

40 牛クロストリジウム・パーフリンゲンス感染症（旧 牛壊死性腸炎）

担当	検査チャート
家畜保健衛生所	<pre> graph TD     A["(1) 疫学調査"] --&gt; B["(2) 臨床検査"]     A --&gt; C["(3) 剖検"]     B --&gt; C     C -- "(死亡牛、鑑定殺牛)" --&gt; C     C -- "(十二指腸または空腸上部の内容物)" --&gt; D["(4) 簡易細菌検査"]     C --&gt; E["(8) 病理組織検査"]     D -- "&lt;直接鏡検&gt;" --&gt; F["(5) 細菌培養試験"]     F -- "&lt;分離・定量&gt;" --&gt; G["(6) 毒素検査"]     G -- "&lt;マウス接種法&gt;" --&gt; H["(+)" ]     G -- "&lt;マウス接種法&gt;" --&gt; I["(-)" ]     F --&gt; J["(7) PCR"]     J -- "&lt;毒素型別&gt;" --&gt; K["(+)" ]     J -- "&lt;毒素型別&gt;" --&gt; L["(-)" ]     E --&gt; M["(+)" ]     E --&gt; N["(-)" ]     </pre>
病性鑑定施設	<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

- ① 2 炭疽 ② 22 気腫疽 ③ 38 悪性水腫 ④ 50 ヒストフィルス・ソムニ感染症
- ⑤ 24 サルモネラ症 ⑥ 31 牛アデノウイルス病 ⑦ 14 牛ウイルス性下痢・粘膜病
- ⑧ 61 牛コクシジウム病 ⑨ 中毒性腸炎

## ○ 病原体: *Clostridium perfringens*

### (1) 疫学調査

- ① 散発的に発生、活力旺盛牛が突発的に発症
- ② 肥育牛においては肥育末期に好発
- ③ 飼料の過給または急変時に発症
- ④ 常在化の傾向がある。
- ⑤ 動物死体の埋却状況

37℃で12～24時間嫌気培養(ガスパック法等)をする。

- ② 乳光反応と培地の黄変を伴う乳白色の円形集落を形成する。
- ③  $10^4 \sim 10^5$ 個/g以上検出された場合を陽性とする。
- ④ 分離菌集落を複数分離し、市販の同定用キット等で *C. perfringens* と同定する。

### (2) 臨床検査

- ① 天然孔の出血を伴う急死
- ② 歩行拒否または苦悶、狂暴性等の症状を呈し、黄褐色水様性下痢、緑褐色泥状便、血便等の排泄または便秘

### (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でよく発育した新鮮培養菌をBHIプ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プ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。

### (3) 剖 検

- ① 血液凝固不良
- ② 天然孔、皮下、筋肉、消化管の漿膜と粘膜、リンパ節の充出血
- ③ 心臓の混濁と心内膜の点状出血
- ④ 肺のうっ血、水腫
- ⑤ 肝臓の退色と充出血
- ⑥ 腎臓の退色と包膜下の点状出血
- ⑦ 小腸に血様内容物を入れる、空腸内容は泡沫状である。
- ⑧ 死後変化が急速に現れる。

### 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 (121℃で15分滅菌後、急冷)	1g
10%フラクトース水溶液(濾過滅菌)1mlを無菌的に加える。	

### (4) 簡易細菌検査(直接鏡検)

十二指腸または空腸上部の内容物の直接塗抹標本のグラム染色またはギムザ染色により、多数のグラム陽性大桿菌を確認する。

### (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<sup>1), 2), 3)</sup>。

(我が国のこれまでの症例は幼若牛を除き全てA型によるものであるが、外国の例ではC型による子牛の出血性壊死性腸炎がある。)

### (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。

## (8) 病理組織検査

- ① 第四胃、小腸粘膜上皮の変性、壊死、脱落、大桿菌の存在、粘膜固有層のび漫性出血、粘膜下織の水腫
- ② 肺のうっ血と水腫
- ③ 腎皮質の出血、曲尿細管の壊死、髄質のうっ血、間質の水腫と出血

## (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).

その他:

(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。