Clostridium perfringens A 型菌が分離された肥育牛の壊死性腸炎の一症例

佐藤良彦^{*1)} 望月明義^{*1)} 平澤博一^{*1)} 太田俊明^{*1)} 古畑敏夫^{*2)}

両角吉三^{*1)} 東條博之^{*1)} 高田俊也^{*1)} 早川源水^{*1)}

(昭和 59 年 9 月 21 日受理)

A Case of Necrotic Enteritis in Beef Cattle Harboring *Clostridium Perfringens* Type A
YOSHIIKO SATO (Matsumoto Livestock Hygiene
Service Center, Matsumoto, Nagano 390) et al.

SUMMARY

In November, 1983, Japanese Black beef cattle approximately 12 months old were purchased from Hokkaido and brought to a farm in the Matsumoto area. Within 16 days, six died. Of them, three died suddenly, showing no specific symptoms and the other three showed respiratory symptoms for 4-5 days before death.

Autopsy on one of the former three revealed severe hemorrhage in the small intestine. The mucous membrane was necrotic and the liver had many necrotic foci. Toxic *Clostridium perfringens* type A ($10^{9.3}/g$) and a minute quantity of coccidial oocysts (*Eimeria bovis*) were found in the intestinal contents. No viruses were isolated. The disease was diagnosed as necrotic enteritis induced by *C. perfringens* type A.

要 約

1983 年 11 月、松本市の肥育牛飼養農家において、北海道から約 12 カ月齢の黒毛和種 34 頭を導入した。

導入後 16 日間に 6 頭が死亡した。このうち 3 頭はとくに症状を示さず急死し、他の 3 頭は呼吸器症状を呈し、4～5 日の経過で死亡した。

急死牛 1 頭を剖検したところ、小腸に高度な出血がみられ、病理組織学的には、小腸粘膜の壊死と、肝に小壊死巣が多数見られた。細菌学的検査では、腸内容から有毒株の *Clostridium perfringens* A 型菌が $10^{9.3}$ 個/g 分離された。寄生虫学的検査では、腸内容から少量のコクシジウムオーシスト (*Eimeria bovis*) が検出された。ウイルス学的検査は陰性であった。

以上の成績から、本症は *C. perfringens* A 型菌が関与した壊死性腸炎と診断された。

導入直後や季節の移行期には各種疾病が頻発し、畜産農家にとってその経済的損失は大きい。

著者は、管内の一肥育牛飼養農家で、導入後に発生した、病原学的にまったく異なる、壊死性腸炎と呼吸器病¹²⁾の症例に遭遇した。

この論文では、*Clostridium perfringens* A 型菌が分離された壊死性腸炎の症例について、その概要を報告する。

1. 材料および方法

1) 検 索 材 料

1983 年 11 月 28 日に急死した牛 1 頭 (No. 2) と、同居牛 10 頭の血清 (11 月 26 日採材) を検査材料とした。

^{*1)} 長野県松本家畜保健衛生所 (長野県松本市島内島高松1913)

^{*2)} 長野県 開業 (長野県東筑摩郡波田町5052)

2) 病 理 学 的 検 査

死亡牛の剖検は 11 月 28 日に行った。剖検後、主要臓器を 10% ホルマリン液で固定し、常法によりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、グラム染色を施し鏡検した。

3) 細 菌 学 的 検 査

死亡牛の主要臓器および小腸内容については好気性培養としてマッコンキー培地、DHL 培地、ハートインフュージョン培地を、7% CO₂ 培養にはめん羊血液寒天、ブドウ糖血液寒天を用いた。また嫌気性培養には CW 寒天、GAM 寒天を用いた。分離菌はグラム染色を施し菌形を確認後、生物学的性状により同定した^{4,5)}。

C. perfringens の型別と毒素値の測定は、東ら¹⁾ および Evans⁶⁾ の方法に従い実施した。

分離菌の薬剤感受性試験は、一濃度ディスク法(昭和)

を用い, 14 種の薬剤について感受性をしらべた。

同居牛 10 頭の *Haemophilus somnus* に対する抗体検査は, 家畜衛生試験場より分与された抗原を用い, マイクロタイター法により実施した。

4) ウイルス学的検査

死亡牛の気管, 肺, 小腸内容を牛胎児腎細胞および牛精巢細胞に接種し, ウイルス分離を試みた。

5) 寄生虫学的検査

死亡牛の腸内容を飽和ショ糖液による浮遊法で集卵して検査した。

2. 成績

1) 発生状況

発生農家は従来から肥育（黒毛和種およびホルスタイン種）を専業とし, 常時約 280 頭を飼育していた。

1983 年 11 月 12 日に北海道から約 12 カ月齢の黒毛和種 34 頭を導入し, 1 牛房に搬入したところ, 臨床症状が見られなかった牛 3 頭が 11 月 16 日, 17 日および 28 日 (No. 2) に急死した。なお, 導入 6 日後の 11 月 18

日から導入牛の半数以上に呼吸器症状が見られ, 抗生剤および対症療法によって加療したが, 重症牛 3 頭が 11 月 24 日, 25 日および 28 日に死亡した。他の牛房の牛 250 頭には異常は認められなかった。

発生当時の気象状況は, 導入日より寒冷期への移行期で, 最低気温が 0°C を下回る日が続くようになり, さらに日差が $10\sim 16^{\circ}\text{C}$ を示す日が多かった。

2) 剖検所見

死亡牛の腹囲は著しく膨満していた。

小腸および大腸上部の粘膜は赤色を帯び, 暗赤色血様の内容物を多量に容れ(写真 1), 腸リンパ節は軽度 to 腫大していた。

第四胃の漿膜面および粘膜面には赤色点が見られ, 赤色水様の胃内容物を容れていた。

脾は著しく腫大し, 剖面より泡沫を含む血液が多量に流出した。

肝は表面が粗糙で軽度 to 腫大し, 剖面は褪色, または暗赤色斑が見られた。

心は心外膜に出血点が見られ, 心内膜, とくに左心

写真 1 小腸の暗赤色血様を呈した腸内容
写真 2 小腸粘膜の壊死と円形細胞の浸潤 (HE 染色)
写真 3 小腸粘膜内のグラム陽性大桿菌 (グラム染色)
写真 4 肝の小壊死巣 (HE 染色)

室に広範な出血斑が見られた。

3) 病理組織学的所見

小腸の粘膜上皮は変性壊死・脱落し、腔内に壊死産物、赤血球、グラム陽性大桿菌が見られた。粘膜の壊死は下織に波及し、周囲に円形細胞の浸潤が見られた(写真2)。固有層には円形細胞の浸潤と出血が見られ、固有層、下織の血管は拡張し、血管内に好中球の集塊が見られた。変性壊死に陥った粘膜内には多量のグラム陽性大桿菌が見られた(写真3)。

第四胃では粘膜上皮の表層が軽度剝離し、固有層には円形細胞、好中球および好酸球の軽度な浸潤が見られ、固有層、下織の血管は拡張していた。

肝は類洞が拡張し、血液の高度なうっ滞と細網内皮系細胞の活性化が見られた。また、肝細胞は萎縮変性し、小壊死巣が多数見られた(写真4)。

心は心内膜下筋層に高度な出血と好中球の浸潤が見られ、中小血管は拡張していた。

表1 細菌検査成績

分離材料	分離菌	<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>
脳		—	—
脊髄		+++	—
心		—	—
肺		—	—
肝		+	—
脾		+	—
腎		—	—
小腸内容		$10^{9.3}/g$	$10^{7.2}/g$

表2 分離 Clostridium の性状

性 状	判 定	性 状	判 定
グラム染色	陽 性	ゼラチン液化	+
菌 形	大桿菌	硝酸塩還元	+
好気発育	—	インドール産性	—
嫌気発育	+	硫化水素産性	+
溶血性	+	グルコース	+
レンチナーゼ反応	+	マルトース	+
レンチナーゼ反応中和	+	ラクトース	+
運動性	—	サッカロース	+
牛乳培地	C-SF	サリシン	—
ガス産性	+		

注) C: 凝固 SF: Stormy fermentation

表3 *C. perfringens* 型別および α -毒素値

被 検 菌	中和試験	接種試験	α -毒素値
脊髄分離株1	○ ○	× ×	
脊髄分離株2	○ ○	× ⊗	1.5
小腸分離株1	○ ○	× ×	2.0
小腸分離株2	○ ○	× ×	1.5

注) ○: 生存 ×: 4時間以内死亡 ⊗: 4時間後死亡

4) 細菌学的検査

死亡牛の小腸内容から Clostridium 属菌が $10^{9.3}$ 個/g 分離され、また腎臓、肝、脾などからも純粋に分離された(表1)。分離 Clostridium の性状は表2に示すように、ラクトース分解、牛乳培地上での特徴的な凝固様式、レンチナーゼ反応陽性、さらにA型抗毒素血清含有濾紙によるレンチナーゼ反応の特異的中の成立から *C. perfringens* と同定された。この他、小腸内容から *Escherichia coli* が $10^{7.2}$ 個/g 分離されたが、*Haemophilus somnus* は分離されなかった。なお、同居牛 10 頭の *H. somnus* に対する抗体価は2頭が 20 倍、5頭が 40 倍、3頭が 80 倍であった。

C. perfringens の型別はマウスを用い、A型抗毒素血清(千葉血清)による毒素中和試験で実施し、分離株(4株)の中和群はすべて生存し、対照群は4時間以内に死亡したこと、A型菌と同定された(表3)。分離菌の *in vitro* における α -毒素値は 1.5~2.0 で、75℃ 30 分間の加熱に対し耐性を示した。

薬剤感受性試験では、アンピシリン、ロイコマイシン、クロラムフェニコール(++)、ペニシリン、オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン(+)に感受性を示した。

5) ウイルス学的検査

死亡牛の気管、肺、小腸内容を牛胎児腎細胞、牛精巢細胞に接種し、3代継代して観察したが、ウイルスは分離されなかった。

6) 寄生虫学的検査

死亡牛の腸内容から少量のコクシジウムオーシストが検出された。このオーシストは卵円形でミクロバイルを有し、大きさは平均 $19.5 \times 29.2 \mu$ (短径×長径)で、オーシストの形態から *Eimeria bovis* と同定された。

3. 考 察

C. perfringens A型菌による壊死性腸炎の発生は幼牛に多いといわれているが^{2,3,8}、最近では肥育牛^{9,14} および搾乳牛¹⁰ についても発生報告がみられるようになった。

本症例は、急死牛の小腸内容から有毒株の *C. perfringens* A型菌が $10^{9.3}$ 個/g 分離され、病理組織学的には小腸粘膜に細胞反応をともなった壊死が見られ、さらに肝の巣状壊死、心筋の高度な出血等の病変から、肥育牛にみられた *C. perfringens* A型菌による壊死性腸炎と診断された。なお、本症と類症鑑別上問題となる *H. somnus* の感染は、細菌学的、病理学的検査成績から否定された。

家畜における壊死性腸炎は、豚^{10,16,17,19}、鶏^{13,15,18} で報告されているが、これらは *C. perfringens* の異常増殖をとまない、エンテロトキセミアの範疇に含まれるものと考えられる。*C. perfringens* A型菌の増殖機序は十分解明されていないが、平澤ら⁷ は、鶏でコクシジウムの感染により、*C. perfringens* A型菌が異常増殖することを報告した。

本症例では、腸内容から少量のコクシジウム (*E. bovis*) が検出されたが、腸粘膜にはコクシジウムによる組織病変が見られず、コクシジウムと *C. perfringens* A型菌の異常増殖との関連は薄いものと考えられた。

発生農家には、肥育牛が約280頭飼育されていたが、本症の発生は11月12日の導入牛にのみ見られた。このことから遠隔地からの輸送、飼料および環境の急変、さらには季節の移行期における日差の増大、寒冷感作等のストレスが腸内フローラの変動と *C. perfringens* A型菌の異常増殖を招き、壊死性腸炎の発生にいたったものと推察された。

文 献

- 1) 東 量三, 近藤房生: 鶏病研報, 17, 1~20 (1981).
- 2) 東 量三: 牛病学, 大森常良ら編, 第1版, 453~468, 近代出版, 東京 (1981).
- 3) BRUNER, D. W. and GILLESPIE, J. H.: *Hangan's Infectious Diseases of Domestic Animals*, 6th ed., Cornell University Press, Ithaca and London (1973) [家畜感染症(上)(大島 慧訳, 第1版, 351~393, 医歯薬出版, 東京 (1976))].
- 4) BUCHANAN, R. E. and GIBBONS, N. E.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore (1974).
- 5) COWAN, S. T.: *Manual for the Identification of Medical Bacteria*, 2nd ed., Cambridge University Press (1974) [医学細菌同定の手びき (坂崎利一訳), 近代出版, 東京 (1974)].
- 6) EVANS, D. G.: *J. Pathol. Bacteriol.*, 57, 75~85 (1949).
- 7) 平沢博一, 高田俊也, 佐藤良彦, ほか: 畜産の研究, 37, 1419~1423 (1983).
- 8) JONES, T. C. and HUNT, R. D.: *Veterinary Pathology*, 5th ed., 582~584, Lea and Febiger, Philadelphia (1983).
- 9) 梶原忠彰, 南川礼二, 宮地万吉, ほか: 獣畜新報, 752, 171~173 (1984).
- 10) 村岡実雄, 田形 弘, 藤井満貴, ほか: 畜産の研究, 36, 847~850 (1982).
- 11) 桜井健一, 渡辺文男, 松岡俊和, ほか: 第25回関東甲信越家畜保健衛生業績発表会 (1984).
- 12) 佐藤良彦, 平沢博一, 長田宣夫, ほか: 日獣会誌, 38, 45~48 (1985).
- 13) 鈴木達郎, 小泉 勉, 村島孝志, ほか: 畜産の研究, 35, 662~666 (1981).
- 14) 利部征夫, 西村和徳, 田村隆男, ほか: 家畜診療, 212, 18~20 (1981).
- 15) 和田政夫, 山崎宗延, 繁田孝美, ほか: 鶏病研報, 15, 123~126 (1979).
- 16) 山本慎一郎, 土屋博義, 井手口秀夫, ほか: 日獣会誌, 35, 394~398 (1982).
- 17) 山之内鉦実: 獣畜新報, 726, 18~21 (1982).
- 18) 柳田美俊, 伊藤 隆: 鶏病研報, 19, 33~35 (1983).
- 19) 依田親一, 平井 孝, 岩夫俊彦, ほか: 日獣会誌, 34, 368~373 (1981).

技 術 講 座

小動物臨床におけるクスリの使い方 (XIX)

6. 消毒薬の薬理作用とその使い方 (その2)

松 本 治 康*

4. 常用消毒薬の性状

消毒の対象により、また目的によって、使用する消毒薬の種類と濃度が異なる。その主なものを挙げ、それらの効果、用法用量、使用上の注意点などを述べる。

1) アルコール類

(1) エタノール: エタノールは、注射部や手指などの皮膚消毒薬として最も古いものの一つであり、現在も広く用いられている。広い範囲の細菌に対して強い殺菌効

果を示し、これに関する過去の報告例を示すと表3のとおりである。グラム陽性菌、陰性菌および一部のウイルスに有効であるとされている。細菌栄養型細胞では、70~90%液により15~60秒で殺菌されるが、細菌芽胞に対しては静菌作用を示すにすぎず、真菌に対しても効果が乏しく、1時間以上の処理を要するとみられる。エタノールの濃度とその殺菌力の関係は重要であり、局方消毒用エタノールはその濃度が69.85~74.84% (76.8~81.2 v/v%) と決められている (図3)。この範囲で細胞透過性が大となる。

消毒用エタノールは洗浄力があり、容易に蒸発するこ

* 山口大学農学部 (山口市大字吉田1677-1)