

牛 *Clostridium perfringens* 感染症の発生と直腸便での評価

○藤本洋平・青山真理恵・中山恵・青木一郎
(長野県伊那家畜保健衛生所)

要約

牛 *Clostridium perfringens* (以下、CP) 感染症は牛の突然死を引き起こす重大な疾病である。令和4年8月と令和5年10月に管内酪農場にてCP感染症による突然死が発生した。当該牛の直腸便中から $2.2 \times 10^6 \sim 2.5 \times 10^7$ CFU/g のCPが確認された。し現在、牛CP感染症では小腸内容物中CP数の指標は存在するが、直腸便中におけるCP数の指標は存在しない。そこで、令和5年10月にCP感染症の発生があった農場1戸および発生の無い農場6戸において、健常成牛の直腸便40検体を用いCPの分離培養試験を実施し、CP数を比較した。その結果、発生のあった農場においてのみCPが分離された。また、CPが分離された農場の牛20頭について抗体検査を実施したところ、抗体価は $400 \sim 3200 \leq$ であり、農場全体がCPに汚染されていることが確認された。直腸便中CP生菌数を評価することは、CP感染症発症リスクを予測するのに有効である可能性が示唆された。

はじめに

牛のCP感染症は、CPを病原体とした、天然孔からの出血や、下痢便、血便または便秘を特徴とし、しばしば突然死を引き起こす疾病として知られている。

事例紹介

管内A農場は、ホルスタイン種成牛73頭を対頭式つなぎ牛舎で飼養する中規模酪農農家である。令和4年8月21日に成牛1頭が下痢を呈し死亡した。その数日後には下痢、粘血便を伴う死亡が発生し、その後も下痢を主訴とした死亡が続発した。直腸便中から、 $4 \times$

$10^5 \sim 7.6 \times 10^8$ CUF/g のCPが分離され、小腸内用物中から 1.9×10^5 CUF/g のCPが分離された個体もあり、CPの異常増殖が確認された(表1)。また、飼養牛20頭についてCP毒素に対する血中抗体価を測定したところ、有症牛6頭はすべて抗体価3200以上であり、健常牛は抗体価800以上であった(図1)。

表1 A農場におけるCP感染症事例

農場概要	酪農(ホルスタイン種)	飼養形態: 繋ぎ(対頭式)	CP数(CFU/g)	
			直腸便	小腸内容物
1060	R4.8.21	下痢・死亡	NT	NT
1092	R4.8.25	下痢	4.0×10^5	NT
1075	R4.8.26	粘血便・死亡	7.6×10^8	NT
0917	R4.8.30	急死	分離されず	1.9×10^5
0973	R4.9.2	水様下痢・死亡	NT	NT
0937	R4.9.5	呼吸雑音	分離されず	NT
1035	R4.9.4	呼吸雑音・血便・死亡	分離されず	NT
0989	R4.9.21	血便	2.8×10^6	NT

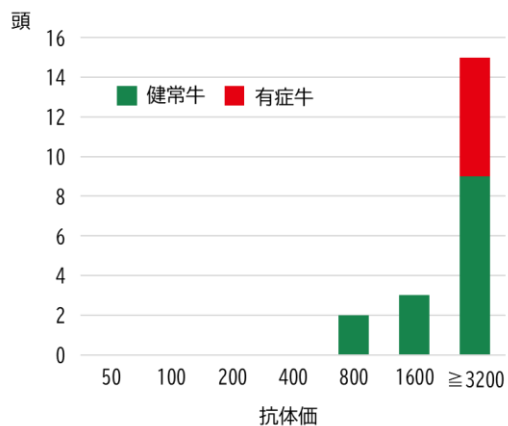


図1 A農場における血中CP毒素抗体価

また環境検査では、敷料の一部からCPが分離された他に、給餌していた飼料中から 8.4×10^4 CFU/g のCPが分離された。給餌飼料の原料であるビートパルプや井水ではCPは分離されなかったが、井水を溜めた貯留水中から 3.6×10^4 CFU/g のCPが分離され、貯留水中でCPが増殖していたことが判明した。この飼料の給餌をやめることと、牛嫌気性5種混合ワクチンを接種することでこの農場でのCP感染症は沈静化した。

管内B農場は、ホルスタイン種成牛76頭を対尻式つなぎ牛舎で飼養する中規模酪農農家である。令和5年10月4日に、成牛1頭が起立不能・黒色下痢を呈し死亡した。その後も便異常を伴う死亡が続発した(表2)。B農場においても、現状把握のため、抗体検査を実施したところ、検査した健康牛20頭はすべて抗体価400以上であり、牛群全体がCPの影響を受けていることが分かった(図2)。

表2 B農場におけるCP感染症事例

農場概要	酪農(ホルスタイン種)	飼養形態: 繋ぎ(対尻式)	
	成牛76頭、育成牛30頭、子牛20頭		
名号	日付	症状	CP数(CFU/g)直腸便
7111	R5.10.4	起立不能・黒色下痢便・死亡	NT
7257	R5.10.28	血便	NT
	R5.11.1	起立不能・呻吟・翌日死亡	
7415	R5.11.5	腹痛・腹田膨満・排便無・翌日死亡	3.0×10^6
7414	R5.12.4	不整脈・未消化便	7.8×10^6

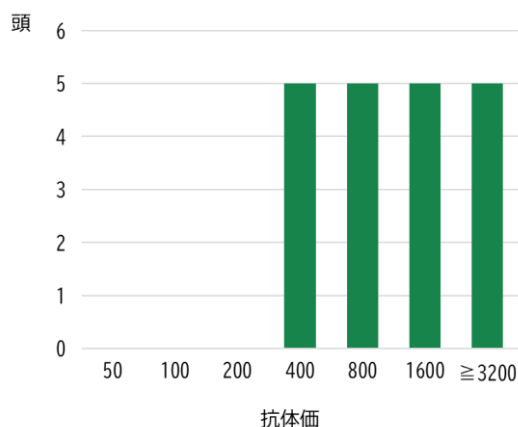


図2 B農場における血中CP毒素抗体価

環境検査では、飼槽や牛床からCPが分離されたが、明確な汚染源は特定できなかった。牛嫌気性5種混合ワクチン接種後、今のところ新たな発生はない。

今回牛群の血中CP毒素抗体価を測ることで、農場のCP汚染を知ることができた。CP感染症は経過が早く、発生のリスクを事前に知ることは非常に重要である。しかし、血中抗体価測定には、採血の手間や、外部委託のため結果が判明するまでに時間を要するという欠点がある。そこで、低侵襲かつ簡便に評価する方法として、直腸便中のCP定量培養の評価法を試みた。

現在、CP感染症におけるCP数評価

は、小腸内容物によって行われているが、直腸便における評価基準は存在しない [1]。そこで我々は、健常牛直腸便中の CP 数を定量し、CP 数の標準値を得るとともに、今回発生があった B 農場の健常牛直腸便中 CP 数と比較した。

材料及び方法

CP 発生農場で飼養されている健常牛の直腸便 6 検体と、CP 非発生農場の酪農と肉用繁殖牛農家併せて 6 農場で飼養されている健常牛の直腸便 5～7 検体を用いて、定法に従い CP を分離し、定量を行った。分離菌の同定は API20-A (アピケンキ、BioMérieux) を用い、APIweb (URL: <https://apiweb.biomerieux.com/login>) により判定した。分離された CP については薬剤感受性試験 (ディスク法) を定法に従い実施し、さらに PCR 法により毒素型別試験を実施し、毒素型 A～G に分別した [2] (表 3)。

表 3 採材農場一覧

農場	飼養形態	品種	検体数	
B農場	酪農	繋ぎ	ホルスタイン種	6
a農場	肉用繁殖	繋ぎ	黒毛和種	7
b農場	酪農	繋ぎ	ホルスタイン種	5
c農場	酪農	フリーストール	ホルスタイン種	6
d農場	酪農	繋ぎ	ホルスタイン種	5
e農場	酪農	フリーストール	ホルスタイン種	6
f農場	肉用繁殖	繋ぎ	黒毛和種	5

結果

非発生農場においてはいずれの農場においても CP は分離されず、発生農場

でのみ分離され、CP 数は最も少なくても 2×10^3 CFU/g、多くとも 4.6×10^4 CFU/g であった (表 4、5)。また、分離された CP の薬剤感受性試験では、明らかな耐性を示す株は認められず、毒素型別試験の結果、分離された株はすべて A 型であった (表 5)。

表 4 各農場における CP 分離状況

農場	飼養形態	品種	CP分離件数/検体数	
B農場	酪農	繋ぎ	ホルスタイン種	4/6
a農場	肉用繁殖	繋ぎ	黒毛和種	0/7
b農場	酪農	繋ぎ	ホルスタイン種	0/5
c農場	酪農	フリーストール	ホルスタイン種	0/6
d農場	酪農	繋ぎ	ホルスタイン種	0/5
e農場	酪農	フリーストール	ホルスタイン種	0/6
f農場	肉用繁殖	繋ぎ	黒毛和種	0/5

表 5 分離 CP 数と性状

B農場	生菌数 (CFU/g)	毒素型別	薬剤感受性試験 (mm)							
			P	AM	CZ	CX	E	TE	TS	
検体 1	4.6×10^4	A型	30	32	30	27	20	20	22	
検体 2	分離されず									
検体 3	分離されず									
検体 4	6.0×10^3	A型	24	24	24	22	17	23	20	
検体 5	2.8×10^4	A型	31	32	30	27	20	20	22	
検体 6	2.0×10^3	A型	31	35	34	32	22	17	25	

まとめ

CP 感染症の発生が無い農場では、健常牛の直腸便中に CP が存在することはほとんどないことが分かった。一方で、直腸便中に CP が高頻度に認められる場合、農場が CP に汚染されていることが考えられ、CP 感染症の発生リスクが高い可能性が考えられる結果となった。

総括

A農場とB農場で発生したCP感染症は、CPによる農場汚染が原因であり、牛群の血中CP毒素抗体価を測定することで確認することが出来た。また、健康牛直腸便中から高率にCPが分離される場合においても、CPによる農場汚染が考えられる可能性があることが分かり、CP感染症発生リスクを予想できる可能性が考えられる結果となった。

今後も引き続きデータを採取していき、本仮説について検証していきたい。

引用文献

- [1] 全国家畜衛生職員会：病性鑑定マニュアル 第4版
- [2] Julian IRら：Anerobe. 2018. Oct;53:5-10.