

肉用鶏農家で発生したリステリア症と *Listeria monocytogenes* の Serogroup 分類

中央家畜保健衛生所 佐藤 龍

【はじめに】

リステリア症は *Listeria monocytogenes* (以下 Lm) により発生する感染症で、乳・肉製品等を介して人に感染するため、公衆衛生上でも問題となっている。家畜では牛・羊に多く発生し、血清型 4b、1/2a(1a)、および 1/2b(1b) が主に感染する。鶏における発生は国内では 2001 年に九州で報告されているが、その前後は報告がない。今回、国内 2 例目と考えられる鶏のリステリア症が管内養鶏場で発生したのでその概要を報告する。

【農場の概要・発生状況】

当該農場は、肉用鶏約 700 羽を木造 1 棟で平飼している。28 日齢で導入し、発生時 2 ロットを飼養していた。平成 27 年 5 月 10 日、82 日齢のロットで斜頸、旋回等の神経症状を呈する個体がみられ、立入検査実施の 5 月 13 日までに 6 羽で症状が認められ、うち 3 羽が死亡した。元気消失から半日の経過で神経症状を呈し、なおその他の個体に異常はなかった。衰弱鶏 No.1 を示す (写真 1)。



写真 1 衰弱鶏 No.1

【ワクチン歴】

- ・ニューカッスル病、伝染性気管支炎 (10,27 日齢)
- ・鶏痘 (27 日齢)

- ・伝染性ファブリキウス嚢病 (IBD) (14,21 日齢)

【材料及び方法】

衰弱鶏 3 羽を材料として病性鑑定を実施した。

病理組織学的検査：主要臓器、F 嚢を用いて定法に従い実施した。免疫組織化学的染色を、小脳について抗 Lm1a 兎血清及び抗 Lm4b 兎血清を、F 嚢について抗 IBDV マウス血清を用いて実施した。

細菌学的検査：主要臓器を用いて定法に従い分離培養を実施し、分離菌を同定、血清型別、Serogroup による分類を実施した。また、飼料及び飲水について UVM-1 及び Fraser 培地で増菌後、PALCAM 培地で分離培養を実施した。

【病性鑑定結果】

剖検では主要臓器に著変はなかった。また、インフルエンザ簡易キットは陰性だった。

病理組織学的検査では、小脳に壊死性化膿性脳炎が認められ (3/3) 偽好酸球の著大な浸潤が認められた (写真 2,3)。同部にはグラム陽性球桿菌が確認された (写真 4)。同部位において抗 Lm4b 兎血清に対する陽性抗原を確認した (写真 5)。なお、抗 Lm1a 兎血清に対しては陰性を示した。



写真2 小脳における壊死性化膿性脳炎

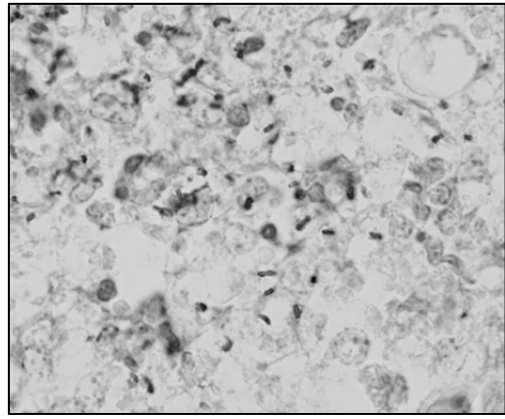


写真5 小脳病変部における抗 Lm4b
兔血清陽性抗原

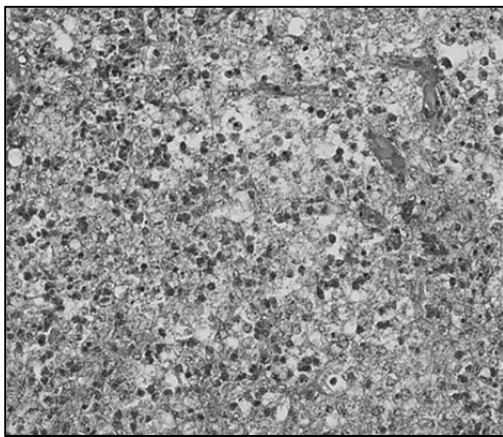


写真3 小脳における偽好酸球の浸潤

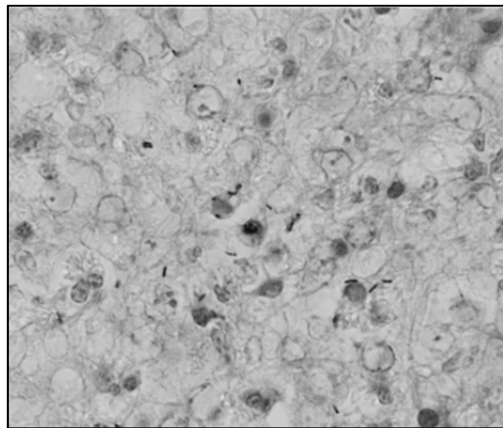


写真4 小脳病変部におけるグラム陽性球桿菌

また、F 囊に濾胞の萎縮とマクロファージの浸潤が認められ (3/3)、同部では抗 IBDV マウス血清に対する陽性抗原を確認した (写真 6,7)。

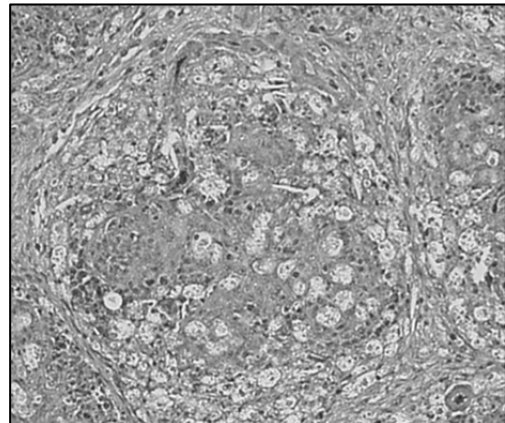


写真6 F 囊における濾胞の萎縮と
マクロファージの浸潤

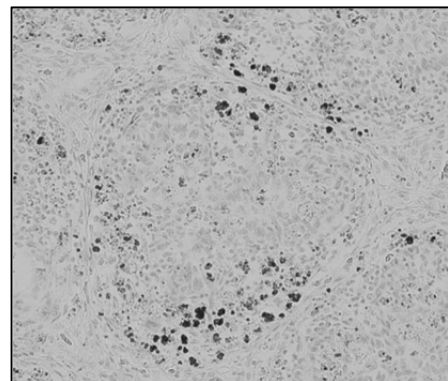


写真7 F 囊における抗 IBDV
マウス血清陽性抗原

細菌学的検査では、脳から純培養的に、肝臓及び脾臓からは少量のβ溶血性を示すグラム陽性球桿菌を分離した。同定キットでは、API Listeria で Code2510、ID98.5% で Lm と同定した (図 1)。

○分離菌の性状		病性鑑定指針記載のLm性状と一致					
	運動性	VP	エスクリン加水分解	アラビノース	ラムノース	キシロース	
Lm	+	+	+	-	+	-	
分離菌	+	+	+	-	+	-	

○同定キットの判定結果	
API 20 Strep: <i>Listeria</i> spp. (ID 99.9%)	Code 7040014
API Listeria : Lm (ID 98.5%)	Code 2510

図 1 菌分離・同定結果

また、iap 遺伝子を標的とした PCR を実施し、Lm 特異的遺伝子の保有を確認した (図 2)。

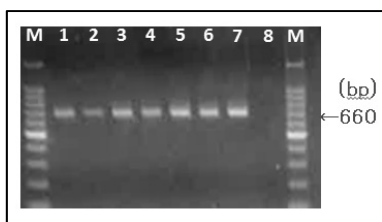


図 2 Lm-PCR 結果

M: 100bp ladder 1,2: 肝臓分離株
 3,4: 脾臓分離株 5,6: 脳分離株
 7: 陽性対照 8: 陰性対照

以上の結果から、本症例をリステリア症と診断した。

【Lm の Serogroup による分類】

血清型別は、市販の免疫血清を用いた凝集反応結果、O 抗原因子は混合 V/VI 血清で陽性、VI、VII、VIII、IX 血清では陰性だった。また、H 抗原因子は A、AB、C 血清で陽性だった (表 1)。

血清型	O 抗原因子									H 抗原因子			
	I/II	I	IV	V/VI	VI	VII	VIII	IX	A	AB	C	D	
1a	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
1/2c	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	
4b	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	
1b	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	
分離菌	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	

表 1 血清型別結果

結果より、既知のいずれの血清型とも判定されず、型別不能だった。

本事例のように、凝集反応では血清型別不能と判定される株が存在することが知られているため、病原性の推定や疫学調査が十分に行えなくなる可能性が考えられる。よって、PCR 法を用いる Serogroup による分類で、型別不能株のグループ分けが可能であるか検討を実施した。Serogroup 分類は主に食品衛生分野での疫学調査研究に用いられており、特異的遺伝子領域の有無により、血清型に関連した 5 群に分類される (表 2)。

Division	Serogroup	血清型	プライマーによる増幅			
			D1	D2	GLT	ORF2110
I	I.1	1a	-	+	-	-
		3a	-	+	NA	-
	I.2	1/2c	-	+	NA	-
		3c	NA	NA	NA	-
II	II.1	4b	+	-	-	+
		4d	+	-	-	+
		4e	+	-	-	+
	II.2	1b	+	-	+	-
		3b	+	-	+	-
		7	NA	NA	NA	-
III	III	4a	+	-	-	-
		4c	+	-	-	-

表 2 Serogroup による分類について
 NA は不明を示す

検体は、脳分離株及び肝臓分離株の他、陽性対照として当所過去分離株から Lm 血清型 1b、1a 及び 4b、陰性対照として *Listeria innocua* 及び *Listeria grayii* の 7 検体を用いた。Division 鑑別のため、プライマー D1 及び D2 を用いた結果、Division II または III の遺伝子領域を保有しており、Serogroup II.1、II.2 または III に分類された (図 3)。

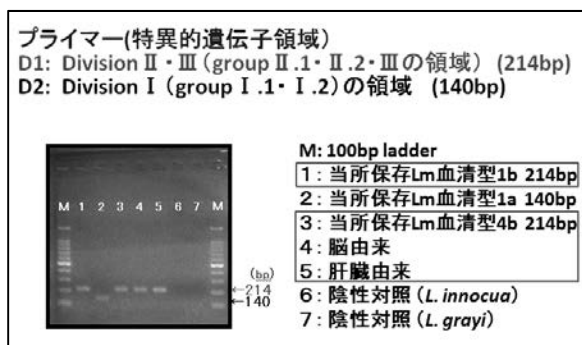


図3 Division 鑑別結果

続いて、人からの分離頻度が最も高い血清型 4b が属する Serogroup II.1 特異領域についての PCR を実施したところ、特異的遺伝子領域が増幅されたため、分離菌は Serogroup II.1 に分類された (図 4)。

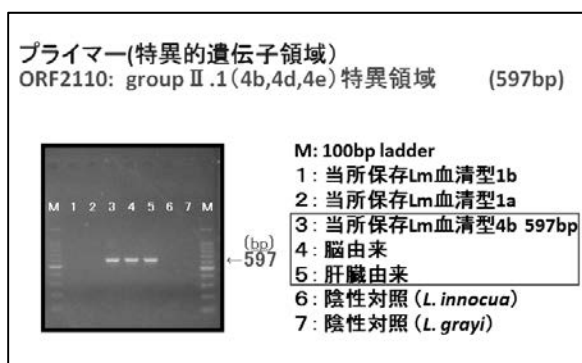


図4 Serogroup の決定

【まとめ・考察】

神経症状を呈した鶏の脳、肝臓、脾臓から Lm が分離され、小脳では病変部に一致して Lm 血清型 4b 抗原が認められた。本症例は IBDV の関与により、免疫機能が低下したことで Lm の感染を誘発し、鶏では稀なりステリア症が発生したものと考えられた。発症後約 4 日間で症状を呈する個体は認められなくなり、終息した。飼料及び飲水からの分離は陰性であり感染源は不明だった。

分離菌は Serogroup II.1 (血清型 4b、4d 及び 4e が属する群) に分類され、PCR 法を用いた Serogroup 分類は、凝集反応による型別不能株を特異的遺伝子領域によりグ

ループ分けすることが可能であり、血清型の推定に有用であると考えられた。

参考文献

- Borucki, M. K. et al : J. Clin. Microbiol. 41, 5537-5540, (2003).
- Bubert, A. et al : Environ. Microbiol. 65, 4688-4692, (1999).
- Doumith, M. et al : J. Clin. Microbiol. 42, 3819-3822, (2004).