

Clostridium novyi の感染によりガス壊疽を発症した 犬の 1 例

片岡アユサ^{1)†}片岡智徳¹⁾田邊美加²⁾

1) 北九州市 開業 (あゆとも動物病院: 〒800-0207 北九州市小倉南区沼緑町 1-20-21)

2) 動物病理診断センター (〒809-0011 中間市岩瀬 1-4-11)

(2019年4月18日受付・2019年8月6日受理)

要 約

11歳、雄、体重18kgのシェットランドシープドッグが、起立困難と跛行を主訴に来院した。その後、横臥状態となり、右後肢にガス壊疽が認められた。患部の細胞診ではクロストリジウム属を疑う芽胞菌が観察され、broad-range PCRを利用した遺伝子解析にて*Clostridium novyi*と確定した。抗菌薬投与などの治療を行うも斃死した。犬において、クロストリジウム性筋炎やガス壊疽はまれな疾患であり、またその原因菌として*Clostridium perfringens*と*Clostridium septicum*などの報告はあるが、*Clostridium novyi*の報告はない。

—キーワード: *Clostridium novyi*, 犬, ガス壊疽。

-----日獣会誌 72, 761~766 (2019)

クロストリジウム菌属は、土壌や人を含めた動物の腸管内に広く生息する。Central Veterinary Conference (Aug 01, 2011)では家畜動物におけるクロストリジウム性筋炎は、筋肉注射や創傷から感染し、嫌気的な環境下で菌が増殖することで急性で進行性の筋壊死が誘発され、局所においては、激しい疼痛、腫脹、浮腫、ガス壊疽が認められるとされる。全身症状としては、発熱、沈鬱、呼吸促迫、頻脈、トキシックショック、播種性血管内凝固症候群 (DIC 関連症候群)などを呈し、積極的な治療を行っても、しばしば致命的な予後となる。

犬におけるガス壊疽や筋炎などのクロストリジウムによる壊死性軟部組織感染症の報告はわずかであり、*Clostridium perfringens* (*C. perfringens*), *Clostridium septicum*, *Clostridium chauvoei*が原因菌として報告されている [1-4]。*Clostridium novyi* (*C. novyi*)に関しては、犬の膵腺房細胞癌の肝臓より分離された報告があるが [7]、壊死性軟部組織感染症の原因菌としての報告はない。

今回われわれは、ガス壊疽を呈した犬から broad-range PCRを利用した遺伝子解析にて*C. novyi*の感染を確定したので、その概要を報告する。

症 例

症例は、シェットランドシープドッグ、雄、11歳齢、体重18kg、数時間前に室内で急に腰が抜けたように立てなくなったとの主訴で来院した。稟告では、発症前にヘビなどによる咬傷や外傷歴はなかったが、発症17日前に飼育地域において家屋損壊を伴うような激しい洪水災害があったとのことであった。来院前に、以前脊椎症の痛み止めとして処方していたロベナコキシブ (オンシオール, エランコジャパン(株), 東京) 20mgを内服しており、院内では起立・歩行可能であった。後肢は、ややロボット様歩行で跛行していたが目立った外傷はなく、ロベナコキシブ 20mg PO SIDとミソプロストール (サイトテック錠, ファイザー(株), 東京) 2.7μg/kg PO BIDを処方し安静を指示した。帰宅後、右後肢の疼痛と跛行は継続し、第3病日の夜から元気消失、食欲不振、右後肢の腫れ・出血、爪が取れそうになっているとのことで、第4病日の朝に再来院した。

院内所見:呼吸促迫と39.8℃の発熱、意識状態は傾眠であり、横臥状態であった。右後肢は趾部から大腿部までの広い範囲で疼痛、腫脹、熱感、握雪感、腐敗臭が

† 連絡責任者: 片岡アユサ (あゆとも動物病院)

〒800-0207 北九州市小倉南区沼緑町 1-20-21

☎ 093-473-8556 FAX 093-473-8561

E-mail: ayusa@vet.ne.jp

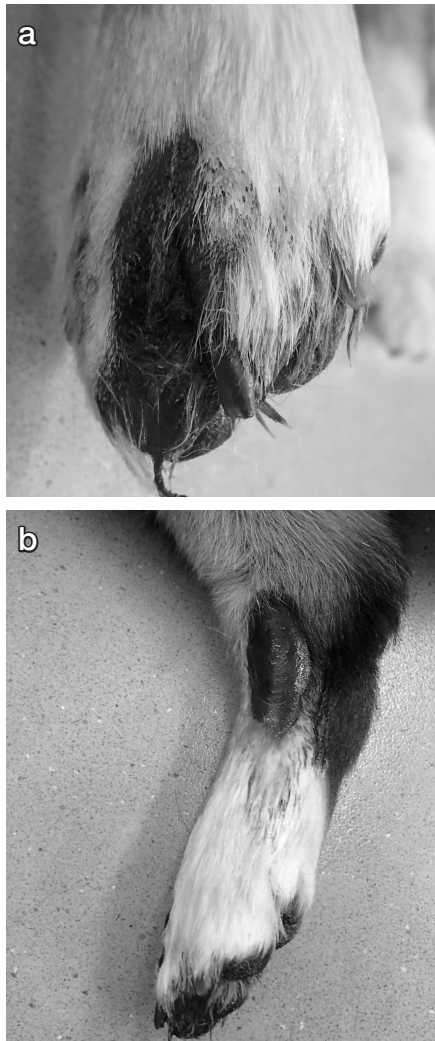


図1 第4病日の右後肢の所見
a: 第4趾の爪の脱落と肉球の壊死
b: 足根部内側の脱毛, び爛, 出血

あり, 第四趾の爪は脱落していた。残存する肉球には壊死がみられ, 足根部内側の脱毛, び爛, 出血が認められた(図1-a, b)。

X線検査所見: 右後肢腫脹, 皮下・筋肉内にフェザーパターン, 第四趾末節骨骨膜反応が認められた(図2-a, b)。

血液検査所見: 再生性の軽度貧血がみられ, 白血球数や好中球数は正常範囲内であり, 左方移動は認められなかった。なお, 中毒性変化の有無については確認していない。生化学検査ではアラニトランスアミラーゼ(ALT)の軽度な上昇, アルカリフォスファターゼ(ALP), クレアチンキナーゼ(CK)の重度な上昇を認めた。3カ月前の健康診断の血液検査においても, ALPの重度な上昇と軽度貧血を認めたが精査は行っていないため, 原因は不明であった(表, 図3)。

治療及び経過: マムシによる咬傷や外傷などを疑い, 入院下でL-乳酸ナトリウムリンゲル液(ソルラクト輸



図2 第4病日の右後肢X線検査所見
a: 第4趾末節骨の骨膜反応(矢頭)
筋肉内のフェザーパターン(矢印)
b: 筋肉内のフェザーパターン(矢印)

液, テルモ(株, 東京)の静脈点滴, ピペラシリンナトリウム(注射用ピペラシリンナトリウム, 日医工(株), 富山)30mg/kg IV TID, エンロフロキサシン(犬猫用エンロフロキサシン注, 共立製薬(株), 東京)10mg/kg SC SIDを投与し, プレドニゾロン(プレドニゾロン注射液, 共立製薬(株), 東京)1mg/kg SC SID, プブレンルフィン(プブレンルフィン注, 日新製薬(株), 山形)0.03mg/kg SC TIDによる疼痛管理を行った。患部は微酸性電解水を用いて洗浄した。

入院2日目の第5病日には, 発熱は改善するも, 右側中腹部と鼠径部にまで腫脹, 握雪感を呈する範囲が拡大し, 重度の腐敗臭も伴っていた。下腿部から大腿部にかけて皮膚の発赤とび爛, 暗赤色の出血が認められた(図4)。自力排尿困難のためカテーテルによる導尿処置を行った。血液検査ではCKはさらに上昇した(表)。壊死部を穿刺したところ, 硫黄のような腐敗臭を伴う少量のガスと血様漿液が抜去された。ディフクイック染色を行ったところ, クロストリジウム属菌を疑う芽胞菌が認められた(図5-a)。漿液を嫌気培養と遺伝子検査に供した。プレドニゾロンの投与を中止し, 抗菌薬はクラブラン酸カリウム・アモキシシリン水和物錠(オーグメンチン配合錠, グラクソ・スミスクライン(株), 東京)28mg/kg PO TIDに変更した。午後には横臥状態から伏臥にまで回復し, 自力採食も可能となった。

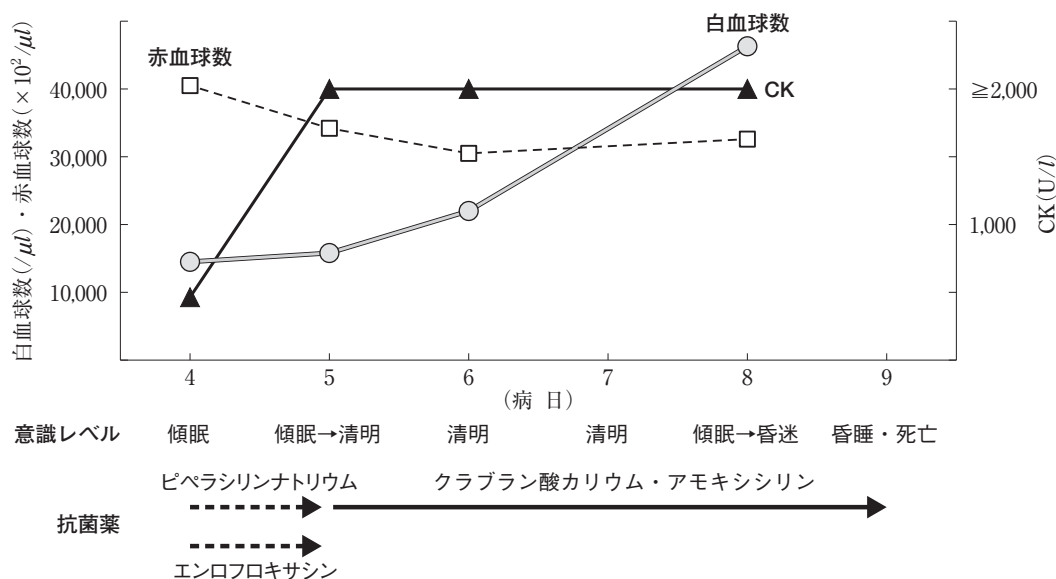


図3 治療経過



図4 第5病日の右後肢下腿部から大腿部にかけての皮膚発赤、び爛、出血

第6病日には右側肋骨部にまで病変が拡大し、趾部から下腿部は冷感を伴っていた。患肢は不自由であったが起立可能で食欲も旺盛であった。軽度の好中球増多症、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) の軽度上昇、尿素窒素 (BUN) の上昇、貧血の悪化が認められた (表)。

第8病日に突然の横臥状態、再度 42.0℃ の発熱、意識状態は傾眠となり、自力採食も困難となった。入院中に初めての排便があったが、便の異常は認められなかった。午後には意識状態は昏迷、瞬膜突出、嚥下障害、四肢の硬直を呈した。血液検査で白血球数は左方移動を伴い、さらに増加した (表)。

第9病日に昏睡状態となり、多量の血様胃液を嘔吐、多量の正常便を脱糞し、斃死した。病理解剖は行えなかったが、右後肢患部の皮膚と皮下織の一部を4カ所、直径6mmのトレビンで採取し、病理検査を行った。

培養検査結果：民間の検査施設 (リンテック(株), 福岡)

において採取した漿液を、アネロクロンビア RS 血液寒天培地にて嫌気培養を行った。嫌気性菌の発育を認めなかった。

微生物同定遺伝子検査結果：民間の検査施設 (有カホテクノ, 福岡) において、Broad-range PCR によって微生物 DNA (16S rRNA) の増幅を行い、増幅された産物のシーケンスを行ったところ、*C. novyi* が確認された (図6)。

病理検査所見：皮膚から皮下組織にかけて、広い範囲で組織の凝固壊死と不規則な空洞形成 (ガス貯留) が確認され、壊死周囲には重度の浮腫と出血、変性した好中球やマクロファージなどの炎症細胞の浸潤が認められた。これらの所見より、ガス壊疽と診断した (図5-b)。

考 察

本症例は、明らかな外傷や注射の接種歴、手術歴もなく、跛行や一時的な起立困難の所見から、初診時にガス壊疽を疑うことは困難であった。しかし、数日のうちに、激しい疼痛、腫脹、浮腫、握雪感、沈鬱、呼吸促進など、家畜や犬で報告されているクロストリジウムによる壊死性軟部組織感染症の経過と酷似した症状がみられ [1-4]。治療に反応することなく第9病日で斃死した。

人医療において、日本感染症学会では、ガス壊疽の治療は感染部位の解放、過酸化水素水などによる十分な洗浄、デブリードマンとペニシリン系の抗菌薬投与を推奨している。動物医療においても、同様な治療が推奨されている [9]。また犬のガス壊疽モデルを用いた高気圧酸素療法の実験においても、抗菌薬投与のみではなく、搔爬を併用した方が死亡率が少なかったと報告されている [6]。本症例においても、積極的なデブリードマンや断脚を行えば予後は変わってきたと考える。しかし、趾部

Clostridium novyi の感染によりガス壊疽を発症した犬の1例

表 血液検査所見

	健診時	第4病日	第5病日	第6病日	第8病日	参考値
赤血球数 ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	3.95	4.05	3.42	3.05	3.26	5.5~8.5
Ht (%)	28	28	24	22	18	37~55
Hb (g/dl)	9.7	9.5	7.9	7.3	7.6	12~18
白血球数 ($/\mu\text{l}$)	6,700	14,500	15,800	22,000	46,300	5,500~17,000
Band-N	NT	145	NT	NT	2315	0~300
Seg-N	NT	12,905	NT	NT	37,040	3,000~11,500
Lym	NT	1,015	NT	NT	2,315	1,000~4,800
Mono	NT	435	NT	NT	1,852	150~1,350
Eos	NT	0	NT	NT	2,778	100~1,250
Plat ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	593	305	251	303	282	200~500
AST (U/l)	NT	59	70	147	206	17~44
ALT (U/l)	37	113	86	91	142	17~78
ALP (U/l)	2,372	>3,500	>3,500	>3,500	>3,500	47~254
BUN (mg/dl)	22	25	36.7	60.8	29.7	9.2~29.2
Cre (mg/dl)	0.3	0.7	0.9	1.4	0.7	0.4~1.4
Glu (mg/dl)	70	140	134	120	126	75~128
CK (U/l)	NT	464	>2,000	>2,000	>2,000	49~166

略語：

NT=検査せず

Seg-N=分葉核好中球

Plat=血小板数

BUN=尿素窒素

Ht=ヘマトクリット値

Lym=リンパ球

AST=アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ

Cre=クレアチニン

Hb=ヘモグロビン

Mono=単核

ALT=アラニンアミノトランスフェラーゼ

Glu=血糖値

Band-N=桿状核好中球

Eos=好酸球

ALP=アリカリフォスファターゼ

CK=クレアチンキナーゼ

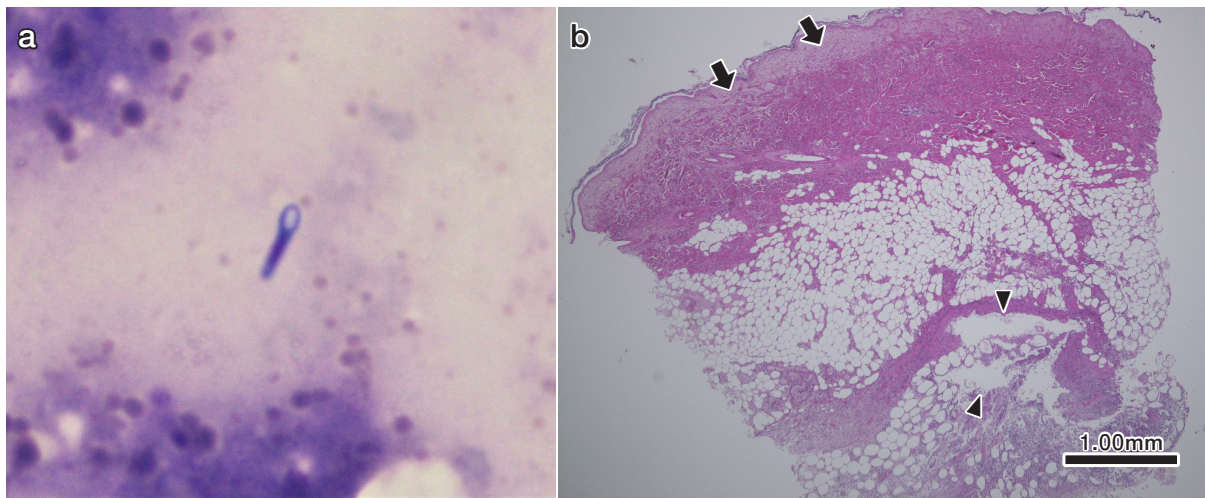


図5 穿刺液の鏡検像及び患部の病理検査像

a: 壊死部の穿刺液の鏡検像. 芽胞菌を認めた (ディフクイック染色 $\times 1,000$).

b: 患部の病理検査像 (HE染色 $\times 20$). 重度の浮腫 (矢印) とガス貯留による空洞形成 (矢頭)

から肋骨部にまで広範囲に拡大した病変に対して、どこまでデブリードマンを行っていくか、断脚のタイミング、衰弱傾向の症例の麻酔リスクなどを考慮すると判断が難しいと考える。

C. novyi は6種類の毒素を産生する。中でも α -トキシンは最も毒性が強く、壊死を誘発し、致死性である[7]。菌の侵入後に外毒素が産生され、他の毒素との相乗効果で壊死は急速に拡大し、組織障害を起こす。進行すると、多臓器不全やDIC関連症候群、毒素による心筋機能抑制、循環不全から心原性のショック(トキシッ

クショック)となり死亡する[8]。

症例は意識状態や食欲が改善傾向だったにも関わらず、第8病日に急に横臥や昏睡状態になったのは、トキシックショックに陥っていたものと推測している。死亡12時間前の血液検査において、血小板減少などのDIC関連症候群を強く疑う所見は認められなかったが、死亡直前に大量の血様胃液を嘔吐したこと、糞便の異常はなく非ステロイド剤やステロイド剤投与の副作用による消化管出血は否定的であったことから、最終的な死因としてDIC関連症候群を疑った。

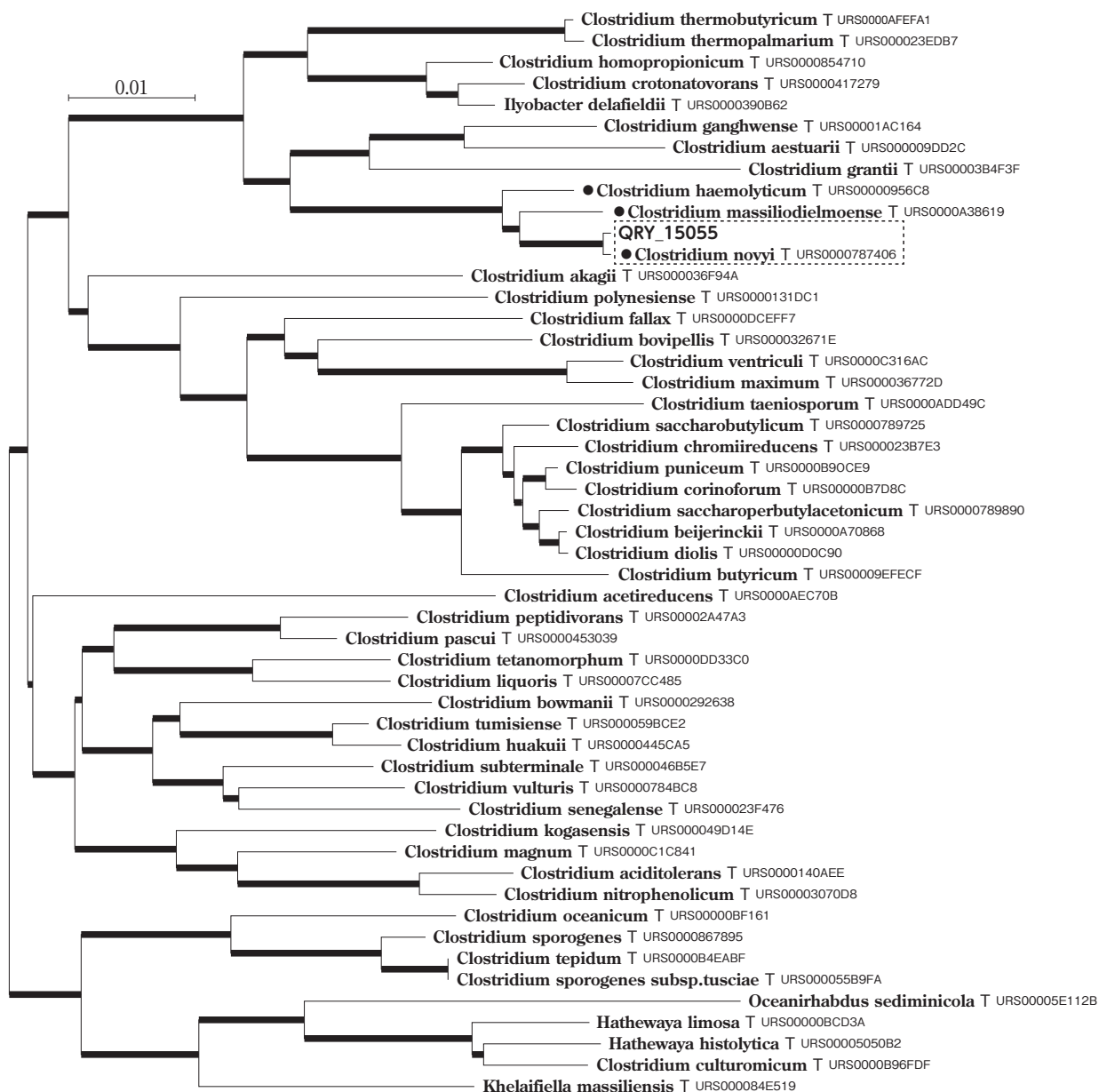


図6 *C. novyi* のプラストサーチによるクラスター解析

細胞診にてクロストリジウム属感染を疑うも、嫌気性細菌培養では発育が認められなかった。抗菌薬を投与していたことから、発育しなかったと考えている。結果が出るまで8日を要したが、微生物同定遺伝子検査では直接 broad-range PCR によって微生物 DNA を増幅し、産物をシーケンス解析することで菌種を特定できている。2012年の犬の壊死性筋炎の原因菌 *C. perfringens* の同定にも、PCRが使用されている [1]。今回のように、抗菌薬投与中で培養不能となった場合や、培養の難しい嫌気性細菌の同定に、微生物同定遺伝子検査は非常に有用であった。

C. novyi は、羊、山羊、牛など家畜の黒色症、巨大頭、細菌性ヘモグロビン尿症、壊死性肝炎、黒脚症の原因菌でもある。感染後の症状は甚急性で進行性であり、高熱、

黄疸、沈鬱、運動失調、痙攣、頻脈、呼吸促迫、横臥状態となり死亡率も高い [9]。人では、ガス壊疽の原因菌として、*C. perfringens* に次いで多い [10]。このように、*C. novyi* は他のクロストリジウム属の菌同様に、人や動物において感染後はきわめて重症化しやすい菌であることが窺える。また、腫瘍内環境が嫌気性であることに着目し、毒素を除去した *C. novyi* の芽胞を腫瘍内に注入して、癌を治療する試みも行われている [11]。このような利用が試みられていることから、*C. novyi* の組織内での増殖能力が高いことが窺える。

これまで犬における *C. novyi* による壊死性軟部組織感染症の報告はなかったが、本症例により、他の動物種同様に原因菌となり得ることが証明された。今後は遺伝子検査により確定診断ができる症例も増えてくるものと

思われる。

今回、感染のきっかけとなった要因は特定できていない。症例の飼育地域では、発症17日前に家屋損壊を伴うような激しい洪水災害に見舞われている。日本感染症学会では、自然災害時に危険が増加する感染症としてガス壊疽があげられている。災害発生後8時間から20日(平均4日)に発症するとされる。洪水災害と本症例のクロストリジウム感染に何らかの関連があったかもしれない。犬においてクロストリジウムによるガス壊疽などの壊死性軟部組織感染症はまれとされているが、災害時には人医療同様に考慮すべき疾患であると思われた。

引用文献

- [1] Salari Sedigh H, Rajabioun M, Razmyar J, Kazemi Mehrjerdi H : An unusual necrotic myositis by *Clostridium perfringens* in a German Shepherd dog, *Vet Res Forum*, 6, 349-353 (2015)
- [2] Ribeiro MG, Silva RO, Pires PS, Martinho AP, Lucas TM, Teixeira AI, Paes AC, Barros CB, Lobato FC : Myonecrosis by *Clostridium septicum* in a dog, diagnosed by a new multiplex-PCR, *Anaerobe*, 18, 504-507 (2012)
- [3] Poonacha KB, Donahue JM, Nightengale JR : Clostridial myositis in a dog, *J Am Vet Med Assoc*, 194, 69-70 (1989)
- [4] Whittington R, Freeman P : Myositis due to *Clostridium chauvoei* in an Afghan Hound, *Aust Vet Pract*, 16, 7-8 (1986)
- [5] Love DN, Maddison JE, Finnimore PM, Rothwell TL : Isolation of *Clostridium novyi* (*Cl. oedematiens*) from liver lesions in a dog with pancreatic acinar carcinoma, *J Small Anim Pract*, 22, 277-280 (1981)
- [6] Demello FJ, Haglin JJ, Hitchcock CR : Comparative study of experimental *Clostridium perfringens* infection in dogs treated with antibiotics, surgery, and hyperbaric oxygen, *Surgery*, 73, 936-941 (1973)
- [7] Hofmann F, Herrmann A, Habermann E : Sequencing and analysis of the gene encoding the alpha-toxin of *Clostridium novyi* proves its homology to toxins A and B of *Clostridium difficile*, *Mol Gen Genet*, 247, 670-679 (1995)
- [8] Aronoff DM : *Clostridium novyi*, *sordellii*, and *tetani*: mechanisms of disease, *Anaerobe*, 24, 98-101 (2013)
- [9] Wendy JU, Adam S : *Biology and Diseases of Ruminants (Sheep, Goats, and Cattle)*, Laboratory Animal Medicine, Fox J, et al eds, Third Edition, 623-694, Academic Press, Massachusetts (2015)
- [10] Caplin ES, Kluge RM : Gas gangrene, Review of 34 cases, *Arch Intern Med*, 136, 788-791 (1976)
- [11] Krick EL, Sorenmo KU, Rankin SC, Cheong I, Kobrin B, Thornton K, Kinzler KW, Vogelstein B, Zhou S, Diaz LA J : Evaluation of *Clostridium novyi*-NT spores in dogs with naturally occurring tumors, *Am J Vet Res*, 73, 112-118 (2012)

Gas Gangrene Due to *Clostridium Novyi* Infection in a Dog

Ayusa KATAOKA^{1)†}, Tomonori KATAOKA¹⁾ and Mika TANABE²⁾

1) *Ayutomo Animal Hospital, 1-20-21 Numamidori-machi, Kokuraminami-ku, Kitakyushu-shi, 800-0207, Japan*

2) *Veterinary Pathology Diagnostic Center, 1-4-11 Iwase, Nakama-shi, 809-0011, Japan*

SUMMARY

An 11-year-old, male, intact Shetland sheepdog, weighting 18 kg, presented with lameness and difficulty standing. The dog was recumbent and developed gas gangrene in the right hind leg. *Clostridium novyi* was identified by broad-range PCR and sequencing. Gas gangrene and clostridial myositis are rare in dogs. *Clostridium perfringens* and *Clostridium septicum* have been identified as causative agents, but *C. novyi* was never reported. — Key words : *Clostridium novyi*, dog, gas gangrene.

† Correspondence to : Ayusa KATAOKA (*Ayutomo Animal Hospital*)

1-20-21 Numamidori-machi, Kokuraminami-ku, Kitakyushu-shi, 800-0207, Japan

TEL 093-473-8556 FAX 093-473-8561 E-mail : ayusa@vet.ne.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 72, 761 ~ 766 (2019)