

8 黒毛和種繁殖雌牛の腸炎型リステリア症

県北家畜保健衛生所

樽田 嘉洋・酒井 芳子

中央家畜保健衛生所

前田 将誌・寺山 好美

Listeria monocytogenes (以下 L.m) は、環境中に広く分布し、本菌に汚染された土壌、野菜、サイレージなどを経口摂取することで、敗血症、脳炎、髄膜炎や流産を引き起こす人獣共通感染症である^{2、3、4、5、6})。成牛では、本菌に汚染された飼料等を摂食した際に本菌が口腔粘膜の傷から侵入し、三叉神経から延髄に達し、神経症状を起こす脳炎型が多いとされている^{1、2})が、今回、黒毛和種繁殖雌牛において、L.m 血清型 4b による腸炎、いわゆる「腸炎型リステリア症」に遭遇したので報告する。

1、農場概要

飼養形態は黒毛和種繁殖で、フリーバーン及びつなぎ牛舎において母牛 72 頭、未経産 3 頭、子牛 45 頭を飼養。飼料は稲ホールクロップサイレージ (WCS)、稲わら、青刈り及び配合飼料が給与されていたが、このうち WCS については一部変敗がみられており、変敗部分を取り除いて給与されていた。

2、発生状況

繁殖雌牛 14 頭を飼養する牛房において 1 頭 (以下、症例 1) が発熱、食欲廃絶及び水様性下痢を発症。ただちに隔離されたものの、その 2 日後、同一牛房の別の 1 頭 (以下、症例 2) が同様の症状を呈したため、当該牛についても隔離治療が行われた。しかし、症例 2 が翌日には食欲廃絶、偽膜様物を排泄し、発症から 2 日後に死亡したため病性鑑定を実施した。一方、症例 1 は発症から 5 日後には症状が改善したものの、発症から 2 週間後に流産に至った (表 1)。

表 1 発生状況

- R5.4.22 繁殖雌牛 14 頭を飼養する牛房において 1 頭 (30 か月齢、妊娠 5 か月目) が発熱、食欲廃絶及び水様性下痢を呈す
→ 隔離治療 (症例 1)
- 4.24 さらに 1 頭 (28 か月齢、妊娠 47 日目) が発熱 (40.3℃)、元気消失、食欲減退、水様性下痢を呈す
→ 隔離治療 (症例 2)
- 4.25 症例 2 が食欲廃絶し、偽膜様物を排泄
- 4.26 症例 2 が起立不能となり死亡、病性鑑定実施
- 4.27 症例 1 は治癒 (その後、R5.5.6 に流産)

病性鑑定実施		
	症例 1 (治癒牛)	症例 2 (死亡牛)
月齢	30 か月齢 (妊娠 5 か月目)	28 か月齢 (妊娠 47 日目)
発症日	R5.4.22	R5.4.24
症状	発熱、食欲廃絶、水様性下痢	元気消失、食欲廃絶、偽膜様物排泄
転帰	治癒 (発症 2 週間後に流産)	死亡

3、材料及び方法

死亡牛 1 頭の解剖検査後、病理組織学的検査は、主要臓器・器官、十二指腸、空腸、回腸、回盲部、結腸、直腸及び腸間膜リンパ節について、常法に従い HE 染色及びグラム染色を実施後、ポリマー法により免疫組織化学的染色を実施した。コクシジウム検査については、死亡牛の腸管内容物について、マックマスター法によりオーシスト数を測定した。細菌学的検査については、死亡牛の主要臓器、脳、腸間膜リンパ節、空腸及び盲腸内容物について、5%馬血液寒天培地及び DHL 寒天培地を用いて分離培養後、グラム染色を実施し、分離菌については、アピコリネを用いて同定するとともに、Jung らの方法により *prfA* 遺伝子を標的とした PCR 検査を実施した。空腸及び盲腸内容物についてはサルモネラ属菌及びクロストリジウム属菌の培養を実施した。ウイルス検査については、死亡牛の空腸及び盲腸内容物について、牛コロナウイルス、牛ロタウイルス (A、B、C 群)、牛アデノウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス及び牛

トロウイルスの各特異遺伝子を検出する PCR 検査を実施した。

同居牛及び環境材料のリステリア検査については、治癒牛及び同居牛3頭の糞便、死亡牛に給与していたものとは別の稲 WCS、稲わら、運動場の土、給与していた水、敷料のモミガラ及び発症牛房の敷料について、Half - Fraser 及び Fraser 培地を用いた増菌培養後、分離菌は前述の PCR 検査にて同定し、免疫血清を用いて血清型を判定した。

4、成績

(1) 剖検所見

空腸から直腸にかけて、粘膜の充血及び肥厚が認められ、盲腸回盲口に偽膜の付着が確認された。また、腸間膜リンパ節の腫大及び充血、肝臓及び胆のうの腫大が認められた(写真-1、2)。

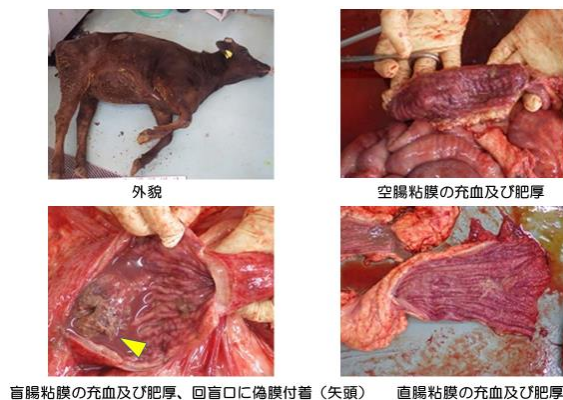


写真-1 解剖所見1

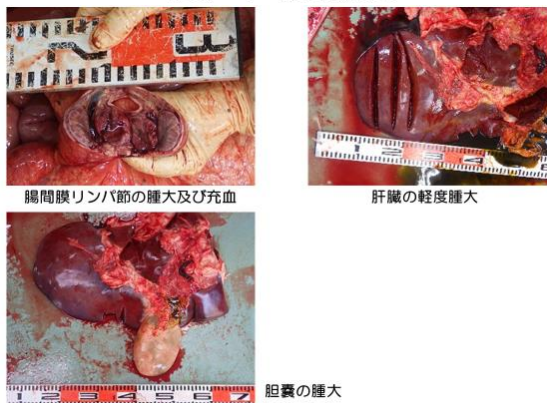


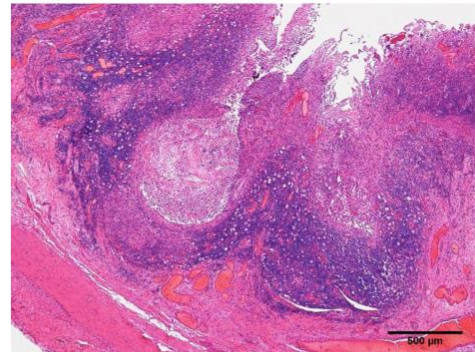
写真-2 剖検所見2

(2) 病理組織学的検査

十二指腸から直腸において重度の単核細胞浸潤とリンパ管炎を特徴とした壊死性腸炎及び壊死性リンパ節炎が認められ、抗 L.m 1 a 及び 4 b

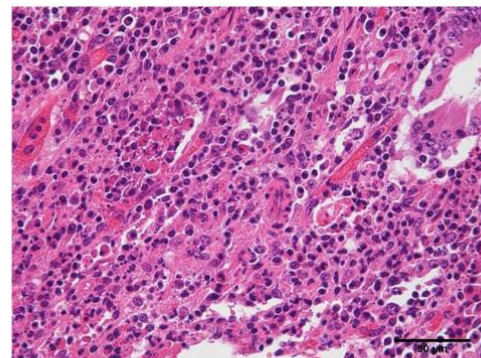
抗体を用いた免疫染色で、腸粘膜やリンパ管の壊死巣のマクロファージ細胞質内や細菌様構造物に一致して 4 b 抗体に対する陽性抗原が確認された。一方で、脳を含むその他臓器においては著変は認められなかった。

写真-3 から 5 に空腸の所見を示す。空腸の粘膜固有層に重度に単核細胞が浸潤し、粘膜表層はリンパ濾胞の過形成及び濾胞壊死が認められた(写真-3、4)。



空腸：粘膜固有層に重度に単核細胞浸潤し、粘膜表層は壊死、潰瘍形成

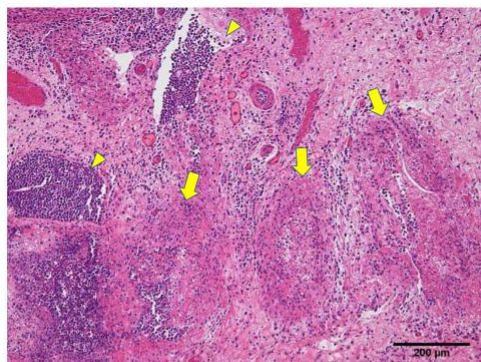
写真-3 組織所見1



空腸：粘膜固有層に単核細胞の浸潤

写真-4 組織所見2(拡大)

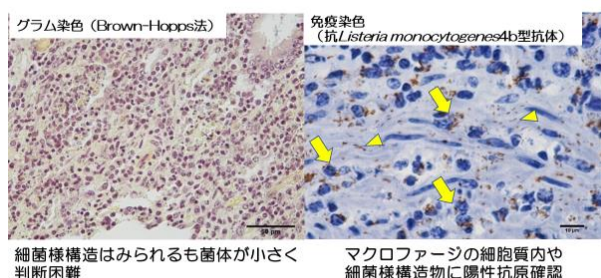
また、粘膜下組織においてはリンパ管を中心とした壊死巣(矢頭)が多発し、リンパ管の拡張及びリンパ球の充満(矢印)が認められた(写真-5)。



空腸：リンパ管の壊死（矢頭）、
リンパ管の拡張及びリンパ球の充満（矢印）

写真－5 組織所見3

グラム染色では菌体様構造はみられるも菌体が小さく、判断が困難であった。さらに同部位を抗L.m 4b型抗体を用いて免疫染色した結果、マクロファージの細胞質内や細菌様構造物に一致して陽性抗原が確認された（写真－6）。



細菌様構造はみられるも菌体が小さく
判断困難

マクロファージの細胞質内や
細菌様構造物に陽性抗原確認

写真－6 組織所見4

（3）細菌学的検査

肝臓、腎臓、脾臓、肺、腸間膜リンパ節、腸内容（空腸、回腸）からβ溶血性グラム陽性球菌が分離され、L.m（血清型4b）と同定された。サルモネラ及びクロストリジウム菌は分離されなかった。

（4）ウイルス学的検査

検索した各ウイルス遺伝子はいずれも陰性であった。

（5）寄生虫検査

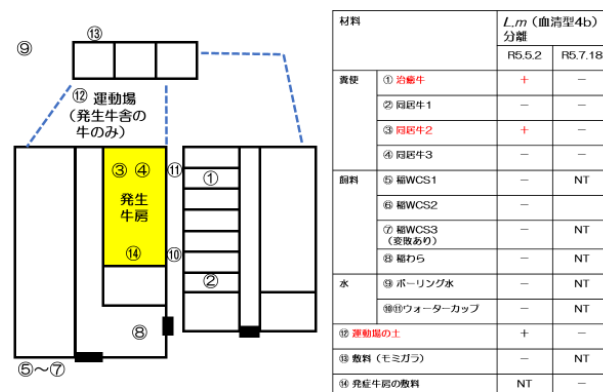
コクシジウム検査ではオーシストは確認されなかった。

以上の検査成績から、本症例は血清型4bによる腸炎型リステリア症と診断された。

（6）同居牛及び環境材料のリステリア検査

治癒牛を含む同居牛4頭のうち2頭の糞便からL.m 血清型4bが分離された。

環境材料では、運動場の土からL.m 血清型4bが分離され、稲WCS、ボーリング水、ウォーターカップからの水及び使用前の敷料からは分離されなかった。また、7月に採材した同居牛の糞便及び運動場の土では分離されず、また追加で検査した発生牛房の敷料においても分離されなかった。



図－1 同居牛及び環境材料のリステリア検査

5、対策

治癒牛や同居牛の糞便及び運動場の土からL.m が分離されたことから、対策として運動場の水捌けが悪かった部分について改善を行った。また、症例1は有効薬剤の投薬により治癒した。リステリア菌は糞便中や敷き藁の中で数か月以上生存可能であり、今後再発するおそれもあるため、飼育環境の定期的な消毒を継続するよう指導した。

6、まとめ及び考察

L.m の経口感染の成立には比較的多量の病原性血清型の侵入と宿主側の条件の存在が必要であり、ヒトではリステリア症は周産期を中心に発生する感染症であることが指摘されている²⁾。また、牛において妊娠期のプロジェステロン産生が細胞性免疫を抑制するとの報告もある⁷⁾。今回、発症前給与飼料において、稲WCSの一部に変敗部分がみられたことや発症牛がいずれも妊娠牛であったことから、菌の大量摂取

や妊娠による免疫力低下が発症要因として関与した可能性が考えられた。しかし、給与飼料そのものの検査ができず、別ロットの稲 WCS から L.m が分離されなかったことから、感染源の特定には至らなかった。また、治癒牛がその後流産したが、その際に連絡がなかったことから対応できず、L.m の関与の有無は不明であった。

本症例確認後は、発生予防のため、農家へ変敗飼料の給与禁止を指導するとともに、獣医師向け講習会でも注意喚起を行った。

今回診断された牛における腸炎型リステリア症は、世界的にも過去の報告が 3 例あるのみで、非常にまれな症例である^{8、9、10)}。発症月齢や血清型も様々であり、その発生要因についても不明な点が多いことから、今後も症例の蓄積が重要と考えられた。

7、参考文献

- 1) 明石博臣：牛のリステリア症,牛病学,第3版,290-291、近代出版 (2013)
- 2) 勝部泰次：*Listeria monocytogenes* とリステリア症,山口獣医学雑誌,第 19 号,1-24 (1992)
- 3) 小西佐知：管内黒毛和種繁殖農場で発生したリステリア症,平成 27 年度鹿児島県家畜保健衛生業績発表会
- 4) 安藤紀子：黒毛和種繁殖農場で発生した *Listeria monocytogenes* による流産事例,平成 30 年度大分県家畜保健衛生業績発表会
- 5) 佐伯美穂：黒毛和種繁殖農場で発生したリステリア症,令和 2 年度大分県家畜保健衛生業績発表会
- 6) 萩野博明：敗血症型牛リステリア症の 1 症例,日獣会誌,49,858-861 (1996)
- 7) 前田洋佑：プロジェステロンが牛のリンパ球に及ぼす作用,家畜感染症学会誌,1 (3)(2012)
- 8) 山田 学, 藤田 敦子, 宮澤 国雄, 瀧澤 光華, 篠川 有理, 加古 奈緒美, 佐藤 尚人, 高橋 幸治, 村山 丹穂：家畜衛生研修会（病性鑑定病理部門, 2011）における事例記録（IV）, 日獣会誌, 65, 776-780 (2012)
- 9) Fairley RA, Colson M : Enteric listeriosis in a 10-month-old calf, N Z Vet J, 61, 376-378 (2012)

- 10) García JA, Micheloud JF, Campero CM, Morrell EL, Odriozola ER, Moreira AR : Enteric listeriosis in grazing steers supplemented with spoiled silage, J Vet diagn invest, 28 (1) , 65-69 (2016)