

1 牛 肺 疫〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (死亡牛、鑑定殺牛) (血清) (3) 剖 検 (肺病変部、 肺近傍リンパ節等)
病性鑑定施設	
動物衛生研究所	抗体検査 P C R 病理組織検査 細菌培養試験 (+) (-) (+) (-) (+) (-)
判定・結果	(+) (-) (+) (-) (+) (-)
最終判定	特定家畜伝染病防疫指針に基づき、血清抗体検査、細菌培養試験、遺伝子検査を実施する。これらの成績を基に専門家の意見も踏まえ、判定する。
その他	- 全ての検査材料は冷蔵し、速やかに動物衛生研究所に送付する。 - 牛肺疫の発生が続発しており、病変部位の写真から牛肺疫の病理所見を明確に確認できる場合には、専門家の意見も踏まえ、当該検査の結果を待たずに病理所見および疫学情報により、直ちに判定する。 - 牛肺疫菌は、家畜伝染病予防法において要管理家畜伝染病病原体に規定されており、その基準に従って使用、保管、運搬等を行うこと。

→類似疾病検査

- ① 3 出血性敗血症 ② 45 牛マイコプラズマ肺炎 ③ 50 ヒストフィルス・ソムニ感染症
④ 異物性肺炎 ⑤ 15 牛伝染性鼻気管炎 ⑥ 18 イバラキ病

○ 病原体: *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (以前は SC (スモールコロニー)型を本疾病の原因としていた。これは伝染性無乳症の原因菌である *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC 型と区別するために使用された表現であった。現在 LC 型マイコプラズマは分類学的に *M. mycoides* subsp. *capri* に併合されたため、SC あるいは LC の表現は抹消された。)

(1) 疫学調査

- ① 輸入牛あるいは輸入牛と同居したものから発生
② アフリカ、中近東、南中北アメリカ、西・東南アジア等で発生がみられる。
③ 急性例は漿液線維索性肋膜炎を特徴とする。不顕性感染も多くみられるが処女地での発生は急性例をとる場合が多い。
④ 急性例で高熱を發した個体は予後不良となることが多い。

厚、肋膜との癒着がみられる。

- ② 気管支リンパ節、縦隔リンパ節の腫大

その他:

(抗体検査)

- ① 補体結合反応試験 (CFT): 動物衛生研究所より販売される「牛肺疫診断用アンチゲン」(牛肺疫診断用補体結合反応抗原)による補体結合反応
② (参考)競合 ELISA 法: OIE 支援センターがキット化し技術相談を含め窓口対応している(キット名: ELISA-CBPP Serum Screening, CBPP serum competition ELISA Version: P05410/ 02, Instytut Pourquier, E-mail: info@institut-pourquier.fr/ web: http://www.institut-pourquier.fr)。OIE インターナショナル委員会(2000. 5、2004. 5)において、本法は CFT と同じ特異性で、感度は CFT より高いことを理由に「国際貿易に対する定められた検査」とされている。

(2) 臨床検査

(急性型)

- ① 発熱
② 一般症状の悪化
③ 帯痛性の咳、呼吸困難
④ 水様性～粘液性の鼻汁漏出
⑤ 肋間部の激痛
⑥ 定型的なものは 1 週間以内に全て死亡

(慢性型)

- ① 軽度の発熱
② 呼吸器症状
③ 軽い下痢
④ 急性鼓張症を示す場合がある。

(細菌培養試験)

肺病変部、肺近傍リンパ節、胸腔滲出液、気管内容物等を PPLO 寒天培地に接種し、37℃、5%CO₂条件下で 10 日間まで培養する(分離培養)。

(3) 剖 検

- ① 肺病変は、広範なこともあるが、しばしば片側性で後葉に限局する。急性例では、肺は厚い線維索性浸出物で覆われている。小葉間質の顕著な水腫性拡張がみられ、小葉は正常から硬化したものまで、色は赤色から淡灰色まで様々であり、これらから肺病変部は大理石紋様を呈す。
慢性例では、壊死片形成と肺胸膜の線維性肥

(PCR)

PCR-RFLP 解析¹⁾による *M. mycoides* subsp. *mycoides* のスクリーニング法がある。

(病理組織検査)

広範な漿液線維索性ないし化膿性肺炎像と共に肺実質に多発性凝固壊死がみられる。小葉間結合組織は水腫と線維素析出により拡張。小動脈、小静脈に血

栓形成がみられる。また、非化膿性動脈炎をみることもある。慢性例では壊死片形成が特徴で胸膜および小葉間結合組織の線維化を伴う。

(分離培地)

PPLO 培地

(基礎培地)

PPLO broth w/o CV (Difco)	21g
蒸留水	815ml

(添加物)

馬血清(0.45μm ろ過滅菌済)	150ml
25% (w/w) 新鮮イーストエキス *	25ml
2.5% 酢酸タリウム液	10ml
ペニシリンG カリウム	100万単位

基礎培地を作製後、121℃15分オートクレーブ滅菌し、冷却後、添加物を無菌的に加える。通常 pH は 7.6±0.2 の幅にあるので pH 調整は不要。冷蔵庫で3ヵ月まで保存可能。寒天培地の場合は基礎培地に Agar Noble (Difco) を 12g 加えてオートクレーブする。

* 25% (w/w) 新鮮イーストエキスの作製法

- ① サーフインスタントドライイースト「saf-instant」(フランス製: 日仏商事取扱い) 500g を 1,500ml の蒸留水に溶かす。家庭用ミキサーを用いドライイーストを少量ずつ加えながら溶かすのが効果的である。
- ② 溶かしたイーストを 5L コルベンに入れ、沸騰水中に温浴させる。5 分間隔で攪拌しながら 30 分間抽出する。
- ③ 冷却後、9,000g 以上で遠心し、上清を集める。
- ④ 1N NaOH で pH を 7.6~7.8 に調整する。
- ⑤ 再度沸騰水中で 10 分間温浴し、冷却後 9,000g 以上で遠心し上清を静かに集め、孔径 0.45μm のメンブランフィルターでろ過する。50ml ずつ無菌的に小分けし、冷凍保存する。凍結融解を繰り返さなければ約 3 年間は保存可能である。

(血清型別)

分離マイコプラズマ株の血清学的同定。*M. mycoides* subsp. *mycoides* PG1 株で作製した抗血清を供試して代謝阻止試験を行う。分離マイコプラズマの血清型別が必要な場合は、動物衛生研究所等の専門機関に依頼する。

(参考文献)

- 1) Bashiruddin, J.B., et al.: J. Vet. Diagn. Invest. 6, 428-434 (1994).