

52 リステリア症（牛）

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD A["(1) 疫学調査"] --> C["(3) 剖検"] B["(2) 臨床検査"] --> C C -- "(死亡牛、流死産胎子、と畜)" --> D["(4) 簡易細菌検査
<直接鏡検>"] C -- "(糞便、サイレージ)" --> E["(5) 細菌培養試験"] C -- "(脳脊髄、臓器)" --> F["(10) 病理組織検査"] D --> E E -- "<増菌・分離培養>" --> G["(6) 細菌性状分析"] G --> H["(7) 動物接種試験"] H --> I["(8) イムノクロマト試験"] I --> J["(9) P C R"] J -- "<同定>" --> K["(+)"] J --> L["(-)"] F --> M["(11) 免疫組織化学検査"] K --> N["(+)"] L --> O["(-)"] M --> P["(+)"] M --> Q["(-)"] </pre>
病性鑑定施設	<p>(5) 細菌培養試験 <増菌・分離培養></p> <p>(6) 細菌性状分析</p> <p>(7) 動物接種試験</p> <p>(8) イムノクロマト試験</p> <p>(9) P C R</p> <p><同定></p> <p>(+) (-)</p> <p>(+) (-)</p>
判定・結果	<p>(+) (-) (+) (-)</p>
最終判定	<p>最終判定は、細菌培養試験、細菌性状分析、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 50 ヒストフィルス・ソムニ感染症
- ② 180 分娩性低カルシウム血症
- ③ 179 低マグネシウム血症
- ④ 海3 流行性脳炎(ウエストナイルウイルス感染症)
- ⑤ 21 破傷風
- ⑥ 58 牛クラミジア症
- ⑦ 海4 狂犬病
- ⑧ 9 伝達性海綿状脳症
- ⑨ 各種流産

○ 病原体: *Listeria monocytogenes* 希に *L. ivanovii*

(1) 疫学調査

- ① *Listeria* 属菌は、牛、めん羊、山羊、馬、豚、犬、野生動物を宿主とする。春先(3~6月)にかけて好発する。牛の発症は散発的に発生し、めん羊は集団発生する傾向にある。
- ② 汚染した飼料を摂取することにより腸管上皮細胞やM細胞から菌が侵入し、敗血症、流産などを起こす。
- ③ 傷ついた口腔粘膜などから菌が侵入すると神経症状を認めることがある。
- ④ 分娩その他ストレス感作があったときに発生する。

(2) 臨床検査

- ① 発熱
- ② 著しい流涎(水様)、咽喉頭麻痺、舌麻痺
- ③ 斜頸、旋回運動、耳翼の下垂
- ④ 角膜混濁
- ⑤ 起立不能
- ⑥ 希に急死(敗血症型)

(3) 剖 検

- ① 通常特徴的变化を認め難い。希に延髄断面において髄膜の水腫性肥厚がみられることがある。
- ② 胎子および新生子の敗血症型では肝臓に針先状の黄色巣がみられる。

(4) 簡易細菌検査(直接鏡検)

脳幹部、頸髄上部、脳脊髄液、敗血症型では肝臓、脾臓等、流産胎子では胃内容、悪露等の直接塗抹標本をグラム染色し、グラム陽性小桿菌を確認する。

(5) 細菌培養試験(増菌・分離培養)

- ① 脳脊髄、臓器の乳剤をブレインハートインフュージョンブロスを用いて4℃で1~2週間静置(増菌)する。
- ② 脳脊髄(脳幹部を中心に数カ所)、臓器の乳剤および上記①で増菌した材料を用いて37℃で24~48時間分離培養を行う。
- ③ 糞便、サイレージなどをUVMもしくはHalf-Fraser培地を用いて30℃で24~48時間増菌し、Fraser培地で10倍希釈して37℃で24~48時間さらに増菌し、その一部を用いて37℃で24~48時間分離培養を行う。リステリアの存在下で通常黒変する。
- ④ 分離培地は、PALCAM 寒天培地(PALCAM-*Listeria*selectivesupplement およびアンホテリシン B1.2μg/ml を添加)もしくはクロモアガーリステリア基礎培地を用いて、30℃で24~48時間分離培養を行う。
- ⑤ PALCAM 寒天培地上で暗視野実体顕微鏡で乳青白色の蛍光を発する微小集落を形成する。もしくはクロモアガーリステリア基礎培地上で水色の集落に円形のハローを形成する。

(6) 細菌性状分析

グラム染色(+)、小桿菌、運動性(+)、VP(+)、エスクリン加水分解(+)、アラビノース(-)、β溶血性(+)

CAMP試験は *L. monocytogenes* では *S. aureus* で、*L. ivanovii* では *Rodococcus equi* で相乗溶血を示す。

L. monocytogenes: ラムノース(+)、キシロース(-)

L. ivanovii: ラムノース(-)、キシロース(+)

(7) 動物接種試験

材料: 菌液

方法: マウス口唇穿孔塗抹試験

うさぎ眼接種試験 (Anton's eye test)

うさぎ静脈内接種試験

マウス腹腔内接種試験

成績: マウス口唇穿孔塗抹試験では 6～12 日後に脳炎を呈し死亡する。

うさぎの眼接種試験では 3～5 日後に角膜炎を呈する。

うさぎの静脈内接種試験では 3～5 日後に単球増多症がみられる。

マウス腹腔内接種試験では 3～4 日後には脾臓、肝臓などの臓器から菌体が回収できる。

(8) イムノクロマト試験 (同定)

L. monocytogenes の同定方法としてイムノクロマト法が利用可能である。数社から市販されている。

(9) P C R (同定)

L. monocytogenes の同定方法として PCR が利用可能である。PCR は数多く報告されており、参考法として有用である。

(10) 病理組織検査

- ① 脳炎型と敗血症型に大別される。
- ② 脳炎型: 脳幹部 (特に延髄および橋) に主座し、微小膿瘍形成を伴う化膿性 (髄膜) 脳炎。病巣にグラム陽性小桿菌を確認できることが多い。小膠細胞の反応を伴い、軟化病巣を形成することがある。神経細胞の変性、主に単核細胞からなる囲管性細胞浸潤 (髄膜にもみられることがある。)
- ③ 敗血症型: 肝臓における多発性巣状壊死あるいは微小膿瘍形成。病巣にグラム陽性小桿菌を確認できる。類似病変は肺、心臓、腎臓、副腎、脾臓、脳においてもみられる。

(11) 免疫組織化学検査

病変部に細菌抗原を検出する。