

159 ブルセラ病（めん羊・山羊）（除くめん羊 *Brucella ovis* 感染症）〔法〕

担当	検 査 チ ャ ー ト
家畜保健衛生所	<pre> graph TD 1["(1) 疫学調査"] --> 2["(2) 臨床検査"] 1 -- "(血清)" --> 4["(4) 抗体検査"] 1 -- "(乳汁、膿粘液、精液)" --> 5["(5) 簡易細菌検査"] 2 -- "(流死産胎子、鑑定殺畜)" --> 3["(3) 剖検"] 2 -- "(流死産胎子、第四胃内容物、主要リンパ、生殖器他)" --> 5 3 --> 9["(9) 病理組織検査"] 4 -- "<急速凝集反応><試験管凝集反応><補体結合反応>" --> 6["(6) P C R"] 5 -- "<直接鏡検>" --> 6 5 --> 7["(7) 細菌培養試験"] 7 -- "<分離培養>" --> 8["(8) 細菌性状分析"] 6 --> 6p["(+)
(-)"] 8 --> 8p["(+)
(-)"] 8p -- "型別・同定" --> 6p 9 --> 9p["(+)
(-)"] 6p --> 10["(法定判定)"] 8p --> 10 8p -- "型別・同定" --> 10 9p --> 10 9p --> 10 </pre>
病性鑑定施設	
判定・結果	(法定判定) (法定判定) (法定判定) (法定判定) (+) (-)
最終判定	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。
その他	- 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。 - ブルセラ菌が疑われる菌が分離された場合、菌種同定・生物型別検査は動物衛生研究所等専門機関へ依頼する。 <i>B. melitensis</i>は感染症法の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。 - 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)。

→類似疾病検査

流産：① 159 ブルセラ病(*Brucella ovis* 感染症) ② *Campylobacter jejuni* 感染症

○ 病原体:*Brucella melitensis* (*Brucella melitensis* biovar Melitensis)

(1) 疫学調査

- ① 輸入めん羊・山羊を導入したことがある。
- ② 感染種雄めん羊・山羊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。
試験管凝集反応と組み合わせて判定。

(2) 臨床検査:牛ブルセラ病に同じ

- ① 流産
- ② 後産停滞
- ③ 精巣炎・精巣上体炎
- ④ 関節炎(希)

(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。

(6) P C R

- ① 細菌検査(直接鏡検)で使用了材料について実施する。
- 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 菌種同定のための PCR^{2),3)}も報告されている。

(3) 剖 検

- ① 牛ブルセラ病に類似している。
- ② 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)
- ③ 胎盤の病変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。
- 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。
- ⑤ 乳房に結節性病変を認めることがある。

(7) 細菌培養試験(分離培養)

細菌学上の確定診断は菌分離によって行う^{3),4)}。

(4) 抗体検査(急速凝集反応、試験管凝集反応、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

(試験管凝集反応)

家畜伝染病予防法施行規則(別表第一)参照
補体結合反応と組み合わせて判定

- ① 流死産の場合には流産胎児の第四胃内容物、脾臓、肺、胎膜、および流死産牛の膣スワブを用いる。
- ② 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℃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⁴⁾により明瞭化)
- ② 壊死性精巣炎、線維素性化膿性精巣鞘膜炎、局限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り菌種の同定および生物型別を行う。

ブルセラ菌が疑われる菌が分離された場合、菌種同定・生物型別検査は動物衛生研究所等専門機関へ依頼する。

(注意)

B. melitensis 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、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および十分な封じ込め条件下で行うこと。

(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。

(参考文献)

1) ブルセラ属特異的 PCR

Da Costa, M., et al.: J. Appl. Bacteriol. 81, 267-275 (1996).

2) 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.

3) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th ed, Vol. I and II. OIE (2012).

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