effects of long acting progesterone on habitual abortion of dairy cattle.

Fifteen dairy cattle (11 Holstein cows and 4 heifers) were divided randomly into four groups for treatment. Group 1 of 3 cows was given 100 mg of 17 α -hydroxyprogesterone caproate (17 α -OHPC) at 7-day intervals, Group 2 of 4 cows and one heifer 100 mg of 17 α -OHPC at 10-day intervals, Group 3 of one cow and 3 heifers 200 mg of 17 α -OHPC at 7-day intervals, and Group 4 of

*¹⁾ (社)家畜改良事業団前橋種雄牛センター (前橋市金丸町 312)

*²⁾ 帯広畜産大学畜産学部 (北海道帯広市稲田町)