

38 悪性水腫

担当	検査チャート
家畜保健衛生所	
病性鑑定施設	<p>(5) 蛍光抗体検査</p> <p>(6) 細菌培養試験 <分離培養></p> <p>(7) 細菌性状分析</p> <p>(8) P C R</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、細菌検査、必要に応じてPCR、蛍光抗体検査の結果を併せて総合的に判断する。</p>
その他	<p>1. 類似疾病を疑う場合でも死体検査、疫学調査、臨床検査、簡易細菌検査(直接鏡検)は必ず実施する。</p> <p>2. 蛍光抗体は外国製品を試薬として入手できる。診断薬でないので結果は補助的に活用する。また、実施には、必ず陽性参照菌株を用いる。</p>

→類似疾病検査

- ① 22 気腫疽 ② 40 牛クロストリジウム・パーフリンゲンス感染症 ③ 2 炭疽 ④ 急性鼓脹症
⑤ 177 硝酸塩中毒 ⑥ 50 ヒストフィルス・ソムニ感染症

○ 病原体: *Clostridium septicum*、*C. sordellii*、*C. perfringens*、*C. novyi*

(1) 疫学調査

- ① 類似疾病予防接種歴(クロストリジウム混合、気腫疽、炭疽)
- ② 周辺地域、施設内での過去における発生状況
- ③ 最近、創傷または外科的処置の有無
- ④ 産褥感染の可能性
- ⑤ 最近、畜舎内外の土砂の移動・掘り起こし
- ⑥ 経過が甚急性または急性
- ⑦ 年齢を問わず発生

(2) 臨床検査

- ① 広範囲の皮下の浮腫(発現部位は一定しない。)
- ② 感染局所は暗赤色腫脹、ときに創傷部からの悪臭のある漿液の流出
- ③ 跛行、運動障害
- ④ 発熱
- ⑤ 呼吸困難

(3) 剖 検

(死体検査)

- ① 皮下織の浮腫
- ② 希に天然孔の出血

(剖検)

- ① 創傷、腫脹部の腐敗臭
- ② 皮下織、脂肪組織内に血様滲出液(蜂巢織炎)
- ③ 筋間結合織の水腫、軽度の気泡形成
- ④ 肺のうっ血および水腫、腹水の貯留
- ⑤ 敗血症例では全身性の出血
- ⑥ 剖検所見は起因菌によって異なる。*C. septicum*では血様の膠様浸出液の産生が強く、筋組織は暗赤黒色に変色することもある。ガス産生はあるが気泡形成は少ない。*C. novyi*では膠様の漿液浸潤が強い。

(4) 簡易細菌検査(直接鏡検)

- ① 病患部(皮下)、体表リンパ節、末梢血、肝臓、脾臓等の直接塗抹標本のレビーゲル染色またはギムザ染色により次のような菌を確認する。
 - ・*C. septicum*:長連鎖
 - ・*C. sordellii*:短冊形、大桿菌、芽胞形成しているものが多い。
 - ・*C. perfringens*:両端鈍円、短冊形、大桿菌、莢膜(+)
 - ・*C. novyi*:鈍端、直大桿菌上記の菌が単一または混在して見いだされる。
- ② 菌種と菌数を推定し、細菌検査(分離培養)の参考にする。

(5) 蛍光抗体検査

C. septicum、*C. sordellii*、*C. novyi*の蛍光抗体(外国製品)が試薬として入手でき、分離菌の簡易同定等に利用できる。診断薬ではないこと、*C. perfringens*に対する蛍光抗体が無いことから、悪性水腫の診断としては補助的である。また、対照として必ず参照菌株を同時に染色することが重要である。

(6) 細菌培養試験(分離培養)

- ① 病変部、体表リンパ節、肝臓、脾臓を、ツアイスラー血液寒天培地またはGAM寒天培地等を用いて定量的に分離培養する。
嫌気ジャー法で37℃、12～24時間培養をする。発育がみられない場合、72時間まで培養を続ける。
- ② いずれの培地においても次のような集落を形成
 - ・*C. septicum*:灰白、半透明、周縁根足状、やや隆起
 - ・*C. sordellii*:扁平、塗抹線上に根足状に発育
 - ・*C. perfringens*:隆起した乳白色、正円形
 - ・*C. novyi*:周縁根足状

(7) 細菌性状分析

“分離菌の性状” 参照

なお、接種1時間前に CaCl₂水溶液(モルモットで 2%液、0.5ml、マウスで 3%液、0.1ml)を同接種部位に筋肉内接種しておく。

(8) P C R

C. septicum、*C. sordellii*、*C. novyi* は、同定用 PCR(マルチプレックス)が開発されている¹⁾。

成績:死亡までの日数、注射局所の変化は異なる。

同定:心血または実質臓器を材料として分離・培養するとともに肝表面のスタンプ標本をグラム染色、場合により市販の蛍光抗体を補助的に活用

(9) 動物接種試験

重度の雑菌汚染が予想される場合などに有効。

C. septicum は長連鎖が特徴

材料:病変部組織等の乳剤(5~10倍)

方法:1検体につき2匹以上のマウスまたはモルモットを使用。大腿部筋肉内に0.1~0.5ml接種

(参考文献)

1) Sasaki, Y., et al.: Vet. Microbiol. 86, 257-267 (2002).

(分離菌の性状)

菌種	糖					ゼラチン	牛乳	凝固血清	レシチナーゼ	リパーゼ	発酵生産物	備考
	ブドウ糖	麦芽糖	乳糖	白糖	サリンシン							
<i>C. chauvoei</i>	+	+	+	+	-	+	C, -	-	-	-	B, A	
<i>C. septicum</i>	+	+	+	-	+	+	C, sf	-	-	-	B, A	
<i>C. novyi</i> A	+	+	-	-	-	+	C	-	+	+	P, B, A	
B	+	+	-	-	-	+	d	+	+	-	P, B, A	インドール+
D	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	P, B, A	インドール+
<i>C. sordellii</i>	+	+	-	-	-	+	d	+	+	-	A, iC, iB, iV	ウレアーゼ+ インドール+
<i>C. perfringens</i> (A-E)	+	+	+	+	-	+	sf	-	+	-	B, A, L	運動性-

C:凝固、d:消化、sf: stormy fermentation

A: 酢酸、B: 酪酸、P: プロピオン酸、iC: イソカプロン酸、iB: イソ酪酸、iV: イソ吉草酸、L: 乳酸