

*Clostridium perfringens*による牛の壊疽性乳房炎の一事例

○青山真理恵、矢彦沢小百合、小林良人
(伊那家畜保健衛生所)

要 約

2018年10月に管内酪農家で分娩間近の初妊牛に高熱、元気消失、食欲廃絶および右前後乳房の冷感、暗紫色変化、ガス貯留を確認した。乳汁の細菌検査で *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) A型菌を 2.0×10^4 cfu/ml 以上分離した。獣医師が治療を実施したが、乳房から下腹部、臀部、外陰部の広範囲にわたり浮腫を呈し、泌乳停止となり、発病から約2週間後に、と畜場へ出荷された。乳房を含む各臓器の細菌検査では、乳房から *C. perfringens* および *Escherichia coli* (*E. coli*) を多数分離した。乳房の組織検査では急性炎症像とともに、乳腺の壊死、グラム陽性大桿菌がみられ、二次感染と思われる多数のグラム陰性桿菌およびグラム陽性球菌を確認した。検査結果を総合して、本症例を *C. perfringens* による壊疽性乳房炎と診断した。

はじめに

牛の壊疽性乳房炎は甚急性乳房炎の一種で⁽²⁾、食欲廃絶、発熱、起立困難等の顕著な全身症状とともに、局所症状として乳房の浮腫および乳房皮膚の紫赤色変化、冷感を呈し、時間経過とともに罹患乳房が壊死脱落する^(2,3,4,5)。分娩期または産褥初期の発生が多く^(3,4)、80%が分娩後1週間以内に発生する^(6,8)。また、発症すると、しばしば起立困難を伴う重篤な症状を示し^(3,4)、治療効果を得られることなく約95%が死産の転帰をとると報告されており⁽⁶⁾、発生により農場が被る被害は大きい。壊疽性乳房炎の原因菌としては、80%が *E. coli*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella pneumoniae* 等の大腸菌群であると報告されており⁽⁷⁾、*Staphylococcus aureus* についても多くが報告されているが^(1,5)、*C. perfringens* による壊疽性乳房炎の発症報告は前出の菌種と比較すると少ない状況にある。

今回、管内の一酪農家において、*C. perfringens* による牛の壊疽性乳房炎と診断された事例に遭遇したため、概要を報告する。

農場の飼養管理状況

発症農場は、乳用雌牛（ホルスタイン種）を140頭（成牛90頭、育成牛40頭、子牛10頭）飼育する酪農家である。子牛は自家育成で、分娩房、カーフハッチ、育成牛舎を経た後、体重・体高が基準に達した個体に対して人工授精を実施し、受胎確認後、農場敷地内の育成牛用放牧地にて群管理の昼夜放牧で管理していた。その間の飼料は放牧地の牧草と、一日1kgの濃厚飼料であった。分娩予定日2か月前に放牧地から乾乳牛舎へ移動し、昼間はパドックで管理していた。その後、分娩兆候が確認された個体については、分娩房の空き状況や個体の様子等の状況により分娩房または搾乳牛舎へ移動させていた。

材料および方法

(1) 発症牛

2016年11月21日生まれの22か月齢の初妊牛で、2018年10月に壊疽性乳房炎様症状を呈した個体。

(2) 細菌学的検査（乳汁）

薬剤投与前の乳汁を材料として、常法に従

い、好気培養では 5%羊血液加寒天培地、DHL 寒天培地、マンニット食塩加寒天培地、サブロー寒天培地、X-SA 寒天培地、クロモアガーオリエンタシオン寒天培地を、嫌気培養は 5%羊血液加寒天培地、卵黄加 CW 寒天培地を用いて 37°C で実施した。

(3) 細菌学的検査（臓器）

と畜後に採材した乳房、乳房上リンパ節、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、骨格筋の各一部を材料として常法に従いスタンプ培養した。好気培養は 5%羊血液加寒天培地、DHL 寒天培地を、嫌気培養は 5%羊血液加寒天培地、卵黄加 CW 寒天培地を用いて 37°C で実施した。

(4) 分離 *C. perfringens* の毒素型別検査

Uzal ら⁽⁹⁾のプライマーを用いた PCR 検査を実施した。

(5) 薬剤感受性試験

分離した *C. perfringens* について、薬剤感受性ディスク（栄研）を用いた一濃度ディスク拡散法により実施した。薬剤はペニシリン、アンピシリン、エリスロマイシン、オキシテトラサイクリン、エンロフロキサシン、ピルリマイシンの 6 薬剤を用いた。なお、培地は 5%羊血液加ミューラーヒントン寒天培地を使用した。判定は当該薬剤に対する *C. perfringens* の発育阻止帯の直径を測定した。なお、当該薬剤感受性ディスクの薬剤判定基準の対象菌種に *C. perfringens* が含まれないため、参考程度の判定とした。

(6) 病理組織学的検査

と畜後に採材した乳房、乳房上リンパ節、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、骨格筋を 10%ホルマリン液で固定後、常法に従い組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行なった。乳房についてはグラム染色も追加して実施した。

成 績

(1) 臨床症状

当該症例は 2018 年 9 月 29 日に分娩予定であり、分娩予定日 10 日前に搾乳牛舎へ移動したものの、分娩予定日を過ぎても分娩に至らず、10 月 2 日に分娩房へ移動したところで飼養者から食欲廃絶と乳房の冷感、乳汁から腐敗臭がするとの稟告により求診があった。

(2) 治療経過

第 1 病日（10 月 2 日）は体温 40.5°C、食欲廃絶、元気消失、右前後乳房の冷感と乳頭の暗紫色への変色を認めた（写真 2）。乳汁は暗赤色で強い腐敗臭を発しており（写真 3）、乳房内にガスが大量発生していた。また、消瘦が認められた（写真 1）。臨床症状より大腸菌群による壊疽性乳房炎を疑い、獣医師がエンロフロキサシン製剤、解熱鎮痛剤、ヘパリンナトリウムとステロイド剤の静脈内投与とオキシトシンの筋肉内投与とセフェム系製剤とステロイド剤を生理食塩水に融解させた溶液による乳房内洗浄による治療を実施した。翌日 10 月 3 日、死産し、元気・食欲は回復したが、乳房・乳汁の様相に変化はなく、前日と同じ治療を実施した。10 月 5 日には再び元気消失・食欲低下し、右側乳房から下腹部、臀部、外陰部にわたって浮腫を呈し、泌乳停止となり、治療を中止した。10 月 6 日からは周囲への汚染防止のために放牧地にて管理した。発病から約 2 週間後の 10 月 16 日に、と畜場へ出荷した。その間、元気・食欲は低下していたものの、自力歩行は可能で全身状態は安定していた。

(3) 細菌学的検査

乳汁から *C. perfringens* が 2.0×10^4 cfu/ml 分離された。臓器・組織からは、*E. coli*、*C. perfringens* がそれぞれ多数分離された。



写真1 当該症例の外貌



写真2 当該症例の乳房

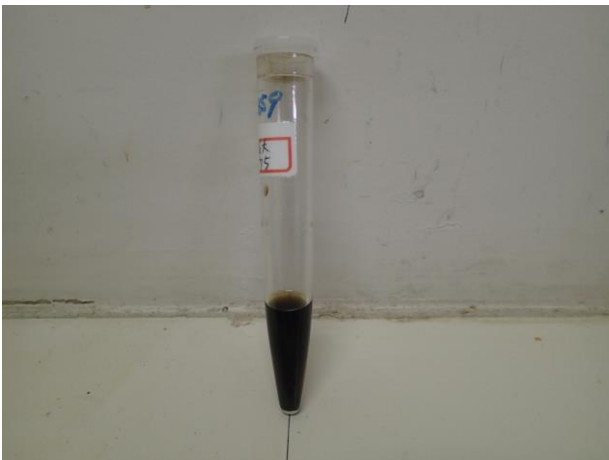


写真3 乳汁の外観



写真4 乳房断面の所見

(4)分離 *C. perfringens* の毒素型別

α 毒素に特異的な遺伝子を検出し、A型菌であると判定した。

(5)薬剤感受性試験

アンピシリンに感受性を示し、ペニシリン、ピルリマイシンに抵抗性を示した。エリスロマイシン、オキシテトラサイクリン、エンロフロキサシンは感受性と抵抗性の中間を示した。

(6)病理組織学的検査

乳房に壊死、炎症細胞浸潤等の病理学的異常を認めたが、その他の臓器に著変は認められなかった(表1)。

表 1 病理組織学的検査（写真 4～10）

臓器	所見	病変の程度
乳房	漿膜付近の線維化、固有構造消失	+++
	乳腺の壊死、および壊死巣内へのグラム陽性球菌およびグラム陰性桿菌浸潤	+++
	壊死巣およびその辺縁部に好中球、リンパ球およびマクロファージの浸潤がみられた。	+++
	壊死部に線維素の析出がみられた。	++
	壊死部にグラム陽性大桿菌がみられた。	+
	漿膜面付近の血管内に血栓がみられ、血栓表面には血管内皮細胞がみられた。また、一部では血管炎もみられた。	+
心臓、肝臓、脾臓、腎臓、乳房上リンパ節および骨格筋に著変は認められなかった。		

表中記号：+；軽度、++；中等度、+++；重度

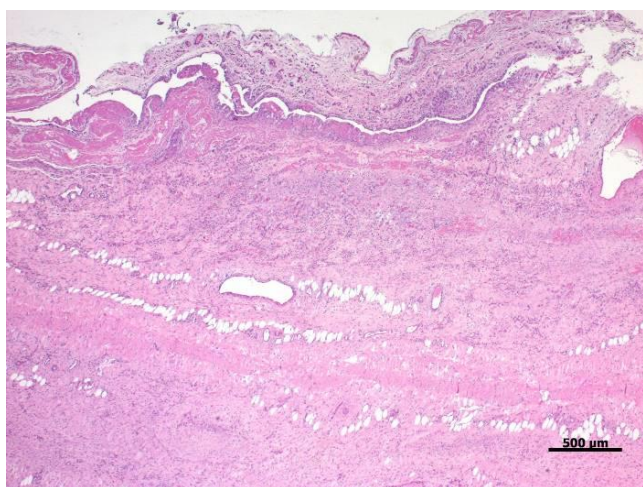


写真 5 ×25 HE 染色 乳房
漿膜付近の線維化

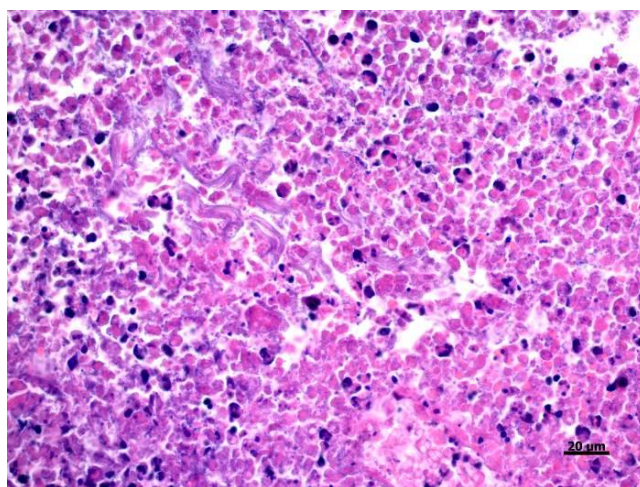


写真 7 ×400 HE 染色 乳房
炎症性細胞浸潤および炎症細胞の退廃物

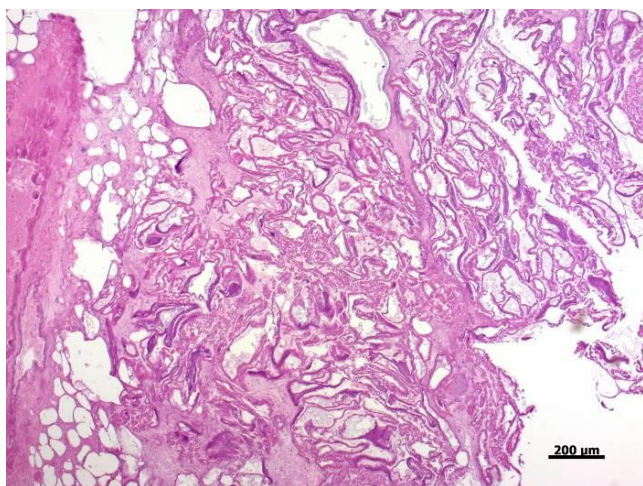


写真 6 ×50 HE 染色 乳房
乳腺の壊死

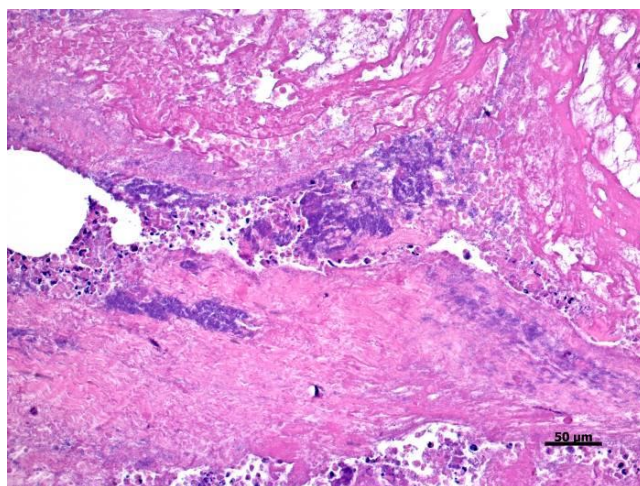


写真 8 ×200 HE 染色 乳房
線維素析出と菌塊

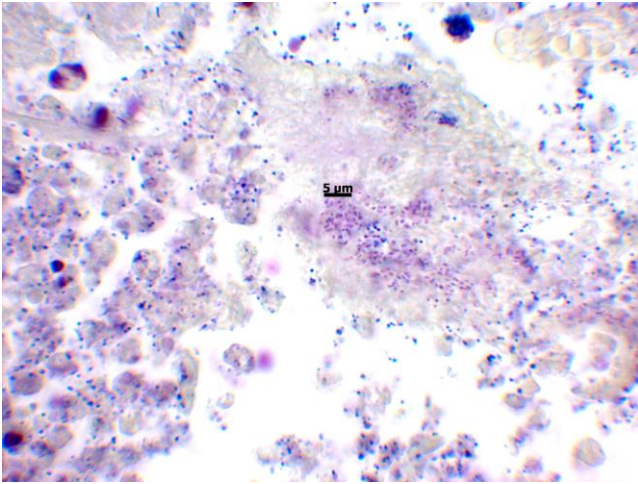


写真9 ×1000 グラム染色 乳房
グラム陰性桿菌およびグラム陽性球菌

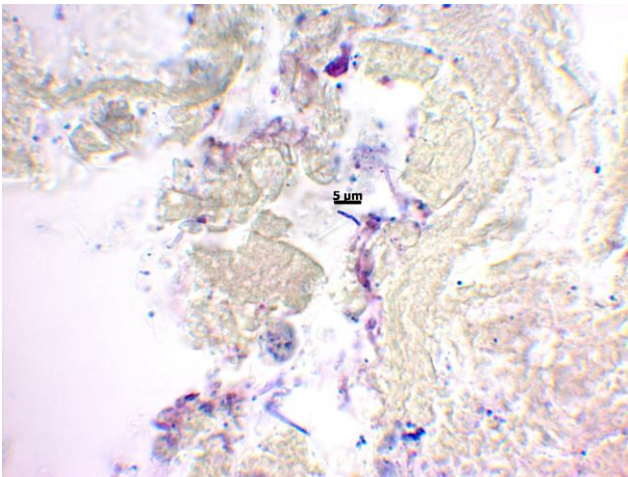


写真10 ×1000 グラム染色 乳房
グラム陽性大桿菌

考 察

本症例では、乳汁から *C. perfringens* のみが分離されたが、乳房からは *C. perfringens* と *E. coli* が分離された。また、組織検査ではグラム陽性大桿菌は少数であり、それ以外のグラム陰性桿菌とグラム陽性球菌を多数認めた。検査結果が完全には一致しなかった原因としては、治療実施前に乳汁を採材してから臓器を採材するまでに14日が経過しており、その間に二次感染したと推察された。治療実施前の乳汁から *C. perfringens* が単独で 2.0×10^4 cfu/ml と多数分離されたことと、病理組織学的に乳房に壊死や炎症細胞浸潤を認めたことから、本症例は *C. perfringens* による壊

疽性乳房炎と診断した。

C. perfringens は偏性嫌気性菌であるため、通常実施している乳汁の細菌検査では検出困難であり、見落とす可能性がある。本症例のように、臨床的に壊疽性乳房炎を疑うような症状が確認されたり、飼養環境から原因菌に *C. perfringens* の関与を疑うような場合には、細菌培養をする前に乳汁の塗抹染色を行ってグラム陽性大桿菌の有無を確認し、当初から嫌気培養を実施することが必要であると思われる。このことで、検査段階において *C. perfringens* による壊疽性乳房炎の見落としを防ぐことができ、治療等の対策につながると考えられる。

本症例の発症要因は3点が挙げられる。1点目はストレスである。本農場では、当該個体の分娩間近である9月30日から台風が接近し、5日間に渡って農場は停電し、給水や換気送風に影響を及ぼした。そのような間接的な影響に加え、台風の暴風雨による轟音も直接的なストレスであったと考えられる。また、飼養者の業務量増大に伴い、個体管理が困難となった。さらに、台風に加えて分娩前に、乾乳牛舎から搾乳牛舎、分娩房へと移動が立て続けにあったこともストレスとして考えられる。2点目は栄養状態である。受胎確認後から育成後期まで放牧地にて群管理していた間、草地の生育不良や個体間の順位付けなど何らかの要因によって当該牛が十分な栄養を確保することができず、結果として消瘦し、十分な免疫力が保持できていなかった可能性が考えられる。3点目は乳頭の衛生管理の未実施である。獣医師が分娩前後には乳頭ディッピングを励行するように指導していたが、本症例までは飼養者が実施に至らず、乳頭口からの *C. perfringens* の侵入があったものと考えられる。

これら発症要因を考慮して、今後の農場の *C. perfringens* による壊疽性乳房炎の発症対策については次の3点が挙げられる。1点目は飼料給与量を確保し、育成後期の栄養状態を改善すること。2点目は除糞、牛床消毒等

の徹底などにより一般的衛生管理を改善すること。このうち、続発予防のために当該牛がいた分娩房は徹底した消毒が既に行われた。3点目は分娩前ディッピング励行などの乳頭・乳房の衛生管理である。こちらに関しても本症例の発生以降、飼養者がディッピング励行に努めている。これらの対策実施により、現在、この農場で *C. perfringens* による壊疽性乳房炎の続発は起きていないが、今後も対策を継続していく方針である。

引用文献

- 1) W. Nelson Philpot, Stephen C. Nickerson : 乳房炎との戦いに打ち勝つために, Dairy Japan, 東京 (2001)
- 2) 石原孝介ら : 十勝乳房炎協議会 20 周年記念誌『MASTITIS CONTROL II』, 35, 十勝乳房炎協議会, (2014)
- 3) G. Rosenberger ら : 牛の臨床検査診断, 394-395, 近代出版, 東京 (1995)
- 4) 其田三夫 : 主要症状を基礎にした牛の臨床, 712-714, デーリイマン社, 札幌 (1989)
- 5) 浜名克己ら : 牛の乳房炎コントロール増補改訂版, 緑書房, 東京都 (2012)
- 6) 函城悦司ら : 乳牛の壊疽性乳房炎に関する研究 1. 発生状況, 日獣会誌, 第 33 号, 319-324 (1980)
- 7) 函城悦司ら : 乳牛の壊疽性乳房炎に関する研究 3. リムルステストによるエンドトキシンの検出, 日獣会誌, 第 35 号, 330-334 (1982)
- 8) 原茂ら : 麻布獣大研究報告, 21, 53-79 (1971)
- 9) Uzal FA, et al. (1997) PCR detection of *Clostridium perfringens* producing different toxins in faeces of goats. Lett Appl Microbiol 25. 339-344