

9. 牛の第三・四胃における気腫性胃炎を認めた牛クロストリジウム・パーFRINGENS感染症

大分家畜保健衛生所

○病鑑 磯村 美乃里・寺山 将平

病鑑 中出 圭祐・病鑑 河上 友

【緒言】

Clostridium perfringens (以下Cl.p) は、グラム陽性・偏性嫌気性・芽胞形成性桿菌で、牛では、悪性水腫、ガス壊疽、壊死性腸炎、エンテロトキセミア等の原因となることが知られている。4つの毒素、すなわち、 α 、 β 、 ϵ 、 ι 毒素の組み合わせにより5つ(A、B、C、D及びE型)に型別されるが、そのうち牛ではA及びD型が多く、日本では殆どの症例がA型である。これまでその病因には α 毒素やエンテロトキシンの関与が最も重要と言われてきたが、近年では新規毒素の発見とその関与も示唆されており¹⁾、詳細は不明な点が多い。

近年では、子牛において、従来多くみられていた腸炎とは異なった胃炎が増加している。その病変は壊死・出血性で、哺乳期の子牛に多い疾患と言われている²⁾。大分県内で発生した過去約9年間(2009~2017年10月)における発生症例の概要を表1に示す。それらの病変は壊死・出血性病変が主体であるが、2017年2月に、それらとは異なった気腫性病変が主体の胃炎の症例に遭遇した。

発生年月	月(日)齢	種	菌分離(胃)	病理(胃)	毒素型
2010.4	7日	ホル	+	第三・四胃 : 出血	A
2013.11	10ヶ月	交雑種	+	第四胃 : 壊死・潰瘍・出血	A
2017.2	3ヶ月	黒	+	第三・四胃 : 気腫・水腫・びらん	A
2017.7	1ヶ月	黒	+	第二・三胃 : 化膿性炎 第四胃 : 出血	A
2017.8	3ヶ月	黒	+	第四胃 : 出血・壊死	A

当該症例は3ヶ月齢であり、発症から鑑定殺までの経過が比較的長いことにおいても、それまで報告されてきた壊死性胃炎とは異なった特徴を有していた。同様の症例の報告は僅かであり、その診断の困難さが伺えた。すなわち、急速な死後変化、死後増殖菌との鑑別が困難、病理組織学的に壊死組織に菌体が確認出来ないこともあり、細菌学的検査において菌分離陰性となる場合がある³⁾等の理由から、確定診断に至らず原因不明となる場合があると推察され、家畜衛生上大きな問題と考えられた。

この問題の解決には、早期に迅速な病性鑑定を実施するのが最も望ましいが、Cl.p感染症は転帰が早く、臨床的に鼓脹症と酷似している等の理由から、生前診断について検討した報告は無い。これまでに、Cl.p感染症の迅速診断法については、ヒトの食中毒関連⁴⁾、鶏の壊死性腸炎⁵⁾におけるリアルタイムPCR法(以下qPCR)での報告があるが、牛については報告が無く、壊死性胃炎における迅速診断を試みた例も無い。

本報ではその症例に関する病性鑑定結果の概要と、胃内容物を用いたqPCR法の検討結果を併せて報告する。

【発生経過】

発生農場は、黒毛和種繁殖、母牛15頭程度の規模で、飼養管理状況は極めて良好、十分な初乳給与も実施しており、これまで家保への病鑑依頼も無かった。

当該牛は2016年11月生まれで、母牛は2産目であった。畜主によると、1ヶ月齢頃に突然哺乳意欲が減退し、自発的には水しか飲まなくなった時期があり、この時から母牛より分離飼育された。その後3ヶ月齢頃に腹囲膨満（拍水音聴取可、水様～粘膜状下痢）となり、胃カテーテルによるガス抜去、メトクロプラミド、流動パラフィン投与の治療を実施した。この時、通過障害がないことを確認した。しかし翌日再発、再度胃カテーテルによるガス抜去を行うも、回復せず、初診より10日後には予後不良と判断され、家畜保健衛生所（家保）にて鑑定殺（薬殺）後、病性鑑定を実施した。

【材料と方法】

病性鑑定：剖検、血液生化学的検査（血検）、病理、細菌、ウイルス学的検査を、定法に従い実施した。細菌学的検査では、主要臓器や第四胃（内容物、粘膜組織）より菌分離（5%血液寒天培地、DHL寒天培地、卵黄加CW寒天培地）を実施し、分離菌について遺伝子学的検査を実施した。遺伝子検査は、分離されたC1. pの毒素型別検査¹⁴⁾、第四胃内容物、第四胃粘膜組織及び小腸内容物由来C1. pのパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）による遺伝子学的相同性解析（制限酵素*Sma* I、パルスタイム0.5-40sec、5.0 V/cm、18.5h）、パラフィン標本（第一～四胃、十二指腸、空腸上部、回腸・直腸及び肝臓）抽出DNAにおけるC1. p α 毒素遺伝子検索、第四胃より分離されたC1. pにおける α 毒素以外の毒素（エンテロトキシン及び新規毒素¹⁾）、すなわち*cpe*、*cpb2*、*becA*、*becB*、*TpeL*、*NetB*遺伝子検索をPCR法により実施した。また病理組織学的検査では、主要臓器及び第三・四胃にてHE染色、第三・四胃にてグラム染色及び免疫組織化学的染色（ウサギ抗C1. pポリクロナール抗体を使用）標本を作製し光学顕微鏡観察を実施した。ウイルス学的検査は、牛ウイルス性下痢（BVD）ウイルスのRT-PCR法による遺伝子検査、牛白血病（BLV）抗体検査（PHA）、A群ロタウイルスのイムノクロマト法による抗原検査を実施した。その他、直腸内糞便中のコクシジウム等寄生虫卵検査を実施した。

qPCRの検討：他の症例（K農場）で、『真菌性胃炎』と診断された症例の第一・二胃内容物を用いた。この症例では、胃内容物からの分離は陰性であったが、増菌処理後はC1. p A型が多数分離され、胃粘膜組織からは約 10^3 cfu/g分離された。また、スタンダードカーブ作成に用いた陽性DNAは、胃粘膜組織由来のC1. p A型菌より抽出した。プライマーはBLAST検索を用いて、C1. pの α 毒素、ホスホリパーゼC遺伝子を検出可能となるよう設計（フォワード・プライマーはCCTGACACAGGGGAATCACA、リバーズ・プライマーはTGCCTATCAACGG CAGTAA、PCR産物は168 bp）し、反応液中に $0.5 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ となるよう調整した。胃内容物からヨーネスピン[®]ver2を用いてDNAを抽出しテンプレートとした。qPCRはSYBR Green 1（Quantitect SYBR Green PCR Kit、QIAGEN[®]）、LightCycler 96（ロシュダイアグノスティック[®]）を使用、反応条件は $95^\circ\text{C} \cdot 15$ 分、 $94^\circ\text{C} \cdot 15$ 秒 $\rightarrow 56^\circ\text{C} \cdot 30$ 秒 $\rightarrow 72^\circ\text{C} \cdot 30$ 秒を50サイクル、 $72^\circ\text{C} \cdot 5$ 秒とした。なお、陽性DNAの濃度測定は実施せず推定値とした（図7）。

次に、本法の感度検証のため、スパイク胃内容物のqPCRを以下の方法で実施した。C1. p

A型菌を 10^6 cfu/ml $\sim 10^{-2}$ cfu/mlとなるよう10倍段階希釈した健康な成牛（約1歳）の第一胃内容物について、プライマーや反応条件等は上記と同様とした。この時、卵黄加CW寒天培地での分離を並行して実施した。また、特異性の検討のため、他菌種（*Clostridium septicum*、*Escherichia coli*、*Salmonella* Typhimurium、いずれも野外株）を用いて同様の方法で実施した。



図1 主な剖検所見

【結果】

病性鑑定：剖検（図1）では、第一胃はガスで膨満、内容物は水様で、中にはロープが入っていたが小さくかなり消化されており、直接の病因とは無関係と考えられた。第四胃は拡張しており、その粘膜面は厚みを増しスポンジ様の触感・弾力を持ち、内容物は墨のような水様であった。また幽門部付近には潰瘍を認めた。一方、第一・二胃及びその他の臓器に大きな著変は認められなかった。

血検の結果（表2）、CPK、LDHの顕著な上昇、肝機能の低下を認めたが、白血球などは正常値で、血清タンパクは若干の低値であったが、A/G比は正常値であった。

病理組織学的検査の結果（図2）、第四胃の、主として粘膜固有層に、特徴的な嚢胞状空隙の多発を認めた。その空隙周囲の腺細胞は変性・壊死していた。嚢胞状空隙は一部で粘膜下織にもみられた。また図2(a)に示すように密発している筈も認めた。なお菌体は

表2 血検結果。測定値の赤字及び矢印は異常値を示す。

項目	単位	測定値	正常値	項目	単位	測定値	正常値	
白血球数	WBC / μ L	8700	4000~12000	GOT	U/l	269 \uparrow	40~70	
赤血球数	RBC $\times 10^3$ / μ L	837	500~1000	肝機能	GGT U/l	50 \uparrow	10~20	
ヘモグロビン	HGB g/dL	12.6	8~15	T-bil	mg/dl	0.6 \uparrow	0.1~0.3	
ヘマトクリット	HCT %	33	24~45	腎機能	BUN mg/dl	51.2 \uparrow	10~20	
平均赤血球容積	MCV fl	102.2 \uparrow	40~60	CRE	mg/dl	1.1	1.0~2.0	
平均赤血球比容	MCH pg	15.1	11~17	脂質代謝	TCHO mg/dl	45 \downarrow	80~300	
平均赤血球比容率	MCHC	14.7 \downarrow	30~36	Na	mEq/l	130 \downarrow	138~152	
血清蛋白	TP	g/dl	5.3 \downarrow	6.5~7.5	血清ミネラル	K mEq/l	2.2 \downarrow	3.9~5.4
	ALB	g/dl	2.8 \downarrow	3.2~3.9	Cl	mEq/l	92 \downarrow	97~111
	Glb	g/dl	2.5 \downarrow	3.3~3.6	酵素	CPK U/l	1502 \uparrow	10~100
	A/G		1.1	0.8以上	LDH U/l	1694 \uparrow	700~500	

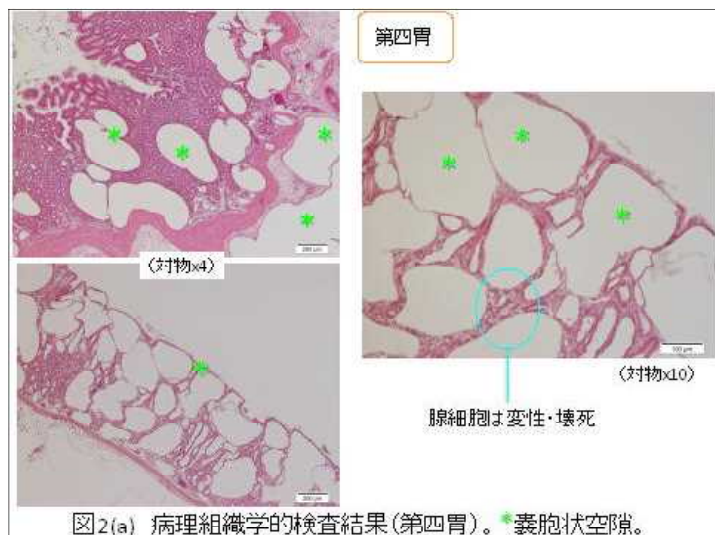


図2(a) 病理組織学的検査結果(第四胃)。*嚢胞状空隙。

また図2(a)に示すように密発している筈も認めた。なお菌体は

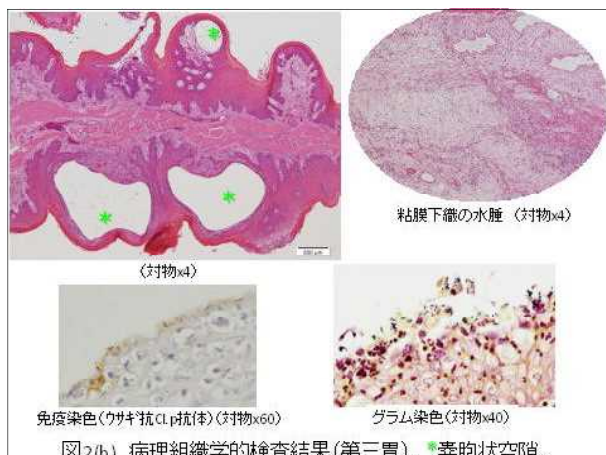


図2(b) 病理組織学的検査結果(第三胃)。*嚢胞状空隙。

ごく僅かに認めた。第三胃でも、粘膜上皮から固有層にかけて同様の嚢胞状空隙、主として粘膜上皮にグラム陽性桿菌（免疫染色陽性）を多数認めた。一部の粘膜下織は水腫性に肥厚していた。また、ごく一部の粘膜上皮に真菌様の構造物を少数認めた。その他は、小腸には著変は無く、肺水腫、脾臓の充うっ血・出血像がみられた。

細菌学的検査では、第四胃内容と粘膜組織よりC1. pが純培養的に分離された。一方、小腸内容物由来C1. p及び*E. coli*の分離増数もみられた (C1. p; 7.6×10^6 cfu/g, *E. coli*; 1.1×10^9 cfu/g)。分離されたC1. pはすべてα毒素のみ検出、毒素型A型と確認した。そこで、パラフィン標本よりDNAを抽出し、α毒素遺伝子検索を実施したところ、第二・三・四胃、十二指腸、回腸・直腸より検出され、第一胃、空腸上部、肝臓からは検出されなかった (図4)。

分離されたC1. p株のPFGEによる解析を実施したところ、胃粘膜組織由来株はすべて小腸内容物由来株とは異なった切断パターンを示した。また、胃内容物由来株のうち2/4株は胃粘膜組織と同一パターンで、他方の2/4株が小腸内容と同一パターンであった。

C1. pの薬剤感受性試験の結果は、表3のようになった。

また、cpe及び新規毒素遺伝子検索（過去県内で発生したC1. p感染胃炎の症例から分

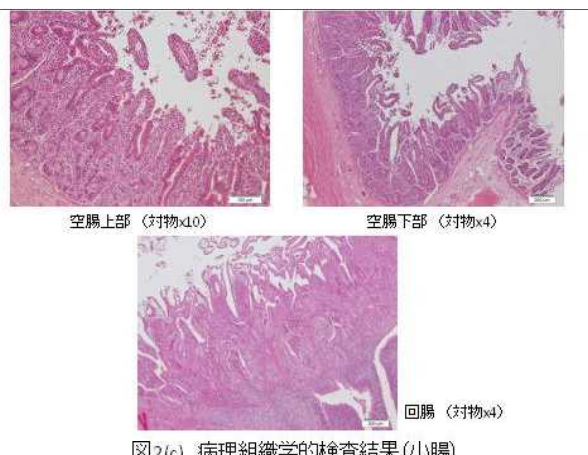


図2(c) 病理組織学的検査結果(小腸)



図4 パラフィン包埋標本抽出DNAよりのα毒素遺伝子検査結果

①第一胃②第二胃③第三胃④第四胃⑤十二指腸⑥空腸(上部)
⑦回腸・直腸⑧肝臓
PC: 陽性コントロール、NC: 陰性コントロール、M: マーカー

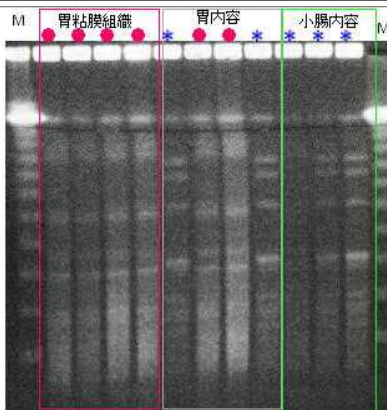


図5 PFGE結果。●と●は各々相同。胃粘膜組織由来株(4株)は、小腸内容由来株(3株)とは異なった切断パターンを示す。

表3 薬剤感受性試験結果。S: 感受性、I: 中感受性、R: 耐性

	第四胃粘膜 由来	第四胃内容 由来	小腸内容 由来
ペニシリン	R	R	R
アンピシリン	S	S	S
アモキシシリン	S	S	S
カナマイシン	R	R	R
ストレプトマイシン	R	R	R
ゲンタマイシン	R	R	R
エリスロマイシン	I	I	I
オキシテトラサイクリン	R	R	I
エロフロキサシン	S	I	S
ナジジクス酸	I	I	I
マルボフロキサシン	S	R	S
カラムフェニール	S	I	S

離された株と同時に実施)の結果は表4のようになり、cpe及び新規毒素の関与は証明できなかった。

その他、ウイルス学的検査の結果、BLV、BVD、ロタウイルスはいずれも陰性、コクシジウムは陰性であった。

qPCRの検討: 陽性コントロール、胃内容物ともに、解離温度77°C付近で特異的な増殖がみられた。なお、それ以外の解離温度での増殖はみられなかった。胃内容物サンプルのCt値は、約32~33付近で、PCR効率等は良好であった(図6)。

スパイク胃内容物のqPCRの結果、10 cfu/mlまで検出可能であった(図7)。

他の菌での非特異的反応の有無を調べたところ、調査したこれら菌については非特異的増幅はみられなかった(図8)。なお、K農場の胃内容物からは、多数のブドウ球菌属等が分離されていたが、それらが非特異的に検出されることもなかった。

【考察】

本症例では、病理組織において特徴的な気腫性胃炎を認め、Cl. pA型が純培養的に分離されたことから、「第三・四胃における気腫性胃炎を認めた牛クロストリジウム・パープリングス感染症」と診断した。また、分離された株をPFGEで比較したところ、胃粘膜組織由来株は小腸内容由来株の切断パターンとは異なっていた。なお、小腸病変は認められず、臨床的に通過障害はなかった。このことから、本症例は外来Cl. pの経口感染を原因とした気腫性胃炎であると推察された。なお、本症例では肺水腫や脾臓の病変が見られたが、薬殺によるものである可能性もありCl. pによる病変とは断定出来なかった。

気腫性胃炎については、ヒトにおいても報告は稀であり、その診断名も統一性はない。Cl. p等細菌感染を原因とするものを気腫性胃炎、細菌感染以外の原因によるものを胃気腫症と区別し記載しているものや、これらを総称して腸嚢胞状気腫症としている記載もある。家畜での報告も殆ど無く、古くは1981年に海外でCl. Septicumが分離されている報告があり⁶⁾、その後、サルシナ属菌とCl. p A型の分離事例³⁾やCl. p A型による分離事例^{7),8)}がある。

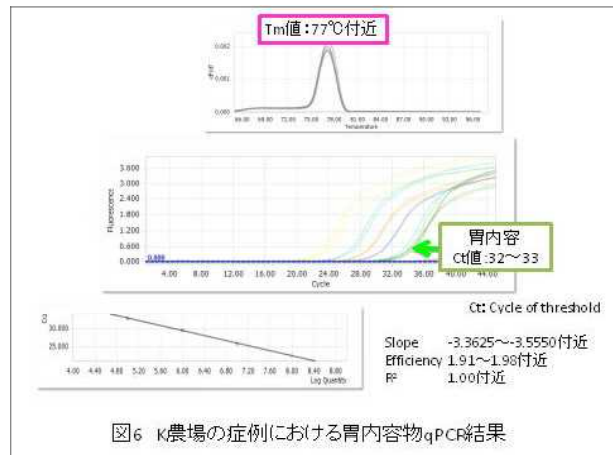


図6 K農場の症例における胃内容物qPCR結果



図7 Cl. pスパイク胃液のqPCR結果(感度の検証)

<Cl. p以外>		<Cl. p>	
Sample Name	Tm値	Sample Name	Tm値
Cl. septicum	-	Cl. p_type D_WT	76.97
	-		76.99
E. coli_WT	-	Cl. p_A 10233	76.77
	-		76.78
Salmonella Typhimurium_WT	-	K農場 第二胃内容	77.10
	-		77.30
		K農場 第一胃内容	77.35
		Cl. p_WT	76.86
			76.83

図8 Cl. pのqPCRにおける特異性の検証結果

牛の気腫性胃炎の発生要因については、Cl. p肯定説・否定的な説等諸説あり、不明な点も多く、本症例の様にCl. p感染を証明できた例^{3),5)}は殆どない。実験感染の結果から、ガス産生菌の存在と、基質の大量摂取の双方によるガスの過剰産生であると考察されている⁷⁾が、自然発生例でも同様かは定かではない。

以上の報告を踏まえ、本症例の発生要因を考察した。

気腫性胃炎を含めたCl. p感染症における宿主側の要因としては、月齢、免疫力（初乳接種の有無）、餌（炭水化物）の過剰摂取、胃内環境（正常細菌叢、pH等）の悪化、基礎疾患の有無、真菌の感染などの要因がこれまで挙げられている^{2),3),7)}。このうち本症例で有力と考えられるのは、1ヶ月齢より食欲が低下していたという事実から、基礎疾患があった可能性が推察され、それに伴った胃内正常細菌叢の乱れもあった可能性がある。なお、ごく一部の粘膜上皮に真菌様の構造物を少数認めたが上皮表層に限局しており、病変が形成された後に感染したものと考えられた。また、菌側の要因としては、菌の大量摂取⁹⁾、菌が保有するある種の未知の毒素（新規毒素）によるもの¹⁾、変異の可能性¹⁰⁾などが挙げられており、このうち該当する可能性があるのは新規毒素と変異であるが、本症例では結果に示すように（表4）新規毒素の関与は確認できず、変異の有無については未確認であるものの、既報¹⁰⁾では他の調節系の存在も示唆されておりその詳細は明らかとはなっていない。

以上のことから、本症例では、宿主側の要因、菌側の要因の両者が相互に関与し合った結果、本症例のような特徴的な病変、すなわち壊死性の変化は弱く、気腫が著明な病変を形成した可能性があると考えた。

次に、本症例と同様の病態を示す国内の報告事例（表5）を見ると、本症例と同様にCl. p A型菌が分離された事例が1例⁹⁾あるが、他の2例^{11),12)}は菌分離陰性、病巣内の菌体も確認できておらず、『原因不明』となっている。この2症例は、既報³⁾の症例等を考慮すると、Cl. pによる病変である可能性は十分あると言える。さらに、県内で過去約9年間に壊死・出血性胃炎がCl. pによる可能性があるものの、胃からの菌分離が確認できなかったために確定診断に至っていない可能性がある症例が12例程確認できた（表6）。つまり、胃からの菌分離を実施しなかった、分離はできても同定ができなかった、組織中にCl. p菌体が確認できない、化膿性炎が認められないもしくは軽度であった等の理由から原因不明となっていた可能性が考えられた。既報でも、Cl. pのα毒素は好中球の浸潤をブロックする性質があることが報告されており¹³⁾、菌体や化膿性炎の有無は、必ずしもCl. p感染症診断の指

表4 新規毒素遺伝子検索結果

材料：本症例を含めた過去県内発生した牛胃炎より分離されたCl. p菌株

	本症例	U農場	W農場	M農場
	第四胃 (気腫)	第四胃 (出血・壊死)	第四胃 (出血・壊死)	第四胃 (出血・壊死)
cpe	-	-	-	-
cpb2	-	-	-	-
bec A	-	-	-	-
bec B	-	-	-	-
TpeL	-	-	-	-
NetB	-	+	-	-

表5 牛の気腫性胃炎。国内の報告事例。山形県、京都府の事例では、菌分離陰性、病巣内の菌体が陽性という結果になっている。

報告年	発生都道府県	齢	部位	菌分離	病巣内の菌体	病理
1980	山形県	3歳 (食肉検査)	第一胃	-	-	巨細胞が「空胞」を内張
2001	京都府	19ヵ月	第二胃	-	-	マクロファージが「空胞」の一部を内張
2013	北海道	1日	第三・四胃	Cl. p A型	+++	主要臓器でエンテロトキセミア様

標とはならないと考えられ、菌分離を実施していない場合はC1. p感染の推察に至らない場合もあり得る。

以上を踏まえ診断上の問題点をまとめると、①転帰が早い、②菌分離ができないと確定診断出来ない、③死後変化、死後増殖との鑑別が困難である、④病巣部に菌体が確認できないことがある、⑤本症例のような非典型的な病変があり、病変からの診断が困難となる可能性がある、⑥原因不明のまま抗生剤による治療を

表6 大分県内で発生した胃炎のうち、壊死・出血性等の病態のため原因がC1. pによる可能性があるものの確定できなかったもの (2009～2017)

発生年月	齢	種	C1. p分離(胃)	C1. p分離(胃以外)	病理(胃)	毒素型	組織(胃)中の菌体数	好中球(胃)
2009.4	2ヶ月	豚	NT	-	第三・四胃 : 出血・壊死・血栓、真菌		++++	+
2013.11	38日	乳牛種	NT	-	第四胃 : ひびく、潰瘍		+++	++
2014.12	18日	豚	NT	-	第四胃 : 水腫、投針索		-	+
2017.11	2ヶ月	豚	NT	-	移行なし(出血・血尿の粘膜壊死?)		NT (他臓器+)	NT (他臓器+)
2011.8	8ヶ月	豚	NT	肝・心+	第四胃 : 壊死・潰瘍	△	-	-
2011.10	6歳	豚	NT	肺・腎+	第四胃 : 出血	△	+	-
2012.10	30日	豚	NT	小腸内容[+]	第四胃 : 出血・水腫・壊死	△	+	-
2013.1	33ヶ月	ホル	NT	回腸[+]	第三・四胃 : 壊死	△	++	-
2015.0	9ヶ月	豚	NT	小腸内容[+]	第四胃 : 水腫	△	-	-
2016.3	15日	ホル	NT	小腸内容[+]	第四胃 : 水腫・壊死	△	-	± (他臓器+)
2010.12	11ヶ月	豚	+	-	第四胃 : 胃:壊死・出血(穿孔)	△	++++	+++
2016.10	27ヶ月	豚	+	-	(胃の病変は無い)	-	-	-

し、その後の真菌の増殖を招く可能性があるといったことが挙げられる。

以上のことから、C1. p感染症では確実な迅速診断が必要不可欠と考え、本症例のような事例に遭遇した場合の対策として、胃内容物を用いたリアルタイムPCR検査の検討を行った。その結果、10 cfu/mlまで検出可能であった。大分県における過去の病性鑑定事例においてC1. pによる胃炎と診断された症例での最少のC1. p量は $10^3 \sim 10^4$ cfu/ml程度であったことから(結果非公表)、この系で検出可能と考えられた。胃内容物のqPCR検査によりその後の菌分離、薬剤感受性試験の実施が可能となり、生前診断も可能となることが期待できる。

【結論】

本症例は県内では初めて確認されたC1. p A型菌による牛の気腫性胃炎の発生であり、胃への経口感染が原因と推察される、従来の壊死・出血性病変とは異なった疾患である。C1. pによる胃炎全般的に、過去に診断を確定できないまま、原因不明となって潜在していた症例があった可能性がある。本症例の発生要因は、基礎疾患があったことによる胃内正常細菌叢の乱れが誘因である可能性があり、宿主側、菌側の要因が相互に関与したことにより、壊死・出血性といった劇症型にまで進行しなかった可能性も考えられる。菌分離が陰性の場合確定診断が困難となることから、qPCRを利用した確実な抗原検出により、早期診断が可能となり、薬剤感受性試験の実施と適切な薬剤選択にもつながるものとする。

【参考文献】

- 1) Sarab A Revitt-Mills et al. *Clostridium perfringens* extracellular toxins and enzymes: 20 and counting. Microbiology Australia. 2015
- 2) 滝澤亮ら. 子牛の*Clostridium perfringens* A型による出血性第3・4胃炎. 平成22年度 大分県家畜保健衛生所並びに畜産関係業績発表会集録 2011
- 3) Herbert J. Van Kruiningen et al. Clostridial abomasal disease in Connecticut dairy calves. Can. Vet. J. 50(8), 857-60. 2009
- 4) Chon, Jung-Whan et al. Development of Real-Time PCR for the Detection of

- Clostridium perfringens* in Meats and Vegetables. J. Microbiol. Biotechnol. 22 (4), 530-534. 2012
- 5) Mark G. Wise et al. Quantitative Detection of *Clostridium perfringens* in the Broiler Fowl Gastrointestinal Tract by Real-Time PCR. Applied. and Environmental Microbiol. 71(7), 3911-3916. 2005
 - 6) Eustis SL et al. Suppurative abomasitis associated with *Clostridium septicum* infection. J. Am. Vet. Med. Assoc. 178(7), 732-4. 1981
 - 7) Roger J. et al. Tympany, acidosis, and mural emphysema of the stomach in calves: report of cases and experimental induction. J. Vet. Diagn. Invest. 19, 392-395. 2007
 - 8) J. Glenn Songer et al. Clostridial abomasitis in calves: Case report and review of the literature. 290-294. Anaerobe II 2005
 - 9) 谷口有紀子ら. 乳用子牛にみられた*Clostridium perfringens* A 型菌による出血性線維素性胃炎について. 平成25年度 第61回 北海道家畜保健衛生業績発表会集録 2014
 - 10) Victoria J. Nowell et al. Genome Sequencing and Analysis of a Type A *Clostridium perfringens* Isolate from a Case of Bovine Clostridial Abomasitis. PLoS One 7(3), e32271. 2012
 - 11) 岩手大学家畜病理学教室・山形県内陸食肉衛生検査所出題. ウシの第一胃気腫. 第20回獣医病理学研修会 標本No. 321
 - 12) 岡あかね. 牛の第二胃気腫. 家畜衛生修会(病性鑑定病理部門, 2001)における事例記録(I) 日本獣医師会雑誌 55(10). 2002
 - 13) Richard W. Titball et al. The *Clostridium perfringens* a-toxin. 5, 51-64. Anaerobe 1999
 - 14) Uzal, F. A. et al. PCR detection of *Clostridium perfringens* producing different toxins in faeces of goats. Lett. Appl. Microbiol. 25(5), 339-44. 1997