

サラブレッド生産牧場で発生した *Lawsonia intracellularis* 感染症

遠藤祥郎^{1)†} 丹羽秀和²⁾ 片山芳也²⁾ 村瀬晴崇¹⁾ 佐藤文夫¹⁾
頃末憲治¹⁾ 石丸睦樹¹⁾ 末吉益雄³⁾

1) 日本中央競馬会日高育成牧場 (〒057-0171 浦河郡浦河町西舎535-13)

2) 日本中央競馬会競走馬総合研究所栃木支所 (〒329-0412 下野市柴1400-4)

3) 宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター (〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1)

(2014年10月15日受付・2015年2月2日受理)

要 約

2012年12月に北海道日高管内の1サラブレッド生産牧場にて *Lawsonia intracellularis* (Li) 感染症の発生が認められたことから、臨床・病原・免疫学的に検討した。当該牧場の当歳馬8頭中4頭で発熱、食欲低下、浮腫、白血球増多、下痢などの症状が認められたが、テトラサイクリン系抗菌薬により治癒した。発症馬4頭中2頭の糞便からLi特異遺伝子が検出された。一方、非発症馬の1頭からも検出されたことや、全頭からLi特異抗体が検出されたことから、当該牧場内では不顕性感染も含め当歳馬全頭が感染していたと考えられた。血清総蛋白は発症馬が最も低値を呈したが、非発症馬も2010年度・2011年度の同牧場の当歳馬の平均値と比較し有意に低かった。

——キーワード：当歳馬, *Lawsonia intracellularis*, サラブレッド。

-----日獣会誌 68, 239~244 (2015)

馬の *Lawsonia intracellularis* (Li) 感染症は馬増殖性腸症とも呼ばれ、おもに離乳後の当歳馬に発症し、発熱、下痢、四肢・腹部・陰囊などの浮腫、削瘦、低蛋白血症、小腸壁の肥厚などの症状を引き起こす [1-6]。死亡率は高くないが、発症すると馬体の成長が阻害され、セリでの取引価格に悪影響を及ぼすことが報告されているため問題となっている [2, 3]。欧米及びオセアニアでは1990年代から本症の発生が多数報告されていたが [3, 7-10]、わが国においても最近発生が報告され始めている [11]。グラム陰性桿菌であるLiが感染し、小腸粘膜上皮細胞内で増殖することで発症するが [4-6]、馬での感染経路や発症機序などを含め臨床的・細菌学的にも依然として不明な点が多い。特に、偏性細胞内寄生菌であるLiは人工培地による培養ができず、薬剤感受性試験の実施が困難であるため、抗菌薬の選択は治験に基づく必要があるが、国内での治験データは乏しい。海外ではクロラムフェニコール (50mg/kg, 経口, 6時間毎)、クラリスロマイシン (7.5mg/kg, 経口, 12時間毎) もしくはエリスロマイシン (25mg/kg, 経口, 8

時間毎) とリファンピシン (5mg/kg, 経口, 8~12時間毎) の併用、アジスロマイシン (10mg/kg, 経口, 24時間毎)、ドキシサイクリン (10mg/kg, 経口, 12時間毎)、オキシテトラサイクリン (6.6mg/kg, 静脈内, 12時間毎)、メトロニダゾール (10~15mg/kg, 経口, 8~12時間毎) などが使用されているが [1, 2, 12, 13]、日本における同薬剤の有効性及び安全性は不明である。

今回、2012年12月に北海道日高管内の1サラブレッド生産牧場においてLi感染症が認められた。そこで、いまだ不明な点の多い国内における馬のLi感染症の知見を得ることを目的に、臨床、病原及び免疫学的見地から各種検討を実施した。

材料及び方法

牧場は北海道日高管内に位置し、当歳馬8頭、1歳馬60頭、繁殖牝馬10頭及び乗用馬24頭を飼養していた。当歳馬は8月までに全頭離乳を済ませ、その後は繁殖牝馬から引き離し当歳馬同士のみで飼養していた。当歳馬の内訳は雄3頭・雌5頭で全頭がサラブレッド種であり、

† 連絡責任者(現所属)：遠藤祥郎 (日本中央競馬会宮崎育成牧場)

〒880-0036 宮崎市花ヶ島町大原2347

☎ 0985-25-3448 FAX 0985-27-8841

E-mail : yoshiro_endo@jra.go.jp

表1 調査対象馬の内訳

	馬番号	性別	放牧管理	発症日	発症時の月齢	発症時の体重(kg)	初診時の症状
発症馬	1	雌	昼夜	2012/12/11	8	315	発熱 (40.0℃)・食欲低下
	2	雌	昼	2012/12/13	8	313	発熱 (38.8℃)・両後肢の浮腫
	3	雌	昼夜	2013/ 1/ 5	9	332	発熱 (38.8℃) 白血球増多 (13.100)
	4	雄	昼	2013/ 1/18	9	322	下痢
	馬番号	性別	放牧管理	調査日	調査時の月齢	調査時の体重(kg)	調査時の症状
非発症馬	5	雌	昼夜	2012/12/11	8~9	341~359	-
	6	雄	昼夜			320~345	-
	7	雄	昼	2013/ 1/18		333~348	-
	8	雌	昼			282~303	-

表2 糞便中の Li 特異遺伝子の検査結果 (Real-time PCR)

	馬番号	2012/ 12/14	2012/ 12/21	2013/ 1/4	2013/ 1/16
発症馬	1	-	-	-	-
	2	+	-	-	-
	3	+	-	-	-
	4	-	-	-	-
非発症馬	5	+	-	-	-
	6	-	-	-	-
	7	-	-	-	-
	8	-	-	-	-

表3 血清中の Li 特異抗体の検査結果 (IFA)

	馬番号	2012/ 11/14	2012/ 12/12	2013/ 1/16	2013/ 2/23
発症馬	1	-	+	+	+
	2	-	+	+	+
	3	-	-	+	+
	4	-	-	-	+
非発症馬	5	-	-	-	+
	6	-	-	+	+
	7	-	-	+	+
	8	-	+	+	+

4頭ずつ昼放牧 (7時間放牧) もしくは昼夜放牧 (22時間放牧) の2つの飼養形態で管理されていた (表1)。

全頭について体重増加, 血清総蛋白 (TP), 血清アミロイド A (SAA), 糞便中の Li 特異遺伝子の検査, 血清中の Li 特異抗体の検査などを調査した。

白血球数は血球計算機 (K-4500, シスメックス(株), 兵庫), TP 及び SAA は自動血液生化学分析装置 (7700 Clinical Analyzer, (株)日立ハイテクノロジーズ, 東京) を用いて測定した。糞便中の Li 特異遺伝子は, 糞便からの DNA 抽出・精製キット (ZR Fecal DNA Kit, フナコシ(株), 東京) を用いて DNA を抽出した後, Nathues ら [14] の real-time PCR によって検出した。血清中の Li 特異抗体は, Lawson ら [15] の indirect immunofluorescence assay (IFA) を用いて検出した。

Real-time PCR 及び IFA については同牧場で繋養している繁殖牝馬も調査した。治療は, 過去の報告に基づいてアジスロマイシン, リファンピシン, オキシテトラサイクリン及びドキシサイクリンの投与を行った [12, 13]。TP については, マン・ホイットニー検定を用いて統計処理を行った [16]。

成 績

4頭で発熱, 食欲低下, 浮腫, 白血球増多, 下痢などの臨床症状が認められた (表1)。以下, この4頭を発症馬, 症状の認められなかった4頭を非発症馬とした。

雌3頭及び雄1頭に発症が認められ, 昼放牧及び昼夜放牧どちらの管理法でも発症馬が認められた。2012年12月11日に1頭目の発症が認められ, 約1カ月の期間に残り3頭が発症した。発症時の月齢は8~9カ月齢であり, 体重は315~322kgであった。発症馬は全頭腹部超音波検査が実施されたが, 小腸壁の肥厚を示唆する像は認められなかった。

発症馬1では, 初診時に40.0℃の発熱, 食欲低下, 体重の減少 (最大32kg減), SAAの上昇 (最高284.2 µg/ml) が認められた。当初ペニシリン・ストレプトマイシンの合剤を投与したが症状が改善しなかった。TPを検査したところ低値 (最低3.2g/dl) を示したため, Li感染症を疑いアジスロマイシン・リファンピシンの併用に変更したところ, 抗菌薬誘発性と思われる腸炎を呈した。そこでオキシテトラサイクリン (OTC注, 共立製薬(株), 東京) を投与し (6.6mg/kg, 静脈内, 12時間毎), 効果が確認されたらドキシサイクリン (ビブラマイシン錠, ファイザー(株), 東京) に変更する (10mg/kg, 経口, 12時間毎) 投与方法を実施したところ発症9日後から症状の改善が認められた。しかし, 発症28日後に投与を中止したところ発症32日後に再発と思われる症状 (下痢及び低蛋白血症) を呈した。ドキシサイクリンの投与を再開するとすぐに症状は消失し, 発症69日後には治癒に至った。他の3頭も同法で回復した。治療期間は14~70日 (中央値33.5日) であった。体重

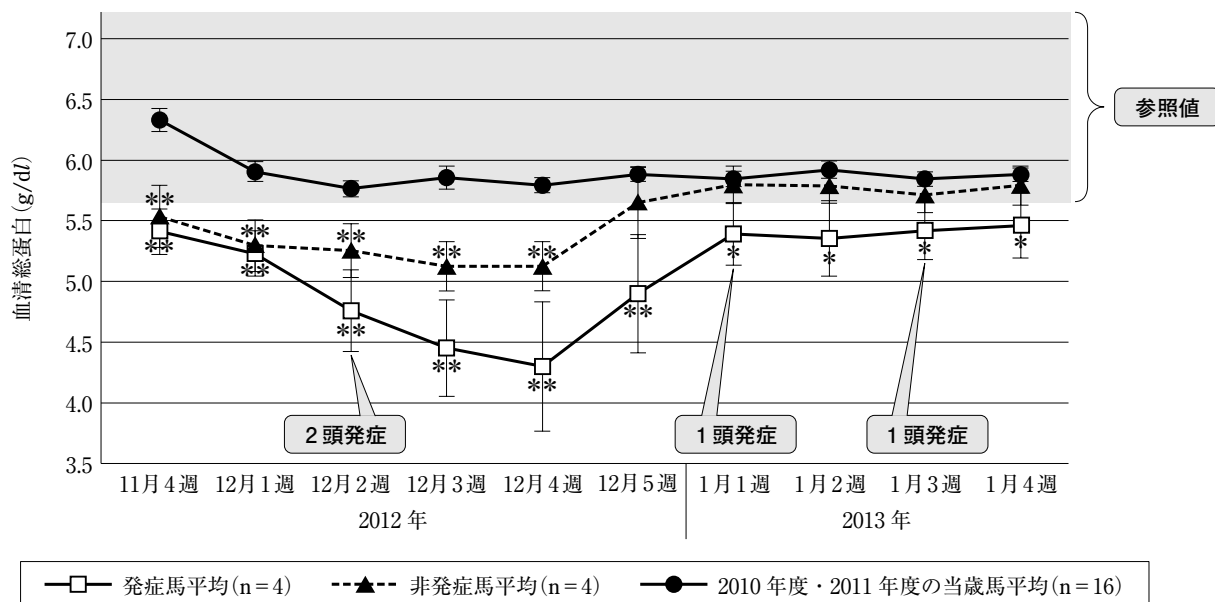


図 血清総蛋白 (TP) の推移
 2010 年度・2011 年度の当歳馬の平均値と比較して有意差あり (** $P < 0.01$, * $P < 0.05$)
 馬の血清総蛋白 (TP) の参照値: 5.7~7.3g/dl [18]

表 4 繁殖牝馬の PCR 及び IFA

馬番号	糞便 (PCR)			血清 (IFA)	
	2012/12/21	2013/1/4	2013/1/16	2012/11/14	2013/2/13
9	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-
11	-	-	-	+	+
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	-	-	-	記録なし	記録なし
15	-	-	-	+	-
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-

増加は発症馬で停滞する時期が認められ、最も重症例であった発症馬 1 では仮想成長曲線 [17] に復帰するまで約 6 カ月を要した。他の発症馬 (2~4) においては仮想成長曲線 [17] に復帰するまで約 4~5 カ月を要した。

1 頭目の発症が起こった週に採取された糞便を用いた real-time PCR により発症馬 4 頭中 2 頭の糞便から Li 特異遺伝子が検出されたが、翌週には陰性となった (表 2)。一方、非発症馬 4 頭中 1 頭からも Li 特異遺伝子が検出された。IFA は 11 月には陽性の個体が認められなかったが、12 月には 3 頭が陽性となり、2 月には全頭陽性となった (表 3)。馬の TP は 5.7~7.3g/dl が参照値とされているが [18]、発症馬は平均値が 4.3~5.4g/dl と明らかな低値を呈した (図)。また、非発症馬の平

均値についても 5.1~5.5g/dl と 2010 年度・2011 年度に同牧場で飼養されていた当歳馬の TP の平均値 (5.8~6.4g/dl) と比較して有意に低かった。繁殖牝馬の同時期の糞便からは Li 特異遺伝子は一度も検出されず、Li 特異抗体が検出された個体は 10 頭中わずかに 2 頭であった (表 4)。

考 察

今回、発症馬の初期症状は一般的な感冒と区別できなかったため、発症初期に適切な抗菌薬による治療を実施することができなかった。TP 値は、Li 感染症を診断する上で重要な所見の一つとされており [3, 9, 12]、本研究においても改めてその重要性が確認された。したがって、本症の発症要因とされる離乳 [1, 3] の後に当歳馬が発熱した際には Li 感染症も疑い、TP を検査するべきと考えられた。

臨床症状の発現や TP の低下が認められたことから小腸に病変があると考え腹部超音波検査を実施したが、発症馬全頭で小腸壁の肥厚を示唆する画像は得られなかった。Pusterla ら [4] は腹部超音波検査の感度はそれほど高くないと報告しており、本症例における検査でも病変部を描出できなかった可能性があると考えられた。

過去の報告と同様に [12, 13]、今回の調査でも発症馬では長期間に及ぶ投薬が必要であり、体重の回復に長期間を要した。このことから、早期診断・早期の的確な治療により、発育への影響を最小限に抑えることが重要であると考えられた。また、抗菌薬の投与方法として、Sampieri ら [13] の方法が臨床症状の改善に有効であっ

たが、生存率は抗菌薬の投与に相関しなかったという報告もある [2]。コロイド輸液（ヘタスターチ 5～10mg/kg, 静脈内）や血漿輸血（血漿 2.5～10mg/kg, 静脈内）などの対症療法を含めて [2]、早期回復に有効な治療法のさらなる検討が必要である。

Li 感染症の診断において、PCR などの遺伝子検査による糞便中の Li 特異遺伝子の検出は、その感度の低さが問題となっている [3]。今回の調査では発症馬であっても 4 頭中 2 頭のみしか Li 特異遺伝子が検出されなかった。このことから、馬の Li 感染症は遺伝子検査だけでなく、症状や TP の低下などの所見を踏まえて診断を行う必要があると考えられた。

今回、一部の非発症馬から Li 特異遺伝子が検出されるとともに、すべての非発症馬で Li 特異抗体が陽転したことから、非発症馬全頭が不顕性感染していた可能性が考えられた。実験感染例では、Li 特異抗体は攻撃後約 3 週間で上昇することが報告されており [19]、本事例での当歳馬における Li 特異抗体の出現状況から、Li は 11 月頃に馬群内に侵入した可能性が疑われた。また、発症馬だけでなく、非発症馬においても前年度・前々年度に同牧場で飼養されていた当歳馬と比較して TP が有意に低かったことから、TP の低下が認められた時期に非発症馬においても Li の不顕性感染による影響が推測された。以上から、発症馬が 1 頭でも確認された馬群では、同居馬はすでに感染している可能性があるため、異常が認められた場合は早期に Li 感染症の検査を実施すべきと考えられた。

一方、繁殖牝馬からは Li 特異遺伝子が一度も検出されなかった。さらに Li 特異抗体が検出された個体もわずかに 2 頭のみであり、当歳馬と同時期に陽転した個体は認められなかったことから、繁殖牝馬群に Li がまん延していることは考えにくい。また、当該牧場では 8 月までに離乳が実施され、それ以後は母子間での接触はなかったことから、繁殖牝馬が感染源となった可能性は低いと考えられた。

本事例では感染経路の特定には至らなかったが、海外では同居感染馬の糞便のほか、Li を保菌したウサギなどの野生動物の糞便の飼料への混入などが疑われている [4, 20]。当該牧場が位置する北海道日高管内では、エゾシカ、野ウサギ、野ネズミなどの野生動物が多数生息し、牧場内に侵入することが頻繁に認められることから、これらの動物における Li の感染状況に関する調査が必要であると考えられる。また、経時的な抗体調査によって牧場内における感染拡大が明らかとなったことから、その予防対策として発症馬の隔離やその糞便の除去及び環境の消毒が重要であると考えられた。逆性石鹼や塩素系の薬剤が消毒薬として有効との報告があることから [21]、これらの消毒薬を用いた環境の消毒法につい

て検討する必要があると考えられた。また、本事例では発症馬のみならず非発症馬においても TP の低下といった潜在的な Li 感染症の影響が推測された。海外では、発症を予防するために豚用の生ワクチン（エンテリゾール イリアイティス、ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン(株)、東京）の馬への経直腸投与の有効性について検討が行われており、30 日おきに 2 回投与された群では馬から分離された Li を経鼻胃内投与しても 4 頭全馬が発症しなかった一方、投与されなかった群では 4 頭中 3 頭で発症が認められたという結果が得られている [22]。本ワクチンは国内でも販売されているが、馬を対象としていないことから、馬における安全性や Li 感染症に対する予防効果についても評価が必要であると考えられる。

今回、1 牧場における Li 感染症に際して各種検討を行った。診断に関しては、離乳後の当歳馬が発熱した際には Li 感染症の可能性を疑うべきであり、その指標として簡便に数値の得られる TP の測定が有用と思われる。この時期の子馬において Li 感染症と同様に TP の低下が認められる感染性消化管疾患には *Salmonella* 属の感染による急性大腸炎などがあり [18]、類症鑑別が必要であるが、国内では流産を主徴とする馬パラチフスを除けば *Salmonella* 感染症の発生はまれである [23]。また、治療にはオキシテトラサイクリン、ドキシサイクリンの投与が有効であった。さらに、重度な症状を呈した子馬では長期間にわたり成長に悪影響が認められたことから、早期発見・早期治療が重要だと考えられた。遺伝子検査では一部の感染馬を検出できなかったことから、本病の診断は臨床症状や TP の低下などの所見を踏まえて総合的に診断する必要があると考えられた。さらに、発症馬が 1 頭でも確認された馬群では、すでに同居馬も感染している可能性があるため、異常が認められた場合は早期に Li 感染症の検査を実施すべきと考えられた。

引用文献

- [1] Bihl TP : Protein-losing enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis* in a weanling foal, *Can Vet J*, 44, 65-66 (2003)
- [2] Frazer ML : *Lawsonia intracellularis* infection in horses: 2005-2007, *J Vet Intern Med*, 22, 1243-1248 (2008)
- [3] Lavoie JP, Drolet R, Parsons D, Leguillette R, Sauvageau R, Shapiro J, Houle L, Halle G, Gebhart J : Equine proliferative enteropathy: a cause of weight loss, colic, diarrhea and hypoproteinaemia in foals on three breeding farms in Canada, *Equine Vet J*, 32, 418-425 (2000)
- [4] Pusterla N, Gebhart CJ : Equine proliferative enteropathy--a review of recent developments, *Equine Vet J*,

- 45, 403-409 (2013)
- [5] Pusterla N, Gebhart C : Equine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*, Equine Vet Educ, 21, 415-419 (2009)
- [6] Pusterla N, Gebhart C : *Lawsonia intracellularis* infection and proliferative enteropathy in foals, Vet Microbiol, 167, 34-41 (2013)
- [7] Deprez P, Chiers K, Gebhart CJ, Ducatelle R, Lefere L, Vanschandevijl K, Van Loon G : *Lawsonia intracellularis* infection in a 12-month-old colt in Belgium, Vet Rec, 157, 774-776 (2005)
- [8] Frank N, Fishman CE, Gebhart CJ, Levy M : *Lawsonia intracellularis* proliferative enteropathy in a weanling foal, Equine Vet J, 30, 549-552 (1998)
- [9] McClintock SA, Collins AM : *Lawsonia intracellularis* proliferative enteropathy in a weanling foal in Australia, Aust Vet J, 82, 750-752 (2004)
- [10] McGurrian MKJ, Vengust M, Arroyo LG, Baird JD : An outbreak of *Lawsonia intracellularis* infection in a Standardbred herd in Ontario, Can Vet J, 48, 927-930 (2007)
- [11] Shimizu C, Shibahara T, Takai S, Kasuya K, Chikuba T, Murakoshi N, Kobayashi H, Kubo M : *Lawsonia intracellularis* and virulent *Rhodococcus equi* infection in a Thoroughbred colt, J Comp Path, 143, 303-308 (2010)
- [12] Atherton RP, McKenzie HC : Alternative antimicrobial agents in the treatment of proliferative enteropathy in horses, J Equine Vet Sci, 26, 535-541 (2006)
- [13] Sampieri F, Hinchcliff KW, Toribio RE : Tetracycline therapy of *Lawsonia intracellularis* enteropathy in foals, Equine Vet J, 38, 89-92 (2006)
- [14] Nathues H, Holthaus K, Beilage EG : Quantification of *Lawsonia intracellularis* in porcine faeces by real-time PCR, J Appl Microbiol, 107, 2009-2016 (2009)
- [15] Lawson GH, McOrist S, Rowland AC, McCartney E, Roberts L : Serological diagnosis of the porcine proliferative enteropathies: implications for aetiology and epidemiology, Vet Rec, 122, 554-557 (1988)
- [16] 日本中央競馬会競走馬総合研究所編 : 軽種馬飼養標準, 2004年版, 11-14, アニマル・メディア社, 東京 (2004)
- [17] 柳井久江 : エクセル統計, 第3版, 94-99, オーエムエス出版, 埼玉 (2011)
- [18] 日本中央競馬会監訳 : 馬の臨床マニュアル (Manual of Equine Practice 2nd ed. 翻訳版), 163, 日本中央競馬会弘済会, 東京 (2004)
- [19] Pusterla N, Wattanaphansak S, Mapes S, Collier J, Hill J, DiFrancesco M, Gebhart C : Oral infection of weanling foals with an equine isolate of, agent of equine proliferative enteropathy, J Vet Intern Med, 24, 622-627 (2010)
- [20] Pusterla N, Guzman DS, Vannucci FA, Mapes S, White A, DiFrancesco M, Gebhart C : Transmission of *Lawsonia intracellularis* to weanling foals using feces from experimentally infected rabbits, Vet J, 195, 241-243 (2013)
- [21] Wattanaphansak S, Singer RS, Gebhart CJ : Evaluation of *in vitro* bactericidal activity of commercial disinfectants against *Lawsonia intracellularis*, J Swine Health Prod, 18, 11-17 (2010)
- [22] Pusterla N, Vannucci FA, Mapes SM, Nogradi N, Collier JR, Hill JA, DiFrancesco M, White AM, Akana NK, Simonek G, Gebhart CJ : Efficacy of an avirulent live vaccine against *Lawsonia intracellularis* in the prevention of proliferative enteropathy in experimentally infected weanling foals, Am J Vet Res, 73, 741-746 (2012)
- [23] Niwa H, Anzai T, Izumiya H, Morita-Ishihara T, Watanabe H, Uchida I, Tozaki T, Hobo S : Antimicrobial resistance and genetic characteristics of *Salmonella* Typhimurium isolated from horses in Hokkaido, Japan, J Vet Med Sci, 71, 1115-1119 (2009)

Lawsonia intracellularis Infection in Thoroughbred Foals on a Breeding Farm in Japan

Yoshiro ENDO^{1)†}, Hidekazu NIWA²⁾, Yoshinori KATAYAMA²⁾, Harutaka MURASE¹⁾,
Fumio SATO¹⁾, Kenji KOROSUE¹⁾, Mutsuki ISHIMARU¹⁾ and Masuo SUEYOSHI³⁾

- 1) *Hidaka Training and Research Center, Japan Racing Association, 535-13 Nishicha, Urakawa-cho, Urakawa-gun, 057-0171, Japan*
- 2) *Epizootic Research Center, Equine Research Institute, Japan Racing Association, 1400-4 Shiba, Shimotsuke-shi, 329-0412, Japan*
- 3) *Center for Animal Disease Control, University of Miyazaki, 889-2192, Japan*

SUMMARY

Lawsonia intracellularis infections primarily occur in foals after weaning. The infection has recently been identified in Japan, but many clinical and etiological questions remain regarding the disease. In December 2012, symptoms such as fever, decreased appetite, edema, leukocytosis, and diarrhea were observed in four of eight foals on a thoroughbred breeding farm in Hidaka, Hokkaido. Tetracyclines were administered and all foals recovered. *L. intracellularis* genes were detected with polymerase chain reactions in feces from one of four asymptomatic foals, as well as from two of the four symptomatic foals. Asymptomatic foals were thus suspected to have subclinical infections. Because antibodies against *L. intracellularis* were detected in all foals using indirect immunofluorescence assay, all foals were considered to have been infected with *L. intracellularis*. Although the total serum protein (TP) levels were lower in symptomatic foals than in asymptomatic foals, TP levels in asymptomatic foals were still significantly lower than those of foals from the same farm measured in the preceding two years. — Key words : foal, *Lawsonia intracellularis*, Thoroughbred.

† Correspondence to (Present address) : Yoshiro ENDO (Miyazaki Yearling Training Farm, Japan Racing Association)
2347 Oharu, Hanagashima-cho, Miyazaki-shi, 880-0036, Japan
TEL 0985-25-3448 FAX 0985-27-8841 E-mail : yoshiro_endo@jra.go.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 68, 239 ~ 244 (2015)