

Clostridium perfringens C型菌による新生豚の壊死性腸炎

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者名	大沼,裕 近藤,博 斎野,仁 田口,雅持 大野,明 松田,敬司
発行元	日本獣医師会
巻/号	45巻10号
掲載ページ	p. 738-741
発行年月	1992年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Clostridium perfringens C型菌による新生豚の壊死性腸炎

大沼 裕* 近藤 博 斎野 仁 田口雅持 大野 明 松田敬司

北海道石狩家畜保健衛生所（札幌市豊平区羊ヶ丘3 〒062）

（平成3年9月10日受付・平成4年5月22日受理）

Necrotic Enteritis due to *Clostridium perfringens* Type C in Newborn Piglets

YUTAKA OHNUNA*, HIROSHI KONDO, HITOSHI SAINO, MASAJI TAGUCHI,

AKIRA OHNO, TAKASHI MATSUDA

Ishikari Livestock Hygiene Service Center, Hokkaido Prefecture, Sapporo-shi, Hokkaido 062

SUMMARY

Necrotic enteritis caused by *C. perfringens* type C broke out on a breeding pig farm in the Ishikari region in February 1990. Thirteen newborn piglets of a litter had hemorrhagic diarrhea and became weak on the second day after birth. Most of them died on the following day. At autopsy, the dark-red jejunum with subserous emphysema was found to be grossly conspicuous. The lumen contained a dark-red mass of coagulum. Microscopically, the jejunum was necrotic and hemorrhagic throughout the mucosa, submucosa and part of tunica muscularis. By inoculating an intestinal supernatant fluid from 2 piglets into mice, toxins were demonstrated and not neutralized by the antiserum to the toxin of *C. perfringens* type A. *C. perfringens* was isolated 10^8 to 10^9 /g from the intestinal contents of 10 piglets, and all the 10 isolates were identified as being type C by the toxin-antitoxin neutralization test. *C. perfringens* type C was not isolated from the sow having diseased piglets, but was so from 1 of 4 breeding sows.

—Key Words : *Clostridium perfringens* type C, newborn piglet, necrotic enteritis.

-----J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 45, 738~741 (1992)

要 約

1990年2月、北海道石狩管内の養豚場で、1腹の生後2~3日齢の新生豚13頭に血便を呈し衰弱、急死する疾病が発生した。病性鑑定を実施した10頭の剖検では小腸の充出血が著しく、病理組織検査では小腸の粘膜組織の壊死と出血が認められた。腸管内からの毒素の証明はマウス接種により行い、*C. perfringens* A型抗毒素血清では中和されない毒素が認められた。細菌検査では小腸から*C. perfringens*が 10^8 ~ 10^9 /g分離され、抗毒素血清による型別を行った結果C型菌と判定された。これらの成績から*C. perfringens* C型菌による壊死性腸炎と診断した。発生した新生豚の母豚からは*C. perfringens* C型菌は分離されず、同居の繁殖豚4頭中1頭の糞便からC型菌が分離された。

—キーワード : *Clostridium perfringens* C型菌, 新生豚, 壊死性腸炎。

-----日獣会誌 45, 738~741 (1992)

Clostridium perfringens (*C. perfringens*) C型菌は新生豚の壊死性腸炎の主要な原因菌として知られ⁹⁾、諸外国では本菌による多くの症例が報告⁹⁾されている。

わが国では、*C. perfringens* C型菌が分離された新生豚の壊死性腸炎は1980年に塩井らによって福島県下の例が報告^{2,11)}されて以来数例の報告^{8,10,14~16)}がある。しかし、北海道では本菌が分離された症例の報告はない。

今回、われわれは石狩管内の1養豚場で*C. perfringens* C型菌による新生豚の壊死性腸炎に遭遇した。

材料および方法

材 料

2~3日齢の新生豚1腹10頭を供試した。2頭(No.1および3)は鑑定殺した豚であり、また8頭(No.2および4~10)は死体であった。

他方、発生豚舎の*C. perfringens* C型菌の保菌状況を調べるため、2月27日に発生豚の母豚および繁殖豚4頭の糞便を採材し検査した。

* 現所属：北海道後志家畜保健衛生所（虻田郡倶知安町旭57 〒044）

* Present address : Shiribeshi Livestock Hygiene Service Center, Hokkaido Prefecture, Kutchan-cho, Abuta-gun, Hokkaido 044

病理学的検査

搬入された10頭について解剖を行い、材料を20%ホルマリン液で固定し、常法に従って組織標本を作製、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。

腸管内からの毒素の検出

小腸内容を生理食塩液で2倍に希釈して、その遠沈上清を0.45 μ mのメンブランフィルター（アドバンテック東洋）で濾過し、2匹のマウスの尾静脈に0.5mlづつ接種してその生死を観察した。また、A型抗毒素血清を加えた上清の濾液も同様に接種した。

供試豚の細菌学的検査

培養方法：供試豚の細菌培養は、5%羊血液加寒天培地、Zeissler血液寒天培地およびDHL寒天培地（日水製薬）を用いて37 $^{\circ}$ C 24~48時間、好気性培養および嫌気性培養を行った。検出された細菌は成書⁴⁾に基づき生物学的性状を調べて同定した。

毒素型別試験：C. *perfringens* について供試株を1%フラクトース、3%ペプトン加 cooked meat broth に8時間培養し、培養液の遠沈上清を0.45 μ mのメンブランフィルターで濾過して可検毒素液とした。毒素液の調整およびマウスへの接種は東らの方法²⁾に従って行った。また、A型以外の型別は家畜衛生試験場東北支場に依頼した。

薬剤感受性試験：分離されたC. *perfringens* について供試豚3頭から分離した3株を1濃度ディスク（昭和）によりペニシリン、アミノベンジルペニシリン、カナマイシン、ストレプトマイシンおよびクロラムフェニコールの5薬剤に対する感受性を測定した。

母豚および繁殖豚からの分離菌試験

発生豚の母豚および繁殖豚の糞便からのC. *perfringens* の分離は、糞便を直接10%卵黄加CW寒天培地（カナマイシン含有）に塗布し、レンチナーゼ反応を呈する株を1検体につき3~5株約菌する方法で行った。分離株は生物学的性状を調べた後、毒素型別を行った。

成 績

発生の状況

飼養状況：本症の発生養豚場は繁殖経営形で、繁殖豚26頭、繁殖候補豚8頭、種雄豚2頭、離乳豚63頭、哺乳豚15頭の計114頭を飼養。

発生豚の概要：本症例は1990年2月13日に分娩された1腹13頭的新生豚に発生した。発生豚の母豚は6産目で、分娩頭数は15頭であり、分娩時に異常は認められなかった。

経緯：1990年2月14日、臨床獣医師が豚コレラの予防注射のため当該農場を訪れた際、血便を呈し衰弱していた新生豚1頭を認め、これを病性鑑定のため当所に搬入した。鑑定の結果、壊死性腸炎と診断し、翌日現地

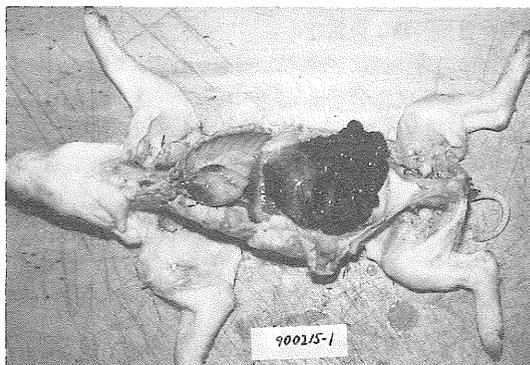


図1 豚の剖検所見（症例No. 2）

調査を行ういっぽう、対策を指導した。その際、死亡していた同腹豚8頭と衰弱していた1頭を鑑定のため当所に搬入した。なお、当該農場では過去に同様疾病の発生はなく、過去6カ月間豚の導入はなかった。

病理学的検査成績

供試した10頭の共通所見は次のとおりであった。

解剖所見：心臓は心房および心耳に血液が充満していた。肝臓はややうっ血しており、腎臓は皮質に微細な点状出血が多数みられた。肺、脾臓は著変を認めなかった。胃大弯部に軽度から重度の充血がみられ、1症例では出血が著明であった。小腸は全例ともフィブリンが付着し相互に癒着しており、空腸は充出血が著しく腸内容は暗赤色の凝固塊となっていた。回腸も充血著しく腸内容は赤橙色のクリーム状であった。盲腸、結腸は一部の症例で充血がみられ、内容は概ね赤褐色を呈していた。胸水は淡黄色から赤色のものまでみられ全例とも増量しており、腹水は全例赤褐色を呈し、フィブリン塊を含み増量していた（図1）。

病理組織所見：脾臓はうっ血しており、莢組織の浮腫や壊死がみられた。腎臓は皮質に小出血と一部尿細管上皮の硝子滴変性がみられた。胃は粘膜組織の出血、血栓形成が著明であったが十二指腸は一部に軽度の出血がみられるのみであった。空腸では粘膜組織の壊死と出血が著明で、粘膜下織や筋層にも及んでおり、漿膜面にフィブリンが付着していた。回腸は充血しており絨毛先端の壊死と粘膜の出血がみられた。一部の症例では結腸で部分的に粘膜固有層から下織に及ぶ壊死が散見された。

腸管内毒素の検出試験成績

No. 1 および2由来の小腸内容物の遠沈上清を濾過しマウスに接種したところ、マウスは死亡した。さらに、No. 2由来の遠沈上清にA型抗毒素血清を加えて接種したマウスも同様に死亡した。したがって、小腸内容にはA型抗毒素血清では中和されない毒素が存在すると解された。

供試豚の細菌学的検査成績

培養成績：供試豚の細菌培養成績は表1に示すとおりで、実質臓器から細菌は分離されず、それぞれの空腸内容から *C. perfringens* が $10^8 \sim 10^9/g$ 分離された。なお、分離された本菌の性状は表2に示すとおりである。

毒素型別試験成績：10頭由来10株の毒素液をそれぞれマウスに接種した結果、マウスは全て死亡し、供試株は有毒株と認められた。また、毒素液にA型抗毒素血清を加えマウスに接種したが中和されずマウスは死亡し、A型以外の毒素株と判定された。10株中3株の毒素液

表1 豚各種材料からの細菌分離および菌数

豚No.	心	肺	肝	脾	腎	脳	空腸内容物 1g 当たり	
							<i>C. perfringens</i>	<i>E. coli</i>
1	-	-	-	-	-	-	10^8	10^8
2	-	-	-	-	-	-	10^8	10^8
3	-	-	-	-	-	-	10^8	10^9
4	-	-	-	-	-	-	10^8	10^9
5	-	-	-	-	-	-	10^8	10^8
6	-	-	-	-	-	-	10^8	10^8
7	-	-	-	-	-	-	10^9	10^9
8	-	-	-	-	-	-	10^9	10^9
9	-	-	-	-	-	-	10^8	10^9
10	-	-	-	-	-	-	10^9	10^8

表2 分離 *C. perfringens* 菌株の生物学的性状

グラム染色性, 菌形	+	桿菌	サッカロース	+
運動性	-		インドール	-
溶血性	+		硫化水素	+
グルコース	+		ゲラチナーゼ	+
マルトース	+		レシチナーゼ	+
ラクトース	+		真珠層形成	-
サリシン	-		牛乳培地	St*

*: Stormy fermentation

表3 新生豚腸管由来 *C. perfringens* 菌株のマウスによる毒素型別試験

接種液 菌株No.*	毒素液	毒素液	毒素液
	2倍希釈液	+ A型抗毒素血清	+ A型抗毒素血清 + C型抗毒素血清
1	●●	●●	○○
2	●●	●●	○○
3	●●	●●	○○
4	●	●	NT
5	●	●	NT
6	●	●	NT
7	●	●	NY
8	●	●	NT
9	●	●	NT
10	●	●	NT

○：マウス1匹の生 ●：マウス1匹の死 NT：実施せず

*：豚の番号と一致

にA型抗毒素血清とC型抗毒素血清を加えてマウスに接種した。その結果、マウスは死亡しなかった。したがって、C型抗毒素による中和が成立したと解釈し、3株はC型と判定された(表3)。

薬剤感受性試験成績：No. 1~3由来の3株の試験成績はペニシリン(卅), アミノベンジルペニシリン(卅), クロラムフェニコール(卅), カナマイシン(-)およびストレプトマイシン(-)であった。

母豚および繁殖豚からの分離菌試験成績

発生豚の母豚から分離された *C. perfringens* 5株は全てA型有毒株であった。繁殖豚4頭のうち1頭からはA型無毒株とともにC型菌が分離された。また、他の3頭のうち2頭からはA型有毒株のみ分離され、1頭からはA型有毒株とA型無毒株が分離された(表4)。

考 察

今回、著者らが遭遇した例は病理所見が壊死性腸炎³⁾に一致し毒素検出試験で腸管内にA型以外の毒素の存在を認め、空腸から *C. perfringens* C型菌が多数分離されたことから *C. perfringens* C型菌による新生豚の壊死性腸炎と診断した。 *C. perfringens* C型菌による新生豚の壊死性腸炎は1955年英国のFIELDら⁵⁾の報告以来、ハンガリー、米国、デンマーク等で発生が知られている⁹⁾。わが国では1980年に福島県下における発生が報

表4 成豚の糞便由来 *C. perfringens* 菌株のマウスによる毒素型別試験

接種液 菌株由来	毒素液 2倍希釈液	毒素液	毒素液	
		+ A型抗毒素血清	+ A型抗毒素血清 + C型抗毒素血清	
発生豚の 母豚 5株	●●	○○	NT	
		●●	○○	NT
		●●	○○	NT
		●●	○○	NT
		●●	○○	NT
繁殖豚2 3株	●●	●●	○○	
		○○	NT	NT
		●●	●●	○○
繁殖豚3 4株	●●	○○	NT	
		●●	○○	NT
		●●	○○	NT
		●●	○○	NT
繁殖豚4 3株	○○	NT	NT	
		●●	○○	NT
		○○	NT	NT
繁殖豚5 4株	●●	○○	NT	
		●●	○○	NT
		●●	○○	NT
		●●	○○	NT

○：マウス1匹の生 ●：マウス1匹の死 NT：実施せず

告^{2, 11)}されて以来、大分²⁾、福井¹⁴⁾、宮崎^{15, 16)}、岐阜⁸⁾、新潟¹⁰⁾で報告されている。北海道では現在まで *C. perfringens* が関与したと思われる新生豚の死亡例、壊死性腸炎例は6例報告されているが、これらのうち2例^{12, 13)}は *C. perfringens* の分離・型別が行われていない。他の4例は分離菌が *C. perfringens* A型有毒株であったものが2例^{4, 6)}、*C. perfringens* B型菌であったものが1例¹³⁾、*C. perfringens* A型有毒株と他の *Clostridium* 属菌であったもの1例¹⁷⁾であった。したがって、*C. perfringens* C型菌が分離された新生豚の壊死性腸炎は今回の例が北海道における初めての例と思われる。

C. perfringens C型菌による壊死性腸炎の発生農場で発生豚の母豚、繁殖豚の糞便等から *C. perfringens* を検出し、型別を試みた例は2例報告されている。山崎¹⁶⁾は発生豚の母豚3頭から *C. perfringens* を分離、型別したが全てA型であった。中林¹⁰⁾は発生豚の母豚5頭、未発症豚の母豚10頭および飼料2検体から分離、型別を試み、未発症豚の母豚1頭および飼料1検体から *C. perfringens* C型菌を分離している。われわれは発生後約2週間を経た時点で、発生豚の母豚および発生豚舎内の繁殖豚から *C. perfringens* の分離、型別を試み、繁殖豚1頭から *C. perfringens* C型菌を分離したが、発生豚の母豚からは分離されなかった。これらのことから発生農場では少数ではあるが本菌を保有するものが存在するか、豚房床面等の環境汚染があったと思われる。また、新生豚への感染源は母豚とされているが³⁾、今回母豚から本菌が分離されなかったことから、排菌が一時的なものではないとも考えられるが、今後さらに症例を重ねて検討したい。

今回の発生に伴う対策としては発生分娩房に隣接する分娩直前の繁殖豚を他の房に移動させ、発生分娩房および豚舎を塩素系消毒薬を用いて反復して消毒を行った。また、分娩直前の母豚および新生豚への抗生物質（アンピシリン等）の投与を1カ月にわたり指導した。これらの対策の結果、その後分娩された新生豚には本病の発生はみられなかった。本病は集団発生する機会が比較的高い疾病とされているが⁷⁾、今回の発生は1腹のみの発生であった。このことは発見が早かったことと飼養規模が比較的小さかったことなどから対策が徹底できたことによるものと思われる。

今回の例では供試豚が新鮮であったため、腸管内の毒素の検出が可能であった。壊死性腸炎では死後の時間の経過とともに腸管内の毒素が失活するので検出が困難となり、他の細菌の増殖も考えられるのですみやかな病性鑑定が必要と思われる。

稿を終るにあたり、本症例の検定についていろいろご教示を賜った農林水産省家畜衛生試験場北海道支場宮川栄一第1研究室長ならびに検出菌株の毒素型別を依頼した同試験場東北支場浜岡隆文先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) 浅井敏文, 高野 茂, 熊木貴博: 第29回家畜保健衛生業績発表集録, 北海道, 76~81 (1981)
- 2) AZUMA R, HAMAOKA T, SHIOI H et al.: 日獣誌, 45, 135~137 (1983)
- 3) 東 量三, 浜岡隆文: 豚病学, 第3版 熊谷哲夫ほか編, 348~354, 近代出版, 東京 (1987)
- 4) COWAN S T: 医学細菌同定の手びき, 第2版, 坂崎利一訳, 89~94, 近代出版, 東京 (1974)
- 5) FIELD H L, GIBSON E A: Vet Rec, 67, 31~35 (1955)
- 6) 藤森則夫, 小山 満: 第37回家畜保健衛生業績発表集録, 北海道, 78~81 (1989)
- 7) 浜岡隆文: 獣畜新報, 805, 485~488 (1988)
- 8) 馬淵貞三, 栗本高至, 杉山 豊ほか: 臨床獣医, 3, 83~88 (1985)
- 9) M E BERGELAND: Diseases of swine, Fifth Ed, 418~426, The Iowa State Univ press, Iowa, U. S. A (1981)
- 10) 中林 大, 萩野博明, 渡辺大成ほか: 畜産の研究, 45, 287~290 (1991)
- 11) 塩井一二三, 丹治敏夫, 高橋捷平ほか: 第90回日獣学会講演要旨 108 (1980)
- 12) 高桑一雄: 獣畜新報, 597, 877~879 (1973)
- 13) 富島 明, 青木仁久, 長岡宗二: 臨床獣医, 3, 62~66 (1985)
- 14) 和田栄一, 酒井ゆかり, 坂本一美ほか: 日獣会誌, 35, 719~722 (1982)
- 15) 山本慎一郎, 土屋博義, 井手口秀夫ほか: 日獣会誌, 35, 349~398 (1982)
- 16) 山崎洋子: 臨床獣医, 2, 63~68 (1984)
- 17) 依田親一, 平井 孝, 岩尾俊彦ほか: 日獣会誌, 34, 368~373 (1981)
- 18) 吉田節男: 第21回家畜保健衛生業績発表集録, 北海道, 1~4 (1973)