めん羊におけるリステリア症の集団発生

芹川 慎^{*1)} 草刈直仁^{*1)} 扇 勉^{*2)} 仙名和浩^{*1)}

米道裕弥^{*3)} 岸 昊司^{*1)} 永井龍夫^{*4)}

(平成元年 9 月 22 日受理)

An Outbreak of Listeriosis in Ewe Flock in Hokkaido
SHIN SERIKAWA (Takikawa Animal Husbandry Experiment Station, Hokkaido,
Takikawa, 073), NAOHITO KUSAKARI, TSUTOMU OHGI, KAZUHIRO SENNA,
HIROMI YONEMICHI, KOHJI KISHI and TATSUO NAGAI

SUMMARY

In January 1985, an outbreak of listeriosis occurred in 3 flocks of 232 pregnant ewes fed hay and grass silage in Takikawa Animal Husbandry Experiment Station, Hokkaido. In total, twenty-six ewes presented encephalitic signs, six of them died and 10 were culled. *Listeria monocytogenes* was isolated from 11 brain samples of 15 carcasses. The isolates were serotyped as type 4b and were highly sensitive to many kinds of antibiotics except sulfisoxazole, colistin, polymyxin B and nalidixic acid. Fifteen of diseased 26 ewes were treated with oxytetracycline; 10 ewes with mild symptoms recovered. *L. monocytogenes* was also isolated from 3 of 10 specimens of the same silage, which suggested that the silage contaminated with these organisms was responsible for the outbreak.

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 42, 781~785 (1989).

要 約

1985年1月、滝川畜産試験場においてめん羊のリステリア症が集団的に発生した。発症したのは妊娠後期の雌羊3群232頭のうちの26頭(発症率11.2%)で、うち6頭が死亡し、10頭が予後不良で淘汰された。病型はすべて脳炎型であった。

死亡または淘汰した11頭の脳幹部からリステリア菌が多数分離され、血清型は4b型で多くの薬剤に高い感受性を示した。

発症羊15頭をオキシテトラサイクリンで治療した結果、比較的症状の軽かった10頭が3~7日で治癒した。発症時の牧草サイレージからもリステリア菌が検出され、高度に汚染した牧草サイレージを摂食したことが多発の原因と考えられた。

わが国での家畜のリステリア症(以下、L症)の発生は1950年田島ら¹⁹⁾によって山羊の症例が報告されたのが最初で、1954年にはASAHIら⁵⁾が山羊脳炎例から初めてリステリア菌 *Listeria monocytogenes* (以下、L菌)の分離に成功している。以来、人、馬、牛、めん羊、山羊、豚について多数の報告^{1,17)}がある。従来はめん・山

羊の発生が大部分を占めていたが、最近ではめん羊の飼養頭数の減少のためか発生は少なく、牛での報告例^{10,14,18)}が多い。

今回、著者らは1985年1月、滝川畜産試験場(以下、当場)においてめん羊の本症の集団発生を経験し、それらについて臨床および細菌学的観察を行うとともに治療および予防を試みたので、その概要を報告する。

1. 材 料 お よ び 方 法

1) 発 生 状 況 の 調 査

1985年1月から当場で発生の見られた3羊群232頭の妊娠羊について調査した。詳細な臨床検査は23頭の患畜の初診時に1回行ったのみであった。

*1,2,3) 北海道立滝川畜産試験場(滝川市東滝川735)

*2) 現、北海道立根釧農業試験場(標津郡中標津町桜ヶ丘) *3) 現、北海道立新得畜産試験場(上川郡新得町西4-40)

*4) 札幌中央検査センター(札幌市北区北32西9)

Key Words: めん羊, リステリア症, サイレージ.

2) 発症羊に対する治療

発症羊 15 頭について、その初診時にオキシテトラサイクリン（以下、OTC）750 mg を 1 日 1 回宛 3～7 日間静脈内投与して、その治療効果をみた。

3) OTC による予防

本症の続発が予想されたことから、予防的処置として I 群には 1 月 17 日から、II 群には 1 月 21 日から、III 群には 1 月 24 日からそれぞれ 3 日間 OTC750mg を筋肉内に注射した（図 1）。

4) 細菌学的検査

(1) 細菌培養：症状から L 症が疑われたので、死亡および淘汰羊の脳の延髄、脳橋、大脳脚を無菌的に乳剤化して、その 1 白金耳を 5 % 羊血液加トリプトソーヤ寒天培地（日水）に塗抹・画線して好氣的に 37℃ で培養した。また、死亡羊 6 頭（OTC 非投与）からの胎子 6 例についても心血、胃内容、羊水沈渣を同様に培養した。

図 1 発生状況

表 1 各群の発症率と発症羊の転帰

群	各群の発症率(%)		発症羊 26 頭の転帰		
	飼養頭数	発症頭数 (%)	転帰	非治療羊	治療羊
I 群	108	11(10.2)	死亡	5	1
II 群	108	13(12.8)	淘汰	6	4
III 群	16	2(12.5)	治癒	0	10
合計	232	26(11.2)		11	15

牧草サイレージ（以下、サイレージ）からの L 菌分離は次のように行った。1 月 16 日、感染源と疑われて給与を中止したサイレージを表層の 10 カ所から約 100 g ずつ採取し、よく細切した後、その 1～2 g を生理食塩水 10 ml に浸漬して 5 日間 4℃ に置いた。次いで、その遠心沈渣を 5 ml のポリミキシン B(6μg/ml) 加 Heart Infusion Broth (Difco)¹⁸⁾ でさらに 4℃ で 2 週間増菌培養してから 5 % 羊血液加トリプトソーヤ寒天培地を用いて分離培養した。

分離菌は COWAN⁷⁾ および BERGEY's Manual⁶⁾ などの成書に従って同定した。また、薬剤感受性試験は感受性ディスク用培地—N「ニッスイ」を用いて昭和ディスクの 1 濃度法で行った。

(2) L 菌の血清型別：L 菌標準株の免疫血清（O 血清と H 血清）を用いて定量凝集反応および吸収試験を行い、分離菌株の O 抗原因子と H 抗原因子を分析して、その抗原構造を決定した¹⁷⁾。

(3) マウス病原性：脳からの分離株 1 株（No. 16 株）とサイレージからの分離株 1 株（No. 25 株）を Brain Heart Infusion Broth (Difco) で 37℃ 1 夜培養し、その菌液（約 10⁹ 個/ml）を各株につき 5 頭のマウスの腹腔内に 0.25 ml 接種し、また菌液に浸した 27 G の注射針で各株を 5 頭づつ口唇部皮下に穿刺接種した⁴⁾。

5) 血液検査

白血球数はトーマ法で行い、好中球数はヘモグラム比から求めた。また、ケトン体は酵素法（ケトンテスト・三和）で測定した。

2. 結果

1) 発生状況ならびに臨床症状

発生は妊娠後期のサフォーク種雌羊（3～8 歳）を収容している 2 つの羊舎の 3 群で認められた。これらの羊は前年の秋に交配し、舎飼されてサイレージと乾草で飼養されていた。

初発例（症例 1）は I 群に属し、1 月 6 日に発見され、39.5℃ の発熱、嚥下障害、流涎、脱水、第一胃運動停止

表 2 発症羊の初診時の臨床症状

病状 症例 No.	軽 症												中 度 症					重 症					
	17	18	19	20	21	22	23	26	5	6	11	12	24	25	4	9	14	2	3	8	13	15	16
沈うつ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
斜頸	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	+	-	-	+	+
回旋運動	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
狂騒	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
起立不能	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
眼瞼反射消失	±	-	-	-	-	+	-	±	-	-	-	+	-	±	±	+	+	±	-	±	-	-	-
流涎	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-
耳翼の下垂	-	-	-	-	-	±	-	±	+	+	-	+	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注) ○：初診時の OTC 投与例

■：死亡または淘汰例

・：不明

などの症状を呈し、3日後に死亡した。そこでL症を疑い菌分離を試みたところ、脳幹部から*Listeria monocytogenes* が分離されてL症と診断された。その後、1月10日から23日の間に計3群232頭のうち26頭に相次いで本症の発生が認められ、発症率は11.2%に及んだ。この間の発生状況を図1に、各群の発症率および発症羊26頭の転帰を表1に示した。合計6頭が死亡し、10頭が予後不良とみなされ淘汰された。年齢による発症率の差は認められなかった。

表2は発症羊23頭の初診時(1月10日～23日)に認められた症状を示したものである。主要な症状をあげると、39.5℃以上の発熱が77.3%(17/22頭)、流涎31.8%(7/22頭)、耳翼の下垂27.8%(5/18頭)、起立不能26.1%(6/23頭)、旋回運動23.5%(4/17頭)、斜頸22.7%(5/22頭)、眼瞼反射消失18.2%(4/22頭)等であった。初診時に患畜を軽症、中度症、重症の3病状に分類した。すなわち、軽症(沈鬱状態となり、群からの脱落、口唇から乾草・サイレーズなどを下垂するなどの異常行動を示したもの)、中度症(旋回運動あるいは狂騒状態で、運動失調に陥るなど明らかに神経症状を呈したもの)、重症(起立不能となったもの)とした。

図2に初診時の体温と血液所見を病状別に示した。体温は軽症例は40℃前後であったが、中度ないし重症例では39.5～39.6℃とやや低かった。白血球数は各病状ではほとんど変わらず、好中球数は軽症例で平均3,527/mm³、中度症例で4,427/mm³、重症例で4,897/mm³と増加してゆく傾向があったが、核の左方転移は顕著でなかった。また、単球の増多は見られなかった。なお、血中の総ケトン体を測定したところ、別に調査した健康妊娠羊14頭の値(0.376±0.098 mM/l)より1例で1.652 mM/lとかなり高く、他の5例でもやや高かった(0.506～0.852 mM/l)。これら3群の羊は同一ロットのサイレーズを給与されていたことから、感染源としてこのサイレーズを疑い、1月14日以降は給与を中止した。その表層からL菌の分離が確認された後、上層の1mを捨て、それ以下の層を2月中旬から再給与したが、以後新たな発症例は認められなかった。

2) 発症羊に対する治療効果

初診時にOTCで治療した15頭中14頭に投薬効果が認められ、10頭が3～7日で治癒した。これを治療開始時の病状別に見ると、沈うつあるいは軽い斜頸などの軽度の症状を呈したものでは88.9%(8/9頭)、旋回運動を行う中等度の症状を呈したものでは66.7%(2/3頭)の治癒率であったが、治療開始時に起立不能の重篤な症状を示した3頭はすべて死亡した。治癒した10頭はその後の分娩で異常産もなく、分娩成績も未発症羊のそれと変わらなかった。なお、治療しなかった11頭

図2 各病状別の体温および白血球数

表3 死亡・淘汰羊およびサイレーズからのL菌分離成績

症例No.	転 帰	分離部位	菌株No.	血清型
1	死 亡	大脳脚	1	•
		脳 橋	2	4b
		延 髄	3	•
3	死 亡	大脳脚	4	•
		脳 橋	5	4b
4	淘 汰	脳 橋	6	4b
5	淘 汰	大脳脚	7	•
		脳 橋	8	4b
6	死 亡	大脳脚	9	•
		脳 橋	10	4b
7	淘 汰	脳 橋	11	4b
		延 髄	12	•
8	死 亡	脳 橋	13	•
		延 髄	14	4b
9	死 亡	大脳脚	15	•
		脳 橋	16	4b
		延 髄	17	•
10	淘 汰	大脳脚	18	•
		脳 橋	19	4b
		延 髄	20	•
11	淘 汰	脳 橋	21	4b
		延 髄	22	•
13	治療後淘汰	延 髄	23	4b
12	治療後死亡	菌分離	(-)	
14	治療後淘汰	"	(-)	
15	治療後淘汰	"	(-)	
16	治療後淘汰	"	(-)	
サイレーズ		検体 1	24	4b
		検体 2	25	1b
		検体 3	26	4b

注) •: 検査していない

はすべて死亡ないし淘汰された。

3) OTC による予防効果

I および II 群では、それぞれ投与を開始した1月17日および21日以降新たな発生は見られなかった。当初OTC投与を行わなかったIII群では、1月23日に1頭発症が認められたので、その後15頭全頭に同様の処置をしたところ、それ以降の発生はなかった。

4) L 菌 分 離 成 績

死亡あるいは淘汰された患畜およびサイレーズからの

めん羊におけるリステリア症の集団発生

表4 分離菌の生物学的性状

グラム染色性	陽性	糖分解能
形態	短桿菌	グルコース + ₁ (ガスー)
抗酸性	—	トレハロース + ₁
芽胞	—	サリシン + ₁
運動性	+	フルクトース + ₁
空気中での発育	+	マルトース + ₁
嫌気下での発育	+	ラクトース + ₅
カタラーゼ	+	デキストリン + ₅₋₈
オキシダーゼ	—	シュクロース + ₄₋₆
O — F	F	ラムノース + ₁₋₃
溶血性	β溶血	ソルビット + ₇
ゼラチン液化	—	グリセリン + ₃
カゼイン水解	—	マンノース + ₁
Tween 80水解	—	ガラクトース —
インドール	—	マンニット —
硫化水素 (TSI培地)	培地中 —	ズルシット —
	酢酸鉛濾紙 +	イヌリン —
硝酸塩還元	—	イノシット —
ウレアーゼ	—	アラビノース —
シモンズ・クエン酸塩	—	キシロース —
VP	+	ラフィノース —
MR	+	アドニット —
5℃発育	+	メリビオース —
7%食塩耐性	+	
エスクリン水解	+	
アルギニン水解	—	

注) 14株とも同一性状 (表3で血清型を検査した14株)
+ の下段数字は陽性に転じた日を示す。

表5 分離L菌の薬剤感受性

昭和ディスク名	感受性
ペニシリン	++
アミノベンジルペニシリン	+++
セファロリジン	+++
セファロシン	++ ~ +++
クロラムフェニコール	+++
テトラサイクリン	+++
オキシテトラサイクリン	+++
エリスロマイシン	+++
カナマイシン	+++
オレアンドマイシン	+++
ロイコマイシン	+++
ゲンタマイシン	+++
ストレプトマイシン	++ ~ +++
チアンフェニコール	++ ~ +++
リンコマイシン	+ ~ ++
スピラマイシン	+ ~ ++
スルフィソキサゾール	—
コリスチン	—
ポリミキシンB	—
ナリジキシ酸	—

注) 14株とも同一性状 (表3で血清型を検査した14株)

L菌分離成績を表3に示した。死亡例では5/6例、淘汰例では6/9例から血清型4bのL菌が分離され、L菌が分離されなかったのはいずれも治療を試みた症例であった。給与中のサイレージを10カ所から採取して菌分離を試みたところ、2検体から4b型、1検体から1bのL菌が分離され、感染源として本サイレージの給与が強く示唆された。サイレージのpHは発生時の1月14日には4.8であり、前年の12月中旬の4.0よりも上昇していた。

分離菌株の生物学的性状は検査した14株が同一性状を示し、成書^{6,7)}および多くの症例報告^{1,10,14)}とほぼ一致したので *Listeria monocytogenes* と同定した (表4)。分離株は供試したほとんどの薬剤に感受性を示したが、スルフィソキサゾール、ポリミキシンB、コリスチン、ナリジキシ酸には耐性であった (表5)。なお、症例No. 9の脳橋由来のNo. 16株 (4b型)、サイレージ由来の

No. 25株 (1b型) を腹腔内に接種されたマウスは全頭が3日以内に敗血症死し、口唇接種ではNo. 16株は1頭が8日目に後軀麻痺様症状を呈して死亡し、No. 25株では3頭が10～15日目に旋回運動を呈して死亡した。

死亡羊6頭 (OTC非投与) の胎子6例について心血、胃内容、羊水沈渣からのL菌分離を試みたが全例陰性であった。

3. 考 察

当場におけるめん羊のL症の発生は1960年稲場ら¹¹⁾により報告され、その後も毎年1～数頭の発生があり、特に注目されることはなかった。

L症の発生は一般に散発的であるが、近年は牧草サイレージ^{8,15,18,20)}、コーンサイレージ^{9,14)}に起因する発生が多く報告されている。乳酸発酵が不十分でpHの高い低品質なサイレージができた場合はもちろん、サイレージが良質な場合でも開封後の管理が不十分であれば、サイレージのpHは容易にpH 6.0程度に上昇し、ほどなく芳香は消え、カビ臭を発するようになり、L菌の最も好適な培地になるといわれている²⁾。事実、低品質なサイレージ中でのL菌の増殖については多くの報告があり、FENLON⁸⁾は牧草サイレージのpH 4.0～4.8の部位では

L 菌の増殖はなく, pH 8.0 の部位で多く検出されたと述べており, 旭²⁾も上質な牧草サイレージの pH (4.0 ~ 5.0) では L 菌は 2 ~ 3 週で死滅するが, pH 5.5 ~ 6.0 に修正したものでは 6 ~ 18°C の条件下で, 7 日間で 120 ~ 4,000 倍に増殖したと述べている。さらに IRVIN¹²⁾ も同様な成績を得ている。

今回の発生では, 発生時のサイレージの pH が 4.8 と, 12 月中旬の pH 4.0 よりもやや高くなっていたが, L 菌が増殖するほどの pH ではない。しかし, L 症の発症には約半月 ~ 1 カ月の潜伏期があり⁴⁾, それを考慮すると以前にはより高い pH 部位が存在したとも考えられ, 混入していた L 菌がそこで増殖して, その給与を受けた羊群に本症が発生するにいったと思われる。このサイロは詰め込み後に雨漏りがあったとの報告が現場の担当者からあり, これがサイレージの pH 上昇の原因とも考えられた。

L 症の病型としては脳炎, 敗血症, 流産の 3 型があり, Low と RENTON¹⁵⁾ は牧草サイレージを原因とする本症で妊娠羊に同時に 3 つの病型が発現した発生を報告しているが, 一般的には 3 型が同時に発生することは稀にしかないという。WILESMITH と GITTER²⁰⁾ も 75 例の L 症の観察で脳炎 (53 例), 流産 (13 例), 敗血症 (2 例), 脳炎 + 流産 (4 例), 脳炎 + 敗血症 (2 例), 脳炎 + 敗血症 + 流産 (1 例) と脳炎型が圧倒的に多かったと報告している。今回の発生例も脳炎型のみであって, 発症羊が L 菌による流産の最も危険な妊娠後期¹³⁾であったにもかかわらず, 流産は見られなかった。

血液所見では, 多くの報告と同様に好中球の増多する傾向が見られ^{1, 11)}, またケトosis との類症鑑別のために調べたケトン体では 1 頭で高い値を示し, 他の 5 頭でも別に調査した健康妊娠羊 14 頭の値と較べてやや高かったが, これは発症という病的な状態からもたらされた二次的なものと考えられた。

旭³⁾は L 症の治療について従来の報告をまとめ, 牛の症例では早期発見と早期治療で抗生剤の効果を期待できるが, めん羊の症例ではあまり多くを期待できないと結論している。しかし, 本症例では集団発生ということもあって, 症状の初期に発見されるものがあり, このような例では早期に治療を開始した場合は効果が上がるものと思われた。Low と RENTON¹⁵⁾ も 6 頭の脳炎例を OTC で非経口的に治療したところ, 4 頭が完全に回復したと報告しているので, 早期の治療は試みる価値があろう。さらに集団発生時には, 同一群内の外見上正常な個体に対する予防的な投与も有効と考えられた。

なお, 脳由来株の血清型はすべて 4 b 型であったが, サイレージ由来 3 株のうち 2 株が 4 b 型で, 1 株は 1 b 型菌であった。脳由来の 4 b 型菌 (No. 16 株) とサイレ

ージ由来の 1 b 型菌 (No. 25 株) のマウスに対する病原性はほぼ同程度のものと考えられたが, 旭²⁾はサイレージ由来の同一血清型の間でもマウスに対する病原性が異なる株が同時に分離されたことを報告しており, MACLEOD ら¹⁶⁾も 5 型菌による流産例で病原性の低さを指摘しているので, 血清型と病原性の関係は今後多くの分離株について検討する必要がある。

ちなみに, 今回の発生に伴う損害額を試算したところ, 死亡・淘汰した妊娠羊 16 頭, 出生予定の子羊 16 頭, そして OTC による治療費と予防費のみでも総額約 230 万円と見積られた。

引用文献

- 1) 秋山 緯, 伊佐山康郎, 紫田重孝, 海老洋一: 家畜衛試研究報告, No. 54, 1 ~ 12 (1967).
- 2) 旭 興正: 昭和 40 年度家衛試年報, 171 ~ 176 (1967).
- 3) 旭 興正: 最新家畜伝染病, 越智勇一監修, 475 ~ 481, 南江堂, 東京 (1970).
- 4) 旭 興正, 細田哲哉, 秋山 緯: 家畜衛試研究報告, No. 32, 27 ~ 48 (1957).
- 5) ASAH, O., HOSODA, T., AKIYAMA, Y. and EBI, Y.: *Experimental Report No. 27 of Government Experimental Station for Animal Hygiene*, 289 ~ 300 (1954).
- 6) BERGEY'S *Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., The Williams & Wilkins Company, Baltimore (1974).
- 7) COWAN, S. T.: 医学細菌同定の手引き・第 2 版, 坂崎利一訳, 近代出版, 東京 (1974).
- 8) FENLON, D. R.: *Vet. Rec.*, 118, 240 ~ 242 (1986).
- 9) GRAY, M. L.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 136, 205 ~ 208 (1960).
- 10) 原 文男, 上野八朗, 白石忠昭, ほか: 日獣会誌, 36, 205 ~ 209 (1983).
- 11) 稲場辰雄, 籠田勝基: 北獣会誌, 4, 9 ~ 11 (1960).
- 12) IRVIN, A. D.: *Vet. Rec.*, 82, 115 ~ 116 (1968).
- 13) JUBB, K. V. F. and KENNEDY, P. C.: *Pathology of Domestic Animals*, Vol. 1, 534 (1970).
- 14) 叶内恒雄, 小林正人, 鶴田 実, ほか: 日獣会誌, 40, 850 ~ 853 (1987).
- 15) Low, J. C. and RENTON, C. P.: *Vet. Rec.*, 116, 147 ~ 150 (1985).
- 16) MACLEOD, N. S. M., WATT, J. A. and HARRIS, J. C.: *Vet. Rec.*, 95, 365 ~ 367 (1974).
- 17) 永井龍夫: メディヤサークル, Vol. 29, 1 ~ 15 (1984).
- 18) 芝田英一, 中野良宣, 大岩 良, ほか: 日獣会誌, 31, 345 ~ 347 (1978).
- 19) 田島正典: 日獣誌, 12, 241 ~ 248 (1950).
- 20) WILESMITH, J. W. and GITTER, M.: *Vet. Rec.*, 119, 467 ~ 470 (1986).