

128 鶏クロストリジウム・パーフリンゲンス感染症（旧 鶏壊死性腸炎）

担当	検査チャート
家畜保健衛生所	
病性鑑定施設	<p>(5) 細菌培養試験 <分離・定量></p> <p>(6) 毒素検査 <マウス接種法></p> <p>(+) (-)</p> <p>(7) P C R <毒素型別></p> <p>A型/C型 A型/C型以外</p> <p>(+) (-)</p>
判定・結果	<p>(+) (-) (-) (+) (-)</p>
最終判定	<p>疫学調査、臨床検査の結果を基に、簡易細菌検査、細菌培養試験、病理組織検査等の結果を併せて総合的に判断する。</p>
その他	

→類似疾病検査

134 鶏コクシジウム病

○ 病原体: *Clostridium perfringens* A または C 型

(1) 疫学調査

- ① 3～6 週齢前後のブロイラーに好発する。
- ② 平飼飼育に好発する。
- ③ 常在化の傾向がある。
- ④ 死亡羽数のピークは 1 週間、発生群の死亡率は 5～50%
- ⑤ 散発的に発生する。

(2) 臨床検査

- ① 元気消失、食欲不振
- ② 血液を混じた暗色便を排出する。
- ③ 急死

(3) 剖 検

- ① 小腸下部の膨張、腸壁の菲薄化
- ② 小腸腔にはガスと血液を混じた褐色の液体が充満
- ③ 肝臓の輪郭の明らかな灰白病巣

(4) 簡易細菌検査(直接鏡検)

小腸内容の直接塗抹標本のグラム染色またはギムザ染色により大桿菌を確認する。

(5) 細菌培養試験(分離・定量)

- ① 小腸内容物を使用し、50%卵黄液を 10%加えたカナマイシン加 CW 寒天培地を用いて定量培養を行う。37℃で12～24時間嫌気培養をする。
- ② 乳光反応を伴う隆起した円形集落を形成し、集落周辺の培地を黄変させる。
- ③ 10⁶個/g 以上検出された場合を陽性とする。

分離菌集落を複数分離し、市販の同定用キット等により *C. perfringens* と同定する。

(6) 毒素検査(マウス接種法)

- ① 腸内容物および分離菌(10 株/1 材料)の毒素検査を行う。
- ② 分離菌はクックドミート培地等によく発育した新鮮培養菌を BHI ブロスまたは毒素検査用培地に接種し、37℃で 12～18 時間培養をする。BHI ブロスでの培養は嫌気下で、毒素検査用培地での培養は好気下で行う。
- ③ 腸内容上清あるいは培養上清を最低 2 匹のマウスに 0.5ml ずつ尾静脈内に接種し、48 時間以内の生死で判定する。

毒素検査用培地

3%プロテオースペプトンNo.3水 (pH7.4)	10ml
クックドミート培地	1g
(121℃で15分滅菌後、急冷)	
10%フラクトース水溶液(ろ過滅菌)1mlを無菌的に加える。	

(7) P C R (毒素型別)

分離菌(10 株/1 材料)について、PCR により毒素型別を行う^{1), 2), 3)}。

(8) 病理組織検査

- ① 小腸粘膜上皮の壊死、脱落、グラム陽性大桿菌の存在、粘膜固有層の水腫と充出血
- ② 肝細胞の変性、壊死(細胞反応は乏しい。)

(参考)

C. perfringens による感染症は、壊死性腸炎やエンテロトキセミアとも呼ばれ、めん羊の D 型菌によるエンテロトキセミア、子豚の C 型菌による(出血性)壊死性腸炎、鶏の A 型菌による壊死性腸炎などが知られている。病原学的診断は共通である。

近年、新たな毒素(NetB)が鶏壊死性腸炎の原因毒素として提唱されている。分離株の *netB* 遺伝子の有無は PCR で確認することができる⁴⁾。

(参考文献)

- 1) Uzal, F.A., et al.: Lett. Appl. Microbiol. 25, 339-344 (1997).
- 2) Meer, R.R. & Songer, J.G.: Am. J. Vet. Res. 58, 702-705 (1997).
- 3) Baums, C.G., et al.: Vet. Microbiol. 100, 11-16 (2004).
- 4) Keyburn, A.L., et al.: PLoS Pathogens. 4, e26 (2008).