

## 緒 言

めん羊および山羊の *Corynebacterium pseudotuberculosis* (以下 *C. pseudotuberculosis*) 感染症は一般に乾酪性リンパ節炎 (caseous lymphadenitis: 以下 CLA) と言われ、一つまたはそれ以上のリンパ節および臓器に化膿性、壊死性の炎症を起こし、その結果、乾酪性の膿瘍を形成するのを特徴とする慢性疾患である。めん羊・山羊飼養の盛んな国では古くから発生が知られており [7, 13], めん羊・山羊産業に与える経済的損失は大きく、重要な疾患である [16, 30]。

Maddy [30] は、1953年に米国西部の屠殺時のめん羊を調査し、廃棄の原因として削瘦、肺炎に次いで本症が多く、CLA と判定された屠殺羊の10%が膿瘍を切除されて検査を通過したと報告している。

Renshaw ら [41] は、1979年に米国で慢性衰弱症のめん羊27頭を剖検し、22頭 (81%) に乾酪性膿瘍があり、このうち19頭 (86%) の膿瘍から *C. pseudotuberculosis* が分離されたとして、膿瘍の存在と慢性衰弱症には因果関係があると述べている。

また、Stoops ら [43] は、1984年に米国西部の5地区で屠殺されためん羊4,089頭のうち、1,734頭 (42.4%) の病変部から *C. pseudotuberculosis* を分離している。

Williamson と Nairn [48] は、オーストラリアの屠場でめん羊の本症を調査し、58%の高い発生率であったと報告した。Hein と Cargill [23] はオーストラリアで屠畜場に搬入された山羊3,720頭を検査し、274頭 (7.4%) に膿瘍が認められ、このうちの80%は *C. pseudotuberculosis* に起因していたと述べている。Burrell [16] は、オーストラリアの二つの牧場の山羊110頭中31頭に膿瘍を認めている。さらに、Batey [6] は、1984年にオーストラリアの屠場で8,711頭のめん羊についてCLAの罹患率を調査し、1歳未満羊ではわずか3.4%であったのに対し、1～3歳未満羊では41.8%、3歳以上では53.7%で、年齢と共に罹患率が上昇することを報告している。

Sheikh-omar と Shah [42] は、1984年にマレーシアで、オーストラリアから輸入されためん羊360頭を屠場で調べ、109頭 (30.3%) の膿瘍から *C. pseudotuberculosis* を分離した。

一方、わが国においても近年、本症の発生が報告されている。すなわち、1981年 Nakamura ら [36] は、ヨ一ネ病が疑われた輸入めん羊3頭を淘汰して2頭の肺、

縦隔膜リンパ節、顎下リンパ節に乾酪性の膿瘍を確認し、そこから *C. pseudotuberculosis* を分離した。次いで、趙ら [50] は、1985年10月から1986年7月にかけて北海道の屠場で248頭のめん羊を調べ、13頭 (5.2%) のリンパ節、肝臓、肺などに乾酪性膿瘍を認め、そこから *C. pseudotuberculosis* を分離した。さらに、それらのめん羊の抗体を調査し、免疫溶血反応 (IHL) では本病に罹患しためん羊13頭のうち、9頭 (69.2%) が陽性であり、非罹患羊では235頭中222頭 (94.5%) が抗体陰性であった。一方、ELISA 法では13頭の罹患羊は全て抗体陽性、非罹患羊では235頭中233頭 (99.1%) が抗体陰性であり、この方法はきわめて診断価値が高いことを報告した。また、同じグループの Chikamatsu ら [18] も ELISA 法と免疫拡散法 (ID) で北海道のめん羊1,186頭の抗体を調査して、それぞれ39.3%と27.8%の陽性率を報告しており、本症は北海道のめん羊に広く分布していることを明らかにした。なお、著者も1981年に滝川畜産試験場でめん羊の乾酪性膿瘍から *C. pseudotuberculosis* を分離して、本症の存在を確認している (未発表)。

本症は慢性経過をたどり、罹患羊は最初、顕著な症状は示さないが、病勢の進行につれ体表リンパ節の腫大 [8], 削瘦 [27, 32], 呼吸速拍 [27], 元氣消沈 [32], 虚弱 [32], 食欲減退 [32], 発育低下 [1, 38], 雌羊の繁殖能力の低下 [1, 21], などがあり、重度な場合には貧血・削瘦して死亡するという [29, 32]。1967年から1971年の間に米国で屠殺されためん羊 (大部分は子羊) は1,070万頭あり、そのうち14,000頭 (0.13%) が全部廃棄、90,000頭 (0.84%) が部分廃棄されている [27]。また、成羊で一般に雌羊削瘦症候群 (thin ewe syndrome) [21, 41] と言われている症候群めん羊では、その81%が内部膿瘍を保有したという [8]。さらに、体表に膿瘍の存在するめん羊では毛皮の価値が低下し [38, 47], 筋肉、臓器に膿瘍が存在するとその臓器は廃棄になることで経済的損害が大きく、めん羊飼養の盛んな国では重視されている疾病である [8, 16, 30, 43]。

本症の感染経路の大部分は一般に毛刈、耳票、断尾、去勢、外傷による皮膚の創傷からと考えられてきた [8, 19, 27, 29, 32]。そのうち、めん羊では毛刈による創傷が最も重要と信じられてきた [13, 19, 29]。それは実験的に化膿材料や培養菌を新鮮な創傷に接種することで膿瘍が形成されたことから実証された [34, 35, 44]。そ

の他の疫学上重要な感染経路として、Stoops ら [43] は大部分の膿瘍が胸腔リンパ節と肺実質に出来ることから空気伝播の可能性を示唆しており、Hein と Cargill [23] もオーストラリアの野生山羊で膿瘍は呼吸器系に優勢に現れることから呼吸気道が侵入ルートであることを示唆した。そして、実際、Nagy [34] は呼吸気道からの実験感染に成功している。しかし、Nairn と Robertson [35] は呼吸器の膿瘍は組織学的に気道とは明らかに関係のない間質中に始まるように思われることから、この可能性については否定的である。また、Zhao ら [52] は肺に膿瘍を持っためん羊の肺、気管支、気管、咽喉頭、鼻腔から *C. pseudotuberculosis* を分離しており、Stoops ら [43] も肺膿瘍の自潰による菌の拡散から新しい膿瘍発現の可能性を指摘している。このように、肺膿瘍からの排菌は感染源として意義が大きいと思われる。

このように、創傷ひとつを考えてみても野外でめん羊がそれを受ける機会は多数あり、実際には各創傷が感染

にどのくらいの役割を占めているかについては具体的データがなく不明であった。

本症の予防については多くの成書 [8, 19, 27, 29, 32] で以下のことが挙げられている。すなわち、①創傷を避ける、②創傷を消毒する、③毛刈時の衛生管理（手指・器具・環境の清掃）に配慮する、④若い羊から順に毛刈するなどである。しかし、これらのことを実施してどのくらいの効果が上がるかについては不明であり、毛刈時の創傷の消毒にしてもその効果を具体的に示した成績はない。

そこで、本研究ではまず、めん羊の年齢別の群から 3-5 カ月間隔で採血して *C. pseudotuberculosis* 毒素に対する ELISA 抗体を測定し、各採血時における群の抗体陽性率の推移とその間の羊の飼養管理状態から本菌の感染の主な機会は毛刈時の創傷であることを明らかにした。次いで、創傷を受けためん羊への抗生物質投与または創傷への希ヨードチンキ塗布による本症の予防を試み、創傷への希ヨードチンキ塗布が有効との成績を得た。

## 第1章 *Corynebacterium pseudotuberculosis* 感染症における 感染機会としての毛刈創傷の重要性

### 序 文

日本におけるめん羊は羊毛生産を目的に飼育され、昭和30年代初期には飼養頭数はピークの94万頭に達したが、羊肉・羊毛の自由化や化学繊維の影響もあってその後は激減し、羊肉の供給はそのほとんどを輸入に依存している。しかし近年、食生活の多様化・高級化に伴うラム肉の評価、農場副産物・未利用資源の活用、堆厩肥の農地還元などからめん羊飼育が見直されてくると共に飼養頭数が増えてきている [45]。すなわち、1992年には全国の飼養戸数は2,240戸、飼養頭数は29,200頭で、10年前の1982年当時と比較すると飼養戸数では210戸減ったが、飼養頭数では1.5倍に増えており、一戸当たり飼養頭数も7.8頭から13頭へと2倍近くに規模が拡大している。このうち、北海道では1992年の飼養戸数は750戸、飼養頭数は16,600頭で、1982年の飼養戸数490戸、飼養頭数7,430頭と比較すると、飼養戸数で1.5倍、飼養頭数で2.2倍に急増しており、全国に占める割合も1982年では39.1%であったが、1992年では56.8%と半数以上を占めるようになってきている [37]。このように近年、めん羊の飼養が盛んになってきている状況の中、*C. pseudotuberculosis* 感染症の疫学の研究から感染の機会を究明し、それに対する予防法を検討することは有意義なことと考えられる。

本症の感染経路については以前から一般に毛刈、耳票、断尾、去勢、外傷による皮膚の創傷からと考えられてきた [8, 19, 27, 32]。めん羊ではそのうち、毛刈による創傷が最も重要と信じられてきた [13, 19, 29]。この他、本症は実験的に種々の感染経路から感染が成立している。すなわち、リンパ管内 [15]、静脈内 [10, 17]、皮内 [3, 14]、皮下 [3, 34, 40]、腔内 [34]、気管内 [34]、経口 [34]、口腔粘膜内 [3] の経路である。そして鼻腔内感染は成功していない [14]。しかし、創傷だけを考えてみても一般の飼養環境下でめん羊がそれを受ける機会は多数あり、実際にはどの創傷がどのくらい感染に役割を占めているかについては不明であった。

近年、ELISA 法のような感度の高い血清反応が開発され [31, 50]、疫学的調査に応用されるようになって羊群の抗体が陽性となる時期を示した二つの報告がある。一つは Paton ら [39] の報告である。彼らはオーストラリアで CLA による淘汰率の高い5農場を選別し

て、1歳未満から5歳までの羊群の抗体を ELISA 法で12-14カ月間調査した。その結果、1-2歳羊が最も抗体陽転率が高い年齢であり、また毛刈後の5-7カ月が最も抗体陽転率の高い時期であることを示した。さらに、本症の年間の発生率は1-2歳羊の毛刈後6カ月間で起こる抗体陽転率から推定できることを報告して、間接的に感染と毛刈との関連を示唆している。しかし、毛刈が感染の原因であると推定するには、毛刈の5-7カ月後に抗体を測定して抗体の陽転を見るのでは遅すぎる。

他の一つは著者らのグループの Chikamatsu ら [18] の報告である。彼女らは、1牧場で飼養されている羊の年齢別抗体陽性率を ELISA 法で調査し、抗体陽性率は1歳未満では4.1%と低率であったが、1歳になると51.3%に急増し、以後は年齢とともに徐々に増加したと述べている。しかし、1歳未満から1歳までの間のどの時期に抗体陽性率の上昇があったかは明らかにされていない。

そこで本章では北海道の1農場の羊群について、ELISA法により3-5カ月間隔で *C. pseudotuberculosis* に対する抗体を測定して抗体陽性率の上昇から感染が起こる時期を調査した。さらに、抗体陽性率の上昇とその間の創傷を受ける機会の関連を考察した。

### 材料および方法

#### 1. めん羊

北海道立滝川畜産試験場で生まれ、飼養されているサフォーク雌羊を3つの年齢に群別して1989年4月から1990年4月までの1年間供試した。1歳未満羊は1989年生まれの98頭、1歳羊は1988年生まれの74頭、そして2歳羊は1987年生まれの70頭である。これらのめん羊は、それぞれの年の2月から3月に生まれ、5月上旬から母子ともに放牧され、6月下旬に離乳し、10月末に放牧を終了し、冬期は舎飼された。そして翌年の放牧前の4月に初めて、その後は毎年放牧前の4月に毛刈された。すなわち、1歳未満羊は供試期間中一度も毛刈されておらず、1歳羊は1989年4月18-21日に初めての毛刈をされ、2歳羊は1988年4月に1回目、1989年4月18-21日に2回目の毛刈をされていた。なお、大部分が電気バリカン (STEWART CLIPMASTER: MODEL 510 A HEAD, OSTER, USA) で、一部が毛刈ハサミで毛刈

された。

## 2. 採 血

各年齢群とも1989年の4月12-13日, 7月17-19日(放牧中), 11月6-7日(放牧終了後1週)および1990年4月9-11日の4回, 採血した。すなわち, これを各群毎に生後月数で示すと1歳未満羊では生後1, 4, 8および13カ月であり, 1歳羊では生後13(1回目の毛刈前5-9日), 16(毛刈後90日), 20および25カ月であった。また, 2歳羊では生後25(2回目の毛刈前5-9日), 28(毛刈後90日), 32カ月であり, 4回目(1990年4月)の採血は行わなかった。血清は遠沈で分離し, 使用まで-20℃に保存した。

## 3. 抗体の測定

本菌の培養上清中に産生される毒素すなわち, ホスホリパーゼDに対する抗体をELISA法を用いて以下のよう

に測定した。  
**抗原の作製:** Makiら[31]の記載に準じて作製した。すなわち, 0.1%にツイーン80を加えたブレインハートインフュージョン液体培地に *C. pseudotuberculosis* ATCC 19410株を接種し, 37℃で3日間振盪培養した。これを4℃で12,000g, 15分間遠沈し, 上清を孔径0.45μmのメンブランフィルターで濾過して抗原原液とし, 使用まで-40℃に保存した。

**方法と判定:** マイクロタイタープレート(ポリスチレンEIA用, Coster社)の各ウェルに, PBS(pH7.2)で10倍に希釈した抗原を50μlずつ分注し, 4℃に1夜置いて固相化した。0.5%にツイーン80を含むPBS(PBST)で3回十分に洗浄後, 1%牛血清アルブミン(BSA)加PBSTで10倍希釈した被検血清を50μl加え, 室温に2時間置いた。次いで, 1%BSA加PBSTで1,000倍に希釈したペルオキシダーゼ標識家兎抗羊または抗山羊IgG抗体(Cappel社)を50μl加え, 遮光し, 室温に1時間置いた。PBSTで3回洗浄後, 基質液として1%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>加クエン酸ナトリウム緩衝液に0.2%溶解した2,2'-azino di-3-ethyl benzothiazollin sulfone 6-di-aminonium salt (ABTS)を100μl加え, 遮光して室温に30分間置き, 直ちに各ウェルの吸光度(OD)をImmuno Reader (MPR-A4: 東洋曹達工業, 東京)を用いて波長405nmで測定し, 0.384以上を陽性とした。これは趙ら[50]の方法に従い, CLA病果を保有しなかった235例の羊の血清の平均OD値に標準偏差の3倍を加えた値である。

**血清の吸収:** 非特異反応を除去するために被検血清を

趙ら[50]の方法で予め前処理した。すなわち, *Rodococcus equi* Prescott 2型(ATCC 33702株)の凍結乾燥菌体をBSA-PBSTに溶解(2.5mg/ml)し, この液950μlに被検羊血清50μlを混合, 室温に1時間置いて吸収した後, 4℃で4,000rpm, 30分間遠沈し, その上清についてELISAを行った。

## 4. 統計分析

得られた成績を $\chi^2$ 検定で分析した。

## 成 績

各年齢群のめん羊の抗体陽性率の推移を表1に示した。また, 表2には各採血時期の間で抗体が変動した個体の頭数を示した。

表1. めん羊における年齢別, 季節別のELISA抗体陽性率

| 羊 群   | 生年月   | ELISA 抗体陽性頭数 <sup>a)</sup> |                 |                  |                 | 季節間の有意差       |
|-------|-------|----------------------------|-----------------|------------------|-----------------|---------------|
|       |       | 1989年                      |                 |                  | 1990年           |               |
|       |       | 4月 <sup>A</sup>            | 7月 <sup>B</sup> | 11月 <sup>C</sup> | 4月 <sup>D</sup> |               |
| 1歳未満羊 | 1989年 | 24/98                      | 0/98            | 3/98             | 10/98           | A-B間 (P<0.01) |
|       | 2-3月  | (24.5%)                    | (0%)            | (3.1%)           | (10.2%)         | C-D間 (P<0.05) |
| 1歳羊   | 1988年 | 10/74                      | 31/74           | 33/74            | 33/74           | A-B間 (P<0.01) |
|       | 2-3月  | (13.5%)                    | (41.9%)         | (44.6%)          | (44.6%)         |               |
| 2歳羊   | 1987年 | 27/70                      | 46/70           | 46/70            |                 | A-B間 (P<0.01) |
|       | 2-3月  | (38.6%)                    | (65.7%)         | (65.7%)          |                 |               |

<sup>a)</sup>陽性頭数/検査頭数。( )内はその百分比。

表2. めん羊の個体別の抗体変動パターン

| 羊 群   | 抗体の変動パターン <sup>a)</sup> | 各季節間での抗体変動パターンの割合 <sup>b)</sup> |               |               |
|-------|-------------------------|---------------------------------|---------------|---------------|
|       |                         | 4月-7月                           | 7月-11月        | 11月-翌4月       |
| 1歳未満羊 | -→+                     | 0/98 (0%)                       | 3/98 (3.1%)   | 8/98 (8.2%)   |
|       | +→-                     | 24/98 (24.5%)                   | 0/98 (0%)     | 1/98 (1.0%)   |
|       | -→-                     | 74/98 (75.5%)                   | 95/98 (96.9%) | 86/98 (87.8%) |
|       | +→+                     | 0/98 (0%)                       | 0/98 (0%)     | 3/98 (3.1%)   |
| 1歳羊   | -→+                     | 24/74 (32.4%)                   | 8/74 (10.8%)  | 8/74 (10.8%)  |
|       | +→-                     | 3/74 (4.1%)                     | 6/74 (8.1%)   | 8/74 (10.8%)  |
|       | -→-                     | 40/74 (54.1%)                   | 25/74 (33.8%) | 25/74 (33.8%) |
|       | +→+                     | 7/74 (9.5%)                     | 35/74 (47.3%) | 33/74 (44.6%) |
| 2歳羊   | -→+                     | 19/70 (27.1%)                   | 8/70 (11.4%)  |               |
|       | +→-                     | 0/70 (0%)                       | 8/70 (11.4%)  |               |
|       | -→-                     | 24/70 (34.3%)                   | 16/70 (22.9%) |               |
|       | +→+                     | 27/70 (38.6%)                   | 38/70 (54.3%) |               |

a) -→+: 2つの季節間で抗体が陰性から陽性に転じたことを意味する。

-→-: 2つの季節間で抗体が陰性のまま変化しなかったことを意味する。

+→-: 2つの季節間で抗体が陽性から陰性に転じたことを意味する。

+→+: 2つの季節間で抗体が陽性のまま変化しなかったことを意味する。

b) パターンの該当頭数/検査頭数。( )内はその百分比。

1歳未満羊，すなわち1989年2-3月に生まれた羊は表1に示すように，1989年4月に抗体陽性羊の割合は98頭中24頭（24.5%）であったが，7月には98頭中0頭（0%）と統計的に有意に減少した（ $P < 0.01$ ）。抗体陽性率は11月に98頭中3頭（3.1%）となり，翌年の4月には98頭中10頭（10.2%）となって，前年の11月より有意に上昇していた（ $P < 0.05$ ）。また，表2に示すように抗体の動きを個体別にみると，1989年4月に陽性であった24頭は7月には全て陰性となった。その後7月から翌年の4月にかけて陽性に転じる個体は11頭みられたが，陽性から陰性に転じたものは11月-翌年4月間の1頭のみであった。

1歳羊，すなわち1988年2-3月に生まれためん羊は表1に示すように最初の採血時（1989年4月，1-2カ月齢）に既に74頭中10頭（13.5%）が抗体を保有しており，その割合は1歳未満羊が1年経過した1990年4月の陽性率10.2%とほぼ同程度であった。その後，陽性率は7月には74頭中31頭（41.9%）へと有意に増加した（ $P < 0.01$ ）。以後は翌1990年の4月まで同程度の陽性率であった。次に表2に示した如く，4月-7月間に抗体が変動した27頭のうち，抗体が陰性から陽性に転じたものは24頭（88.9%）で，逆に陽性から陰性に転じたのは僅か3頭（11.1%）であった。しかし，その後の7月-11月間に抗体が変動したものは14頭で，そのうち，陰性から陽性に転じたのは8頭（57.1%），陽性から陰性に転じたものは6頭（42.9%）であった。さらに，11月-翌年4月の期間に抗体が変動したものは16頭で，そのうち，陰性から陽性に転じたものおよび陽性から陰性に転じたものはそれぞれ8頭（50%）であった。7月-11月間および11月-翌年4月間における陽転頭数および陰転頭数は，ほぼ等しかった。

2歳羊，すなわち，1987年2-3月に生まれためん羊は表1に示すように，1989年4月に既に70頭中27頭（38.6%）が抗体を保有しており，これは1歳羊の1990年4月の陽性率44.6%に近かった。7月には70頭中46頭（65.7%）が陽性となり，その率は有意に増加した（ $P < 0.01$ ）。その後11月では65.7%で7月と同率であった。表2に示すように個体別に抗体の動きを見ると4月-7月間では抗体が変動した19頭は全て陰性から陽性に転じたものであった。その後7月-11月の期間では抗体が変動した16頭のうち陰性から陽性に転じたものは8/16頭（50%），陽性から陰性に転じたものは8/16頭（50%）で同率となり，このことは1歳羊の同時期（7月-11月）で観察されたことと一致していた。

## 考 察

本研究で，1歳羊および2歳羊では4月から7月の間で抗体陽性率が他の期間に比べ著しく上昇することが判明した。また，この期間内で抗体が変動したものは1歳羊で27頭，2歳羊で19頭あり，その大部分（それぞれ27頭中24頭および19頭中19頭）は陰性から陽性に転じたものであり，陽性から陰性に転じたものは極めて少なく，この間の抗体陽性率の上昇は新たに感染したものが主体を占めている。このことは4月と7月の間に感染の主たる機会があったことを示唆している。1歳羊および2歳羊はこの期間に丁度毛刈されており，創傷を受ける機会として毛刈は最大のものであったと考えられる。

一方，1歳未満羊では4月と7月の間で毛刈を経験しておらず，7月には抗体陽性率は，逆に0%に減少していた。個体別にみても抗体が変動したものは，陽性から陰性に転じたものだけであって，陰性から陽性に転じたものはなかった。もし，4月に認められた子羊の抗体が生後1ないし2カ月間，母羊と同居した期間に感染したものなら，7月に抗体陽性率が0%になるのは不自然であり，理解できない。従って1989年4月，すなわち，生後1-2カ月に検出された抗体は移行抗体と考えられる。

1歳未満羊が生時から翌年の春までにCLAに罹患する機会としては次のことが考えられる。すなわち，断尾[8,27]，耳票の取付[19]，去勢[8,27,32]，薬浴[8,35]，日常の創傷[29,32]，粗剛な飼料摂取による口腔粘膜の創傷[3,27]，など各種の創傷である。しかし，本試験では，出生時から翌年の春までの間に抗体が陽転した頭数は僅かであり，それらによる感染の機会は少ないのであろう。断尾は生後1-2週間で行われたが，その後抗体が上昇するものはなく，断尾が感染の機会となることはほとんど無いと思われる。同様に1歳以上の羊も薬浴，日常の創傷，粗剛な飼料摂取などは毎年経験することであるが，これらのことは感染の機会としては毛刈時の創傷に比べ遙かに少ないと考えられた。NairnとRobertson [35]は，本菌に汚染した殺虫剤の薬浴を毛刈後の2週以内の皮膚に適用すると12頭中3頭（25%）の皮膚に病巣が出来たとして薬浴が感染の機会になることに注目している。しかし，本試験では供試羊は薬浴の代わりに0.04% 2-セカンダリ-ブチルフェニル-N-メチルカーバイト液（500倍希釈バリゾン乳剤：エーザイ株式会社）の噴霧を行っており，この場合の薬剤が本菌の汚染を受けているとは考えられず，また，噴霧の時期も毛刈の創傷が完全に治癒した毛刈の9週後（2回目の採

血の4週前)であるため、これが感染の機会となることは考え難い。実際、NairnとRobertson [35]も痂皮が形成されると感染し難いと述べている。

毛刈時の創傷が感染の主要な機会となるであろうことは以前から指摘されていたが具体的なデータは少なく、僅かに実験感染で証明されているにすぎない[34,35,44]。抗体の動きから感染時期を示したものはPatonら[39]のみである。彼らは、ELISA抗体の調査から1歳羊および2歳羊では本症感染の90%以上は毛刈後の5-7カ月間に起こるとしており、1歳羊および2歳羊の毛刈後6カ月間の抗体陽性率からその群の本症の年間発生率を推定出来ると述べている。さらに、1-2歳羊が感受性が高いことから、この時期でのワクチンの再接種を推奨している。彼らは感染の機会が毛刈によって出来た創傷によるとは直接言及していないが、それによる創傷が感染の機会であることを示唆している。

Holstad [24]は、山羊で生時から7歳までの抗体陽性率の推移を菌体凝集反応(BAT)と溶血阻止反応(HIT)で観察した。0-1カ月齢の陽性率はBATで71%, HITで100%であったが、3-4カ月齢で皆無となった。3-4カ月齢で消失した抗体は移行抗体であろうと考察している。その後、1歳で陽性率は63%(BAT), 56%(HIT)となった。さらに7歳では陽性率は両検査とも98%に達していたという。この間、冬期間(11-12カ月齢)に陽性率の著しい上昇がみられた。彼は、この原因は子山羊を成山羊と一緒にして小さな囲いで飼養したことによると考えた。しかし、感染ルートについては触れていない。彼の成績では本研究でみられた春の急上昇は見られなかった。これは山羊では毛刈をしないことと関連するのであろう。

本試験では各年齢別の羊群の抗体陽性率の変動を見たものであり、個体毎の創傷の有無と抗体の変動との関係は見えてはいない。しかし当場では毛刈によって毎年約80-90%の個体が肉眼で認識できる創傷を負っているで、群として扱っても十分評価できるものと考ええる。

当場ではCLAは1981年に確認されており、1987年頃からその発生が目立ち始めた(未発表)。本症は清浄農場に患畜を導入すると2, 3年で急速に全群に浸潤することが知られているので[2,4,25,47], 当場でも本症が侵入して以来、毛刈毎に毎年感染羊が増加してゆき、そ

の結果、年齢の高いものほど抗体陽性率が增大したのであろう。今回調査した3群めん羊は年齢が異なるけれども、3本の陽性率曲線は年齢順に並べると1本につながり、これはめん羊の成長につれての抗体陽性率の推移のパターンを示すものと思われる(図1)。

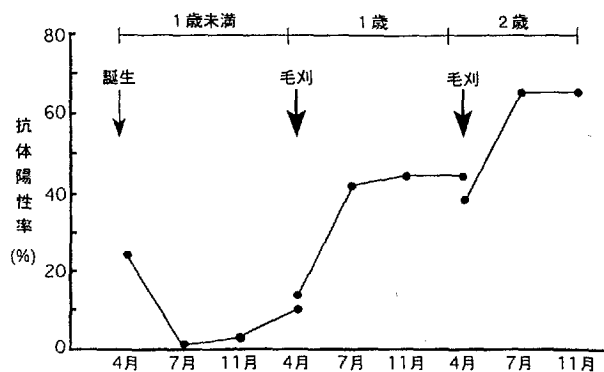


図1. めん羊の成長に伴う抗体陽性率の推移

以上のことから、毛刈時の創傷が本菌の感染に最も大きな機会となっていることがより明確になった。今後は毛刈時の創傷に対する対策を検討する必要がある。

## 小 括

1歳未満(98頭), 1歳(74頭)および2歳(70頭)のめん羊から1989年4月, 7月, 11月および1990年4月の4回採血して *Corynebacterium pseudotuberculosis* 毒素に対するELISA抗体を調査し、以下の結果を得た。

1. 1歳羊と2歳羊では1989年4月と7月の間では他の期間に比べ群の抗体陽性率が有意に上昇した( $P < 0.01$ )。また個体別でも抗体が陰性から陽性に転じるものの方が陽性から陰性に転じるものより遙かに多く、主としてこの期間内に感染が起こることが分かった。1歳羊と2歳羊は1989年4月の採血後に毛刈をされていることから毛刈による創傷が *C. pseudotuberculosis* 感染に重要な役割を果たしていることが強く示唆された。
2. 毛刈を一度も経験していない1歳未満羊では1989年4月と7月の間では抗体陽性率は逆に有意に低下しており( $P < 0.01$ )、これは移行抗体の消失によると考えられた。

## 第2章 毛刈時の抗生物質投与による

### *C. pseudotuberculosis* 感染症の予防の試み

#### 序 文

前章の試験で1歳未満羊、1歳羊および2歳羊から3-5ヵ月間隔でELISA抗体を測定すると、1歳羊および2歳羊では毛刈の3ヵ月後で *C. pseudotuberculosis* に対する群のELISA抗体陽性率が著しく上昇することが分かり、毛刈時の創傷が乾酪性リンパ節炎 (caseous lymphadenitis: CLA) の罹患の原因として最も重要であることを強調した。

本症の予防法については多くの成書で以下のことが挙げられている。すなわち、①リンパ節の腫大した羊を淘汰する [8]、②創傷を避ける [27]、③創傷を消毒する [19, 27, 32]、④清潔な環境・器具で毛刈・断尾・分婉をする [8, 19, 27]、⑤若い羊から順に毛刈する [8, 19]、⑥毛刈したものは速やかに放牧する [27]、⑦毛刈後の薬浴を避ける [8] などである。しかし、これらのことを実施してどのくらいの効果が上がるかは不明であり、毛刈時の創傷の消毒に関してもその効果を具体的に示した成績はない。

抗菌剤による *C. pseudotuberculosis* 感染症の治療については Benham ら [7] の総説を見ると、Richou (1946 年) は馬のリンパ管炎の治療にスブチリンが価値あることを示唆し、Fontanelli と Castellucci (1951 年) はめん羊の CLA にペニシリン療法が効果的であったと記載している。

本菌は多くの抗生物質に高い感受性を有するが [2, 51]、本症の膿瘍病巣は厚い繊維性の被膜に包まれていて、抗菌性物質の浸透を阻止することから治療は困難であり [2, 11, 22, 27]、また大部分の症例は通常は進行性でないことなどから、抗菌剤による治療は実用的でないと言われてきた [8, 19, 22, 27, 32]。その他に治療を困難とする要因として、膿汁中に抗生物質を中和する物質を含むこと [2]、本菌が通性細胞内寄生性で薬剤の効果を受け難いこと [2] などが推測されている。そして実際、環境衛生の実行が辛うじて唯一の予防法となっていた [16]。

しかし、毛刈後直ちに本菌感受性の抗生物質を全身投与すると、予防効果が期待できると考えられる。そこで、本章では毛刈時に創傷を負っためん羊に直ちに本菌感受性の抗生物質を全身投与して CLA 感染を予防できるか否かを ELISA 抗体の陽転率によって評価した。

#### 材料および方法

##### 1. 使用抗生物質

Zhao ら [51] の成績に基づき、本菌に感受性で入手が容易な抗生物質を選択した。すなわち、試験1にはベンジルペニシリンプロカイン30万単位/ml含有『懸濁水性ペニシリン注射液“ファイザー”』(以下、ペニシリン)の2ml(体重kg当たり約10,000単位)を毛刈後直ちに各羊の臀部筋肉内に注射した。

試験2にはオキシテトラサイクリン200mg/ml含有『テラマイシン・LA注射液“ファイザー”』(以下、テラマイ LA)の6ml(体重kg当たり約20mg)を毛刈後直ちに各羊の臀部筋肉内に注射した。

##### 2. 試験区分

**試験1** (ペニシリン投与試験) : 1989年: 2-3月に滝川畜産試験場で生まれたサフォーク雌羊95頭が1990年4月、初めての毛刈を受けた。その時の平均体重は約60kgであった。そのうち、毛刈によって肉眼的な創傷を受けた子羊は91頭(95.8%)であった。91頭中毛刈前に抗体が陰性であった83頭を投与群の56頭、非投与群の27頭に分けた。

**試験2** (テラマイ LA 投与試験) : 1990年2-3月に滝川畜産試験場で生まれたサフォーク雌羊87頭が1991年4月、初めての毛刈を受けた。その時の平均体重は約60kgであった。そのうち、毛刈によって肉眼的な創傷を受けた子羊は85頭(97.7%)であった。その85頭中毛刈前に抗体が陰性であった60頭を投与群40頭、非投与群20頭に分けた。なお、両試験とも毛刈は大部分が電気バリカンで行われた。

##### 3. 採血および抗体の測定

試験1では毛刈前(1990年4月9-11日)と毛刈の約3ヵ月後(1990年7月19日)、試験2では毛刈前(1991年4月15日)と毛刈後約3ヵ月(1991年7月8日)に採血して血清を得た。抗体はこれまで通り本菌の産生する毒素に対する抗体をELISA法で測定した。

##### 4. 統計分析

得られた成績  $\chi^2$  検定で分析した。

## 成 績

両試験で供試しためん羊の毛刈時での創傷の有無を表3に、また、創傷の程度を以下の4つに分けて表4に示した。すなわち、(－)：肉眼的に傷の無いもの、(＋)：0.5－2 cmの傷が1－5個、または傷の総長が10cm以下のもの、(++)：2－5 cmの傷が4－5個、または傷の総長が10－25cmのもの、(+++)：5 cm以上の傷が4－5個、または傷の総長が25cm以上のものとした。

表3. 両試験における供試羊の毛刈による創傷の割合

| 試験 | 供試頭数 | 傷の有無        |               |
|----|------|-------------|---------------|
|    |      | －           | ＋             |
| 1  | 95   | 4<br>(4.2%) | 91<br>(95.8%) |
| 2  | 87   | 2<br>(2.3%) | 85<br>(97.7%) |

表4. 両試験における供試羊の毛刈による創傷の程度

| 試験 | 供試頭数 | 傷の大きさ <sup>a)</sup> |               |              |
|----|------|---------------------|---------------|--------------|
|    |      | ＋                   | ++            | +++          |
| 1  | 91   | 56<br>(61.5%)       | 29<br>(31.9%) | 16<br>(6.6%) |
| 2  | 85   | 61<br>(71.8%)       | 22<br>(25.9%) | 2<br>(2.4%)  |

<sup>a)</sup>傷の大きさ

- ＋：0.5－2 cmの傷が1－5個、または傷の総長が10cm以下のもの。  
 ++：2－5 cmの傷が4－5個、または傷の総長が10－25cmのもの。  
 +++：5 cm以上の傷が4－5個、または傷の総長が25cm以上のもの。

試験1では毛刈後に95頭の創傷を検査すると、4頭には肉眼的に創傷は発見されず、91頭(95.8%)が創傷を有した。91頭中56頭(61.5%)が(＋)の創傷を有し、29頭(31.9%)が(++),そして6頭(6.6%)は(+++)の創傷を負っていた。

3カ月後の抗体陽性率を見ると投与群で56頭中7頭(12.5%)であったのに対し、非投与群では27頭中1頭(3.7%)と予想に反し、少なかったが、両群間には統計的に有意な差は認められなかった(表5)。

試験2で毛刈後に87頭の創傷を検査すると、2頭には肉眼的に創傷は発見されず、85頭(97.7%)が創傷を有していた。85頭中61頭(71.8%)が(＋)の創傷を有し、22頭(25.9%)が(++),そして2頭(2.4%)は(+++)

+)の創傷を負っていた。試験1および2とも創傷の大きさは点状大～約10cmのものまでと不同であったが、多くは2－5 cmであった。

3カ月後の抗体陽性率を見ると投与群で40頭中14頭(35.0%)が抗体が陽転したのに対し、非投与群では20頭中6頭(30.0%)で、両群間には統計的に有意な差は認められなかった(表5)。

表5. 毛刈時に創傷を負っためん羊への抗生物質投与による *C. pseudotuberculosis* 感染の予防効果

| 試験 | 供試薬剤    | 群   | ELISA 抗体陽性率             |               | 処理間の有意差          |
|----|---------|-----|-------------------------|---------------|------------------|
|    |         |     | 毛刈前                     | 毛刈後3カ月        |                  |
| 1  | ペニシリン   | 投与  | 0/56 (0%) <sup>a)</sup> | 7/56 (12.5%)  | NS <sup>b)</sup> |
|    |         | 非投与 | 0/27 (0%)               | 1/27 (3.7%)   |                  |
| 2  | テラマイ LA | 投与  | 0/40 (0%)               | 14/40 (35.0%) | NS               |
|    |         | 非投与 | 0/20 (0%)               | 6/20 (30.0%)  |                  |

<sup>a)</sup>陽性頭数/供試験頭数。( )内はその百分比。

<sup>b)</sup>有意差なし。

## 考 察

毛刈で創傷を負っためん羊に直ちにペニシリンまたはテラマイ LA を全身的に投与しても本症の感染を予防することはできなかった。

本症の原因菌である *C. pseudotuberculosis* の各種抗生物質に対する感受性についての報告は少ないが[2,33,51],何れの報告も同様な傾向を示している。Ashfaq と Campbell [2] は、アンピシリン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、ゲンタマイシン、ペニシリン、テトラサイクリンに本菌は感受性を示し、コリマイシン、ニトロフラントイン、ストレプトマイシンには抵抗性であったと報告している。また、Muckle と Gyles [33] は、アンピシリン、クロラムフェニコール、リンコマイシン、ゲンタマイシン、テトラサイクリン、ペニシリンG、トリメトプリムに対し本菌の感受性が高く、特にテトラサイクリンのMICは $\leq 0.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 、ペニシリンGのそれは $0.12-0.25\mu\text{g}/\text{ml}$ であったと報告している。わが国ではZhaoら[51]が、主として滝川畜産試験場のめん羊から分離された *C. pseudotuberculosis* 菌株を用いて薬剤感受性を報告し、ペニシリンG、アンピシリン、エリスロマイシン、バシトラシンに対して極めて感受性が高く、メチシリン、セファロチン、セファゾリン、ゲンタマイシン、ネオマイシン、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、クロラムフェニコール、クリンダマイシン、バンコマイシンおよびトリメトプリムに対しては中程度の感受性を示した。

そしてストレプトマイシン、カナマイシン、アミカシン、ノボビオシンに対する感受性は低く、ポリミキシンB、コリスチン、ニトロフラントイン、スルフィソキサゾールには抵抗性を示した。その中でペニシリンGの最小発育阻止濃度（MIC）は $0.39\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下で非常に感受性が高く、また、オキシテトラサイクリンのMICは $3.13\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下で比較的感受性が高かったという。

しかし、両抗生物質を毛刈時に創傷を負っためん羊に直ちに全身投与しても感染を阻止することは出来なかった。投与量を単純に全身に均等に分布したと仮定するとテラマイ LA では体重g当たり約 $20\mu\text{g}$ となり、これは試験管内のMICの $3.13\mu\text{g}/\text{ml}$ の6倍を越す値となる。また、ペニシリンの場合もペニシリンGナトリウムの1単位が $0.6\mu\text{g}$ に相当する [46] ことから換算すると体重g当たり $6\mu\text{g}$ となり、これは試験管内のMICである $0.39\mu\text{g}/\text{ml}$ の約15倍の値である。

本菌が皮膚の傷から侵入した場合、菌の最初の増殖場所は侵入局所である。次いで、そこからリンパ行を介して局所リンパ節に到達し、増殖して膿瘍を形成する。さらに、リンパ行や血行を介して他のリンパ節や全身臓器（特に肺、まれに肝臓、腎臓、脳、脊髄）に拡散して乾酪性の膿瘍を作るといわれている [5, 8, 19, 20, 27, 32]。また、まれではあるが子羊では敗血症で死亡するという [8]。

この場合抗生物質が有効に作用するには血液中およびリンパ液中の濃度が有効レベル以上を維持する必要がある。しかし、本菌は通性細胞内寄生菌であり、マクロファージに寄生して全身に播種されると言われており [2, 13, 32]、この場合には、例え血液中、リンパ液中の薬剤の濃度が試験管内でのMICレベルに達していたと

しても効果がないかも知れない。また、抗生物質投与後、毛刈創傷部位にそれが達するには時間がかかり、その間に菌はマクロファージに貪食されて効果を発揮できなくなることも考えられる。今回の試験でも抗生物質濃度が本菌のMICを遙かに上回ったにもかかわらず、予防効果がなかったのは、上述の理由などによるものであろう。従って、毛刈の1-2日前と毛刈時の2回注射することで予防効果が上がるかもしれない。

上述のように、本章で、毛刈時に抗生物質を投与し、CLAの予防を試みたが、予想に反し効果は認められなかった。そこで、次章では野外におけるCLAの予防対策として、毛刈時創傷に希ヨードチンキを塗布する方法を述べる。

## 小 括

毛刈時に創傷を負っためん羊に直ちに *C. pseudotuberculosis* が感受性を示す抗生物質を投与して、本菌感染を防御できるか否かを3カ月後のELISA抗体の陽転率から評価した。使用した抗生物質はベンジルペニシリンプロカインとオキシテトラサイクリンで、それぞれを毛刈後直ちに2ml（体重kg当たり約10,000単位）、6ml（体重kg当たり約20mg）を臀部筋肉内に投与した。

ペニシリン投与試験では3カ月後の抗体陽性率は投与群で56頭中7頭（12.5%）、非投与群で27頭中1頭（3.7%）であり、またオキシテトラサイクリン投与試験では3カ月後の抗体陽性率は投与群で40頭中14頭（35.0%）、非投与群で20頭中6頭（30.0%）となり、どちらの試験でも有効性を確認することはできなかった。

### 第3章 めん羊の毛刈創傷への希ヨードチンキの塗布による *C. pseudotuberculosis* 感染症の予防の試み

#### 序 文

CLAの予防については従来より創傷が主たる原因と考えられていたことから、創傷特に毛刈創傷に対する対策が取られてきた。すなわち、①創傷を避ける、②創傷を消毒する、③毛刈時の衛生管理（手指・器具・環境の清掃）に配慮する、④若い羊から順に毛刈する、などである。

前章では毛刈創傷からの感染に対して、毛刈時に *C. pseudotuberculosis* に感受性の抗生物質を全身投与したが、予想に反して予防効果は得られなかった。そこで本章では、毛刈時の創傷に対して速やかに希ヨードチンキを塗布することにより感染を防御できるか否かを試験した。

#### 材料および方法

##### 1. めん羊

試験は滝川畜産試験場（T農場）および士別市めん羊牧場（S農場）で実施した。T農場では1988年春生まれのサフォーク雌羊94頭、S農場では1989年春生まれのサフォーク雌羊47頭を供試した。

##### 2. 毛刈と処置

T農場の供試羊94頭は1989年4月18～21日に初めて毛刈された。毛刈時点に ELISA 抗体が陰性であり、毛刈によって創傷を受けためん羊61頭を32頭、29頭の2群に分けた。32頭の創傷には希ヨードチンキを市販の小型スプレー（Canyon HI-SPRAYER；キャニオン株式会社、東京）で塗布し、29頭の創傷には何の処置もしないで対照群とした。

S農場の供試羊47頭は1990年4月23～24日に初めて毛刈された。毛刈時点に ELISA 抗体が陰性であり、毛刈によって創傷を受けためん羊33頭を希ヨードチンキ塗布の16頭、無塗布の17頭に分けた。

また、毛刈にはどちらの農場とも大部分は電気バリカンを使用した。

##### 3. 採 血

T農場では毛刈前5～9日（1989年4月12～13日）と毛刈3カ月後（1989年7月17～19日）に、S農場では毛刈日（1990年4月23～24日）と毛刈3カ月後（1989年7

月9日）に採取した。遠心分離した血清を使用するまで  $-20^{\circ}\text{C}$  に保存した。

##### 4. 抗体の測定

ELISA 抗体の測定は第1章と同じ方法で行った。

##### 5. 統計分析

得られた成績を  $\chi^2$  検定および Fisher の直接確率計算法で分析した。

#### 成 績

両農場で供試しためん羊の毛刈時での創傷の有無を表6に、また、創傷の程度を表7に示した。創傷の大きさの基準は第2章と同様にした。

表6. 両農場における供試羊の毛刈による創傷の割合

| 農 場 | 供 試<br>頭 数 | 傷 の 有 無       |               |
|-----|------------|---------------|---------------|
|     |            | —             | +             |
| T   | 94         | 11<br>(11.7%) | 83<br>(88.3%) |
| S   | 47         | 2<br>(4.3%)   | 45<br>(95.7%) |

表7. 両農場における供試羊の毛刈による創傷の程度

| 農 場 | 供 試<br>頭 数 | 傷 の 大 き さ <sup>a)</sup> |               |               |
|-----|------------|-------------------------|---------------|---------------|
|     |            | +                       | ++            | +++           |
| T   | 83         | 40<br>(48.2%)           | 23<br>(27.7%) | 20<br>(24.1%) |
| S   | 45         | 21<br>(46.7%)           | 14<br>(31.1%) | 10<br>(22.2%) |

<sup>a)</sup> 傷の大きさ

＋：0.5～2 cmの傷が1～5個、または傷の総長が10cm以下のもの。

++：2～5 cmの傷が4～5個、または傷の総長が10～25cmのもの。

+++：5 cm以上の傷が4～5個、または傷の総長が25cm以上のもの。

T農場のめん羊94頭の毛刈後の創傷を検査したところ、(－)は11頭(11.7%)、傷を有したものは83頭(88.3%)であった。83頭中、(＋)は40頭(48.2%)、(++)が23頭(27.7%)、(+++)は20頭(24.1%)

であった。S農場のめん羊47頭の毛刈後の創傷の検査では、肉眼的に創傷のなかったものは2頭(4.3%)でT農場より少なかったが、創傷を負った45頭の傷の程度は(+)が21頭(46.7%)、(++)が14頭(31.1%)、そして(+++)が10頭(22.2%)であり、T農場とほぼ同じであった。両農場とも創傷の大きさは数mm~10cm以上のものまでであったが、多くは2~5cmであった。

両農場の供試羊の毛刈前と毛刈後約3カ月の抗体陽性率を表8に示した。T農場ではヨードチンキ塗布の32頭中9頭(28.1%)が毛刈の3カ月後に抗体が陽転していた。一方、無塗布群では29頭中15頭(51.7%)が3カ月後に抗体陽性となり、塗布群よりも多かったが、両群間の抗体陽転率には統計的に有意な差はなかった( $P=0.052$ )。なお、毛刈時に抗体が陰性で肉眼的に創傷を認めなかったものが9頭あったが、3カ月後に、このうちの1頭(11.1%)の抗体が陽転していた。

表8. 毛刈時の創傷への希ヨードチンキ塗布による *C. pseudotuberculosis* 感染の予防効果

| 農場 | 希ヨードチンキ<br>塗 布 | 供試頭数 | 毛刈3カ月後の<br>ELISA-抗体陽<br>性頭数 | 処理間の有<br>意差      |
|----|----------------|------|-----------------------------|------------------|
| T  | +              | 32   | 9 (28.1%) <sup>a)</sup>     | NS <sup>b)</sup> |
|    | -              | 29   | 15 (51.7%)                  |                  |
| S  | +              | 16   | 1 (6.3%)                    | NS               |
|    | -              | 17   | 4 (23.5%)                   |                  |
| 合計 | +              | 48   | 10 (20.8%)                  | $P<0.05$         |
|    | -              | 46   | 19 (41.3%)                  |                  |

<sup>a)</sup> ( ) 内は陽性率。

<sup>b)</sup> 有意差なし。

S農場では塗布群では毛刈の3カ月後に16頭中1頭(6.3%)が抗体陽性に転じ、無塗布群の17頭中4頭(23.5%)より少なかったが、両群間には統計的な有意差はなかった( $P=0.3$ )。

しかし、両試験の成績を合計した場合には、毛刈後3カ月の抗体陽性率は、塗布群では48頭中10頭(20.8%)であり、これは無塗布群の46頭中19頭(41.3%)よりも統計的に有意に低かった( $P<0.05$ )。

毛刈時の創傷の大きさと抗体の陽転との関係を見たのが表9である。希ヨードチンキを塗布しないめん羊では、傷の大きさに関係なく抗体の陽転率はほぼ同じであった。一方、希ヨードチンキを塗布しためん羊では比較的小さな創傷(+および++)を持ったものの抗体陽転率は低かったが、大きな創傷を持ったものでは非塗布群とほぼ同じくらいの高い陽転率を示した。

表9. 希ヨードチンキ塗布の有無および毛刈創傷の大きさと抗体陽転率との関係

| 希ヨードチンキの塗布 | 傷の大きさ <sup>a)</sup> | 抗体の陽転率 <sup>b)</sup> |
|------------|---------------------|----------------------|
| +          | +                   | 2/18 (11.1%)         |
|            | ++                  | 5/24 (20.8%)         |
|            | +++                 | 3/6 (50.0%)          |
| -          | +                   | 10/22 (45.5%)        |
|            | ++                  | 7/19 (36.8%)         |
|            | +++                 | 2/5 (40.0%)          |

<sup>a)</sup> 傷の大きさ

+: 0.5~2cmの傷が1~5個、または傷の総長が10cm以下のもの。

++: 2~5cmの傷が4~5個、または傷の総長が10~25cmのもの。

+++: 5cm以上の傷が4~5個、または傷の総長が25cm以上のもの。

<sup>b)</sup> 陽性頭数/検査頭数。( ) 内はその百分比。

## 考 察

毛刈後の創傷の希ヨードチンキを直ちに塗布した群の毛刈後約3カ月の抗体の陽性率は両農場とも無塗布群よりも少なかった。しかし、統計的には有意な差とはならなかった。一方、2農場を合計した場合には塗布群は48頭中10頭(20.8%)、無塗布群は46頭中19頭(41.3%)が抗体陽性で、両者の間に統計的に有意な差が認められた( $P<0.05$ )。両農場の試験を実施した年の1989年、T農場で初めて毛刈される前の子羊のELISA抗体陽性率は94頭中11頭(11.7%)、また、1990年、S農場では47頭中5頭(10.6%)で、その値は近似し、両農場の汚染程度はほぼ等しいと考えられ、また飼養管理法、毛刈の方法も同様であったので両者の成績を加えた評価は妥当と考えられる。

この様にみると、毛刈時の創傷に希ヨードチンキを塗布することである程度の感染の予防が可能であったと考えられる。しかし、希ヨードチンキを塗布した群の20~30%は本菌の感染を受け、抗体が陽転していた。これは希ヨードチンキの塗布は目に見える傷のみにしか適用できず、また、毛刈後の健康な皮膚からも感染が可能[35]であることによるのであろう。Ellisら[20]はRobertson(1980年)の学位論文を引用して、①若い羊を最初に毛刈する、②化膿病巣を持った羊を隔離する、そして、③重度な皮膚の創傷を治療するなどの管理を実行してもCLAの発生は減少しなかったと記載している。両農場では従来から毛刈時の創傷に対して希ヨードチンキを塗布してきた。しかし、これは単に創傷の化膿を防止するためであって、特別に本症を対象としたものではなかった。しかも塗布は大きな傷に対してであって、小さな傷は無処置のまま放置されてきた。

本症は患畜を健康群に導入することによって伝播し[2,4,25], 1-2年後には群中に広く浸潤することになるという[25,47]。従って, 希ヨードチンキのこのような適用法のみでは本症を防除出来ず, また既述の各種の予防法を完全には実施していなかったため次第に広がっていったのであろう。

また, 希ヨードチンキの塗布は創傷の大きなものでは効果が小さいことから, 毛刈時には出来る限り創傷の数を少なくし, 大きさを小さくするよう注意しなければならない。

本試験では, 希ヨードチンキ塗布の効果の評価をELISA 抗体の陽性率の比較で行った。正確な評価は剖検によって膿瘍の保有率を調べてなされるのが理想的であるが, 供試羊が繁殖候補羊であったため, 剖検できなかった。

既述したように, 希ヨードチンキの塗布は肉眼的に識別できる創傷にのみ適用され, それ以下の微細な創傷には適用できなかった。希ヨードチンキを全身に噴霧すればより効果が上がることは期待できるが, その場合はめん羊の全身が黄褐色となり, 実際的ではない。今後, 安価で速乾性の無色の消毒液の全身噴霧を検討する必要がある。

また, 希ヨードチンキの塗布によって毛刈後の抗体陽転を抑制したことからも第1章で強調した毛刈時の創傷がCLA 感染に重要な役割を果たしていることが立証された。

その他, 免疫学的予防法についても検討され多くの試験が行われてきた[9,11,12,17,24,26,28,39,49]。ワクチンは毛刈時のみならず, より幅の広い期間を対象に適用が期待されるが, Patonら[39]は1, 2歳のめん羊が最も本菌感染を受け易いことから, この時期にワクチンの再接種を薦めている。このことは, 毛刈創傷からの感染を対象としたものといえよう。そしてオーストラリアではトキシイドワクチンが市販されていて, ある程度の効果を挙げているという[28]。しかし, Holstad[24]は山羊にワクチンを用いた試験からワクチンを本症に対する唯一の防除法とするには不十分であるとしており, 野外での本症の対策には従来からの方法と組み合わせた総合的な対応が必要であろう。そして, それらの中でも, 毛刈創傷に希ヨードチンキを塗布することが, CLAの予防対策として, 今のところ, 実用的価値を持つであろう。

## 小 括

T農場では1988年春生まれの94頭, S農場では1989年

春生まれの47頭の子羊がそれぞれ翌年の春に初めて毛刈された。毛刈された子羊のうちELISA 抗体が陰性で毛刈時に創傷を受けたものがT農場では61頭, S農場では33頭あった。それらを各農場ごとで2群に分けて, 一方の群には毛刈後直ちに創傷に希ヨードチンキを塗布し, 他方の群は無塗布の対照群とした。約3カ月後に両群の抗体陽性率を比較して以下の成績を得た。

1. T農場では毛刈後約3カ月の塗布群の抗体陽性率は32頭中9頭(28.1%)で, 無塗布群の30頭中16頭(53.0%)より少なく抑えられた。
2. S農場でも毛刈後3カ月の抗体陽性率は塗布群は16頭中1頭(6.3%)で, 無塗布群の17頭中4頭(23.5%)よりも少なかった。
3. 両試験を合計した場合には, 毛刈後3カ月の抗体陽性率は, 塗布群で48頭中10頭(20.8%), 無塗布群では46頭中19頭(41.3%)で, 統計的に有意な差( $P < 0.05$ )があり, 希ヨードチンキを毛刈創傷へ塗布することにより, ある程度本症を防御することが確認された。
4. この結果はまた, 毛刈創傷が本症の感染の主要原因であることを裏付けるものである。

## 総 括

めん羊の乾酪性リンパ節炎(caseous lymphadenitis: CLA)の主たる感染機会は毛刈時の創傷であることを具体的に証明し, 毛刈創傷への処置を図って本症の予防を試みた。

1. 1歳未満, 1歳および2歳のめん羊から1989年4月, 7月, 11月および1990年4月の4回採血して *Corynebacterium pseudotuberculosis* 毒素に対するELISA 抗体陽性率の推移を調べ, 感染時期を推定した。

1歳羊と2歳羊では, 1989年4月と7月の間に抗体陽性率が有意に上昇した( $P < 0.01$ )。また, 個体別でも抗体が陰性から陽性に転じるものの方が陽性から陰性に転じるものより遙かに多く, 主としてこの期間内に感染が起こることが証明された。1歳羊と2歳羊は1989年4月の採血後に毛刈をされていたことから, 毛刈による創傷が *C. pseudotuberculosis* 感染に重要な役割を果たしていることが強く示唆された。

毛刈を一度も経験していない1歳未満羊では1989年4月と7月の間に抗体陽性率は逆に有意に低下し( $P < 0.01$ ), これは移行抗体の消失によるものと考えられた。

2. 毛刈時に創傷を負っためん羊に抗生物質を投与して *C. pseudotuberculosis* 感染を防御できるか否かを ELISA 抗体の陽転率から評価した。使用した抗生物質はベンジルペニシリンとオキシテトラサイクリンで、それぞれを毛刈後直ちに 2 ml (体重 kg 当たり約 10,000 単位)、6 ml (体重 kg 当たり約 20 mg) を臀部筋肉内に投与した。

ペニシリン投与試験では 3 カ月後の抗体陽性率は投与群で 56 頭中 7 頭 (12.5%)、非投与群で 27 頭中 1 頭 (3.7%) であった。また、オキシテトラサイクリン投与試験では 3 カ月後の抗体陽性率は投与群で 40 頭中 14 頭 (35.0%)、非投与群で 20 頭中 6 頭 (30.0%) で、ベンジルペニシリンおよびオキシテトラサイクリン投与試験のいずれも有効性を確認することはできなかった。

3. めん羊の毛刈創傷に直ちに希ヨードチンキを塗布する群と無塗布の対照群における約 3 カ月後の抗体陽性率を比較し、希ヨードチンキの CLA の予防効果をみた。T 農場では 1988 年春生まれの 94 頭、S 農場では 1989 年春生まれの 47 頭の子羊がそれぞれ翌年の春に初めて毛刈された。毛刈された子羊のうち、ELISA 抗体が陰性で毛刈時に創傷を受けためん羊を各農場ごとで 2 群に分けて供試した。

毛刈後約 3 カ月の塗布群の抗体陽性率は、T 農場では 32 頭中 9 頭 (28.1%)、無塗布群で 30 頭中 16 頭 (53.0%) であり、また、S 農場のそれは塗布群は 16 頭中 1 頭 (6.3%)、無塗布群は 17 頭中 4 頭 (23.5%) で、農場ごとにおける 2 群間の陽性率は統計的に有意差はなかった ( $P=0.052$  および  $P=0.3$ )。

しかし、両試験を合計した場合には、希ヨードチンキ塗布群の抗体陽性率は 48 頭中 10 頭 (20.8%)、無塗布群では 46 頭中 19 頭 (41.3%) で、統計的に有意な差 ( $P<0.05$ ) があり、希ヨードチンキを毛刈創傷へ塗布することにより、ある程度本症を予防することが確認された。

この結果はまた、毛刈創傷が本症の感染の主要な機会であることを裏付けている。

従って、CLA の予防対策として、今のところ、毛刈時創傷に希ヨードチンキを塗布することが実用的価値をもつであろう。

## 謝 辞

本論文を取りまとめるに当たり、酪農学園大学大学院獣医学研究科・平棟孝志教授に終始懇切丁寧なる御指導、御助言を頂き、本稿の御校閲を賜った。さらに、同大学梁川良教授、高橋清志教授、種池哲朗教授には本稿の御校閲と御助言を頂いた。諸先生に深くお礼申しあげる。

本研究は 1989 年から 1991 年までの 3 年間、酪農学園大学との共同研究で行われたものである。当场では、めん羊のヨーネ病の診断に当たり、CF による抗体検査で本症罹患羊は陽性を呈するのではないかとの疑いから調査を始めていた。その後、本症の重大さを認識し、独自に研究を手がけていた酪農学園大学と共同研究を組むことになった。

本研究の実施にあたっては、共同研究者として北海道立滝川畜産試験場衛生科研究職員伊藤俊輔氏 (現、財団法人日本鯨類研究所)、草刈直仁氏、仙名和浩氏、主任研究員八田忠雄氏 (現、北海道立根釧農業試験場主任研究員) の各位に絶大な御協力を頂いた。まためん羊科長寒河江洋一郎氏 (現、北海道立天北農業試験場草地飼料科長) には供試羊の配慮をして頂いた。更に、元北海道立滝川畜産試験場長阿部登氏 (現、農業)、元同場長和泉康史博士 (現、北海道畜産会)、元同研究部長岸昊司氏 (現、北海道立新得畜産試験場長)、元同研究部長米田裕紀氏 (現、北海道立中央農業試験場研究参事) には本研究の機会を与えられ、終始ご協力を賜った。そして同研究部長工藤卓二氏には本論文の取りまとめに当たり酪農学園大学研究生としての活動を支援して頂き、同場長国井輝男氏には本論文の出版に際しての便宜を計って頂いた。

また、共同研究先の酪農学園大学獣医伝染病学教室の平棟孝志教授、菊池直哉助教授、趙宏坤博士 (中華人民共和国・内蒙古・哲里木畜牧学院) および教室の学生の皆様には御協力と御助言を頂いた。

さらに、ヨードチンキ塗布試験に当たっては士別市めん羊牧場長金井八州俊氏に御協力を頂いた。

ここに、これらの方々に深甚なる感謝の意を表する。

## 文 献

1. Alonso, J. L., Simon, M. C., Girones, O., Muzquiz, J. L., Ortega, C., and Garcia, J. 1992. The effect of experimental infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* on reproduction in adult ewes. *Res. Vet. Sci.* 52 : 267-272.
2. Ashfaq, M. K. and Campbell, S. G. 1979. A survey of caseous lymphadenitis and its etiology in goats in the United States. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 74 : 1161-1165.
3. Ashfaq, M. K. and Campbell, S. G. 1980. Experimentally induced Caseous Lymphadenitis in Goats. *Am. J. Vet. Res.* 41 : 1789-1792.
4. Ayers, J. L. 1977. Caseous Lymphadenitis in Goats and Sheep : A Review of Diagnosis, Pathogenesis, and Immunity. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171 : 1251-1254.
5. Batey, R. G. 1986. Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. *Aust. Vet. J.* 63 : 269-272.
6. Batey, R. G. 1986. Frequency and consequence of caseous lymphadenitis in sheep and lambs slaughtered at a western Australian abattoir. *Am. J. Vet. Res.* 47 : 482-485.
7. Benham, C. L., Seaman, A., and Woodbine, M. 1962. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in diseases of animals. *Vet. Bull.* 32 : 645-657.
8. Blood, D. C., Radostits, O. M., Arundel, J. H., and Gay, C. C. 1989. *Veterinary Medicine* 7th Ed., Bailliere Tindall, London Philadelphia Sydney Tokyo Tront, 578-579.
9. Brogden, K. A., Cutlip, R. C., and Lehmkuhl, H. D. 1984. Comparison of production induced in lambs by *Corynebacterium pseudotuberculosis* whole cell and cell wall vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 45 : 2393-2395.
10. Brogden, K. A., Cutlip, R. C., and Lehmkuhl, H. D. 1984. Experimental *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in lambs. *Am. J. Vet. Res.* 45 : 1532-1534.
11. Brogden, K. A., Chedid, L., Cutlip, R. C., Lehmkuhl, H. D., and Sacks, J. 1990. Effect of muramyl dipeptide on immunogenicity of *Corynebacterium pseudotuberculosis* whole cell vaccines in mice and lambs. *Am. J. Vet. Res.* 51 : 200-202.
12. Brown, C. C., Olander, H. J., Biberstein, E. L., and Morse, S. 1986. Use of toxoid vaccine to protect goats against intradermal challenge exposure to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Am. J. Vet. Res.* 47 : 1116-1119.
13. Brown, C. C., and Olander, H. J., 1987. Caseous lymphadenitis of goats and sheep: A review. *Vet. Bull.* 57 : 1-12.
14. Brown, C. C., Olander, H. J., Biberstein, E. L., and Moreno, D. 1985. Serologic response and lesions in goats experimentally infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis* of caprine and equine origins. *Am. J. Vet. Res.* 46 : 2322-2326.
15. Burrell, D. H. 1978. Experimental induction of caseous lymphadenitis in sheep by intra-lymphatic inoculation of *Corynebacterium ovis*. *Res. Vet. Sci.* 24 : 269-276.
16. Burrell, D. H. 1981. Caseous lymphadenitis in goats. *Aust. Vet. J.* 57 : 105-110.
17. Cameron, C. M., Minnaar, J. L., Engelbrecht, M. M., and Purdom, M. R. 1972. Immune response of Merino sheep to inactivated *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccine. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 39 : 11-24.
18. Chikamatsu, S., Zhao, H. K., Kikuchi, N., and Hiramune, T. 1989. Seroepidemiological survey of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep in Japan using Enzyme-linked Immunosorbent Assay and Immunodiffusion. *Jpn. J. Vet. Sci.* 51 : 887-891.
19. Cole, V. G., 1966. *Diseases of Sheep*. Grazcos Co-operative Limited, 58-61.
20. Ellis, T. M., Sutherland, S. S., Wilkinson, F. C. Mercy, A. R., and Paton, M. W. 1987. The role of *Corynebacterium pseudotuberculosis* lung lesions in the transmission of this bacterium to

- other sheep. *Aust. Vet. J.* 64 : 261-263.
21. Gates, N. L., Everson, D. O., and Hulet, C. V. 1977. Effects of thin ewe syndrome on reproductive efficiency. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171 : 1266-1267.
22. Gilmour, N. J. L. 1990. Caseous lymphadenitis: A cause for concern. *Vet. Rec.* 126 : 566.
23. Hein, W. R., and Cargill, C. F. 1981. An abattoir survey of diseases of feral goats. *Aust. Vet. J.* 57 : 498-503.
24. Holstad, G. 1986. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in goats III. The influence of age. *Acta. Vet. Scand.* 27 : 598-608.
25. Holstad, G. 1986. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in goats IV. Course of the infection in two recently infected goat herds. *Acta. Vet. Scand.* 27 : 609-616.
26. Irwin M. R., and Knight, H. D. 1975. Enhanced resistance to *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection associated with reduced serum immunoglobulin levels in levamisole treated mice. *Infect. Immun.* 12 : 1098-1103.
27. Jensen, R., and Swift, B. L. 1982. Diseases of Sheep 2nd Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 313-315.
28. LeaMaster, B. R., Shen, D. T., Gorham, J. R., Leathers, C. W., and Wells, H. D. 1987. Efficacy of *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterin for the immunologic protection of sheep against development of caseous lymphadenitis. *Am. J. Vet. Res.* 48 : 869-872.
29. Lovell, R. 1959. Infectious diseases of animals. Disease due to bacteria. Edited by Stableforth, A. W., and Galloway I. A. London, Butterworths scientific publications. 239-254.
30. Maddy, K. T. 1953. Caseous lymphadenitis in sheep. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 122 : 257-259.
31. Maki, L. R., Shen, S. H., Bergstrom, R. C., and Stetzenbach, L. D. 1985. Diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep, using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. J. Vet. Res.* 46 : 212-214.
32. Merchant, I. A., and Barner, R. D. 1971. An outline of the Infectious Diseases of Domestic Animals 3rd Ed., Iowa State University Press, 343-346.
33. Muckle, C. A. and Gyles, C. L. 1982. Characterization of strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Can. J. Comp. Med.* 46 : 206-208.
34. Nagy, G. 1976. Caseous lymphadenitis in sheep: Methods and infection. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 47 : 197-199.
35. Nairn, M. E. and Robertson, J. P. 1974. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection of sheep: role of skin lesions and dipping fluids. *Aust. Vet. J.* 50 : 537-542.
36. Nakamura, K., Momotani, E., Yokomizo, Y., Yugi, H., and Syoya, S. 1981. Pathological changes in sheep infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Natl. Inst. Anim. Health. Q.* 21 : 150-151.
37. 農林水産省経済局統計情報部 1982, 1992. 畜産統計\*家畜飼養の概況\*. 財団法人農林統計協会, 東京.
38. Paton, M. W., Mercy, A. R., and Wilkinson, F. C. 1988. The effects of caseous lymphadenitis on wool production and body weight in young sheep. *Aust. Vet. J.* 65 : 117-119.
39. Paton, M. W., Mercy, A. R., Sutherland, S. S., and Ellis, T. M. 1988. The influence of shearing and age on the incidence of caseous lymphadenitis in Australian sheep flocks. *Acta. Vet. Scand. (Suppl.)*. 84 : 101-103.
40. Pepin, M., Pardon, P., Marly, J., and Lantier, F. 1988. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in adult ewes by inoculation in the external ear. *Am. J. Vet. Res.* 49 : 459-463.
41. Renshaw, H. W., Graff, V. P., and Gates, N. L. 1979. Visceral caseous lymphadenitis in thin ewe syndrom: Isolation of *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, and *Moraxella* spp from internal abscesses in emaciated ewes. *Am. J. Vet. Res.* 40 : 1110-1114.
42. Sheikh-omar, A. R., and Shah, M. 1984. Caseous lymphadenitis in sheep imported from Australia for slaughter in Malaysia. *Aust. Vet. J.* 61 : 410.
43. Stoops, S. G., Renshaw, H. W., and Thilsted, J. P. 1984. Ovine caseous lymphadenitis: Disease prevalence, lesion distribution, and thoracic manifestation in a population of mature culled

- sheep from western United States. *Am. J. Vet. Res.* 45 : 557-561.
44. Sutherland, S. S., Paton, M. W., Mercy, A. R., and Ellis, T. M. 1987. A reliable method for establishing caseous lymphadenitis infection in sheep. *Aust. Vet. J.* 64 : 323-324.
45. 社団法人日本綿羊協会 1988. 新しいめん羊飼育法・東京.
46. 東京大学医科学研究所学友会 1958. 細菌学実習提要. 丸善株式会社, 東京.
47. Williams, C. S. F. 1980. Differential diagnosis of caseous lymphadenitis in the goat. *Vet. Med. Small. Anim. Clin.* 75 : 1165-1169.
48. Williamson, P., and Nairn, M. E. 1980. Lesions caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* in the scrotum of rams. *Aust. Vet. J.* 56 : 496-498.
49. Zaki, M. M. 1976. Relation between the toxigenicity and pyogenicity of *Corynebacterium ovis* in experimentally infected mice. *Res. Vet. Sci.* 20 : 197-200.
50. 趙 宏坤, 久枝啓一, 平棟孝志, 菊池直哉, 小笠原徹, 横山敦志, 広川和郎 1987. ヒツジの *Corynebacterium pseudotuberculosis* 感染症の浸潤状況と本病の血清診断. 日獣会誌, 40 : 281-285.
51. Zhao, H. K., Morimura, H., Hiramune, T., Kikuchi, N., Yanagawa, R., and Serikawa, S. 1991. Antimicrobial susceptibility of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from lesions of caseous lymphadenitis in sheep in Hokkaido. *J. Vet. Med. Sci.* 53 : 355-356.
52. Zhao, H. K., Hiramune, T., Kikuchi, N., Yanagawa, R., Ito, S., Hatta, T., Serikawa, S. and Oe, Y. 1991. Selective medium containing fosfomycin, nalidixic acid, and culture supernatant of *Rhodococcus equi* for isolation of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *J. Vet. Med. B.* 38 : 743-748.

## Studies on the protection against *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep

by  
Shin SERIKAWA

### Summary

It was clarified by seroepidemiological examinations that the major route of *C. pseudotuberculosis* infection in sheep is through shearing wounds. To protect against infection, 2 treatments of shearing wounds were developed. The results are summarized as follows.

1. Anti- *C. pseudotuberculosis* toxin titers were examined by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) at 3 to 5 month intervals in sheep of three age groups (lambs, 1-and 2-year-old sheep). A significant increase in the ELISA-positive ratio was found only in July, 3 months after shearing, in 1-and 2-year-old sheep. A decrease in the positive ratio was found in the same month in lambs, possibly due to a decrease in maternal antibodies. Since the 1-and 2-year-old sheep had been sheared in April, it was considered that the increase in the positive ratio in July might be closely related to the shearing in April.

2. The protective effect of benzylpenicillin and oxytetracycline on *C. pseudotuberculosis* infection in lambs was examined. The ELISA-negative lambs which had recieved some visible wounds during their first shearing were randomly divided into two groups: one group was injected with either benzylpenicillin or oxytetracycline intramuscularly after shearing, and the other was not. Anti-*C. pseudotuberculosis* toxin titers were measured by ELISA. No significant difference in seroconversion ratio 3 months after shearing was found between the group treated with either antibiotic and the untreated group.

3. The effect of spraying shearing wounds with iodine tincture on *C. pseudotuberculosis* infection in lambs was examined. The ELISA-negative lambs which had received some visible wounds during their first shearing were randomly divided into two groups: one was sprayed with iodine tincture on wounds after shearing, and the other was not. Anti- *C. pseudotuberculosis* toxin titers were measured by ELISA. The seroconversion ratio of the group with iodine tincture treatment 3 months after shearing was smaller than that of the untreated group ( $P < 0.05$ ). These results suggest that treatment of shearing wounds with iodine tincture is effective in the protection of *C. pseudotuberculosis* infection in lambs.