

4 ブルセラ病（牛）〔法〕

担当	検査チャート
家畜保健衛生所	
病性鑑定施設	<p>(6) P C R</p> <p>(7) 細菌培養試験 <分離培養></p> <p>(8) 細菌性状分析</p> <p>(9) 病理組織検査</p> <p>(+) (-) (+) (-) (+) (-)</p> <p>型別・同定</p>
判定・結果	<p>(法定判定)</p> <p>(法定判定)</p> <p>(+)</p> <p>(-)</p>
最終判定	<p>最終判定は法定判定(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)に従う。</p>
その他	<ol style="list-style-type: none"> 1. 法定判定等検査の方法は家畜伝染病予防法施行規則別表第一を参照する。 2. 急速凝集反応が陰性であっても急速凝集反応以外の検査の結果ブルセラ病にかかっているおそれがあると認められた牛については、急速凝集反応の結果が判明した日から14日以上21日以内の間隔においてELISA法および補体結合反応検査を行う(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)。 3. ブルセラ病の患畜と同居した牛については、14日以上60日以内の間隔において検査を繰り返し、その牛およびその牛と同居する全ての患畜が陰性となるまで検査を行う(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)。 4. ブルセラ菌が疑われる菌が分離された場合は菌種同定・生物型別を動物衛生研究所等の専門機関へ依頼する。 5. <i>Brucella abortus</i>は感染症法において三種病原体等に指定されており、同法の規制の対象となる。 6. 抗体検査もしくは菌分離のいずれかが(+)であるものをブルセラ病の患畜とする(家畜伝染病予防法施行規則別表第一)。 7. 抗体検査(+)の場合、可能な限り細菌培養試験を実施する。

→類似疾病検査

- ① 25 牛カンピロバクター症 ② 24 サルモネラ症 ③ 27 トリコモナス病 ④ 11 アカバネ病
⑤ 58 牛クラミジア症

○ 病原体: *Brucella abortus* (*Brucella melitensis* biovar Abortus)

(1) 疫学調査

- ① 輸入牛を導入したことがある。
② 感染種雄牛と接触したことがある。
③ 妊娠後期に流産が好発する。
④ 輸入元が汚染地域である。

(補体結合反応)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照

(2) 臨床検査

- ① 流死産(胎齢 7、8 ヶ月が多い。)
② 後産停滞
③ 精巣炎・精巣上体炎
④ 関節炎(希)
⑤ 乳房炎

(5) 簡易細菌検査(直接鏡検)

流死産胎子第四胃内容物、流死産牛膣排泄物を抗酸性染色

(3) 剖 検

- ① 子宮内膜と脈絡膜間の水腫(無臭、黄色混濁、軽度粘性)、胎膜および臍帯の水腫(透明)
② 胎盤は正常のものから壊死性のものまで多様である。時折、粘性を持つキャラメル様滲出物で覆われていることがある。
③ 胎子では、皮下組織の軽度水腫。流死産胎子の重要病変は肺炎である。程度の差はあれ、肺炎は大多数の流産胎子で観察される。重症例では、肺は腫大、硬化
④ 陰嚢は腫大し、熱感および弛緩している。精巣鞘膜腔は線維素化膿性の滲出物により拡張する。精巣では壊死巣が多発する。

(6) P C R

- ① 細菌検査(直接鏡検)で使用した材料についてブルセラ属特異的 PCR^{1),2)}を行う。
② ブルセラ属特異的 PCR はブルセラ菌か否かのスクリーニングに有用¹⁾
③ *B. abortus* の同定およびワクチン株 2 種との識別用としてマルチプレックス PCR³⁾ や、菌種同定用の PCR^{2),4)} が報告されている。

(4) 抗体検査(急速凝集反応、ELISA、補体結合反応)

(急速凝集反応)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照
スクリーニング検査

(ELISA)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照

(7) 細菌培養試験(分離培養)

細菌学上の診断は菌分離によって行う^{2),5)}。

- ① 流死産の場合は流死産胎子の第四胃内容物、脾臓、肺、胎膜、および流死産牛の膣スワブを用いる。
② 鑑定殺材料の場合には主要リンパ節(頭部、乳房、生殖器)、脾臓、子宮、乳房、精巣を使用
③ 感染が疑われる生体では乳汁(全分房から採取、遠心し沈殿とクリーム層を培養)、精液、関節液も使用できる。
④ 10%炭酸ガス下で 1%グルコース、5%馬血清加 TSA 寒天平板培地(選択剤添加および未添加培地を併用する。)を用いて 37°C で 8~10 日間分離培養を行う。
⑤ 通常は 2~3 日後に帯青色透明、小円形集落を形成する。

(8) 細菌性状分析

“分離菌の性状” 参照

(9) 病理組織検査

- ① 壊死性胎盤炎、急性子宮内膜炎。脈絡膜上皮における無数の菌塊 (Stamp の Ziehl-Neelsen 染色変法⁵⁾ により明瞭化)
- ② 局所リンパ節炎 (長期化しても線維化および壊死を伴わない。)、化膿性腱鞘炎・関節炎・滑液包炎、乳房炎がみられることがある。
- ③ 胎子における、気管支炎、気管支性肺炎～線維素性肺炎。壊死性動脈炎、巨細胞形成を伴ったリンパ節、肝臓、脾臓および腎臓の肉芽腫形成
- ④ 壊死性精巣炎、線維素性化膿性精巣鞘膜炎、限局性壊死性精巣上体炎。精細管に無数の菌塊

その他:

(型別・同定)

ファージ感受性試験、生化学性状試験による菌種の同定および生物型別

ブルセラ菌が疑われる菌が分離された場合は、動物衛生研究所等の専門機関へ菌種同定・生物型別を依頼する。

(分離菌の性状)

菌種	血清要求	CO ₂ 要求	コロニー性状	オキシダーゼ	ウレアーゼ	ファージ感受性		
						Tb	Wb	R/C
<i>B. melitensis</i>	—	—	S	+	+	—	—	—
<i>B. abortus</i>	—d	+/-	S	+	+	+	+	—
<i>B. suis</i>	—	—	S	+	+R	—	+	—
<i>B. neotomae</i>	—	—	S	—	+R	—	+	—
<i>B. ovis</i>	+	+	R	—	—	—	—	+
<i>B. canis</i>	—	—	R	+	+R	—	—	+

d: *B. abortus* 生物型2 は初代分離に血清を要求

+/-: *B. abortus* 生物型1～4は初代分離にCO₂を要求

S/R: スムース/ラフ

+R: 迅速

ファージ感受性: 1 単位ファージによる。

(注意)

B. abortus は人に感染しやすく病原性も強いいため、病的材料特に流産関連材料の取扱いはオーバーオールその他、ゴム手袋、マスク、ゴーグルを着用し粘膜や傷口からの侵入を防ぐなど个人防护対策および十分な封じ込め条件下で行うこと。

(参考文献)

1) ブルセラ属特異的 PCR

Da Costa, M., et al.: J. Appl. Bacteriol. 81, 267-75 (1996).

2) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed, Vol.1 and 2. OIE (2012).

3) *B. abortus* の同定およびワクチン株 2 種との識別用マルチプレックス PCR

Ewalt, D.R., et al.: Methods Mol. Biol. 216, 97-108 (2003).

4) 今岡浩一ら: ブルセラ症検査マニュアル. 国立感染症研究所.

5) Alton, G.G., et al.: Techniques for the Brucellosis Laboratory. INRA, Paris (1988).