

肉用牛肥育農場で発生した悪性水腫による急死事例

筑後家畜保健衛生所 ○辻尾 昌平

中央家畜保健衛生所 印丸 美紀、 因泥 優樹

悪性水腫は、*Clostridium septicum*、*Clostridium novyi*、*Clostridium perfringens*、*Paeniclostridium sordellii*の単独あるいは混合感染による急性感染症である。主な臨床所見として、皮下気腫、天然孔からの出血、運動障害、発熱、呼吸困難、急死などがある。感染要因は創傷で、口腔内の創傷や消化管内の創傷などが要因となる[1, 2]。今回、管内の肉用牛肥育農場において、*Clostridium septicum*を原因とした悪性水腫による急死事例が発生したため報告する。

1 発生概要

当農場では、飼養規模が肉用牛 215 頭で、肥育牛舎は 2 棟あり、柵で区切られた 1 区画には同じ月齢の牛 4~5 頭が飼養されていた。なお、16 カ月齢で餌の切替を行っていた。

発症牛は令和 5 年 9 月に県外導入された 16 か月齢の肥育去勢雄で、3 月末から徐々に食欲が低下し、食欲廃絶となり、

4 月 3 日に死亡したため病性鑑定を実施した。なお、同居牛 3 頭は全て、やや食欲低下がみられた。

2 材料および方法

細菌学的検査では、主要臓器、骨格筋、皮下還流液、横隔膜膿瘍、小腸内容物を用いて、細菌分離培養と PCR 検査を実施した。病理組織学的検査では、主要臓器、骨格筋、リンパ節、横隔膜膿瘍を用いて、HE 染色を実施した。血液生化学的検査では、同居牛 3 頭の血液を用いて、一般血液検査、βカロテン及びビタミン A の測定、クロストリジウム属菌の血清抗体検査を実施した。

3 検査結果

外貌所見では、目立った外傷はなく、天然孔からの出血はみられなかった。剖検所見では、ほぼ全身の皮下で捻髪音を確認したほか、切皮時に腐敗臭をみとめ、血液の凝固不全が確認された。また脾臓、骨格筋にスポンジ状の断面が見られ、同



図1 病理解剖学的検査

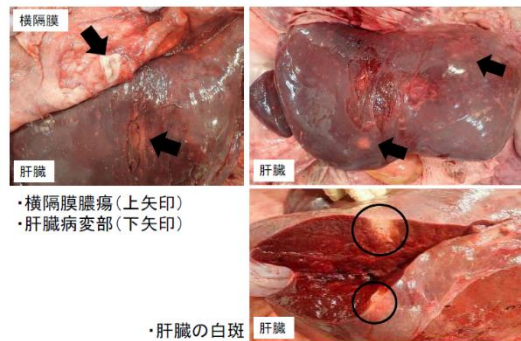


図2 病理解剖学的検査

様の所見が肝臓にも見られた (図 1)。

また、腸間膜リンパ節の腫脹が確認された。さらに、横隔膜に膿瘍を認め、また肝臓に病変と白斑を認めた (図 2)。

(1) 細菌学的検査

骨格筋のスタンプ標本で、多数の桿菌と芽胞が確認された。皮下還流液ではグラム陽性の大桿菌が確認され、肝臓でも同様の細菌が確認された (図 3)。また小腸内容物から *Clostridium perfringens* が 4.0×10^6 個/g 分離された。なお、血液塗末および臓器スタンプの直接鏡検により炭疽は否定している。

次に、皮下還流液、肝臓、骨格筋からの分離菌を材料として、*C. chauvoei*、*C. septicum*(CS)、*C. novyi* のプライマーを用いて、マルチプレックス PCR を実施し、また、*C. perfringens*、*P. sordellii* に対して、それぞれ PCR を実

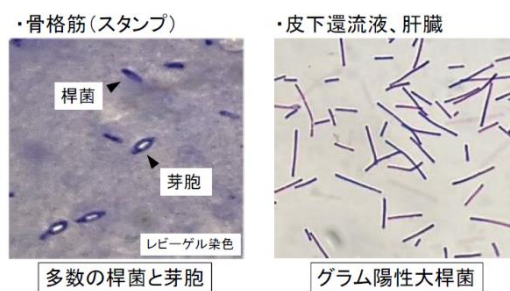
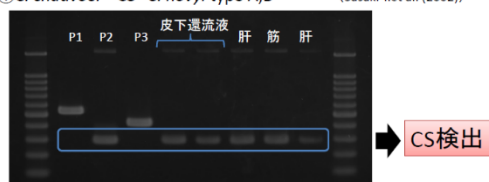


図3 細菌学的検査

◇PCR検査

- ・材料:皮下還流液、肝臓、骨格筋からの分離菌
- ・方法:①~③のPCRを実施

① *C. chauvoei* CS *C. novyi* type A,B (Sasaki Y et al. (2002))



P1: *C. chauvoei* (535bp) P2: *C. septicum* (294bp) P3: *C. novyi* type B (427bp)

② *C. perfringens* (Kikuchi E. et al. (2002))

③ *P. sordellii* (Kikuchi E. et al. (2002))

図4 細菌学的検査

施した。その結果、3 検体すべてにおいて、CS が検出された。また、*C. chauvoei*、*C. novyi*、*C. perfringens*、*P. sordellii* は不検出だった (図 4)。

(2) 病理組織学的検査

骨格筋で大型の気腫、筋線維の壊死、筋間結合組織に多数の大型桿菌が確認された。また肝臓にも同様な気腫が確認された (図 5)。なお、小腸に病変は確認できなかった。

(3) 血液生化学的検査

一般血液検査では、同居牛 3 頭とも GGT が上昇していたが、配合飼料を多給していることが原因と示唆された。 β カロテンとビタミン A は同居牛 3 頭とも適正レベルだった。クロストリジウム属菌の血清抗体検査では、3 頭中 1 頭で、CS の抗体価が上がっており、CS 感染の可能性が示唆された (図 6)。

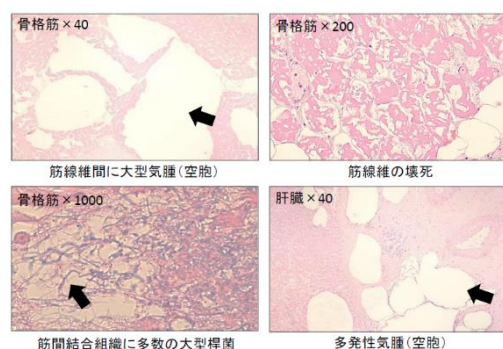


図5 病理組織学的検査

◇一般血液検査

同居牛3頭: GGT上昇

◇ β カロテンとビタミンAの測定

同居牛3頭とも適正レベル

◇クロストリジウム属菌の血清抗体検査

No.	<i>C. per</i> [ELISA]	<i>C. cha</i> [ELISA]	<i>C. nov</i> [T-NT]	CS [T-NT]	<i>P. sor</i> [T-NT]
1	<100	<2	<2	<2	<2
2	100	2	<2	32	<2
3	<100	2	<2	<2	<2

T-NT:毒素中和試験

No.2: CSの抗体価が32倍 → CS感染の可能性

図6 一般血液検査とクロストリジウム属菌の血清抗体検査

4 診断と対策

以上の検査により、CSの単独感染による悪性水腫と診断した。なお、小腸内容物より *C. perfringens* が検出されていたが、解剖所見と死後、時間が経過していることも考慮し、直接的な死因ではないと判断した。対策として、同居牛へのペニシリンの投与、農場内の消毒、同居牛3頭と餌の切替が落ち着いたタイミングである17カ月齢に達した肥育牛を対象にクロストリジウム感染症5種混合トキソイドの接種を実施した。その結果、その後の発生は確認されていない。

5 追加調査

過去にも、同様の急死事例が2件あり、どちらもクロストリジウム属菌が原因の可能性が示唆されたため、農場内の浸潤状況を確認する目的で追加調査を実施した。

6 追加調査の材料および方法

肥育牛の血清24検体を材料として、クロストリジウム属菌の血清抗体検査、 β カロテンとビタミンAの測定を実施した。また、採血を行った肥育牛がいた牛房の24箇所と本症例が発生した牛房の敷料を採材し細菌検査を実施した。検

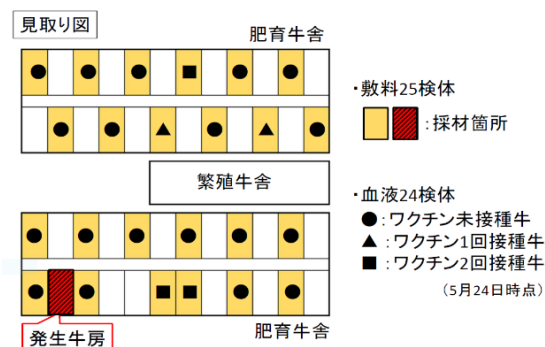


図7 採材箇所の見取り図

体は、芽胞の存在も考慮して、ヒートショック処理をしたものと未処理の検体をそれぞれ増菌した後、遺伝子を抽出し、PCR検査を実施した。

採血および採材箇所を図7で示す。

7 追加調査の検査結果

クロストリジウム属菌の抗体検査の結果は、いずれの菌においても抗体価の高い牛が存在し、野外株感染の可能性が示唆された。特にCSでは野外株感染の可能性のある検体が24検体中9検体あり、他の菌に比べ多い結果となった。一方で、抗体価2倍未満の牛も多くみられ、ワクチン接種の重要性が改めて示唆された(図8)。

次に、 β カロテンとビタミンAの測定結果は、すべての月齢で適正レベルだった。敷料検査について、PCR検査では、*C. perfringens*、*P. sordellii*は検出

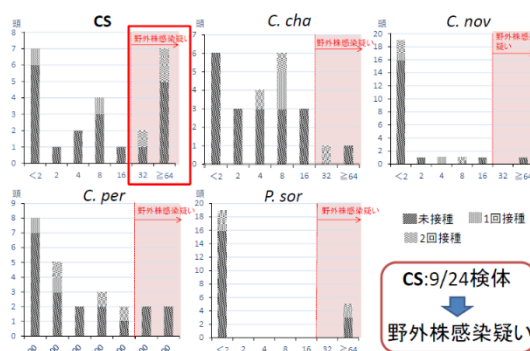


図8 クロストリジウム属菌の血清抗体検査

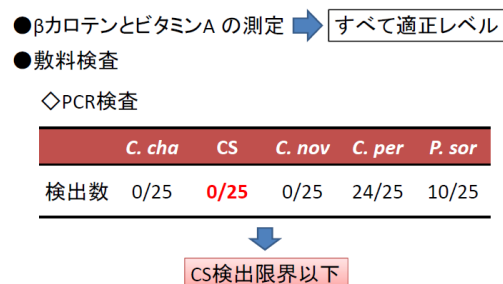


図9 β カロテンとビタミンAの測定および敷料検査

されたが、CS は検出限界以下となった(図 9)。

8 考察

抗体検査の結果、月齢や飼養場所による規則性は認められなかった。また、ワクチン未接種群でも抗体価が高く野外株感染の可能性がある個体がみられ、特に CS ではその割合が他のクロストリジウム属菌より高い結果となった。一方で、敷料検査では CS は検出限界以下となり、農場に蔓延しているのではなく、他の要因が示唆された。考えられる要因として、当該農場では肥育素牛はほぼ全頭導入牛であるため、導入元で感染・保菌している可能性がある。また、自給飼料の稲わらを刈り取る際の土壌の混入により、CS に汚染された可能性も考えられる[3]。

9 まとめ

追加調査の考察より、当該農場では何らかの要因によって CS を保菌した牛が比較的高い割合で存在し、ストレスや免疫低下等が引き金となって発症に至っている可能性が示唆された。今後、発生を繰り返さないためには、ワクチン接種の継続をベースとし、加えて、複数の感染経路の可能性を想定して、創傷感染の

- 農場にCS保菌牛が存在し、ストレス等により発症に至っている可能性が高い

- ☞ワクチンの継続
- ☞複数の感染経路を想定した対策
 - ・創傷感染の防止
 - ・ビタミンAの適正レベルの維持
 - ・自給飼料への土壌混入防止

- より早期のワクチン接種の必要性

- ☞ワクチンプログラムの変更

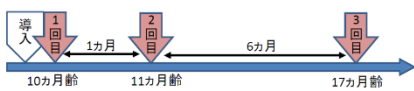


図10 今後の対策

防止、ビタミンAの適正管理による消化管粘膜の保護、自給飼料への土壌の混入防止などの対策を同時に講じていく必要がある。ワクチン接種に関しては、今回、CSで抗体を持たない牛も多数認められたことから、より早期の接種が必要と考えられた。そのため、家保、診療獣医師、畜主で協議し、今後は導入後すぐに1回目の接種をし、3回目の追加接種まで実施するプログラムに変更し、対策を継続していくこととしている(図10)。

深謝

今回、検査にご協力いただいた、ささえあ製薬株式会社様、株式会社微生物化学研究所様にこの場を借りて深謝いたします。

引用文献

- [1]農林水産省消費・安全局：病性鑑定マニュアル第4版、150-152(2016)
- [2]大橋郁代：日獣会誌 74, 367~375 (2021)
- [3]佐久浅間農業協同組合：イネWC Sの取り組み状況について(2023)